

Запорізький державний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Бідненко Олександр Сергійович

УДК 615.453.6.015.4.07

ДИСЕРТАЦІЯ

Розробка і стандартизація таблеток «Ангіолін»

15.00.03 – стандартизація та організація
виробництва лікарських засобів

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

_____ О.С. Бідненко

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

Запоріжжя – 2017

АНОТАЦІЯ

Бідненко О.С. Розробка і стандартизація таблеток «Ангіолін» – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 «стандартизація та організація виробництва лікарських засобів». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2017.

У розділі 1 проаналізовано дані наукової літератури щодо поширення захворюваності населення України серед ішемічної хвороби серця та інсультів, перспектив створення нових метаболітотропних кардіопротекторних та нейропротекторних препаратів. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення і стандартизації оригінального таблетованого препарату «Ангіолін» з кардіопротекторною та нейропротекторною дією.

Розділ 2 присвячено опису характеристик об'єктів і методів дослідження, наведено матеріали та обладнання, які були використанні при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

Розділ 3 присвячений розробці оптимального складу і технології таблеток «Ангіолін». В ході опрацювання літературних джерел встановлено, що метаболітотропні кардіопротектори в більшості випадків потрібно застосовувати протягом довготривалого часу, а іноді й усього життя. Систематичні доклінічні дослідження ангіоліну як метаболітотропного кардіопротекторного препарату дало можливість встановити ЕД₅₀ на тваринах і спрогнозувати доцільність його прийому людиною в дозі 200 мг на прийом.

Беручи до уваги результати фармакологічних досліджень, стало доцільним розробити технологію таблеток «Ангіолін» із вмістом діючої речовини 200 мг.

По-перше, були проведені морфометричні дослідження субстанції ангіоліну та встановлено розміри часток порошку в діапазоні від 42,8 мкм до 96,4 мкм, середнє значення розміру часток складає 63,2 мкм.

Дослідження фармако-технологічних властивостей порошку «Ангіолін» показало, що досягти необхідних показників, при яких забезпечується пряме пресування таблеток з вмістом 0,200 г АФІ дуже складно.

Навіть додаванням значної кількості ДР, за допомогою яких отримують таблетки прямим пресуванням, не вдалося досягти позитивного результату.

Тому був запропонований метод вологої грануляції так, як цей метод найбільш поширений в нашій країні і в усьому світі.

В подальшому проведені дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин з метою отримання таблеток «Ангіолін» вологою грануляцією.

Були досліджені чотири групи допоміжних речовин, які володіють різними фізичними та технологічними властивостями, а саме наповнювачі на основі цукрів, наповнювач на основі мікрокрісталічної целюлози і солей кальцію, зв'язуючі розчини та ковзні речовини.

Досліджували 16 допоміжних речовин, більшість з яких з'явилися на фармацевтичному ринку в останні роки і використовуються при створенні таблетованих препаратів.

При складанні рецептури таблеток виходили із наступних співвідношень (на 1 таблетку): ангіоліну - 0,200 г (62,5%), наповнювачі на основі цукрів – 0,032 г (10%), наповнювачі на основі МКЦ та кальцію дигідрофосфату безводного – 0,006 г (18,75 %), зв'язуючого розчину – скільки потрібно до отримання пластичної маси.

При вивченні чотирьох якісних факторів використовували один із планів дисперсійного аналізу – чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату. Досліди реалізовані у двох повторностях, що дозволили зменшити помилку експерименту. За результатами експериментальних досліджень проведено дисперсійний аналіз.

Після проведених фармако-технологічних досліджень та беручи до уваги результати дослідження якісного та кількісного співвідношення допоміжних речовин запропоновано оптимальний склад таблетки: ангіоліну – 0,2 г; цукрової пудри – 0,0256 г; МКЦ бурст – 0,0256 г; натрію кроскармелози – 0,0256 г; МКЦ 101 – 0,0336 г; розчину МЦ 15 2% – Qs.; кальцію стеарата – 0,0032 г; МКЦ 200 – 0,0064 г.

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

У розділі 4 наведені результати досліджень з розробки сучасних фізико-хімічних методик стандартизації отриманих таблеток сучасними, високоточними методами. Спираючись на хімічну будову ангіоліну, було проведено аналіз субстанції згідно розроблених методик.

Досліджувана субстанція ангіоліну являє собою кристалічний порошок білого або майже білого кольору із слабким специфічним запахом, є гігроскопічною речовиною.

Для ідентифікації субстанції ангіоліну запропоновано та проведено її дослідження хімічними та спектроскопічними методами. В подальшому було розроблено методику кількісного визначення субстанції ангіоліну спектрофотометричним методом. За результатами проведеного аналізу кількісний вміст знаходиться в межах від 99,2% - 100,6%.

Для визначення супровідних домішок в субстанції «Ангіолін» було використано метод ТШХ, який по нині широко використовується для визначення специфічних домішок.

Методики спектрофотометричного визначення, розроблені для субстанції, у подальших дослідженнях були взяті за основу при розробці методик стандартизації таблеткових мас, а потім таблеток. Результати кількісного визначення ангіоліну в лабораторних серіях таблеткових мас лежать в межах від 0,1970 до 0,2068 це доводить, що розроблена методика визначення кількісного вмісту ангіоліну в таблетковій масі методом

спектрофотометрії є зручною та простою у виконанні, точною і відтворюваною. Наступним етапом дослідження стала розробка методів стандартизації, специфікації та складання на основі розроблених методик проекту МКЯ. Доброякісність таблеток визначали за показниками згідно вимог ДФУ. Далі досліджували отримані таблетки «Ангіолін». Розробку методів стандартизації проводили на 6 серіях таблеток, виготовлених в лабораторних умовах. В ході роботи лабораторні серії таблеток «Ангіолін» досліджували за наступними показниками:

Середня маса. Середня маса таблеток ангіоліну має бути в межах від 0,304 г до 0,336г. Було проведено дослідження на 6-ти серіях отриманих в лабораторних умовах таблеток та встановлено, що середня маса розроблених таблеток знаходиться у допустимих межах $0,32 \pm 0,0160$ г і відповідає вимогам ДФУ, 2.9.5.

Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу, ДФУ, 2.9.5. (Відхилення маси кожної таблетки від середньої маси має бути в межах 5%. При випробуванні 6-ти серій отриманих таблеток, по 20 таблеток в кожній серії, відхилень від середньої маси на величину понад 5% не спостерігалось.

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, ДФУ, 2.9.6. Вимоги тесту вважаються виконаними за умови, що вміст діючої речовини у кожній з 10 одиниць, визначений за методом прямого визначення, знаходиться в межах 85,0 – 115,0% від зазначеного в розділі "Склад", а відносне стандартне відхилення (стандартне відхилення, виражене у відсотках до середнього результату) не перевищує 7,5 %. Тест проводили методом спектрофотометрії, використовуючи 10 таблеток ангіоліну, отриманих в лабораторних умовах.

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

Розчинення. Відомо, що в таблетованих лікарських формах велику увагу приділяють біодоступності. Тому для оригінального лікарського препарату «Ангіолін» було проведено тест «Розчинення». Визначення кількісного вмісту речовини, яка перейшла у розчин, було знайдено за допомогою метода спектрофотометрії, який застосовували для аналізу субстанції і таблеткової маси.

Отримані результати дослідження довели, що грамівий вміст діючої речовини, що перейшла в розчин з таблеток «Ангіолін» через 45 хв становить від 96,25% до 100,55%, що відповідає вимогам ДФУ.

Кількісне визначення. В результаті проведених фармако-технологічних досліджень розроблено таблетки ангіоліну з середньою масою 320,0 мг, із вмістом діючої речовини 200,0 мг. Попередньо була розроблена методика визначення діючої речовини в таблетковій масі спектрофотометричним методом, яка застосовується при постадійному контролю якості таблеток.

Для кількісного визначення вмісту ангіоліну в отриманих таблетках апробували методику спектрофотометричного визначення, яку розробили та використали для стандартизації таблеткової маси.

Вимірювання абсорбція випробуваного розчину і розчину порівняння проводили на скануючому спектрофотометрі Optizen POP, в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм, використовуючи воду очищену в якості компенсаційного розчину. Вміст діючої речовини в таблетках становить від 0,2002 до 0,2016 це свідчить, що розроблена методика визначення кількісного вмісту діючої речовини в таблетках ангіоліну спектрофотометричним методом є зручною та простою у виконанні, точною та відтворюваною. За результатами проведених досліджень розроблено проект МКЯ та специфікацію на таблетки «Ангіолін».

Далі була проведена валідація розроблених методик таблеток «Ангіолін». Для того, щоб аналітична методика зайняла гідне місце в системі забезпечення якості, відповідала своєму призначенню, тим самим гарантувала достовірні та точні результати аналізу, передбачена процедура валідації

аналітичних методик. Згідно з ДФУ запропоновані методики кількісного визначення досліджуваних таблеток мають бути перевірені за валідаційними характеристиками такими як специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність. Після проведення валідації розробленої методики визначення кількісного вмісту діючої речовини в таблетках всі показники відповідали вимогам ДФУ.

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

Розділ 5 присвячений дослідженням фармакологічної активності та токсичності таблеток «Ангіолін», які проводили на базі НМЛЦ (керівник, професор Абрамов А. В.), а також на кафедрі фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри, професор Беленічев І. Ф.). На підставі комплексу біологічних досліджень визначено фармакологічні характеристики отриманого лікарського препарату: фармакологічними дослідженнями встановлено, що ЛД₅₀ таблеток «Ангіолін» становить 19000 ± 278 мг/кг і це дало змогу віднести препарат до V класу токсичності; в результаті проведених досліджень виявлено нейропротективну дію таблеток «Ангіолін» на моделі хронічної церебральної ішемії спрямовану на нормалізацію тіол-дисульфідної системи головного мозку, підвищення експресії HSP70 і збереженню ультраструктури мітохондрій; курсове введення таблеток «Ангіолін» протягом 18 діб після оклюзії обох сонних артерій призводило до покращення ультраструктури нейронів CA1 - зони гіпокампу.

Ключові слова: ангиолін, таблетки, допоміжні речовини, технологія, стандартизація, супровідні домішки, стабільність, кардіопротекторна, нейропротекторна дія.

Список публікацій здобувача

Статті

1. Selection of disintegrants for wet granulation method of "Angiolin" tablets / I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, Ye. A. Portnaya// Запороз. мед. журн. – 2016. – № 5. – С. 97. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

2. Бидненко А. С. Ангиолин - новый представитель метаболитотропных препаратов с выраженным влиянием на эндотелий сосудов головного мозга и сердца / Бидненко А. С. Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф. // Интер - медикал. – 2015. – № 4. – С. 11–14. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

3. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангиолін» методом вологої грануляції / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О.С., Моряк З. Б.// Фармац. часопис. – 2016. – № 2. – С. 16–22. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

4. Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І.// Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 1. – С. 35–39. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

5. Щодо стандартизації таблеток L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І.// Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 2. – С. 38–

42. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

6. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / Ярош О. К., Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Бідненко О. С. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

7. Підбір кількісного складу допоміжних речовин при створенні таблеток «Ангіолін» / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І. // Фармац. часопис. – 2016. – № 4. – С. 12–15. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

8. Regarding L-lysine- 3-methyl- 1,2,4- triazole 5 thioacetate standartization/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, G. I. Tkachenko // Фармац. часопис. – 2017. – № 1. – С. 22-25. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

9. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolite-tropic cardioprotector "Angiolin" / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya [et al.] // Int. J. Basic Clin. Pharmacol. – 2015. – N 2. – P.15-19. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

10. The Molecular and Ultrastructural Aspects of the Formation of Mitochondrial Dysfunction in the Modeling of Chronic Cerebral Ischemia: The Mitoprotective Effects of Angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya, S. V. Gorbacheva, A. S. Bidnenko // Neurochem. J. – 2016. – N 2. – P. 131–136. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

11. Патент на винахід 111462 Україна. МПК А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01), А61Р 25/32 (2006.01). Застосування (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату як активної основи лікарських засобів для профілактики та лікування порушень життєзабезпечуючих функцій ЦНС при важких формах гострого отруєння етанолом / Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Беленичева І.Ф., Павлюк І.В.; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон».-№ а201600367. Заяв. 16.01.2016, опубл. 25.04.2016. (Особистий внесок: участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, участь в експерименті, підготовці формули винаходу та опису до патенту, оформленні патенту).

