Міністерство охорони здоров'я

Запорізький державний медичний університет

На правах рукопису

ХРОМИЛЬОВА ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК 615.453.6.07:[615.31:547.792].014

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ І СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ІЗОНІАЗИДУ З ТІОТРИАЗОЛІНОМ

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

Дисертація на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Науковий керівник:

Кучеренко Людмила Іванівна,

доктор фармацевтичних наук,

доцент

Запоріжжя - 2015

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕННЬ 4
ВСТУП 6
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ІЗОНІАЗИДУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ І ЙОГО КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТКОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ 13
1.1 Деякі аспекти використання ізоніазиду в медичній практиці 13
1.2 Аналіз медичного застосування тіотриазоліну 17
1.3 Обгрунтування створення комбінованого лікарського засобу на основі ізоніазиду і тіотриазоліну 19
1.4 Раціональне поєднання ізоніазиду з іншими лікарськими засобами 23
1.5 Раціональне поєднання тіотриазоліну з іншими лікарськими засобами 24
1.6 Сучасний стан виробництва та контролю якості таблеткованих препаратів 26
1.6.1 Технологія таблеток методом прямого пресування 27
1.6.2 Деякі аспекти отримання таблеток методом вологої грануляції 32
1.7 Оптимізація технології таблеток 35
РОЗДІЛ 2 ХАРАКТИРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ 38
2.1 Об'єкти і методи досліджень 38
2.1.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об’єктів дослідження 38
2.2 Характеристика методів дослідження 42
РОЗДІЛ 3 Розробка оптимального складу і технології таблеток "Тріотиазид" 47
3.1 Обгрунтування складу комбінованого лікарського препарату "Тріотиазид" 47

3.2 Квантово-хімічні розрахунки суміші ізоніазиду з тіотриазоліном.. 49
3.3 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток "Тріотиазид"методом вологої грануляції 62
3.4 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток "Тріотиазид" методом прямого пресування 73
3.5 Розробка оптимального складу і технології таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном..... 102
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3 112
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК "ТРІОТИАЗИД" 114
4.1 Розробка методик стандартизації штучної суміші 114
4.2 Перевірка лінійності відгуку детектора при спільному визначенні вмісту ізоніазиду та тіотриазоліну методом ВЕРХ 124
4.3 Визначення вмісту ізоніазиду і тіотриазоліну методом ВЕРХ в таблетковій масі 123
4.4 Визначення доброякісності таблеток "Тріотиазид" 128
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4 138
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ 139
5.1 Вивчення хронічної токсичності лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном та референс-препарату-ізоніазиду..... 141
5.2 Вивчення гепатотоксичної дії лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном та референс-препарату-ізоніазиду..... 145
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5 159
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ 161
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 163
ДОДАТКИ.....187

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЛТ – аланінамінотрансфераза;
АМН – Академія медичних наук;
АМФ – аденозинмонофосфат;
АНД – аналітична нормативна документація;
АПФ – ангіотензинперетворючий фермент;
АСТ – аспарататамінотрансфераза;
АТФ – аденозинтрифосфат;
АФГ – альдегідфенілгідразони;
АФК – активні форми кисню;
АФо2 – активні форми кисню;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
ВООЗ – всесвітня організація охорони здоров'я;
ГПМЦ – гідроксіпропілметилцеллюлоза;
ГПР – глутатіонпероксідаза;
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДФУ – Державна фармакопея України;
КМЦ – карбоксиметилцеллюлоза;
КФ – кисла фосфатаза;
КФГ – кетонфенілгідразони;
$ЛД_{50}$ – середньосмертельна доза;
ЛДТ – лактатдегідрогеназа;
ЛР – лікарська речовина;
ЛФ – лужна фосфатаза;
МБТ – мікобактерії туберкульозу;
МКЦ – мікрокристалічна целлюлоза;

МКЯ – методики контролю якості;

МТСА – 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтова кислота;

МЯ – межа виявлення;

НАД – нікотінамідаденіндінуклеотид;

НАДН – нікотінамідаденіннуклеотид-фосфат;

ПАР – поверхнево-активна речовина;

ПАСК – парааміносаліцилова кислота;

ПВП – полівінілпіролідон;

ПІВ – перекисне окислення ліпідів;

ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти;

РНК – рибонуклеїнова кислота;

РСЗ – робочий стандартний зразок;

СЗ – стандартний зразок;

СОД – супероксиддисмутаза;

СРА – спонтана рухова активність;

ТУ – технічні умови;

УФ – ультрафіолетовий спектр;

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок;

ШОЕ – швидкість осідання еритроцитів;

ШНС – штучна нейтрональна сітка.

ВСТУП

Актуальність теми

Ефективність надання лікарської допомоги населенню України залежить від наявності високоефективних конкурентоспроможних лікарських засобів вітчизняного виробництва. Особливо це стосується лікарських засобів, що використовуються для лікування інфаркту міокарда та гострої серцевої недостатності; засобів для лікування захворювань нервової системи; протизапальних і жарознижуючих засобів та препаратів для лікування інфекційних хвороб. На сьогодні в Україні одним з найбільш поширених інфекційним захворюванням є туберкульоз, тому Україна віднесена до групи країн з високим рівнем захворюваності на цю хворобу (81 випадок на 100 тисяч населення) та посідає за цим показником сьоме місце в Європі [13, 35, 109, 110, 111, 202].

Хіміотерапія туберкульозу потребує тривалого застосування протитуберкульозних препаратів, що підвищує ризик виникнення побічних ефектів, вираженого порушення обмінних процесів і функцій печінки, серця, нервової системи та ін. [20, 49, 81, 108, 135, 137, 146, 198]. Побічна дія протитуберкульозних засобів – одна з основних причин недостатньої ефективності лікування таких хворих. Виникаючи у процесі моно- або комбінованої хіміотерапії, побічні реакції суттєво обмежують можливості цілеспрямованого впливу лікарських засобів і знижують ефективність лікування хворих на туберкульоз за головними показниками – строками припинення бактеріовиділення та частотою повного видужання [20, 38, 59, 66, 86, 87, 96, 115, 118, 161].

У зв’язку з вищезазначеним, проблема попередження або зменшення побічної дії протитуберкульозних препаратів на організм людини залишається актуальною. Ізоніазид, один із еталонних препаратів першої

групи, крім позитивного фармакотерапевтичного ефекту, чинить токсичний вплив на функції печінки, центральної та периферичної нервової системи, кардіо- і системну гемодинаміку. Корекція побічних реакцій, що виникли у процесі комбінованої хіміотерапії туберкульозу, – пріоритетний напрям вітчизняної фтизіатрії [52, 56, 62, 69, 138, 176, 177].

Безсумнівною перспективою в комплексній терапії інфекційних захворювань є застосування антиоксидантів, тому в останній час в світовій практиці спостерігається тенденція створення лікарських засобів на основі фіксованих комбінацій, що містять сумісні за фізико-хімічними і фармакологічними характеристиками препарат базової терапії та антиоксидант, що обумовлює їх більш високу, у порівнянні із застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність і безпечність [52, 54, 74].

В зв’язку з вищенаведеним, надзвичайно важливою задачею фармацевтичної і медичної науки є створення нових високоефективних і безпечних лікарських препаратів, застосування яких приводило би до зменшення ускладнень, а також до покращення якості та подовження життя людини. Тому представляло інтерес створити та стандартизувати нову оригінальну комбіновану лікарську форму до складу якої входять ізоніазід (препарат першого ряду для лікування та профілактики туберкульозу) та тіотриазолін (антиоксидант).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету "Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0113U000802). Дисертантом особисто розроблено технологію та методи стандартизації таблеток на основі ізоніазиду з тіотриазоліном.

Метою дисертаційної роботи є наукове обґрунтування складу та створення нового комбінованого таблеткованого лікарського препарату для лікування туберкульозу, розробка технології і стандартизація створених таблеток**.**

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- провести аналітичну оцінку даних наукової літератури в розрізі новітніх уявлень щодо лікування туберкульозу, методичних підходів до створення таблеткованих лікарських форм, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі антиоксидантів з метою лікування інфекційних хвороб;
- провести комплекс досліджень з метою обґрунтування оптимального складу діючих речовин, які будуть введені до комбінованої лікарської форми;
- розробити науково обґрунтовану технологію таблеткованої комбінованої лікарської форми на основі препарату першого ряду для лікування туберкульозу - ізоніазиду та антиоксиданту - тіотриазоліну;
- для нового комбінованого таблеткованого препарату розробити оптимальні методики стандартизації. Розробити проект методик контролю якості (МКЯ) на отримані таблетки;
- визначити фармакологічні характеристики отриманого лікарського препарату.

Об'єкти дослідження: розробка та стандартизація нового оригінального комбінованого таблеткованого лікарського препарату для лікування туберкульозу.

*Предмет дослідження**:*** фармацевтична розробка науково обгрунтованого складу і технології таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном та їх стандартизація; вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей розроблених таблеток; розробка технологічних схем отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном; дослідження їх стабільності в процесі

зберігання; розробка проекту МКЯ на отримані таблетки; фармакологічні дослідження комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном.

Методи дослідження

З метою вивчення поставлених задач у роботі використані органолептичні, фармакотехнологічні (насипна густина, насипна густина після ущільнення, плинність, кут природного укосу, однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стираність, розпадання), фізико та фізико-хімічні (тонкошарова хроматографія, високоефективна рідинна хроматографія), біологічні (визначення гострої та загальної токсичності) та математичні (статистична обробка результатів) методи дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів

Уперше методом математичного планування експерименту науково обгрунтовано склад та технологію нового протитуберкульозного комбінованого засобу "Тріотиазид" в таблетках з вмістом ізоніазиду та тіотриазоліну, як активних фармацевтичних інгредієнтів.

Квантово-хімічними розрахунками теоретично обгрунтовано та експериментально підтверджено відсутність хімічної взаємодії між молекулами ізоніазиду та тіотриазоліну, що стало обгрунтуванням сумісного використання даних речовин в одній лікарській формі.

Запропоновано відповідні до вимог ДФУ, вид. 1 методики стандартизації комбінованого лікарського засобу "Тріотиазид" в таблетках для лікування туберкульозу. Визначені фармакологічні характеристики отриманого лікарського препарату.

Уперше встановлено, що сумісне використання ізоніазиду та тіотриазоліну в одній лікарській формі призводить до зниження показників гострої токсичності ($ЛД_{50}$) ізоніазиду при пероральному введенні з 1500 до 6691 мг/кг, зменшення загальної і нейротоксичної дії ізоніазиду при хронічному введенні (зниження летальності, нормалізація апетиту, температури тіла, поведінкових реакцій експериментальних тварин),

зменшення гематотоксічності ізоніазиду (нормалізації показників крові, загального гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів), значного зниження гепатотоксічної дії ізоніазиду.

Новизна дослідження захищена патентом України на винахід № 100355 від 10.12.2012 р., Бюл. № 23 "Спосіб отримання морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоцетаму", патентом РФ на винахід № 2545731 від 26.02.2015р., Бюл. № 10 "Комбинированное противотуберкулезное лекарственное средство" та патентом України на винахід №107884 від 25.02.15 р., Бюл. № 4 "Комбінований протитуберкульозний лікарський засіб".

Практичне значення одержаних результатів

Розроблений та стандартизований новий комбінований лікарський протитуберкульозний засіб ізоніазиду з тіотриазоліном "Тріотиазид" у вигляді таблеток. Отримані результати досліджень можуть бути застосовані при створенні та розробці нових лікарських засобів на основі фіксованих комбінацій, з метою підвищення безпеки основного базового препарату. Розроблені технологічні схеми отримання таблеток методами, як вологої грануляції так і прямого пресування, які апробовані на заводі АТ "Лекхім", м. Харків. Розроблено методики стандартизації протитуберкульозного засобу "Тріотиазид" в таблетках, що покладені в основу проекту документу "Методи контролю якості на лікарській засіб"

Розроблений і виданий Укрмедпатентінформ інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 221 – 2014 "Підвищення ефективності лікування туберкульозу".

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри аналітичної хімії та технології ліків Запорізького державного медичного університету (акти впровадження від 10.10.2014 р), кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 09.09.2014 р), кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л.

Шупика (акт впровадження від 27.05.2014 р), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків та кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (акти впровадження від 10.09.2014 р).

Особистий внесок здобувача

Разом з науковим керівником визначено мету та основні задачі досліджень, розроблено методичні підходи, на основі яких обрано методи виконання практичної частини дисертації. Автором особисто проаналізовано дані наукової літератури щодо лікування туберкульозу. Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізико-хімічних, технологічних та фармакологічних властивостей діючих речовин. Здобувачем розроблено склад і технологію таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом вологої грануляції та методом прямого пресування. Розроблені методи якісного аналізу ізоніазиду і тіотриазоліну в таблетках. Розроблено визначення ізоніазиду з тіотриазоліном в таблетках методом ВЕРХ.

Персональний внесок в усіх опублікованих працях зі співавторами (Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Белєнічев І. Ф., Портна О. О, Моряк З. Б., Ткаченко Г. І., Ващенко О. В., Ващенко В. В., Моргунцова С. А., Бухтиярова Н. В., Зубатюк Р. І., Шишкин О. В., Шальмін О. С., Растворов О. А.) наведено за текстом дисертації, також в авторефераті у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені і обговоренні на: XXX всеукраїнській науково-практичній конференції "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2013); 5-й науково-практичній конференції "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2013); міжнародній науково-практичній конференції "Přední

vědecké novinky – 2013" (Польща, 2013); науково-практичній конференції "Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України" (Одеса, 2013); міжнародній науково-практичній конференції "Современная фармацевтика : потенциал роста в долгосрочной перспективе" (Киров, 2013); XXXI всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2014), XV конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (Чернівці, 2014).

Апробацію роботи проведено на спільному засіданні кафедр аналітичної хімії, технології ліків, токсикологічної та неорганічної хімії, органічної та біоорганічної хімії, фармацевтичної хімії, фармакогнозії, фармакології та ботаніки; технології ліків; управління економіки фармації, медичного і фармацевтичного правознавства, фармакології та медрецептури, Запорізького державного медичного університету 23 грудня 2014 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, зокрема 6 статей у наукових фахових виданнях України (5 статей у виданнях міжнародних наукометричних баз), 2 статті у виданнях іноземних держав, 3 патенти на винахід, 1 інформаційний лист, 8 тез доповідей**.**

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ІЗОНІАЗИДУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ І ЙОГО КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТКОВАНИХ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ

1.1 Деякі аспекти використання ізоніазиду в медичній практиці

Вперше ізоніазид синтезовано на початку XX століття. В медичній практиці використовується з 1952 року. На сьогодні ізоніазид — один з найбільш ефективних протитуберкульозних препаратів [57, 58].

На даний час ізоніазид входить до класифікації Міжнародного союзу з боротьби з туберкульозом і відноситься до препаратів першого ряду (тобто найбільш ефективних). Ізоніазид (Isoniazidum) - це гідразид ізонікотинової кислоти, має високу бактеріостатичну активність, строго специфічний, ефективний лише проти мікобактерій туберкульозу. Ізоніазид добре проникає через тканинні і клітинні мембрани, через гематоенцефалічний бар'єр. Добре дифундує через серозні оболонки в плевральну рідину, у вогнища ексудативного запалення, казеозні фокуси [39, 132, 166, 173].

При прогресуванні туберкульозного процесу відбувається активне розмноження бактеріальної популяції. Більшість мікобактерій у цей період знаходяться поза клітинами. Захоплені макрофагами Mycobacterium tuberculosis (МБТ) інтенсивно внутрішньоклітинно розмножуються і призводять до руйнування фагоцитів, знову потрапляючи в позаклітинний

простір. На мікобактерії, що швидко розмножуються і знаходяться позаклітинно, добре діє більшість протитуберкульозних препаратів. Проте на фоні хіміотерапії пригнічується метаболізм і розмноження МБТ, починають переважати ті, розмноження яких сповільнене, або персистуючі форми. На цьому етапі збудники туберкульозу знаходяться, головним чином, внутрішньоклітинно (в макрофагах). Ефективно вплинути на персистуючі і розміщені внутрішньоклітинно мікобактерії значно складніше, хоча це важливо не лише для безпосередніх, але й для віддалених результатів терапії. Персистуючі мікобактерії легко реверсують у вихідні форми і починають бурхливо розмножуватися, що призводить до загострень і рецидивів захворювання. Здатність протитуберкульозних препаратів діяти на розміщені внутрішньоклітино мікобактерії, пов'язана з розмірами їх молекули і здатністю проникати через тканинні і клітинні мембрани. Стрептоміцин, канаміцин, флориміцин (віоміцин), парааміносаліцилова кислота (ПАСК) і тіоацетазон не мають властивостей внутрішньоклітинної дії на збудника туберкульозу. Тому ці препарати не достатньо активні на другому етапі лікування, коли мікобактерії туберкульозу знаходяться, в основному, внутрішньоклітинно [130, 133, 156, 167].

Ще менше протитуберкульозних препаратів здатні діяти на мікобактерії туберкульозу, які повільно розмножуються або знаходяться в стані персистування. Ізоніазид має виражену активність стосовно популяції МБТ, яка швидко розмножується, і меншу - щодо тих, що розмножуються повільно.

На МБТ ізоніазид діє бактерицидно у стадії розмноження та бактеріостатично у стані спокою. Механізм його дії пов'язаний з пригніченням синтезу міколевої кислоти в клітинній стінці МБТ. Ізоніазид володіє високою ефективністю відносно мікобактерій туберкульозу, які розташовані як поза-, так і внутрішньоклітинно. Препарат пригнічує активність ферментів (каталази, пероксидази), припиняючи життєдіяльність

мікроорганізмів, утворючи хелатні сполуки з йонами металів. Ізоніазид вступає в конкурентні зв'язки з вітамінами: тіаміном, піридоксином, кислотою нікотиновою. Також посилює фагоцитоз у ділянці туберкульозного запалення. Механізм туберкулостатичної дії ізоніазиду зумовлений блокуванням або інактивацією низки ферментів і коферментів, які відіграють важливу роль для метаболізму мікробної клітини. Внаслідок цього порушується білковий обмін, синтез фосфоліпідів, дезоксирібонуклеїнова кислота (ДНК) і рібонуклеїнова кислота (РНК), а також оксидаційно-відновні процеси МБТ. Під впливом ізоніазиду інгібіція каталази призводить до накопичення перекису водню до токсичних концентрацій, що зумовлює припинення росту та розмноження мікобактерій і зниження їх вірулентності [39, 47, 107, 165, 169].

Побічні реакції при застосуванні ізоніазиду можуть виникати у процесі всмоктування, розподілу, вивільнення із комплексу з білками, метаболізму (ферментативна індукція чи інгібіція), екскреції.

Ізоніазид може піддаватися значному пресистемному метаболізму при проходженні через печінку. Метаболізується в печінці ацетилюванням з утворенням N-ацетилізоніазиду (ацетильований метаболіт не активний), потім перетворюється в ізонікотинову кислоту і моноацетилгідразин, який чинить гепатотоксичну дію за рахунок утворення активного проміжного метаболіту. Швидкість ацетилювання генетично детермінована і обумовлена рівнем активності N-ацетилтрансферази [114, 126]. Значну групу ускладнень фармакотерапії становлять реакції токсичного характеру. Розвиток токсичних ускладнень залежить також від дози й тривалості застосування ізоніазиду, характеру його біотрансформації та елімінації, від функціонального стану основних ланок дезінтоксикаційної та екскреторної систем організму. Такі ускладнення мають органний характер, тому що виникають або як результат прямої фармакологічної дії на обмінно-ферментативні процеси в життєво важливих органах і системах, або

внаслідок опосередкованого впливу на метаболізм у цих органах. Гепатотоксичні ефекти ізоніазиду зумовлені тим, що метаболізм препарату відбувається переважно у печінці. Побічна дія зазвичай розвивається протягом перших двох місяців лікування й характеризується порушенням антитоксичної, білковосинтетичної та інших функцій печінки, а також морфологічними змінами в гепатоцитах. Транзиторні зміни печінкової функції з підвищенням рівня трансаміназ не потребують спеціального лікування. Гепатотоксичність частіше розвивається у швидких ацетиляторів, особливо при застосуванні комбінації ізоніазиду та рифампіцину. Токсичні гепатити зустрічаються найчастіше в осіб, у яких раніше були захворювання печінки. Існують поодинокі повідомлення про розвиток гепатитів з летальним наслідком при застосуванні ізоніазиду. З боку травного каналу можуть спостерігатися також інші побічні реакції: нудота, блювання, анорексія, діарея (антибіотикоасоційований коліт) [3, 39, 55, 136, 147].

Окрім того, при тривалому прийомі ізоніазиду діагностують вітамінну недостатність, що з’являється внаслідок, по-перше, структурного антагонізму між піридоксином та ізоніазидом і, по-друге, гальмування всмоктування та пригнічення бактеріального синтезу вітамінів у кишечнику.

При застосуванні ізоніазиду можуть виникати токсичні ураження центральної та периферичної нервової системи (периферичні нейропатії, токсична енцефалопатія, інтоксикаційний психоз, м’язові посмикування, неврит зорового нерва, ураження мотонейронів із подальшим зниженням функції дихальної мускулатури). У хворих на епілепсію ізоніазид здатний провокувати розвиток судомних нападів. Перебіг нейротоксичних побічних реакцій залежить від пристрасті до алкогольних напоїв, перенесених у минулому захворювань центральної та периферичної нервової системи й черепно-мозкових травм [65, 88, 87].

Ізоніазид пригнічує активність ферментів лімфоцитів периферичної крові. При туберкульозі активуються процеси перекисного окислення ліпідів,

знижується антиоксидантний захист організму, розвивається гіпоксія. Тому виправданим є призначення антиоксидантів. Антиоксиданти — речовини, які усувають або гальмують надмірно активовані вільнорадикальні реакції і перекисне окислення ліпідів. Основними джерелами активних форм кисню (АФо2) є: нейтрофіли і інші фагоцити в процесі активації їх функції; гіпоксантин, що накопичується при гіпоксії і утилізований при реоксигенації під впливом ксантіноксидази; процес утворення метаболітів арахидонової кислоти; аутоокислення гемоглобіну. Активація перекисного окислення ліпідів (ПІВ) відмічена при величезному числі всіляких захворювань запального, аутоаллергічного характеру, ішемічних пошкодженнях мозку, серця, при проведенні деяких лікувальних процедур (киснетерапія, гіпербарична оксигенація, ультрафіолетове опромінення), прийом ліків, що володіють прооксидантними властивостями (тетрациклін, ізоніазід, парацетамол, прімахин, адріаміцин, рубоміцин, аміназін, препарати заліза і ін.). Антиоксиданти можуть безпосередньо взаємодіяти з АФо2, усувати іони заліза, міді, що активують вільнорадикальні реакції, змінювати структуру мембран, обмежуючи доступність поліненасичених жирних кислот (ПНЖК) для окислювачів, підвищувати активність антіоксидантних ендогенних ферментів (супероксиддісмутази, каталази, глутатіонпероксидази і ін.). Включення цих препаратів у комплексне лікування туберкульозу запобігає виникненню побічних реакцій на протитуберкульозні препарати, особливо гепатотоксичних, має антифібротичну дію, стимулює репаративні процеси, поліпшує трофіку легеневої тканини, сприяючи більш досконалому загоєнню специфічних змін [4, 7, 21, 31, 74, 77, 84, 201].

1.2 Аналіз медичного застосування тіотриазоліну

Відчізняний оригінальний лікарський препарат - тіотриазолін, був створений в Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора Мазура І. А.

Тіотриазолін проявляє антиоксидантну, протиішемічну, мембраностабілізуючу, антиаритмічну, імуномодулюючу, протизапальну, гепатопротекторну, кардіопротекторну, нейропротекторну активність. Тому його використовують у кардіології, гепатології, гінекології, неврології, педіатрії та хірургії для комплексної терапії інфаркту міокарда, стенокардії, інсульту, гепатитів різного генезу та ін. [10, 83, 116].

Також тіотриазолін проявляє регулюючий вплив на ліпідний, білковий, енергетичний, вуглеводневий обмін речовин, збільшує компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, зменшує пригнічення процесів окислення в циклі Кребса, сприяє збереженню АПФ в тканинах. Такий вплив на обмін речовин зумовлює можливість застосування препарату для лікування дистрофічних процесів в печінці, міокарді та інших органах [16, 69, 117].

В останні роки підтверджено ефективність застосування тіотриазоліну при різноманітних ураженнях печінки і дисфункції жовчного міхура, особливо в комплексному лікуванні хворих на цироз, запобіганню проявам цитолізу, при лікуванні ерозивно-виразкових ушкоджень слизової оболонки шлунка. Включають тіотриазолін в комплексну терапію хронічного гастродуоденіту і виразкової хвороби дванадцятипалої кишки [73, 100, 101, 103].

Застосування даного препарату хворими на ревматоїдний артрит дозволяє уникнути втрати м'язевої маси, збільшити силу м'язевих скорочень та підвищити функціональну спроможність хворих. В гінекологічній практиці тіотриазолін застосовують при лікуванні шийки матки та для лікування пієлонефриту у вагітних.

Використання тіотриазоліну в комплексній терапії адренергічного дисбалансу при бронхіальній астмі дозволяє інтенсивно покращити

порушену адренорецепторну функцію еритроцитарних мембран, а в патогенній терапії інфільтрантного туберкульозу легенів у фазі розпаду сприяє зниженню інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів при економному використанні ендогенних антиоксидантів [59, 63, 70, 104].

Наведені вище дані свідчать на перспективність застосування тіотриазоліну в медичній практиці, а отже проведення досліджень із створення оптимальних лікарських форм є актуальною проблемою фармації.

1.3 Обгрунтування створення комбінованого лікарського засобу на основі ізоніазиду і тіотриазоліну

Ефективність надання лікарської допомоги населенню залежить від наявності високоефективних конкурентоспроможних лікарських засобів. Зокрема, це стосується засобів для лікування туберкульозу. На сьогодні в Україні туберкульоз є найбільш поширеним інфекційним захворюванням. Україна віднесена до групи країн з високим рівнем захворюваності на туберкульоз [49, 153, 154, 190, 191, 204]. Щорічно число хворих збільшується на 40 тис. та 10 тис. з них помирає. Епідемія туберкульозу перейшла в категорію національної проблеми, оскільки лікування стало важкокерованим. На теперішній час цією хворобою уражено близько 700 тис. чоловік, з яких 600 тис. перебувають на диспансерному обліку (у тому числі 142 тис. з відкритою формою туберкульозу). Офіційно кількість хворих на туберкульоз перевищило 1% населення [34, 35, 76, 134, 145, 141].

Епідемічна ситуація з туберкульозу в Запорізькій області залишається напруженою. За статистикою Управління охорони здоров'я Запорізької обласної державної адміністрації, захворюваність усіма формами туберкульозу, в тому числі і мультирезистентною, за 8 місяців 2012 року збільшилася на 15,2% (порівняно з аналогічним періодом 2011 року). У 2011 році діагноз "туберкульоз" було поставлено 1185 запоріжцям. Небезпечною

для зараження здорових людей бациллярною формою туберкульозу захворіло 560 людини. Кількість дітей, що заразилися в минулому році інфекцією склало 17 чоловік, з них підлітків – 13. Одна хвора людина може інфікувати за рік 10-15 людей [1, 38, 47, 61, 63, 87].

Хіміотерапія посідає чільне місце в лікуванні туберкульозних хворих. Клінічна ефективність протитуберкульозних засобів визначається багатьма факторами, серед яких важливими є чутливість або резистентність мікобактерій до застосовуваних ліків, рівень бактеріостатичної концентрації в крові, ступінь проникнення препаратів у ділянки ураження, здатність препаратів діяти на поза- та внутрішньоклітинні (фагоцитовані) мікобактерії [96]. Але не менш важливе значення мають також переносимість лікарських засобів та їх безпечність. Хіміотерапія туберкульозу потребує тривалого застосування протитуберкульозних препаратів, що підвищує ризик виникнення побічних ефектів, вираженого порушення обмінних процесів і функцій печінки, серця, нервової системи та ін. [61, 62, 149, 159, 197, 200]. Побічна дія протитуберкульозних засобів – одна з основних причин недостатньої ефективності лікування таких хворих. Виникаючи у процесі моно- або комбінованої хіміотерапії, побічні реакції суттєво обмежують можливості цілеспрямованого впливу лікарських засобів і знижують ефективність лікування хворих на туберкульоз за головними показниками – строками припинення бактеріовиділення та частотою повного видужання [60, 80, 82, 152, 171, 203, 205].

У зв’язку з вищезазначеним проблема попередження побічної дії протитуберкульозних препаратів на організм людини є актуальною.

Ізоніазид є одним із еталонних препаратів головної групи, але він, крім позитивного фармакотерапевтичного ефекту, чинить токсичний вплив на функції печінки, центральної та периферичної нервової системи, кардіо- і системну гемодинаміку. Відомо, що ізоніазид викликає побічні реакції, патогенетичні механізми розвитку яких не встановлено. Корекція побічних

реакцій, що виникли у процесі комбінованої хіміотерапії туберкульозу – пріоритетний напрям фтизіатрії. Одним з найважливіших завдань фтизіатрії є подальша розробка нових методів попередження та лікування побічних ефектів протитуберкульозних препаратів, а фармацевтичної хімії та технології ліків – розробка ефективних та малотоксичних лікарських засобів [93, 94, 113, 164].

Застосування антиоксидантів у комплексній терапії інфекційних захворювань, туберкульозу в тому числі, має безсумнівні перспективи [75, 139, 193]. Тому в останній час в світовій практиці спостерігається тенденція створення лікарських засобів на основі фіксованих комбінацій, які містять сумісні за фізико-хімічними і фармакологічними характеристиками антиоксидант і препарат базової терапії, що обумовлює їх більш високу, у порівнянні із застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність і безпечність [5, 92, 101, 104, 119].

Слід зазначити що в механізмі побічної дії ізоніазиду лежить гіпермодуляція кисневих радикалів, це призводить до гепато-, кардіо-і мембранотоксічності. Тому, доцільним є застосування антиоксидантів для зниження токсичності ізоніазиду, в зв’язку з цим останнім часом значну увагу клініцистів привертають вітчизняні засоби, зокрема, тіотриазолін, який, окрім антиоксидантної дії, має широкий спектр фармакологічної активності [172, 194]. У проведених дослідженнях на лабораторних тваринах доведено захисний вплив синтетичного препарату метаболітотропного характеру дії – тіотриазоліну при дії токсичних доз ізоніазиду. Тіотриазолін знижуючи гиперпродукцію супероксидрадикалу і пероксінітріту, попереджає окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, факторів транскрипції, активує антиоксидантну систему ферментів. Також тіотриазолін володіє метаболітотропною дією спрямованою на збереження окислювальної продукції енергії, зменшення вираженості мітохондріальної дисфункції і апоптозу. Метаболітотропна і

гепатопротективна властивості тіотриазоліну забезпечують і безпечність майбутніх комбінацій за рахунок зниження токсичності та побічних ефектів. Введення в лікарську форму ізоніазиду тіотриазоліну призводить до достовірного зниження проявів нейро-, гепато- і кардиотоксичності при одноразовому та хронічному введенні. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до "згладжування" клінічної картини гострого отруєння ізоніазидом і зменшенню тривалості симптомів інтоксикації на 5-7 день. А також до зменшення загальної і нейротоксичності ізоніазиду при хронічному введенні - зниження летальності, нормалізація апетиту, температури тіла, поведінкових реакцій експериментальних тварин. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до зменшення гематоксичності ізоніазиду - нормалізації показників крові-ШОЕ, загального гемоглобіна, еритроцитів і лейкоцитів та до значного зниження гепатоксічної дії ізоніазиду: а) нормалізації активності транаміназ та інших специфічних ферментів (АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЛФ); нормалізації процесів протеінсинтезу; нормалізації антиоксидантних / прооксидантного гомеостазу печінки; нормалізації ліпідного обміну; нормалізації детоксикаційної функції печінки; нормалізації енергетичного обміну печінки; нормалізація жовчоутворюючої функції печінки [52, 53, 74, 84, 105].

Попередніми клінічними дослідженнями показано, що застосування у 200 хворих на рецидиви туберкульозу легенів тіотріазоліну (50 мг двічі на день) спільно з ізоніазидом (за стандартною схемою) не впливає на обсяги та терміни припинення бактеріовиділення, проте сприяє збільшенню загоєння порожнин у легеневій тканині на 6-11 %, прискорюючі терміни загоєння на (1,0 ± 0,1) місяць та зменшення побічних реакцій ізоніазиду [46, 93].

Незважаючи на постійні зусилля з оптимізації лікування туберкульозу проблема залишається невирішеною [154, 155, 180]. З урахуванням зростаючої вартості медичної допомоги, супутніх соціальних проблем актуальна розробка та впровадження нових підходів, методів, схем терапії,

що сприяють реальному підвищенню клінічної ефективності проведеної терапії. Важливим елементом вирішення даної комплексної проблеми є створення нових високоефективних і безпечних лікарських препаратів, застосування яких приводило б до поліпшення якості і подовження життя, а також до зменшення ускладнень.

1.4 Раціональне поєднання ізоніазиду з іншими лікарськими засобами

При прийомі протитуберкульозних препаратів розвивається стійкість МБТ. Тому сучасна антибактеріальна терапія туберкульозу є комбінованою, при одночасному застосуванні декількох препаратів розвиток стійкості відбувається значно повільніше. У 1987 р. на конференції Міжнародного союзу боротьби з туберкульозом та легеневими захворюваннями була висловлена ідея використання при лікуванні туберкульозу комбінованих препаратів з фіксованими дозами. В даний час реально у 25% пацієнтів застосовуються комбіновані протитуберкульозні препарати з фіксованими дозами. ВООЗ рекомендує їх застосування не менш, ніж у 95% хворих на туберкульоз. Застосовуються 2-3-х компонентні і навіть 4-х компонентні препарати (ріфатер, ізопродіан, майрін-П та ін.) [52, 94]

Щоб скоротити побічні дії спільно з ізоніазидом рекомендується застосовувати вітаміни групи В, зокрема вітамін B_{12}. Вітамін B_{12} надає метаболічну, гемопоетичну дію. В організмі (переважно у печінці) перетворюється в коферментну форму - аденозилкобаламін, або кобамамід, який є активною формою вітаміну B_{12} і входить до складу численних ферментів, у т.ч. до складу редуктази, що відновлює фолієву кислоту в тетрагідрофолієву. Володіє високою біологічною активністю. Кобамамід бере участь в перенесенні метильних і ін одновуглецевих фрагментів, тому він необхідний для утворення дезоксирибози і ДНК, креатину, метіоніну - донора метильних груп, у синтезі ліпотропної фактора - холіну, для

перетворення метилмалоновой кислоти в бурштинову, що входить до складу мієліну , для утилізації пропіонової кислоти. Вітамін B_{12} впливає на функцію печінки і нервової системи, підвищує здатність тканин до регенерації.

Для зменшення побічної ді ізоніазиду відомі композиції ізоніазіду з 5-фторурацилом або з натрієвими солями ДНК з молочок риб та індивідуальним глікозидом рослини Stevia rebaudiana - стевіозідом або стевіолбіозідом, або сумішю глікозидів зазначеної рослини.

Так само відомо, що використання ізоніазіда у вигляді композицій з природними полісахаридами різної будови (крохмаль, декстран, пектин) знижує його токсичність. Ці композиції пролонгованої дії дозволяють зменшувати терапевтичні дози ізоніазіда. Максимальне зниження гострої токсичності в цьому ряду протитуберкульозних засобів було виявлене для композиції ізоніазіда з пектином.

1.5 Раціональне поєднання тіотриазоліну з іншими лікарськими засобами

Тіотриазолін - вітчизняний оригінальний лікарський препарат. На сьогодні його широко застосовують в медичній практиці у вигляді різних лікарських форм та його комбінованих лікарських препаратів: "Тіоцетам", "Індотрил" та "Тіодарон" [83, 101].

Показана протиішемічна ефективність комбінованого застосування антиоксиданту тіотриазоліну та інгібітора циклооксигенази ацелізину. В дослідах in vitro встановлена здатність вказаної комбінації модифікувати кінетику біохемілюмінісценції шляхом пригнічення вільнорадикальних процесів. Профілактичне використання тіотриазоліну в комбінації з ацелізином пригнічує процес радикалоутворення. Включення тренталу і тіотриазоліну в комплексі терапії гострого панкреатиту сприяло більш ранньому купіруванню клінічних симптомів хвороби, нормалізації

лабораторних показників і скороченню часу лікування хворих в стаціонарі. Трентал і тіотриазолін в умовах гострого експериментального панкреатиту перешкоджають зниженню напруги O_2 в залозі, усуваючи таким чином гіпоксію, нормалізують реактивність судин мікроциркулярного русла підшлункової залози, пригнічують процеси перекисного окислення ліпідів і перешкоджають зсуву в активності дегідрогеназ. При застосуванні комбінації тіотриазоліну і Магне B_6 збільшився відсоток вагітних з низьким індексом тополізу, що вказує на високу ефективність тіотриазоліну в комбінації Магне В6 для профілактики загрози переривання вагітності у першопороділь віком понад 30 років у пологодопоміжних закладах [104, 113, 155].

На теперішній час розроблено і випускаються промисловістю нові комбіновані лікарські препарати, такі як "Тіоцетам" та "Тіоцетам форте", в вигляді таблеток та ампульних ін’єкційних розчинів. Комбіновані лікарські засоби "Тіоцетам" та "Тіоцетам форте" на сьогодні зареєстровані не тільки в Україні, але і в країнах ближнього зарубіжжя, таких як Росія, Білорусь, Молдова, Узбекистан, Грузія та інші.

Крім того, велику увагу заслуговує новий комбінований лікарський засіб, властивості якого зумовлені його складовими - аміодароном гідрохлоридом та тіотриазоліном – "Тіодарон". Фармакологічна перевага такого комбінованого препарату в порівнянні з аміодароном зумовлена взаємнопотенціючою дією аміадорону і тіотриазоліну, а також зменшення токсичної дії аміодарону за рахунок гепотопротекторних властивостей тіотриазоліну.

Перспективним та ефективним підходом в лікуванні ревматичних захворювань є застосування нестероїдних протизапальних засобів разом з препаратами групи антиоксидантів.

Таким чином, створенний фіксований комплексний препарат індометацину з тіотриазоліном ("Індотрил") для лікування запальних

захворювань, остеоартрозу, артриту та ревматоїдного артриту. На теперішній час "Індотрил" зареєстрований на Україні і готується до серійного випуску.

З врахуванням фармакологічної дії тіотриазоліну можна прогнозувати, що його поєднання з іншими лікарськими засобами знайде продовження в експериментальних дослідженнях для створення нових комбінованих лікарських форм різних напрямків дії [4, 71, 116].

1.6 Сучасний стан виробництва та контролю якості таблеткованих препаратів

Серед готових лікарських форм, які випускаються в Україні і в світі, таблетковані лікарські препарати займають одне з перших місць. Новаторами в створенні таблеткованих лікарських форм є вітчизняні вчені зі світовими іменами Є. Е. Борзунов, М. В.Штейнгарт, Т. А. Грошовий, М. О. Казаринов, П. Д. Пашнєв та ін. [37, 78] .

Розробка оптимального складу і технології таблеток визначається фізико-хімічними, кристалографічними та фармако-технологічними властивостями порошків, що входять до їх складу. Ці властивості тісно пов’язані між собою і впливають на процес пресування та одержання якісних таблеток [22, 112, 125].

1.6.1 Технологія таблеток методом прямого пресування. Пряме пресування, серед відомих методів виробництва таблеток, відрізняється простотою виконання, так як при цьому лікарську речовину змішують з необхідною кількістю допоміжних речовин і пресують на таблетувальних машинах. Метод прямого пресування застосовується для порошків, які мають добру текучість, пластичність та інш. В нашій країні дослідження із створення таблеткованих препаратів методом прямого пресування проводились І. П. Кожакіною і М. В. Штейнгартом [37] .

Для оцінки придатності порошків до безпосереднього пресування визначають основні характеристики – плинність, здатність до пресування, які в свою чергу, залежать від форми та розміру частинок субстанції. Лікарські речовини із ізодіаметричною формою кристалів володіють кращою сипучістю, відносно високою насипною масою; анізодіаметрична форма кристалів зумовлює добру спресованість, але призводить до погіршення текучості [23, 24].

Відомо, що на форму кристалів впливають використання різних розчинників, умов кристалізації, які можуть призвести до зміни форми кристалів і поліморфного стану речовини. Також форма кристалів може змінюватись при зберіганні внаслідок росту кристалів. Тому необхідно враховувати текучість порошків, яка визначається кристалографічною формою. Форма кристалів порошків впливає на орієнтацію частинок, змінюючи такі характеристики речовини, як текучість, розчинність, здатність до стиснення, компактність. Тому необхідно знати фактори, які визначають форму кристалів, і їх вплив на характеристики лікарських форм.

При створенні таблеткованих лікарських форм звертають увагу на розміри і форму кристалів. Це використовується також при створенні пролонгованих таблеткованих лікарських форм [148, 183].

В звязку з тим, що більшість лікарських порошків не мають достатньої текучості використовують різні допоміжні речовини [29, 33, 124, 131, 189].

При виробництві таблетованої лікарської форми важливе значення має не лише вибір методу її одержання, але і вибір допоміжних речовин та їх співвідношення в складі таблеток [122, 162, 168]. Допоміжні речовини у виробництві таблеток використовуються з метою надати масі для таблетування необхідні технологічні властивості, забезпечити точність дозування, механічну міцність таблеток, розпадання і стабільність їх при зберіганні. В залежності від фізико-хімічних властивостей лікарських речовин, методу отримання таблеток, рекомендованих дозувань і цілого ряду інших факторів, застосовують різні групи допоміжних речовин: наповнювачі, дезінтегратори, антифрикційні (ковзькі, змащувальні речовини), коригенти смаку, регулятори динаміки вивільнення лікарських речовин, барвники та ін. Але чіткого їх розділення на групи немає, оскільки одні і тіж речовини можна віднести до декількох груп одночасно [14, 19, 29, 85, 150, 170].

Асортимент допоміжних речовин розширюється шляхом створення їх модифікацій з різними властивостями, що дозволяє в кожному окремому випадку раціонально підібрати склад і технологію при різних методах одержання таблеток, забезпечуючи необхідні фармакокінетичні і терапевтичні властивості. Лікарські засоби, які містять одну і ту ж саму діючу субстанцію, але різний склад допоміжних речовин можуть відрізнятися ефективністю дії [91, 97, 102, 120, 157, 188].

Як наповнювач у виробництві таблеток широко використовують лактозу та її похідні, різні марки якої, відрізняються формою і розмірами частинок, фракційним складом, характеристиками плинності та спресованості. Це дозволяє застосовувати їх при роботі з лікарськими речовинами з різними технологічними властивостями і для різних методів одержання таблеток. У таблетуванні також широко використовуються поєднання лактози з іншими допоміжними речовинами, наприклад, Ludipress – це суміш лактози моногідрату і двох марок ПВП, одна з яких виконує зв′язуючу функцію, а інша - є розпушувачем. Володіючи унікальними

властивостями наповнювача, Ludipress покращує розчинність активної речовини, і, разом з тим, добре пресується, маючи відмінну плинність.

Для отримання таблеток методом прямого пресування широко застосовують МКЦ, яка значно підвищує плинність маси для таблетування, спресовуваність, щільність порошкоподібних субстанцій. Добра пресованність МКЦ пояснюється утворенням водневих зв'язків між частинками при пластичній деформації в процесі стиснення. Крім того, вона легко поглинає воду і підлягає гідратації, що позитивно впливає на вивільнення лікарських речовин із таблеток. МКЦ є хімічно та фізично стабільною, що робить її незамінною у виробництві лікарських форм. МКЦ є поліфункціональною речовиною. При прямому пресуванні її використовують як зв'язуючу, розпушуючу речевину, як наповнювач і ковзкий агент. До даної речовини доцільно додавати магнію стеарат, що на 90 % знижує значення коефіцієнта тертя між масою для таблетування і прес-інструменту. Для прямого пресування достатньо широко, в поєднанні з лактозою, використовують МКЦ 102. Ця композиція покращує плинність маси для таблетування та здатність до пресування. Також МКЦ поєднують з крохмалем [175, 199, 206].

Для розробки технології таблеток із ЛР, що характеризуються незадовільною плинністю доцільно застосовувати МКЦ таких марок - 12, 200, 250, 500 і 800. Порівняно великий розмір її частинок дозволяє зменшити відхилення середньої маси таблеток. Для таблетування ЛР з низькою щільністю використовують МКЦ 301 і 302. На сьогодні розроблено нову силікативну вільнотекучу МКЦ високої густини, яка крім плинності забезпечує підвищення механічної міцності таблеток, що є необхідним при таблетуванні. Використання силікативної МКЦ покращує стабільність таблетованого препарату при зберіганні [19, 29, 85, 206].

Для забезпечення міцності таблеток до їх складу вводять склеюючі або зв'язувальні речовини у вигляді порошку: полівінілпіролідон,

мікрокристалічна целлюлоза або розчинів: трагаканту, пектинів, стеаринової кислоти та ін. У сиропів лактулози, як похідного лактози, присутня висока зв'язуюча здатність, що сприяє одержанню міцних гранул з їх подальшим пресуванням у таблетки. Для покращення міцності таблеток використовують похідні ПВП – кросповідон XL та кополівідон S-630 і їх суміші з МКЦ. Показано, що найкращі результати щодо механічної стійкості досягають при застосуванні комбінації кополівідону S-630 та МКЦ [179, 206, 207, 208].

У фармацевтичній промисловості широко використовують різні види ПВП, які відрізняються середньою молекулярною масою та, відповідно, фізичними властивостями. ПВП виступає в ролі солюбілізатора, покращує розчинність, стабілізує суспензії, емульсії, має добрі адгезивні властивості. Як зв'язувальну речовину його можна вводити у склад маси для таблетування у вигляді розчину. Для кращого зв'язування при таблетуванні можна додавати ПВП у масу для таблетування в сухому вигляді і додатково зволожувати розчином на його основі. При прямому пресуванні як зв'язувальні речовини придатні плаздони: К 90, К90 D. З метою забезпечення модифікованого вивільнення діючих речовин з ЛФ використовують Plasdone К90 М. Особливої уваги заслуговує марка PlasdoneS 630 (коповідон) – це сополімер вінілпіролідону і вінілацетату. Його використовують для сухого гранулювання, в технології шипучих таблеток, як пластифікатор для оболонки. PlasdoneS 630 дуже пластичний, значно підвищує міцність таблеток, дозволяє зменшити силу пресування. Ця речовина більш вологостабільна, ніж звичайний ПВП, має кращу спресовуваність, ніж МКЦ, гідроксіпропілметилцеллюлоза (ГПМЦ) та ін. Звичайно до складу таблеток додають 3-5% ПВП, для речовин з низькою здатністю до пресування - використовують 20-30% даної речовини, а при додаванні 20% досягають пролонгованої дії до 8 год. В залежності від фірми-виробника ПВП може мати різні торгові назви: ISP – Plasdone, BASF – Kollidon [8, 181, 186, 206].

Як зв'язувальну речовину також використовують ГПМЦ (0,5-2 %) та низькозаміщену ГПМЦ.

Ефективність зв'язувальних речовин визначається концентрацією, в’язкістю і величиною макромолекулярних зв‘язків. Встановлено, що із збільшенням вмісту ГПМЦ в таблетках зменшується швидкість вивільнення діючої речовини із таблетованої форми.

При пресуванні ЛР зменшується пористість і цим ускладнюється проникнення рідини в середину таблетки. Для покращення розпадання і розчинення лікарської форми застосовують розпушувачі, які забезпечують механічне руйнування таблеток у рідкому середовищі, що необхідно для швидшого вивільнення діючої речовини. Збільшити біодоступність нерозчинних і погано розчинних у воді ЛР дозволяє використання супердезінтегрантів − це ряд поперечнозв’язаних полімерів.До нихвідноситься натрієва сіль поперечнозв’язаної целюлози −натрій КМЦ, натрієва сіль поперечнозв’язаного крохмалю − натрій гліколят крохмаль, карбоксиметильований крохмаль, поперечнозв’язаний ПВП (кросповідон) і його похідні: Kollidon, Polyplasdon. Ця група речовин поглинає вологу при змочуванні, що зумовлює дезінтегруючий ефект, і при цьому зберігається їх початкова структура. Ці речовини мають здатність суттєво покращувати такі показники якості, як твердість і міцність таблеток [182, 186, 187, 199, 206].

Група антифрикційних речовин використовується з метою полегшення процесу пресування і покращення зовнішнього вигляду таблеток. Вони зменшують тертя та адгезію, що виникає між частинками і поверхнею прес-інструменту. За призначенням їх поділяють на ковзні, змащувальні і протиприлипаючі. Ковзкі речовини покращують плинність маси для таблетування. Це необхідно для швидкого, точного і рівномірного заповнення матриць таблетної машини. Вони обволікають поверхню частинок або гранул, усувають їх шорохуватість і тим самим покращують плинність. Змащувальні речовини полегшують виштовхування таблеток з

прес-інструменту. Вони не тільки знижують тертя на контактних ділянках, але й значно полегшують деформацію частинок, внаслідок адсорбційного зниження їх міцності. Протиприлипаючі речовини використовуються для зменшення адгезії маси для таблетування до прес-інструменту [150, 192, 196].

Як змащувальні речовини використовують магнію стеарат, кальцію стеарат, кислоту стеаринову. Це гідрофобні частинки пластинчатої структури. До їх недоліків можна віднести гідрофобізацію поверхні частинок маси для таблетування, внаслідок чого погіршується їх когезія при пресуванні, а це вимагає збільшення тиску пресування та погіршує розпадання таблеток. Для зменшення негативних властивостей вищезгаданих антифрикційних речовин їх рекомендують вводити до складу таблеток не більше 1%. На фармацевтичному ринку з‘явилися нові змащувальні речовини, які описані в Європейській фармакопеї: гліцерол дистеарат та дибегенат, виробництва французької фірми "Gattefosse".

1.6.2 Деякі аспекти отримання таблеток методом вологої грануляції. Для лікарських препаратів, які неможливо отримати методом прямого пресування, застосовують метод вологої грануляції, який включає в себе два етапи: формування і структурування гранули. На етапі формування вихідній речовині додають форму, яку вона повинна мати в гранульованому вигляді. На етапі структурування в самій гранулі остаточно формуються зв'язки між її частками (кристалами), і виникає гетерофазна структура, що забезпечує необхідні споживчі властивості гранульованого продукту [8, 9, 14, 29, 123, 128].

На стадії формування і структурування необхідно забезпечити взаємодію частинок гранульованої речовини, найчастіше за рахунок механічної енергії в гранульованому шарі:

- робочими органами грануляторів, принцип роботи яких полягає в тому, що матеріал протирається лопатями (валиками або іншими пристосуваннями через перфорований циліндр або сітку);

- теплоносіями у вигляді кінетичної і потенційної енергії (гранулювання у псевдозрідженому шарі);

- у вигляді потенційної або кінетичної енергії для гранульованої речовини, що вводиться в гранулятор (при диспергуванні крапель розплавів, розчинів в потоці теплоносія або в гранульованому шарі).

Для речовини, що гранулюється, необхідна взаємодія частинок між собою, але це недостатньо для утворення гранул. Потрібно щоб сили між часткових зчеплень були більше сил руйнування гранул. В цілому процес гранулювання являє собою послідовність постійних елементарних процесів приєднання і відриву часток гранульованої речовини. При цьому чим більше сили між часткових зчеплень і менше сили руйнування, тим вища ймовірність елементарних процесів приєднання і утворення гранули. В іншому випадку може початися зворотній процес – дроблення і стирання гранул.

Зростання величини питомої (на одиницю об'єму гранульованої маси) механічної енергії, що розсіюється в шарі, підвищує, з одного боку, частоту взаємодії частинок, що сприяє інтенсифікації процесу утворення гранул, а з іншого-збільшує сили руйнування гранул. Тому інтенсивність процесу утворення гранул екстремально залежить від питомої енергії.

Іншим найважливішим чинником, що визначає якість процесу грануляції, є сили міжчасткових зчеплень. Зв'язки між частинками при формуванні і структуруванні гранул можна поділити на три основні класи: твердофазні зв'язки; рідиннофазні зв'язки; механічні зв'язки.

Твердофазні зв'язки виникають за рахунок:

- дифузії молекул або атомів в точках контакту між частками;

- плавлення і затвердіння речовини в цих точках;

- кристалізації розчинених речовин при сушці;

- хімічної реакції.

Швидкість дифузії, як правило, збільшується з підвищенням температури. Речовини з низькою температурою плавлення у процесі гранулювання з підведенням тепла або при його виділенні за рахунок внутрішнього тертя в точках контакту між частинками легко переходять у розплавлений стан за рахунок зниження температури плавлення. Можлива також подача вихідного розплаву в шар в якості зволожувача - при його кристалізації утворюються твердофазні зв'язки. При грануляції зволоженої маси та подальшої сушки гранул викристалізовуються твердофазні зв'язки в місцях контакту твердих часток. При хімічній взаємодії компонентів зволожувача з речовиною утворюються зв'язки нової речовини або комплексної сполуки.

Рідиннофазні зв'язки виникають за рахунок:

- поверхневого натягу плівки рідини;

- в'язких властивостей зволожувача;

- молекулярного тяжіння в адсорбованих тонких шарах.

В якості зволожувача, що утворює рідиннофазні зв'язки, часто використовують воду. До зволожувача для поліпшення його змочувальних властивостей і збільшення поверхневого натягу нерідко додають поверхнево-активні речовини (ПАР).

Розрізняють три способи змочування: адсорбційний, просоченням і розтіканням по поверхні. Здатність до змочування рідини, адгезійна взаємодія їх з твердими тілами, в основному, визначаються природою речовин. Фізична сутність явища змочування рідиною твердого тіла полягає в тому, що при змочуванні відбувається зменшення поверхневої енергії системи. Вирішальне значення при цьому відіграють стан поверхні твердої речовини та її поверхневий натяг. З ростом змочуваності ефективність утворення гранул зростає.

Пластичні зв'язувальні речовини з великою в'язкістю зберігають іноді задану форму поверхні, бо енергія їх деформації набагато перевищує поверхневу енергію. У цьому випадку поряд з поверхневими силами зчеплення необхідно враховувати також сили молекулярної взаємодії поверхні частинок і зв'язуючого.

Адсорбційні тонкі шари забезпечують молекулярний зв'язок між частинками в місцях їх контакту. Активному прояву дії цих сил може сприяти підвищення тиску в місцях контакту (наприклад, при гранулюванні пресуванням). Тяжіння між твердими частинками виникає у дрібнодисперсних порошках за рахунок молекулярної взаємодії контактуючих твердих поверхонь (сили Ван-дер-Ваальса) або електростатичного впливу. Особливо помітні ці сили при взаємодії поверхонь - відразу ж після проведення тонкого розмелу. При русі частинок внаслідок їх тертя виникають електростатичні заряди, величина яких залежить від властивостей матеріалу, умов гранулювання.

Механічні зв'язки виникають за рахунок зчеплення шорстких поверхонь [9].

Незважаючи на широке застосування метод вологої грануляції поступає методу прямого пресування, у якого вилучено низку операцій, властивих методу вологої грануляції, що позитивно позначається на часі таблетування, скорочує матеріальні та енергетичні витрати і сприяє зниженню ціни продукції.

1.7 Оптимізація технології таблеток

Перспективи розвитку фармацевтичної технології тісно пов'язані з впливом науково-технічного прогресу. На базі новітніх наукових відкриттів створюються принципово нові, більш удосконаленні і продуктивні технологічні процеси, які збільшують продуктивність праці і якість готової

продукції. В Україні для прогнозування й оптимізації технологічних процесів успішно застосовується математичне планування експерименту, яке увійшло в технологічну науку і практику [12, 56, 78]. Його використання дозволяє зменшити похибку експерименту, кількість експериментальних досліджень, встановити взаємодію між факторами та інше. Перспективи розвитку фармацевтичної технології визначаються вимогами сучасної фармакотерапії, які передбачають створення максимально ефективних лікарських засобів. Процес створення лікарського засобу є складним і проходить через стадії експериментальних досліджень. Фармацевтична розробка передбачає створення оптимальної лікарської форми та технології її отримання. Досягти цього можна тільки за рахунок проведення великої кількості досліджень. План будь-якого експерименту повинен складатися так, щоб скоротити кількісь дослідів. Такого компромісу практично неможливо досягнути за допомогою суб'єктивних підходів для цього необхідно використовувати математичне планування експерименту [78].

При створенні і вдосконаленні технології таблеткованих препаратів використовують різні методи дисперсійного, регресійного і кореляційного аналізу та обчислювальну техніку. Так, наприклад, математичне планування експерименту використовувалось при створенні таблеток тіотриазоліну, тіоцетаму, тіодарону, індотрилу та ін. [12, 44, 68].

За допомогою методів штучної нейтрональної сітки (ШНС) і спектроскопії в близькій ділянці ІЧ-спектру досліджена можливість прогнозування вмісту лікарської речовини і твердості інтактних таблеток. Метод ШНС може застосовуватися в фармакології для вивчення фармакокінетики і фармакодинаміки, кореляції in vivo- in vitro і т.і. [90]. Це комп’ютерний метод, який імітує узагальнюючу і навчальну функцію людського мозку.

До першочергових завдань фармацевтичної технології слід віднести підвищення розчинності труднорозчиних лекарських речовин у воді та

ліпідах; збільшення стабільності гомогенних і гетерогенних лікарських систем; продовження часу дії лікарських засобів; створення ліків спрямованої дії із наперед заданими фармакологічними властивостями.

На сьогодні великий інтерес представляють також таблетки пролонгованої дії. До них відносяться багатошарові таблетки, таблетки з нерозчинним скелетом, таблетки з іонітами та ін., які все частіше зявляються в аптечній мережі України.

РОЗДІЛ 2
ХАРАКТИРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

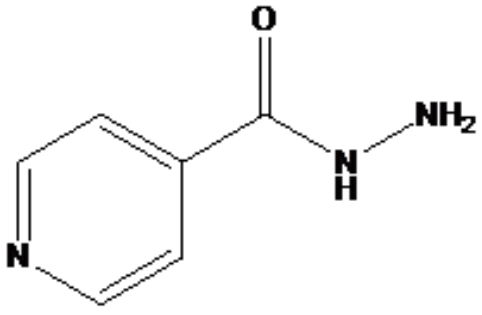
2.1 Об'єкти і методи досліджень

Першочерговим завданням при створенні нових препаратів є пошук високоефективних діючих компонентів та підбір допоміжних речовин, які не тільки забезпечують максимальну ефективність активних речовин, але в деяких випадках, підсилюють дію ЛР чи зменшують негативний вплив на організм в цілому. Від цього залежить ефективність та безпечність лікарських препаратів.

2.1.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження. Усі використані в дослідженнях основні та допоміжні речовини за якісними та кількісними показниками відповідали вимогам нормативно-технічної документації.

Ізоніазид [ДФУ, доп. 2] – піридин-4-карбогідразид кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали, легко розчинний у воді Р, помірно розчинний у 96 % спирті Р.

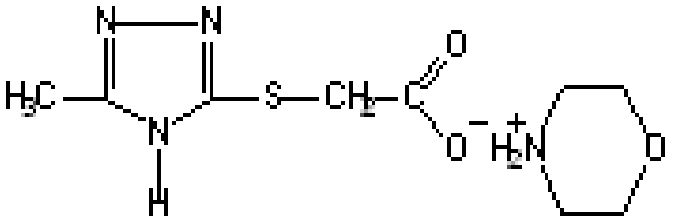
М.м. 137.1



Тіотриазолін – морфоліній-3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат кристалічний порошок білого кольору або білого з жовтуватим або сіруватим відтінком, із слабким специфічним запахом, легко розчинний у воді, помірно

розчиний у 96% спирті, практично нерозчинний в ацетоні, хлороформі, гексані Р (ДФУ, 1.4).

М.м = 260,0



Целюлоза мікрокристалічна – USP30-NF25, P.1094, PhEur, BP, JP: білий без смаку і запаху кристалічний порошок, що складається з пористих частинок; мало розчинний у 5 % розчині натрію гідроксиду Р; практично не розчинний у воді Р, розведених кислотах Р і в більшості органічних розчинників [142].

МКЦ 102 (Фірма MingtaiChemicalCo., Ltd, Тайвань) ЄФ. 2004 01/2004, С.0316

МКЦ 12 (Фірма MingtaiChemicalCo., Ltd, Тайвань) ЄФ. 2004 01/2004, С.0316

Prosolv від JRS PHARMA GmbH & Co. KG, Німеччина: суміш мікрокристалічної целюлози - USP30-NF25, P. 109 та кремнію діоксиду колоїдного - USP30-NF25, P. 1205 [143].

Натрію кроскармелоза - USP30-NF25, P. 1106, PhEur, BP: подрібнений порошок без запаху, білого або білого з сіруватим відтінком кольору. Не розчинний у воді Р, але при контакті з водою швидко набухає, практично нерозчинний в ацетоні Р, етанолі Р та толуолі Р [144].

Kollidon CL (Фірма BASF, Німеччина) ЄФ, п. 2.6. Japanese Pharmacopoei Excipients Handbook - тонкодисперсний порошок з низькою об'ємною щільністю. Не розчинний у воді Р, але при контакті з водою швидко набухає, нерозчинний в ацетоні Р, етанолі Р [142].

ПВП низькомолекулярний ТОВ "АК Синт-Віта", Росія ФС 42-1194-98: порошок білого або білого із злегка жовтуватим відтінком кольору із слабким специфічним запахом. Гігроскопічний. Легко розчиний у воді Р, спирті Р, хлороформі, практично нерозчиний в ефірі.

*Плаздон к 29-32- ДФУ (1 Вид, доп. 1, с. 435)***:** гігроскопічний порошок або пластівці білого або жовтувато-білого кольору. Легко розчинний у воді Р, 96 % спирті Р і метанолі Р, мало розчинний в ацетоні Р.

Plasdone S 630 (коповідон) – синтетичний 60:40 сополімер вінілпіролідону і вінілацетату. Порошок білого кольору. Легко розчинний у воді Р.

Кросповідон -USP30-NF25, P. 1107, PhEur, BP: не розчинний у воді Р синтетичний зшитий гомополімер N-вініл-2-піролідинон, від білого до світло-кремового кольору, тонко подрібнений, сипкий, практично без смаку та запаху гігроскопічний порошок [143].

Крохмаль картопляний (Фірма "Avebe", Німеччина) ЄФ 2003, 01/2003, С. 0355: білий, хрусткий, аморфний і дуже гігроскопічний порошок без смаку і запаху. Нерозчинний у холодній воді, ефірі, спирті; у гарячій воді набухає і утворює колоїдний розчин-крохмальний клейстер [144].

Крохмаль кукурудзяний - однорідний порошок білого кольору з жовтуватим відтінком, без сторонніх запахів. Нерозчинний у холодній воді, ефірі, спирті; у гарячій воді набухає і утворює колоїдний розчин-крохмальний клейстер.

Арбоцель 300 European Pharmacopia (European Pharmacopia 5lh edition 2007 - білий або майже білий, без запаху і смаку порошок, крупний тип порошкової целюлози з відмінною сипучістю. Нерозчинний у воді Р і органічних розчинниках [128, 142].

Лудипрес від BASFAktiengesellschaft, Німеччина: суміш лактози моногідрату - USP30-NF25, Р. 1144 і повідону – ДФУ (1 Вид, доп. 1, с. 435).

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

Тальк - ДФУ (1 Вид., доп. 2, с. 553): легкий, однорідний порошок білого або майже білого кольору, маслянистий на дотик. Практично не розчинний у воді Р, 96 % спирті Р і в розведених розчинах кислот і гідроксидів лужних металів.

Аеросил - USP30-NF25, P. 1205, PhEur, BP: білий, аморфний, непористий, індиферентний порошок, що розпушується, містить 99,3 % SiO_2 Аеросил не розчиняється у воді Р, кислотах Р і розведених лугах Р.

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

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

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

Compri S – ЕР, (фірма Suedzucker AG, Германия) сахароза з глюкозним сиропом розмір часток 0,1-1,0 мм, білі гранули, розчині у воді Р та етанолі Р.

Compri M3 – USP NF 18, (фірма Suedzucker AG, Германия), сахароза с мальтодекстрином розмір часток 0,2-0,6 мм, білі гранули, розчині у воді Р та етанолі Р.

2.2 Характеристика методів дослідження

Оцінку технологічних параметрів проводили загальноприйнятими методами згідно вимог ДФУ [23, 24, 25, 26, 27].

Плинність**.** Плинність визначали за методикою ДФУ (1 Вид., п. 2.9.16, с.163) за допомогою методу нерухомої лійки та методу лійки з вібропристроєм.

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

Кут природного укосу визначає потенційну плинність матеріалу і характеризує форму, розмір, питому поверхню часток та когезійні властивості сипкого матеріалу. Вимірювання кута природного укосу проводили за допомогою візирної лінійки і шкали, котрі додаються до приладу ВП-12 А. В лійку, отвір якої знизу закрито, засипали точну наважку (50,0 г) порошку з точністю 0,01 г. Вмикали вібратор і відкривали вихідний отвір, даючи можливість порошку висипатись. Після цього підводили кутомір і за його шкалою визначали кут, який утворився між конусом та площиною поверхні. Для добре сипучих матеріалів кут має бути в межах 25 – 35 º, для зв’язаних матеріалів 60 – 70 º. Чим менше кут природного укосу, тим краща плинність.

Насипну густину. Визначення проводили за методикою ДФУ (1 Вид., п. 2.9.15, с. 162). Насипну густину визначали шляхом вільного висипання 100 г

досліджуваної речовини в градуйований скляний циліндр, який закріплювали на відповідному приладі.

Зовнішній вигляд таблеток. Згідно ДФУ (1 Вид., доп. 2, с. 335). Зовнішній вигляд таблеток визначали візуально при денному освітленні, розглядаючи їх на білому фоні, відбираючи пробу з 20 таблеток. Контролювали форму, колір таблеток і рівномірність поверхні.

Визначення середньої маси таблеток. Згідно ДФУ (1 Вид., доп. 1, п. 2.9.5, с. 70-71). Зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу. Для таблеток даної маси припустиме відхилення складає ±5 %.

Визначення стійкості таблеток до роздавлювання. Випробування таблеток на стійкість до роздавлювання проводили згідно методики ДФУ (1 Вид., п. 2.9.8 с. 161-162) на приладі моделі ТВТ фірми “Ервека” (Німеччина). Для таблеток, діаметром 10 мм стійкість до роздавлювання повинна бути не менше 30Н.

Однорідність маси. Випробовування проводили згідно ДФУ (1Вид., доп. 1, п. 2.9.5, с. 70-71). При цьому зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу, жодна індивідуальна маса не має відхилятися від середньої на ±5 %.

Визначення стираності таблеток. Згідно з ДФУ (1 Вид., доп. 2, п. 2.9.7, с.146-147). Випробування проводили з метою з’ясування стійкості таблеток до дії механічного удару або стирання. При визначенні стиранності використовували пристрій барабанного типу з однією лопаттю (рис. 2.1).

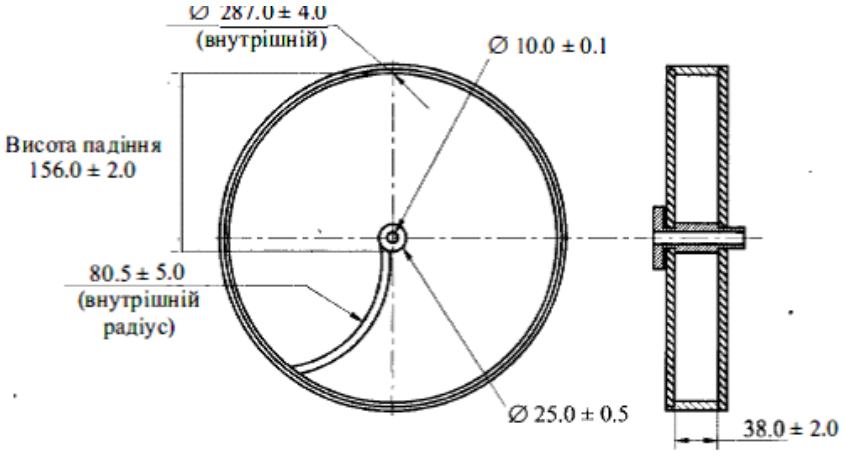


Рис. 2.1. Прилад для визначення стираності таблеток

Визначення розпадання таблеток. Дослідження розпадання таблеток проводили згідно ДФУ (1Вид., доп. 2, п. 2.9.1. с. 131) на лабораторному ідентифікаторі процесу розпадання 545Р-АК-1 (МЗТУ) (рис. 2.2).

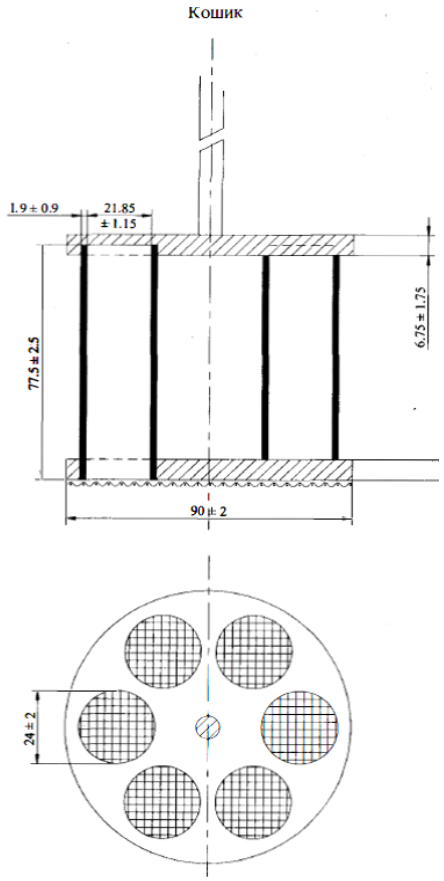


Рис. 2.2. Обладнання для визначення розпадання таблеток довжиною не більше 18 мм

Розчинення таблеток. Випробування на цей тест проводилось згідно з методикою, наведеною в ДФУ(1 Вид., доп. 2, п. 2.9.3, с.134). Був використаний прилад з лопаттю (рис. 2.3). Згідно з методикою за 45 хв у розчин має перейти не менше 75 % і не більше 115 % діючої речовини від вмісту, зазначеного у складі.

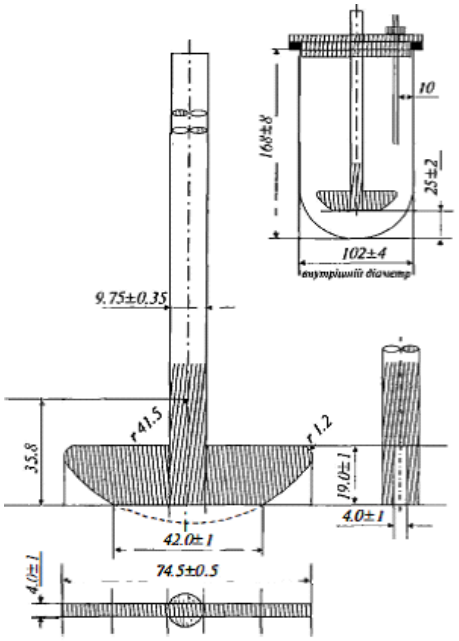


Рис. 2.3. Прилад для проведення тесту "Розчинення". Перемішуючий елемент – лопать

Спектрофотометрія – визначення ізоніазиду згідно ДФУ (1 Вид., п. 2.2.24, с. 34).

Тонкошарова хроматографія – визначення домішок згідно ДФУ (1Вид., п.2.2.27, с. 41).

Рідинна хроматографія - визначення діючих речовин згідно ДФУ (1 Вид., п. 2.2.29, с.47).

Вивчення біодоступності, фармакологічних властивостей, безпечності (гостра токсичність ($ЛД_{50}$), загальна і нейротоксичність, гепатоксічність), фармакокінетичних показників та розробки аналітично-нормативної документації використані як субстанції лікарських препаратів, так і таблетки, а також фармакопейні та робочі стандартні зразки. Для проведення доклінічних досліджень в повному об’ємі були використані 120 білих безпородних щурів обох статей масою 140-160 г, отриманих з розплідника ДУ "Інститут фармакології та токсикології АМН України".

Методи квантово-хімічних розрахунків

Для визначення можливих комплексів ізоніазиду та тіотриазоліну використана методика, запропонована Пульманом для побудування можливих гідратованих комплексів органічних молекул. Енергія міжмолекулярних взаємодій між компонентами розраховувалась напівемпіричним континуальним методом SMD. Розрахунки виконані за допомогою пакету Gaussian 09 [151].

Статистична обробка

Статистичну обробку проводили методами математичної статистики з використанням пакетів прикладних програм "Биостатистика для Windows, версия 4.03" і "Microsoft Excel 2002" (ліцензія, SerialnumberAXXR712D833214FAN5, Netid 15L9U, CD-KEIVANCVVNMU7BCJRUTV9KC). Для кожної ознаки, що досліджувалась, визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки середнього арифметичного (m). Нормальність розподілення перевіряли з використанням тесту Колмогорова-Смирнова. За умови відповідності нормальності розподілу достовірність отриманих відмінностей величин, що порівнювались, оцінювали за допомогою t-крітерію Стьюдента. Достовірність відмінностей відносних величин оцінювалась з використанням критерію χ^2. Достовірними вважали відмінності з рівнем значимості більше 95% ($p<0,05$) [48].

Референс (стандартні препарати)

Як референс-препарат використано:

- ізоніазид.

РОЗДІЛ 3
РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ І ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК "ТРІОТИАЗИД"

3.1 Обгрунтування складу комбінованого лікарського препарату "Тріотиазид"

В основу дослідження поставлена задача удосконалення протитуберкульозного лікарського засобу – ізоніазиду шляхом введення до складу засобу іншої активної речовини - тіотриазоліну. Тіотриазолін знижує його токсичність, і яка має додатковий, більш широкий спектр дії і володіє сильнішою активністю, що забезпечить зниження токсичності комбінованого протитуберкульозного лікарського засобу у порівнянні з відомими препаратами і підвищення його фармакологічної активності [77, 94].

Останнім часом активно розробляються лікарські засоби у вигляді фіксованих комбінацій, які містять сумісні за фізико-хімічними і фармакологічними характеристиками антиоксиданти і препарат базової терапії. Наявність антиоксиданту в таких засобах визначає значно вищу, в порівнянні із застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність і безпеку таких засобів [30, 32, 94].

В доступній науковій та патентній літературі не знайдено описання вже існуючих фіксованих комбінованих таблеткованих лікарських форм, до складу яких включені ізоніазид та антиоксидант.

Відомо, що ізоніазид є достатньо токсичним препаратом і має ряд серйозних побічних ефектів, наприклад, тих, що спрямовані на порушення тонких ланок метаболізму нейроцитів, кардіоцитів і гепатоцитів; ізоніазид проявляє нейрон-, кардіо-, гемато- і гепатотоксичність. Він негативно впливає на діяльність серцево-судинної, нервової та гепато-біліарної систем і системи кровотворення. Введення тіотриазоліну до складу лікарського засобу

з ізоніазидом значно знижує негативний токсичний вплив останнього на центральну нервову, серцево-судинну, гепатобіліарну системи і на кровотворення, і тим самим підвищує безпеку лікування туберкульозу [46, 52, 74, 77, 92]. Подібний ефект має місце внаслідок того, що тіотриазолін володіє потужними антиоксидантними властивостями, знижує гіперпродукцію супероксидрадикалу і пероксинітриту, попереджає окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, чинників транскрипції, активує антиоксидантну систему ферментів. Тіотриазолін проявляє також метаболітотропну дію, направлену на збереження окислювальної продукції енергії, зменшення вираженості мітохондріальної дисфункції і апоптозу. Тіотриазолін є сильним гепатопротектором. Метаболітотропні і гепатопротективні властивості тіотриазоліну забезпечують значне зниження негативного впливу ізоніазиду на організм людини. Пропонована фіксована комбінація ізоніазиду і тіотриазоліну забезпечує значне підвищення безпечності лікування туберкульозу.

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

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

В результаті проведених фармакологічних досліджень було встановлено, що найбільш оптимальним співвідношенням ізоніазиду і тіотриазоліну у пропонованому засобі є 4:1.

3.2 Квантово-хімічні розрахунки суміші ізоніазиду з тіотриазоліном

В процесі таблетування та зберігання комбінованих таблеток між діючими речовинами, які входять до їх складу, можлива хімічна взаємодія. Це може привести до псування лікарського засобу та неможливості їх зберігання, що приводить до неможливості створення таких комбінованих таблеток. Для підтвердження можливості створення таблеткованої комбінованої лікарської форми були проведені квантово-хімічні розрахунки діючих речовин. Дослідження проведенні на базі Державної наукової установи Науково-технологічного комплексу "Інститут монокристалів" НАН України (м. Харків) під керівництвом Шишкіної С. В.

Виходячи з цілого набору факторів, теоретичне моделювання енергетики та будови можливих комплексів ізоніазиду з тіотріазоліном є нетривіальним завданням. Так, в молекулах присутні декілька груп, між якими можуть утворюватися ті чи інші водневі зв'язки, що залежать від взаємного розташування і конформації молекул. Молекула 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти (МТСА) є конформаційно лабільною. Було показано, що це з'єднання може існувати в декількох близьких по енергії конформаційних формах [98, 140]. Тому для знаходження можливих молекулярних комплексів необхідно використати методи, які гарантують аналіз всіх можливих конформерів молекул і всіх варіантів їх взаємного розташування в комплексах. Таке завдання, за своєю суттю, близько до задачі "молекулярного докінгу" - знаходження найкращого варіанту взаємодії даної молекули з мішенню, в якості якої зазвичай виступають макромолекули або їх фрагменти такі як активний центр білка.

Беручи до уваги складність знаходження всіх варіантів взаємодії в трикомпонентної системі, рішення цього завдання в розумний час можливо

лише методами молекулярної механіки. З іншого боку, методи молекулярної механіки не можуть гарантувати прийнятну надійність результатів. Тому результати молекулярно-механічного моделювання необхідно уточнювати за допомогою квантово-хімічних розрахунків. В якості методу розрахунку був вибраний функціонал щільності B97D [158], який включає в себе емпіричну дисперсійну поправку і є одним з кращих функціоналів для оцінки енергетики міжмолекулярних взаємодій [127]. Базисним набором виступав 6 - 311G ** [195], який є компромісним рішенням між якістю та обчислювальною складністю. Для моделювання сольватаційоних ефектів використовували напівемпіричний континуальний метод SMD [174], який є найбільш точним з існуючих континуальних моделей, зокрема для розрахунку енергій сольватації іонних сполук. Всі квантово-хімічні розрахунки були проведені за допомогою пакету Gaussian 09 [151].

Таким чином, використовувалася наступна схема знаходження найбільш стабільних комплексів ізоніазиду з тіотриазоліном:

- методом генетичного конформационного пошуку з використанням силового поля MMFF94, що реалізований у програмі OpenBabel [179], були знайдені можливі комплекси, які відрізняються взаємною орієнтацією молекул і їх конформацією. Всього для кожної системи було розраховано близько 10000 комплексів, що для подібних систем гарантує повне покриття варіаційного простору;

- з комплексів отриманих на попередньому кроці були відібрані 100 найбільш енергетично вигідних, для них була проведена попередня оптимізація геометрії методом (SMD /) B97D/6-31G *;

- остаточна оптимізація 10 найбільш енергетично вигідних комплексів отриманих на попередньому кроці була проведена методом (SMD /) B97D/6-311G **

Для кожного типу комплексів було проведено розрахунок частот нормальних коливань в гармонійному наближенні й розрахована вільна

енергія Гіббса при 298 K у наближенні жорсткого ротора. Енергія утворення комплексів була розрахована як різниця між вільною енергією комплексу та сумою вільних енергій його ізольованих компонент.

Результати квантово-хімічних розрахунків структури та енергетики створення молекулярних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном наведені на рис. 3.1-3.9, будова ізольованих молекул і нумерація атомів показані на рис. 3.1.

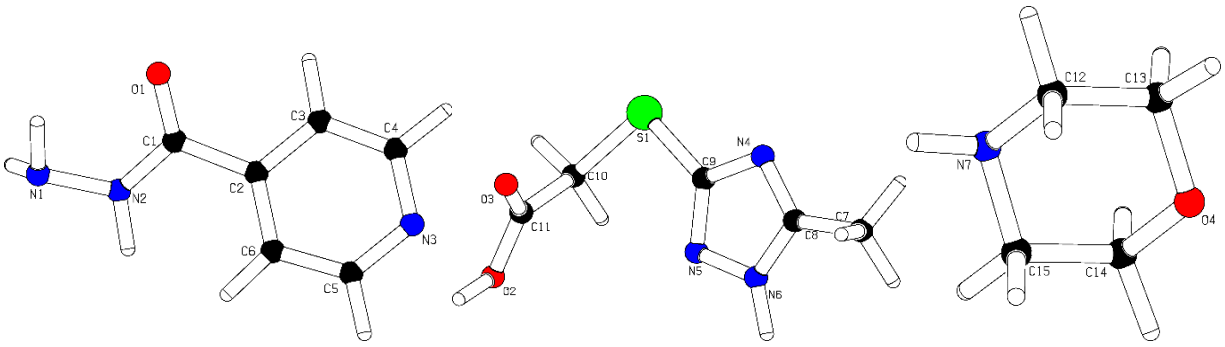
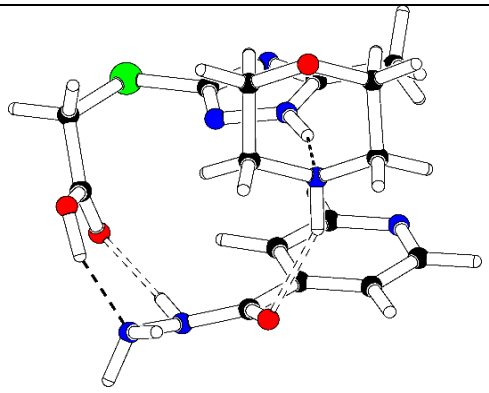


Рис. 3.1. Будова молекул ізоніазиду, МТСА і морфоліну і використована нумерація атомів

У всіх знайдених найбільш стабільних комплексах між компонентами утворені множинні водневі зв'язки, які очевидно є основними межмолекулярними взаємодіями. Внаслідок невідповідності числа донорів і акцепторів протона в молекулах, які утворюють комплекси, неможливо одночасно утворити водневі зв'язки з участю всіх донорів протона в силу геометричних причин, а також високої конформаційної рухливості молекул, в першу чергу МТСА, в знайдених комплексах компоненти мають різну орієнтацію відносно один одного і реалізують різні міжмолекулярні взаємодії. При цьому всі знайдені найбільш стабільні трикомпонентні комплекси є щільно пов'язаними - кожен з компонентів утворює водневі зв'язки з двома іншими. Також, ні в одному з найбільш стабільних комплексів не утворені внутрішньомолекулярні водневі зв'язки. Необхідно

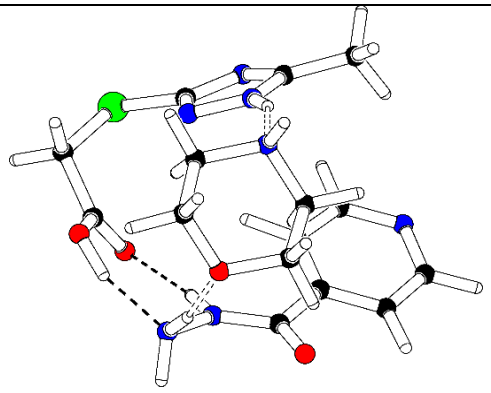
відзначити, що молекула МТСА в комплексах знаходиться в "ортогональній" конформації, в якій зв'язок CH_2-C(OOH) орієнтований практично перпендикулярно площині триазольного кільця. Раніше було показано, що така конформація не є найбільш енергетично вигідною для вільної молекули МТСА, але реалізується в кристалі й у водному розчині [140]. Квантово-хімічні розрахунки показують, що в газовій фазі утворення трикомпонентних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном енергетично вигідно, вільні енергії утворення найбільш стабільних комплексів перевищують - 13 ккал/моль (рис. 3.2).



N3-1(g)

ΔG_{form}^{298} = -13.4 ккал/моль

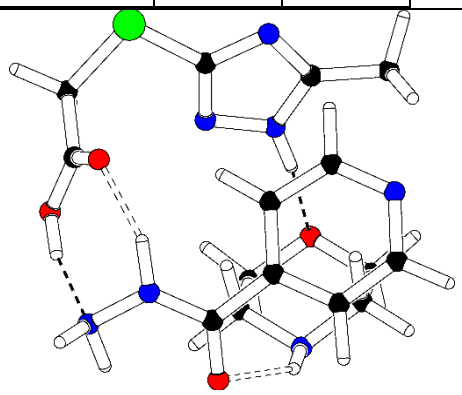
N2-H...O3	1.87	149
N6-H...N7	1.76	164
N7-H...O1	2.09	151
O2-H...N1	1.78	162



N3-2(g)

ΔG_{form}^{298} = -13.3 ккал/моль

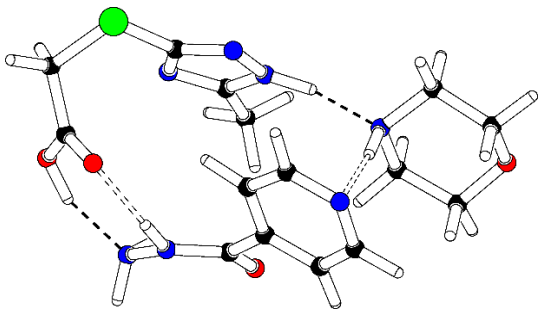
N1-H...O4	2.00	167
N2-H...O3	1.83	154
N6-H...N7	1.85	156
O2-H...N1	1.79	163



N3-3(g)

ΔG_{form}^{298} = -10.5 ккал/моль

N2-H...O3	1.83	152
N6-H...O4	1.77	174
N7-H...O1	2.21	144



N3-4(g)

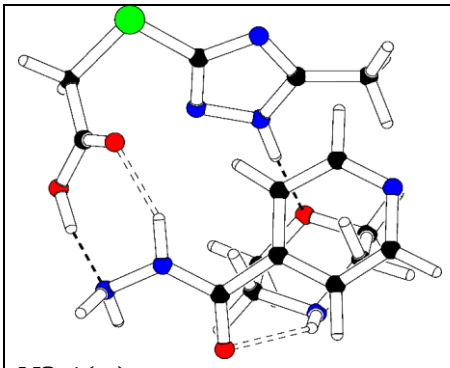
ΔG_{form}^{298} = -9.4 ккал/моль

N2-H...O3	1.86	150
N6-H...N7	1.75	168
N7-H...N3	2.60	169

	O2-H...N1	1.80	167			O2-H...N1	1.81	160

Рис. 3.2. Будова найбільш стабільних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном в газовій фазі, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу B97-D/6-311G * *

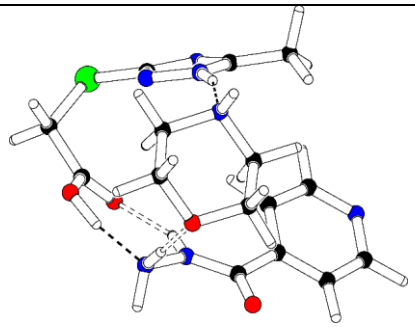
При цьому 4 найбільш стабільних комплексів мають схожу будову. Карбоксильна група МТСА і гідразин група ізоніазиду пов'язані двома сильними водневими зв'язками O2 -H ... N1 і N2- H ... O3 , які можна охарактеризувати як резонансно - посилені [163]. Протонований атом триазольного циклу утворює водневий зв'язок з азотом або киснем молекули морфоліну, яка, у свою чергу, зв'язується водневим зв'язком з молекулою МТСА. У водному розчині такі комплекси мають схожу будову (рис. 3.3).



N3-1(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -2.2 ккал/моль

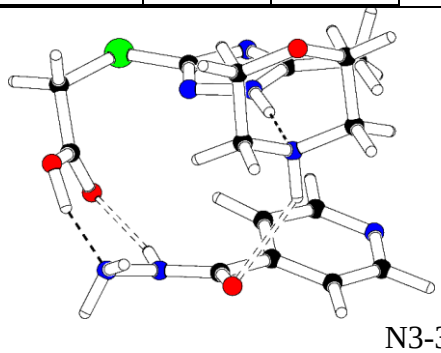
N2-H...O3	1.91	150
N6-H...O4	1.77	175
N7-H...O1	2.41	137
O2-H...N1	1.67	169



N3-2(w)

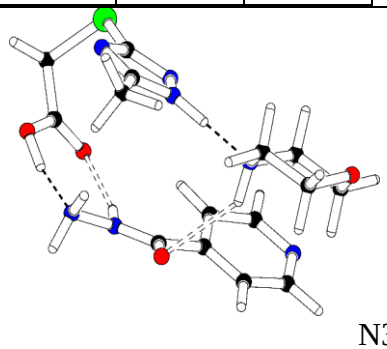
$ДG_{form}^{298}$ = -1.8 ккал/моль

N1-H...O4	1.98	176
N2-H...O3	1.92	150
N6-H...N7	1.77	162
O2-H...N1	1.64	170



N3-3(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -0.4 ккал/моль



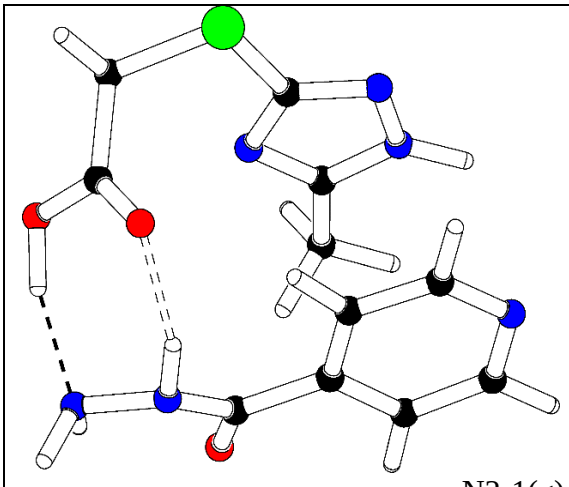
N3-4(w)

$ДG_{form}^{298}$ = 0.6 ккал/моль

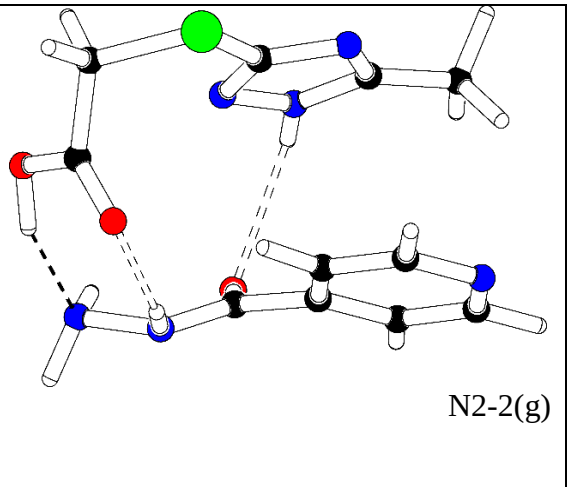
N2-H...O3	2.00	146		N2-H...O3	2.03	147	
N6-H...N7	1.69	177		N6-H...N7	1.66	180	
N7-H...O1	2.35	139		N7-H...O1	2.43	141	
O2-H...N1	1.66	165		O2-H...N1	1.64	166	

Рис. 3.3. Будова найбільш стабільних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном водному розчині, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу SMD/B97-D/6-311G **

Більше того, з 4 найбільш стабільних комплексів у газовій фазі і в розчині, три мають однакове розташування молекул і мережа освічених водневих зв'язків, проте, різний порядок стабільності : N3 -1 (g) та N3 -3 (w) , N3 -2 (g) і N3 -2 (w) , N3 -3 (g) і N3 -1 (w). Цікаво відзначити, що в розчині спостерігаються набагато сильніші водневі зв'язки O2 -H ... N1 (1.64-1.67 Å) , ніж в газі (1.78-1.81 Å) , але при цьому послаблюються зв'язку N7 -H ... O1 (2.09-2.21 Å і 2.35-2.41 Å в газі і розчині, відповідно). Розрахована енергія утворення комплексів у водному розчині значно нижче, ніж в газі. Тим не менш, знайдено 2 можливих стабільних комплекси, які мають негативну вільну енергію утворення близько -2 ккал/моль. Двокомпонентні комплекси ізоніазиду з МТСА (рис. 3.4-3.5) також стабільні як в газовій фазі (до -6.6 ккал/моль), так і в розчині (до -2.6 ккал/моль).



N2-1(g)



N2-2(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -6.6 ккал/моль

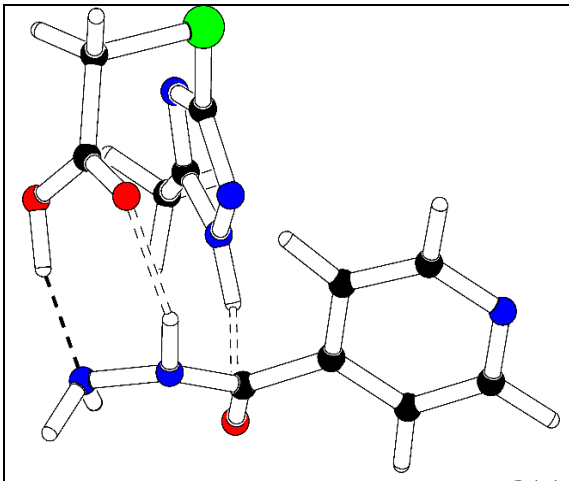
N2-H...O3	1.88	149
O2-H...N1	1.76	162

$ДG_{form}^{298}$ = -5.6 ккал/моль

N2-H...O3	1.96	143
O2-H...N1	1.77	157

	N6-H...O1	2.42	129	

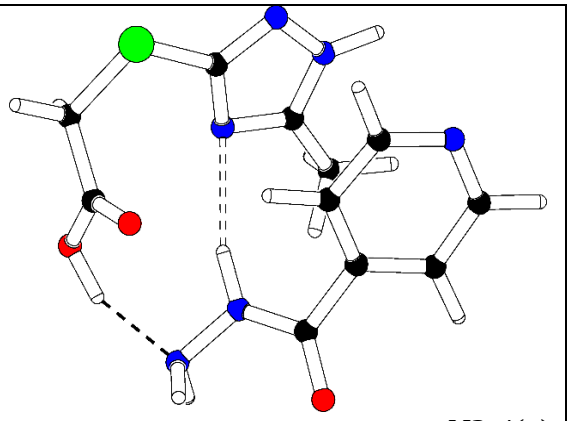
Продовж. рис. 3.4



N2-3(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -4.9 ккал/моль

N2-H...O3	1.97	147
N6-H...O1	2.17	135
O2-H...N1	1.73	165



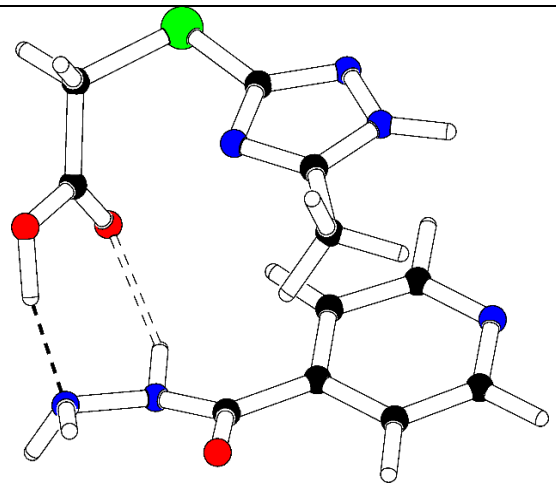
N2-4(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -4.0 ккал/моль

N2-H...O3	2.49	111
O2-H...N1	1.81	157

Рис. 3.4. Будова найбільш стабільних комплексів ізоніазиду з МТСА в газовій фазі, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних

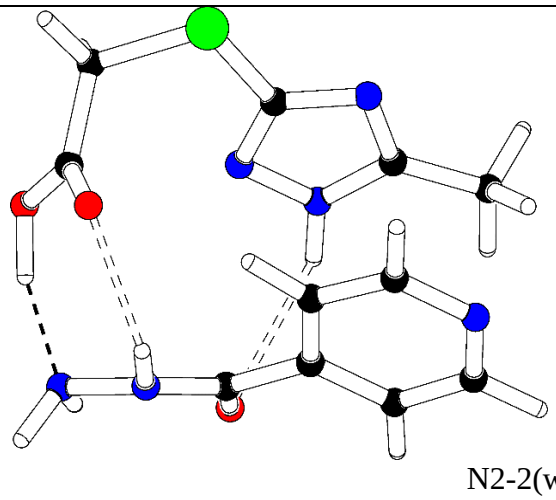
водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу B97-D/6-311G **



N2-1(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -2.6 ккал/моль

N2-H...O3	2.06	141
O2-H...N1	1.66	165

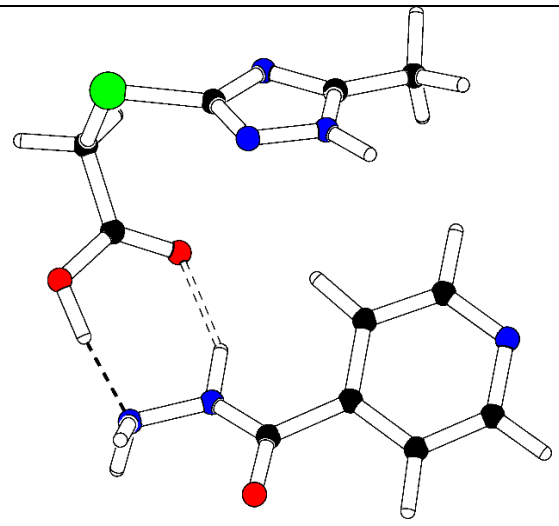


N2-2(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -1.1 ккал/моль

N2-H...O3	2.27	129
O2-H...N1	1.67	161
N6-H...O1	2.55	124

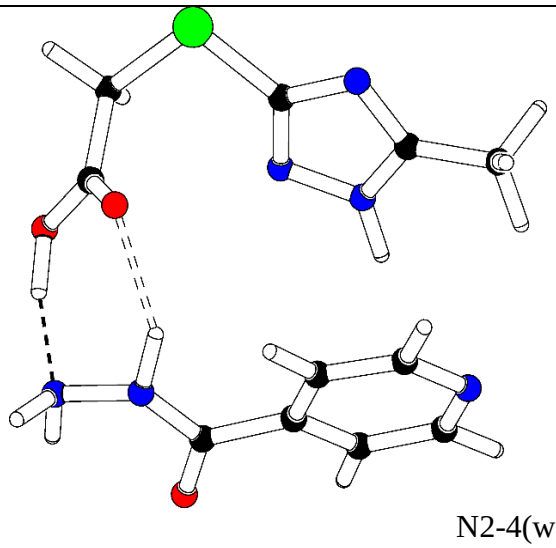
Продовж. рис. 3.5



N2-3(w)

$ДG_{form}^{298}$ = 0.4 ккал/моль

N2-H...O3	1.93	150
O2-H...N1	1.65	173



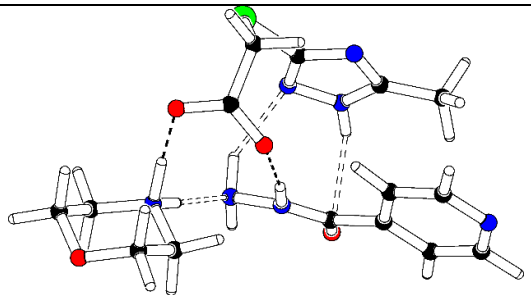
N2-4(w)

$ДG_{form}^{298}$ = 0.7 ккал/моль

N2-H...O3	2.08	142
O2-H...N1	1.64	166

Рис. 3.5. Будова найбільш стабільних комплексів ізоніазиду з МТСА у водному розчині, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу SMD/B97-D/6-311G * *

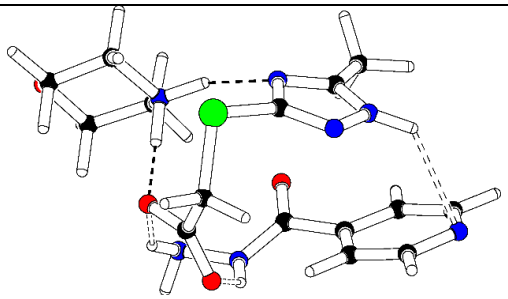
Однак, їх стабільність помітно нижче, ніж трикомпонентних комплексів. У більшості знайдених комплексів також утворені резонансно - посилені водневі зв'язки між карбоксильною і гідразинною групами. Так само, як і в трикомпонентних комплексах, зв'язки O2 -H ... N1 є дуже сильними (H ... N 1.64-1.67 Å). У цих комплексах утворені 2 або 3 міжмолекулярні водневі зв'язки. При цьому їх кількість не є єдиним чинником, що визначає стабільність комплексів. Можна припустити, що важливу роль у формуванні комплексів грають неспецифічні електростатичні і дисперсійні міжмолекулярні взаємодії. Оскільки МТСА і морфолін є кислотою і основою, між ними можливий перенос протона з карбоксильної групи на МТСА на атом азоту морфоліну та утворення солі. За даними квантово-хімічних розрахунків процес такої іонізації і розрив іонної пари невигідний не тільки в газовій фазі (ΔG298 = 124.4 ккал/моль), але й у водному розчині (ΔG298 = 2.1 ккал/моль). Незважаючи на це, можна припустити утворення пов'язаних іонних пар, в яких перенесення протона відбувається всередині молекулярних комплексів. Тому було проведено також пошук відповідних найбільш стабільних комплексів і розрахована їх енергія утворення з урахуванням того, що у вільному стані компоненти комплексів існують в нейтральному стані. Енергія утворення іонних комплексів в газовій фазі практично така ж, як і комплексів нейтральних молекул (рис. 3.6).