Тези

12. Bidnenko O. On the issue of development of medicines in series of 1,2,4-triazole derivatives / Bidnenko O., Belenicheva O. // XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013, 18-21 вер. 2013 р. – Белосток, 2013. – С. 103. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

13. Bidnenko O. S. Разработка методов синтеза нового оригинального препарата «Лизиний» / Bidnenko O., Belenicheva O. // V Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых "Science4health 2013", 29 окт.-2 нояб. 2013 г. – М., 2013. – С. 8. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

14. HSP70 - зависимые молекулярные механизмы метаболитотропной кардиопротекции в условиях хронической алкогольной интоксикации / Бідненко О. С., Стеблюк В. С., Смирнова Д. Д., Дюкарь О. П. // Зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. «Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я - 2016», 24-25 бер. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 76–78. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

15. Бідненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоуксусной кислоты / Бідненко А. С. // Матеріали

Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації - 2013», присвяч. Дню науки, 16-17 трав. 2013 р. – Запоріжжя, 2013. – С. 209. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

16. Бідненко А. С. Создание метаболитотропных эндотелиопротекторов - фокус на «Ангиолин» / Бідненко А. С., Павлюк И. В. // Матеріали I науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», 3-5 июня. 2013 г. – М., 2013. – С. 13. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

17. Бідненко О. С. Ангіолін - новий представник метаболітотропних препаратів з вираженим впливом на ендотелій судин головного мозку та серця / Бідненко О. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез., квітень 2016 р. – Чернівці, 2016. – С. 580. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

18. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 323. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

19. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції. / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Ткаченко Г. І. // Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10-11 листоп. 2016 р. – Тернопіль, 2016. – С. 89. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

20. Бідненко О. С. Маркетингові дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічної дії / Бідненко О. С., Зарічна Т. П. // Зб.

матеріалів наук.-практ. конф. «Здобутки та перспективи управління фармацевтичною системою», 25-26 вер. 2014 р. – Львів, 2014. – С. 49–50. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

21. Бідненко А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина» / Бідненко А. С. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук», 29 листоп. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 83. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

22. Бідненко О. С. Розробка методів стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату / Бідненко О. С., Гулевська О. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю – Запоріжжя, 2016. – С. 222. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

23. Бідненко А. С. Создание нового метода получения лекарственного препарата / Бідненко А. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез, 2-4 квіт. 2014 р. – Чернівці, 2014. – С. 326. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

24. Бідненко О. С. Стратегія створення фіксованих комбінацій з тіотриазоліном / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Матеріали III всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки», 18 квіт. 2013 р. – Луганськ, 2013. – С. 146. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

25. Бідненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоуксусной кислоты / Бідненко А. С. // Актуальні

питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – № 2. – С. 195 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

26. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Ліки - людині : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю між нар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. – Х., 2016. – С. 106–108. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

27. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф. // Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології», 24-25 листоп. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 23–25 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

28. Бідненко О. С. Щодо розробки технології отримання (S) - 2,6-діаміногексанової кислоти / Бідненко О. С., Окатенко І. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю - 2016. – Запоріжжя, 2016. – С. 241. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

29. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Ангіолін» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015», присвяч. Дню науки, 14-15 трав. 2015 р. – Запоріжжя, 2015. – С.143. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

30. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Лізиній» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2014»,

присвяч. Дню науки, 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 163. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

31. Про розвиток методології наукових досліджень при створенні лікарських препаратів / Бідненко О. С., Грошовий Т. А., Вронська Л. В. [та ін.] // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 337. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

ANNOTATION

Bidnenko O.S. Development and standardization of Angiolin tablets – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

Thesis for the degree of Candidate of Pharmaceutical Sciences, specialty 15.00.03 "Standardization and organization of drug manufacturing". – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2016.

Chapter 1 analyzes the data of scientific literature on the spread of coronary heart disease and strokes among the population of Ukraine, prospects of creation of new metabolitotropic, cardioprotective and neuroprotective drugs. The analysis of modern pharmaceutical market was made. Rationale and prospects for the creation and standardization of original Angiolin tablet with cardioprotective and neuroprotective effects.

Chapter 2 describes the characteristics of objects and methods of study, materials and equipment that were used in experimental part of thesis were listed.

Chapter 3 is devoted to the development of optimal composition and technology of Angiolin tablets. During the study of the literature it was found that metabolitotropic cardioprotectors need to be administrated in most cases for a long time, and sometimes for a whole life. Systematic preclinical studies of Angiolin as

metabolitotropic cardioprotective preparation made it possible to use ED₅₀ on animal and predict the feasibility of its reception on man at a dose of 200 mg per once.

Taking into account the results of pharmacological studies, it has become feasible to develop the technology of Angiolin tableting containing active ingredient of 200 mg.

First, morphometric studies of Angiolin substance were conducted and powder sizes in a range from 42.8 microns to 96.4 microns were set, the average particle size was 63.2 microns.

The study of pharmaco-technological properties of Angiolin powder showed that it is very difficult to achieve the necessary indicators, which provide direct compression of tablets containing 0.200 g of API.

Even the addition of significant amount of related substances which are used in tableting by direct compression, failed to achieve positive result.

Therefore the method of wet granulation, the most common method in our country and around the world was proposed.

The wet granulation was used in further study on rational choice of excipients to obtain Angiolin tablets.

We have studied four groups of excipients which possess different physical and technological properties, such as fillers based on sugars, fillers based on microcrystal cellulose (MCC) and calcium salts, binding excipients and lubricants.

16 excipients, most of which have been appeared in the pharmaceutical market in recent years and are used in tableting, were studied.

The following relations (per 1 tablet): Angiolin - 0.200 g (62.5%), fillers based on sugar - 0.032 g (10%), fillers based on MCC and calcium dihydrogen phosphate anhydrous - 0.006 g (18.75%), binding solution - as necessary to obtain plastic mass, were used in tablet formulation.

The one of the ANOVA plans - four factorial experiment based on Greco-Latin square was used in the study of four qualitative factors. The studies are implemented in duplicate, thus reducing the experimental error. ANOVA was conducted according to the results of experimental studies.

The optimum preparation formula (0.2 g of angiolin; powdered sugar - 0.0256 g; MCC burst - 0.0256 g; sodium croscarmellose - 0.0256 g; MCC 101 - 0.0336 g; MC 15 solution 2 % - Qs; calcium stearate - 0.0032 g; MCC 200 - 0.0064 g) was proposed after pharmaco-technological studies and taking into account the results of study of qualitative and quantitative relation of excipients.

The tablets obtained in the laboratory (mass uniformity, resistance to crushing, abrasion, disintegration, dissolution) meet SPU (State Pharmacopoeia of Ukraine) requirements on pharmaco-technological abilities.

Chapter 4 presents the results of study on the development of modern physical and chemical methods for standardization of obtained tablets by modern, high-precision methods. The analyze of substance according to developed methods was conducted based on the chemical structure of angiolin.

The studied angiolin substance is a crystalline powder, white or nearly white with weak specific smell, and is a hygroscopic substance.

The study of angiolin substance was conducted by chemical and spectroscopic methods in order to identify it. The method of quantification of angiolin substances by spectrophotometric method was developed from then on. The quantitative content is in the range of 99.2% - 100.6%. according to the results of quantitative analysis.

The TLC (thin layer chromatography) method was used to determine the related substances in Angiolin, which by now is widely used to identify specific substances.

Spectrophotometric determination methodologies which were developed for substances in subsequent studies were taken as a basis for the development of standardization procedures of tablet weight and tablets. The results of the quantitation of Angiolin in laboratory series of tablet masses are in the range of 0.1970 to 0.2068. This proves that the developed technique of determining the quantitative content of Angiolin in tablet mass by spectrophotometry method is convenient and simple in execution, accurate and reproducible. The next stage of study was the development of methods of standardization, specifications and

formulating on the basis of developed project of quality control methods. Tablets purity was determined according to SPU requirements. Then obtained Angiolin tables were studied. The development of methods for standardization was performed on 6 tablets series, produced in the laboratory. In the course of work the series of laboratory Angiolin tablets were studied according to the following indicators:

The average weight. The average weight of the Angiolin tablets should be in the range of 0.304 g to 0,336g. The study on 6 series in vitro tablets was conducted and found that the average weight of developed tablets is in acceptable range of $0,32 \pm 0,0160$ g and meet the requirements of SPU, 2.9.5.

Uniformity of mass for dosage drug unit, SPU, 2.9.5. (Deviation mass of each tablet from average weight should be within 5%. There was no deviations from the average weight on the value of over 5% in study of 6 series of obtained tablets, 20 tablets in each series.

Uniformity of content of active ingredient for dosage drug unit, SPU, 2.9.6. Test requirements are considered satisfied if the content of active ingredient in each of the 10 units is determined by the method of direct determination is within 85.0 - 115.0% from indicated one under "Composition", and the relative standard deviation (standard deviation expressed as a percentage of average results) does not exceed 7.5%. The test was performed by spectrophotometry using 10 Angiolin tablets obtained in the laboratory.

Disintegration, SPU, 2.9.1. The study was conducted at the Department of Pharmaceutical Chemistry of ZSMU using tester for determining the disintegration of ERWEKA tablets, series ZTx20. Ss the result of study of 6 series of obtained tablets the disintegration time does not exceed 15 minutes that meet SPU requirements.

Dissolution. It is known that the great attention is paid to bioavailability in tablet drugs. Therefore, the test "Dissolution" was conducted for original drug - Angiolin. Determination of quantitative content of substance that has passed into the solution was found by using spectrophotometric method, which was used to analyze the substance and tablet mass.

The obtained results of study have shown that gram content of active ingredient dissolved from Angiolin tablets in 45 minutes is from 96.25% to 100.55%, which meets the requirements of SPU.

Quantitation. Angiolin tablets with an average weight of 320.0 mg containing 200.0 mg of active substance was developed as a result of pharmaco-technological studies. The method of determination of active ingredient in the tablet mass by spectrophotometric method which is used in stepwise quality control of tablets, was previously developed.

The spectrophotometric determination method, which was developed and used to standardize tablet weight was tried out to quantitation of Angiolin in the obtained tablets.

The absorbance measurements of the tested solution and reference solution was conducted on Optizen POP scanning spectrophotometer, in cuvet with layer thickness of 10 mm at wavelength $\lambda = 238$ nm by using purified water as compensation solution. The content of the active ingredient in tablets was from 0.2002 to 0,2016 that shows that the developed method of determining the quantitative content of active substance in Angiolin by spectrophotometric method is convenient and simple in execution, accurate and reproducible. The project of quality control methods was developed according to the results of conducted studies.

Further validation of developed methods of Angiolin was conducted. The procedure for validation of analytical methods is provided in order to analytical methods take its rightful place in quality assurance in line with its purpose, thus guaranteeing reliable and accurate analysis. According to SPU the proposed methods of quantification of the studied tablets should be checked on account of validation characteristics such as specificity, linearity, range, accuracy, correctness and robustness. All indicators meet the requirements of SPU after validation of the developed methodology for determining the quantitative content of active ingredient in the tablets.

Also, the study of the stability of developed Angiolin tablets was conducted to determine the shelf life and storage conditions. The tested sample tablets were

stored within 27 months in dry dark place at a temperature below 25°C to determine the shelf life. The quality control of tablets which have been stored in the above-mentioned conditions was conducted under following guidelines - 42-3.3: 2004 "Guidelines for quality. Drugs. Test of stability" where the recommendations for drug stability are cited. The observed results proved the stability of tablets and the shelf life was determined - 2 years in dry, dark place at a temperature below 25°C.

Chapter 5 is devoted to the study of pharmacological activity and toxicity of Angiolin which was conducted at Teaching medical and laboratory center (director, Professor Abramov A.V.) and also at the Department of Pharmacology and medical formulations of ZSMU (chair, professor Belenichev I.F.). Pharmacological characteristics of obtained drug were determined based on biological studies complex: pharmacological studies have shown that Angiolin LD50 contains $19,000 \pm 278$ mg/kg and it made possible to range the drug in V class of toxicity; neuroprotective effect of Angiolin was determined on the model of chronic cerebral ischemia aimed at normalization of thiol-disulfide brain system, increase of HSP70 expression and preservation of the ultrastructure of mitochondria as a result of the conducted studies; protracted treatment with Angiolin within 18 days after occlusion of both carotid arteries lead to improvement of ultrastructure of CA1 neurons - hippocampal area.

Keywords: angiolin, excipients, technology, standardization and related substances, stability, cardioprotective, neuroprotective effect.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	22
ВСТУП	24
РОЗДІЛ 1. АНАЛІЗ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ І НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ. СТАН СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ (огляд літератури) ..	32
1.1 Проблеми поширення серцево-судинних захворювань у світі та серед населення України, шляхи їх вирішення.	32
1.2 Маркетингові дослідження ринку кардіопротекторних препаратів.....	36
1.3 Комбінована терапія метаболітотропними кардіопротекторами та нейропротекторами. Новітні розробки та перспективи фіксованих комбінацій.	41
1.4 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних кардіопротекторів та нейропротекторів.....	45
1.4.1 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних кардіопротекторів.....	45
1.4.2 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних нейропротекторів	51
РОЗДІЛ 2. ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	56
2.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження	56
2.1.1 Характеристика діючих речовин	56
2.1.2 Характеристика допоміжних речовин.	58
2.2 Характеристика методів дослідження.....	62
РОЗДІЛ 3. РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК «АНГІОЛІН» МЕТОДОМ ВОЛОГОЇ ГРАНУЛЯЦІЇ.....	68

3.1 Актуальність розробки таблетованої лікарської форми на основі препарату «Ангіолін»	68
3.2 Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції.....	70
3.3 Вивчення природи розпушувачів на фармако-технологічні властивості таблеток «Ангіолін».....	95
3.4 Розробка оптимального складу та технології таблеток «Ангіолін»	101
Висновки до розділу 3	108
Розділ 4. Розробка методик стандартизації таблеток «Ангіолін»	111
4.1 Аналіз субстанції ангіоліну існуючими методами	111
4.2 Розробка методики стандартизації субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії.....	120
4.3 Розробка методик стандартизації таблеткової маси ангіоліну	123
4.3.1 Розробка методик стандартизації таблеткової маси ангіоліну методом спектрофотометрії.....	123
4.4 Розробка методик стандартизації таблеток «Ангіолін».....	128
4.5 Валідація розроблених методик таблеток «Ангіолін»	139
4.6 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток «Ангіолін»	148
Висновки до розділу 4	149
Розділ 5. Визначення фармакологічної активності таблеток «Ангіолін»	152
5.1 Дослідження гострої токсичності таблеток «Ангіолін»	153
5.2 Вивчення ендотеліопротективної і нейропротективної дії таблеток «Ангіолін».....	156
Висновки до розділу 5:	179
ВИСНОВКИ.....	182
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	184

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АДХ	–	аналітична довжина хвилі;
АМН	–	Академія медичних наук;
АНД	–	аналітична нормативна документація;
АТ	–	артеріальний тиск;
АФІ	–	активний фармацевтичний інгредієнт;
АФК	–	активні форми кисню;
БКК	–	блокатори кальцієвих каналів;
ВЖК	–	вільні жирні кислоти;
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГР		глутатіонредуктаза;
ГПР	–	глутатіопероксидаза;
GST	–	глутатіонтрансфери;
ГПМЦ	–	гідроксипропілметилцелюлоза;
ДНК	–	Дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДР	–	допоміжні речовини;
ДФУ	–	Державна фармакопея України;
ДФЦ	–	Державний фармакопейний центр;
ЕД ₅₀	–	ефективна доза;
ІМ	–	інфаркт міокарда;
ІХС	–	ішемічна хвороба серця;
КВЗ	–	кардіоваскулярні захворювання;
ЛД ₅₀	–	середньосмертельна доза;
ЛР	–	лікарська речовина;
ЛФ	–	лікарська форма;
МКЦ	–	мікрочисталічна целюлоза;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МПП	–	метод показника поглинання;

МС	–	метод стандарту;
ОМБ	–	окисні модифікації білків;
ПААГ	–	полиакриламидний гель;
ПМК	–	порушення мозкового кровообігу;
РНК	–	рибонуклеїнова кислота;
МЦ	–	метилцелюлоза;
РСЗ	–	робочий стандартний зразок;
ПВК	–	піровиноградна кислота;
СЗ	–	стандартний зразок;
ССЗ	–	серцево-судинні захворювання;
СН	–	серцева недостатність;
ССС	–	серцево-судинна система;
СФ	–	спектрофотометрія;
ТМ	–	таблеткова маса;
ТУ	–	технічні умови;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
УФ	–	ультрафіолетовий спектр;
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок;
ХІХС	–	хронічна ішемічна хвороба серця;
ЦНС	–	центральна нервова система;
ЧСС	–	частота серцевих скорочень.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Серцево-судинні захворювання та захворювання центральної нервової системи, на одному рівні з онкологічними захворюваннями і діабетом, міцно утримують першість серед найпоширеніших і небезпечних хвороб ХХ, а тепер вже і ХХІ століття. Найстрашніші епідемії чуми, віспи, тифу, які лютували в колишні часи пішли в минуле, але їх місце не залишилося порожнім. Новим часам відповідають і нові захворювання. ХХ століття медицина назве «епохою серцево-судинних захворювань та захворювань ЦНС», які є основними причинами смертності в усьому світі: ні з якоїсь іншої причини щорічно не вмирає стільки людей, скільки від цих захворювань [57, 58, 59].

Майбутнє за препаратами, що мають не тільки нейропротективну дію, але й опосередкований позитивний вплив на ендотеліальну функцію. Великий практичний інтерес може представляти комплексне лікування ендотеліальної дисфункції при судинній патології головного мозку, коли реперфузійна, антитромботична і нейропротективна терапія буде поєднуватися із застосуванням інших препаратів - коректорів порушень функцій ендотелію. Важливим елементом вирішення даної комплексної проблеми є створення нових високоефективних і безпечних лікарських препаратів, застосування яких призводило б до зниження смертності, покращення якості та тривалості життя.

Згідно Державної цільової програми «Розвиток імпортозамінних виробництв в Україні та заміщення імпортованих лікарських засобів вітчизняними, у тому числі біотехнологічними препаратами та вакцинами» на 2011-2021 роки, одним із першочергових завдань фармацевтичної галузі є розробка і впровадження у виробництво нових вітчизняних препаратів, що дозволить підвищити ефективність терапії серцево-судинних захворювань та захворювань центральної нервової системи і стане наступним кроком на шляху до вирішення проблеми імпортозаміщення [64, 75, 77, 79].

У зв'язку з вищевикладеним, своєчасним завданням медицини та фармації є розробка нових вітчизняних лікарських засобів з ендотеліопротективними властивостями з різними механізмами дії, спрямованими на поліпшення метаболізму, які нормалізують тіолдисульфідну рівновагу, і є природними донорами оксиду азоту та активаторами ендотеліального ізоферменту NO-синтази, що містять у своїй структурі тіольні групи, а також афінно очищені антитіла до ендотеліальної NO-синтази при експериментальних моделях церебро-васкулярних патологій. На сьогодні фахівцями кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ сумісно з співробітниками НВО «Фарматрон» під керівництвом професора Мазура І.А. створено оригінальну сполуку під умовною назвою «Ангіолін», яка володіє кардіопротекторною та нейропротекторною дією з вираженим впливом на ендотелій судин [81, 83, 84, 85]. Тому своєчасним завданням сучасної медицини та фармації стало створення лікарського препарату до складу якого входить діюча речовина «Ангіолін». Враховуючи те, що «метаболітотропні кардіо- та нейропротектори» в більшості випадків потрібно застосовувати протягом довготривалого часу, а іноді на протязі усього життя, і виходячи з того, що велика кількість препаратів для лікування серцево-судинних захворювань застосовуються в медичній практиці у вигляді таблеток, актуальним завданням є створення таблеток на основі вітчизняної оригінальної субстанції «Ангіолін», яка володіє кардіопротекторною та нейропротекторною дією з вираженим впливом на ендотелій судин.

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

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів і створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів» (номер державної реєстрації 0113U000802).

Мета і завдання дослідження

Метою дисертаційної роботи є наукове обґрунтування створення нового таблетованого лікарського препарату «Ангіолін», розробка технології і методик контролю якості створених таблеток.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

– Провести маркетингові дослідження ринку кардіопротекторних препаратів та комплекс досліджень з метою обґрунтування оптимального складу діючих речовин таблетованої лікарської форми ангіоліну.

– Розробити склад таблетованої лікарської форми метаболітотропного ендотеліопротектора – «Ангіолін»:

- розробити технологію виготовлення таблетованої лікарської форми;

- підібрати раціональні допоміжні речовини;

- вивчити вплив природи розпушувачів на фармако-технологічні властивості метаболітотропного ендотеліопротектора – «Ангіолін»;

- розробити оптимальний склад та технологію виготовлення таблеток «Ангіолін»;

– Розробити методики стандартизації таблеток «Ангіолін»:

- спектрофотометричну методику стандартизації та доступну методику визначення супровідних домішок в субстанції «Ангіолін»;

- методики стандартизації для таблеткової маси та таблеток;

- проект методик контролю якості (МКЯ) на отримані таблетки;

- провести валідацію розроблених методик кількісного визначення таблеток «Ангіолін»;

- встановити умови зберігання і термін придатності таблеток «Ангіолін»;

– Провести дослідження гострої токсичності таблеток «Ангіолін» та визначити фармакологічні характеристики та безпечність отриманого лікарського препарату.

Об'єкт дослідження: розробка та стандартизація нового оригінального таблетованого лікарського препарату «Ангіолін».

Предмет дослідження: фармако-технологічні дослідження з розробки оптимального складу таблеток на основі препарату «Ангіолін» та їх стандартизація; вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей розроблених таблеток; розробка технологічних схем отримання таблеток «Ангіолін»; розробка проекту МКЯ та специфікації на отримані таблетки; дослідження стабільності отриманих таблеток в процесі їх зберігання; фармакологічні дослідження специфічної активності таблеток «Ангіолін».

Методи дослідження

З метою виконання поставлених задач у дисертаційній роботі використані органолептичні, фармако-технологічні (однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стиранисть, розпадання), фізичні та фізико-хімічні (спектрофотометрія, тонкошарова хроматографія), біологічні та математичні (статистична обробка результатів) методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше методом математичного планування експерименту науково обґрунтовано склад і технологію оригінального лікарського засобу «Ангіолін» в таблетках, який має кардіопротекторну та нейропротекторну дію.

Для отриманого нового препарату - таблеток «Ангіолін» вперше розроблені методики стандартизації та проект методик контролю якості (МКЯ), визначені фармакологічні характеристики та безпечність отриманого лікарського препарату.

Новизна досліджень захищена патентом на винахід 111462 України.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблений та стандартизований оригінальний лікарський засіб «Ангіолін» у вигляді таблеток. Отримані результати досліджень можуть бути застосовані при створенні та розробці нових комбінованих лікарських засобів у вигляді таблеток на основі діючої речовини «Ангіолін» з кардіопротекторною та нейропротекторною дією. Розроблено методику кількісного визначення субстанції ангіоліну спектрофотометричним методом, яку апробовано та впроваджено у систему якості на базі ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України (акт апробації від 21.02.2017р.).

Розроблено методику визначення супровідних домішок в субстанції ангіоліну методом тонкошарової хроматографії, яку апробовано та впроваджено у систему якості на базі ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України (акт апробації від 21.02.2017р.). Розроблено методику отримання таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції» (ДП «ДНЦЛЗ») (акт апробації від 02.03.2017р.).

Розроблені методики стандартизації таблеток «Ангіолін» покладені в основу проекту документа «Методи контролю якості на лікарській засіб».

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри фармацевтичної хімії, фармакогнозії та хімії Київського медичного університету (акт впровадження від 22.02.2017 р.), кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету (акт впровадження від 10.01.2017 р.), кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (акт впровадження від 13.02.2017 р.), кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (акт впровадження від 10.02.2017 р.), кафедри управління та економіки фармації з

технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (акт впровадження від 10.01.2017 р.).

Особистий внесок здобувача

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

Персональний внесок в усіх опублікованих працях зі співавторами (І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. О. Портна, З. Б. Моряк, І. В. Павлюк, Г. І. Ткаченко, Л. В. Вронська, С. М. Гурєєва, О. В. Тригубчак, М. Б. Демчук, М. Б. Чубка, О. А. Нагорна, Н. В. Бухтіярова, М. О. Авраменко, О. К. Ярош, І. С. Чекман) наведено за текстом дисертації, також в авторефераті у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: III Всеукраїнська науково - практична конференція молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки» (Луганськ, 18 квітня 2013 р.); науково-практична конференція «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя, 16-17 травня 2013 р.); XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013 (Белосток, Польща 18 – 21 вересня 2013р.); V Международная научно-практическая конференция молодых

ученых "Science4health 2013" (Москва, 29 жовтня – 2 листопада 2013 р.); I научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 3-5 червня 2013 р.); XXI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 7–11 квітня 2014 р.); 74 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 15-16 травня 2014 р.); III Регіональна науково-практична конференція «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» (Запоріжжя, 27 листопада 2014 р.); всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2015» (Запоріжжя, 14-15 травня 2015 р.); II Міжнародна науково-практична Інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості» (Харків, 12-13 листопада 2015 р.); Буковинський міжнародний медичний конгрес (Чернівці, 6 – 8 квітня 2016 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2016» (Запоріжжя, 12 – 13 травня 2016 р.); Ліки - людині. XXXIII Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів (Харків, 08 квітня 2016р.); Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології», (Запоріжжя, 24–25 листопада 2016 р.); VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.)

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

ФПО Запорізького державного медичного університету від 15 березня 2017 року.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 247 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та 14 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 166 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 34 таблицями, 57 рисунками. Список використаних джерел містить 269 найменування, з них 155 кирилицею та 114 латиницею.