Z3-1(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -13.6 ккал/моль

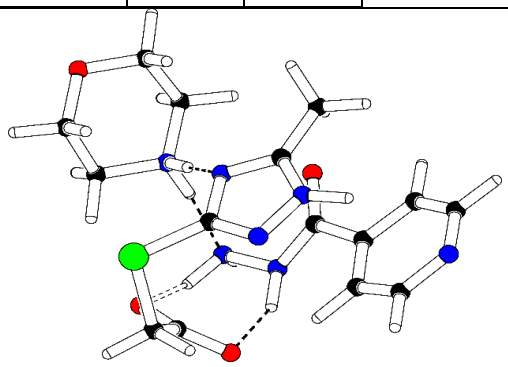
N1-H...N5	2.13	143
N2-H...O2	1.76	165
N6-H...O1	2.45	119
N7-H...N1	1.85	168
N7-H...O3	1.44	175



Z3-2(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -10.1 ккал/моль

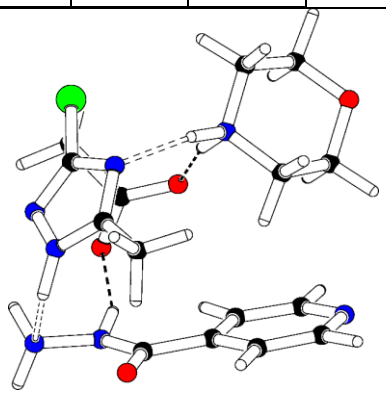
N1-H...O3	2.00	144
N2-H...O2	1.93	144
N6-H...N3	2.55	132
N7-H...N4	1.80	161
N7-H...O3	1.59	175



Z3-3(g)

$ДG_{form}^{298}$ = -10.0 ккал/моль

N1-H...O3	1.87	142
N2-H...O2	1.75	154
N7-H...N1	1.73	167
N7-H...N4	1.80	179



Z3-4(g)

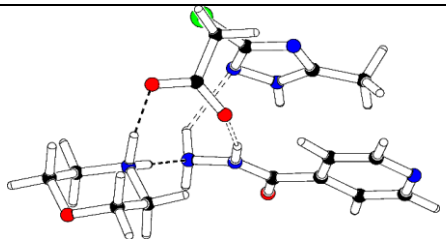
$ДG_{form}^{298}$ = -10.0 ккал/моль

N2-H...O3	1.80	154
N6-H...N1	2.20	120
N7-H...N4	1.85	153
N7-H...O2	1.51	166

Рис. 3.6. Будова найбільш стабільних іонних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном в газовій фазі, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу B97-D/6-311G **

При цьому, спостерігається більша різноманітність взаємного розташування молекул і реалізуються водневі зв'язки. Необхідно відзначити створення дуже сильних міжмолекулярних водневих зв'язків між позитивно зарядженою NH2 групою морфоліну і негативно зарядженою карбоксильною групою з відстанями H ... O до 1.44 Å. Настільки коротка відстань між

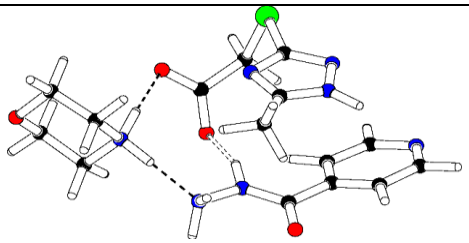
акцептором і протоном може свідчити про прагнення системи до зворотного переносу протона. У водному розчині енергія утворення іонних трикомпонентних комплексів (рис. 3.7) помітно вище, ніж нейтральних, до -7.6 ккал/моль.



Z3-1(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -7.6 ккал/моль

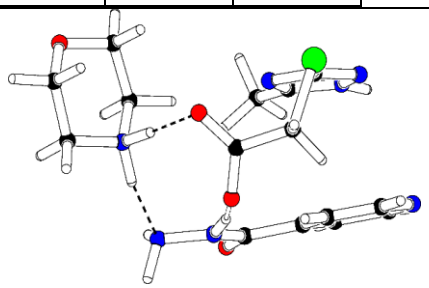
N1-H...N5	2.31	137
N2-H...O2	1.85	165
N7-H...N1	1.79	172
N7-H...O3	1.72	169



Z3-2(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -5.6 ккал/моль

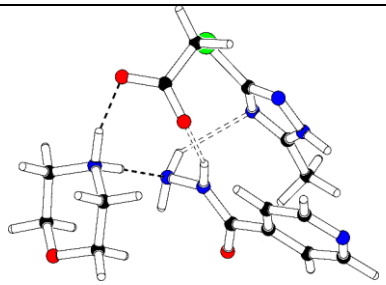
N2-H...O2	1.86	162
N7-H...N1	1.81	179
N7-H...O3	1.72	176



Z3-3(w)

$ДG_{form}^{298}$ = -4.9 ккал/моль

N2-H...O2	1.83	166
N7-H...N1	1.81	165
N7-H...O3	1.71	172



Z3-4(w)

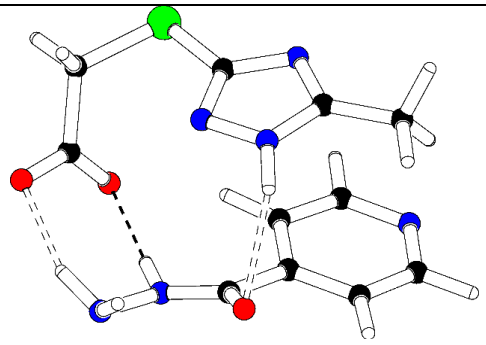
$ДG_{form}^{298}$ = -4.5 ккал/моль

N1-H...N4	2.49	133
N2-H...O3	1.87	160
N7-H...N1	1.80	173
N7-H...O2	1.75	161

Рис. 3.7. Будова найбільш стабільних іонних комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном у водному розчині, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу SMD/B97-D/6 -311G **

Також, в цих комплексах не спостерігається екстремально сильних водневих зв'язків. Це говорить про те, що при утворенні таких комплексів у розчині, між молекулами МТСА і морфоліном відбувається енергетично вигідний процес перенесення протона. Що стосується двокомпонентних

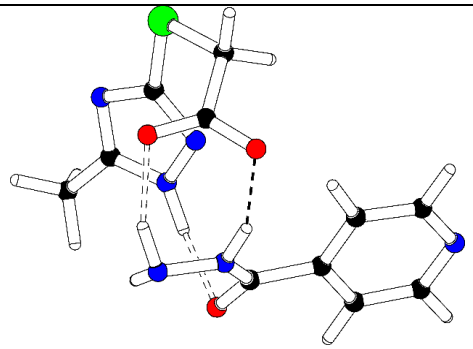
іонізованих комплексів (рис. 3.8-3.9), то їх утворення вкрай невигідно в газі (енергія утвореннядо +94 ккал / маль), що пов'язано з великою енергією розриву іонної пари в газовій фазі.



Z2-1(g)

ΔG_{form}^{298} = 94.3 ккал/моль

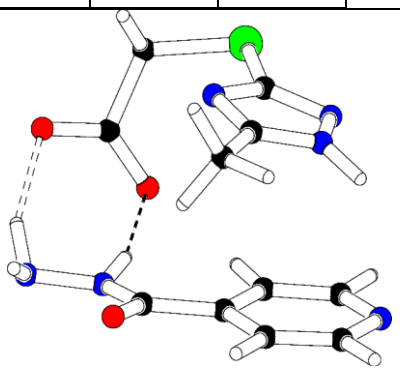
N1-H...O3	1.92	159
N2-H...O2	1.78	152
N6-H...O1	2.26	138



Z2-2(g)

ΔG_{form}^{298} = 94.3 ккал/моль

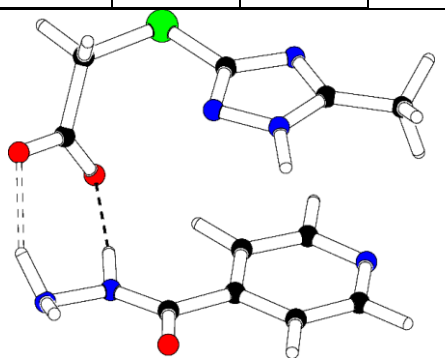
N1-H...O3	1.91	157
N2-H...O2	1.78	153
N6-H...O1	1.93	151



Z2-3(g)

ΔG_{form}^{298} = 94.9 ккал/моль

N1-H...O2	1.95	156
N2-H...O3	1.69	159

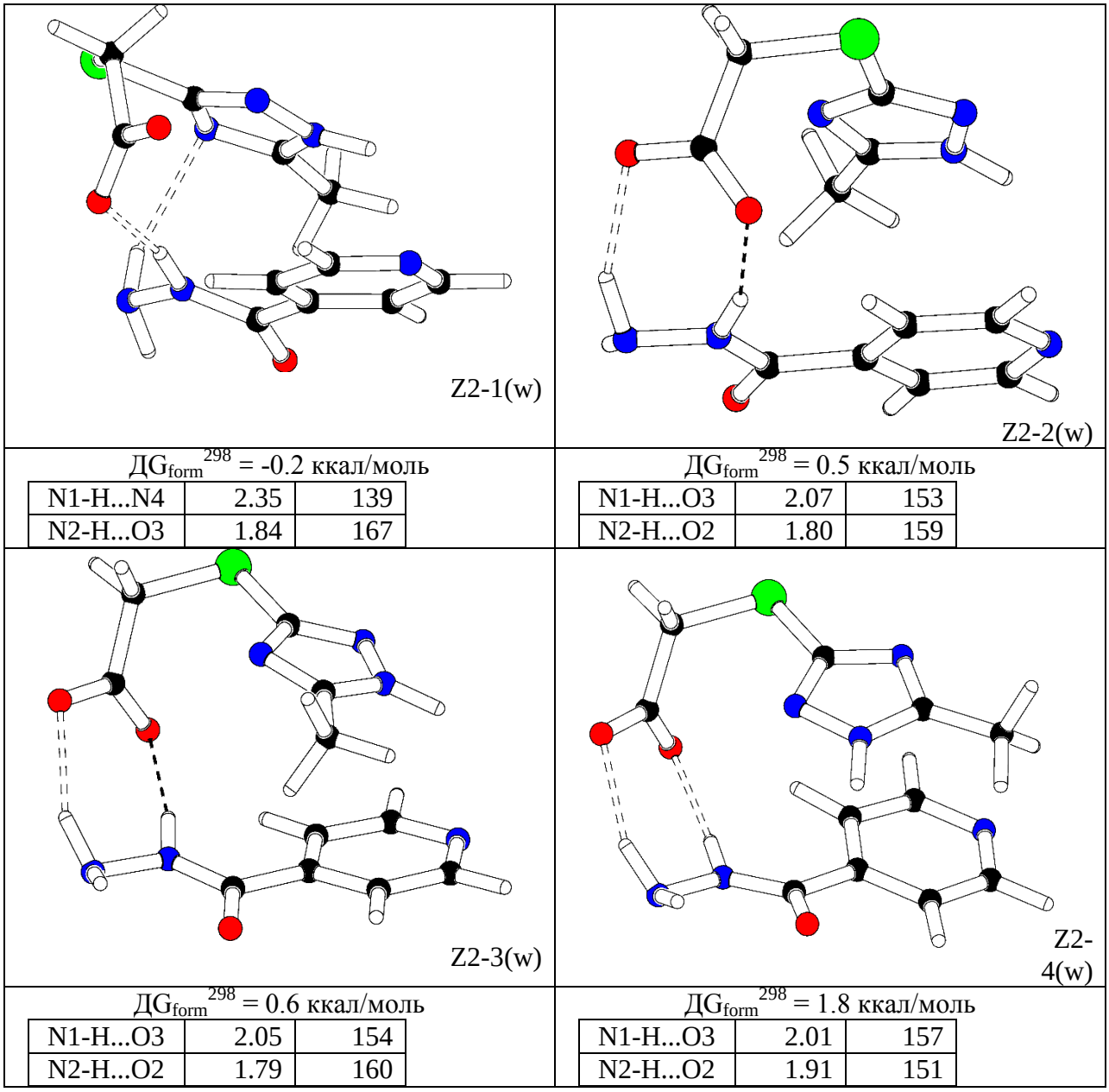


Z2-4(g)

ΔG_{form}^{298} = 95.3 ккал/моль

N1-H...O3	1.97	153
N2-H...O2	1.71	161

Рис. 3.8. Будова найбільш стабільних іонних комплексів ізоніазиду з МТСА в газовій фазі, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу B97-D/6-311G **



$ДG_{form}^{298}$ = -0.2 ккал/моль		
N1-H...N4	2.35	139
N2-H...O3	1.84	167

$ДG_{form}^{298}$ = 0.5 ккал/моль		
N1-H...O3	2.07	153
N2-H...O2	1.80	159

$ДG_{form}^{298}$ = 0.6 ккал/моль		
N1-H...O3	2.05	154
N2-H...O2	1.79	160

$ДG_{form}^{298}$ = 1.8 ккал/моль		
N1-H...O3	2.01	157
N2-H...O2	1.91	151

Рис. 3.9. Будова найбільш стабільних іонних комплексів ізоніазиду з МТСА у водному розчині, вільна енергія утворення комплексів і характеристики міжмолекулярних водневих зв'язків DH ... A (H ... A, Å і DH ... A, град.) за даними методу SMD/B97-D/6-311G **

У водному розчині, виходячи з результатів розрахунків, також не можна говорити, що утворення таких комплексів енергетично вигідно, так як вільна енергія утворення близька до нуля.

3.3 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток "Тріотиазид" методом вологої грануляції

Для створення нового комбінованого таблетованого лікарського засобу, що містить ізоніазід і тіотриазолін, по-перше, необхідно відібрати оптимальні допоміжні речовини, за допомогою яких можливо створити таблетки методом вологої грануляції [9, 14, 40].

При розробці нової таблеткованої лікарської форми необхідно було вибрати оптимальні допоміжні речовини (наповнювачі, розпушувачі, зв'язуючі тощо). Допоміжні речовини повинні забезпечувати необхідні фармако-технологічні показники, які висуваються до таблеткової лікарської форми згідно ДФУ. Перелік допоміжних речовин, які вивчалися при створенні таблеток наведений в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Фактори і їх рівні, які вивчалися при створенні таблеток

Фактори	Рівні факторів
А – Розпушувачі на основі ВМС	a_1 – натрію кроскармелоза a_2 – Kollidon CL a_3 – полівінілпіролідон (ПВП)
В – Розпушувачі на основі крохмалю	b_1 – крохмаль картопляний b_2 – крохмаль кукурудзяний b_3 – арбоцель 300

Продовж. табл. 3.1

С – Структуроутворюючі	c_1 – МКЦ 101

речовини	c_2 – МКЦ 102 c_3 – МКЦ 302
D – Вид зв'язуючого розчину	d_1 – 3 % крохмальний клейстер d_2 – 3% розчин МЦ 100 d_3 – 3% розчин ГПМЦ

Дослідження проводили згідно математичного планування експерименту, а саме, використовували чотирьохфакторного експерименту на основі латинського кубу першого порядку. Результати проведенних досліджень наведені в табл. 3.2.

Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних показали, що на однорідність маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном впливають три лінійні фактори та парні взаємодії: D> A > AxC- > ACD- C > CxD>AxD-. Фактор В статистично незначущий.

Ефективність рівнів значущих факторів визначали за допомогою критерію Дункана.

Встановлено, що найменше відхилення в масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном спостерігається при використанні 3% крохмального клейстера, якому поступається розчин ГПМЦ та суттєво поступається розчин МЦ.

При порівнянні речовин групи А встановлено, що найменше відхилення в масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном спостерігається при використанні натрію кроскармелози і Kollidon CL. Ці речовини за відгуком y_1 мають суттєву перевагу над ПВП.

Серед вивчених зразків мікрокристалічної целюлози МКЦ 101 за впливом на однорідність маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном має перевагу над МКЦ 302 і МКЦ 102 [40].

Таблиця 3.2

Чотирьохфакторний експеримент на основі латинського кубу першого порядку та результати дослідження таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном*

№ серії	A	B	C	D	y_1'	y_1''	y_1'''	y_2'	y_2''	y_2'''	y_3'	y_3''	y_3'''	y_4'	y_4''	y_4'''
1	a_1	b_1	c_1	d_1	4,90	4,21	4,65	74	81	68	0,13	0,15	0,14	8,3	8,2	8,5
2	a_1	b_2	c_2	d_1	2,16	3,21	2,67	106	112	101	0,12	0,13	0,11	6,5	6,2	6,5
3	a_1	b_3	c_3	d_1	0,67	1,87	1,34	80	82	78	0,11	0,10	0,11	9,1	9,0	8,5
4	a_2	b_1	c_2	d_1	0,72	1,65	1,89	59	62	56	0,49	0,43	0,44	8,0	7,5	8,1
5	a_2	b_2	c_3	d_1	3,09	4,12	3,34	40	39	37	2,10	1,89	1,94	9,0	9,2	9,5
6	a_2	b_3	c_1	d_1	4,30	4,11	3,77	104	112	96	0,18	0,22	0,16	14,5	13,5	13,3
7	a_3	b_1	c_3	d_1	4,53	3,67	4,22	123	127	120	0,12	0,10	0,09	10,1	10,5	10,5
8	a_3	b_2	c_1	d_1	2,16	3,66	2,33	132	138	127	0,04	0,06	0,05	14,0	14,2	14,1
9	a_3	b_3	c_2	d_1	7,37	5,45	5,67	114	117	110	0,16	0,18	0,15	12,1	12,3	11,5
10	a_1	b_1	c_2	d_2	5,05	4,77	5,55	40	42	37	0,84	0,77	0,75	3,5	3,3	3,1
11	a_1	b_2	c_3	d_2	4,11	4,65	3,45	38	39	38	1,98	1,78	2,09	4,0	3,3	3,1
12	a_1	b_3	c_1	d_2	4,60	4,66	3,77	42	44	36	0,34	0,31	0,27	5,0	4,5	5,0

13	a_2	b_1	c_3	d_2	6,61	5,66	5,34	43	44	41	0,16	0,18	0,18	9,5	9,5	10,0

Продовж. табл. 3.2

14	a_2	b_2	c_1	d_2	4,22	4,89	3,87	42	43	40	0,26	0,27	0,23	6,1	5,5	6,0
15	a_2	b_3	c_2	d_2	6,81	5,87	5,21	60	64	55	0,21	0,20	0,22	10,0	9,5	10,1
16	a_3	b_1	c_1	d_2	6,48	5,43	5,12	116	118	112	0,07	0,04	0,06	10,3	10,2	10,5
17	a_3	b_2	c_2	d_2	7,71	5,87	5,32	105	112	98	0,21	0,28	0,27	9,1	9,5	10
18	a_3	b_3	c_3	d_2	8,63	6,76	5,49	91	99	87	0,14	0,12	0,11	11,5	11,3	11
19	a_1	b_1	c_3	d_3	3,03	4,44	3,76	51	54	48	0,77	0,63	0,68	4,5	4,2	4,5
20	a_1	b_2	c_1	d_3	3,66	4,55	3,87	47	52	46	0,51	0,59	0,54	4,5	4,2	4,5
21	a_1	b_3	c_2	d_3	4,13	4,56	3,87	59	60	57	0,23	0,29	0,21	5,3	5,0	4,5
22	a_2	b_1	c_1	d_3	1,92	3,44	2,55	36	38	35	0,39	0,31	0,33	4,5	4,3	4,5
23	a_2	b_2	c_2	d_3	3,92	4,44	3,65	39	40	36	1,65	1,71	1,79	6,0	5,5	6,0
24	a_2	b_3	c_3	d_3	1,22	2,78	3,45	28	34	30	1,22	1,41	1,53	4,0	4,0	4,1
25	a_3	b_1	c_2	d_3	6,35	5,32	5,32	67	68	65	0,34	0,38	0,31	7,5	7,5	8,0
26	a_3	b_2	c_3	d_3	7,69	5,87	5,76	64	67	62	0,29	0,32	0,24	10,0	10,0	10,2
27	a_3	b_3	c_1	d_3	2,77	3,54	2,56	48	51	47	0,62	0,68	0,74	7,5	7,3	7,5

П р и м і т к а: * y_1, y_1', y_1'', y_1''' – однорідність маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном першої, другої і третьої серії відповідно, ±%; y_2, y_2', y_2'' - стійкість таблеток ізоніазиду з тіатриазоліном до роздавлювання першої, другої і третьох серії

відповідно, Н; y_3', y_3'', y_3''' - стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном першої, другої і третьої серії відповідно, %; y_4', y_4'', y_4''' - час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном першої, другої і третьої серії відповідно, хв.

Для фактора D (природа зв'язуючого розчину) ранжирований ряд переваг має такий вигляд: $d_1 > d_2 > d_3$. Кращим видом зв'язуючого розчину потрібно вважати 3% крохмальний клейстер, гіршим – 3% розчин ГПМЦ.

Використання латинського кубу першого порядку дає можливість оцінити деякі взаємодії між факторами. Сутність цієї взаємодії полягає в тому, що при зміні рівня, наприклад, фактора А, суттєво по різному проявляється дія рівнів фактора С. Так, для рівнів фактора А найкращими поєднаннями є a_1c_3 (±3,03%), a_2c_1 (±3,67%) і a_3c_1(±3,78%). Найгірше відхілення від середньої маси таблеток спостерігається при поєднанні рівнів факторів А і С є: a_1c_1 (±4,32%), a_2c_3 (±3,95%) і a_3c_2 (±6,04%).

Для парних взаємодій факторів А і D кращими поєднаннями рівнів є: a_1d_1 (±2,85%), a_2d_1 (±2,99%) і a_3d_1 (±4,34%). Отже, при використанні будь-якого розпушувача на основі ВМС найкращою речовиною є крохмальний клейстер.

Порівняння парних взаємодій для рівнів факторів С і D показали, що найкращими є: c_1d_3 (±3,20%), c_2d_1 (±3,42%) і c_3d_1 (±2,98%).

Визначальним показником, який характеризує міцність таблеток є їх стійкість до роздавлювання. Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав статистичну значущість ефектів факторів А, С і D, трьох парних взаємодій і трьохфакторної взаємодії на стійкість таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання. Фактор В статистично значущий при $\alpha = 0,25$.

Інтерпретація отриманих результатів. Рівні фактора А (розпушувачі на основі ВМС) розташовуються в наступний ряд переваг: $a_3 > a_1 > a_2$. Найбільша стійкість до роздавлювання таблеток спостерігається при використанні ПВП і суттєво йому поступається натрій кроскармелоза і Kollidon CL.

Для фактора В (розпушувачі на основі крохмалю) отримали наступний ряд переваг: $b_3 > b_2 > b_1$. Арбоцель 300 має перевагу над крохмалем кукурудзяним і крохмалем картопляним.

Для фактора С (природа структуроутворюючої речовини) отримали наступний ряд: $c_2 \geq c_1 > c_3$. Кращою допоміжною речовиною серед вивчених зразків мікрокристалічної целюлози виявилась МКЦ 102, яка має деяку перевагу над МКЦ 101 і суттєву перевагу над МКЦ 302.

Ґрунтуючись на цій інформації, найкращою комбінацією можна вважати поєднання рівнів $a_3b_3c_2d_1$.Така комбінація є в плані експерименту табл. 3.2 (серія № 9), де стійкість таблеток до роздавлювання складає 110 Н і більше, вона рекомендується для експериментальної перевірки. Високі значення стійкості таблеток до роздавлювання отримували в серіях № 7 ($a_3b_1c_3d_1$), № 8 ($a_3b_2c_1d_1$) і 16 ($a_3b_1c_1d_2$).

Звернемося тепер до інтерпретації взаємодій, які виявилися значущими.

Взаємодія АС*:* ефект розпушувача на основі ВМС залежить від природи структуроутворюючої речовини. За таблицею АхС маємо для a_1 (натрію кроскармелоза) $c_2 > c_3 > c_1$; для a_2 (Kollidon CL) – $c_1 > c_2 > c_3$; для a_3 (ПВП) – $c_1 > c_2 > c_3$. Для натрію кроскармелози найкращим структуроутворювачем виявилась МКЦ 102, а для Kollidon CL і ПВП найкращий результат отриманий із МКЦ 101.

Взаємодія AD: вплив природи розпушувача на основі ВМС на стійкість таблеток „Тріотиазид" до роздавлювання залежить від зв'язуючого розчину. По таблиці *A*x*D* маємо для a_1 (натрію кроскармелоза) наступний ряд переваги: $d_1 > d_3 > d_2$;для a_2 (Kollidon CL) - $d_1 > d_2 > d_3$*;* для a_3 (ПВП) - $d_1 > d_2 > d_2$. Якщо в якості розпушувачів на основі ВМС вибрати натрію кроскармелозу, Kollidon CL чи ПВП, то найкращі результати стійкості таблеток отримують при використанні зв'язуючого розчину 3% крохмального клейстера.

Взаємодія CD: ефект структуроутворюючих речовин залежить від природи зв'язуючого розчину. По таблиці CxD маємо: для c_1 (МКЦ101) - $d_1 > d_2 > d_3$, для c_2 (МКЦ 102) - $d_1 > d_2 > d_3$, для c_3 (МКЦ 302) - $d_1 > d_2 > d_3$.

Отже, для всіх трьох структуроутворюючих речовин на основі мікрокристалічної целюлози кращим зв'язуючим розчином є крохмальний клейстер.

Потрійна взаємодія говорить про те, що вплив будь-якої пари рівнів залежить від того, на якому рівні знаходиться третій фактор. Приведений приклад ілюструє можливість одержання значно ширшої інформації про результати аналізу, коли враховуються взаємодії.

Визначальний вплив на стирання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном має природа розпушувачів групи А. Ранжирований ряд переваг для фактора А має наступний вигляд: ПВП > натрію кроскармелоза > Kollidon CL. При цьому, при використанні ПВП стирання таблеток в 3,2 рази менше, ніж при використанні Kollidon CL і в 2,3 рази - натрію кроскармелози.

Допоміжні речовини групи В за впливом на стирання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном розміщуються в такій послідовності: крохмаль картопляний = арбоцель 300 > крохмаль кукурудзяний.

Структуроутворюючі речовини (фактор С) за впливом на стирання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном розміщуються в наступний ряд переваг: МКЦ 101 > МКЦ 102 > МКЦ 302.

При використанні МКЦ 101 стирання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном в 1,68 рази менше, ніж при використанні МКЦ 102 і 2,68 рази- ніж при використанні МКЦ 302.

Ефективність зв'язуючих речовин (фактор D) за впливом на стирання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном ілюструє наступний ранговий ряд переваг: 3% крохмальний клейстер > 3% розчин МЦ 100 > 3% розчин ГПМЦ. Ефективність крохмального клейстеру в 1,25 вища, ніж при використанні розчину МЦ і 1,92 рази – розчину ГПМЦ.

Аналіз парних взаємодій показав, що для АС-взаємодії найбільш ефективними щодо впливу на стійкість таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до стирання є: a_1c_1 (0,33%), a_2c_1(0,26%) і a_3c_3 (0,17%); для AD-взаємодії:a_1d_1

(0,12), a_2d_1 (0,21%) і a_3 d_1 (0,11%); CD-взаємодії: c_1d_1 (0,12%), c_2d_1(0,24%) c_3d_1 (0,73%).

Вплив вивчених факторів на розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном можна проілюструвати наступним ранговим рядом переваг: A > D > CD– >AD- > B > ACD'> C > AC.

Вплив високомолекулярних сполук (фактор А) на розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном ілюструє наступний ряд переваг: натрію кроскармелоза >Kollidon CL > ПВП. Середнє значення часу розпадання при використанні натрію кроскармелози складає 5,4 хв, Kollidon CL – 7,8 хв, ПВП – 10,3 хв.

Розпушувачі на основі крохмалю і порошкової целюлози (фактор В) за впливом на час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном розміщуються в такій послідовності: крохмаль картопляний = крохмаль кукурудзяний > арбоцель 300. Середнє значення часу розпадання таблеток при використанні крохмалю картопляного складає 7,3 хв, крохмалю кукурудзяного – 7,6 хв, арбоцелю – 8,5 хв.

Вплив зразків мікрокристалічної целюлози на час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наступний: МКЦ 102 (середнє значення 7,5 хв) МКЦ 302 (7,9 хв) >МКЦ 101 (8,1 хв).

Зв’язуючі речовини впливають на час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наступним чином: ГПМЦ (середнє значення 6,9 хв.) МЦ (7,5 хв.) крохмальний клейстер (10,1 хв.).

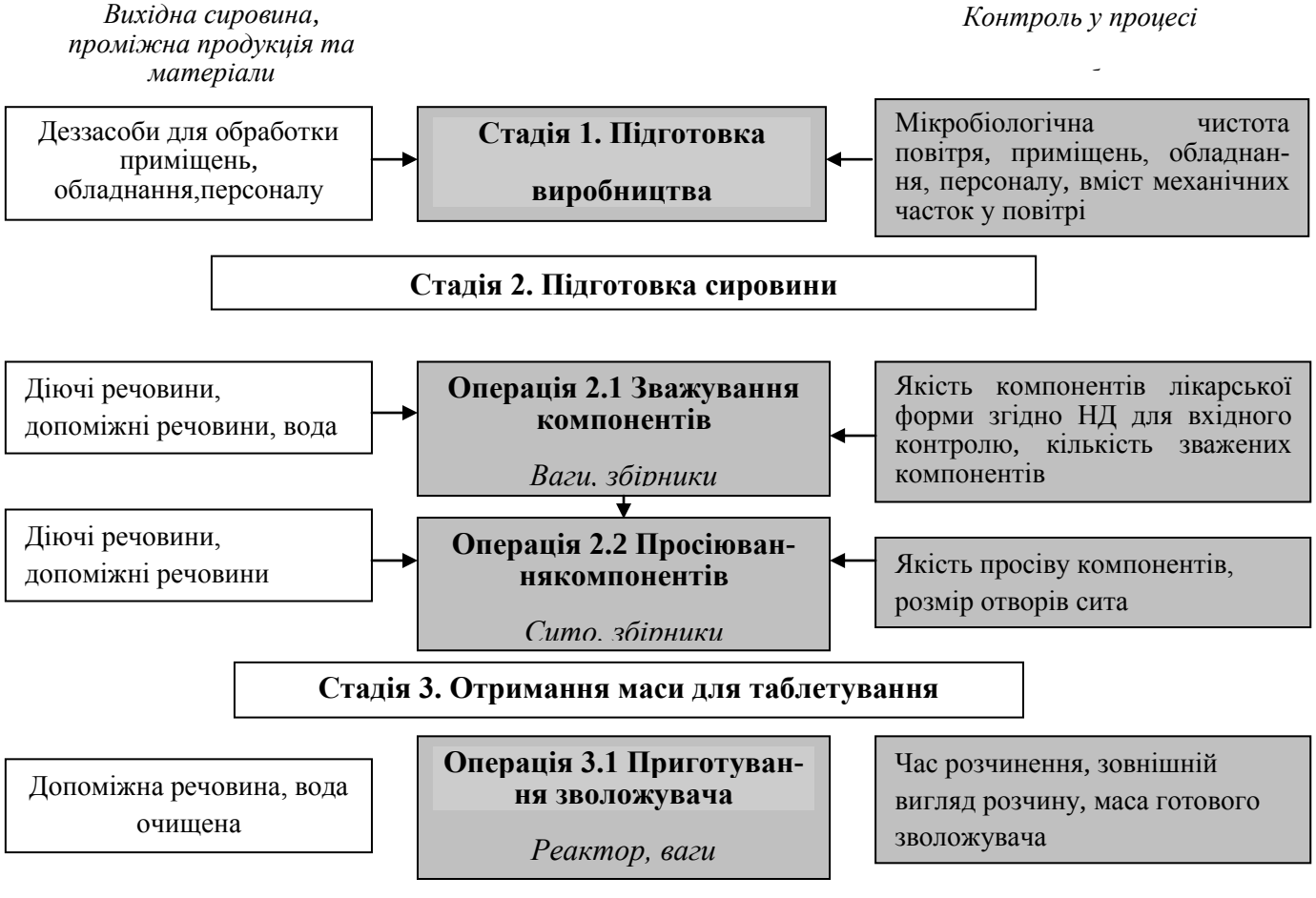
Розгляд значущих взаємодій між факторами показав, що для АС-взаємодії найбільш перспективними є: a_1c_2 (4,9 хв), a_2c_3 (7,6 хв), a_3c_2 (9,7 хв); AD -взаємодії: a_1d_2 (3,9 хв), a_2d_3 (4,7 хв), a_3d_3 (8,4 хв.); CD -взаємодії:c_1d_1 (5,4 хв), c_2d_3 (6,1 хв) c_3d_3 (6,2 хв).

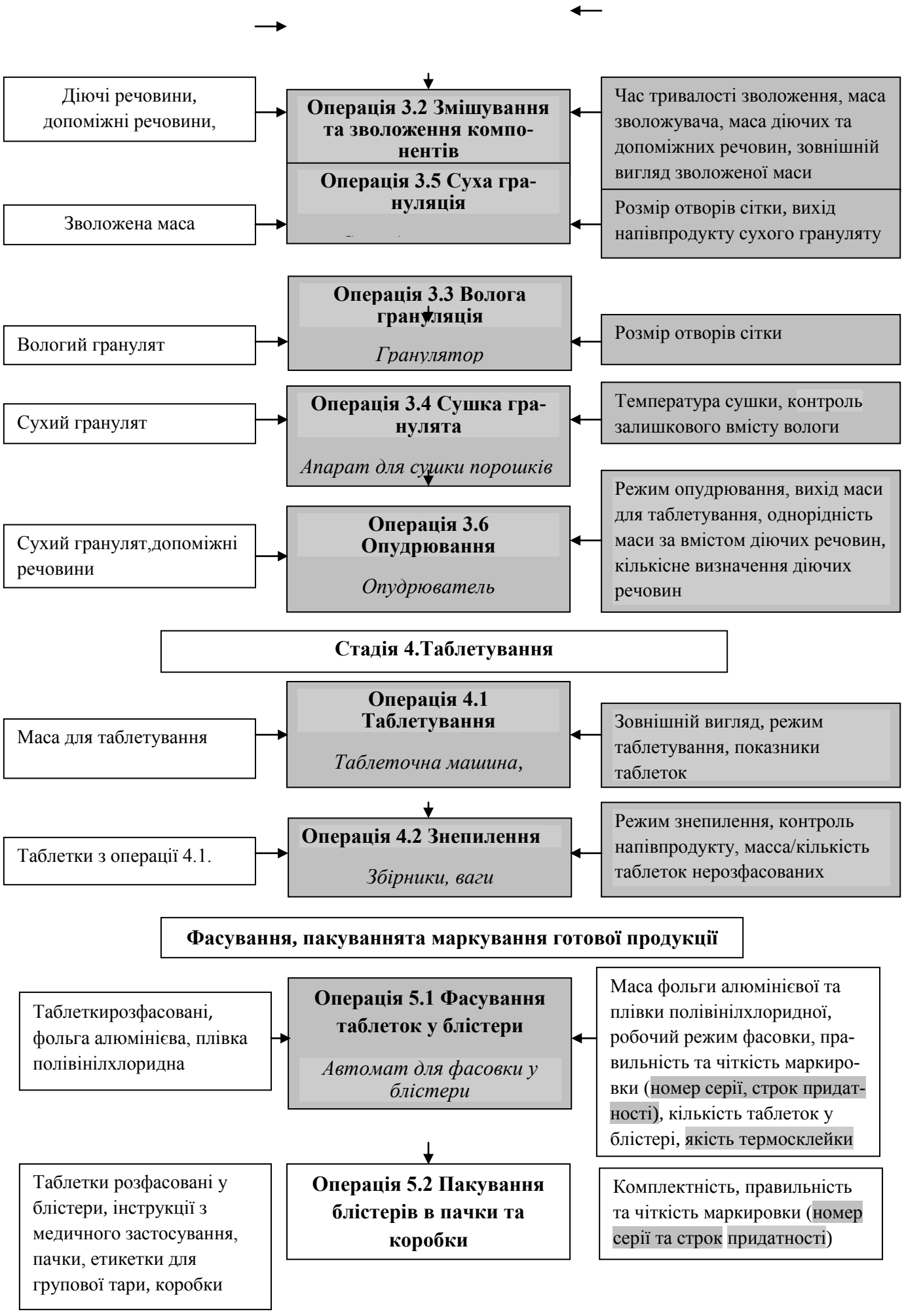
Після проведених досліджень відібрані кращі допоміжні речовини для отримання таблеток методом вологої грануляції. Що дає можливість запропонувати наступний склад в розрахунку на 1 таблетку:

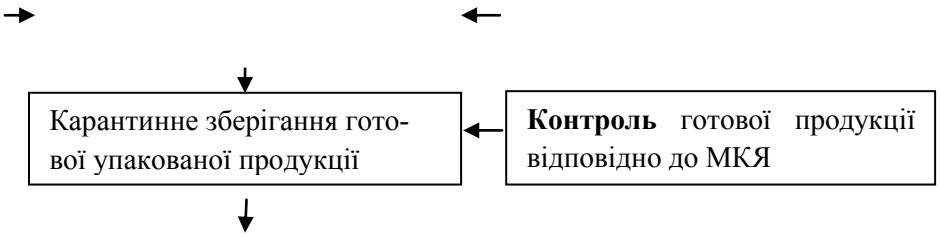
Ізоніазид	0,2 г
Тіотриазолін	0,05 г
ПВП	0,012 г
Крохмаль картопляний	0,02 г
МКЦ 101	0,015 г
3% крохмальний клейстер до отримання пластичної маси	
Кальцію стеарат	0,003 г
Тальк	0,006 г
Середня маса	0,306

Дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету (додаток А).

Розроблена технологічна схема виробництва таблеток "Тріотиазид" методом вологої грануляції, яка була апробована на заводі АТ "Лекхім" (акт апробації додаток Б), на якому в подальшому планується випуск комбінованих таблеток (рис. 3.10).




Діючі речовини, допоміжні речовини,
Операція 3.2 Змішування та зволоження компонентів
Час тривалості зволоження, маса зволожувача, маса діючих та допоміжних речовин, зовнішній вигляд зволоженої маси
Операція 3.5 Суха грануляція
Зволожена маса
Розмір отворів сітки, вихід напівпродукту сухого грануляту
Операція 3.3 Волога грануляція
Гранулятор
Вологий гранулят
Розмір отворів сітки
Операція 3.4 Сушка гранулята
Апарат для сушки порошків
Сухий гранулят
Температура сушки, контроль залишкового вмісту вологи
Операція 3.6 Опудрювання
Опудрювательь
Сухий гранулят,допоміжні речовини
Режим опудрювання, вихід маси для таблетування, однорідність маси за вмістом діючих речовин, кількісне визначення діючих речовин
Стадія 4.Таблетування
Операція 4.1 Таблетування
Таблеточна машина,
Маса для таблетування
Зовнішній вигляд, режим таблетування, показники таблеток
Операція 4.2 Знепилення
Збірники, ваги
Таблетки з операції 4.1.
Режим знепилення, контроль напівпродукту, масса/кількість таблеток нерозфасованих
Фасування, пакуваннята маркування готової продукції
Операція 5.1 Фасування таблеток у блістери
Автомат для фасовки у блістери
Таблеткирозфасовані, фольга алюмінієва, плівка полівінілхлоридна
Маса фольги алюмінієвої та плівки полівінілхлоридної, робочий режим фасовки, правильність та чіткість маркировки (номер серії, строк придатності), кількість таблеток у блістері, якість термосклейки
Операція 5.2 Пакування блістерів в пачки та коробки
Таблетки розфасовані у блістери, інструкції з медичного застосування, пачки, етикетки для групової тари, коробки
Комплектність, правильність та чіткість маркировки (номер серії та строк придатності)



Продовж. рис. 3.10

При відповідності результатів аналізу **регламентованим** показникам готової продукції - на склад готової продукції

П р и м і т к а : сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва.

Рис. 3. 10. Технологічна схема виробництва таблеток "Тріотиазид "

3.4 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток "Тріотиазид" методом прямого пресування

Під час роботи над отриманням таблеток методом вологої грануляції з'явилися нові сучасні допоміжні речовини. Тому стало цікавим для нового комбінованого лікарського засобу у вигляді таблеток, що містить ізоніазид і тіотриазолін, розробити методику їх отримання методом прямого пресування, так як метод вологої грануляції є досить складним та тривалим. В ході проведених досліджень було встановлено, що з врахуванням фізичних та технологічних властивостей порошку ізоніазиду і тіотриазоліну та використанням сучасних допоміжних речовин можливо отримати таблетки "Тріотиазид" методом прямого пресування [19, 41, 42, 43]**.** Порошок тіотриазоліну володіє кристалографічними та фізичними властивостями, що передбачають отримання комбінованих таблеток методом прямого пресування. Порошок ізоніазиду виробництва індійської фірми Amsal Chem Private Limited теж має фізичні та технологічні властивості, що дозволить отримати таблетки прямим пресуванням. Фізичні та технологічні властивості порошку тіотриазоліну і ізоніазиду близькі за багатьма показниками. При

цьому необхідно досягти необхідної стійкості до роздавлювання і стиранності.

Для цього були проведені дослідження в декілька етапів.

На першому етапі досліджень при створенні таблеток "Тріотиазид" методом прямого пресування проведені дослідження з вибору кращих допоміжних речовин [14, 29, 42]. При цьому на етапі попередніх досліджень встановили допоміжні речовини за допомогою яких можна отримати таблетки "Тріотиазид" методом прямого пресування. Перелік допоміжних речовин, які за технологічними ознаками згруповані в чотири групи, наведений в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Фактори і їх рівні, які вивчалися при створенні таблеток "Тріотиазид"

Фактори	Рівніфакторів
А – зразки мікрокристалічної целюлози та її модифікацій	a_1 – МКЦ 102 a_2 – МКЦ 12 a_3 – просолв СП a_4 – просолв 90
Б – зразки поліплаздонів	b_1 – плаздон К 90 b_2 – кросповідон ХЛ 10 b_3 – плаздон К 29-32 b_4 – плаздон С 630
С - зразки цукрів	c_1 – луділрес c_2 – лактоза моногідрат 200 c_3 – цукор компрі С c_4 – цукор компрі М3
D – зразки ковзних і сорбуючих речовин	d_1 – тальк d_2 – неусілін УС 2

	d_3 – неусілін УФЛ 2 d_4 – аеросил

До досліджуваних факторів віднесли допоміжні речовини, які володіють доброю текучістю, відносно високою насипною густиною та за літературними даними використовуються для отримання таблеток методом прямого пресування [29, 33, 41].

При створенні таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном співвідношення між діючими і допоміжними речовинами було наступне:

Ізоніазиду 0,20 (50%)

Тіотриазоліну 0,05 (12,5 %)

МКЦ (Фактор А) 0,065 (16,25%)

Поліплаздони (Фактор В) 0,045 (11,25%)

Цукри (Фактор С) 0,028 (7,00%)

Ковзні речовини (Фактор D) 0,008 (2,00 %)

Кальцію стеарат 0,004 (1,00 %)

Для вивчення чотирьох якісних факторів використовували один із планів дисперсійного аналізу – греко-латинський квадрат [78]. Матриця планування експерименту та результати дослідження порошкових мас і таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наведені в табл.3.4.

Готували порошкові суміші діючих та допоміжних речовин за загальними правилами змішування порошків. Порошкові суміші досліджували на насипну густину, насипну густину після ущільнення, текучість і кут природного укосу. Пресували таблетки на лабораторному таблеточному пресі "ТП-1" і досліджували однорідність їх маси, стійкість до роздавлювання, стираність і розпадання [45].

На підставі дисперсійного аналізу експериментальних даних робили висновки про значущість вивчених факторів та будували ряди переваг для

рівнів значущих факторів. Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних наведені в додатку В.

Дисперсійний аналіз насипної густини показав статистичну значущість чотирьох факторів: D> C> A > B. Вплив фактору Д на насипну густину y_1 розглянемо за допомогою рис. 3.11.

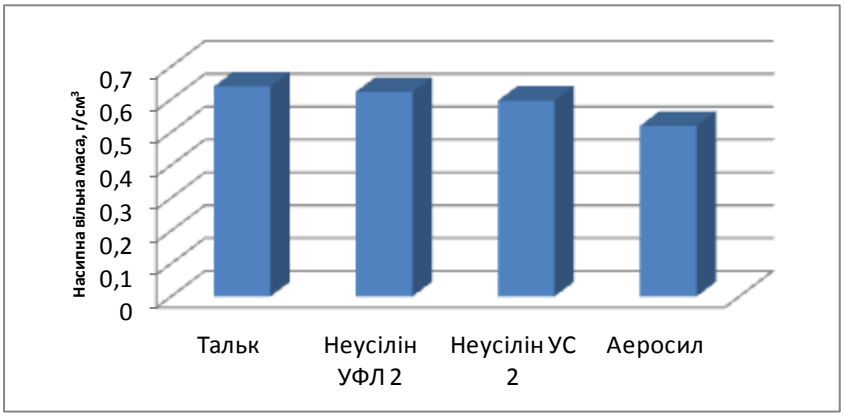


Рис. 3.11. Вплив фактору D на насипну густину

Аналіз рис. 3.11 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на насипну густину порошків можна розмістити в наступній послідовності: тальк>неусілін УФЛ 2>неусілін УС2>аеросил. Але як видно з рисунку за значущістю допоміжні речовини практично не відрізняються за впливом на вільний насипну густину досліджуваних порошків.

В подальшому ми розглянули вплив фактору С (зразків цукрів) на насипну густину. Вплив цього фактора наведено на рис. 3.12.

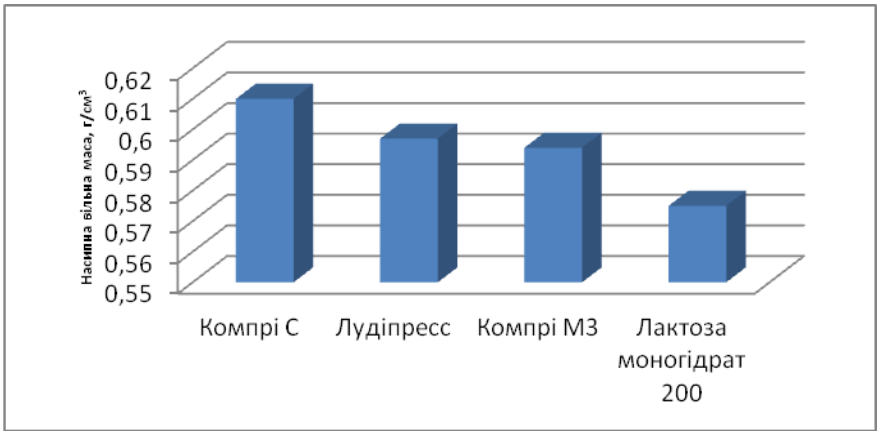


Рис. 3.12. Вплив фактору С (зразків цукрів) на насипну густину

Як видно з рис. 3.12, за впливом допоміжних речовин на вільний насипну густину порошків їх можна розмістити в наступній послідовності: цукор компрі С > лудіпресс > цукор компрі МЗ > лактоза моногідрат 200.

Таблиця 3.4

Чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату та результати дослідження порошкових мас і таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном*

№ серії	*A*	*B*	*C*	*D*	y_1	y_1'	y_2	y_2'	y_3	y_3'	y_4	y_4'	y_5	y_5'	y_6	y_6'	y_7	y_7'	y_8	y_8'	**D**	**D'**
1	a_1	b_1	c_1	d_1	0,63	0,62	0,82	0,81	10,11	12,47	23	24	3,74	3,52	38,0	39,6	1,20	0,98	35,49	35,52	0	0
2	a_1	b_2	c_2	d_4	0,47	0,46	0,64	0,63	79,25	77,89	32	30	4,95	4,67	29,0	27,6	1,02	1,10	0,55	0,54	0,194	0,219
3	a_1	b_3	c_3	d_2	0,64	0,63	0,81	0,81	25	25	25	26	2,92	2,65	84,3	87,0	0,32	0,37	11,19	12,24	0,628	0,578
4	a_1	b_4	c_4	d_3	0,66	0,65	0,87	0,86	17,88	17,40	21	22	1,29	1,98	19,0	19,6	1,11	0,96	25,13	25,02	0	0
5	a_2	b_1	c_2	d_3	0,61	0,60	0,81	0,81	18,88	18,12	22	24	1,74	2,34	38,3	39,6	0,91	0,94	4,56	7,45	0,537	0,491
6	a_2	b_2	c_1	d_2	0,62	0,64	0,72	0,73	15,66	14,62	28	30	1,99	1,60	35,6	36,0	0,41	0,46	0,51	1,07	0,775	0,772
7	a_2	b_3	c_4	d_4	0,56	0,54	0,74	0,73	26,11	27,31	24	26	3,57	3,18	20,0	21,0	1,66	1,23	1,55	2,44	0	0
8	a_2	b_4	c_3	d_1	0,66	0,65	0,72	0,73	14,08	14,34	25	23	1,65	1,39	30,3	41,0	0,43	0,47	12,12	13,44	0,394	0,433
9	a_3	b_1	c_3	d_4	0,54	0,55	0,70	0,69	23,13	24,33	28	27	2,73	2,13	36,3	38,0	0,42	0,42	13,24	13,52	0,395	0,427
10	a_3	b_2	c_4	d_1	0,64	0,66	0,86	0,87	30,78	29,50	27	25	2,75	2,58	24,3	23,3	0,92	0,92	2,42	2,54	0,452	0,450

Продовж. табл. 3.4

11	a_3	b_3	c_1	d_3	0,63	0,61	0,77	0,78	34,98	34,16	24	22	2,89	2,69	62,3	62,0	0,85	0,85	9,20	9,42	0,658	0,754
12	a_3	b_4	c_2	d_2	0,61	0,60	0,76	0,76	21,65	20,63	23	22	2,85	2,52	43,3	42,3	0,87	0,96	12,51	14,02	0,323	0,234
13	a_4	b_1	c_4	d_2	0,58	0,59	0,73	0,74	8,04	8,54	18	20	2,88	2,71	53,6	54,6	0,31	0,33	16,56	17,12	0,387	0,342
14	a_4	b_2	c_3	d_3	0,60	0,61	0,81	0,80	16,43	15,71	29	30	4,39	4,13	80,6	82,6	0,38	0,39	2,07	2,12	0,702	0,748
15	a_4	b_3	c_2	d_1	0,62	0,63	0,87	0,86	14,32	15,28	22	21	2,34	2,11	42,6	44,6	0,35	0,39	8,52	9,32	0,772	0,740
16	a_4	b_4	c_1	d_4	0,52	0,51	0,68	0,69	39,54	38,32	27	26	3,44	3,01	36,0	35,6	0,49	0,54	8,30	8,43	0,604	0,619

П р и м і т к а : * y_1і y_1' –насипна густина першої і другої серії відповідно, г,см^3; y_2і y_2' -насипна густина порошків після ущільнення першої і другої серії відповідно, г,см^3;y_3і y_3' – плинність порошковихмас першої і другої серії відповідно, 100 г/ сек.; y_4і y_4' – кут природного укосу порошкових мас першої і другої серії відповідно, град.;y_5 і y_5' - однорідність маси таблеток першої і другої серії відповідно, ±%; y_6і y_6' – стійкість таблеток до роздавлювання першої і другої серії відповідно, Н; y_7і y_7' – стираність таблеток першої і другої серії відповідно, %; y_8і y_8' - розпадання таблеток першої і другої серії відповідно, хв; **D** і **D**' - функції бажанності.

Найбільше значення насипної густини спостерігається при використанні нової допоміжної речовини компрі С.

Вплив фактору А на насипну густину ізоніазиду з тіотриазоліном показано на рис. 3.13.

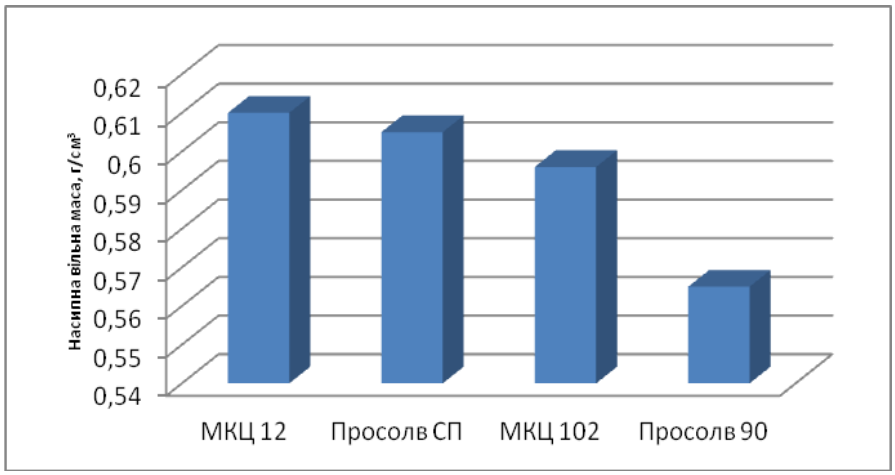


Рис. 3.13. Вплив фактору А на насипну густину

Аналіз рис. 3.13 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на вільний насипну густину порошків можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 12 > просолв СП > МКЦ 102 > просолв 90. Найбільше значення насипного об'єму спостерігається при використанні мікрокристалічної целюлози 12. Також високе значення насипного об'єму отримували при використанні нової допоміжної речовини – просолв СП, гірше значення насипного об'єму дає допоміжна речовина МКЦ 102 та просолв 90.

Далі розглянемо вплив фактору В (природи плаздонів). Вплив цього фактора на y_1 наведено на рис. 3.14.

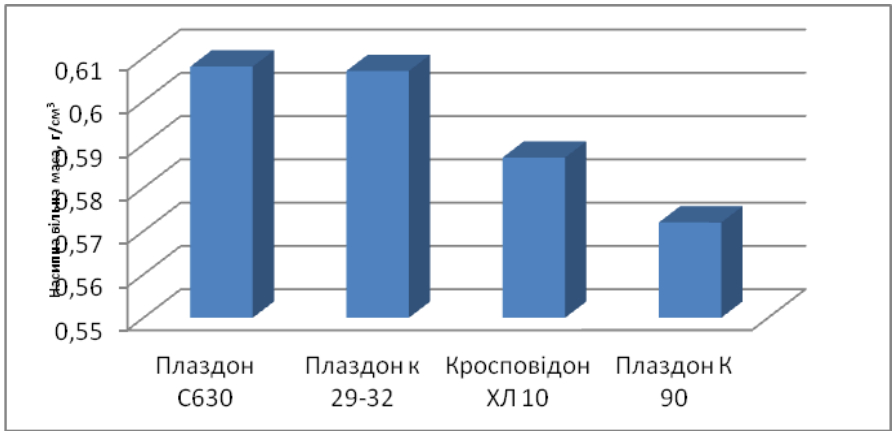


Рис. 3.14. Вплив природи плаздонів на насипну густину

Аналіз рис. 3.14 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на насипну густину порошків можна розмістити в наступній послідовності: плаздон С 630 > плаздон К 29-32 > кросповідон ХЛ 10 > плаздон К 90. Найбільше значення насипного об'єму спостерігається при використанні плаздонів С 630 та К 29-32.

Досліджувані порошкові маси з ізоніазидом і тіотриазоліном піддавали ущільненню. На насипну густину суміші порошків після ущільнення також впливають всі чотири якісних факторів: D > C > B > A.

Вплив природи ковзних речовин на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення зображено на рис. 3.15.

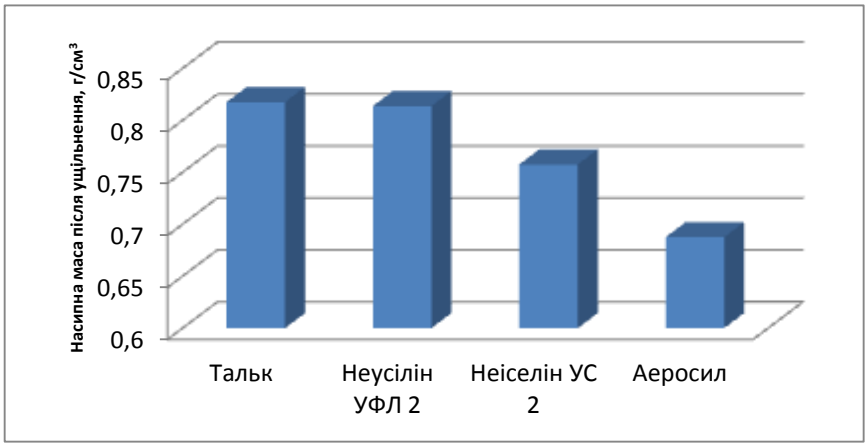


Рис. 3.15. Вплив природи ковзних речовин на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення

Ранжований ряд переваг рівнів цього фактору на насипну густину після ущільнення має наступний вигляд: тальк > неусілін УФЛ 2 > неусілін УС 2 > аеросил.

Вплив природи цукрів на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення наведено на рис. 3.16.

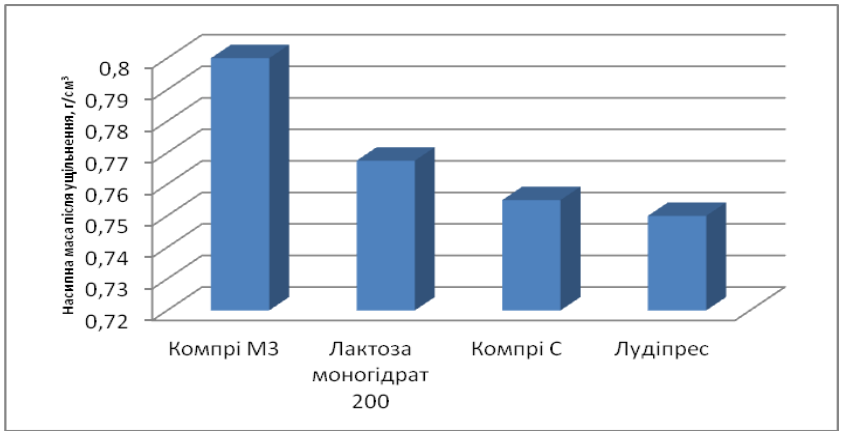


Рис. 3.16. Вплив природи цукрів на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення

Як видно з рис. 3.16 безперечним лідером серед допоміжних речовин є компрі МЗ.

Вплив природи розпушувачів на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення наведено на рис. 3.17.

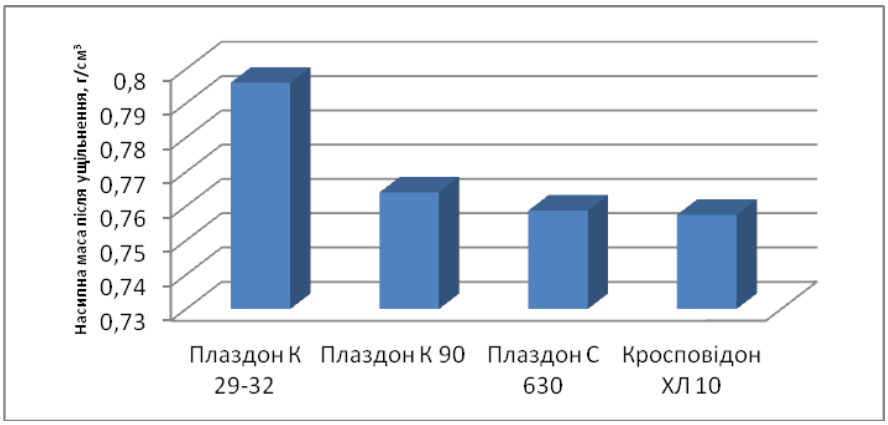


Рис. 3.17. Вплив природи розпушувачів на насипну густину порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення

Аналіз рис. 3.17 показав, що вивченні допоміжні речовини за впливом на y_2 можна розмістити в наступній послідовності: плаздон К 29-32 >плаздон К 90 > плаздон С 630> кросповідон ХЛ 10. При цьому первинні значення насипної густини порошків після ущільнення суттєво різняться в порівнянні зі значеннями вільної насипної густини.

Вплив природи МКЦ на насипну порошкову густину ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення наведено на рис. 3.18.

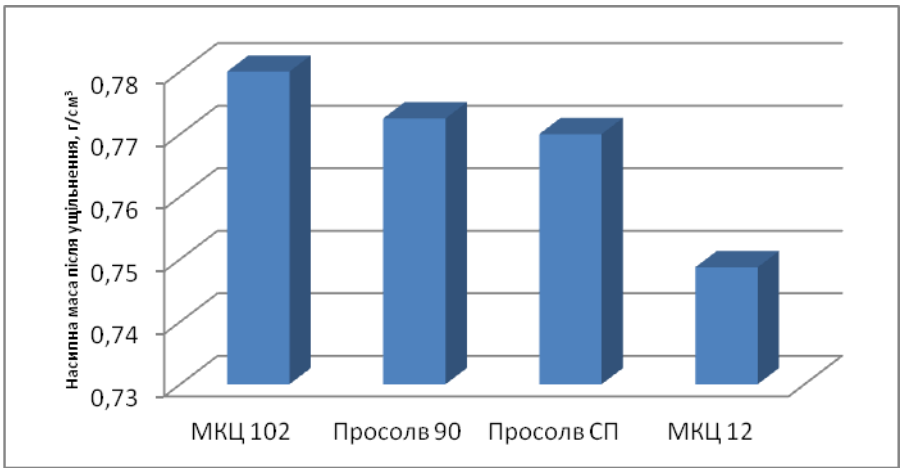


Рис. 3.18. Вплив природи МКЦ на насипну порошкову густину ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення

Аналіз рис. 3.18 показав, що вивченні допоміжні речовини за впливом на насипну густину порошкових мас після ущільнення можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 102 > просолв 90 >просолв СП. При цьому первинні значення насипної густини порошків після ущільнення суттєво різняться в порівнянні зі значеннями вільної насипної густини.

Приготовані порошкові маси досліджували на плинність. На плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном впливають всі чотири вивчені фактори: D > B > A > C.

Найбільш суттєвий вплив на цей показник має природа ковзних і сорбуючих речовин. Вплив природи ковзних речовин на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.19.

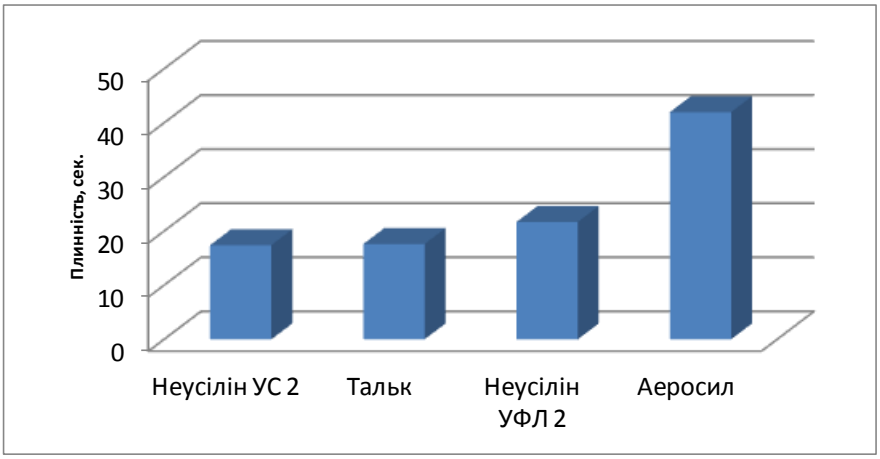


Рис. 3.19. Вплив природи ковзних речовин на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном

Ефективність зразків ковзних і сорбуючих речовин ілюструє наступний ряд: неусілін УС 2 > тальк > неусілін УФЛ 2 > аеросил.

Вплив природи цукрів на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.20.

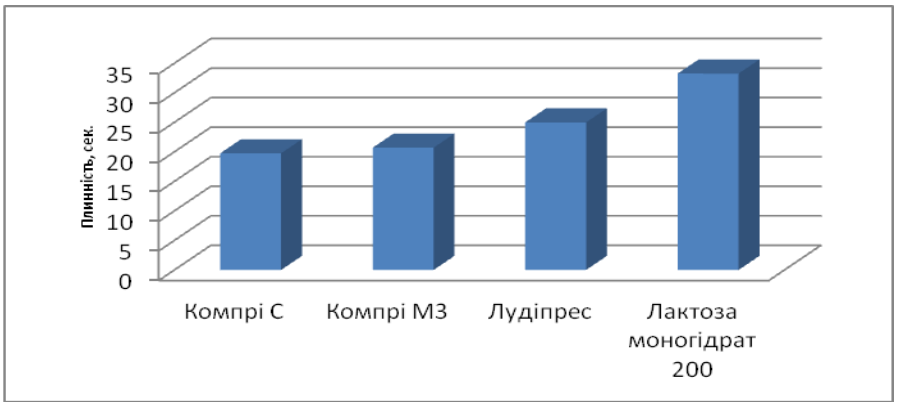


Рис. 3.20. Вплив природи цукрів на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном

Аналіз рис. 3.20 показав, що вивченні допоміжні речовини за впливом на y_2 можна розмістити в наступній послідовності: цукор компрі С > цукор компрі МЗ > луділрес > лактоза моногідрат 200.

Вплив природи МКЦ на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.21.

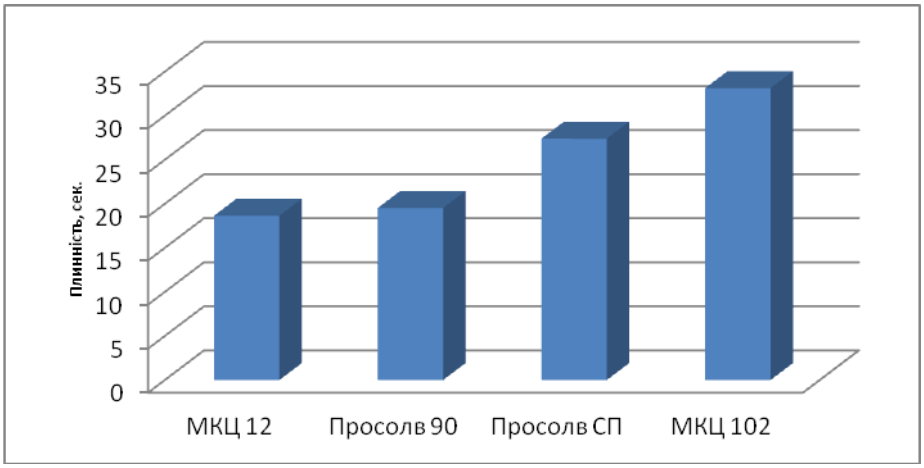


Рис. 3.21. Вплив природи МКЦ на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном

Аналіз рис. 3.21 показав, що вивченні допоміжні речовини за впливом на плинність можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 12 > просолв 90 > просолв СП > МКЦ 102.

Вплив природи поліплаздонів на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.22.

Вивчені допоміжні речовини за впливом на плинність порошкової суміші ізоніазиду з тіотриазоліном та ДР можна розмістити в наступній послідовності: плаздон К 90 > плаздон С 630 > плаздон К 29-32 > кросповідон ХЛ 10.

Далі розглянули вплив дії допоміжних речовин на кут природнього відкосу. На кут природного укосу порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном впливають три вивчені фактори: B > D > C.

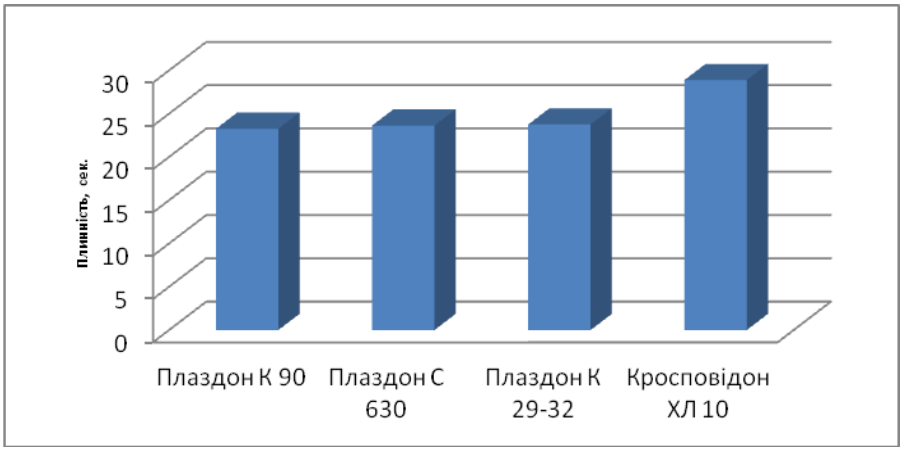


Рис. 3.22. Вплив природи поліплаздонів на плинність порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном

Вплив природи плаздонів на кут природного укосу наведено на рис. 3.23.

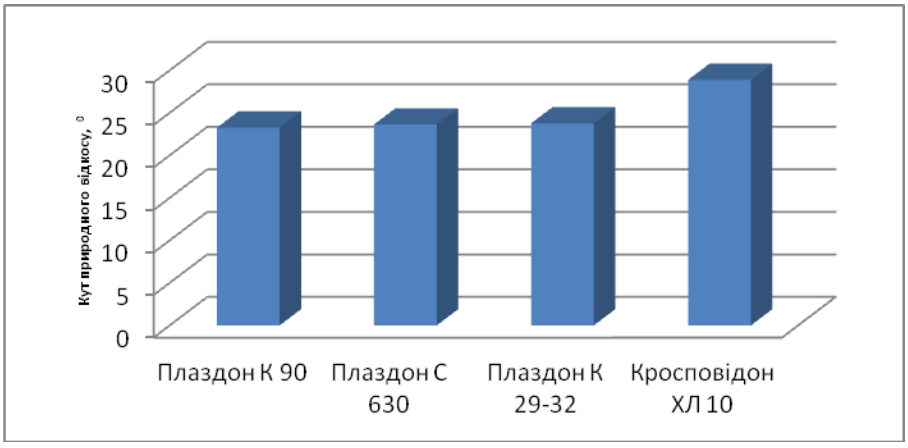


Рис. 3.23. Вплив природи плаздонів на кут природного укосу маси для таблетування

Як видно з рис. 3.23 три зразки плаздонів (плаздон К 90, плаздон С 630, плаздон К 29-32) мало різняться між собою по впливу на кут природнього відкосу. Найгірший результат отримали при застосуванні кросповідону XL 10.

Вплив дії фактору D наведено на рис. 3.24.

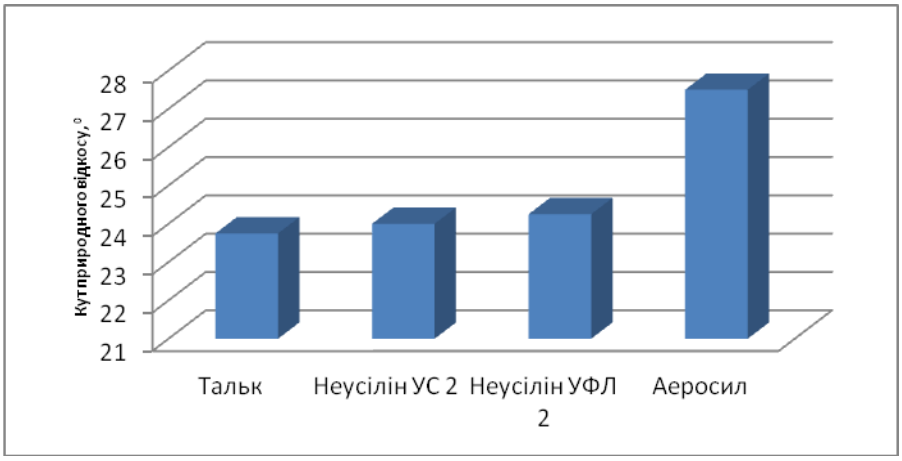


Рис. 3.24. Вплив природи ковзних речовин на кут природнього відкосу

Як видно з рис. 3.24 найменше значення кута природного укосу отримали при використанні тальку, якому дещо поступається неусілін УС2 та неусілін УФЛ 2. погіршується значення кута природного укосу порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном при використанні аеросилу.

Вплив природи цукрів на кут природного укосу наведено на рис. 3.25.

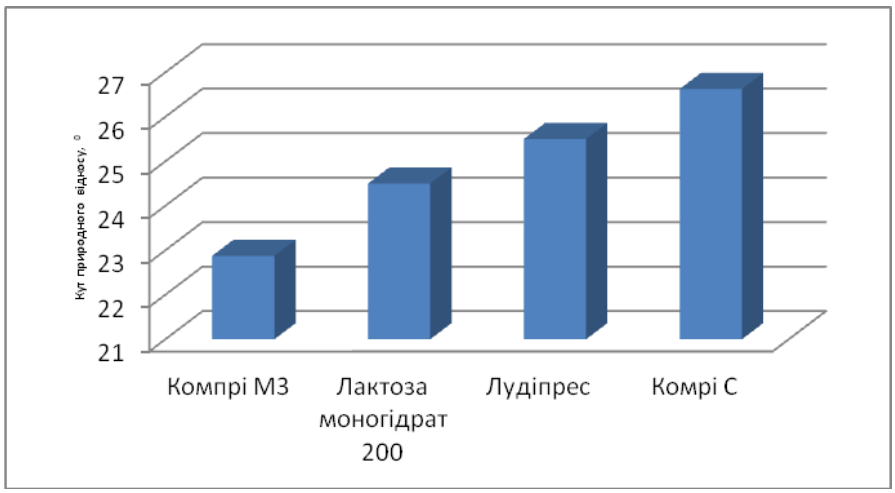


Рис. 3.25. Вплив природи цукрів на кут природнього відкосу

Аналіз рис. 3.25 показав, що лідером серед цукрів виявився компрі М3. Спостерігається його помітна перевага над лактозою моногідратом 200, луділресом та цукор компрі С.

При пресуванні таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном на лабораторній таблетковій машині у всіх 16-ти серіях дослідів отримували таблетки з однорідною рівною поверхнею, без дефектів.

На однорідність в масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном впливають три вивчені фактори: A > B > D. Досліджені зразки цукрів не відрізняються за впливом на однорідність маси отриманих таблеток.

При використанні просолву 90 відхилення в середній масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складало ±2,51%, МКЦ 12 – ±2,72%, просолву СП – ±2,86% і МКЦ 102 – ±3,21%. При використанні пласдону К 90 відхилення в середній масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складало ±2,18%, пласдону С 630 – ±2,52%, пласдону К 29-32 – ±2,94 % і кросповідону XL 10– ±3,36%. При використанні неусіліну УС 2 відхилення в середній масі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складало ±2,28%, неусіліну УФЛ 2 – ±2,61%, тальку– ±3,12% і аеросилу– ±3,46%.

Вплив зразків МКЦ на однорідність маси таблеток "Тріотиазид" показано на рис. 3.26.

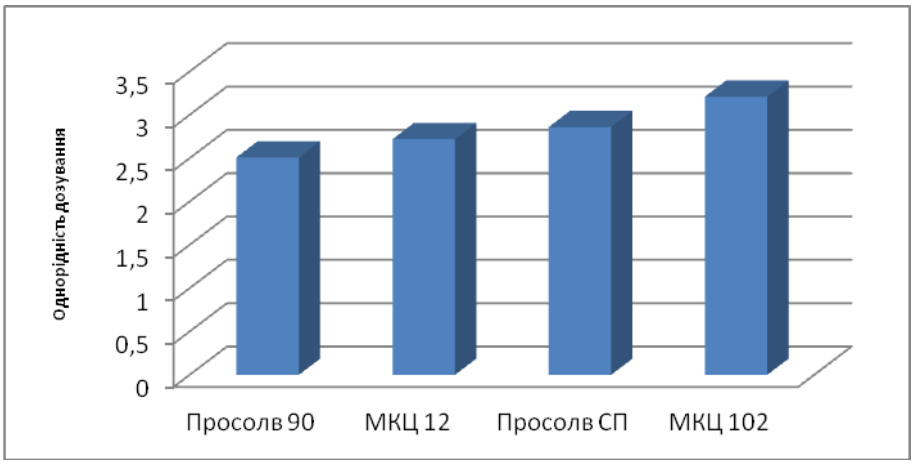


Рис. 3.26. Вплив зразків МКЦ на однорідність маси таблеток

Як видно з рис. 3.26 ряд переваг для фактора А має наступний вигляд: просолв 90 > МКЦ 12 > просолв СП > МКЦ 102.

Вплив природи плаздонів (фактор В) на однорідність маси таблеток наведено на рис. 3.27.

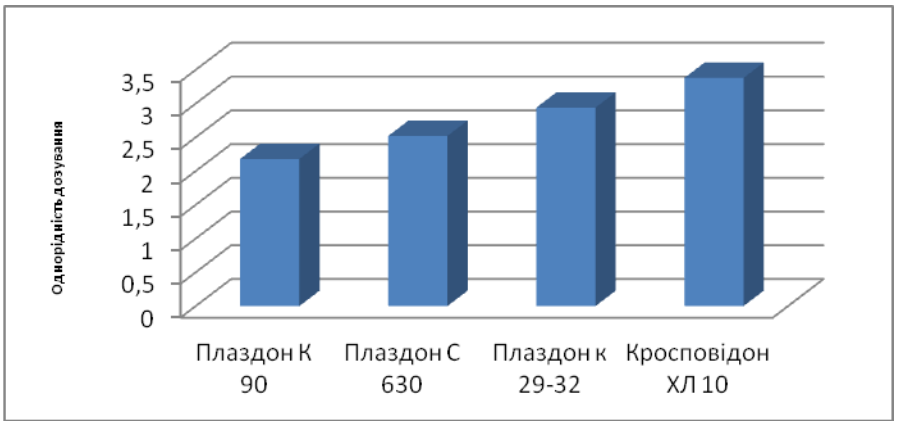


Рис. 3.27. Вплив природи плаздонів на однорідність маси таблеток

Вплив дії допоміжних речовин на однорідність маси демонструє наступний ряд переваг: плаздон К 90 > плаздон С630 > плаздон К 29-32 > кросповідон ХЛ 10.

Вплив ковзних речовин на однорідність маси таблеток наведено на рис. 3.28.

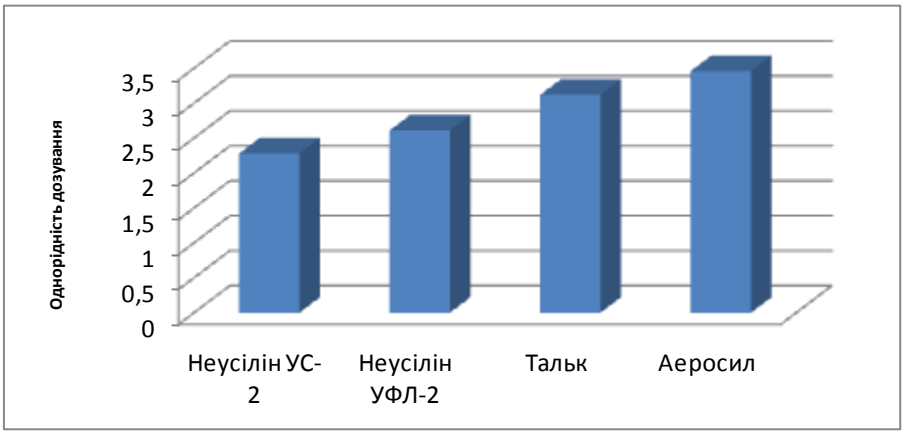


Рис. 3.28. Вплив ковзних речовин на однорідність маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Ефективність дії допоміжних речовин можна зобразити наступним ранжованим рядом: неусілін УС 2 > неусілін УФЛ 2 > тальк > аеросил.

Для таблеток, які отримують методом прямого пресування, важливим показником є їх стійкість до роздавлювання та стираність.

На стійкість таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання впливають всі вивчені фактори: C > D > A > B. При використанні цукру компрі С середнє значення стійкості таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання складає 60 Н. Вказана ДР має суттєву перевагу над луділресом (середнє значення 43,1Н), лактозою моногідратом 200 (38,4 Н) і цукром компрі МЗ (29,4 Н).

При використанні неусіліну УС 2 середнє значення стійкості таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання складає 54,6 Н, неусіліну УФЛ 2 – 50,5 Н, тальку – 35,5 Н і аеросилу -30,4 Н. Зазначимо, що в умовах досліду № 3 (табл. 3.4), де в якості ДР використовували неусілін УС 2 стійкість таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання була більшою 80 Н.

Найбільш стійкими до роздавлювання отримували таблетки ізоніазиду з тіотриазоліном при використанні просолву 90 (53,8 Н), який має перевагу над МКЦ 102(43,1 Н), просолвом СР (41,5 Н) і МКЦ 12 (32,7 Н). Вплив цукрів на стійкість таблеток до роздавлювання показано на рис. 3.29.

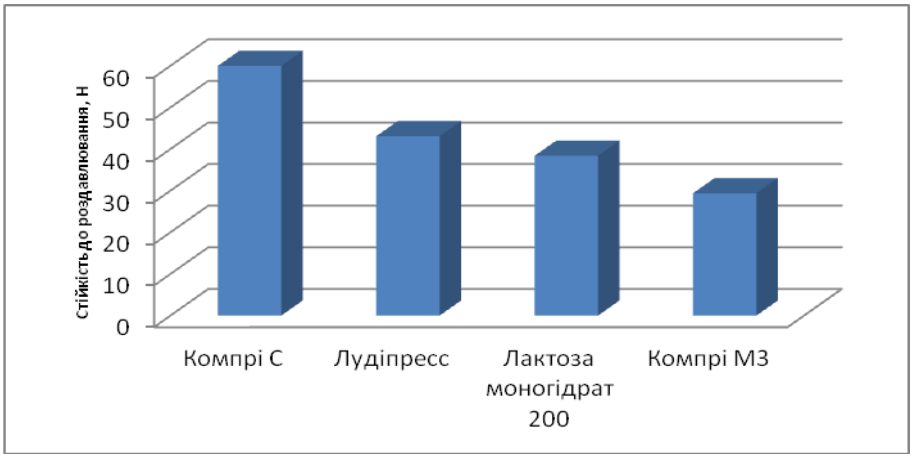


Рис. 3.29. Вплив цукрів на стійкість таблеток до роздавлювання

Зразки цукрів за впливом на механічну стійкість таблеток до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: цукор компрі С > лудіпрес > лактоза моногідрат 200 > цукор компрі МЗ.

Вплив ковзних речовин на стійкість до роздавлювання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном представлено на рис. 3.30.

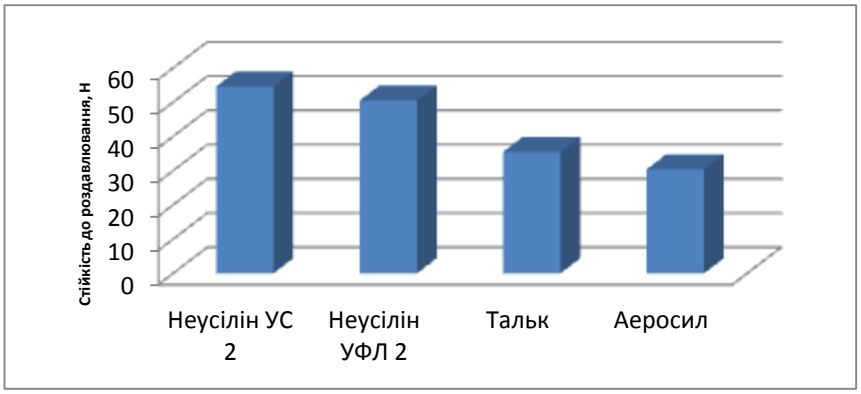


Рис. 3.30. Вплив фактору Д намеханічну стійкість до роздавлювання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Найбільшу міцність до роздавлювання серед ковзних речовин забезпечує неусілін УС 2 , не суттєво йому поступається неусілін УФЛ 2, а суттєво– тальк та аеросил.

Вплив природи структуроутворюючих речовин на механічну стійкість таблеток "Тріотиазид" до роздавлювання показано на рис. 3.31.

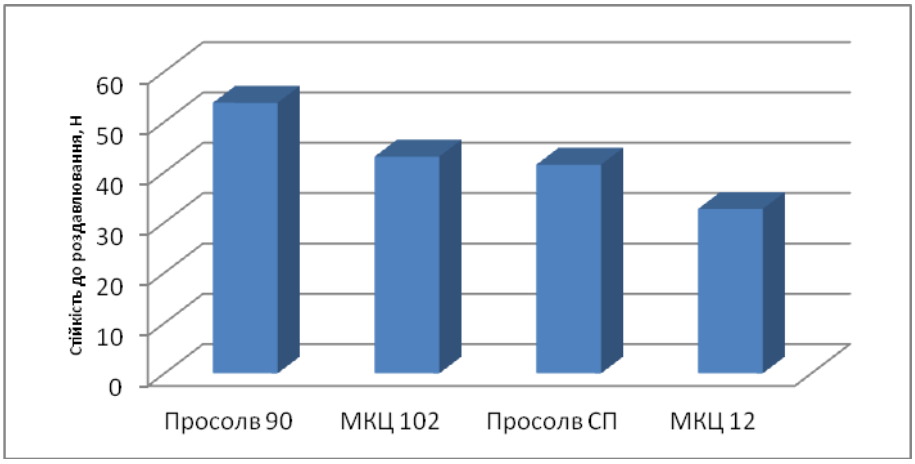


Рис. 3.31. Вплив природи структуроутворюючих речовин на механічну стійкість таблеток до роздавлювання

Як видно з рис. 3.31 ряд переваг для фактора А має наступний вигляд: просолв 90 > МКЦ 102 > просолв СП > МКЦ 12.

Вплив плаздонів на стійкість таблеток "Тріотиазид" до роздавлювання показано на рис. 3.32.

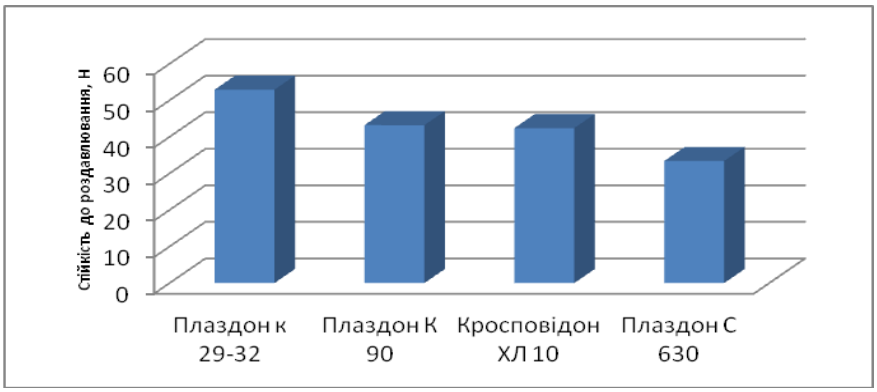


Рис. 3.32. Вплив плаздонів на стійкість таблеток до роздавлювання

Ефективність рівнів цього фактора можна проілюструвати наступним рядом переваг: плаздон К 29-32 > плаздон К 90 > кросповідон XL 10 > плаздон С630.

На стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном впливають три вивчені фактори: С > А > D. Найменше значення стираності таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном отримували при використанні цукру компрі С (середнє значення 0,40%), який має перевагу над луділресом (0,72%), лактозою моногідратом 200 (0,82%) і цукром компрі МЗ (0,93%).

Серед вивчених зразків мікрокристалічної целюлози найменше значення стираності таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном отримували при використанні просолву 90 (0,40%), який має перевагу над просолвом СР (0,78%), МКЦ 12 (0,82%) і МКЦ 102(0,88%).

Найменше значення стиранності таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном отримували при використанні неусіліну УС 2 (0,50%), який має перевагу над тальком (0,78%), неусіліном УФЛ 2 (0,79%) і аеросилом (0,86%).

Вплив зразків цукрів на стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.33.

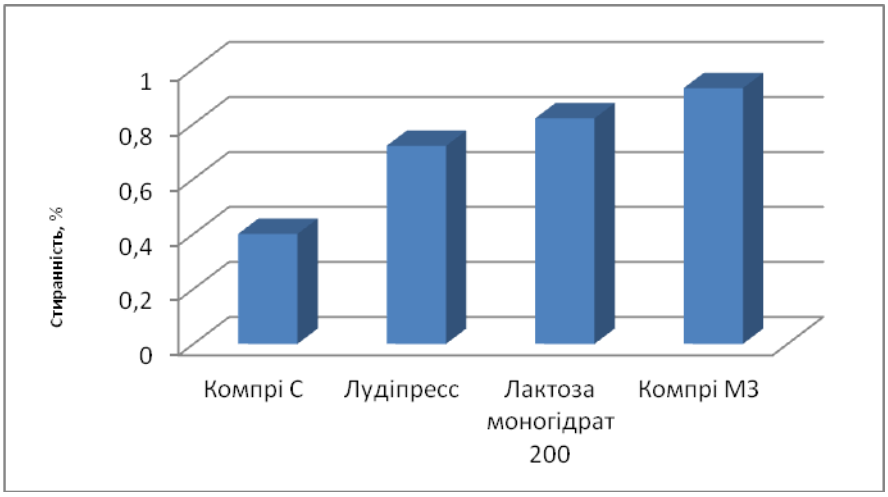


Рис. 3.33. Вплив зразків цукрів на стираність таблеток

Серед зразків цукрів спостерігається наступний ряд переваг: цукор компрі С > луділпрес > лактоза моногідрат 200 > цукор компрі МЗ. Кращою допоміжною речовиною серед зразків цукрів виявився компрі С, який має деяку первагу на луділпресом і суттєву перевагу над лактозою моногідратом 200 та цукром компрі МЗ.

Вплив природи структуроутворюючих речовин на стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.34.

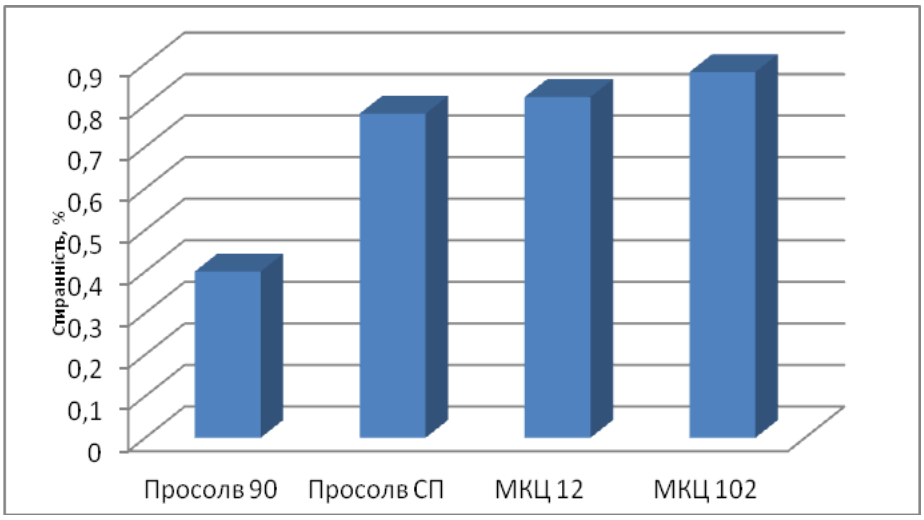


Рис. 3.34. Вплив природи структуроутворюючих речовин на стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Ефективність допоміжних речовин групи А ілюструє наступний ряд переваг: просолв 90 > просолв СП > МКЦ 12 > МКЦ 102. Просолв 90 має значну перевагу над іншими вивченими ДР.

Вплив ковзних речовин на стираність таблеток "Тріотиазид" наведено на рис. 3.35.

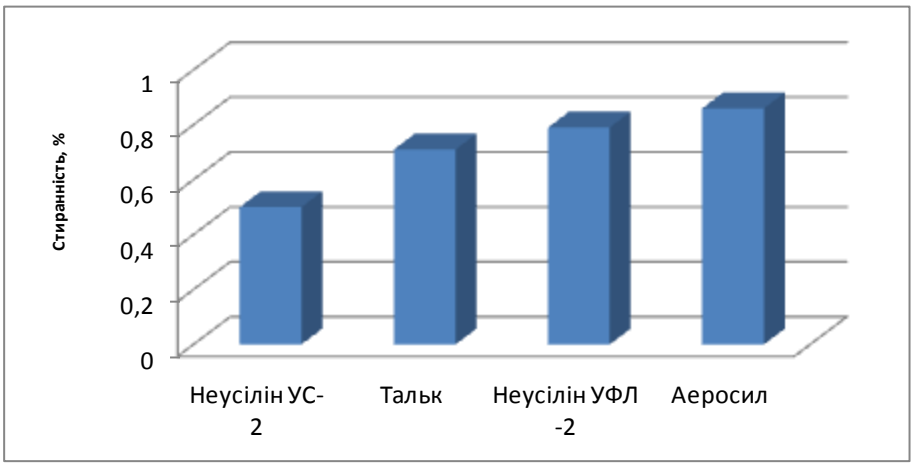


Рис. 3.35. Вплив ковзних речовин на стираність таблеток

За показником стираності серед ковзних речовин найкращий результат отримали при використанні неусіліну УС-2, який має перевагу над іншими вивченими речовинами.

Дисперсійний аналіз показників часу розпадання показав статистичну значущість всіх факторів. На розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном впливають чотири вивчених факторів: B > A > D > C.

При використанні кросповідону XL 10 час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складав 1,7 хв, плаздону К 29-32 – 8,1 хв, плаздону К 90 – 12,7 хв і плаздону С 630 – 14,5 хв.

При використанні МКЦ 12 час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складав 5,7 хв, просолву 90 – 9,1 хв, просолву СП– 9,6 хв і МКЦ 102– 12,7 хв.

При використанні аеросилу час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складав 6,4 хв, тальку– 9,6 хв, неусіліну УФЛ 2– 10,4 хв і неусіліну УС 2– 10,7 хв.

При використанні лактози моногідрату 200 час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складав 7,5 хв, луділресу – 8,3 хв, цукру компрі С – 10,0 хв і цукру компрі МЗ – 11,4 хв.

На рис. 3.36 наведено вплив зразків мікрокристалічної целюлози на час розпадання таблеток "Тріотиазид".

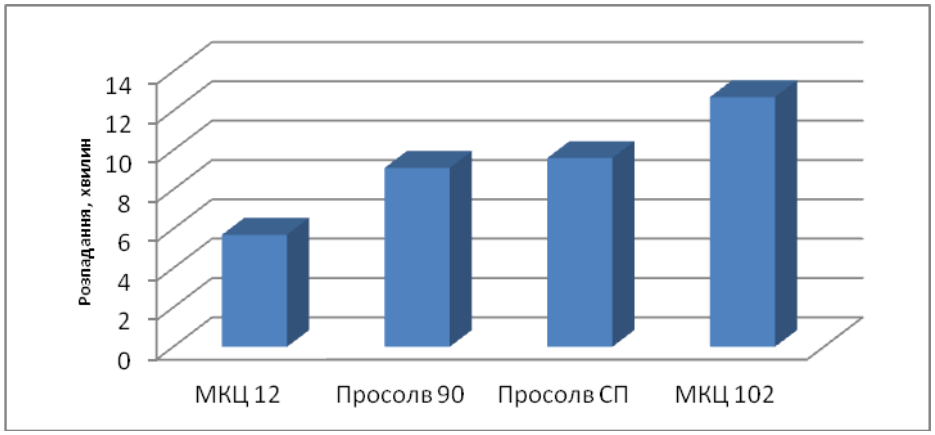


Рис. 3.36. Вплив зразків мікрокристалічної целюлози на час розпадання

Як видно з рис. 3.36, допоміжні речовини групи А за впливом на час розпадання таблеток можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 12 > просолв 90 > просолв СП > МКЦ 102.

Вплив плаздонів на час розпадання таблеток "Тріотиазид" наведено на рис. 3.37.