РОЗДІЛ 1
АНАЛІЗ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ
ПРЕПАРАТІВ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ І НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЇ
ДІЇ. СТАН СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ
(Огляд літератури)

1.1 Проблеми поширення серцево-судинних захворювань у світі та серед населення України, шляхи їх вирішення

На сьогоднішній день патологія серцево-судинної системи залишається основною причиною смертності та інвалідизації населення як у світі, так і в нашій країні, тому пошук нових лікарських засобів для лікування ССС є актуальною проблемою медицини і має велике соціально-економічне значення. Загальновідомими є факти світової статистики. Так, оновлені рекомендації США свідчать про 2150 пацієнтів, що помирають щодоби від серцево-судинних захворювань, 1 смерть реєструється кожні 40 секунд, 1 коронарна подія – кожні 34 секунди, коронарна хвороба серця «відповідальна» за 1 із 6 смертей, діагностується у 635000 хворих з щорічною новою коронарною подією і 280000 – з повторною [184, 186, 203, 207, 219, 236, 257]. Аналогічно близько 610000 та 185000 для інсультів – 1 інсульт відбувається кожні 40 сек, один хворий гине за 4 хв, загалом інсульт «відповідає» за 1 із 19 смертей [210, 211, 249]. Прямі і непрямі витрати, пов'язані з кардіоваскулярними захворюваннями та інсультом, становлять близько 3126 млрд доларів США, для Великобританії ССЗ «кошують» 14,4 млрд фунтів стерлінгів, а в Канаді такі витрати, пов'язані із ССЗ і інсультом, становлять понад 20,9 млрд доларів США (щорічно – 16 000 інфарктів і 50 000 інсультів при чисельності населення 33 091 228 осіб). Серцева недостатність є причиною однієї з 9 смертей у США, що становить 274 601 випадок [113, 166, 176, 182, 185].

Згідно з аналізом поширеності смертності при різних формах захворювань системи кровообігу за останніми даними, представленими на Національному конгресі кардіологів України, при визначенні абсолютних показників і чисельності населення, прийнятій за 45,6 млн осіб, поширеність захворювань системи кровообігу становила 26623879,2, смертність – 436444; при ішемічній хворобі серця ці показники дорівнюють 10984173,6 та 298406,4 відповідно; захворюваність і смертність для інфаркту міокарда – 61514 та 12266 (19,9%), що становить смертність від ІМ по відношенню до ЗСК (12266 від 436444) – 2,8%, а по відношенню до ІХС (12266 від 298406) – 4,11% [132, 136, 203, 209, 217].

Клінічна кардіологія володіє великим арсеналом різноманітних лікарських засобів, що застосовуються в лікуванні ішемічної хвороби серця, ефективність яких перевірена роками клінічної практики, але незважаючи на це смертність від серцево-судинної патології залишається високою. Все це диктує необхідність створення нових препаратів. Одне з перших місць серед патологій ССС займає ішемічна хвороба серця і одне з її грізних проявів - інфаркт міокарда. Також щорічно у світі переносять інсульт близько 6 млн. чоловік з них 4,7 млн. вмирає [57, 58, 216, 218]. Незважаючи на постійні зусилля по оптимізації лікування захворювань центральної нервової та серцево-судинної систем проблема залишається невирішеною. З урахуванням зростаючої вартості медичної допомоги, супутніх соціальних проблем актуальна розробка і 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 призводить б до зниження смертності, покращення якості та тривалості життя [57, 58, 87, 225]. Багаторічні дослідження серед похідних 1,2,4-триазолу, що проводяться під керівництвом професора Мазура І. А. співробітниками НВО «Фарматрон» сумісно з співробітниками кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету,

дозволили серед більш ніж 10000 сполук виявити одну, що стала згодом препаратом «Тіотриазолін». Тіотриазолін (морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат) - первісток національної фармації - зайняв гідне місце в арсеналі метаболітотропних засобів, і використовується у вигляді різних лікарських форм - таблеток, ін'єкційних розчинів, мазей, супозиторії, очних крапель [10, 19, 32, 85, 100, 105].

У теперішній час, враховуючи роль оксидативного стресу в механізмах пошкодження клітини при більшості захворювань людини, практично обов'язковим є включення антиоксидантів в комплекс медикаментозного лікування з метою потенціювання дії засобів базової терапії. Враховуючи ряд серйозних побічних ефектів базових засобів, спрямованих на порушення тонких ланок метаболізму органів і тканин, призначення в комплексну терапію антиоксидантів може підвищити безпеку пропонованого медикаментозного лікування [50, 53, 55, 100, 181]. У цьому зв'язку, одним з перспективних підходів до розробки лікарських засобів, що розробляються на НВО «Фарматрон» сумісно з співробітниками кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, є зв'язування діючих речовин у молекулярний комплекс з сумісними за фізико-хімічними та фармакологічними характеристиками антиоксидантами або метаболітами, і створення препарату на основі фіксованої комбінації, що забезпечує захист базового препарату від швидкого метаболізму в організмі і покращує його транспорт через біологічні мембрани [75, 79, 103]. Такий підхід до створення комбінованих препаратів визначає і їх більш високу, у порівнянні з застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність, і дозволяє пролонгувати ефект діючої речовини за рахунок підвищення афінності до рецептора органу - мішені. Результатом цього напрямку стало створення двох комбінованих препаратів – «Тіодарон» і «Тіоцетам» [81, 82, 103]. Вдалим прикладом створення антиангінальних препаратів на основі фіксованих комбінацій з антиоксидантами є препарат «Тіодарон», де в якості антиоксидантного компонента був обраний

Тіотриазолін, а в якості основного базового засобу - антиаритмічний і антиангінальний препарат аміодарон [98, 99, 143, 146]. На основі фіксованої комбінації тіотриазоліну і пірацетаму був створений ефективний ноотропний і нейропротективний препарат «Тіоцетам», широко застосовуваний в неврологічній, геронтологічній, педіатричній та психіатричній практиці. Тіоцетам вдало поєднує у своїй дії ноотропну, мнемотропну, антигіпоксичну дію пірацетаму з антиоксидантним, протиішемічним, адаптогенним ефектом тіотриазоліну [103, 104].

Численні експериментальні дані та результати клінічного застосування тіотриазоліну та його комбінованих лікарських форм дозволили виявити структурні фрагменти молекул, що визначають наявність і силу протиішемічної, антиоксидантної, нейропротекторної, кардіопротекторної активності. Аналіз взаємозв'язку «структура - активність» дозволив визначити перспективний напрямок створення нових біологічно активних сполук на основі 1,2,4-триазолу [124, 125, 131].

Лікарські засоби, які здатні переривати або зменшувати каскад несприятливих метаболічних реакцій, викликаних ішемією та об'єднаних назвою «метаболітотропні кардіопротектори», надають захисну дію на міокард і мають безсумнівні перспективи в клінічній практиці [122, 134, 135].

Пошук ефективних серцево-судинних засобів здійснюється серед нових хімічних сполук, а також на основі поглибленого вивчення та з'ясування нових механізмів вже відомих препаратів, що добре зарекомендували себе тривалою клінічною практикою. У таких клінічно перевірених фармацевтично-активних сполук знаходять все нові властивості. Завдяки комбінації структурних фрагментів молекул співробітниками НВО «Фарматрон» спільно з співробітниками Запорізького державного медичного університету створено новий оригінальний препарат катіонно-аніонної дії «Ангіолін» [115, 116, 117, 118, 119, 120].

«Ангіолін» є сіллю (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату, утвореної між амінокислотою лізином і 3-метил-1,2,4-

триазоліл-5-тіоацетатної кислотою. Сполуку планується застосовувати для лікування і терапії захворювань ССЗ, особливо при хронічній патології ССЗ.

Численними дослідженнями про вплив лікарської форми на терапевтичну ефективність лікарських препаратів встановлено, що оптимальна активність лікарської речовини досягається тільки при призначенні його в раціональній лікарській формі. Крім того, в цьому випадку можна уникнути багатьох побічних ефектів лікарських препаратів на організм [246, 248].

Практично всі проаналізовані публікації, що присвячені створенню нових лікарських засобів на основі триазолів велику увагу приділяють оригінальному вітчизняному лікарському препарату «Тіотриазоліну» та його аналогам. А виходячи з вище сказаного актуальним та перспективним є розробка нової оригінальної лікарської форми на основі ангіоліну. На сьогодні першочерговим завданням є розробка лікарської форми «Ангіолін» у вигляді таблеток, який зможе використовуватися як у лікувально-профілактичних закладах так і в амбулаторних умовах [6, 9, 12].

1.2 Маркетингові дослідження (аналіз) ринку кардіопротекторних препаратів

В наш час все більше зростає темп життя сучасної людини. Збільшується обсяг інформації, яку потрібно вирішати і запам'ятати, зростає навантаження на нервову систему. Цю задачу і покликані вирішувати кардіопротекторні лікарські засоби [15, 17, 30, 43, 63, 256].

До кардіопротекторних препаратів нового покоління можна віднести комбіновані нові препарати, які створюються на основі хімічної субстанції разом з препаратами стимулюючими дію кардіопротекторів.

Комбіновані препарати повинні відповідати відразу декільком вимогам. Вони повинні покращувати пам'ять, активувати основні фази процесу запам'ятовування, позитивно впливати на пригнічений стан, приборати

головні болі, запаморочення, нормалізувати обмінні процеси і активувати антиоксидантну систему, впливати на безсоння, підвищувати загальну працездатність. До таких комбінованих препаратів можна віднести новий комбінований препарат «Ангіолін».

Так, як кардіопротектори за класифікацією АТС входять до групи С01Е «Кардіологічні препарати» було проведено маркетингове дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічного дії. Об'єктами дослідження були дані «Державного реєстру лікарських засобів України», а також «Компендіуму» [14, 30, 47, 73, 86, 231].

У результаті дослідження встановлено, що на національному ринку в обігу знаходиться 97 лікарських засобів вищевказаного дії, з яких 68 (70%) виробляється 34 підприємствами України та 29 (30%) - надходять на територію країни з-за кордону (рис. 1.1): Австрії, Білорусії, Німеччини, Індії, Італії, Латвії, Польщі, Росії, Словенії, Чеської Республіки, Франції [153].

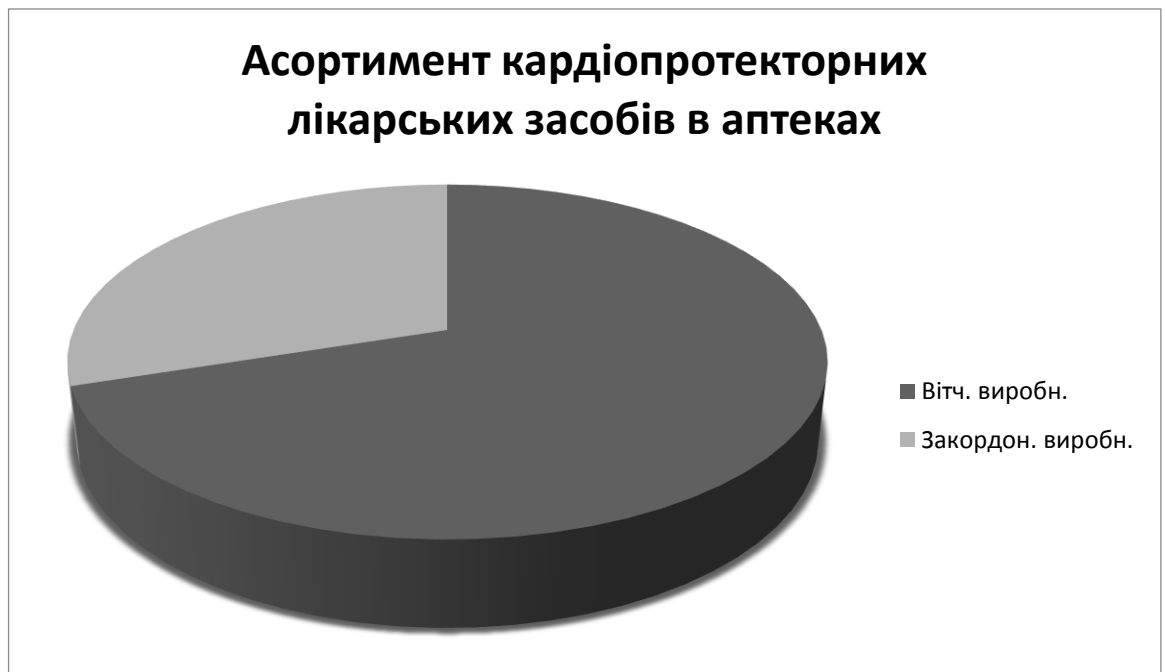


Рис. 1.1 Асортимент кардіопротекторних лікарських засобів в аптеках

Серед вітчизняних фірм виробників лікарських засобів зазначеної групи треба відмітити: ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (м. Київ), ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (м. Харків), ПАТ «Галичфарм»

(м. Львів), ПАТ «Київмедпрепарат» (м. Київ), ТОВ «Мікрохім» (м. Рубіжне, Луганська обл.), ПАТ «Фармак» (м. Київ) та інші.