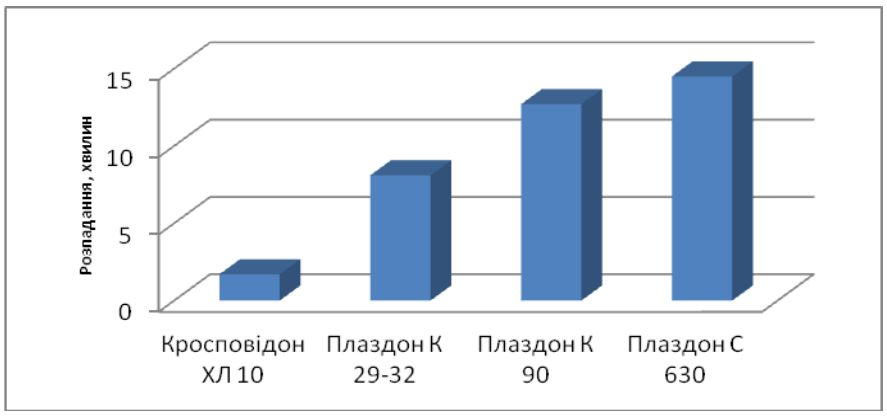


Рис. 3.37. Вплив плаздонів на час розпадання

Швидше розпадаються таблетки "Тріотиазид" при використанні кросповідону XL 10, який має значну перевагу над іншими допоміжними речовинами (плаздон К 29-32, плаздон К 90, плаздон С 630).

Вплив зразків цукрів на час розпадання таблеток "Тріотиазид" видно на рис. 3.38

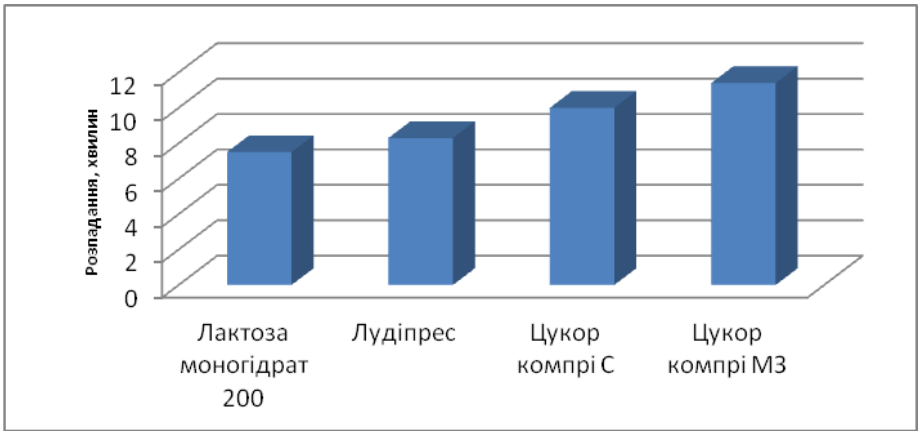


Рис. 3.38. Вплив зразків цукрів на час розпадання таблеток "Тріотиазид"

Для зразків цукру отримали наступний ряд переваг: лактоза моногідрат 200 > лудіпрес > цукор компрі С > цукор компрі МЗ.

Вплив ковзних речовин на час розпадання таблеток "Тріотиазид" представлено на рис. 3.39.

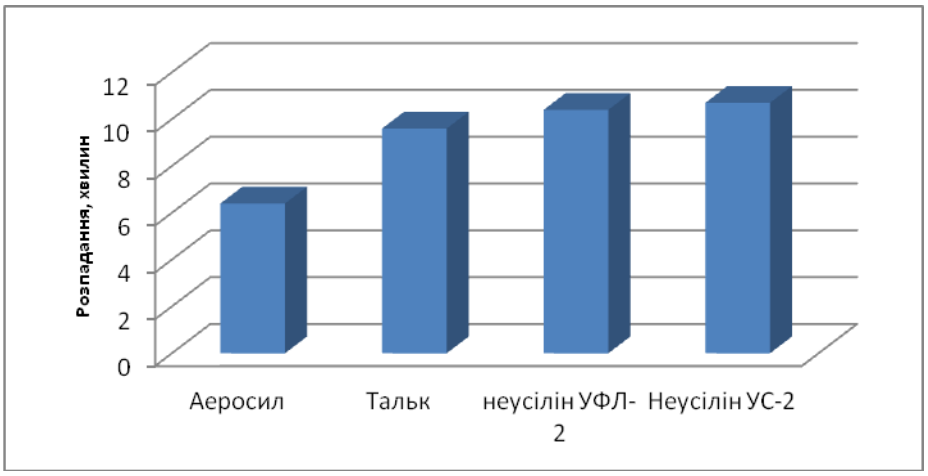


Рис. 3.39. Вплив ковзних речовин на час розпадання таблеток

Аналіз рис. 3.39 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на час розпадання таблеток можна розмістити в наступній послідовності: аеросил > тальк > неусілін УФЛ 2 > неусілін УС 2.

Проведені дослідження показали, що за багатьма відгуками отримували порошкову масу ізоніазиду з тіотриазоліном і допоміжними речовинами, яка характеризувалася добрими фармако-технологічними показниками – насипною густиною і насипною густиною після ущільнення, плинністю і кутом природного відкосу. Задовільні характеристики порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном підтверджуються процесом пресування таблеток. У всіх серіях дослідів процес пресування таблеток проходив без затруднень, проходило рівномірне заповнення матриці, однак сила виштовхування таблеток з матриці була різною.

При виборі кращих допоміжних речовин для отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном вирішальними відгуками вважали – однорідність маси таблеток, їх стійкість до роздавлювання, стираність і розпадання. Для вибору кращих допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном використовували узагальнений показник – функцію бажаності [12, 68, 78]. Для цього експериментальні значення за однорідністю маси таблеток, їх стійкістю до роздавлювання, стиранністю і розпаданням за допомогою функції бажаності переводили в безрозмірні величини, потім визначали узагальнений показник (рис.3.40).

Первинні результати за показниками однорідності маси таблеток, стійкості до роздавлювання, стиранності і розпадання (дані із табл.3.4) за допомогою вищенаведеного рисунку переводили в безрозмірні величини за процедурою, яка описана в роботі [56]. Отримані значення наведені в табл.3.4 (графа **D і D**’).

Результати дисперсійного аналізу показали статистичну значущість

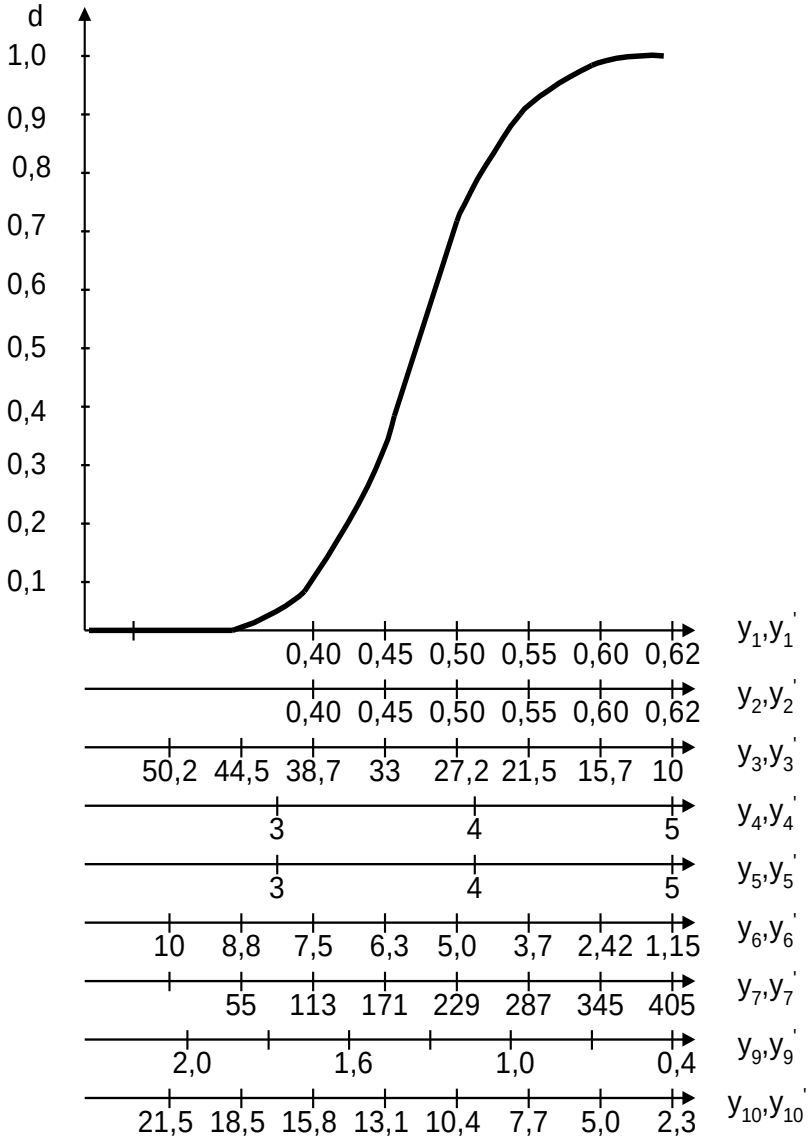


Рис. 3.40. Функція бажаності для переведення первинних результатів експерименту в безрозмірні величини

всіх чотирьох факторів за впливом на узагальнений показник: A > C > res > B > D.

Вплив структуроутворюючих речовин на основі МКЦ на узагальнений показник таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 3.41.

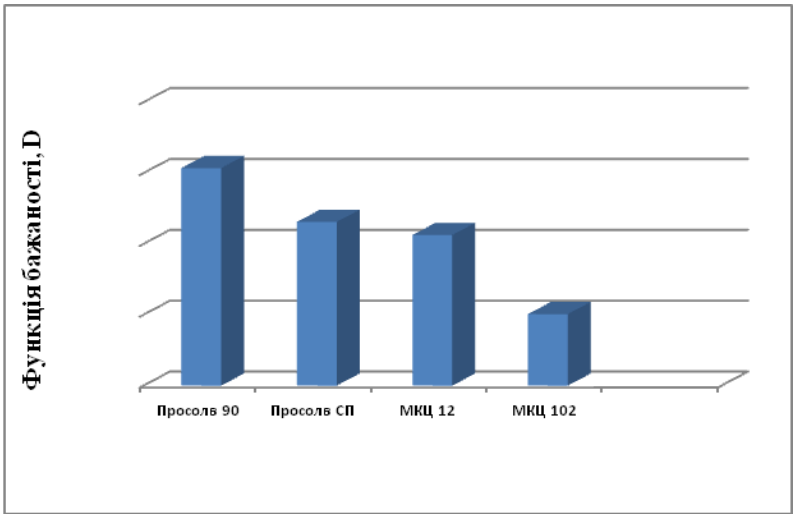


Рис. 3.41. Вплив природи структуроутворюючих речовин на основі МКЦ на узагальнений показник

Аналіз рисунку показав, що визначальний вплив на чотири основні показники отриманих таблеток має просолв 90, який має переваги над просолвом СП та МКЦ 12 та суттєву перевагу над МКЦ 102, яку на сьогодні в найбільшій мірі використовують при створенні таблеток прямим пресуванням. Для подальших досліджень раціонально використовувати просолв 90.

Вплив природи поліплаздонів на узагальнений показник зображено на рис. 3.42.

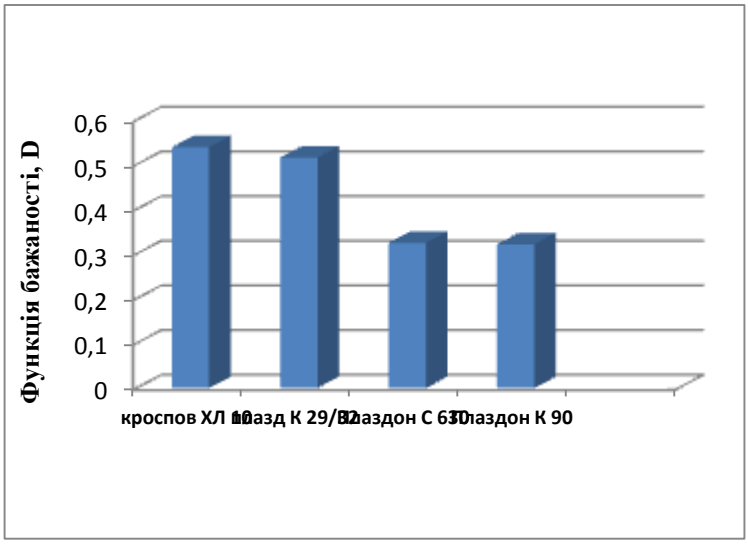


Рис. 3.42. Вплив поліплаздонів на узагальнений показник

Ранжований ряд переваг для поліплаздонів має наступний вигляд: кросповідон ХЛ 10 = плаздон К 29-32 > плаздон С 630 = плаздон К 90. Однакове значення узагальненого показника для кросповідону XL 10 та плаздону К 29-32 спонукало до проведення додаткових експериментальних досліджень, на підставі яких для подальших експериментів вибраний плаздон К 29-32.

Вплив природи цукрів на узагальнений показник зображено на рис. 3.43.

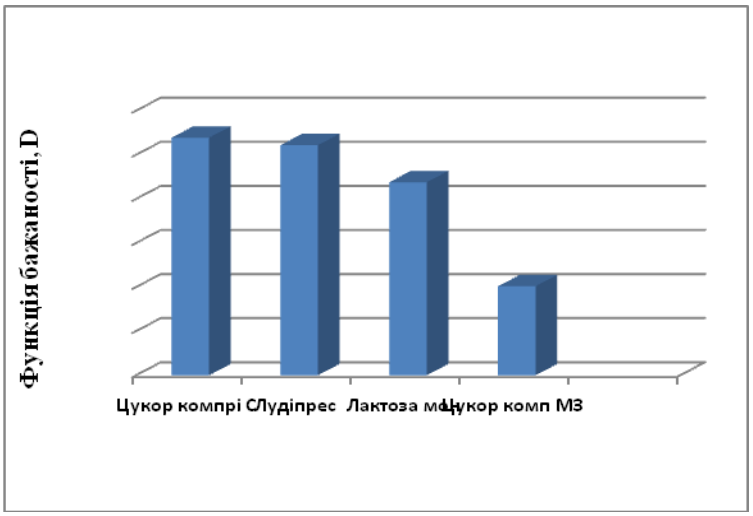


Рис. 3.43. Вплив природи цукрів на узагальнений показник

Серед вивчених цукрів (рис. 3.43), найбільше значення узагальненого показника одержали при використанні цукру компрі С (0,538). Інші ДР із вказаної групи мали менший вплив на узагальнений показник: лудіпрес (0,522), лактоза моногідрат 200 (0,448), цукор компрі МЗ (0,203).

Вплив ковзних речовин на узагальнений показник зображено на рис. 3.44.

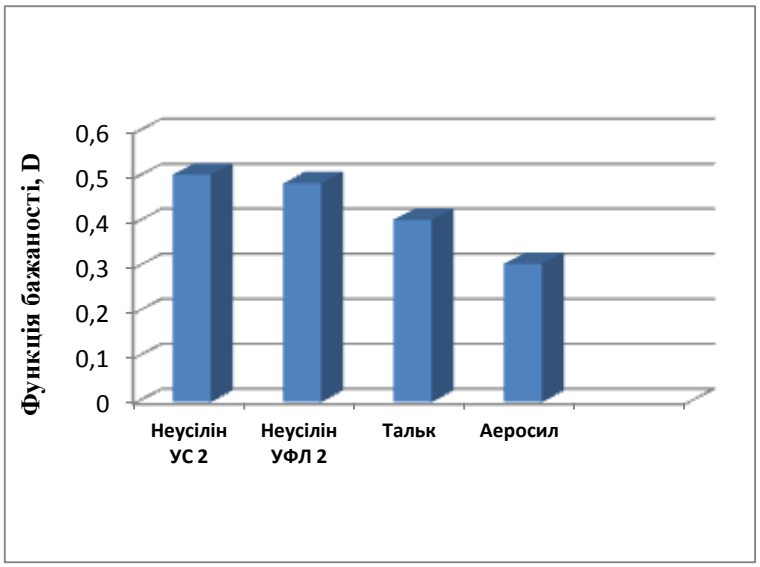


Рис. 3.44. Вплив ковзних речовин на узагальнений показник таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Ранжувальний ряд переваг для ковзних речовин (рис. 3.44), що відображає їх вплив на узагальнений показник, має такий вигляд: неусілін УС 2 (0,504) > неусілін УФЛ 2 (0,486) > тальк (0,401) > аеросил (0,307).

Аналіз експериментальних результатів за узагальненим показником показав, що найкращою комбінацією є $a_4b_3c_3d_2$ (табл.3.4).

Дисперсійний аналіз результатів, отриманих за допомогою функції бажаності, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі допоміжні речовини, враховуючи їх дію та наявність на ринку допоміжних речовин: просолв 90 із зразків мікрокристалічної целюлози, плаздон К 29-32 із зразків поліплаздонів, неусілін УС 2 з групи ковзних речовин, з групи речовин на основі цукрів обрано цукор компрі С.

3.5 Розробка оптимального складу і технології таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Для відібраних на попередньому етапі кращих допоміжних речовин необхідно встановити раціональне співвідношення в складі таблеток

ізоніазиду з тіотриазоліном [45]. Було вирішено згрупувати їх в три кількісні фактори (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Кількісні фактори та їх рівні, що вивчалися при створенні оптимального складу таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Фактори	Рівні факторів				
	Нижня зіркова точка "-α"	Нижній "-"	Основний "0"	Верхній "+"	Верхня зіркова точка "+α"
x_1 - маса плаздону К 29-32 на одну таблетку, г	0,0146	0,0200	0,0280	0,0360	0,0420
x_2 - маса цукру компрі С на одну таблетку,г	0,0210	0,0240	0,0280	0,0320	0,0350
x_3 – маса неусіліну УС 2 на одну таблетку, г	0,0013	0,0040	0,0080	0,0120	0,0160
Просолв 90	До необхідної середньої маси таблеток				

Було здійснено розрахунок складу на 1 таблетку "Тріотиазид" з урахуванням діючих та допоміжних речовин. До складу однієї таблетки вводили 0,2 г ізоніазиду, 0,05 г тіотриазоліну, 0,004 г кальцію стеарату. Середня маса таблетки із допоміжними речовинами складала 0,4 г. Кількість плаздону К 29-32 в складі таблеток складала 3,64-10,36%, кількість цукру компрі С – 5,32-8,68% і кількість неусіліну УС 2 – 0,32-3,68%.

Таблиця 3.6

Розрахунки складу на 1 таблетку

x1	x2	x3	Ізоніазид	Тіотри-азолін	Поліпла здон	Компрі С	Неусілін	Просолв	Кальц стеарат
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
+	+	+	0,20	0,05	0,036	0,032	0,012	0,066	0,004
-	+	+	0,20	0,05	0,02	0,032	0,012	0,082	0,004
+	-	+	0,20	0,05	0,036	0,024	0,012	0,074	0,004
-	-	+	0,20	0,05	0,02	0,024	0,012	0,09	0,004
+	+	-	0,20	0,05	0,036	0,032	0,004	0,074	0,004
-	+	-	0,20	0,05	0,02	0,032	0,004	0,09	0,004
+	-	-	0,20	0,05	0,036	0,024	0,004	0,082	0,004
-	-	-	0,20	0,05	0,02	0,024	0,004	0,098	0,004
+[a]	0	0	0,20	0,05	0,042	0,028	0,008	0,068	0,004
-	0	0	0,20	0,05	0,0146	0,028	0,008	0,0954	0,004
0	+	0	0,20	0,05	0,028	0,035	0,008	0,075	0,004
0	-	0	0,20	0,05	0,028	0,021	0,008	0,089	0,004
0	0	+	0,20	0,05	0,028	0,028	0,016	0,074	0,004
0	0	-	0,20	0,05	0,028	0,028	0,0013	0,0887	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004
0	0	0	0,20	0,05	0,028	0,028	0,008	0,082	0,004

Для вивчення трьох кількісних факторів використовували ротатабельний симетричний уніформ план другого порядку [68, 78]. Матриця планування експерименту та результати дослідження порошкових мас і таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном наведені в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

План експерименту та результати дослідження порошкових мас і таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном*

x1	x2	x3	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6	y_7	y_8
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.
+	+	+	0,66	0,78	20	10,93	1,58	67,3	0,20	19,3
-	+	+	0,63	0,77	27	11,43	1,04	65,3	0,18	17,5
+	-	+	0,64	0,77	27	13,34	1,13	58,6	0,22	17,1
-	-	+	0,63	0,77	28	10,25	1,21	61	0,18	11,5
+	+	-	0,66	0,82	30	13,12	1,59	60	0,25	19,2
-	+	-	0,64	0,77	28	12,32	0,72	51	0,28	12,5
+	-	-	0,64	0,77	24	12,35	0,82	46,83	0,28	16,3
-	-	-	0,64	0,77	26	11,39	1,02	42,5	0,29	11,2
+б	0	0	0,67	0,79	24	12,29	1,37	52,83	0,28	15,5
-б	0	0	0,62	0,75	26	11,90	1,03	53	0,23	10,5
0	+б	0	0,63	0,77	25	11,17	1,23	66,66	0,20	19,5
0	-б	0	0,62	0,75	20	10,96	0,97	53	0,27	16,5
0	0	+б	0,59	0,71	26	13,35	1,26	67,5	0,18	18,5
0	0	-б	0,62	0,77	24	13,33	0,96	48	0,29	14,3
0	0	0	0,61	0,75	26	13,64	0,96	54,5	0,24	14,2
0	0	0	0,62	0,76	27	13,54	0,97	54,5	0,25	14,5
0	0	0	0,62	0,75	26	13,57	0,97	54	0,25	15,3
0	0	0	0,61	0,75	28	14,10	1,05	54,5	0,24	14,5
0	0	0	0,61	0,76	28	14,61	1,02	55	0,25	15,4
0	0	0	0,61	0,75	26	13,56	1,05	53,5	0,24	15,5

П р и м і т к а :* y_1 – насипна густина, г/мл; y_2 - насипна густина порошків після ущільнення, г/мл; y_3 – плинність порошкових мас, 100 г/ сек.; y_4 – кут природного укосу порошкових мас, град.; y_5 - однорідність маси таблеток, ±%; y_6 – стійкість таблеток до роздавлювання, Н; y_7 – стираність таблеток, %; y_8 - розпадання таблеток, хв.

В тих випадках, коли розрахована кількість ДР в складі таблеток була меншою 0,4000 г, до необхідної середньої маси доводили за допомогою просолву 90. Отже, кількість просолву 90 в складі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном виступає як четвертий фактор. В кожній серії дослідів

кількість просолву 90 в складі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном була різною.

Взаємозв˙язок між вивченими факторами та фармако-технологічними властивостями порошкових мас і таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном описується рівняннями регресії другого порядку:

$$y=b_o x_o+b_1 x_1+ b_2 x_2+ b_3 x_3+ b_{12} x_1 x_2+ b_{13} x_1 x_3+ b_{23} x_2 x_3+ b_{11} x_1^2+b_{22} x_2^2+ b_{33} x_3^2$$

Взаємозв'язок між вивченими факторами і насипною порошковою густиною ізоніазиду з тіотриазоліном та допоміжними речовинами описується наступним рівнянням регресії:

$$y_1= 0{,}612 + 0{,}011x_1 + 0{,}005x_2 – 0{,}005x_3+ 0{,}005x_1 x_2+ 0{,}014x_1^2+0{,}007x_2^2$$

(*В це та нижченаведені рівняння регресії включені тільки статистично значущі коефіцієнти*)

Згідно отриманого рівняння регресії, із збільшенням кількості пластдону К 29-32 і цукру компрі С насипна густина підвищується, а неусіліну УС 2 - понижується. Коефіцієнти парних взаємодій незначущі. Значущі квадратичні коефіцієнти для факторів x_1 і x_2.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і насипною густиною порошкових мас після ущільнення ізоніазиду з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$$y_2= 0{,}752 + 0{,}009x_1+ 0{,}007x_2-0{,}0103x_3+ 0{,}007_2 x_1 x_2+0{,}011_1 x_1^2+ 0{,}006x_2^2$$

Аналіз рівняння регресії засвідчив про однаковий вплив вивчених факторів, як і на насипну густину вільну, так і насипну густину після ущільнення. Дослідження насипної густини порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном після ущільнення вказує, що зберігається тенденції до підвищення її значення із збільшенням кількості пластдону К 29-32 і цукру компрі С в її складі і зменшення – при збільшенні кількості неусіліну УС 2.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і плинністю порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном та допоміжними речовинами описується наступним рівнянням регресії:

$y_3 = 13,64+0,38x_1-0,21x_3-0,43x_1x_2-0,32x_2x_3-0,57x_1^2-0,94x_2^2$

Згідно рівняння регресії, із збільшенням кількості плаздону К 29-32 в складі таблетованої маси її плинність погіршується, а кількості цукру компрі С – покращується. Кількість неусіліну УС 2 в межах вивчених інтервалів на плинність порошкової маси не впливає.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і кутом природного укосу порошкових мас ізоніазиду з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$y_4 = 26,75 – 0,85x_1 - 1,05x_1x_3 - 2,05x_2x_3-1,05x_2^2$

На підставі рівняння регресії встановлено, що кут природного укосу зменшується при збільшенні кількості плаздону К 29-32 в складі порошкової маси і, навпаки, підвищується при збільшенні кількості цукру компрі С. Фактори x_2 і x_3 статистично незначущі, однак проявляється суттєва взаємодія між факторами x_3 та x_2 (b_{23} = - 2,05) та x_1x_3 (b_{13} = - 1,05). Значення коефіцієнтів парних взаємодій значно перевищує величину лінійних коефіцієнтів для факторів x_1 і x_2, отже в залежності від того, на яких рівнях вивчати кількісні фактори змінюється значення кута природного укосу. Зазначимо, що у всіх серіях дослідів первинні значення кута природного відкосу не перевершували 30 град.

Взаємозвязок між вивченими факторами і однорідністю маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$y_5 = 1,00+0,12x_1+0,09x_2+009x_3+0,21x_1x_2+0,06x_1^2+ 0,04x_2^2+ 0,04x_3^2$

При збільшенні кількості плаздону К 29-32 , цукру компрі С та неусіліну УС 2 в складі таблеткової маси її однорідність погіршується. Зазначимо, що у всіх серіях дослідів однорідність маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном була доброю, в досліді № 5 вона була максимальною – ±1,59 % при фармакопейній вимозі ± 5,00. Такі добрі показники щодо однорідності маси таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном можна пояснити тим, що при збільшенні кількості плаздону К 29-32 , цукру компрі С і неусіліну УС 2

зменшується кількість просолву 90, як компонента таблеток. Просолв 90 створений спеціально для отримання таблеток методом прямого пресування для випадків, коли потрібно надати їм добру плинність і змішуваність.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і стійкістю до роздавлювання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном та допоміжними речовинами описується наступним рівнянням регресії:

$$y_6 = 54{,}33+0{,}92x_1+4{,}22x_2+6{,}20x_3+1{,}13x_1x_2-1{,}71x_1x_3-1{,}08x_2x_3-0{,}59x_1^2+1{,}85x_2^2+1{,}17x_3^2$$

В наведеному рівнянні регресії статистично значущі всі коефіцієнти. Згідно рівняння регресії, визначальний вплив на стійкість таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання проявляє фактор x_3 - із збільшення кількості неусіліну УС 2 в складі таблеток їх міцність підвищується. Ефект фактора x_3 в 1,16 рази більший фактора x_2 і 6,7 - фактора x_1. Із збільшенням кількості цукру компрі С та плаздону К 29-32 у складі таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном їх стійкість до роздавлювання підвищується.

В рівнянні регресії проявляється статистична значущість парних та квадратичних коефіцієнтів. Це означає, що в залежності від того, на якому рівні вивчаються три фактори суттєво змінюється значення стійкості таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном до роздавлювання. Так, наприклад, якщо фактор x_3 і x_1 вивчати на верхніх зіркових точках, то очікуване значення стійкості таблеток до роздавлювання буде складати 69 Н.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і стиранністю таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном та допоміжними речовинами описується наступним рівнянням регресії:

$$y_7 = 0{,}245 +0{,}008x_1-0{,}013x_2-0{,}037x_3+ 0{,}012x_1x_3-0{,}005x_2^2-0{,}005x_3^2$$

Визначальний вплив на стираність таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном проявляє фактор x_3, ефект якого в 2,84 рази більший фактора x_2 і 4,62 рази фактора x_1. Із збільшенням кількості неусіліну УС 2 та цукру компрі С стираність таблеток ізоніазиду з тіатриазоліном зменшується, а кількості плаздону К 29-32 – підвищується. Отримані у всіх серіях дослідів таблетки

ізоніазиду з тіотриазоліном відзначалися високою стійкістю до стирання. В жодній серії дослідів значення вказаного показника не перевершувало 0,3% при встановленій нормі 1%. Це свідчить про раціональний підбір ДР.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і розпаданням таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном та допоміжними речовинами описується наступним рівнянням регресії:

$$y_8 = 14{,}90 + 2{,}02x_1 + 1{,}27x_2 + 0{,}97x_3 - 0{,}73x_1^2 + 1{,}03x_2^2 + 0{,}47x_3^2$$

Згідно рівняння регресії, із збільшенням кількості плаздону К 29-32 , цукру компрі С і неусіліну УС 2 час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном підвищується. Вважаємо, що схильність таблеток ізоніазиду до розпадання залежать від їх стійкості до роздавлювання. Розпадання таблеток проходить пошарово.

Проведені дослідження показали, що у 10-ти серіях дослідів (табл. 3.7) час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном складав менше 15 хв, в 18-ти стійкість таблеток до роздавлювання складала більше 50 Н, у всіх серіях дослідів стираність таблеток була менше 1% і однорідність маси – менше ±5%. Отже, будь-яка із 10-ти серій, де час розпадання таблеток був менше 15 хв може вважатися оптимальною. Проте, час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном на верхній межі слід вважати критичним з позиції наступних біофармацевтичних досліджень, так і з позиції зміни цього показника при різних тисках пресування. Тому проведені перетворення трьохфакторної моделі в двохфакторну з наступною побудовою графіка.

У відповідності з рекомендаціями проводили перетворення рівняння для y_8 [56]. При цьому фактор x_3 стабілізували на верхньому рівні після цього рівняння регресії приймали наступний вигляд:

$$y_5 = 1{,}003 + 0{,}124x_1 + 0{,}089x_2 + 0{,}211x_1x_2 + 0{,}068x_1^2 + 0{,}032x_2^2$$

$$y_6 = 63{,}952 - 0{,}795x_1 + 3{,}14x_2 + 1{,}133x_1x_2 - 0{,}59x_1^2 + 1{,}85x_2^2$$

$$y_7 = 0{,}194 + 0{,}02x_1 - 0{,}013x_2 - 0{,}005x_2^2$$

$$y_8 = 14{,}973 + 1{,}774x_1 + 1{,}262x_2 - 0{,}685x_1^2 + 1{,}206x_2^2$$

На підставі перетворених рівнянь регресії будували лінії рівного виходу в системі координат x_1 і x_2 і знаходили оптимальну точку, при якій час розпадання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном був найменший. Це відбувається, коли фактор x_1 вивчали на нижній зірковій точці, а фактор x_2 - на нижньому рівні. При такому поєднанні значення однорідності маси таблеток буде складати ± 1,28 %, стійкість до роздавлювання - 64,2 Н, стираність - 0,17% і час розпадання - 9,9 хв.

Це дає нам можливість запропонувати наступний склад таблетки:

Ізоніазид	0,2000 г
Тіотриазолін	0,0500 г
Просолв 90	0,0680 г
Плаздон К 29-32	0,0420 г
Цукор компрі С	0,0240 г
Неусілін УС 2	0,0120 г
Кальція стеарат	0,0040 г
Середня масса	0,4000 г

Дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика (додаток Г) та кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (додаток Г.1).

Розроблена технологічна схема виробництва таблеток "Тріотиазид", яка була апробована на заводі АТ "Лекхім" (акт апробації додаток Д), на якому в подальшому планується випуск комбінованих таблеток (рис. 3.40).

За матеріалами розділу опубліковані роботи [40, 45, 46, 98]

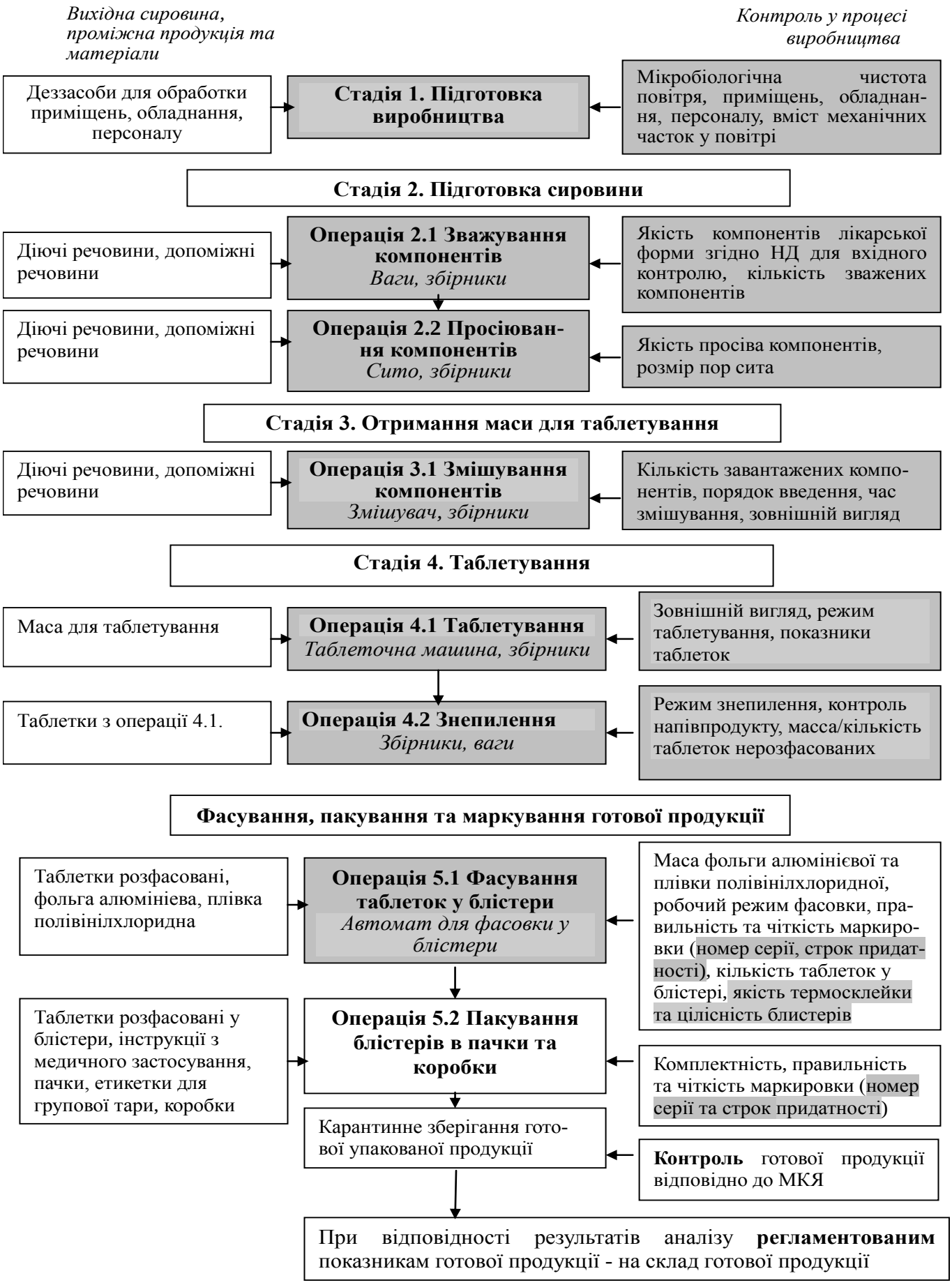


Рис. 3.40. Технологічна схема виробництва таблеток "Тріотиазид "

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3

1. Спільно з фармакологами досліджено різноманітні співвідношення ізоніазиду і тіотриазоліну. Спираючь на результати проведенних фармакологічних досліджень (сім співвідношень) встановлено, що оптимальним є співвідношення діючих речовин: ізоніазиду і тіотриазоліну 4:1.

2. Проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном, свідчать, що між діючими речовинами не виникають стійких хімічних зв'язків, а тільки водневі, все вище сказане дає можливість поєднання тіотриазоліну та ізоніазиду в одній лікарській формі у вигляді таблеток.

3. Для створення нового комбінованого таблеткованого лікарського засобу, що містить ізоніазід і тіотриазолін методом вологої грануляції досліджено 12 допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, зв’язуючі). Відібрано оптимальні ДР, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми ДФУ. Розроблено склад та технологія отримання таблеток "Тріотиазид" методом вологої грануляції. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету.

4. Для створення таблеток "Тріотиазид" методом прямого пресування з 16 допоміжних речовин (зразків мікрокристалічної целюлози, поліплаздонів, цукрів та ковзних і сорбуючих речовин) відібрано п’ять оптимальних (просолв 90, плаздон К 29-32, цукор компрі С та неусілін УС 2).

5. Спираючись на результати дослідження якісних та кількісних співвідношень відібранних допоміжних речовин розробленооптимальний склад і технологію отримання таблеток "Тріотиазид" методом прямого пресування. Розроблено технологічну схему виробництва таблеток

"Тріотиазид" методом прямого пресування, яка апробована на заводі ЗАТ "Лекхім".

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК "ТРІОТИАЗИД"

В сучасному аналізі готових лікарських форм все більшу увагу приділяють сучасним фізико-хімічним методам стандартизації, таким як УФ-спектрометрія, високоефективна рідинна хроматографія та ін [2, 6, 15, 72, 133, 184, 185]. Тому звернули увагу на сучасний, високоточний метод ВЕРХ, який можливо застосувати для визначення діючих речовин в розроблених комбінованих таблетках "Тріотиазид". Для цього попередньо вивчають методи стандартизації кожної діючої речовини окремо, а також штучної суміші (4:1), таблеткової маси, а після цього розроблену методику успішно застосували для розроблених таблеток [79].

4.1 Розробка методик стандартизації штучної суміші

По-перше, була розроблена методика спільного визначення якісного та кількісного вмісту ізоніазиду та тіотриазоліну в штучній суміші методом ВЕРХ [23, 24, 51, 54, 90]. Для цього, по-перше,необхідно було здійснити підбір умов проведення аналізу, рухомої і нерухомої фази. Це непросте завдання, оскільки обидва компоненти мають різну кислотно-основну природу: тіотриазолін має кислотний характер, а ізоніазид є досить сильною основою [76, 79, 89].

Після цього було вивчено можливість спільного визначення діючих речовин в різних рухомих і нерухомих фазах. Дослідження проводилися на модельній суміші ізоніазиду та тіотриазоліну у співвідношенні 4:1, яка володіє оптимальним терапевтичним ефектом. За основу було взято відому методику аналізу тіотриазоліну на зворотній фазі з використанням кислого фосфатного буфера (pH 3) за довжини хвилі 220 нм.

У цих умовах тіотриазолін існує у вигляді вільної кислоти (час утримання близько 8 хв) (рис. 4.1), а ізоніазид - у вигляді солі і виходить майже у мертвого об'єму колонки, що не дозволяє коректно проводити його кількісний аналіз (рис. 4.2).

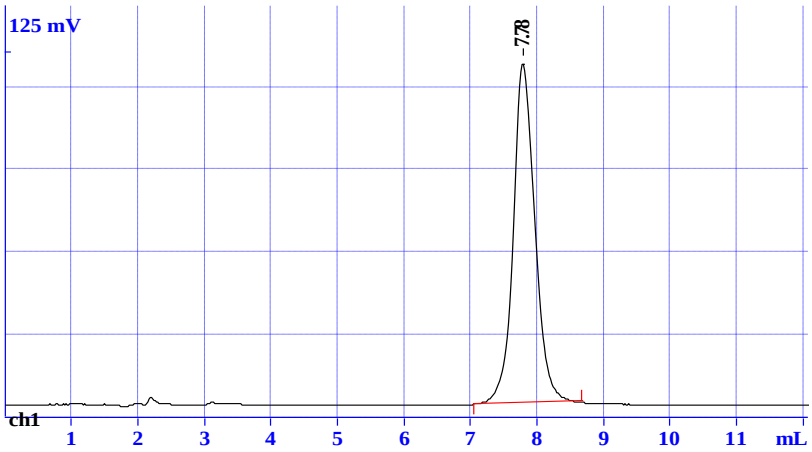


Рис. 4.1. Хроматограма розчину тіотриазоліну у воді 0,4 мг/мл. Елюент: 10% метанолу - 90% фосфатного буфера. Фаза – С18

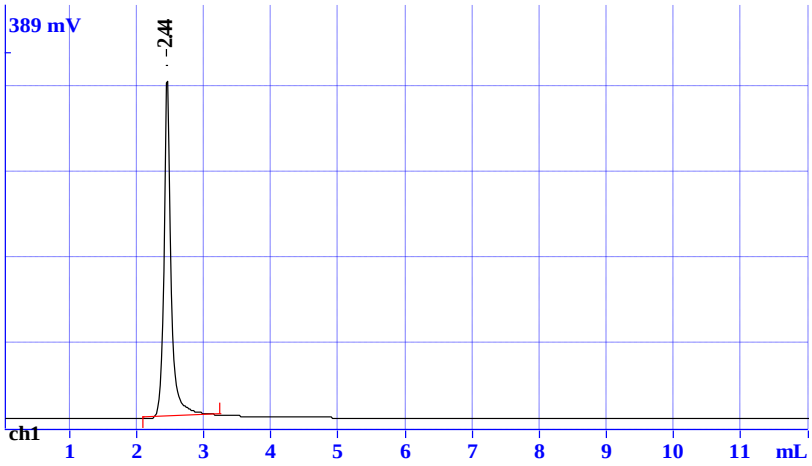


Рис. 4.2. Хроматограма розчину ізоніазиду у воді 0,4 мг/мл. Елюент:10% метанолу - 90% фосфатного буфера. Фаза – С18

В подальшому пошук умов проведення аналізу був здійснений при варіюванні pH і заміні фосфатного сольового буфера на органічні кислоти (оцтову і мурашину) і буферні суміші на їх основі. Однак буфери на основі

органічних кислот мають занадто високе індивідуальне поглинання при довжині хвилі 220 нм, що знижує чутливість аналізу і не придатні для цього (рис. 4.3).

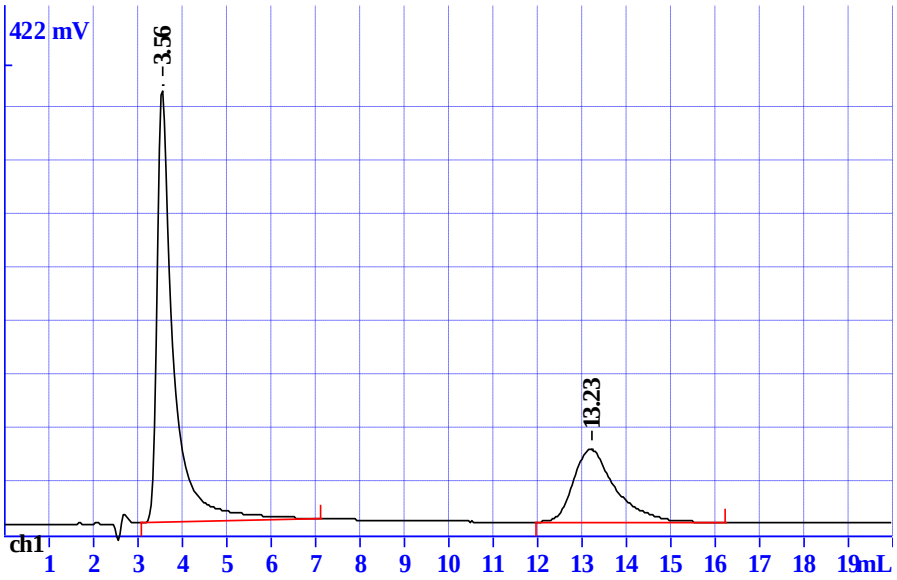


Рис. 4.3. Хроматограма 0,4 мг/мл тіотриазоліну і 0,4 мг/мл ізоніазиду в воді. Елюент: 5% метанолу - 95% 0,1% розчину HCOOH. Фаза – С18

Далі використовували в якості рухомої фази 0,1 % водний розчин кислоти мурашиної, що дозволило, у порівнянні з фосфатним буфером, незначно подовжити час утримання ізоніазиду і дуже сильно тіотриазоліну, при цьому значно подовжується час аналізу. При подальшому збільшенні pH (при використанні елюентів на базі форміатного буфера) подовжується час утримання ізоніазиду і зменшується час утримання тіотриазоліну, але при цьому значно погіршується форма піків за рахунок співіснування протонованих і вільних форм аналітів (рис. 4.4).

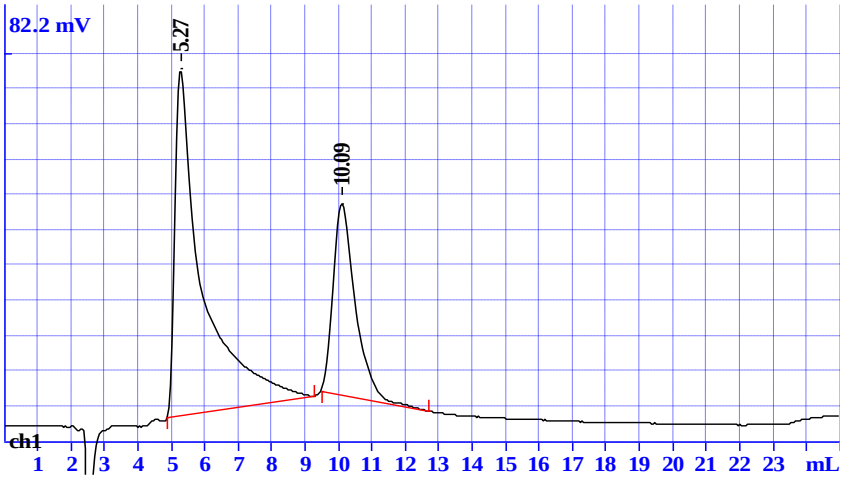


Рис. 4.4. Хроматограма 0,4 мг/мл тіотриазолінуі 0,4 мг/мл ізоніазиду в елюенті. Елюент: 10% метанолу - 90% форміатного буфера (pH~3.4). Фаза – C18

Необхідне для спільного визначення ізоніазиду та тіотриазоліну збільшення часу утримання ізоніазиду можливо отримати при додаванні іон-парного реагенту (наприклад, додецілсульфонату натрію) в елюент, який містить 10 % метанолу - 90 % фосфатного буфера. Результати наведені в табл. 4.1.

На жаль, використання вищезгаданого елюенту необоротно модифікує зворотну фазу і робить її нездатною для роботи з іншими елюентами, тому вищезгаданий аналіз вимагає виділення окремої колонки, а це вимагає певних витрат і є економічно невигідним.

Альтернативним варіантом є використання полярної ціанованої нерухомої фази і кислих буферних розчинів. У цих умовах для водних розчинів кислот мурашиної або оцтової за достатньо низьких pH (<3.5) спостерігається поліпшення форми піків, зменшення їх ширини.

Таблиця 4.1

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ І ТІОТРИАЗОЛІНУ МЕТОДОМ ВЕРХ НА ЗВОРОТНІЙ ФАЗІ (PRONTOSILEUROBONDC18)*

Елюент	*pH*	*Концентрація, мг/мл*		*Час утримання, хв.*		*Полуширина піка, хв.*	
		ізоніазид	*тіотриазолін*	*ізоніазид*	*тіотриазолін*	*ізоніазид*	*тіотриазолін*
10% метанолу – 90% фосфатного буферу.	3	0.4	0.4	2.44	7.78	0.087	0.334
Елюент А: фосфатний буфер; Елюент В: 10% метанолу - 90% фосфатного буферу. Градиентне елюювання: 0 хвил. – 10% В, 5хвил. – 100% В.	3	0.2	0.2	2.76	10.12	0.481	0.409
5% метанолу - 95% фосфатного буферу	3	0.4	0.4	2.61	12.36	0.247	0.764
5% метанолу-95% 0,1%-го водного розчину HCOOH	2.7	0.4	0.4	3.56	13.20	0.308	0.945
10% метанолу-90% 0,1%-го водного розчину HCOOH	2.7	0.4	0.4	2.97	8.50	0.215	0.591

П р и м і т к а : *фосфатний буфер - 0,68 г/л KH_2PO_4 и H_3PO_4

При цьому, у порівнянні з попередніми аналізами, незначно збільшується час утримання ізоніазиду (але досить для відділення від піку інжекції на мертвому об'ємі), і істотно зменшується час утримання тіотриазоліну, що значно скорочує загальний час аналізу (рис. 4.5).

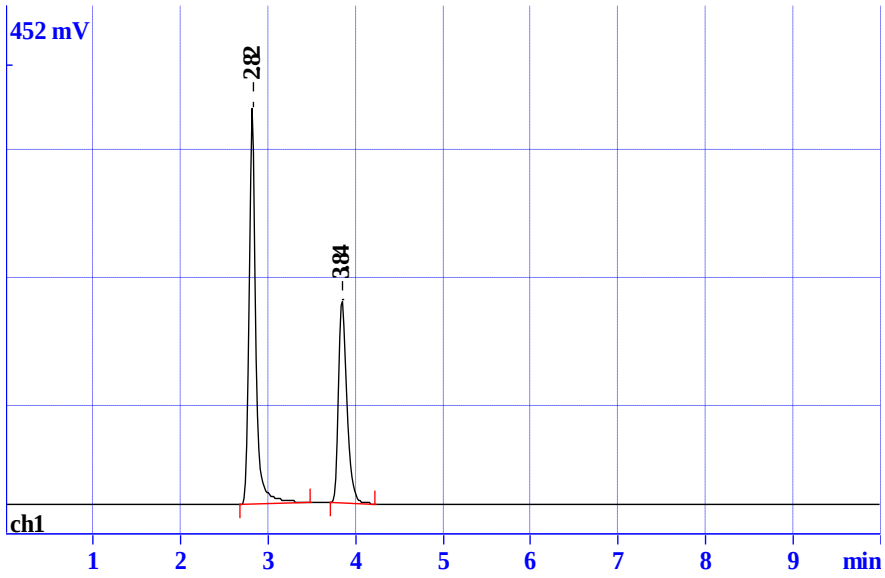


Рис. 4.5. Хроматограма 0,4 мг/мл тіотриазолінуі 0,4 мг/мл ізоніазиду в елюенті. Елюент 1% розчин AcOH в воді. CN-фаза

Результати наведені в табл. 4.2.