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

Конкуренція – суперництво між товаровиробниками за кращі, економічно більш вигідні умови виробництва і реалізації товару[27].

Конкуренція – основа будь якого ринкового господарства. Вона підпорядковує діяльність суб'єктів економіки законам ринку. Для підприємства головне складається в тому, щоб найбільш ефективно використати вкладені в виробництво ресурси та запропонувати на ринок більш дешеві, ніж у конкурента товар, але має значення не лише ціна. Щоб забезпечити успіх ринку, підприємство повинно запропонувати нові, більш сучасні товари кращої якості [27].

Конкурентоспроможність – спроможність витримати конкуренцію в порівняннях з аналогічними товарами та послугами інших виробників в умовах ринку. Рівень конкурентоспроможності визначається сукупністю різноманітних техніко-економічних факторів, таких як: якість, собівартість, форми та методи торгівлі, ціни, умови та терміни поставки та транспортування, відповідність вимогам норм та умов місцевого ринку, види та форми розрахунків та платежів з покупцями, престиж виробника, продавця, товару, ефективність реклами та ін. [27].

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

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

де n – число всіх конкурентних аналогів фірм.

При цьому досліджуванні лікарські форми було згруповано за діючою речовиною:

- група триметилгідразину
- група алпростадилу
- групи етилметилгідроксипіридину
- групи тіотриазоліну
- групи триметазидину дигідрохлориду
- групи солей мельдонію
- групи препаратів, які містять сировину глоду.

Результати розрахунку представлені в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

**Показники коефіцієнта напруженості між виробниками
кардіопротекторних лікарських засобів**

№ п/п	Найменування діючої речовини	Найменування препарату	Країна виробник	K_{vi}
1	2	3	4	5
1	Триметилгідразин	«Тримедронат»	Індія	0,5
2	Алпростадил	«ВАП 20»	Австрія	0,75
		«Вазапостан» 20 мг	Німеччина	
		«Вазапостан» 60 мг	Німеччина	
		«Алпростан»	Чеська Республіка	
3	Етилметилгідрокси- пірідін	«Мексикор»	Росія	0,66
		«Армадин» ін.	Україна	
		«Армадин» табл.	Україна	
4	Мельдонію фурамат	Мілдразин	Латвія	0,66
		Мілдракор	Україна	
		Метаприл	Латвія	

1	2	3	4	5
5	Мельдонію фосфат	Мілдронат УХ	Латвія	0,66
		Мілдронат ін.	Латвія	
		Мілдронат табл.	Латвія	
6	Тіотриазолін	Тіотриазолін	Україна	0,83

З табл. 1.1 видно, що найбільша конкуренція спостерігається серед виробників препаратів-аналогів тіотриазоліну.

При цьому слід зазначити, що ряд препаратів досліджуваної групи не мають аналогів, тобто відсутня конкуренція:

1. DL – сульфокамфорна кислота (Україна)
2. L – аргінін аспартат (Україна)
3. Таурин (Росія)
4. Екстракт трави пасифлори (Словенія)
5. Цитохром (Україна)
6. Рибонуклеїнова кислота (Україна)

Аналіз отриманих даних показав, що найбільша конкуренція спостерігається серед фірм, які випускають аналоги препаратів, які містять в собі діючу речовину глід ($K_{vi}=0,95$). При цьому, конкуренція спостерігається серед 12 українських виробників лікарських засобів даної групи: ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (м. Харків), ПрАТ «Ліктрави» (м. Житомир), ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола» (м. Запоріжжя) та інші. Також суттєва висока конкуренція між фірмами, що випускають препарати-аналогі: триметазидину дигідрохлориду ($K_{vi}=0,93$), а також аналогів солей мельдонію ($K_{vi}=0,93$), аденозинтрифосфату ($K_{vi}=0,9$), триметилгідразину пропіонату ($K_{vi}=0,86$), тіотриазоліну ($K_{vi}=0,83$), алпростадил ($K_{vi}=0,75$).

На наступному етапі розрахували частку сегмента регіонального фармацевтичного ринку, яка займає кожна з фірм-виробників кардіологічних лікарських засобів .

Розрахунок проводили за формулою:

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

де n_{ij} - кількість препаратів;

j – тої фірми в i – сегменті;

$\sum n_{ij}$ – сумарна кількість препаратів i -го сегмента.

Дані розрахунку показали, що найбільша питома вага в досліджувальному сегменті припадає на АГ «Гріндекс», Латвія (9 лікарських форм), ПАТ «Галичфарм» м. Львів (8 лікарських форм), та ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» м. Київ (7 лікарських форм).

Таким чином, маркетингове дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічної дії показало, що українські виробники поставляють на вітчизняний ринок лише 70% препаратів кардіологічного дії. При цьому вони витримують високий рівень конкуренції із зарубіжними фірмами - виробниками.

1.3 Комбінована терапія метаболітотропними кардіопротекторами та нейропротекторами. Новітні розробки та перспективи фіксованих комбінацій

В останні роки метаболічна терапія стала найважливішою складовою лікування практично будь-якого захворювання внутрішніх органів.

Враховуючи специфіку українського ринку лікарських засобів, хотілося б виділити «метаболітотропні кардіопротектори» які займають лідируюче місце в списку лідерів попиту на фармацевтичному ринку - препаратам, які покращують обмінні процеси в ішемізованому міокарді, підвищують стійкість до гіпоксії, підтримують функцію серця при серцевій недостатності.

Тим більше що багато з цих препаратів (Мілдронат, Мексидол, Тіотриазолін) позиціонуються і при іншій патології внутрішніх органів (гепатити, синдром хронічної втоми, гостра недостатність мозкового кровообігу, хронічна ішемія мозку та ін.).

Кардіопротектори є одними з найбільш призначуваних засобів при ішемічній хворобі серця, хронічній ішемії мозку, міокардитах, нейроциркуляторній дистонії, випереджаючи деколи патогенетично обґрунтоване лікування. Одним з основних патогенетичних механізмів серцево-судинних захворювань є ішемія і гіпоксія органів-мішеней - серця, мозку, нирок, сітківки ока. Не слід також забувати, що при хронічній серцевій недостатності, що супроводжується погіршенням системного об'ємного кровотоку, від гіпоксії страждають всі органи і системи, що не відносяться до органів-мішеней (травна, м'язова), що істотно погіршує якість життя хворого.

Стан можна поліпшити, збільшивши кількість кисню у вдихуваному повітрі (кисневі подушки), збільшивши об'ємний кровотік в органі (більше крові за одиницю часу - більше доставка кисню). Однак з кисневою подушкою хворий повинен періодично розлучатися. Збільшення об'ємного кровотоку обмежено морфологічними змінами в судинах (виражений коронарний атеросклероз), які не можуть розширитися у відповідь на прийом ліків.

У такому випадку необхідно пристосовуватися до нестачі кисню, підтримуючи життєздатність в умовах гіпоксії. Зменшення потреби органу в кисні можна досягти шляхом зниження його функціональної активності (блокатори β -адренорецепторів зменшують потребу серця в кисні за рахунок зниження частоти і сили серцевих скорочень, антигіпоксанти оксидобутират натрію в гострій фазі інсульту знижує активність нейронів).

Метаболітотропні нейропротектори можуть включатися в фармакотерапію широкого спектра захворювань центральної нервової системи як для зменшення проявів хронічного стомлення, астенії, погіршення пам'яті, так і при лікуванні хворих з алкогольною, наркотичною залежністю, які постраждали внаслідок токсичного впливу ксенобіотиків, іонізуючого опромінення, при явищах ішемії мозку, передінсультних станах, при помірній церебральній недостатності, у тому числі вікового характеру. Для підвищення стійкості мозкової тканини проти впливу хімічних і фізичних факторів, що ушкоджують, особливо при загальній гіпоксії і гіпоксії мозку, регулюватися

повинні ті біохімічні шляхи, які позначені в методичних рекомендаціях Державного фармакологічного центру МОЗ України (Головенко М. Я., 2002) і по основним положенням збігаються з російськими (Воронін Т. А., Островська Р. У., 2000).

При пошуку метаболітних засобів нейротропної спрямованості рекомендується виявляти їх здатність стимулювати синтез білків ядерної та цитоплазматичної РНК в нейронах, оцінюючи можливість дії на пластичний обмін в мозковій тканині. Слід також з'ясувати забезпечення адекватного енергетичного постачання нейронів при пошкодженнях, можливість посилення активності гексозофосфатного циклу, зниження активності гліколізу (співвідношення лактат / піруват; активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази), вивчити вплив препаратів на глікогеноліз і глюконеогенез (вміст глікогену, глюкози), на функціонування системи циклічних нуклеотидів та інозітолмонофосфата.

Велике значення надається змісту аденілових нуклеотидів та обігу АТФ, станом малат-аспартатного шунта, активності протеїназ. Певний внесок вносить дослідження впливу метаболітних засобів на систему дихальних нікотинамідних коферментів і НАД-Н, а також НАДФ-Н-дегідрогеназ.

Вплив на функцію центральної нервової системи опосередковано в результаті стабілізації мембран клітин, органел, збереження контролю мітохондрій, активності АТФази, інгибіції активності лізосомальних ферментів, зниження активності екзоглікозидов і активації синтезу фосфоліпідів. Слід вивчити вплив нейропротекторів на процеси перекисного окислення ліпідів, систему антиоксидантного захисту (активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, рівень церулоплазміну, відновленого глутатіону, фонд альфа-токоферолу).

Специфічність ефекту препаратів залежить від визначення вмісту гамма-аміномасляної кислоти, активності ГАМК-трансферази, глутаматдекарбоксилази, рівня гліцину, аміаку, аскорбінової, дегідроаскорбінової кислоти, альдегідів і кетонів. Деякі з вищевказаних

показників визначаються гістохімічними методами, у тому числі при моделюванні порушень мозкового кровообігу. Електронно-мікроскопічні показники структури мітохондрій доповняють вищевказані дослідження. Доцільним є також визначення в крові, при введенні препаратів, ізоензимів креатинфосфокінази [26].

Випробування нейропротекторної активності проводять на моделях гіпоксії. При випробуванні метаболітних препаратів, які є синтетичними сполуками з достатньою ефективністю, нейропротекторний ефект може бути виявлений при моделюванні фокальної ішемії. Разом з тим нейропротекторну дію метаболітних лікарських засобів можна вивчати у старих тварин, у яких є порушення метаболізму мозкової тканини і кровообігу. Для виявлення захисної дії метаболітних препаратів можна проводити досліди на тваринах з прискореним старінням (алкоголь, холестерин, дієта без вітаміну Е, рентгенівське опромінення).

При ішемії міокарда відзначають незворотні і оборотні зміни метаболізму і структури міокарда. Страждає не тільки скорочувальна функція міокарда, але і швидкість кровообігу в результаті змін кальційзв'язуючих білків, зміни активності деяких ферментів, недостатнього постачання киснем, підвищення інтенсивності перекисного окислення ліпідів, утворення вільних радикалів в плазматичних мембранах, мітохондріях, а також змін проникності мембран для іонів, перевантаження кальцієм мітохондрій порушення процесів дихання, окисного фосфорилування та інших енергозалежних процесів. При цьому відбувається перемикання аеробного дихання на анаеробний шлях продукції АТФ з виснаженням запасів макроергічних сполук і посиленням внутрішньоклітинного ацидозу.

Визначення кардіопротекторну ефекту метаболітних препаратів зазвичай проводиться згідно відповідних методичних рекомендацій ДФЦ (Горчакова Н. О. та спів автор., 2005). Визначають вплив препаратів на клітинний метаболізм, іонний гомеостаз, структуру і функцію мембран, попередження розвитку їх незворотних ушкоджень та реперфузії. З

біохімічних методів дослідження для оцінки стану енергетичного обміну рекомендується ідентифікація рівня аденілових нуклеотидів, неорганічного фосфату, нікотинамідних коферментів в крові, тканинах міокарда, печінки; активності креатинфосфокінази, глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Крім того, в тканинах і еритроцитах визначають загальну АТФазу, K^+ , Na^+ - АТФазу, Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТФазу, в крові - рівень креатину, креатиніну, оксиду азоту, активність NO-синтази. Доцільним є оцінка дії метаболічних препаратів на вміст адреналіну, норадреналіну в міокарді, розподіл катіонів Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} в міокарді і в крові, вміст глікогену в тканинах і глюкози в крові. Процеси перекисного окислення і стан системи антиоксидантного захисту, які були згадані вище, визначають в міокарді і крові. Крім того, в плазмі крові досліджують вплив препаратів на антиоксидантну активність ліпідів, ліпідний спектр, активність маркерів пошкодження аланін- і аспартатамінотрансферази.