Таблиця 4.2

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ І ТІОТРИАЗОЛІНУ МЕТОДОМ ВЕРХ НА ЦІАНОВАНІЙ ФАЗІ (PRONTOSIL 120-5-CN)*

Елюент	*pH*	*Концентрація, мг/мл*		*Час утримання, хв.*		*Полуширина піка, хв.*	
		Ізоніа-зид	*Тіотриа-золін*	*Ізоніа-зид*	*Тіотриа-золін*	*Ізоніа-зид*	*Тіотриа-золін*
0,5% розчин AcOH у воді	2.9	0.4	0.4	2,94	3,89	0,104	0,102

Продовж. табл. 4.2

0,5% розчин HCOOH у воді	2.4	0.4	0.4	2,63	3,88	0,067	0,102
0,05% розчин CF_3COOH у воді	2.2	0,08*	0,02*	2,78	4,06	0,082	0,117

Примітка: * модельна суміш ізоніазиду і тіотриазоліну в співвідношені 4:1 (мас.)

Таким чином, вважаємо перспективним для спільного визначення ізоніазиду та тіотриазоліну використання ціанованої нерухомої і кислої (pH<3) рухомої фази. Для подальшого збільшення чутливості аналізу (головним чином, для збільшення часу виходу ізоніазиду) доцільно було вивчити можливості використання трифторотцової кислоти як pH регулятора.

Надалі зменшували pH<3 шляхом додавання кислоти трифторотцової, що призвело до задовільного розділення ізоніазиду і тіотриазоліну та одночасного зменшення півширини піків в порівнянні з рухливими фазами з більш високим pH. Результати наведені в табл. 4.3.

Таблиця 4.3

РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОНІАЗИДУ І ТІОТРИАЗОЛІНУ МЕТОДОМ ВЕРХ*

Колонка	*Елюент*	*λ, нм*	*pH*	t_R, *хв.*		*Примітка до хроматограми*
				ізоніазид	*тіотриазолін*	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
ProntosilEurobondC18	10% метанолу – 90% фосфатного буферу.	220	~ 3	2,44	7,78	Розчин у воді з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну. Хороша форма піків. Ізоніазид виходить поблизу мертвого об'єму колонки
Prontosil Eurobond C18	*Елюент А:* фосфатний буфер; *Елюент В:* 10% метанолу - 90% фосфатного буферу. *Градиентне елюювання*: 0 хв. – 10% В, 5 хв. – 100% В.	220	~ 3	2,76	10,12	Розчин у воді з концентрацією по 0,2 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну Погіршилася форма піків. "Плаває" нульова лінія. Погано відтворюються аналізи
Prontosil EurobondC18	5% метанолу - 95% фосфатного буферу	220	~3	2,61	12,36	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну. Погіршилася форма піків. Збільшився час утримування тіотриазоліну

Продовж. табл. 4.3

1	2	3	4	5	6	7
Prontosil EurobondC18	5% метанолу-95% 0,1%-го водного розчину HCOOH	220	~2.7	3,56	13,20	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну. Гірше форма піків. Збільшився час утримування ізоніазиду, дуже збільшився час утримування тіотриазоліну.
Prontosil EurobondC18	10% метанолу-90% 0,1%-го водного розчину HCOOH	220	~2.7	2,97	8,50	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну. Гірше форма піків. Збільшився час утримування ізоніазиду, дуже збільшився час утримування тіотриазоліну.
Prontosil Eurobond C18	5% метанола-95% форміатного буфера (0,1М форміату амонію, 0,1М HCOOH)	240	~3.7	7,17	9,97	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну Збільшився час утримування ізоніазиду, зменшився час утримування тіотріазоліну. Піки розширені і затягнуті, дуже перекриваються.
Prontosil Eurobond C18	5% метанолу-95% форміатного буферу (0,1М форміату амонію 0,2 М HCOOH),	240	~3,4	5,28	10,10	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну. Збільшився час утримування ізоніазиду. Піки розширені і затягнуті.

Продовж. табл.. 4.3

1	2	3	4	5	6	7
Prontosil 120-5-CN	0,1% розчин HCOOH в воді	240	~2.5	2,85	3,97	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну . Пік перекомпенсації (пов'язаний з розчиненням досліджуваних речовин у воді). Хороша форма піків.
Prontosil 120-5-CN	0,5% розчин HCOOH в воді	240	~2.2	2,63	3,88	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну Нема піка перекомпенсації. Хороша форма піків.
Prontosil 120-5-CN	1% розчин AcOH в воді	240	~3.5	2,82	3,84	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну Хороша форма піків. Незначно збільшився час утримування ізоніазиду.
Prontosil 120-5-CN	0,5% розчин AcOH в воді	240	~2.5	2,94	3,89	Розчин у елюенті з концентрацією по 0,4 мг/мл ізоніазидуі тіотриазоліну Хороша форма піків. Незначно збільшився час утримування ізоніазиду.

П р и м і т к а : *фосфатний буфер - 0,68 г/л KH_2PO4 и H_3PO4

Після аналізу отриманних даних (табл. 4.3) були підібрані оптимальні умови проведення аналізу: колонка, елюент, швидкість рухомої фази і аналітична довжина хвилі детектора та об’єм введеної проби.

Умови проведення аналізу:

- Колонка: Prontosil 120- 5- CN, 250 x 4.0 mm, діаметр часток 5 мкм;
- Елюент: 0,05 % розчин трифторотцової кислоти в воді;
- Швидкість рухомої фази 1 мл/хв.
- Аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм;
- Об'єм введеної проби: 20 мкл.

4.2 Перевірка лінійності відгуку детектора при спільному визначенні вмісту ізоніазиду та тіотриазоліну методом ВЕРХ

Для перевірки лінійності детектора було приготовано п’ять досліджуваних розчинів з різною концентрацією діючих речовин, ізоніазиду від 3,2 мкг/мл до 64 мкг/мл, тіотриазоліну від 0,8 мкг/мл до 16 мкг/мл.

Приготування досліджуваних розчинів.

Робочий розчин. 0,04 г (точна наважка) ізоніазиду і 0,01 г (точна наважка) тіотриазоліну вносять в мірну колбу на 25,00 мл, розчиняють в невеликій кількості води очищеної і доводять водою до метки.

Досліджуваний розчин 1. 1,00 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25,00 мл і доводять елюентом до метки.

Досліджуваний розчин 2. 0,50 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25,00 мл і доводять елюентом до метки.

Досліджуваний розчин 3. 0,20 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25,00 мл і доводять елюентом до метки.

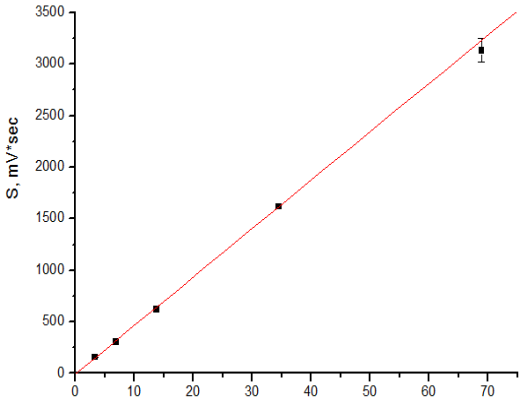
Досліджуваний розчин 4. 0,10 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25,00 мл і доводять елюентом до метки.

Досліджуваний розчин 5. 0,50 мл досліджуваного розчину 1 переносять в мірну колбу на 10,00 мл і доводять елюентом до метки.

Хроматографували досліджувані розчини, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного розчину.

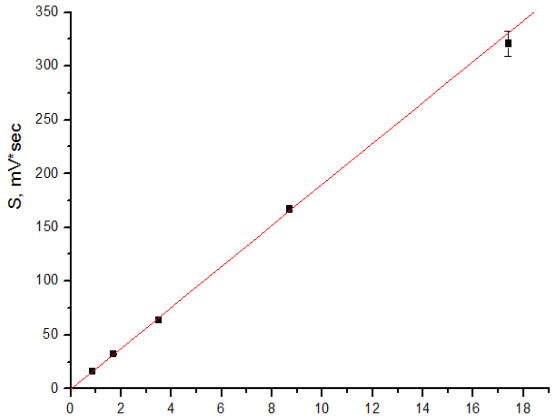
Час утримування піку ізоніазиду в даних умовах аналізу - близько 2,8 хв; піку тіотриазоліну - близько 4,0 хв.

Результати визначення ізоніазиду та тіотриазоліну методом ВЕРХ, які наведені в табл. 4.4. були використані для перевірки лінійності відгуку детектора. Відповідні калібрувальні прямі представлені на рис. 4.6 і 4.7.



С(ізоніазиду), мкг/мл

Рис. 4.6. Графік залежності площі піка ізоніазиду від концентрації



С(тіотриазоліну), мкг/мл

Рис. 4.7. Графік залежності площі піка тіотриазоліну від концентрації

Таблиця 4.4

Результати визначення ізоніазиду та тіотриазоліну методом ВЕРХ

Досл. р-р	Концентрація тіотриазоліну мкг / мл (Ct)	Середня пл. піку тіотриазоліну, mV * sec (St)	Станд. вимк. визначення пл. піку тіатріазоліна, mV * sec ($\bar{S}_t$)	Станд. вимк. визначення пл. піку тіатриазоліну, mV*sec (σ_t)	Концентрація ізоніазиду мкг / мл (Ci)	Площа піку ізоніазиду, mV * sec (Si)	Середня пл. піку ізоніазиду, mV * sec ($\bar{S}_i$)	Станд. вимк. визначення пл. піку ізоніазиду, mV * sec (σ_i)
1	17.4	334.26 311.994 315.902	320.7	11.9	68.9	3269.793 3059.877 3075.544	3135.1	116.9
2	8.7	168.95 165.915 165.31	166.7	2.0	34.5	1617.292 1621.869 1617.371	1618.8	2.6
3	3.5	65.692 62.372 62.185	63.4	2.0	13.8	634.218 616.991 600.201	617.4	17.0
4	1.7	32.914 32.197 32.258	32.5	0.4	6.9	320.374 306.407 296.123	307.6	12.2
5	0.87	16.005 17.299 15.294	16.2	1.0	3.4	156.441 155.928 157.72	156.7	0.9

З параметрів отриманих калібрувальних кривих (рис. 4.6 і 4.7) були визначені межі виявлення (МВ) для ізоніазиду та тіотриазоліну (табл. 4.5), розраховані за формулою:

$$МВ = 3.3 \cdot \sigma / B,$$

де σ — стандартне відхилення вільного члена лінійної залежності

$$y=A+Bx,$$

B— тангенс кута нахилу калібрувальної прямої.

Таблиця 4.5

Межа виявлення ізоніазиду та тіотриазоліну

	Параметри калібрувальної прямої		МВ, мкг/мл
	σ	B	
Ізоніазид	1,26	47,00529	0,088
Тіотриазолін	1,14	19,02066	0,198

З наведених даних видно, що межа виявлення ізоніазиду в даних умовах аналізу становить 0.1 мкг / мл, а тіотриазоліну - 0.2 мкг / мл.

Ефективність хроматографічної системи розраховувалася за формулою:

$$N = a\left[\frac{Vn}{W}\right]^2,$$

де N – число теоретичних тарілок;

a – постійна, при використанні полуширини, a = 5,54;

Vn – утримуваний об'єм;

W – ширина піку на половині його висоти (напівширина).

Дані, отримані з хроматограми досліджуваного розчину 1 наведені в табл. 4.5.

Таблиця 4.5

Дані для розрахунку ефективності хроматографічної системи

Пік	Утримуваний об'єм, *Vn*	Напівширина піку, *W*	Число теоретичних тарілок, *N*
Ізоніазид	2,78	0,082	6367
Тіотриазолін	4,06	0,117	6670

Коефіцієнт поділу (*A*) розраховувався за формулою:

$$A = \frac{K_2^{'}}{K_1^{'}},$$

де $K_n^{'} = \frac{Vn - Vm}{Vm}$,

Vn – утримуваний об'єм n-ого компонента;

Vm – мертвий об'єм (за неутримуваною речовиною).

Дані, отримані з хроматограми досліджуваного розчину 1 наведені в табл. 4.6.

Таблиця 4.6

Дані для розрахунку коефіцієнта поділу піків ізоніазиду та тіотриазоліну

Пік	Утримуваний об'єм, *Vn*, мл	Мертвий об'єм, *Vm*, мл	Коефіцієнт поділу, K'_n	Коефіцієнт поділу, *A*
Ізоніазид	2,78	1,5	0,85	2,4
Тіотриазолін	4,06	1,5	2,06	

Таким чином, були отримані наступні параметри придатності хроматографічної системи: ефективність хроматографічної системи, розрахована за піком ізоніазиду склала 6367 теоретичних тарілок, за піком тіотриазоліну - 6670 теоретичних тарілок; коефіцієнт поділу піків ізоніазиду та тіотриазоліну склав 2,4.

Таким чином, можна зазначити, що при зменшенні концентрації діючих речовин еквівалентно зменшується площа піків на хроматограмі. З цього можна зробити висновок, що розроблена методика штучної суміші є відтворюваною та досить точною.

Дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету (додаток Е) та кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільского державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (додаток Е.1).

4.3 Визначення вмісту ізоніазиду і тіотриазоліну методом ВЕРХ в таблетковій масі

В процесі постадійного контролю виробництва таблеток особливу увагу приділяють контролю якості таблеткової маси. Особливо це стосується визначення кількісного вмісту діючих речовин. В сучасному аналізі готових лікарських форм все більшу увагу приділяють сучасним фізико-хімічним методам стандартизації, таким як УФ-спектрометрія, ВЕРХ та ін. [11, 16, 18, 160, 178]. В попередньо проведених наукових дослідженнях нами було доведено можливість стандартизації штучної суміші діючих речовин методом ВЕРХ та встановлено оптимальні умови проведення аналізу, тому нашу увагу привернув саме цей метод [76, 79, 86]. Крім того, спираючись на фармако-технологічні, фізико-хімічні властивості допоміжних речовин, які входять до складу таблеткової маси (просолв 90, кросповідон ХЛ 10, цукор

компрі, неусілін УС 2, кальцію стеарат), було зроблено припущення, яке підтвердилося в ході досліджень, що допоміжні речовини не впливають на результати аналізу.

Для якісного і кількісного визначення діючих речовин у таблетковій масі (ізоніазиду та тіотриазоліну 4:1) була апробована методика ВЕРХ, яку розробили та використовували для стандартизації штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну.

Визначення діючих речовин у таблетковій масі методом ВЕРХ

Приготування стандартного розчину (розчину порівняння). Близько 0,04 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) ізоніазиду фірми - SecondPharma і 0,01 г РСЗ тіотриазоліну (Державного підприємства "Завод хімічних реактивів" Науково-технологічного комплексу "Інститут монокристалів" Національної академії наук України, Україна або ФСЗ) та 0,03 г допоміжних речовин поміщають в мірну колбу на 25,00 мл, розчиняють у воді очищеній і нагрівають до 50-60^{0}С, перемішують 10-15 хв, охолоджують до 22 ± 1^{0}С, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм. Перші 5-10 мл відкидають. 1,00 мл фільтрату переносять в мірну колбу на 25,00 мл, доводять до мітки 0,05% водним розчином трифтороцтової кислоти (рухома фаза).

В якості стандартних зразків використані стандартний зразок ізоніазиду фірми-SecondPharma з вмістом ізоніазиду100% і стандартний зразок тіотриазоліну (Державного підприємства "Завод хімічних реактивів" Науково-технологічного комплексу "Інститут монокристалів" Національної академії наук України" або ФСЗ) з вмістом тіотриазоліну 100%.

Розчини застосовуються свіжоприготовленими

Зразок хроматограми розчину стандартного зразку ізоніазіду з тіотриазоліном (4:1) наведено на рис. 4.8.

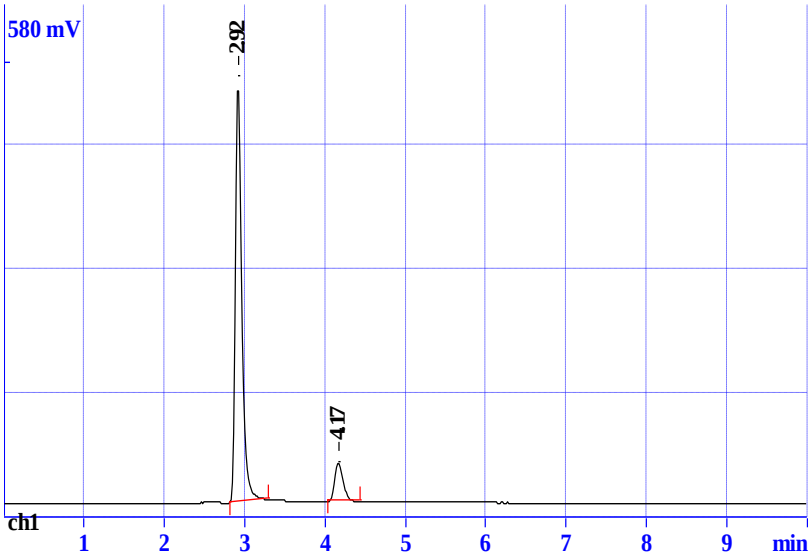


Рис. 4.8. Хроматограма розчину стандартного зразка

Методика хроматографічного визначення

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за наступних умов:

- використовують колонку Prontosil120-5-CN, 250х4, 0 мм, діаметр частинок 5 мкм,
- в якості елюенту використовують 0,05% водний розчин трифтороцтової кислоти,
- швидкість рухомої фази - 1 мл / хв,
- температура колонки 22 ± 1 ^{0}C,
- детектування проводять при довжині хвилі 220 нм,
- об'єм введеної проби - 20 мкл,
- час утримання піку ізоніазиду близько 2,9 хв, піку тіотриазоліну-4,1 хв.

Приготування досліджуваного розчину таблеткової маси ізоніазиду з тіотриазоліном. Близько 0,08 г (точна наважка) таблеткової маси ізоніазиду з тіотриазоліном вносять в мірну колбу на 25,00 мл, додають 15-20 мл води, нагрівають до 50-60^{0}C, перемішують 10-15хв, охолоджують до 22 ± 1^{0}C, доводять водою очищеною

до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм. Перші 5-10 мл відкидають. 1 мл фільтрату переносять в мірну колбу на 25,00 мл доводять до мітки 0,05% водним розчином трифтороцтової кислоти (рухома фаза). Зразок хроматографи досліджуваного розчину таблеткової маси ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 4.9.

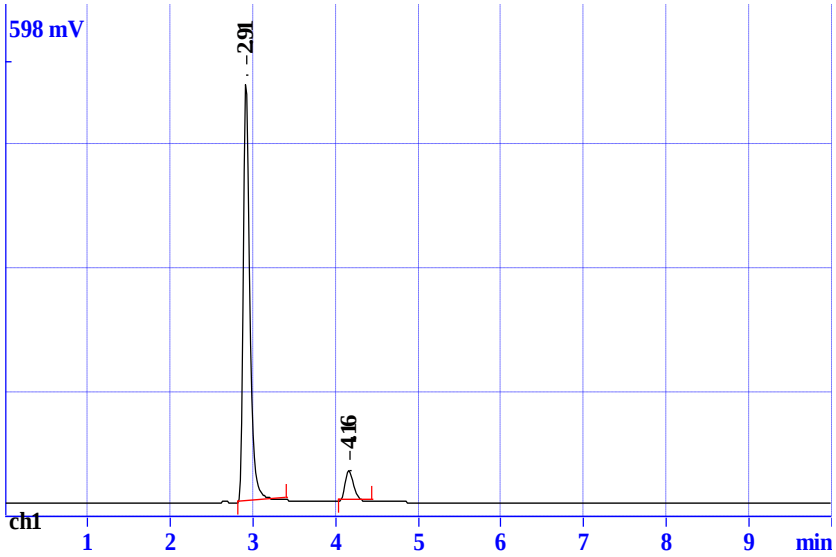


Рис. 4.9. Хроматограма досліджуваного розчину таблеткової маси

Хроматографують досліджуваний розчин і розчин порівняння не менше трьох разів і розраховують середню площу досліджуваного розчину і розчину порівняння.

Розрахунок вмісту ізоніазиду та тіотриазоліну в таблетковій масі в перерахунку на одну таблетку проводять за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot m}{m_1 \cdot S_0};$$

де S_1 – середнє значення площі піків ізоніазиду і тіотриазоліну в таблетковій масі;

m_0 – маса наважки стандартного зразка ізоніазиду (тіотриазоліну) в грамах;

m_1 – наважка таблеткової маси;

m – маса однієї таблетки;

S_0 – середнє значення площі піків розчину порівняння для ізоніазиду та тіотриазоліну.

Результати аналізу п’яти зразків таблеткової маси методом ВЕРХ наведені в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Результати аналізу зразків таблеткової маси методом ВЕРХ

Зразок	*Наважка таблетко-вої маси*	*Ізоніазид*			*Тіотриазолін*		
		*Площа,S, mV*sec*		*Знайдено в г*	*Площа,S, mV*sec*		*Знайдено в г*
			середня			*середня*	
ТМ1	0,08058	3014,147 3025,202 3042,074	3027,141	0,2091	301,839 295,124 304,279	300,414	0,0502
ТМ2	0,08048	3036,303 2991,242 3015,273	3014,273	0,2085	294,145 284,979 292,806	290,643	0,0487
ТМ3	0,08040	3042,520 3033,376 3062,898	3046,266	0,2098	321,137 312,806 324,645	319,529	0,0537
ТМ4	0,08050	3025,182 3034,086 3047,296	3035,521	0,2099	306,605 304,750 306,016	305,790	0,0512
ТМ5	0,08633	3144,286 3126,721 3105,446	3125,484	0,2005	347,686 323,766 348,254	339,902	0,0532
Розчин порівнян ня	РСЗ ізоніазиду 0,03954 РСЗ тіотриазолін у 0,01128	2827,136 2866,441 2830,925	2841,501		333,881 335,194 332,701	333,925	

Як видно з наведених в таблиці даних кількісного визначення діючих речовин запропонована методика ВЕРХ є високоточною і відтворюваною.

4.4 Визначення доброякісності таблеток "Тріотиазид"

Доброякісність таблеток згідно ДФУ характеризується цілим рядом показників, таких як:

- опис;
- ідентифікація;
- однорідність маси;
- середня маса;
- вміст тальку;
- супровідні домішки;
- розчинення або розпадання;
- кількісне визначення діючих речовин;
- умови зберігання;
- терміни придатності.

В роботі зупинимось на деяких з них, а саме опису, середній масі, ідентифікації, розпадання, розчинення, кількісне визначення. Розробку методів стандартизації проводили на 6 серіях таблеток з використанням методик, наведених у розділі 2 [23, 24, 25, 26, 37]. В ході дослідження встановлені та обґрунтовані нижче наведені показники:

Таблетки "Тріотиазид" № 10 у блістері, 3 або 6 блістерів в пачці

Склад на одну таблетку:

Ізоніазид, у перерахунку на 100 % речовину 0,2000 г
Тіотриазолін,у перерахунку на 100 % речовину 0,0500 г Допоміжні речовини:

Просолв 90 достатня
Плаздон К 29-32 кількість до
Цукор компрі С одержання

Неусілін УС 2	таблетки масою
Кальцію стеарат	0,4000 г

Опис. Таблетки білого кольору.

Ідентифікація. Для якісного визначення діючих речовин у складі таблеток було використано метод ВЕРХ, який є дуже зручним, точним і дозволяє одночасно проводити як ідентифікацію, так і кількісне визначення [79, 120].

Наявність ізоніазиду і тіотриазоліну в таблетках визначають наступним чином: на хроматограмі випробуваного розчину при визначенні "тесту кількісне визначення" час утримання піків повинен співпадати з часом утримання піків розчину робочого стандартного зразку (ізоніазиду і тіотриазоліну).

Середня маса. Середня маса таблеток має бути 0,3800±0,4200 г.

Проведеними дослідженнями на 6-ти серіях отриманих таблеток дали змогу встановити, що середня маса розроблених нами таблеток складає 0,4±0,02 г, тобто лежить у допустимих межах і відповідає вимогам ДФУ, ДФУ 2.9.5

Однорідність маси. ДФУ, 2.9.5 відхилення маси кожної таблетки від середньої маси має бути в межах 5 %. При випробуванні 6-ти серій отриманих нами комбінованих таблеток по 20 таблеток в кожній серії відхилень від середньої маси на величину понад 5 % не спостерігалось. Результати проведених досліджень наведені в додатку Ж.

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

Супровідні домішки. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27).

Випробуваний розчин. 0,416 г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 10,00 мл, розчиняють у 6,00 мл 96% спирту, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм.

Розчин порівняння (а). 0,010 г ФСЗ 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 80 мл 96% спирту, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. 25,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,00 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

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

На лінію старту хроматографічної пластинки "Сорбфіл ПТСХ-АФ-В", розміром 10см*15см, наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а), 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (b) та в одну точку наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а) і 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (b) (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи).

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

На хроматограмі випробуваного розчину, крім основної плями на старті, допускається наявність додаткових плям, розташованих на рівні плям

на хроматограмі розчину порівняння (a) та розчину порівняння (b) і не перевищуючих їх за величиною та інтенсивністю забарвлення (не більше 0,5% 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і не більше 0,5% ацетилтіосемікарбазиду).

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі спільної точки нанесення розчину порівняння (a) та розчину порівняння (b) чітко діляться плями. Пляму на лінії старту до уваги не приймають [67, 106, 120].

Розчинення. **.** Останім часом велику увагу приділяють біодостіпності лікарських форм, особливо таблеткам [50, 64, 66, 99]. Тому нашу увагу привернув тест "Розчинення". Згідно положень в комбінованих лікарських формах розчинення визначають по одній діючій речовині, яка находиться в лікарській формі в меншій кількості, але в даному випадку основною діючою речовиною є ізоніазид, який і проявляє основну дію. Тому перевірку тесту розчинення проводили саме за ізоніазидом.

Визначення проводили методом ВЕРХ згідно вимог ДФУ в умовах, вказаних в розділі "кількісне визначення". Визначення проводили відповідно до вимог ДФУ, 2.9.3 використовуючи прилад з лопаттю в наступних умовах: середовище розчинення – вода, об'єм середовища розчинення – 1000 мл, швидкість обертання лопаті – 100 об/хв, температура середовища розчинення (37±0,5 ^{0}C), час розчинення – 45 хв. Визначення вмісту ізоніазиду, який перейшов до розчину в відсотках визначати за методикою наведеною нижче.

Приготування розчинів.

Випробуваний розчин. Для випробування у посуд для розчинення поміщають одну таблетку. Через 45 хв відбирають 25 мл розчину і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5 мл фільтрату.

Розчин порівняння. 20,5 мг СЗ ізоніазиду (РСЗ) розчиняють у воді і доводять об'єм тим самим розчином до 100,00 мл.

Почергово хроматографують по 20 мкл розчину порівняння та випробуваного розчину. Кількість ізоніазиду (X_1), що перейшла в розчин з кожної таблетки через 45 хв, у відсотках, розраховують за формулою

$$X_1 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 1000 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 100 \cdot 0{,}2 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 10 \cdot P}{S_0 \cdot 0.2},$$

де S_0 – середнє значення площі піків ізоніазиду визначення з хроматограм розчинів порівняння;

S_1 – середнє значення площі піків ізоніазиду визначення з хроматограм випробуваного розчину;

m_0 – маса наважки стандартного зразка ізоніазиду, у г;

P – вміст ізоніазиду в СЗ ізоніазиду, у відсотках,

0,2 – вміст ізоніазиду, вказаний в розділі "склад на одну таблетку, у грамах".

Кількість ізоніазиду, що перейшла в розчин з кожної таблетки через 45 хв має бути не менше 75 % і не більше 115 % діючої речовини від вмісту, зазначеного у складі таблеток (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

Результати аналізу зразків таблеток методом ВЕРХ

Зразок	*Вміст ізоніазиду в однієй таблетці*	*Ізоніазид*		
		*Площа, S, mV*sec*		*Найдено в відсотках*
			середня	
1.	2.	3.	4.	5.
№ 1	0,2000	2356,365 2352,892 2354,822	2354,693	85
№ 2	0,2000	2490,185 2494,196 2495,227	2493,204	90
№ 3	0,2000	2471,202	2465,502	89

		2465,042 2460,262		

Продовж. табл. 4.8

1	2	3	4	5
№ 4	0,2000	2632,687 2630,862 2631,598	2631,715	95
№ 5	0,2000	2684,201 2685,081 2692,076	2687,120	97
Розчин порівняння	РСЗ ізоніазиду 0,0205	2837,316 2846,407 2834,719	2839,482	

Як видно з приведенних в таблиці даних розчинність таблеток "Тріотиазид" становить від 85 до 97 відсотків, що лежить в межах відповідно вимог ДФУ.

Кількісне визначення. Для кількісного визначення діючих речовин у складі таблеток використали метод ВЕРХ [17, 18, 86, 120, 129].

Визначення вмісту діючих речовин у таблетках "Тріотиазид" методом ВЕРХ

Приготування досліджуваного розчину таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном. Близько 0,08 г (точна наважка) ретельно розтертих таблеток вносять в мірну колбу на 25,00 мл, додають 15-20 мл води, нагрівають до 50-60^{0}С, перемішують 10-15 хв, охолоджують до 22 ± 1^{0}С, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм. Перші 5-10 мл відкидають. 1,00 мл фільтрату переносять в мірну колбу на 25,00 мл доводять до мітки 0,05% водним розчином трифтороцтової кислоти (рухома фаза).

Зразок хроматографи досліджуваного розчину таблеткової маси ізоніазиду з тіотриазоліном наведено на рис. 4.10.

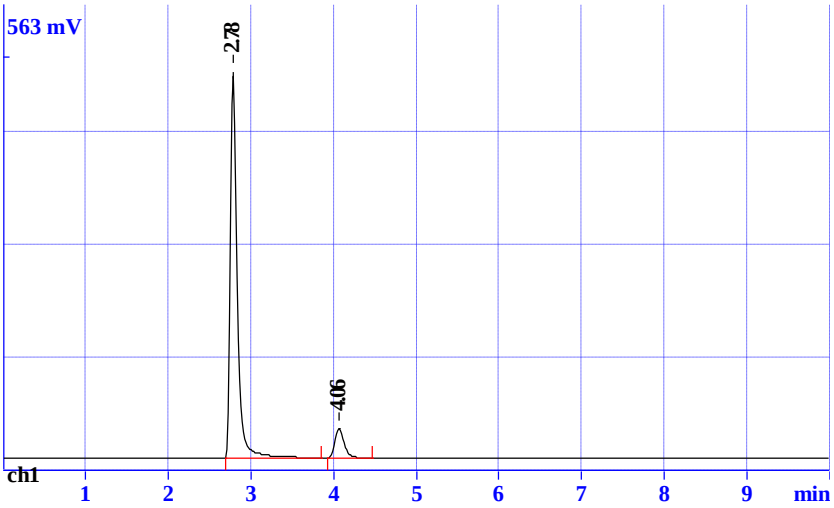


Рис. 4.10. Хроматограма досліджуваного розчину таблеток

Приготування стандартного розчину (розчину порівняння). Близько 0,04 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) ізоніазиду фірми - SecondPharma і 0,01 г РСЗ тіотриазоліну (Державного підприємства "Завод хімічних реактивів" Науково-технологічного комплексу "Інститут монокристалів" Національної академії наук України, Україна або ФСЗ) та 0,03 г допоміжних речовин поміщають в мірну колбу на 25,00 мл, розчиняють у воді очищеній і нагрівають до 50-60^{0}С, перемішують 10-15 хв, охолоджують до 22 ± 1^{0}С, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм. Перші 5-10 мл відкидають. 1,00 мл фільтрату переносять в мірну колбу на 25,00 мл, доводять до мітки 0,05% водним розчином трифторотцової кислоти (рухома фаза).

В якості стандартних зразків використані стандартний зразок ізоніазиду фірми-SecondPharma з вмістом ізоніазиду 100% і стандартний зразок тіотриазоліну (Державного підприємства "Завод хімічних реактивів"

Науково-технологічного комплексу "Інститут монокристалів" Національної академії наук України, Україна або ФСЗ) з вмістом тіотриазоліну 100%.

Розчини застосовуються свіжоприготовленими

Зразок хроматограми розчину стандартного зразку ізоніазіду з тіотриазоліном (4:1) наведено на рис. 4.11.

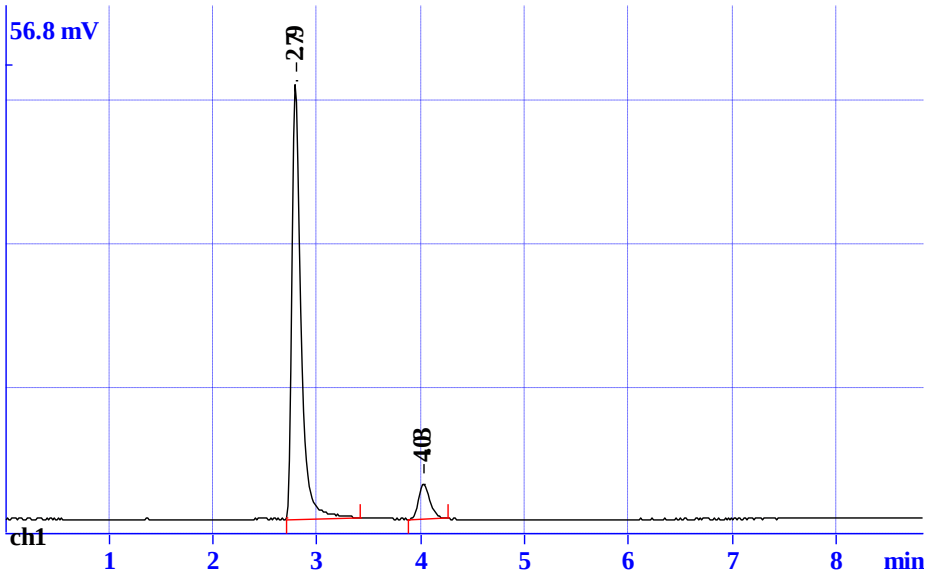


Рис. 4.11. Хроматограма розчину стандартного зразку

Методика хроматографічного визначення

Хроматографуваня проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором в наступних умовах:

- використовують колонку Prontosil120-5-CN, 250х4, 0 мм, діаметр частинок 5 мкм,
- в якості елюенту використовують 0,05% водний розчин трифтороцтової кислоти,
- швидкість рухомої фази - 1 мл / хв,
- температура колонки 22 ± 1 ^{0}C,
- детектування проводять при довжині хвилі 220 нм,
- об'єм введеної проби - 20 мкл,

- час утримання піку ізоніазиду близько 2,9 хв, піку тіотриазоліну- 4,1 хв.

Хроматографують досліджуваний розчин і розчин порівняння не менше трьох разів і розраховують середню площу досліджуваного розчину і розчину порівняння.

Розрахунок вмісту ізоніазиду та тіотриазоліну в таблетках в перерахунку на одну таблетку проводять за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot m}{m_1 \cdot S_0};$$

де S_1 – середнє значення площі піків ізоніазиду і тіотриазоліну в таблетках,

m_0 – маса наважки стандартного зразка ізоніазиду (тіотриазоліну) в грамах,

m_1 – наважка таблеток,

m – маса однієї таблетки,

S_0 – середнє значення площі піків розчину порівняння для ізоніазиду та тіотриазоліну.

Результати аналізу п’яти зразків таблеток методом ВЕРХ наведені в табл. 4.9

Таблиця 4.9

Результати аналізу зразків таблеток методом ВЕРХ

Зразок	*Наважка таблеток*	*Ізоніазид*			*Тіотриазолін*		
		*Площа,S, mV*sec*		*Знайдено в г*	*Площа,S, mV*sec*		*Знайдено в г*
			середня			*середня*	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
№ 1	0,08056	2808,120 3028,890 2929,621	2922,210	0,2018	301,827 295,121 304,279	300,409	0,0503

№ 2	0,08249	2982,122 2918,283 3005,073	2968,493	0,2002	294,144 284,981 292,802	290,642	0,0487

Продовж. табл. 4.9

1	2	3	4	5	6	7	8
№ 3	0,08087	3048,520 3043,376 3051,384	3047,760	0,2097	314,202 312,625 309,547	312,126	0,0512
№ 4	0,08051	2868,514 3014,715 2899,670	2927,632	0,2023	306,603 304,749 306,012	305,788	0,0512
№ 5	0,08423	3144,284 3126,722 3105,445	3125,484	0,2016	336,889 334,698 337,683	336,424	0,0529
Розчин порівняння	РСЗ ізоніазиду 0,03952 РСЗ тіотриазоліну 0,01125	2827,134 2866,442 2830,926	2841,500		343,921 335,895 339,962	339,926	

Як видно з отриманих даних вміст діючих речовин лежить в допустимих межах відповідно вимог ДФУ (ізоніазид від 0,2002 г до 0,2097 г, тіотриазолін від 0,0487 г до 0,0512 г, а відповідно вимог ДФУ повинно бути: ізониіазиду від 0,1900 г до 0,2100 г, тіотриазоліну від 0,0470 г до 0,0513 г).

Розроблена методика кількісного визначення діючих речовин в таблетках методом ВЕРХ є відтворюваною, чутливою, точною. На основі проведених досліджень нами розроблений проект МКЯ для створених комбінованих таблеток (додаток И).

Дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (додаток К).

За матеріалами розділу опубліковані роботи [11, 67, 76, 79, 106, 120].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4

1. В ході проведених досліджень розроблено методику якісного та кількісного визначення штучної суміші діючих речовин: ізоніазиду з тіотриазоліном в одній наважці методом ВЕРХ. Для цього були підібрані рухома і нерухома фази для діючих речовин, які мають різну кислотно-основну природу: тіотриазолін має кислотний характер, а ізоніазід є досить сильною основою. Крім того визначено оптимальні умови проведення аналізу: колонка, елюент, швидкість рухомої фази та аналітична довжина хвилі детектора і обсяг введеної проби.

2. Розроблена та апробована методика ВЕРХ для стандартизації діючих речовин в таблетковій масі "Тріотиазид", при ціому встановлено, що запропонована методика ВЕРХ є високоточною і відтворюваною.

3. Розроблена та апробована методика ВЕРХ для стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках "Тріотиазид", при цьому встановлено, що запропонована методика ВЕРХ є високоточною і відтворюваною. Проведені експериментальні дослідження основних показників якості розроблених таблеток "Тріотиазид" згідно вимог ДФУ.

4. Вивчена стабільність таблеток "Тріотиазид" у процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання - 2 роки за температури (15 - 25) °С і відносній вологості (60±5) %, дослідження тривають (додаток Л).

5. По результатам проведених досліджень розроблено проект МКЯ на таблетки "Тріотиазид".

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

З метою підтвердження зниження токсичної дії ізоніазиду шляхом створення фіксованої комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном, нами було проведено фармакологічні дослідження. Дослідження проводили на базі центральної науково-дослідної лабораторії (керівник лабораторії професор Абрамов А. В.) та кафедрі фармакології Запорізького державного медичного університету (завідувач професор Беленічев І. Ф.).

На першому етапі досліджень була вивчена загальнотоксична дія комбінованої лікарської форми [28, 95].

Для цього використовувалося 120 білих безпородних щурів обох статей масою 140-160 г, отриманих з розплідника ДУ "Інститут фармакології та токсикології АМН України". Тривалість карантину (аклиматизаційного періоду) для всіх тварин становила 14 днів. Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини (поведінка і загальний стан), двічі на день тварин спостерігали в клітках (захворюваність і смертність). Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в експеримент, були розподілені на групи за допомогою методу рандомізації, а ті, що не відповідають критеріям, були виключені з дослідження протягом карантину. Клітки з тваринами були розміщені в окремі кімнати. Світловий режим: 12:00 - світло, 12:00 - темрява. Температура повітря підтримувалася в межах 19-25 С°, відносна вологість - 50-70 %. Температура і вологість повітря реєструвалися щодня. Був встановлений режим провітрювання, що забезпечує близько 15 об´ємів приміщення на годину. Тварини містилися в клітках (400 х 320 х 160 мм) по 6 голів у кожній. Раціон харчування - фуражне зерно, хліб, коренеплоди (буряк, морква).

Визначення гострої токсичності досліджуваних препаратів проводили за методом Кербера в модифікації А. О. Лойт і М. Ф. Савченкова, використовуючи класифікацію К. К. Сидорова. Для встановлення середньосмертельної дози ($ЛД_{50}$) досліджуваних сполук, їх вводили внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда у вигляді водних розчинів одноразово 5 групам лабораторних тварин, по 6 голів у кожній.

Внутрішньошлунковий шлях введення препарату забезпечує простоту введення і високу біодоступність, відповідає планованому в клінічній практиці введенню (пероральному) препарату у вигляді планованої лікарської форми - таблеткам.

Вводили кілька доз ізоніазиду та його комбінації з тіотриазоліном, враховуючи дозу, яка не викликає загибелі жодної тварини і дозу, що викликає загибель всіх тварин у групі. Після введення препарату за залишившимися в живих тваринами вели спостереження протягом двох тижнів.

Розрахунок проводили за формулою:

$$ЛД_{50} = ЛД_{100} - \frac{\sum(Z \cdot d)}{n},$$

де Z – середня арифметична величина, отримана від поділу на 2 кількість загиблих від двох суміжних доз;

d – інтервал між двома поруч стоящими дозами;

n – кількість тварин для кожної дози.

Полеглі тварини і живі, по закінченню двох тижнів спостереження, піддавалися патологоанатомічному дослідженню.

5.1 Вивчення хронічної токсичністі лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном та референс-препарату - ізоніазиду

Метою хронічних токсикологічних експериментів є характеристика ступеня шкідливої дії фармакологічної речовини при її тривалому введенні, виявлення найбільш чутливих органів і систем організму, а також дослідження ступеня оборотності спричинених ним ушкоджень. Тривалість введення при вивченні хронічної токсичності залежить від передбачуваної тривалості прийому в клініці.

Препарат вводили 1 раз на добу. Хронічну токсичність лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном та референс-препарату - ізоніазиду досліджують у терапевтичних дозах. У нашому дослідженні - ізоніазид в дозі 100 мг/кг, комбінація ізоніазиду з тіотриазоліном - 100 мг/кг в перерахунку на ізоніазид. Препарати вводили у вигляді водних розчинів за допомогою металевого зонда по 0,5 мл на 100 г маси тварин. У кожній групі було по 20 тварин.

Крім досліджуваних груп була сформована контрольна група тварин, яким вводили фізіологічний розчин в об'ємі 0,5 мл на 100 г маси тварин Досліджувані препарати вводили щодня щурам протягом 90 діб (3 місяці) згідно з методичними рекомендаціями "Доклінічні дослідження лікарських засобів".

Протягом усього дослідження тварини згідно з Протоколом перебували під щоденним наглядом; відзначали споживання корму та води, стан волосяного покриву і слизових оболонок. На 90-й день досліджували поведінкові реакції тварин, зважували їх для визначення динаміки змін маси тіла; оцінювали стан печінки, вивчали біохімічні показники крові. Також реєстрували відсутність або наявність загибелі тварин протягом усього періоду експерименту. При оцінці змін, що спостерігаються у тварин в хронічному токсикологічному експерименті, виключали можливість впливу

всіх побічних факторів, не пов'язаних з прийомом препарату (захворювання тварин, їх харчування, утримання і т.п.)

Для вивчення рухово-дослідницької реакції і емоціональної активності у щурів використовували тест "Відкрите поле". Тест "відкрите поле" дозволяє визначити тип дії досліджуваної речовини на центральну нервову систему, а також з'ясувати його вплив на орієнтовно-дослідницьку активність і емоційну сферу тварин. Вивчення показників рухово-дослідної та емоційної активності білих щурів проводилося з використанням майданчика розміром 100 × 100 см, розбитого на 16 квадратів, в кожному з яких вирізано круглий отвір діаметром 3 см. У ході проведення експерименту проводилася реєстрація кількості пересічених квадратів (горизонтальна рухова активність), кількості підйомів на задні лапи (вертикальна рухова активність), тривалість грумінгу, кількості болюсів (емоційна активність), кількість заглядань в круглі отвори (дослідницька активність), протягом 3-х хв. Після проведення тесту "відкрите поле" тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг), у них забиралася кров з черевної аорти і печінка для біохімічних досліджень (табл.5. 1).

Таблиця 5.1

Результати досвіду з визначення гострої токсичності лікарської комбінації ізоніазиду при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим безпородним щурам через 2 тижня спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	*1100 (1)*	*1300(2)*	*1500 (3)*	*1700 (4)*	*1900 (5)*
Вижило	6	5	3	1	0
Загинуло	0	1	3	5	6

$$ЛД_{50} = 1900 - \frac{2400}{6} = 1500 \pm 347 \text{ мг/кг}$$

Як видно з табл.5.1, одноразове внутрішньошлункове введення ізоніазиду викликало 100% загибель тварин протягом доби в дозі 1900 мг/кг. Від дози 1700 мг/кг протягом 24 годин загинуло 5 тварин з 6. При введенні ізоніазиду в дозі 1500 мг/кг загинули 3 щури в період між 1 і 3 цілодобово, а 3 залишалися живими. Введення ізоніазиду в дозі 1300 мг/кг викликало загибель 1 тварини в цей проміжок часу. Доза 1100 мг/кг не викликала загибелі жодної тварини.

Спостереження за тваринами, які отримували проміжні дози ізоніазиду, дозволили нам визначити $ЛД_{50}$ при внутрішньошлунковому введенні, вона становить 1500 ± 347 мг/кг.

Результати досліджень, які наведені в табл. 5.2, свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення лікарської комбінації викликало 100 % загибель тварин протягом доби в дозі 8150 мг/кг. Від дози 7650 мг/кг протягом 36 годин загинуло 5 тварин з 6. При введенні комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном в дозі 7150 мг/кг загинули 3 щури в період між 2 і 5 добами, а 3 залишалися живими. Введення лікарської комбінації в дозі 6650 мг/кг викликало загибель 1 тварини в цей проміжок часу. Доза 6150 мг/кг не викликала загибелі жодної тварини.

Таблиця 5.2

Результати досвіду з визначення гострої токсичності лікарської комбінації ізоніазиду та тіотриазоліну при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим безпородним щурам через 2 тижня спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	*6150 (1)*	*6650 (2)*	*7150 (3)*	*7650 (4)*	*8150 (5)*
Вижило	6	5	3	1	0
Загинуло	0	1	3	5	6

$$ЛД_{50} = 8150 - \frac{8750}{6} = 6691 \pm 275 \text{ мг/кг}$$

Спостереження за тваринами, які отримували проміжні дози комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном, дозволили визначити $ЛД_{50}$ при внутрішньошлунковому введенні, яка становить 6691 ± 275 мг/кг.

Клінічна картина гострого отруєння тварин при введенні ізоніазиду характеризувалася такими проявами: тремтіння кінцівок, розлад координації рухів, задишка, брадикардія, потім тахікардія, загальмованість, тварина сидить в одному положенні, поодинокі кроки вперед. Потім: міоклонус задніх лапок, потім завалювання на бік, тоніко-клонічні судоми, дихання за типом Чейн-Стокса, загибель тварин. Загибель тварин відбувалася від зупинки дихального центру. У тварин, що вижили, отримавших ізоніазид в субтоксичних дозах, через 30 хв реєструвалося пригнічення дихання, негативний хронотропний ефект, часте сечовипускання, гіпертонус задніх кінцівок. Через 5 діб ці симптоми зникали, але тварини протягом 14 діб залишалися загальмованими і малорухомими.

Результати визначення маси тіла дослідних тварин свідчать про те, що динаміка зміни маси тіла щурів, які отримали ізоніазид в дозі $ЛД_{50}$, була нижче фізіологічної норми. Результати досліджень наведені в табл. 5.3

Таблиця 5.3

Динаміка зміни маси тіла щурів (n = 6) після одноразового внутрішньошлункового введення ізоніазиду в дозі 1500 мг/кг (M±m)

Терміни спостереження	*Вихідна вага, г*	*Вага на 7-му добу, г*	*Вага на 14-ту добу, г*
Інтактні тварини	220,3 ± 8,2	229,4 ± 7,2	236,3 ± 5,7
Тварини, одноразово отримавшие ізоніазид	224,2 ± 7,2	191,2 ± 6,8	198,4 ± 7,9

Гостре отруєння тварин при введенні ізоніазиду з тіоріазоліном протікала м'якше, ніж при отруєнні ізоніазидом - було значно менше тварин з судорожними припадками, тварини були більш рухливі, відновлення тварин відбувалося на більш ранні терміни (2-3 добу), а загальмованість зникала на 8-10 добу спостереження.