1.4 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних кардіопротекторів та нейропротекторів

1.4.1 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних кардіопротекторів

Фармакологічні препарати метаболічного і захисну дії, застосовувані для корекції функціонального стану міокарда, позначають терміном "кардіопротектори", який з'явився в 90-х роках ХХ ст., Коли сформулювати уявлення про найважливішу роль біохімічних змін в патогенезі ішемічної хвороби серця [245, 251, 268].

Міокард постійно потребує доставки кисню, що забезпечує процес окисного фосфорилування. Ішемію/гіпоксію можна трактувати як дисбаланс між доставкою оксигенованої крові до міокарда і його потребою в кисні. Якщо доставка кисню не відповідає потребам кардіоміоцитів, як у пацієнтів з

хронічною ішемічною хворобою серця, так і здорових людей в умовах надмірних фізичних і емоційних навантажень, функціональний стан клітин серцевого м'яза погіршується і виникають клінічні симптоми стенокардії [261, 265].

Універсальним механізмом пристосування клітини до мінливих умов існування є перебудова обміну речовин і енергії.

На сучасному етапі розвитку фармакології розроблений і випробуваний цілий арсенал кардіопротекторів, що володіють широким спектром дії, сприяють синтезу і мобілізації енергетичних і пластичних ресурсів, оптимізації діяльності фізіологічних систем, прискоренню процесів відновлення, у тому числі і в серцевому м'язі [141].

Основні напрямки корекції фармакологічними засобами метаболічної дії: поліпшення енергетичного обміну (посилення синтезу макроергів, розширення їх резервного пулу, більш економне та ефективне використання в різних біохімічних процесах; зниження ступеня втоми); корекція пластичного обміну (прискорення формування структурного "сліду" адаптації, профілактика дистрофічних процесів, прискорення процесів реабілітації); захист клітинних структур від пероксидного і вільнорадикального окислення; оптимізація нейроендокринної регуляції.

Механізми дії кардіопротекторів різноманітні і багатопланові. При відсутності гіпоксії кардіоміоцити "отримують" АТФ за рахунок розщеплення ацетил-КоА в циклі Кребса, і основними джерелами енергії виступають глюкоза і вільні жирні кислоти.

При адекватному кровопостачанні міокарда 60-90% ацетил-КоА утворюється за рахунок окислення вільних жирних кислот, а решта 10-40% - за рахунок декарбоксілювання піровиноградної кислоти.

Приблизно половина ПВК всередині клітини утворюється за рахунок гліколізу, а друга половина - з лактату, що надходить в клітину з крові [190]. Катаболізм ВЖК в порівнянні з гліколізом вимагає більшої кількості кисню для синтезу еквівалентного числа АТФ.

При достатньому надходженні кисню в клітку глюкозна і жирно-кислотна системи енергозабезпечення перебувають у стані динамічної рівноваги. В умовах гіпоксії кількість кисню, що надходить недостатня для окислення жирних кислот.

Внаслідок цього в мітохондріях відбувається накопичення недоокислених активованих форм жирних кислот (ацилкарнітину, ацил-КоА), які здатні блокувати аденіннуклеотидтранслоказу, що супроводжується придушенням транспорту виробленого в мітохондріях АТФ в цитозоль і пошкодженням мембрани клітин.

Поліпшити енергетичний статус клітини можна за допомогою:

- підвищення ефективності використання мітохондріями дефіцитного кисню внаслідок попередження роз'єднання окислення і фосфорилування, стабілізації мембран мітохондрій;
- ослаблення інгібування реакцій циклу Кребса, особливо підтриманням активності сукцінатооксидазного ланки;
- відшкодування втрачених компонентів дихального ланцюга;
- формування штучних редокс-систем, шунтуючих перевантажений електронами дихальний ланцюг;
- економізації використання кисню і зниження кисневого запиту тканин ослабленням дихального контролю в мітохондріях або інгібуванням шляхів його споживання, які не є необхідними для екстреної підтримки життєдіяльності в критичних станах;
- збільшення утворення АТФ в ході гліколізу без збільшення продукції лактату;
- введення ззовні високоенергетичних сполук.

У зв'язку з цим кардіопротектори можна умовно розділити на прямі і непрямі. Дія прямих кардіопротекторів обумовлена, як місцевими (стабілізація мембран, вплив на обмін речовин безпосередньо в кардіоміоцитах, судинорозширювальний ефект), так і центральними впливами (регуляція

судинного тонуусу через вплив на структури ЦНС). Кардіопротектори непрямой дії зменшують навантаження на міокард і тому знижують або попереджують порушення функціонування серцевого м'яза.

Класифікація кардіопротекторів прямої дії

1. Препарати, що регулюють обмін речовин в міокарді

1.1. Препарати з переважним впливом на енергетичні процеси - триметазидин, Ритмокор, Мексикор (мексидол), кардонат, креатинфосфат (неотон), таурин (Дібікор), кртал, мілдронат, АТФ-ЛОНГ, натрію аденозинтрифосфат, аспаркам (панангін) та ін. [183, 188].

1.2. Анаболічні засоби стероїдної і нестероїдної структури - метандиенон, ретаболил, калію оротат, Магнерот, рибоксин тощо.

1.3. Антиоксидантні засоби - токоферолу ацетат, кверцетин, корвитин, Ліпофлавіон, ліпін, тіотриазолін, ніацин, Ритмокор, Кораргін, кислота аскорбінова, церулоплазмін та ін.

1.4. Електроноакцептори - убіхінон, цитохром С, рибофлавін та ін.

2. Препарати, що впливають на електролітний баланс в серцевому м'язі

2.1. Селективні блокатори повільних кальцієвих каналів - верапаміл, дилтіазем, амлодипін, фелодипін, лацидипін та ін.

2.2. Інгібітори Na^+/H^+ -каналів - амлорид, каріпозід та ін.

2.3. Засоби, що відкривають АТФ-залежні К-канали - нікорандил та ін.

3. Препарати, що стабілізують мембрану клітин міокарда

3.1. Протиаритмічні засоби - аміодарон, соталол, гілурітмал, неогілурітмал, дизопірамід, лідокаїну гідрохлорид, мексилетин, етацизин, пропафенон, флексаїнід та ін.

4. Засоби, що зменшують потребу міокарда в кисні

4.1. Органічні нітрати - нітрогліцерин, нітронг, ізосорбїду динітрат, коронаролітікі подібного механізму дії - молсидомін.

4.2. бета-адреноблокатори - анаприлін, атенолол, метопролол, бісопролол, бетаксоллол, небіволлол, целіпролол, есмолол та ін., α , β - адреноблокатори - карведилол, лабетолол та ін.

4.3. Препарат натрійуретичного пептиду – нісеретід [14].

Класифікація кардіопротекторів непрямой дії

1. Антигіпертензивні засоби різного механізму дії

1.1. Діуретики - гідрохлортіазид, клопамід, індапамід, фуросемід, спіронолактон, еплеренон та ін.

1.2. Інгібітори АПФ - каптоприл, еналаприл, Берліприл ®, лізиноприл, фозиноприл, раміприл, периндоприл та ін.

1.3. Блокатори рецепторів ангіотензину II - лозартан, ірбесартан, епросартан, кандесартан, телмісартан, вальсартан та ін.

1.4. Антагоністи ендотеліну (бозентан), блокатори нейтральної ендопептидази (кандоксатрил), препарати, що мають також властивості інгібіторів АПФ - оманатрілат.

2. Засоби, що впливають на реологічні властивості крові

2.1. Інгібуючі агрегацію тромбоцитів - кислота ацетилсаліцилова, ацелізін, тиклопідин, клопідогрель, тирофібан, ептифібатид та ін.

2.2. Антикоагулянти - гепарин, низькомолекулярні фракціоновані гепарини (фраксипарин, еноксіпарін, делтапарін, фондапарінус, варфарин), синкумар, фенилін та ін.

3. Лікарські засоби, що впливають на ліпідний обмін

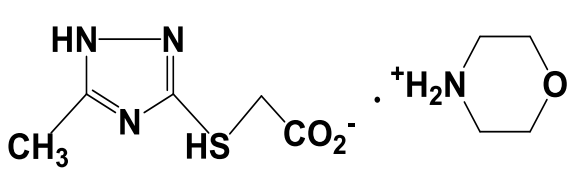
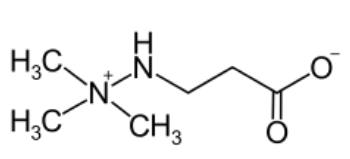
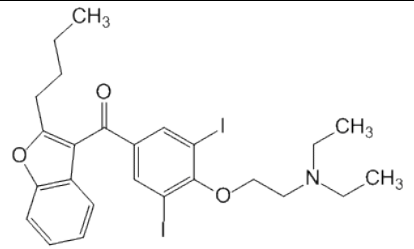
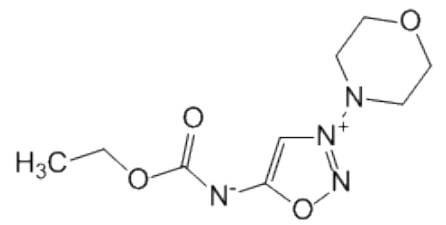
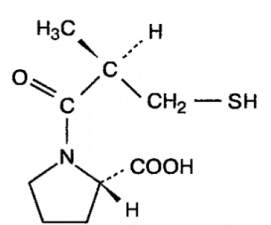
3.1. Гіполіпідемічні засоби - статини (ловастатин, симвастатин, правастатин, флувастатин, аторвастатин, розувастатин та ін.), Фібрати (фенофібрат, безафібрат, Етофібрат та ін.).

3.2. Препарати ненасичених жирних кислот - теком, лінетол, есенціале, Епадол, Омакор, липостабил, омега-3 та інші [14].

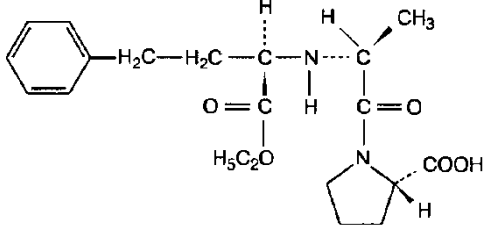
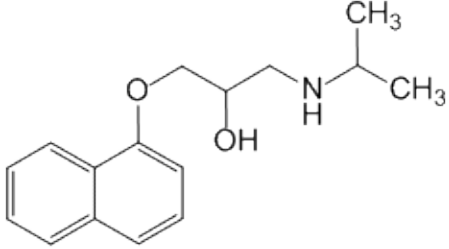
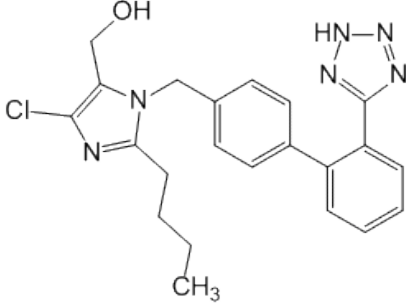
Представники цієї групи наведені в табл. 1.2.

Найбільш поширеними представниками цієї групи, які мають найбільший попит на фармацевтичному ринку у своїй групі є Мілдронат виробник АО «Гриндекс» Латвія та Тіотриазолін виробник (таблетки) ОАО "Київмедпрепарат", (розчини для ін'єкцій) АО «ГАЛИЧФАРМ».

Лікарські препарати метаболітогенні кардіопротектори

Назва засобу	Хімічна назва	Хімічна формула
1	2	3
Тіотриазолін (Thiotriazolin)	морфолінієва сіль тіазотної кислоти	
Мілдронат (Mildronate)	2-(2- карбоксилатоетил)- 1,1,1- триметилгідразиній	
Аміодарон (Amiodarone)	(2-Бутил-3- бензофураніл)-[4-(2- диетиламіно)етокси]- 3,5-дйодфеніл]мета нон	
Молсидомін (Molsidomine)	N-(Етоксикарбонил)- 3-(4- морфолинил)сиднон имин	
Каптоприл (Captopril)	1-[(2S)-3-Меркапто-2- метилпропіоніл]-L- пролін	

Продовж. табл. 1.2

1	2	3
Еналаприл (Enalapril)	1-[N-[(S)-1-карбокси-3-фенілпропіл]-L-аланіл]-L-пролін-1'-етиловий естер	 <p>The structure shows a benzene ring attached to a propyl chain. The third carbon of the propyl chain is bonded to a hydrogen atom (dashed bond), a carbonyl group (C=O) which is further bonded to an ethoxy group (OCH2CH3), and a nitrogen atom. This nitrogen atom is bonded to a hydrogen atom (dashed bond) and a carbon atom. This carbon atom is bonded to a methyl group (wedged bond), a carbonyl group (C=O), and a proline ring. The proline ring has a hydrogen atom (wedged bond) and a carboxylic acid group (COOH, dashed bond).</p>
Пропранолол (Propranolol)	1-[(1-метилетил) аміно]-3-(1-нафталенілоксі)-2-пропанол	 <p>The structure shows a naphthalene ring system with an oxygen atom at the 3-position. This oxygen atom is part of a propyl chain. The second carbon of the propyl chain has a hydroxyl group (OH). The first carbon of the propyl chain is bonded to a nitrogen atom, which is further bonded to a hydrogen atom and an isopropyl group (CH(CH3)2).</p>
Лозартан (Losartan)	2-бутил-4-хлор-1 - [[2'-(1H-тетразол-5-іл) [1,1'-бифенил]-4-іл] метил] - 1H- імідазол-5-метанол	 <p>The structure shows a central benzene ring connected to a 1,1'-biphenyl system at the 4-position. The other phenyl ring of the biphenyl system has a tetrazole ring at the 2-position. The central benzene ring is also connected to an imidazole ring at the 1-position. The imidazole ring has a chlorine atom at the 5-position, a hydroxymethyl group (CH2OH) at the 2-position, and a butyl group (CH2CH2CH2CH3) at the 4-position.</p>

1.4.2 Загальна характеристика лікарських препаратів метаболітотропних нейропротекторів

Нейропротектори - це засоби, які попереджують пошкодження нейронів мозку, обумовлене дією патогенного чинника. Їх вплив спрямован на усунення або зменшення патофізіологічних і біохімічних порушень в нервовій клітині. Це препарати, що захищають, поліпшуючі, адаптуючі структури головного мозку до негативних впливів [237, 240, 241, 266].

Пошук нейропротекторів почався в 70-х роках ХХ ст., з тих пір сфера застосування фармакологічних засобів цієї групи неухильно розширюється [242, 244, 267].

Призначення нейропротекторів є одним з найбільш ефективних методів лікування хворих з недостатністю мозкового кровообігу і дозволяє запобігати розвитку важких і незворотних ушкоджень нейронів [228, 229, 230].

Основним методом лікування цереброваскулярних порушень є нейропротектори, що впливають на мозковий обмін, і нормалізація кровопостачання мозку за допомогою вазоактивних препаратів і лікарських засобів, які впливають на згортання крові [26, 100, 107].

До групи нейропротекторів відносяться препарати з різною структурою і механізмом дії, які класифікують так.

1. Ноотропні препарати - пірацетам (ноотропіл), церебролізин, семакс, пикамилон та ін.

2. Антиоксиданти

2.1. Похідні 3-оксіпірідина - мексидол, Мексикор, Емоксипін та ін.

2.2. Фенольні сполуки - а-токоферолу ацетат, біофлавоноїди (вітамін Р - рутин, кверцетин, корвитин, флакумін) та ін.

2.3. Карбонові кислоти - кислота аскорбінова та ін.

2.4. Тіоловою сполуки - тіотриазолін.

2.5. Комбіновані вітамінні препарати - аскорутин, аевіт, Нейровітан, нейрон, нейронорм, Нейрорубіні та ін.

3. Препарати, що покращують мозковий кровообіг (вазоактивні)

3.1. Антиагреганти - кислота ацетилсаліцилова (аспірин), клопідогрел, тиклопідин (тиклід).

3.2. Антикоагулянти - гепарин, синкумар, варфарин, фенилин.

3.3. Блокатори кальцієвих каналів - циннаризин (стугерон), німодипін (німотон).

3.4. Похідні алкалоїдів маткових ріжків - ніцерголін (сермион).

3.5. Похідні алкалоїдів барвінку - вінпоцетин (кавінтон), вінкамін (оксібрал).

3.6. Метилксантини - пентоксифілін (трентал, агапурін), ксантинолу нікотинат (компламин).

4. Комбіновані препарати - фезам, Тіоцетам.

5. Адаптогени - настоянка і рідкий екстракт женьшеню, елеутерококу, китайського лимонника та ін.

6. Інші - нафтідрофуріл (енальбен, нафтілюкс), гінко білоба (танакан, Мемоплант, Білобіл), інстенон (комбінація етамівана з етофіллін і гексобендін), вазобрал (комбінація дігідроергокриптіна з кофеїном), мемантін (Акатінол мемантін), Нейромідин (амілідін, Іпідакрін), рілузол (рілутек).

7. Гомеопатичні препарати - Меморія, Церебрум композитум.

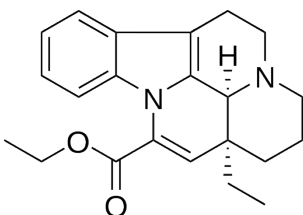
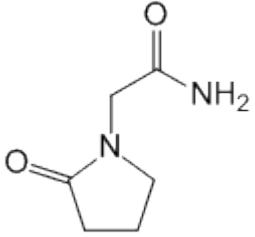
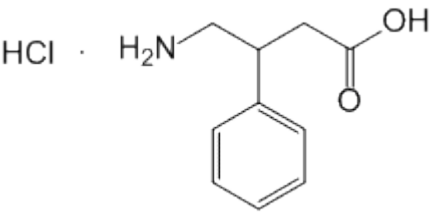
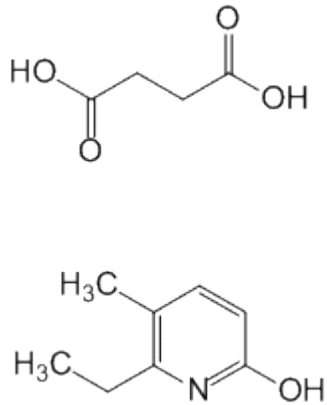
Механізми реалізації нейропротекції (церебропротекції) можуть здійснюватися численними метаболічними шляхами, в тому числі:

- зниження енергетичних витрат, потреби мозкової тканини в кисні, відновлення енергетичних ресурсів;
- антиоксидантні реакції;
- антагонізм по відношенню до глутаматних рецепторів, інгібіція синтезу і пресинаптичного вивільнення глутамату;
- антагоністичне ставлення до потенціал-залежним Ca²⁺-каналів;
- модуляція нейрональної NO-синтази;
- блокада холінестерази і K-каналів;
- ангіопротекція;
- підвищення стійкості до гіпоксії.

Представники цієї групи наведені в табл. 1.3.

Найбільш поширеними представниками цієї групи, які мають найбільший попит на фармацевтичному ринку у своїй групі є «Пірацетам» виробники: Асфарма (Росія), Органіка (Росія), Нижегородське ДП по виробництву бакпрепаратів (Росія), АЙ СІ ЕН - Марбіофарм (Росія), Дальхимфарм (Росія), Бринцалов (Росія), Мінскінтеркапс (Білорусія), Акрихин (Росія), РУП "Белмедпрепарати" (Білорусія) та «Фенібут» АТ «Олайнфарм», виробництво Латвія, РУП «Белмедпрепарати», виробництво Республіка Білорусь. ТОВ «Озон», виробництво Росія, гір. Жигульовськ,

Лікарські препарати метаболітотропні нейропротектори

Назва засобу	Хімічна назва	Хімічна формула
1	2	3
Вінпоцетин (Vinpocetine)	етил-(Зальфа, 16альфа)- ебурнаменін-14- карбоксилат	
Пірацетам (Piracetam)	2-оксо-1- пірролідінацетамід	
Фенібут (Phenybutum)	гамма-аміно-бета- фенілмасляної кислоти гідрохлорид	$\text{HCl} \cdot \text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ 
Мексидол® (Mexidol®)	2-етил-6-метил-3- оксіпірідина сукцинат	

Самарська обл., ВАТ «Органіка», Кемеровська обл., Гор. Новокузнецьк., ЗАТ «Обнінська хіміко-фармацевтична компанія» (ЗАТ «ОХФК»), Калузька обл., Гор. Обнінськ.

Все вищесказане є теоретичним обґрунтуванням для розробки нового метаболітотропного кардіо- та нейропротекторного препарату у вигляді таблеток до складу якого входить новий оригінальний вітчизняний АФІ ангіолін.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Бідненко О. С. Маркетингові дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічної дії / Бідненко О. С., Зарічна Т. П. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Здобутки та перспективи управління фармацевтичною системою», 25-26 вер. 2014 р. – Львів, 2014. – С. 49–50. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

2. Бидненко А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина» / Бидненко А. С. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук», 29 листоп. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 83. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

Створення ефективних лікарських препаратів вимагає застосування великого числа допоміжних речовин. Допоміжні речовини в таблетковому виробництві призначені для додання таблетковій масі необхідних технологічних властивостей, що забезпечують: точність дозування, механічну міцність, розпадання, стабільність у процесі зберігання.

До теперішнього часу до допоміжних речовин пред'являли вимоги фармакологічної та хімічної індиферентності. Однак з'ясувалося, що ці речовини можуть значною мірою впливати на фармакологічну активність лікарських речовин: підсилювати дію лікарських речовин або знижувати їх активність, змінювати характер дії під впливом різних причин, а саме комплексоутворення, молекулярних реакцій, інтерференції та ін.

2.1 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.

2.1.1 Характеристика діючих речовин

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

М.м. 319,384

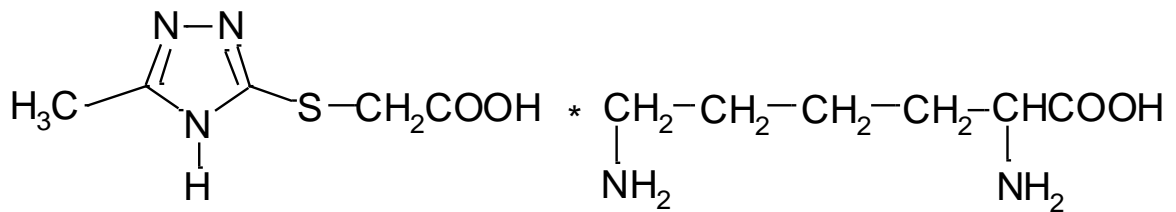
C₁₁H₂₁N₅O₄S

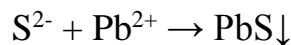
Рис. 2.1 2,6-діаміногексанова кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат

Ідентифікація лізинію тіазатату:

1. Характерна реакція (с) 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтової кислоти на ацетат іон. Методика: близько 30 мг випробовуваної субстанції розчиняють у 3 мл води Р. До одержаного розчину або до 3 мл розчину, зазначеного в окремій статті, послідовно додають 0.25 мл розчину лантану нітрату Р, 0,1 М 0,05 М розчину йоду і 0,05 мл розчину аміаку розведеного Р₂. Суміш обережно нагрівають до кипіння; протягом декількох хвилин утворюється синій осад або з'являється синє забарвлення.

2. Характерна реакція на аміно групу. Методика: 0,02 г субстанції розчиняють при нагріванні в 1 мл свіжопрокип'яченої води, додають 1 мл свіжоприготований розчин нінгідрину та нагрівають, з'являється синьо-фіолетове забарвлення розчину.

3. Реакція на сірку - побуріння смужки фільтрувального паперу, змоченого розчином свинцю (II) ацетату Р, у парах субстанції при нагріванні [70, 71, 72].



Відповідність ІЧ-спектра субстанції ІЧ-спектра фармакопейного стандартного зразку (ФСЗ). Згідно методики, інфрачервоний спектр поглинання субстанції, попередньо висушеної до постійної маси, одержаний у дисках з калію бромідом (1 мг субстанції в 200 мг калію броміду) в області від 4000 см⁻¹ до 400 см⁻¹, має відповідати спектру фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ), який наведено на рис. 2.2.