Одночасно встановлено, що динаміка зміни маси тіла щурів, які отримали ізоніазид з тіотриазоліном в дозі $ЛД_{50}$, була в межах фізіологічної норми. Результати наведені в табл. 5.4

Таблиця 5.4

Динаміка зміни маси тіла щурів (n = 6) після одноразового внутрішньошлункового введення комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном в дозі 6691 мг/кг (M±m)

Терміни спостереження	*Вихідна вага, г*	*Вага на 7-мудобу, г*	*Вага на 14-тудобу, г*
Інтактні тварини	220,3 ± 8,2	229,4 ± 7,2	236,3 ± 5,7
Тварини, одноразово отримавши комбінацію ізоніазиду с тіотриазоліном	231,2 ± 9,1	228,2 ± 11,7	230,2 ± 9,5

Таким чином, $ЛД_{50}$ лікарської комбінації ізоніазиду та тіотриазоліну при внутрішньошлунковому введенні становить 6691мг/кг, що дозволяє віднести його до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини).

5.2 Вивчення гепатотоксичної дії лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном та референс-препарату-ізоніазиду

Функціональний стан печінки оцінювали за вмістом білірубіну, активності трансаміназ (АЛТ, АСТ), фосфатаз (лужна (ЛФ) і кисла (КФ),

лактатдегідрогенази (ЛДГ), загального білка, ліпідів сироватки крові, навантажувальних проб (гексеналовий тест, тимолова , бромсульфоалеіновая проба) . За змістом глюкози, глюкозо- 6 - фосфату, глікогену, АТФ, малата та активності цитохром -С- оксидази, малат дегідрогенази судили про зміни енергетичного метаболізму печінки, мозку і міокарда. За змістом глутатіону, SH- груп, цитохрому Р450, активності супероксиддисмутази (СОД), глутатіопероксідази (ГПР), накопиченню продуктів окисної модифікації білка - альдегідфенілгідразонов і карбоксіфенілгідразонов оцінювали стан антиоксидантної, детоксикаційної системи печінки і процесів оксидативного стресу. Процеси адаптивного протеінсінтеза оцінювали за вмістом загального білка, РНК, вільних амінокислот і сечовини.

Для вивчення гепатотоксичної дії препаратів були проведені біохімічні дослідження крові у тварин в контрольних і дослідних групах на 90-й день. Біохімічні показники крові тварин свідчать про явні порушення функції печінки. Так, на 90-й день експерименту в групі тварин, що отримали чистий ізоніазид, зазначалося виражене підвищення активності ферментів АЛТ, АСТ, ЛФ, КФ і ЛДГ. Це свідчить про порушення функціонального стану печінки і розвитку токсичного гепатиту (табл.5.5**).**

Таблиця 5.5

Біохімічні показники крові тварин при хронічному введення ізоніазиду і його лікарської комбінації з тіотріазоліном на 90 день експерименту*

Показники	Контроль	Ізоніазид	Ізоніазид+тіотриазолін
1	2	3	4
Загальний білок, г/л	63,0 ± 2,2	39,2 ± 2,8*	58,0 ± 2,1

Продовж. табл. 5.5

1	2	3	4
Загальні ліпіди, г/л	3,8 ± 0,4	2,7 ± 0,2*	3,7 ± 0,4
Глюкоза, ммоль/л	5,5 ± 0,2	3,7 ± 0,2*	5,2 ± 0,5
Холестерин, ммоль/л	1,73 ± 0,5	2,12 ± 0,3*	1,55 ± 0,3
Загальний білірубін, мкмоль/л	3,1 ± 0,2	6,8 ± 0,38*	3,9 ± 0,3
АЛТ, Од/л	0,21 ± 0,02	1,89 ± 0,2*	0,77 ± 0,05
АСТ, Од/л	0,50 ± 0,03	0,98 ± 0,11*	0,75 ± 0,03
ЛФ, Од/л	0,71 ± 0,1	2,86 ± 0,11*	0,91 ± 0,02
КФ, мкмоль/л	0,71 ± 0,16	2,37 ± 0,19*	0,97 ± 0,06
ЛДГ, моль/ч/л	4,77 ± 0,38	15,11 ± 1,71*	8,34 ± 0,56
Тімолова проба, од. помутніння	1,22 ± 0,10	7,81 ± 0,81*	3,72 ± 0,31
SH-групи, мкмоль/л	177,0 ± 11,0	67,5 ± 3,9*	156,2 ± 7,8
бромсульфалеїн, на 10 мин, мг%	11,5 ± 1,0	47,7 ± 3,9*	21,2 ± 1,8

П р и м і т к а : *- *$p \leq 0,05$ по відношенню до групи контролю*

Так, рівень білірубіну в групі з ізоніазидом достовірно підвищився порівняно з цифрами контрольних тварин. Про це свідчило також і підвищення рівня лужної і кислої фосфатази. Показники білкового обміну в печінці різко знижуються. Різко підвищуються печінкові проби - тимолова і бромсульфалеіновая. При інтоксикації ізоніазидом в печінці знижувався рівень детоксикационного цитохрому Р 450, рівень відновленого глутатіону і тіольних груп. Токсичне пошкодження печінки при 3-місячному введенні ізоніазиду супроводжувалося зниженням рівня антиоксидантного захисту

(пригнічення активності СОД і ГПР) і активації оксидативного стресу про що свідчило підвищення рівня маркерів окисної модифікації білка - АФГ і КФГ. Токсичне пошкодження печінки при хронічному введення ізініазіду в дозі 100 мг/кг приводило і до пригнічення енергетичного метаболізму. Так, спостерігалося зменшення вуглеводних субстратів-глікогену і глюкозо-6-фосфату в печінці і глюкози в крові, пригнічення окислювальних процесів (зниження малата та активності цитохром -С- оксидази), що приводило до зменшення окисної продукції АТФ і енергодефіциту. Гепатотоксична дія ізоніазиду виражалася і в пригніченні процесу протеінсинтеза та активації катаболізму білків. Так, в печінці тварин, які отримували ізоніазид протягом 90-діб знижувався рівень РНК, загальний білок і підвищувався вміст сечовини і вільних амінокислот. Ураження печінки і розвиток токсичного гепатиту під дією ізоніазиду підтверджувалося зниженням її функціональної активності відносно мікросомальних ферментів. Тривалість гексеналового сну зростала в 1,8 разів.

При вивченні загальнотоксичної дії комбінованого препарату ізоніазиду з тіотриазоліном було встановлено, що основні біохімічні показники крові експериментальних тварин достовірно не відрізнялися від аналогічних показників контрольної групи. Так, рівень загального білка в крові після призначення комбінованого препарату знаходився в межах норми. Введення комбінованого препарату приводило до підвищення рівня цитоплазматичного білка в печінці, істотно гальмувало наростання фонду вільних амінокислот і знижував мочевіностворення в порівнянні з групою, що одержувала чистий ізоніазид, що свідчить про відновлення адаптивного протеінсинтеза. Комбінований препарат зберігав вміст РНК в гепатоцитах, що свідчить про нормальне протікання транскрипційних процесів в клітці. Це факт підтверджений низкою робіт про участь тіотриазоліну в активації репаративних процесів при токсичному гепатиті та ішемічному пошкодженні міокарду та головного мозку. Хронічне введення комбінованого препарату

ізоніазиду і тіотріазоліну в дозі 100 мг/кг в перерахунку на ізоніазид не чинив негативної дії на активність трансаміназ (АЛТ і АСТ), активність інших ферментів в групі, що одержувала комбінований препарат також знаходилася в межах фізіологічної норми. На відміну від введення чистого ізоніазиду призначення його комбінації з тіотриазоліном не викликали явища холестазу, про що свідчили вміст білірубіну і активність лужної фосфатази, які не відрізнялися від аналогічних у групі контролю. Лужна фосфатаза знаходиться на поверхні клітинних мембран і особливо багато її знаходиться в жовчних протоках печінки, що свідчить про відсутність негативної дії комбінації ізоназіду та тіотриазоліну на процеси фосфорилювання мембранах клітин на відміну від ізоніазиду. Введення ізоніазиду протягом 90-діб приводило до достовірного збільшення загального холетеріну, що свідчить про порушення ліпідного обміну. Призначення ізоніазиду у поєднанні з тіотриазоліном не чинило негативної дії, що може свідчити про його гіполіпідемічну дію. У механізмі розвитку гепатотоксичної дії ізоніазиду лежить його прооксидантна дія. Так, хронічне введення ізоніазиду викликало пригнічення антиоксидантних ферментів - СОД і ГПР, зниження інтермедіатів антиоксидантної тіол - дісульфідной системи - відновленого глутатіону і відновлених тіолів на тлі активації оксидативного стресу і підвищення його маркерних продуктів - АФГ і КФГ. Призначення ізоніазиду в поєднання з тіотразоліном нівелювало прооксидантну дію чистого ізоніазиду. Так, в групі яка одержувала ізоніазид з тіотриазоліном спостерігалось відновлення активності СОД і ГПР і нормалізація процесів окисної модифікації білків гепатоцитів (про що свідчила відсутність достовірних відмінностей між показниками АФГ і КФГ контрольної групи і групи, яка одержувала лікарську комбінацію). Хронічне введення ізоніазиду призводило до депривації детоксикаційної функції печінки, а введення його в комбінації з тіотриазоліном не зачіпало цю важливу функцію. Збереження детоксикаційної системи печінки при призначенні комбінованого препарату

ізоніазиду та тіотриазоліну підтверджується і значеннями цитохрому Р450 і гексеналового сну, які знаходяться в межах фізіологічної норми, на відміну від введення чистого ізоніазиду, що призводить до зниження цитохрому Р450 і збільшенню тривалості гексеналового сну. Проба на "гексеналовий сон" показує, що при спільному введенні ізоніазиду з тіотріазліном не відбувається пригнічення активності ферментів печінки. Зменшення прооксидантного механізму гепатотоксичності ізоніазиду в комбінованому препараті забезпечує тіотриазолін, який володіє яскравою і неповторною антиоксидантною дією. Антиоксидантна дія тіотриазоліну полягає в тому, що препарат активує антиоксидантні ферменти - супероксиддисмутазу, каталазу, глутатіон - пероксидазу, сприяє більш економному витрачанню ендогенного антиоксиданту - α - токоферолу, гальмує утворення проміжних і кінцевих продуктів перекисного окислення ліпідів - дієнових кон'югатів, тріенкетонів і малонового діальдегіду. Останнім часом з'явилися публікації що тіотриазолін інгібірує впливи на процеси окислювальної модифікації білка. Дослідженнями in vitro було показано, що тіотриазолін в діапазоні концентрацій 10^{-5} - 10^{-7} М знижує концентрацію таких АФК як супероксидрадикалу (O^{2-}) і пероксинітрит ($ONOO^{-}$). Подібну дію тіотриазолін проявляє завдяки тому, що в його структурі міститься тіольна група, що надає всій молекулі високі відновлювальні властивості і здатна приймати від АФК електрони. В результаті сірка тіольної групи переходить з двох до чотирьохвалентного стану. Тіотриазолін не тільки вловлює АФК завдяки сильним відновлювальним властивостям тіольної групи, а й гальмує основні шляхи їх утворення.

Насамперед, тіотриазолін зменшує утворення АФК в мітохондріях, за рахунок утилізації відновлених форм піридин нуклеотидів та збереження окислювальної продукції енергії, а також в ксантіноксідазній реакції, як за рахунок нормалізації обміну аденілових нуклеотидів, так і за рахунок гальмування перетворення ксантиндегідрогенази в ксантиноксидазу під дією

окисного впливу АФК. Тіотриазолін обмежує вироблення АФК в мітохондріях, по всій видимості, як за рахунок прямої інгібуючої дії на НАДН - оксидазні системи мітохондрій, що підтверджується роботами in vitro. Зменшує активуючий вплив метаболічного ацидозу на АФК - утворюючі системи. Тіотриазолін, знижуючи гиперпродукцію супероксидрадикалу і пероксінітріта, попереджає окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, факторів транскрипції і т. д. Найбільш вивчено протективну дію тіотриазоліну відносно сульфгідрильних груп цистеїнових і метіонінових фрагментів білкових молекул. Тіотриазолін конкурує з цими структурами за супероксидрадикал, в результаті чого запобігає як оборотну, так і необоротну їх модифікацію. В результаті інгібування оборотної модифікації запобігає утворення -SS -зв'язку в цистеїнових ділянках Na + / K + - АТФази , зменшується втрата чутливості ферменту до регулюючого дії АТФ. Зниження освіти -SS - Зв'язок у молекулі ксантиндегідрогенази під дією тіотриазоліну попереджає її перетворення на ксантиноксидазу і перешкоджає утворенню АФК.

Більш значуща, за ефективністю, дія тіотриазоліну реалізується у відношенні незворотньої модифікації сульфгідрильних груп ряду білкових молекул під дією АФК. Так, тіотриазолін гальмує утворення в білках необоротних сульфоксидів і сульфонових груп, які надалі легко піддаються окисленню. Надаючи гальмівний вплив на необоротну окислювальну модифікацію сульфгідрильних груп цистеїнових фрагментів білкових молекул, тіотриазолін нормалізує зрушення red - oxi - регуляції в умовах оксидативного стресу. Насамперед, тіотриазолін попереджає розвиток порушення рівноваги тіосульфідної системи при гіперпродукції АФК, забезпечуючи такі функції як передачу клітинного сигналу через рецепторно - іонноформний комплекс, зберігаючи активність білків, ферментів, факторів транскрипції і цілісність клітинних мембран. Дослідами in vitro, при

моделюванні оксидативного і нітрозірующего стресу реактивом Фентона і надлишком нітропрусиду, було встановлено, що тіотриазолін у концентраціях 10^{-5} - 10^{-7} М перешкоджає окисленню цистеїну і утворенню цістеінсульфоксіду, а також гальмує утворення нітротирозину. Виходячи з цього можна вважати, що тіотриазолін перешкоджає незворотній інактивації фактора транскрипції NF- kappa B, захищаючи від надлишку АФК чутливі залишки цистеїну - Cys 252 , Cys 154 і Cys 61 в його ДНК -зв'язуючих доменах. Крім того, тіотриазолін може брати участь у відновленні цих груп при оборотній інактивації приймаючи на себе роль Redox Faktor - 1.

Гальмуючи окислювальну інактивацію фактора транскрипції NF-kappaB при надлишку АФК, тіотриазолін, можливо, посилює активацію експресії редокс-чутливих генів, які необхідні для захисту клітин від токсичних ефектів оксидативного стресу. Серед цих генів є гени відповідальні за синтез супероксиддисмутази. Подібне твердження знайшло відображення в роботах, де переконливо показано вплив тіотриазоліну на підвищення активності супероксиддисмутази в умовах ішемії та інших екстремальних станах організму. Іншим механізмом підвищення активності цього ферменту є прямий захист тіотриазоліном металопротеінового комплексу СОД, що містить мідь, цинк або марганець від надлишку пероксінітріту.

Ізоніазид в дозі 100 мг/кг при 90-добовому введенні виявляв токсичну дію у відношенні енергетичного метаболізму печінки. У групі, що одержувала ізоніазид, спостерігалося зниження рівня глікогену та глюкозо- 6 - фосфату в печінці. Також реєструвалося зменшення продукції АТФ на тлі депривації активності реакцій циклу Кребса (дефіцит малата) і пригнічення окисних процесів (зниження активності цитохром -С- оксидази). Введення ізоніазиду з тіотриазоліном не чинило негативної дії на енергетичний обмін гепатоцитів. Подібну протективну дію у відношенні енергетичного обміну можна пов'язати з вираженою енерготропною дією тіотриазоліну, що входить

до складу комбінованого препарату. Відомо, що Тіотриазолін нормалізує утилізацію запасів глюкози і глікогену в клітці, нормалізує активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, підвищує співвідношення НАД/НАДН та активність цитохром -С- оксидази, збільшує рівень пірувату, малата, ізоцитрату і сукцинату, одночасно зменшує гиперпродукцию лактату і знижує явище не компенсованого ацидозу та його прооксидантної дії. Інтенсифікація тіотриазоліном окисного вуглеводного метаболізму призводить до підвищення вмісту рівня АТФ на тлі збільшення фонду АДФ і що принципово важливо - зниження рівня АМФ.

Ключову роль в енергозабезпеченні клітин грають мітохондрії, в яких тіотриазолін активує процес НАД + Н- реокислення етанолу. Очевидно, тіотриазолін при розвитку ішемії, по-перше, сприяє утилізації відновлених піридиннуклеотидів (НАДН) в малат-аспартатному шунті мітохондрій. По-друге, активує окислення НАДН в лактатдегідрогеназній реакції в цитозолі позитивно впливаючи на утилізацію відновлених форм піридиннуклеотидів, тіотриазолін значно гальмує шляхи утворення активних форм кисню (АФК), і активує окислювальне фосфорилювання, зі збільшенням утворення АТФ. Найімовірніше, захисна дія тіотриазоліну в умовах ішемії реалізується за допомогою активації малат-аспартатного човникового механізму, що забезпечує протонами електроннотранспортний ланцюг. Компенсаторне нарощування потужності малатного шунта, супроводжується гальмуванням створення з вуглеводів ацетил- КоА (піруватдегідрогеназна реакція), який при ішемії використовується на синтез вільних жирних кислот. Активація малат-аспартатного механізму під дією тіотриазоліну сприяє не тільки продукції АТФ, але й гальмуванню патологічного синтезу ліпідів (табл. 5.6, 5.7).

Таблиця 5.6

Функціонально-біохімічні показники печінки тварин при хронічному введення ізоніазиду і його лікарської комбінації з тіотріазоліномна 90 день експерименту

Показники	*Контроль*	*Ізоніазид*	*Ізоніазид+тіотриазолін*
Відновлений глутатіон, мкм/г	12,1 ± 1,3	5,5 ± 2,0*	9,1± 3,0
Глікоген, мг/г	25,1 ± 2,2	7,8 ±1,2*	18,4 ± 1,7*
Цитохром Р 450, ммоль/г білку	1,77 ± 0,11	0,67 ± 0,34*	1,0 ± 0,10
Цитохром-С-оксидаза, ммоль/мг білка /хв	0,91± 0,05	0,40 ± 0,02*	0,88 ± 0,05
Гексеналовий сон, хв	26 ± 2,1	47,2± 2,1*	30,2 ± 2,3
Глюкозо-6-фосфат, мкм/г	0,71±0,03	0,41±0,04*	0,67±0,05
АТФ, мкм/г	2,78±0,12	1,45±0,08*	2,57±0,17
Малат, мкм/г	0,44±0,02	0,21±0,01*	0,40±0,04
Білок цитоплазматичний, мг/г	116,0±6,0	101,8±5,7*	120,5±7,6
РНК, мг/г	2,77±0,17	1,71±0,081*	2,81±0,43
Сечовина, мкмол/г	3,91±0,16	5,82±0,31*	4,11±0,21
Вільні амінокислоти, мкмол/г	2,87±0,15	4,11±0,21	2,55±0,13

П р и м і т к а : *- *$p \leq 0,05$ по відношенню до групи контролю*

Таблиця 5.7

Показники антиоксидантної системи та маркерів оксидативного стресу в печінці тварин при хронічному введенні ізоніазиду і його лікарської комбінації з тіотріазоліномна 90 день

Показники	*Контроль*	*Ізоніазид*	*Ізоніазид+тіотриазолін*
СОД, у.о./мг/хв	311,2±16,8	201,7±11,0*	304,4±12,8
ГПР, мкм/мг/хв	112,1±7,2	68,3±3,1*	98,7±6,7
АФГ, у.о./г	8,3 ± 0,5	17,2 ± 1,0*	11,0±0,7
КФГ, у.о./г	4,1± 0,3	9,3±0,3*	4,7±0,4

П р и м і т к а : *- *$p \leq 0,05$ по відношенню до групи контролю*

При анатомічному розтині загиблих щурів з усіх груп спостерігалося повнокров'я внутрішніх органів, різке повнокров'я і набряк головного мозку, дрібні крововиливи в речовину головного мозку, ознаки ішемії міокарда. Печінка повнокровна, світло-коричневого кольору, м'якої консистенції, краю печінки закруглені. На розрізі тканина з блиском. Портальні тракти помірно набряклі, повнокров'я центральних междолькових вен. Тонка кишка заповнена вмістом, ніби ободова - роздута. Сечовий міхур повний. Нирки без видимих зовнішніх змін (табл. 5.8).

Таким чином, ізоніазид в токсичних дозах володіє нейротоксичною, гепатотоксічною дією і помірною кардиотоксичною дією, збільшуючи коефіцієнт маси (Km) мозку, печінки і серця. Km інших органів перебували в межах фізіологічної норми. Km мозку, печінки, серця та інших внутрішніх органів тварин, що отримали токсичні дози ізоніазиду з тіотриазоліном знаходилися в межах фізіологічної норми. Лікарська комбінація ізоніазиду з тіотриазоліном не володіє нейро-, гепато-і кардиотоксичностью при одноразовому введенні.

Таблиця 5.8

Коефіцієнт маси тіла до маси органів загиблих щурів (n = 6) після одноразового введення ізоніазиду та його комбінації (M±m)

Групи тварин	*Серце*	*Печінка*	*Легені*	*Нирки*	*Головний мозок*
Тварини, які одержували ізоніазид	22,7±0,53	3,77±0,45*	9,47±1,2	7,67±0,3	28,9±3,41*
Ізоніазид+ тіотриазолін	17,9±1,25	2,17±0,65	9,5±0,93	6,38±0,4	21,8±3,75
Інтактні тварини	18,1±0,61	1,95±0,09	10,8±1,58	6,9±0,37	22,1±1,38

П р и м і т к а : *- *$p \leq 0,05$ по відношенню до групи контролю*

Хронічне (3-місячне) введення ізоніазиду приводило до стійкої інтоксикації, яка характеризувалася гіподинамією, зниженням апетиту (зменшенням споживання корму та води), загальмованістю. Спостерігалася деяка жовтушність слизових оболонок і склер, збільшення розмірів печінки. Спостерігалась смертність тварин. У групі тварин, які отримували чистий ізоніазид протягом 3 місяців загинуло 20 % тварин. При інтоксикації тварин ізоніазидом достовірно знижувалася маса тіла тварин. Так, внутрішньошлункове введення "Ізоніазиду" в дозі 100 мг/кг виявило достовірне зниження приросту маси тіла щурів через 3 місяці застосування препарату. Середня маса тіла тварин в групах, які отримували " Ізоніазид ", склала 167,8 ± 2,7 . У групах контрольних тварин даний показник відповідно становив 189,5 ± 2,4 при $p \leq 0,05$. Також у всіх групах тварин, які отримували "Ізоніазид", спостерігалося зниження споживання води.

Результати досліджень наведені в табл. 5.9

Таблиця 5.9

Інтегративні показники тварин при хронічному введенні ізоніазиду і його лікарської комбінації з тіотріазоліном на 90 день експерименту

Група тварин	*Виживаність тварин на 90 добу*	*Маса тіла тварин на 1 добу*	*Маса тіла тварин на 90 добу*	*Спонтанна рухова активність*
Контроль	20/20 100%	170±3,7	189,5 ± 2,4	83,8 ± 4,0
Ізоніазид	20/16 80%	173±3,8	167,8 ± 2,7*	64,6 ± 3,7*
Ізоніазид+ тіотриазолін	20/20 100%*	171±3	185,9 ± 0,8	75,6 ± 3,7

П р и м і т к а : *- *p ≤ 0,05 по відношенню до групи контролю*

Крім того, при введенні препарату "Ізоніазид" в дозі 100 мг/кг протягом 3 місяців спостерігалося достовірне зниження спонтанної рухової активності (СРА) тварин. Показник пересування протягом 3 хв (передв. / 3хв) у даних груп тварин склав 64,6 ± 3,7, тоді як у контрольних тварин цей показник склав 83,8 ± 4,0. "Ізоніазид" в дозі 100 мг/кг через місяць від початку введення приводив до достовірного підвищення температури тіла тварин (38,5 ± 0,1 ° С). Температура тіла інтактних тварин склала 36,3 ± 0,1 ° С при р ≤ 0,05. Динаміка гематологічних показників при веденні препарату "Ізоніазид" відрізнялася поступовим достовірним (р ≤ 0,05) зниженням вмісту гемоглобіну в крові при введенні препарату в дозі 100 мг/кг (зі 141,1 ± 3,1 до120,8 ± 2,5 г/л), еритропенія (з 7,6 ± 0,7 до 6,1 ± 0,5 млн/мм^3) і ретикулоцитозом (з 22,2 до 28,3 ‰). Поряд з цим при введенні ізоніазиду відзначався достовірний (р ≤ 0,05) лейкоцитоз переважно за рахунок лімфоцитів. При впливі ізоніазиду в дозі 100 мг/кг протягом 3 місяців підвищувалася ШОЕ до 8,6 ± 0,5 мм/год (р ≤ 0,05). У контролі ШОЕ - 4,3 ±

0,5. Хронічне введення лікарської комбінації ізоніазиду з тіотриазоліном надавало менш токсичну дію. Так, маса тіла тварин, які перебувають у межах фізіологічної норми (185,9 ± 0,8 г). Динаміка зниження кількості споживаної щурами води була аналогічною групі контролю. Спонтанна рухова активність у групі, що одержувала лікарську комбінацію знижувалася (75,6 ± 3,7) через 3 місяці в порівнянні з контрольними значеннями, але був вище ($p \leq 0,05$) порівняно з групою одержувала чистий ізоніазид.

Через 3 місяці від початку впливу лікарської комбінації в дозі 100 мг/кг в перерахунку на ізоніазид у щурів температура тіла не підвищувалася. Через 3 місяці від початку введення комбінованого препарату вміст гемоглобіну було в межах норми (138,2 ± 2,8 г/л). Синхронно з цим ($p \leq 0,05$) зазначалося нормалізація вмісту у крові ретикулоцитів (22,2 ± 1,2 ‰) в порівнянні з групою, що одержувала чистий ізоніазид.

Спостереження показали, що при введенні комбінованого препарату в дозі 100 мг/кг в перерахунку на ізоніазид до третього місяця у тварин збільшується кількість лейкоцитів (11,1 ± 0,6 Ч 109 /л, порівняно з контролем і групою, що одержувала чистий ізоніазид ($p \leq 0,05$) переважно за рахунок лімфоцитів. ШОЕ після 3 місяців впливу комбінованого препарату знаходилася в межах норми (4,8 ± 0,7). Результати досліджень наведені в табл. 5.10

Таблиця 5.10

Гематологічні показники тварин при хронічному введенні ізоніазиду і його лікарської комбінації з тіотріазоліномна 90 день експерименту

Група тварин	*Загальний гемо-глобін, г/л*	*Еритро-цити, млн./мм^3*	*Лейко-цити, Ч 10^9/л*	*Лімфо-цити,%*	*ШОЕ*	*Ретику-лоцити, ‰*
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.

Контроль	141,1 ± 3,1	7,6 ± 0,7	5,9 ± 0,5	89,4± 1,1	4,3 ± 0,5	22,2 ± 1,0

Продовж. табл. 5.10

1	2	3	4	5	6	7
Ізоніазид	120,8 ± 2,5*	6,1 ± 0,5	2,5 ± 0,6	78,3± 0,6	8,6 ± 0,5*	28,3± 1,4*
Ізоніазид+ тіотриазолін	138,2 ± 2,8	7,0 ± 0,5	11,1 ± 0,6	97,4± 1,3	4,8 ± 0,7	22,2 ± 1,2

П р и м і т к а : *- *$p \leq 0,05$ по відношенню до групи контролю*

Таким чином, комбінований препарат ізоніазиду та тіотриазоліну на відміну від чистого ізоніазиду, не чинив гепатотоксичної дії - не придушував детоксикаційні, протеінсинтетичні, антиоксидантні функції печінки та її регуляторну участь у ліпідному, вуглеводному і енергетичному метаболізмі.

За матеріалами розділу опубліковані роботи [46, 77, 92, 93, 94].

ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5

1. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до зниження показників гострої токсичності ($ЛД_{50}$) ізоніазиду при пероральному введенні з 1500 до 6691 мг/кг.

2. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до "згладжування" клінічної картини гострого отруєння ізоніазидом і зменшенню тривалості симптомів інтоксикації на 5-7 днів.

3. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до зменшення загальної- і нейротоксичності ізоніазиду при хронічному введенні - зниження летальності, нормалізація апетиту, температури тіла, поведінкових реакцій експериментальних тварин.

4. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до зменшення гематоксічності ізоніазиду - нормалізації показників крові - ШОЕ, загального гемглобіну, еритроцитів і лейкоцитів.

5. Комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до значного зниження гепатоксічної дії ізоніазиду:

а) нормалізації активності транаміназ та інших специфічних ферментів (АЛТ, АСТ, ЛДГ, ЛФ);

б) нормалізації процесів протеінсінтеза;

в) нормалізації антиоксидантних / прооксидантної гомеостазу печінки;

г) нормалізації ліпідного обміну;

д) нормалізації детоксикаційної функції печінки;

е) нормалізації енергетичного обміну печінки;

і) нормалізація жовчоутворюючої функції печінки.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

В ході досліджень розроблено склад, технологію та методи стандартизації таблеток "Тріотиазид" для лікування туберкульозу, до складу яких входять ізоніазид – препарат першого ряду та антиоксидант – тіотриазолін, який зменшує токсичний вплив ізоніазиду на організм людини.

1. Проведено аналітичну оцінку даних наукової літератури в розрізі новітніх уявлень щодо лікування туберкульозу, методичних підходів до створення комбінованих таблеткованих лікарських форм, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі основної діючої речовини та антиоксидантів з метою лікування інфекційних хвороб та невілювання побічних дій основної діючої речовини.

2. Проведено комплекс фармакологічних досліджень з метою обґрунтування оптимального складу діючих речовин, які введені до комбінованої лікарської форми - таблеток "Тріотиазид". Встановлено, що оптимальним є співвідношення діючих речовин : ізоніазиду і тіотриазоліну 4:1.

3. Проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ізоніазиду з МТСА і морфоліном, свідчать, що між діючими речовинами не виникає стійких хімічних зв'язків, а тільки водневі, що дає можливість поєднання тіотриазоліну та ізоніазиду в одній лікарській формі у вигляді таблеток. Для створення таблеток, що містить ізоніазід і тіотриазолін, розроблено склад і технології їх отримання як методом вологої грануляції, так і прямого пресування. З вивченних допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, зв’язуючі) відібрано оптимальні, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми ДФУ. Розроблено технології виробництва таблеток "Тріотиазид" як методом

вологої грануляції, так і методом прямого пресування, і опрацьовані на заводі ЗАТ "Лекхім-Харків".

4. Для отриманних таблеток "Тріотиазид" розроблено оптимальні високоточні, відтворювані методи стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення методом ВЕРХ ізоніазиду з тіотриазоліном в одній наважці) діючих речовин, на основі яких розроблено проект методик контролю якості (МКЯ) .

5. В ході фармакологічних досліджень встановлено, що комбінування ізоніазиду з тіотриазоліном призводить до зниження показників гострої токсичності ($ЛД_{50}$) ізоніазиду при пероральному введенні з 1500 до 6691 мг/кг; до "згладжування" клінічної картини гострого отруєння ізоніазидом і зменшенню тривалості симптомів інтоксикації на 5-7 днів; до зменшення загальної - і нейротоксичності ізоніазиду при хронічному введенні; до зменшення гематотоксічності ізоніазиду - нормалізації показників крові - ШОЕ, загального гемоглобіну, еритроцитів і лейкоцитів; до значного зниження гепатотоксічної дії ізоніазиду.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Александріна Т. А. Погляд на проблему туберкульозу в Україні сьогодні та прогноз на майбутнє / Т. А. Александріна // Нова медицина. – 2004. – № 1. – С. 12–13.
2. Александров А. В. Вызовы и возможности документа ICHQ10 «Фармацевтическая система качества» / А. В. Александров // Пром. обозрение. – 2008. – № 4 (9). – С. 19–21.
3. Алексеева Т. В. Современные подходы к своевременному выявлению рецидивов туберкулёза органов дыхания / Алексеева Т. В., Бирюкова Л. П. // Пробл. туберкулёза. – 2003. – № 1. – С. 14–16.
4. Антиоксидантна система захисту / Бєленічев І. Ф., Губський Ю. І., Левицький Є. Л. [та ін.] // Совр. пробл. токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24–31.
5. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / Чекман И. С., Беленичев И. Ф., Горчакова Н. А [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1 (99), I/II. – С. 22–28.
6. Березкін В. Г. Про внесок Ізмайлова Н.А. та Шрайбера М.С. у розвиток тонкошарової хроматографії / Березкін В. Г. // Журн. аналіт. хімії . – 2008. – Т. 63, № 4. – С. 438–443.
7. Биохимические аспекты оценки реактивности организма больных туберкулёзом лёгких / Каминская Г. О., Абдулаев Р. Ю., Серебряная Б. А., Мартынова Е. В. // Пробл. туберкулёза. – 2001. – № 7.– С. 62–65.
8. Бобрицкая Л. А. Перспективы использования различных видов лактозы в технологи твердых лекарственных форм / Л. А. Бобрицкая, Д. И.

Дмитриевский, Н. И. Гончаров // Тези доп. Всеукр. конгресу «Сьогодення та майбутнє фармації» (16-19 квіт. 2008 р., м. Харків). – Х., 2008. – С. 246.

9. Бобрицька Л. О. Значення пластичної міцності в технології вологої грануляції / Л. О. Бобрицька // Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П.Л.Шупика. – 2012. – Т. 21(3). – С. 531–536.
10. Виговський В. П. Застосування тіотриазоліну при хронічних гепатитах / Виговський В. П. // Ліки. – 1994. – № 1-3. – С. 38–39.
11. Визначення ізоніазиду та тіотриазоліну методом ВЕРХ / Хромильова О. В., Кучеренко Л. І., Ващенко О. В., Ващенко В. В. // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали 5-ї наук.-практ. конф., м. Тернопіль, 27-28 вер. 2013 р. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2013. – С. 199–201.
12. Використання математичного планування експерименту при створенні лікарських засобів / Грошовий Т. А., Белей Н. М., Васенда М. М. [та ін.] // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали 1-ї Міжнар. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2006. – С. 50–51.
13. Виявлення хворих на туберкульоз серед осіб підвищеного ризику та рівень захворюваності в групах ризику в Україні / В. М. Мельник, В. Г. Матусевич, Л. Ф. Антоненко [та ін.] // Журн. практичного лікаря. – 2006. – № 2. – С. 2–7.
14. Вспомогательные вещества для производства твердых лекарственных форм : информ. листок [Электронный ресурс] / Витэк груп. – Одесса : Витэк групп. – Режим доступа : http://www.witec.com.ua.
15. Георгиевский Г. В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4 - триазола / Георгиевский Г. В. // Запорож. мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 58–69.

16. Геруш І. В. Розподіл тіотриазоліну у тканинах організму щурів / Геруш І. В. // Тези доп. ІІ Нац. з'їзду фармакологів України «Фармакологія 2001 - крок в майбутнє». – Дн-ськ, 2001. – С. 53–54.
17. Гризодуб А. И. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. В. Денисенко // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 3–17.
18. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 35–44.
19. Грошовий Т. А. Порівняльна оцінка допоміжних речовин при отриманні таблеток прямим пресуванням / Грошовий Т. А. // Матеріали ІІІ Міжнар. наук.-практ. конф. «Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія», 21-23 трав. 2003 р., м. Харків. – Х., 2003. – С. 178.
20. Грушковська Д. Т. Оптимізація лікарського забезпечення хворих туберкульозом : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 15.00.01 / Д. Т. Грушковська. – Львів, 2012. – 20 с.
21. Губский Ю. И. Токсикологические последствия окислительной модификации белка / Губский Ю. И., Беленичев И. Ф., Левицкий Е. Л. // Совр. пробл. токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 4–20.
22. Демчук М. Б. Оптимізація складу й технології таблеток фамотидину з тіотриазоліном / М. Б. Демчук, Т. А. Грошовий // Запорож. мед. журн. – 2010. – Т. 12, № 5. – С. 218–220.
23. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
24. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 1 допов. – Х. : РІРЕГ, 2004. – 520 с.

25. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 2 допов. – Х., 2008. – 620 с.
26. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., 3 допов. – Х., 2009. – 280 с.
27. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., 4 допов. – Х., 2001. – 540 с.
28. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рекомендации / под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
29. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / [Перцев І. М., Дмитрієвський Д. І., Гудзенко О. П. та ін.] ; за ред. І. М. Перцева. – Х. : Золоті сторінки, 2010. – 600 с.
30. Досвід створення комбінованих препаратів на основі Тіотриазоліну / Демчук М. Б., Тригубчак О. В., Васенда М. М. [та ін.] // Фармація України. Погляд у майбутнє : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (м. Харків, 15-17 вер. 2010 р.). – Х., 2010. – Т. 1. – С. 469.
31. Дослідження пероксидної оксидації ліпідів та антиоксидантного защисту організму в клінічній практиці : метод. рекомендації / [Качоровський Б. В., Новак В. Л., Руденко В. П. та ін.]. – Львів, 2002. – 20 с.
32. Доцільність створення комбінованих лікарських засобів, що містять тіотриазолін / Грошовий Т. А., Мазур І. А., Марценюк В. П. [та ін.] // Технологія та стандартизація таблеткованих біологічно активних добавок : зб. матеріалів конф. «Здобутки клінічної і експериментальної медицини». – Тернопіль, 2008. – С. 111.
33. Емшанова С. В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом прямого прессования / С. В. Емшанова // Хим.-фармац. журн. – 2008. – Т. 42, № 2. –

С. 38–43.

34. Епідеміологія туберкульозу у світі: сучасні підходи до організації протитуберкульозних заходів / Фещенко Ю. І., Мельник В. М., Матусевич В. Г., Антоненко Л. Ф. // Укр. пульмонол. журн. – 2003. – № 4. – С. 5–10.
35. Епідемія туберкульозу в Україні // Нова медицина. – 2003. – № 2. – С. 8–9.
36. Казак Т. И. Морфологические различия очагов туберкулёзного воспаления, отражающие иммунную реактивность организма / Казак Т. И. // Пробл. туберкулёза и болезней лёгких. – 2003. – № 3. – С. 36–40.
37. Казаринов М. О. Проблеми і сучасний стан виробництва таблетованих лікарських засобів / Казаринов М. О., Штейнгарт М. В., Грошовий Т. А. // Фармац. журн. – 1994. – № 4. – С. 64–67.
38. Каминская Г. О. Применение биохимических методов исследования в противотуберкулезных учреждениях / Г. О. Каминская, Б. А. Серебряная. – М., 1993. – 29 с.
39. Компендиум 2013 - лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. – К. : Морион, 2013. – 1408 с.
40. Кучеренко Л. І. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотріазоліном методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова // Фармац. часопис. – 2013. – № 4 (29). – С. 83–87.
41. Кучеренко Л. І. Вивчення впливу допоміжних речовин на властивості таблеток тіотриазоліну / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Георгієвський Г. В. // Науч. направления в создании лек. средств в фармац. секторе Украины : сб. тезисов. – Х., 2000. – С. 84–85.
42. Кучеренко Л. І. Вивчення впливу кількісних факторів на властивості таблеток тіотриазоліну, які одержані прямим пресуванням / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Калинюк Т. Г. // Фармаком. – Х., 2003. – № 2. – С. 81–84.
43. Кучеренко Л. І. Вивчення впливу кількісних фармацевтичних факторів на властивості таблеток «Тіотриазолін» / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Калинюк Т. Г. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб.

наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 87–93.

44. Кучеренко Л. І. Оптимізація складу таблеток тіотриазоліну / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А. // Вісник фармації. – 2001. – № 3 (27). – С. 54.
45. Кучеренко Л. І. Розробка оптимального складу і технології таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування / Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. // Фармац. часопис. – 2014. – № 2 (30). – С. 31–35.
46. Кучеренко Л. І. Щодо доцільності створення комбінованої лікарської форми з ізоніазидом / Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Белєнічев І. Ф. // Матеріали XXX всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів", м. Харків, 23 трав. 2013 р. – Х., 2013. – С. 72–73.
47. Лабораторна діагностика туберкульозу легенів / Мельник В. М., Дорошенко П. П., Валецький Ю. М., Драч К. М. // Журн. практичного лікаря. – 2003. – № 2. – С. 30–32.
48. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А. В. Губенко, П. Н. Бабич. – К. : МОРИОН, 2002. – 640 с.
49. Ларіонова-Нечерда О. Протидіяти туберкульозу! / О. Ларіонова-Нечереда // Науковий світ. – 2005. – № 5. – С. 16.
50. Лікарські засоби. Випробування стабільності : настанова 42-3.3:2004. – К. : МОРИОН, 2004. – 60 с.
51. Луцкевич Д. Д. Хроматографія / Луцкевич Д. Д., Мороз А.С., Рибальська О. В. // Аналітична хімія. – К. : Здоров'я, 2003. – С. 278–285.
52. Мазур И. А. Необходимость и пути создания лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. // Матеріали VII Нац. з’їзду фармацевтів України «Фармація України. Погляд у майбутнє» (Харків, 15-17 вер. 2010 р.). – Х., 2010. – Т. 1. – С. 514.

53. Мазур И. А. Тиотриазолин / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман. – Запорожье ; Львов : Наутилус, 2005. – 156 с.
54. Малахова І. І. Сучасна високоефективна тонкошарова хроматографія / Малахова І. І., Красіков В. Д. // Лабораторний журнал. – 2002. – № 1 (1). – С. 15–19.
55. Мамолат А. Е. Побочные реакции при антибактериальної терапии больных туберкулезом / А. Е. Мамолат, Е. Ф. Чернушенко. – К., 1975. – 133 с.
56. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / [Грошовий Т. А., Марценюк В. П., Кучеренко Л. І. та ін.] ; під ред. Т. А. Грошового. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2008. – 367 с.
57. Машковский М. Д. Лекарственные средства / М. Д. Машковский. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. – М. : Новая волна ; Издатель Умеренков, 2012. – 1216 с.
58. Мельник В. М. Соціальні аспекти пізнього виявлення туберкульозу / В. М. Мельник, І. О. Новожилова // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 45–49.
59. Механизм противоишемического и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, Н. А. Волошин [и др.] // Клинич. фармакология. – 2006. – № 2. – С. 18–22.
60. Мишин В. Ю. Новые методы диагностики побочных реакций на противотуберкулезные препараты / Мишин В. Ю., Чуканов В. И., Гергерт В. Я. // Актуальные проблемы пульмонологии : сб. тр. Всерос. науч. о-ва пульмонологов. – М., 2000. – С. 439–448.
61. Мишин В. Ю. Особенности диагностики рецидивов туберкулёза органов дыхания / Мишин В. Ю., Жестковских С. Н. // Пробл. туберкулёза и болезней легких. – 2005. – № 5. – С. 39–42.
62. Мишин В. Ю. Рецидивы туберкулеза органов дыхания / Мишин В. Ю., Жестковских С. Н. // Пробл. туберкулёза и болезней легких. – 2004. – № 4.– С. 11–13.

63. Молекулярный механизм энерготропного и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, И. С. Чекман, Н. А. Волошин // Ліки. – 2006. – № 3-4.– С. 12–16.
64. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності : Настанова 42-7.1:2005). – К. : Моріон, 2005. – 22 с.
65. Норейко Б. В. Химиотерапия туберкулеза / Норейко Б. В. // Новости медицины и фармации. – 2008. – № 19. – С. 261
66. Об общей фармакопейной статье «Растворение» / В. Л. Багирова, Л. Н Взорова, Л. К. Граковская [та ін.] // Хим.-фармац. журн. – 2001. – № 4. – С. 39–41.
67. Оптимізація методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотріазоліну / В. В. Ващенко, З. Б. Моряк, О. О. Портна [та ін.] // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – №. 1. – С. 49–53.
68. Оптимізація технологічних процесів створення лікарських засобів за допомогою математичного планування експерименту / Т. А. Грошовий, Н. М. Белей, Л. І. Кучеренко [та ін.] // Фармац. часопис. – 2007. – № 1 (4). – С. 21–29.
69. Оценка фармакодинамических эффектов тиотриазолина при гиперлипидемии / В. В. Дунаев, И. М. Белай, И А. Мазур [и др.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 70–73.
70. Пат. 1988 Україна, МПК C07D 413/12 (2006.01). Морфоліній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат, який має гепатозахисну, ранозагоюючу та противірусну активність / І. А. Мазур, Є. Г. Книш, В. Р. Стець [та ін.]. – № 4167912/SU; заявл. 30.11.1993 ; опубл. 20.12.94, Бюл. № 4/1994.
71. Пат. 92872, Україна, МПК (2009), A61K 31/616 (2006.01) A61K 31/41 A61 P 7/02 (2006.01) A61P 39/06 (2006.01). Комбінований антиагрегантний і

антиоксидантний лікарський засібм / А. Е. Левих, В. Й. Мамчур, І. А. Мазур, [та ін.]. – № a200912967 ; заявл. 14.12.09 ; опубл. 10.12.10, Бюл. № 23.

72. Пахомов В. П. Хроматографія у хіміко-фармацевтичних дослідженнях / Пахомов В. П. // Хим.-фармац. журн. – 2003 – Т. 37, № 8. – С. 55–56.
73. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных туберкулёзом лёгких с сопутствующей патологией бронхов / Просветов Ю. В., Растворов А. А., Кужко М. М. [и др.] // Запорож. мед. журн. – 2003. – № 2-3. – С. 51–54.
74. Перспективи створення високоефективних лікарських засобів на основі комбінацій з антиоксидантами / Мазур І. А., Беленічев І. Ф, Грошовий Т. А. [та ін.] // Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук та фармацевтичних препаратів : тези доп. Нац. наук.-техн. конф. з міжнар. участю, м. Львів, 15-18 жовт. 2008 р. – Л., 2008. – С. 174.
75. Петренко В. І. Епідеміологія туберкульозу / В. І. Петренко // Мистецтво лікування. – 2003. – № 4. – С. 42–46.
76. Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Моряк З. Б., Ткаченко Г. І. // Запорож. мед. журн. – 2014. –№ 2. – С. 118–120.
77. Підвищення ефективності лікування туберкульозу / [Бєленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. та ін.]. – К., 2014. – 4 с. – (Інформ. лист про нововведення в системі охорони здоров'я / Укрмедпатентінформ ; № 221-2014, Вип. 2 з проблеми «Фармація»).
78. Планування експерименту та аналіз експериментальних даних при проведенні наукових досліджень у фармації / Грошовий Т. А., Марценюк В. П., Вронська Л. В. [та ін.] // Сьогодення та майбутнє фармації : тези доп. Всеукр. конгресу, 16-19 квіт. 2008 р., м. Харків. – Х., 2008. – С. 521.
79. Подбор оптимальных условий анализа смеси изониазида и тиотриазолина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии Международная

научная конференция / Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Ващенко В. В., Моряк З. Б. // Современная фармацевтика: потенциал роста в долгосрочной перспективе : материалы междунар. науч. конф., г. Киров, 26-27 нояб. 2013 г. – Киров, 2013. – С. 15–21.

80. Прилипко Н. А. Системний підхід до вивчення інтеграції регіональної медичної та фармацевтичної допомоги хворим на туберкульоз : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 15.00.10 / Н. А. Прилипко. – Львів, 2012. – 26 с.
81. Проведення порівняльних досліджень in vitro для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії : метод. рекомендації. – К. : Моріон, – 2007. – 41 с.
82. Просвєтов Ю. В. Вплив деяких факторів на розвиток побічних реакцій на протитуберкульозні препарати та ефективність хіміотерапії туберкульозу / Просвєтов Ю. В. // Актуальні питання мед. науки та практики : зб. наук. праць ЗМАПО. – Запоріжжя, 2004. – Вип. 65. – С. 266–271.
83. Разработка лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций с антиоксидантами - перспективное направление современной фармакологии / Мазур И. А., И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев [и др.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5. – С. 199–200.
84. Роль окислительного стресса в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / Муравлева Л. Е., Luchanskiy V. В., Клюев Д. А. [и др.] // Успехи совр. естествознания. – 2012. – № 9.– С. 12–16.
85. Руководства по качеству. Лекарственные средства. Вспомогательные вещества : Руководство 42-3.6:2004. – К., 2004. – 12 с.
86. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / [Багирова В. Л., Гризодуб А. И., Чибиляев Т. Х. и др.] ; под ред. Н. В. Юргеля. – М. : Фарм.пром., 2007. – 58 с.
87. Руководство по легочному и внелегочному теберкулезу / под ред. Ю. Н. Левашова, Ю. М. Репина. – СПб. : ЭЛБИ-СПб., 2006. – 210 с.

88. Руководство по лечению туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью : междунар. изд. / Partners in Health ; под ред. А. Пасечникова, М. Р. Рич. – Бостон, 2003. – 173 с.
89. Садек П. Растворители для ВЭЖХ / П. Садек. – М. : Бином. Лаборатория знаний, 2009. – 704 с.
90. Сапрыкин Л. В. Практика и методические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии : учеб. пособие / Л. В. Сапрыкин. – Краснодар, 2006. – 151 с.
91. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / И. В. Воскобойникова, С. Б. Авакян, Т. А. Сокольская [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2005. – Т. 39, № 1. – С. 22–28.
92. Создание комбинированного лекарственного средства для лечения туберкулеза / Л. И. Кучеренко, О. В. Хромылева, И. Ф. Беленичев [и др.] // Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України : матеріали наук.-практ. конф., 6-7 груд. 2013 р. – Одеса, 2013. – С. 193–194.
93. Создание комбинированного препарата изониазида с тиотриазолином (Триатиозид) - повышение безопасности противотуберкулезной терапии / Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Бухтиярова Н. В. [и др.] // Materiály mezinárodní vědecko - praktická conference "Přední vědecké novinky - 2013", (27 srpna-05 září 2013 roku). – Praha, 2013. – P. 19–22.
94. Создание фиксированных лекарственных комбинаций для лечения туберкулеза / Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Беленичев И. Ф. [и др.] // Современная фармацевтика: потенциал роста в долгосрочной перспективе : материалы междунар. науч. конф., г. Киров, 26-27 нояб. 2013 г. – Киров, 2013. – С. 88–94.
95. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.

96. Стрелис А. К. Противотуберкулезные химиопрепараты / Стрелис А. К., Фомина И. П., Дехнич А. В. // Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Л. С. Страчунский, Ю. Б. Белоусов, С. Н. Козлов. – 2-е изд. – Смоленск : НИИ антимикробной химиотерапии СГМА, 2002. – С. 65–75.
97. Сучасний стан створення виробництва та дослідження таблетованих лікарських препаратів. Повідом. 4 : Сучасні аспекти створення та виробництва шипучих таблеток / І. І. Басакіна, Д. І. Дмитрієвський, О. В. Тригубчак [та ін.] // Фармац. часопис. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 82–86.
98. Теоретическое исследование строения комплексов изониазида с тиотриазолином / Р. И. Зубатюк, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур [и др.] // Химия гетероциклич. соединений. – 2014. – № 3. – С. 476–482.
99. Технология и стандартизация лекарств : сб. науч. тр. / под ред. В. П. Георгиевского, Ф. А. Конева. – Х. : РИРЕГ, 1996. – Т .1. – 786 с. ; 2000. – Т. 2. – 784 с.
100. Тиотриазолин - достижения и перспективы применения в гепатологии / Н. А. Волошин, А. Д. Визир, В. В. Дунаев [и др.] // Зб. наук. праць співробітників КМАПО ім. П.Шупика. – К., 2000. – Вип. 9, кн. 4. – С. 30–36.
101. Тиотриазолнн - создание, механизм действия, достижения и перспективы применения в медицине / А. Д. Визир, В. А. Визир, В. В. Дунаев [и др.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 3–11.
102. Титова А. В. Вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственных средств. Проблемы и подходы к их решению // Фарммедобращение-2005 : материалы совещания, г. Москва, 24-26 окт. 2005 г. – М., 2005. – С. 205.
103. Тіотриазолін в комплексній терапії цирозів печінки / Є. М. Стародуб,

О. Є. Самогальська, І. І. Мельник [та ін.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 206–210.

104. Тіотриазолін: фармакологічні аспекти та клінічне застосування / Мазур І. А., Волошин Н. А., Чекман І. С. [та ін.] // Новини медицини та фармації. – 2005. – 160 с.
105. Тригубчак О. В. Шляхи усунення побічної дії деяких лікарських засобів за рахунок технологічних прийомів / Тригубчак О. В., Павлюк М. Б., Грошовий Т. А. // Безпечна фармакотерапія в Україні : матеріали наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2008. – С. 34–35.
106. Удосконалення методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотріазоліну / Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Моряк З. Б. [та ін.] // Людина та ліки - Україна : наук. програма VI нац. конгресу, 21-22 бер. 2013 р. – К., 2013. – С. 36.
107. Фармакокинетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Воронько, С. А. Сергеева, В. Н. Каркищенко. – Ростов н/Д., 2001. – 383 с.
108. 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.
109. Фещенко Ю. И. Ситуация с туберкулезом в Украине / Ю. И. Фещенко // Доктор. – 2002. – № 4. – С. 11–14.
110. Фещенко Ю. І. Контроль за туберкульозом в умовах Адаптованої ДОТС-стратегії : учеб. пособие / Ю. І. Фещенко, В. М. Мельник. – К. : Медицина, 2007. – 480 с.
111. Фещенко Ю. І. Основні тенденції динаміки статистичних показників з туберкульозу в Україні за останні 10 років / Фещенко Ю. І., Мельник В. М., Коблянська А. В. // Укр. пульмонол. журн. – 2000. – № 4. – С. 5–8.

112. Формування лікарських порошкових систем в умовах вібраційного поля / П. П. Печерський, І. А. Вишневський, В. В. Нежувака [та ін.] // Фармац. журн. – 2000. – № 4. – С. 51–55.
113. Хлистун В. М. Вплив тіотриазоліну на стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих на інфільтратний туберкульоз легенів у початковому періоді лікування / Хлистун В. М. // Фармакологія 2001 - крок в майбутнє : тези доп. II Нац. з'їзду фармакологів України. – Дн-ськ, 2001. – С. 263.
114. Хонина Н. И. Особенности иммунитета у больных с различными формами туберкулёза лёгких / Хонина Н. И., Никонов С. Д., Шпилевский С. В. // Пробл. туберкулёза. – 2000. – № 1. – С. 30–32.
115. Хронічний вірусний гепатит: нові тенденції та підходи до терапії / Є. М. Нейко, І. М. Шевчук, Б. І. Васильчук [та ін.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 176–180.
116. Хухліна О. С. Диференційоване застосування тіотриазоліну при хронічному гепатиті та цирозі печінки з детоксикаційною метою / Хухліна О. С., Воєводкіна О. С., Шоріков Є. І. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 233–238.
117. Чекман І. С. Метаболічні препарати в сучасній експериментальній та клінічній фармакології / Чекман І. С. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 11–17.
118. Чернушенко Е. Ф. Иммунологические механизмы прогрессирования туберкулёза / Чернушенко Е. Ф., Панасюкова А. Р. // Екологічні проблемі у фтизіатрії і пульмонології : матеріали наук.-практ. конф. – К., 2004. – С. 222–225.
119. Чучалин А. Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции / Чучалин А. Г. // Пульмонология. – 2004. – № 2. – С. 111–114.

120. Щодо постадійного контролю виробництва таблеток / Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Моряк З. Б. [та ін.] // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2014. – № 2. – С. 31–34.
121. A novel bending point criterion for dissolution profile interpretation / Van Vooren L., Krikilion G., Rosier J. [et al.] // Drug. Dev. Ind. Pharm. – 2001. – Vol. 27, N 8 – P. 885–892/
122. A statistical approach to evaluate the potential use of compression parameters for classification of pharmaceutical powder materials / Klevan I., Nordström J., Tho I., Alderborn G. // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2010. – Vol. 75. – 425–435.
123. Acomparison of cellactose with two ad hoc processed lactose-cellulose blends as direct compression excipiens / M. Casalderrey, C. Souto, C. Coutoetal [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2000. – Vol. 48, N 4. – P. 458–463.
124. Antikainen O. Determining the compression behaviour of pharmaceutical powders from the force-distance compression profile / Antikainen O., Yliruusi J. // Int. J. Pharm. – 2003. – Vol. 252. – P. 253–261.
125. Antikainen O. New methods to evaluate applicability of powders and granules for tablet compression : PhD Theses Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis / Antikainen O. – Helsinki, 2003. – P. 1129–1136.
126. Anti-tuberculosis drug-induced hepatitis / Lee S., Chung L., Huang H. [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung. Dis. – 2010. – Vol. 14, N 5. – P. 622–626.
127. Antony J. Density functional theory including dispersion corrections for intermolecular interactions in a large benchmark set of biologically relevant molecules / Antony J., Grimme S. // Phys. Chem. Chem. Phys. – 2006. – Vol. 8. – 5287–5293.
128. Arbocel®Powdered Cellulose - A Unique Functional Filler for Capsules and Tablets : каталог / J. Rettenmaier & Söhne. – Rosenberg : Business Unit Pharma. [Электронный ресурс]. – Режим доступа : http //www.jrspharma.com.

129. Ayyappan J. Development and validation of a stability indicating high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the estimation of isoniazid and its related substances in fixed dose combination of isoniazid and ethambutol hydrochloride tablets / Ayyappan J., Umapathi P., Darlin S. Quine // Afr. J. Pharm. and Pharmacol. – 2011. – Vol. 5 (12). – P. 1513–1521.
130. Balcells INH resistance after INH therapy // Emerg. Infect. Dis. – 2006. – P. 744–749.
131. Behrens D. GMP-gerechte Herstellung von Filmcoating- und Dragiersuspensionen / Behrens D. // Pharma Int. – 2000. – N 2. – P. 68–70.
132. Beneficial and perverse effects of isoniazid preventive therapy for latent tuberculosis infection in HIV-tuberculosis coinfected populations / Cohen T., Lipsitch M., Walensky R. P., Murray M. // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2006. – Vol. 103. – P. 7042–7047.
133. Bhandari R. B. A Sensitive HPLC Method for Determination of Isoniazid in Rat Plasma, Brain, Liver and Kidney [Електронний ресурс] / Bhandari R. B., Kaur I. P. // J. Chromat. Separation Techniq. – 2012. – Vol. 3 (3). – Режим доступу : http://omicsonline.org/a-sensitive-hplc-method-for-determination-of-isoniazid-in-rat-plasma-brain-liver-and-kidney-2157-7064.1000128.pdf.
134. Boshoff H. I. Tuberculosis - metabolism and respiration in the absence of growth / Boshoff H. I., Barry C. E., 3rd. // Nat. Rev. Microbiol. – 2005. – Vol. 3 (1). – P. 70–80.
135. Buompadre M. C. Therapeutic developments in chronic ataxias / Buompadre M. C. // Medicina (B Aires). – 2013. – Vol. 73, suppl. 1. – C. 49–54.
136. Caminero J. A. Multidrug-resistant tuberculosis: epidemiology, risk factors and case finding / Caminero J. A. // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2010. – Vol. 14 (4). – P. 382–390.
137. Chiang C. Y. Drug-resistant tuberculosis: past, present, future / Chiang C. Y., Centis R., Migliori G. B. // Respirology. – 2010. – Vol. 15 (3). – P. 413–432.

138. Comprehensive treatment of extensively drug-resistant tuberculosis / Mitnick C. D., Shin S. S., Seung K. J. [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 359. – P. 563–574.
139. Contribution of catecholamine reactive intermediates and oxidative stress to the pathologic features of heart diseases / Costa V. M., Carvalho F., Bastos M. L. [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2011. – Vol. 18 (15). – P. 2272–2314.
140. Crystal, molecular structure and tautomerism of (5-methyl-1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid / Zubatyuk R. I., Shishkina S. V., Kucherenko L. I. [et al.] // Struct. Chem. – 2008. – Vol. 19. – P. 407–412.
141. Dasgupta K. Cost-effectiveness of tuberculosis control strategies among immigrants and refugees / Dasgupta K., Menzies D. // Eur. Respir. J. – 2005. – Vol. 25. – P. 1107–1116.
142. European Pharmacopoeia. – 5-th ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2005. – 3503 p.
143. European Pharmacopoeia. – 6-th ed. – Strasbourg : EDQM, 2007. – P. 1568–1571.
144. European Pharmacopoeia. – 6-th ed. – Strasbourg : EDQM, 2007. – P. 1663–1664
145. Extensively drug resistant tuberculosis in a high income country: A report of four unrelated cases [Електронний ресурс] / Blaas S. H., Mütterlein R., Weig J. [et al.] // BMC Infect. Dis. – 2008. – Vol. 8. – Режим доступу : http://www.biomedcentral.com/1471-2334/8/60.
146. Faustini A. Risk factors for multidrug resistant tuberculosis in Europe : a systematic review / Faustini A., Hall A. J., Perucci C. A. // Thorax. – 2006. – Vol. 61. – P. 158–163.
147. Faustini A. Tuberculosis treatment outcomes in Europe : a systematic review / Faustini A., Hall A. J., Perucci C. A. // Eur. Respir. J. – 2005. – Vol. 26. – P. 503–510.

148. Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances / K. Florey. – New Delhi : Reed Elsiever India Pvt Ltd, 2005. – 162 p.
149. Franke M. F. Risk factors and mortality - associated with default from multidrug-resistant tuberculosis treatment / Franke M. F., Appleton S. C., Bayona J. // Clin. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 46. – P. 1844–1851.
150. Further Observation of Content Uniformity of d-α-Tocopheryl Acetate as an Oily Drug in Granules Obtained by Wet Granulation with a High-Shear Mixer / Y. Kato, K. Moroshima, M. Hashizume [et al.] // Res. Article. – 2001. – Vol. 27, N 8. –P. 781–787.
151. GAUSSIAN 09, Revision B.01, Gaussian / Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B. [et al.]. – Wallingford, Conn, USA, 2009. – 141 p.
152. Global Alliance for TB Drug Development. 2006. RFP 2006 01. Preclinical evaluation of new drug combinations against tuberculosis. Global Alliance for TB Drug Development, – N. Y., USA. – 290 p.
153. Global tuberculosis control : WHO Report 2002. – Geneva, 2002. – 295 p.
154. Global tuberculosis control 2009: Epidemiology, strategy, finncig (WHO/HTM/TB/2009;411). – Geneva: World Health Organiztion, 2009. – 301 p.
155. Global tuberculosis control. Surveillance, planning, financing : World Health Organization WHO Report 2008. – Geneva, 2008. – 394 p.
156. Gomez J. E. M. tuberculosis persistence, latency, and drug tolerance / Gomez J. E., McKinney J. D. // Tuberculosis. – 2004. – Vol. 84. – P. 29–44.
157. Gonnissen Y. Development of directly compressible powders via co-spray drying / Gonnissen Y., Remon J. P., Vervaet C. // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2007. – Vol. 67. – P. 220–226.
158. Grimme S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction / Grimme S. // J. Comput. Chem. – 2006. – Vol. 27. – P. 1787–1799.

159. Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis / [van Gemert W., Zignol M., Falzon D. et al.]. – 4th ed. – Geneva : WHO, 2009. – 83 p.
160. Hortin G. L. A new era in protein quantification in clinical laboratories: application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Hortin G. L. // Clin. Chem. – 2007. – Vol. 53. – P. 543–544.
161. Hunter R. L. Pathology of post primary tuberculosis of the lung : an illustrated critical review / Hunter R. L. // Tuberculosis. – 2011. – Vol. 91. – P. 497–509.
162. Innovations in tablet coating technology : a review / Neelam D. Kamble, Prafulla S. Chaudhari, Rajesh J. Oswal [et al.] // Int. J. Appl. Biol. and Pharm. Technol. – 2011. – Vol. 2, N 1. – P. 214–218.
163. Intramolecular O-H O hydrogen bonds assisted by resonance. Correlation between crystallographic data and 1H NMR chemical shifts / Bertolasi V., Gilli P., Ferretti V., Gilli G. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. – 1997. – Vol. 2. – 945–952.
164. Isoniazid for preventing tuberculosis in non-HIV infected persons : (Cochrane Review) / Smieja M. J., Marchetti C. A., Cook D. J., Smaill F. M. // The Cochrane Library. – Chichester : John Wiley & Sons, 2003. – Issue 4. – 27 p.
165. Isoniazid pharmacokinetics-pharmacodynamics in an aerosol infection model of tuberculosis / Jayaram R., Shandil R. K., Gaonkar S. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48. – P. 2951–2957.
166. Isoniazid-induced transient high-level resistance in Mycobacterium tuberculosis / Viveiros M., Portugal I., Bettencourt R. [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2002. – Vol. 46. – P. 2804–2810.
167. Isoniazid's bactericidal activity ceases because of the emergence of resistance, not depletion of Mycobacterium tuberculosisin the log phase of growth / Gumbo T., Louie A., Liu W. [et al.] // J. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 195. – P. 194–201.
168. Jivraj M. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets / Jivraj M., Martini L. G., Thomson C. M. // PSTT. – 2000. – Vol. 3 (2). – P. 58–63.

169. Kita T. N-acetiltransferace 2 Genotype Correlated with Isoniazid Acetylation in Japanese Tuberculous Patients / Kita T., Tanigawara Y., Chikazawa S. // Biol. Pharm. Bull. – 2001. – Vol. 24, N 5. – P. 544–549.
170. Kornchankul W. Correlation between wet granulation kinetic parameters and tablet characteristics / Kornchankul W., Parikh N. H, Sakr A. // Drugs made Germ. – 2001. – Vol. 44, N 3. – P. 78–87.
171. Lekhan V. Ukraine: health system review / Lekhan V., Rudiy V., Richardson E. // Health Syst. Transit. – 2010. – Vol. 12. – P. 1–183.
172. Liang L. P. Chelation of mitochondrial iron prevents seizure-induced mitochondrial dysfunction and neuronal injury / Liang L. P., Jarrett S. G., Patel M. // J. Neurosci. – 2008. – Vol. 28 (45). – P. 11550–11556.
173. LoBue Ph. Plan to combat extensively drug-resistant tuberculosis. Recommendations of the Federal Tuberculosis Task Force / LoBue Ph., Sizemore C., Castro K. G. // Morbidity and Mortality Weekly Report. – 2009. – Vol. 58. – 43 p.
174. Marenich A. V. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions / Marenich A. V., Cramer C. J., Truhlar D. G. // J. Phys. Chem. B. – 2009. – Vol. 113. – P. 6378–6396.
175. Marwaha M. Coprocessing of excipients: a review on excipient development for improved tabletting performance / Marwaha M., Sandhu D., Marwaha R. K. // Int. J. Appl. Pharm. – 2010. – Vol. 2 (3). – P. 41–47.
176. Narayanan P. R. Tuberculosis Research Centre Chennai. Split-drug regimens for the treatment of patients with sputum smear-positive pulmonary tuberculosis - a unique approach / Narayanan P. R. // Trop. Med. Int. Health. – 2004. – Vol. 9. – P. 551–558.
177. Nunn P. Tuberculosis and HIV infection: the global setting / Nunn P., Reid A., De Cock K. M. // J. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 196. – P. 5–14.

178. Øiestad E. L. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Øiestad E. L., Johansen U., Christophersen A. S. // Clin. Chem. – 2007. – Vol. 53. – P. 300–309.
179. Open Babel: An open chemical toolbox [Електронний ресурс] / O'Boyle N. M., Banck M., James C. A. [et al.] // J. Cheminform. – 2011. – Режим доступу : doi: 10.1186/1758-2946-3-33.
180. Pai M. New diagnostics for latent and active tuberculosis: state of the art and future prospects / Pai M., O'Brien R. // Semin. Respir. Crit. Care Med. – 2008. – Vol. 29. – P. 560–568.
181. Panigrahi D. Mouth dissolving tablets: an overview of preparation techniques, evaluation and patented technologies / Panigrahi D., Baghel S., Mishra B. // J. Pharm. Res. – 2004. – Vol. 4 (3). – P. 33–38.
182. Patel R. P. Directly compressible materials via co-processing / Patel R. P., Bhavsar M. // Int. J. Pharm.Tech. Res. – 2009. – Vol. 1 (3). – P. 745–753.
183. Patel S. Effect of particle size and compression force on compaction behavior and derived mathematical parameters of compressibility / Patel S., Kaushal A. M., Bansal A. K. // Pharm. Res. – 2007. – Vol. 24 (1). – P. 111–124.
184. Pavlic M. Combined use of ESI-QqTOF-MS and ESI-QqTOF-MS/MS with mass-spectral library search for qualitative analysis of drugs / Pavlic M., Libiseller K., Oberacher H. // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – Vol. 386. – P. 69–82.
185. Pitfalls and prevention strategies for liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the selected reaction-monitoring mode for drug analysis / Sauvage F.-L, Gaulier J.-M., Lachatre G., Marquet P. // Clin. Chem. – 2008. – Vol. 54. – P. 1519–1527.
186. Polyplasdone® Crospovidone NF: Technical Profile: каталог / Int. Specialty Products. – New Jersey : ISP, 1999. – 4 p.

187. Prediction of drug content and hardness of intact tablets using artificial neural network and near-infrared spectroscopy / Chen Yixin, Thosar Shipa S., Forbess Reba A. [et al.] // Drug Dev. Ind. Pharm. – 2001. – Vol. 27, N 7. – P. 623–631.
188. Preparation and assessment of novel coprocessed superdisintegrant consisting of crospovidone and sodium starch glycolate: a technical note / Gohel M. C., Parikh R. K., Brahmbhatt B. K., Shah A. R. // AAPS PharmSciTech. – 2007. – Vol. 8 (1). – P. E63–69.
189. Preparation of rapidly disintegratig tablet using new types of microcrystalline cellulose (PH-M series) and low substituted-hydroxypropylcellulose or spherical sugar granules by direct compression metthod / Ishikawa Tatsuya, Mukai Baku, Shiraishi Shufi [et al.] // Chem. and Pharm. Bull. – 2001. – Vol. 49, N 2. – P. 134–139.
190. Raviglione M. C. WHO's new Stop TB Strategy / Raviglione M. C., Uplekar M. W. // Lancet. – 2006. – Vol. 367. – P. 952–955.
191. Raviglione M. C. XDR tuberculosis - implications for global public health / Raviglione M. C., Smith I. M. // N. Engl. J. Med. – 2007. – Vol. 356. – P. 656–659.
192. Ritschel W. A. Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitatssicherung / W. A. Ritschel, A. Bauer-Brandl. – 2. Aufl. – Berlin, 2002. – S. 25.
193. Role of antioxidants in treatment of male infertility : an overview of the literature / Agarwal A., Nallella K. P., Allamaneni S. S., Said T. M. // Reprod Biomed. Online. – 2004. – Vol. 8. – P. 616–627.
194. Scandalios J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses / Scandalios J. G. // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2005. – Vol. 38. – P. 995–1014.
195. Self-consistent molecular orbital methods. XX. A basis set for correlated wave functions [Електронний ресурс] / Krishnan R., Binkley J. S., Seeger R., Pople

J. A. // J. Chem. Phys. – 1980. – Vol. 72. – Режим доступу : http://scitation.aip.org/content/aip/journal/jcp/72/1/10.1063/1.438955.

196. Shlieout G. Powder and mechanical properties of microcrystalline cellulose with different degrees of polymerization / Shlieout G., Arnold K., Müller G. // AAPS PharmSciTech. – 2002. – Vol. 3 (2). – P. 45–54.
197. Spigelman M. K. New tuberculosis therapeutics: A growing pipeline / Spigelman M. K. // J. Infect. Dis. – 2007. – Vol. 196, suppl. 1. – P. S28–S34.
198. Standard short-course chemotherapy for drug-resistance tuberculosis - treatment outcomes in 6 countries / Espinal M. A., Kim S. J., Suarez P. G. [et al.] // JAMA. – 2000. – Vol. 283. – P. 2537.
199. Starch 1500: Частично модифицированный кукурузный крахмал : каталог / Colorcon. – WestPoint, 2003. – 4 p.
200. Treatment of tuberculosis: guidelines for national programmes (WHO/CDS/TB/2003). – 3rd ed. – Geneva : WHO, 2003. – 107 p.
201. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility - a clinical perspective / Tremellen K. // Hum. Reprod. Update. – 2008. – Vol. 14. – P. 243–258.
202. Tuberculosis and tuberculosis control in European prisons / Aerts A., Hauer B., Wanlin M. [et al.] // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2006. – Vol. 11. – P. 1213–1223.
203. Tuberculosis recurrences. Reinfection plays a role in a population whose clinical (epidemiological characteristics do not favor reinfection) / de Viedma D. G., Marin M., Hernangomez S. [et al.] // Arch. Intern. Med. – 2002. – Vol. 162, N 16. – P. 1873–1879.
204. Ukraine: national report on monitoring progress towards the UNGASS Declaration of Commitment on HIV/AIDS, January 2008-December 2009. – Kyiv, 2010. – 140 p.
205. van Deun A. Diagnosis of drug-resistant tuberculosis: reliability and rapidity of detection / van Deun A., Martin A., Palomino J. C. // Int. J. Tuberc. Lung Dis. – 2010. – Vol. 14 (2). – P. 131–140.

206. Vivapur® MCG: Microcrystalline Cellulose and Carboxymethylcellulose Sodium : информ. листок / JRS Pharma. – Rosenberg : JRS Pharma, 2004. – 2 p.
207. Vivasol®: Croscarmellose-Natrium,Croscarmellose Sodium : каталог [Электронний ресурс] / J. Rettenmaier & Söhne. – Rosenberg : Business Unit Pharma. – Режим доступу : http//www.jrs.de.
208. Vivastar®Sodium Starch G : информ. листок [Электронний ресурс] / JRS Pharma. – Rosenberg : Business Unit Pharma. – Режим доступу : http//www.jrs.de.

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової
роботи Запорізького державного
медичного університету
професор_____ В.М.Бурханський
«10» 10 2014 р.

АКТ

впровадження результатів наукових досліджень О.В.Хромильової в науковий процес кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету

На кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету розроблено технологію отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом вологої грануляції (Кучеренко Л.І. / Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотріазоліном методом вологої грануляції /Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова // "Фармацевтичний часопис" : науково-практичний журнал №4(29)/2013 стор.83-87)

Розроблена методика впроваджена в науковий процес кафедри технології ліків фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету і використовується при роботі аспірантів.

Завідувач кафедри технології ліків
Запорізького державного медичного
університету, д.фарм.н., професор В.В.Гладишев

Додаток Б

АТ "ЛЕКХІМ-ХАРКІВ"
вул. 17-го Партз'їзду, 36
м. Харків, 61115, Україна
Тел.: (057) 293-70-44
(057)717-46-32
Факс:(057)714-77-91
E-mail:
lekhim@lekhim.net.ua

АКТ

апробації результатів наукових досліджень О. В. Хромильової на базі АТ «Лекхім-Харків»

На заводі АТ «Лекхім-Харків» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток «Тріотиазид» методом вологої грануляції, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Хромильової О. В. на тему «Розробка технології і стандартизація таблеток на основі ізоніазиду з тіотриазоліном».

АТ "ЛЕКХІМ-ХАРКІВ" №22676944

Голова правління
АТ «Лекхім-Харків» М.М. Тімченко

Додаток В

Дисперсійний аналіз експериментальних даних з визначення порошкових мас та таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном

Таблиця В. 1

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	$F_{експ.}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
y_1 - насипна густина						
Фактор *A*	3	0,003538	0,001179	13,48	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	0,002838	0,000946	10,81	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	0,006538	0,002179	24,9	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	0,069837	0,023279	266,05	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,004338	0,001446	16,52	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,001400	0,000088			
Загальна сума	31	0,09				
y_2 - насипна густина після ущільнення						
Фактор *A*	3	0,004759	0,001586	39,05	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	0,008059	0,002686	66,13	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	0,011434	0,003811	93,82	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	0,089034	0,029678	730,54	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,029134	0,009711	239,05	3,2	$res \neq 0$

Продовж. табл. В. 1

Похибка всередині клітинки	16	0,000650	0,000041			
Загальна сума	31	0,14				
y_3 - плинність порошкової маси						
Фактор *A*	3	1134,16	378,05	643,98	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	1555,8	518,6	883,38	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	909,92	303,31	516,65	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	3291,72	1097,24	1869,04	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	1429,47	476,49	811,65	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	9,39	0,59			
Загальна сума	31	8330,46				
y_4 - кут природнього відкосу						
Фактор *A*	3	7,75	2,58	2,07	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	171,75	57,25	45,8	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	60,75	20,25	16,2	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	74,5	24,83	19,87	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	4,75	1,58	1,27	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	20	1,25			

Продовж. табл. В. 1

Загальна сума	31	339,5				
y_5 - однорідність маси таблеток						
Фактор *A*	3	5,475934	1,825311	25,62	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	5,038109	1,67937	23,5	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	0,470784	0,156928	2,2	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	4,917934	1,639311	23,01	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	9,003809	3,00127	42,12	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	1,13985	0,071241			
Загальна сума	31	26,04642				
y_6 - стійкість таблеток до роздавлювання						
Фактор *A*	3	1514,216	504,738	12,15	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	963,8309	321,27	7,73	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	3640,608	1213,53	29,21	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	2691,353	897,117	21,60	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	831,0709	277,023	6,66	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	664,525	41,5328			
Загальна сума	31	10305,6				
y_7 - стираність таблеток						

Продовж. табл. В. 1

Фактор *A*	3	1514,216	504,738	12,15	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	963,8309	321,27	7,73	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	3640,608	1213,53	29,21	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	2691,353	897,117	21,60	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	831,0709	277,023	6,66	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	664,525	41,5328			
Загальна сума	31	10305,6				
y_8 - розпадання таблеток						
Фактор *A*	3	707,1623	235,720	480,14	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	1296,503	432,167	880,28	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	171,1753	57,0584	116,22	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	313,4521	104,48	212,82	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	171,2691	57,089	116,28	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	7,85505	0,49094			
Загальна сума	31	2667,417				
D - функція бажаності						
Фактор *A*	3	0,693727	0,231242	244,00	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор *B*	3	0,333417	0,111139	117,27	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор *C*	3	0,571477	0,190492	201,00	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор *D*	3	0,195109	0,065036	68,626	3,2	$\delta_l \neq 0$

Продовж. табл. В. 1

Залишок (взаємодія)	3	0,386457	0,128819	135,92	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,015163	0,000948			
Загальна сума	31	2,19535				

Додаток Г

Затверджую
ректор НМАПО імені П. Л. Шупика
академік НАМН України
проф. Ю. В. Вороненко

"24" 11 2014 р.

АКТ
впровадження у навчальний процес

1. **Найменування пропозиції для впровадження**: розробка технології отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування.

2. **Ким запропоновано, адреса**: кафедра фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, адреса: пр. Маяковського, 26, 69035, м. Запоріжжя

3. **Виконавець**: Ольга Володимирівна Хромильова

4. **Джерело інформації**: Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова // Наук.-практ.журн. "Фармацевтичний часопис". № 1 (29). - 2014. - С. 80-84

5. **Ким впроваджено**: Кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України; адреса: вул. Дорогожицька, 9, 04112, м. Київ

6. **Результати застосувань**: червень – грудень 2014 року.

7. **Ефективність впровадження**: підвищення якості й ефективності навчального процесу за рахунок впровадження технологічних методів отримання таблеток.

8. **Пропозиції та зауваження**: розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальний процес медичних ВНЗів України.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри
д.ф.н., професор Л. Л. Давтян

Додаток Г.1

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи,
інноваційних та комп'ютерних технологій
Тернопільського державного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського
д.техн.н., проф. В.П.Марценюк

«26» вересня 2014 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** технологія отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування.
2. **Установа-розробник, адреса, п.і.б. авторів**: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Л.І.Кучеренко, О.В.Хромильова..
3. **Джерело інформації** (назва, рік видання, вихідні дані тощо): / Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова // Наук.-практ.журн. "Фармацевтичний часопис". № 1 (29)/2014. С. 80-84)
4. **Упроваджено:** кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського.
5. **Термін впровадження:** 15 вересня 2014 р.
6. **6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
Тернопільського державного медичного
університету ім.. І.Я.Горбачевського
д.фарм.н. Т.А.Грошовий

Додаток Д

АТ "ЛЕКХІМ-ХАРКІВ"
вул. 17-го Партз'їзду, 36
м. Харків, 61115, Україна
Тел.: (057) 293-70-44
(057)717-46-32
Факс:(057)714-77-91
E-mail:
lekhim@lekhim.net.ua

АКТ

апробації результатів наукових досліджень О. В. Хромильової на базі АТ «Лекхім-Харків»

На заводі АТ «Лекхім-Харків» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток «Тріотиазид» методом прямого пресування, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Хромильової О. В. на тему «Розробка технології і стандартизація таблеток на основі ізоніазиду з тіотриазоліном».

Голова правління
АТ «Лекхім-Харків» М.М. Тімченко

АТ "ЛЕКХІМ"
вул. Ш. Руставелі, 23
м Київ, 01033, Україна
Тел.: (+380 44) 246 6312
Факс: (+380 44) 246 6307

АТ "ЛЕКХІМ-ХАРКІВ"
вул. 17-го Партз'їзду, 36
м.Харків, 61115, Україна
Тел.: (057) 293-70-44
Факс: (057) 714-77-91

ЗАТ "ТЕХНОЛОГ"
вул. Манільського, 8, м. Умань
Черкаської обл., 20300, Україна
Тел.: (04744) 4-03-02
Факс: (04744) 3-33-32

www.lekhim.ua

Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової
роботи Запорізького державного
медичного університету
професор_____ З.О. Луцайський
«10» 10 2014 р.

АКТ

впровадження результатів наукових досліджень О.В.Хромильової в науково-педагогічний процес кафедри аналітичної хімії Запорізького державного медичного університету

На кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету розроблена методика визначення штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії (Кучеренко Л.І. Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова, З.Б.Моряк, Г.І. Ткаченко // Запорізький медичний журнал. – 2014. №2 (83). – 118-120).

Розроблена методика впроваджена в науково-педагогічний процес студентів II курсу фармацевтичного факультету Запорізького державного медичного університету і використовується при читанні лекцій, практичних занять студентів.

Завідувач кафедри аналітичної хімії
Запорізького державного медичного
університету, д.фарм.н., професор С.О. Васюк

Додаток Е.1

ЗАТВЕРДЖУЮ
Проректор з наукової роботи,
інноваційних та комп'ютерних технологій
Тернопільського державного медичного
університету імені І.Я.Горбачевського
д.техн.н., проф. В.П.Марценюк
_____
«10» вересня 2014 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** методика визначення штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії.
2. **Установа-розробник, адреса, п.і.б. авторів**: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, Л.І.Кучеренко, О.В.Хромильова, З.Б.Моряк..
3. **Джерело інформації** (назва, рік видання, вихідні дані тощо): / Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова, З.Б.Моряк, Г.І. Ткаченко // Запорізький медичний журнал. – 2014. №2 (83). – 118-120).
4. **Упроваджено:** кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського.
5. **Термін впровадження:** 15 вересня 2014 р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає.

Завідувач кафедри фармації
навчально-наукового інституту
післядипломної освіти,
д.біол.н., проф.. Л.С. Фіра

Додаток Ж

Визначення однорідності маси таблеток "Тріотиазид"

Таблиця Ж.1

	№1	**Відхиленя, %**	**№2**	**Відхиленя, %**	**№3**	**Відхиленя, %**
1	0,4010	1,16	0,4062	0,99	0,4126	0,88
2	0,4051	0,12	0,4049	0,67	0,4091	0,02
3	0,4100	1,08	0,3941	2,01	0,4100	0,24
4	0,4181	3,08	0,4051	0,72	0,4078	0,29
5	0,4032	0,59	0,3953	1,71	0,4114	0,59
6	0,4022	0,84	0,4051	0,72	0,4051	0,95
7	0,4051	0,12	0,4032	0,25	0,4059	0,76
8	0,4023	0,81	0,4042	0,50	0,4144	1,32
9	0,4189	3,28	0,4078	1,39	0,4118	0,68
10	0,4001	1,36	0,3996	0,65	0,4100	0,24
11	0,4042	0,35	0,4058	0,05	0,4062	0,68
12	0,4100	1,08	0,3910	3,60	0,4108	0,44
13	0,4032	0,59	0,4012	0,25	0,4002	2,15
14	0,4039	0,42	0,4051	0,72	0,4041	1,20
15	0,4110	1,33	0,4067	1,18	0,4135	1,10
16	0,4068	0,29	0,3896	3,13	0,4021	1,69
17	0,4042	0,35	0,4054	0,79	0,4127	0,90
18	0,4023	0,81	0,4068	1,14	0,4146	1,37
19	0,4021	0,86	0,4040	0,45	0,4091	0,02
20	0,4004	1,28	0,4031	0,22	0,4082	0,20
Середня маса	**0,4057**		**0,4022**		**0,4090**	

Продовж. табл. Ж. 1

	№4	**Відхиленя, %**	**№5**	**Відхиленя,%**	**№6**	**Відхиленя, %**
1	0,3889	2,16	0,3990	0,37	0,4002	0,86
2	0,3977	0,05	0,4021	0,40	0,4000	0,81
3	0,3958	0,43	0,4040	0,87	0,3929	0,98
4	0,4021	1,15	0,4036	0,77	0,3937	0,78
5	0,3959	0,40	0,4023	0,45	0,3936	0,81
6	0,3978	0,08	0,4030	0,62	0,3997	0,73
7	0,3989	0,35	0,3967	0,95	0,3988	0,50
8	0,4041	1,66	0,4012	0,17	0,3969	0,03
9	0,4010	0,88	0,3986	0,47	0,3958	0,25
10	0,3990	0,38	0,3959	1,15	0,3987	0,48
11	0,3981	0,15	0,4034	0,72	0,4002	0,86
12	0,3964	0,28	0,4022	0,42	0,3956	0,30
13	0,3976	0,03	0,3984	0,52	0,3939	0,73
14	0,3983	0,20	0,3936	1,72	0,4000	0,81
15	0,3864	2,79	0,4042	0,92	0,3994	0,66
16	0,4002	0,68	0,4020	0,37	0,3966	0,30
17	0,3972	0,08	0,4002	0,08	0,3937	0,78
18	0,3938	0,93	0,3959	1,15	0,3985	0,43
19	0,4001	0,65	0,4011	0,15	0,3950	0,45
20	0,4000	0,63	0,4020	0,37	0,3934	0,86
С. маса	**0,3975**		**0,4005**		**0,3968**	

Додаток И

ЗАТВЕРДЖЕНО

Ректор запорізького державного медичного університету

професор Колесник Ю.М.

_____

«___» _____20___р.

Заявник, країна: **Запорізький державний медичний університет, Україна**

Виробник, країна: **Запорізький державний медичний університет, Україна**

ПРОЕКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

TRIOTIAZID

ТРІОТИАЗИД

Таблетки, №10 у блістері, 3 або 6 блістерів в пачці

Продовж. дод. И

Вміст $C_5H_7N_3O_2S \cdot C_4H_9NO$ (тіотриазоліну) в одній таблетці має бути від 0,0470 г до 0,0530 г, рахуючи на середню масу таблетки.

УПАКОВКА

По 10 таблеток у блістері, 3 або 6 блістерів разом із листком-вкладишем поміщають у пачку із картону для лікарських засобів.

Пачки поміщають у групову тару.

Продовж. Д. 3

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 17768-90.

МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал-макету упаковки

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі від 15^0С до 25^0С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки

Асистент
кафедри фармацевтичної хімії, ЗДМУ Хромильова О.В.

Додаток К

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Національного фармацевтичного
університету
доктор хім. наук, професор
Коваленко С.М.
«09» вересня 2014 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. НАЙМЕНУВАННЯ ПРОПОЗИЦІЇ ДО ВПРОВАДЖЕННЯ:розробка методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотріазолінуфізико-хімічними методами.

2. УСТАНОВА, АВТОР:Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя), кафедра фармацевтичної хімії, асистентО.В.Хромильова.

3. ДЖЕРЕЛА ІНФОРМАЦІЇ:

- Оптимізація методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотріазоліну/ Л.І. Кучеренко, В.В. Ващенко, З.Б. Моряк, О.О. Портна, Л.І. Шаповалова, М.О. Авраменко, Н.В. Парнюк, О.В.Хромильова, К.П. Шабельник //Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2011 (11) №. 1 С. 49-53.

Запропоновані дані щодо методиквизначення домішок у субстанції тіотриазоліну методами тонкошарової та рідинної хроматографій.

4. ДЕ ВПРОВАДЖЕНО: кафедра фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету.

5. ФОРМА ВПРОВАДЖЕННЯ:наукова діяльність та навчальний процес (курс фармацевтичної хімії).

6. ЕФЕКТ ВІД ВПРОВАДЖЕННЯ: поглиблення знань студентів та науковців щодо особливостей визначення домішок фізико-хімічними методами.

7. ТЕРМІН ВПРОВАДЖЕННЯ: з 2014-2015н.р.

Протокол засідання кафедри фармацевтичної хімії
№ 1 від «28» серпня 2014

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
доктор фармацевтичних наук, професор **В.А. Георгіянц**

Додаток Л

ТРІАТИОЗИД

Результати аналізу препарату «ТРІАТИОЗИД» в процесі зберігання

№ зразка	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Супровідні домішки		Мікробіологічна чистота				Кількісне визначення		Термін придатності	Висновок
Вимоги проекту		Таблетки білого кольору	Співпадання часів утримування піків на хроматограмах випробовуваного розчину і розчину порівняння	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону- не більше 0,5 %	Ацетилтіосемікарбазиду - не більше 0,5 %.	В субстанції допускається загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^3 КУО/г	Загальне число дріжджових та плісеневих грибів (ТУМС) не більше 10^2 КУО/г	Відсутність Pseudomonas aeruginosa в 1 г.	Відсутність Staphylococcus aureus в 1 г	ізоніазиду від 0,1900 г до 0,2100 г	Тіотриазоліну від 0,0470 г до 0,0530 г	2 роки	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	03.08.12	Таблетки майже білого кольору	Відповідає	Відсут.	Відсут.			Відсут.	Відсут.	0,2086	0,0505	"	Придатний

Продовж. табл. дод. Л

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	02.11.12	Теж	Теж	Відсут	Теж			"	"	0,2089	0,0504	3 мес.	Теж
	06.02.13	"	"	"	"			"	"	0,2082	0,0506	6 мес.	"
	07.05.13	"	"	"	"			"	"	0,2096	0,0503	9 мес.	"
	05.08.13	"	"	"	"			"	"	0,2088	0,0503	1 рік	"
	04.02.14	"	"	"	"			"	"	0,2098	0,0504	1р.6мес.	"
	04.08.14	"	"	"	"	100	20		"	0,2098	0,0498	2 роки	"
	03.11.14	"	"	"	"	110	30		"	0,2094	0,0502	2р.3мес.	"
2	06.08.12	"	"	Відсут.	Відсут.	"	"	Відсут	Відсут.	0,2016	0,0506		Придат-ний
	06.11.12	"	"	теж	теж	"	"	теж	теж	0,2089	0,0504	3 мес.	теж
	07.02.13	"	"	"	"	"	"	"	"	0,2098	0,0503	6 мес.	"
	08.05.13	"	"	"	"	"	"	"	"	0,2096	0,0502	9 мес.	"
	06.08.13	"	"	"	"			"	"	0,2098	0,0502	1 рік	"
	05.02.14	"	"	"	"			"	"	0,2085	0,0504	1р.6мес.	"
	05.08.14	"	"	"	"	110	30	"	"	0,2096	0,0503	2 роки	"
	04.11.14	"	"	"	"	90	20	"	"	0,2089	0,0500	2р.3мес.	"

Продовж. табл. дод. Л

3	07.08.12	"	"	Відсут.	Відсут.	"	"	Відсут.	Відсут.	0,2097	0,0498	"	Придат-ний
	07.11.12	"	"	теж	теж	"	"	теж	теж	0,2092	0,0496	3 мес.	теж
	08.02.13	"	"	"	"	"	"	"	"	0,2098	0,0496	6 мес.	"
	06.05.13	"	"	"	"	"	"	"	"	0,2097	0,0497	9 мес.	"
	06.08.13	"	"	"	"			"	"	0,2100	0,0495	1 рік	"
	06.02.14	"	"	"	"			"	"	0,2095	0,0497	1р.6мес.	"
	06.08.14	"	"	"		90	20	"	"	0,2095	0,0497	2 роки	"
	05.11.14	"	"	"		110	30	"	"	0,2093	0,0495	2р.3мес.	"

Продовж. дод. Л

1. Упаковка. У блістерах.
2. Зберігання. При температурі (15-25) °С і відносній вологості (60±5) %.

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 100355

СПОСІБ ОТРИМАННЯ МОРФОЛІНІЮ 3-МЕТИЛ-1,2
ТРИАЗОЛІЛ-5-ТІОАЦЕТАТУ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на ви
і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на ви
10.12.2012.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України М.В. Ко

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2545731

КОМБИНИРОВАННОЕ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНОЕ
ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной ответственностью "Научно-производственное объединение "Фарматрон" (НПО "Фарматрон") (UA)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2013148288
Приоритет изобретения 29 октября 2013 г.
Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 26 февраля 2015 г.
Срок действия патента истекает 29 октября 2033 г.

Врио руководителя Федеральной службы по интеллектуальной собственности
Л.Л. Кирий

ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

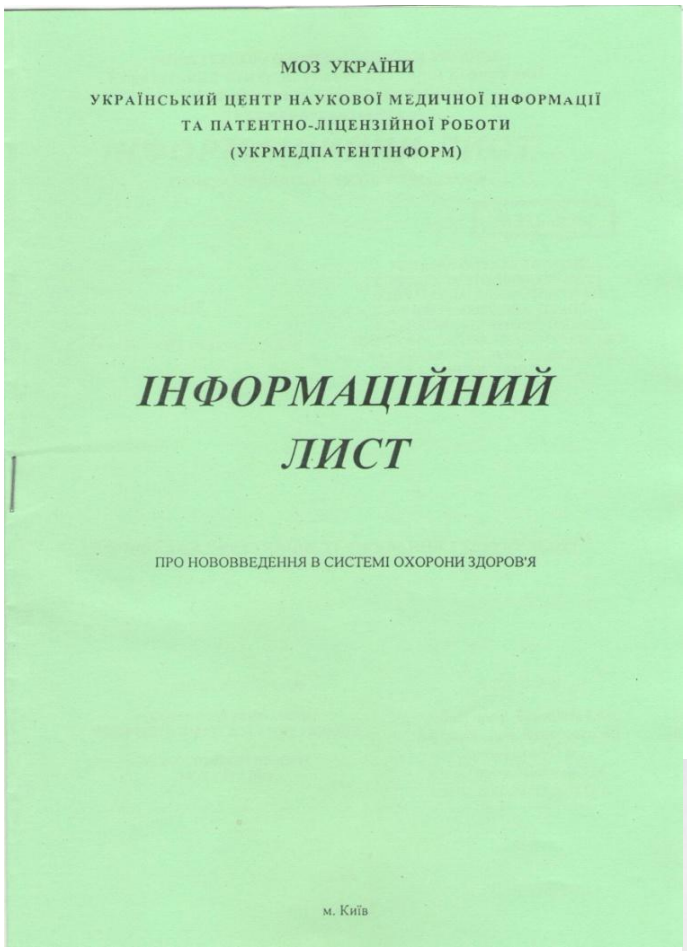
№ 107884

КОМБІНОВАНИЙ ПРОТИТУБЕРКУЛЬОЗНИЙ ЛІКАРСЬКИЙ
ЗАСІБ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи
і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи
25.02.2015.

Голова Державної служби
інтелектуальної власності України А.Г. Жарінова



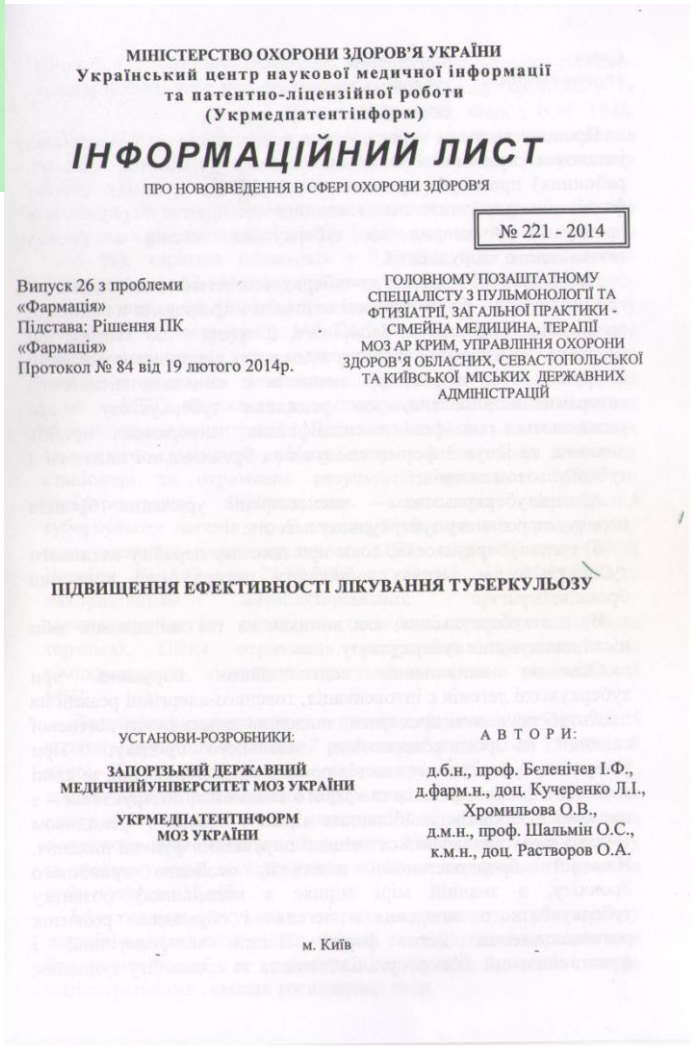
МОЗ УКРАЇНИ

УКРАЇНСЬКИЙ ЦЕНТР НАУКОВОЇ МЕДИЧНОЇ ІНФОРМАЦІЇ
ТА ПАТЕНТНО-ЛІЦЕНЗІЙНОЇ РОБОТИ
(УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СИСТЕМІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

м. Київ



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 221 - 2014

Випуск 26 з проблеми
«Фармація»
Підстава: Рішення ПК
«Фармація»
Протокол № 84 від 19 лютого 2014р.

ГОЛОВНОМУ ПОЗАШТАТНОМУ СПЕЦІАЛІСТУ З ПУЛЬМОНОЛОГІЇ ТА ФТИЗІАТРІЇ, ЗАГАЛЬНОЇ ПРАКТИКИ - СІМЕЙНА МЕДИЦИНА, ТЕРАПІЇ МОЗ АР КРИМ, УПРАВЛІННЯ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я ОБЛАСНИХ, СЕВАСТОПОЛЬСЬКОЇ ТА КИЇВСЬКОЇ МІСЬКИХ ДЕРЖАВНИХ АДМІНІСТРАЦІЙ

ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ЛІКУВАННЯ ТУБЕРКУЛЬОЗУ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙУНІВЕРСИТЕТ МОЗ УКРАЇНИ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д.б.н., проф. Бєленічев І.Ф.,
д.фарм.н., доц. Кучеренко Л.І.,
Хромильова О.В.,
д.м.н., проф. Шальмін О.С.,
к.м.н., доц. Растворов О.А.

м. Київ