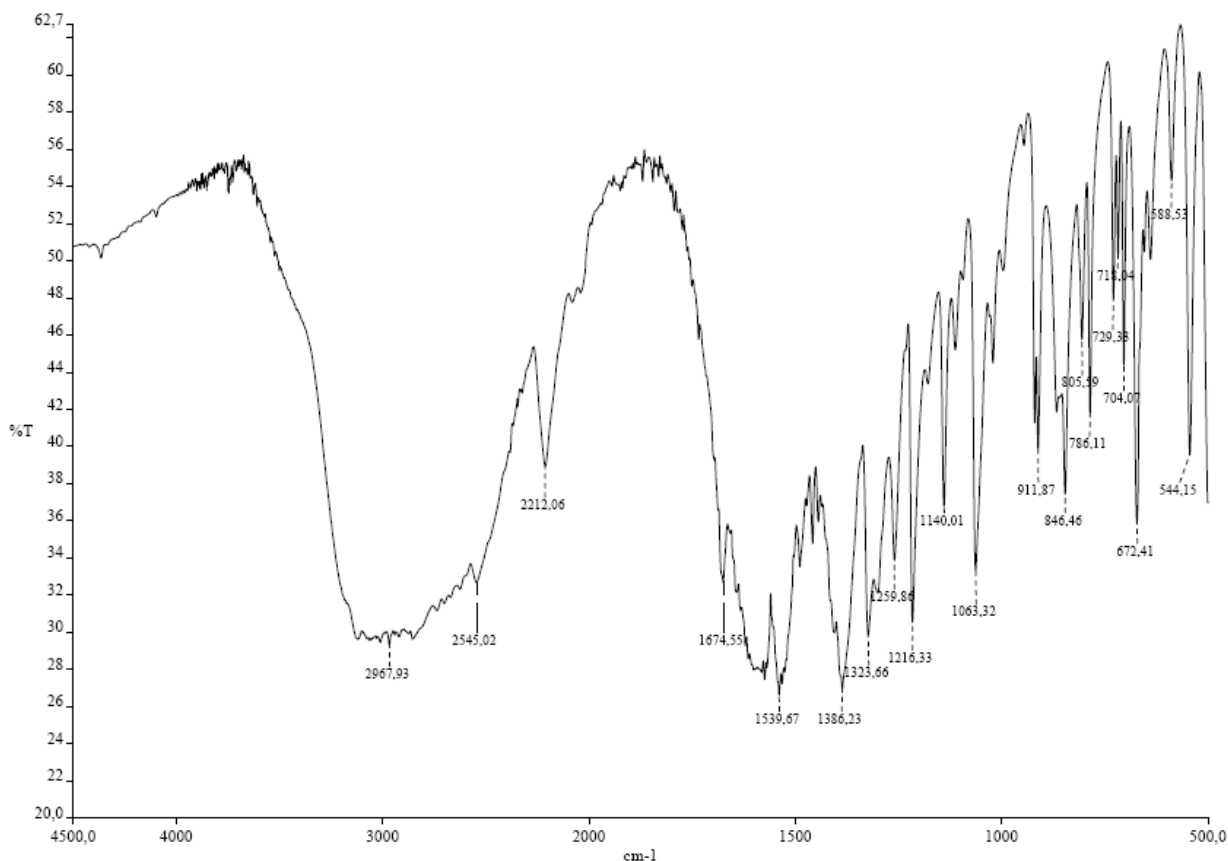


Рис. 2.2 Зразок спектра фармакопейного стандартного зразку (ФСЗ) ангіоліну

2.1.2 Характеристика допоміжних речовин

Для створення таблеток Ангіоліну були вивчені наступні групи допоміжних речовин, які у подальшому використовувалися для отримання таблеток Ангіоліну методом вологої грануляції.

1. Наповнювачі на основі цукрів;
2. Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію;
3. Зв'язуючі розчини;
4. Ковзні речовини.

Вивчалися допоміжні речовини, як вітчизняного так і закордонного виробництва які присутні на фармацевтичному ринку для отримання таблеток методом вологої грануляції [180, 198, 199, 200, 201, 247, 258, 259, 262]

Таблиця 2.1

Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці таблеток Ангіолін

Торгова назва допоміжної речовини (хімічна), фірма-виробник, країна. НТД.	Характеристика	Функціональне призначення
1	2	3
Сорбіт (Sorbitol) «Аннушка», Україна ТУ У 15.6–32062796–010:2007	Порошок без запаху, білого кольору або майже без кольору, кристалічний або аморфний, гігроскопічний	Наповнювачі на основі цукрів
Цукор-пудра Pfeifer & Langen., Польща Є.Ф. 01/2002:0204	Гранульована сахароза з розміром частинок 0,1-0,6 мм	Наповнювачі на основі цукрів
Лактоза гранулак 100 - SinowayIndustrialCo., Ltd:ЄФ. 2004 01/2004:0187	Кристалічний порошок без кольору, розчинний у воді.	Наповнювачі на основі цукрів
Лудіфлеш Ludiflash® BASF, Німеччина Japanese Pharmacoroeia	Суміш маніту, полівінілацетату та кросповідону	Наповнювачі на основі цукрів
МКЦ 101 (мікрокристалічна целюлоза) Microcel® MC 101 Blanver Farmaquimica Ltda, Бразилія Є.Ф. 01/2004:0316	Дрібний порошок МКЦ з середнім розміром часток 50 мікрон, вологістю до 7 % , об'ємна щільність рівна 0,26-0,45 г/см ³ , кут насипу менше 45°	Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію

Продовж. табл. 2.1

1	2	3
<p>МКЦ 102 (мікрокристалічна целюлоза) Microcel® MC 102 Blanver Farmaquimica Ltda, Бразилія Є.Ф. 01/2004:0316</p>	<p>Дрібний порошок МКЦ з середнім розміром часток 100 мікрон, вологістю до 7 % та насипною густиною 0,28-0,33 г/см³, кут насипу менше 42°</p>	<p>Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію</p>
<p>МКЦ бурст (мікрокристалічна целюлоза) Microcel® MC SANAQ burst Blanver Farmaquimica Ltda, Бразилія. Є.Ф. 01/2004:0316</p>	<p>Дрібний порошок МКЦ з середнім розміром часток 100 мікрон, вологістю до 1,5 %, із насипною густиною 0,40-0,50 г/см³</p>	<p>Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію</p>
<p>Кальцію гідрофосфат безводний JRS Parma, Німеччина USP</p>	<p>Білі кристали. Молярна маса 136,06 г/моль. Розчинний у воді.</p>	<p>Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію</p>
<p>Крохмаль картопляний (Фірма «Avebe», Німеччина)ЄФ 2003, 01/2003:0355:</p>	<p>Білий, хрусткий, аморфний і дуже гігроскопічний порошок без смаку і запаху. Нерозчинний у холодній воді, естері, спирті; у гарячій воді набухає, і утворює колоїдний розчин-крохмальний клейстер.</p>	<p>Зв'язуючі розчини</p>

1	2	3
Метилцеллюлоза 15 (МЦ 15) Zhongbao Chemicals Co., LTD (Китай)	Високоочищена метилцеллюлоза, продукт нетваринного походження з високою мікробіологічною та хімічною стабільністю.	Зв'язуючі розчини
Гідроксипропілметилцеллюлоза 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.	Зв'язуючі розчини
Kollidon 90 F (Фірма BASF, Німеччина)СФ, п. 2.6. Japanese Pharmacopoei Excipients Handbook	Тонкодисперсний порошок з низькою об'ємною щільністю	Зв'язуючі розчини
Тальк - ДФУ (1 Вид., доп. 2, с. 553), USP30-NF25, P. 3266, PhEur	Легкий, однорідний порошок білого або майже білого кольору, маслянистий на дотик	Ковзні речовини
Неуселін від Fuji chemical industry CO. LTD: USP30-NF25, P. 1247	Аморфна форма алюмініометасилікату	Ковзні речовини
Просолв 90 Prosolv SMCC® 90 JRS Parma, Німеччина. Japanese Pharmacopoeia Excipients Handbook	Суміш мікрокристалічної целюлози та модифікованого діоксиду кремнію середній розмір частинок (на основі ситового аналізу) в межах 90мм	Ковзні речовини

1	2	3
МКЦ 200 (мікрористалічна целюлоза) Microcel® MC 200 Blanver Farmaquímica Ltda, Бразилія Є.Ф. 01/2004:0316	Дрібний порошок МКЦ з середнім розміром часток 180 мікрон, вологістю до 7 % та насипною густиною 0,33-0,40 г/см ³	Ковзні речовини
Натрію кроскармелоза, Solutab®A, Blanver Farmaquímica Ltda, Бразилія ЄФ 01/2005:0985	Подрібнений порошок без запаху, білого або білого з сіруватим відтінком кольору, не розчинний у воді Р	Розпушувач

2.2 Характеристика методів дослідження

Оцінку технологічних параметрів проводили загальноприйнятими методами згідно вимог ДФУ [65, 66, 67, 68, 69, 70].

Зовнішній вигляд таблеток. Згідно ДФУ, (2 Вид., с. 1121). 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 (2 Вид., п. 2.9.5, с. 409-410) Зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу. Для таблеток даної маси припустиме відхилення складає $\pm 5\%$.

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

Однорідність маси. Випробовування проводили згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.9.5, с. 409-410). При цьому зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу, жодна індивідуальна маса не має відхилитися від середньої на $\pm 5\%$.

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

Визначення розпадання таблеток. Дослідження розпадання таблеток проводили згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.9.1. с. 395) на лабораторному тесторі для визначення розпадання ZT x20 ERWEKA [70, 71, 72].

Розчинення таблеток. Випробування на цей тест проводилось згідно з методикою, наведеною в ДФУ (2 Вид., п. 2.9.3, с. 399). Був використаний прилад з лопаттю. Згідно з методикою за 45 хв у розчин має перейти не менше 75 % і не більше 115 % діючої речовини від вмісту, зазначеного у складі.

Спектрофотометрія - згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.2.24, с. 73), це фізико-хімічний метод дослідження розчинів і твердих речовин, заснований на вивченні спектрів поглинання в ультрафіолетовій (200—400 нм), видимій (400—760 нм) і інфрачервоній (>760 нм) областях спектра. Основна залежність, що вивчається в спектрофотометрії, — залежність інтенсивності поглинання падаючого світла від довжини хвилі. Спектрофотометрія широко застосовується при вивченні будови і складу різних з'єднань (комплексів, фарбників, аналітичних реагентів і ін.), для якісного і кількісного визначення речовин (визначення слідів елементів в металах, сплавах, технічних об'єктах). Прилади спектрофотометрії — спектрофотометри.

Спектрофотометрія - це кількісне визначення одного з компонентів лікарського засобу за допомогою вимірювання абсорбції розчину випробовуваного зразка за однієї аналітичної довжини хвилі. Такий аналіз може проводитися методом показника поглинання або методом стандарту.

При використанні МПП кількісне визначення проводять за допомогою вимірювання абсорбції (A) розчину випробовуваного зразка за АДХ.

При використанні МС кількісне визначення проводять за допомогою вимірювання за АДХ абсорбція розчину випробовуваного зразка (A) і розчину порівняння (A_0) з концентрацією C_0 і розрахунку концентрації (C) аналізованого компонента. Вимірювання абсорбції випробовуваного розчину і розчину порівняння треба проводити за одних і тих самих умов з мінімальним інтервалом у часі. У загальному випадку більш надійним є МС.

Тонкошарова хроматографія згідно ДФУ (2 Вид., п.2.2.27, с. 82). Тонкошарова хроматографія являє собою метод розділення, в якому використовується нерухома фаза, що складається з підшого матеріалу, нанесеного у вигляді стандартизованого тонкого шару і зафіксованого на основі (пластинці або пластині) із скла, металу або пластмаси. Перед хроматографуванням розчини речовин, що аналізуються, наносять на пластинку. Розділення засноване на процесах адсорбції, розподілу, іонного обміну або на їхній комбінації і здійснюється за допомогою переміщення в тонкому шарі (нерухомій фазі) досліджуваних речовин, розчинених у розчиннику або у відповідній суміші розчинників (рухомій фазі).

Хроматографічна пластинка являє собою основу з скла, алюмінію або полімеру (наприклад політерефталат). Найбільшого поширення набули пластини, як основу яких використовують алюмінієву фольгу або полімери.

Для закріплення сорбенту застосовують гіпс, крохмаль, сіліказоль та інші, які утримують зерна сорбенту на підкладці. Товщина шару може бути різною (100 і більше мкм), але найважливіший критерій - шар повинен бути рівномірний по товщині в будь-якому місці хроматографічної пластинки.

У тонкошаровій хроматографії, як рухомі фази використовують або чисті речовини (етилацетат, бензол тощо), або суміші речовин (системи) у певному співвідношенні.

Попередня підготовка пластин полягає в розгонці пластин чистим розчинником на всю висоту пластинки (метанол, бензол, діетиловий ефір), з

наступною сушкою пластини в сушильній шафі при температурі 110-120 °С протягом 0,5-1 години.

Хроматографічна камера являє собою ємність з інертного прозорого матеріалу із щільно припасованою кришкою і з плоским дном або дном з двома жолобами, відповідними за розміром пластинкам, що використовуються для горизонтального елюювання. Хроматографічна камера має жолоб для рухомої фази і додатково містить пристрій для подачі рухомої фази до нерухомої фази.

Для нанесення розчинів придатні мікропіпетки, мікрошприци, калібровані капіляри.

Об'єми розчинів досліджуваних речовин, зазначені в окремій статті, наносять невеликими порціями, одержуючи круглі плями (від 1 мм до 2 мм у діаметрі) або смуги (завдовжки від 5 мм до 10 мм і завширшки від 1 мм до 2 мм) на підхожій відстані від нижнього краю і від бічних країв пластинок наносять на лінію, паралельну нижньому краю пластинки з інтервалом не менш як 5 мм між нанесеними пробами. Після випарування розчинників з нанесених проб пластинку поміщають у хроматографічну камеру якомога більше вертикально, стежачи за тим, щоб плями або смуги знаходилися вище поверхні рухомої фази. Камеру закривають, залишають її при температурі від 20 до 25°С у захищеному від прямих сонячних променів місці. Після того, як рухома фаза пройде відстань зазначену в окремій статті, пластинку виймають, сушать і виявляють плями способом, зазначеним в окремій статті.

Метод кислотно-основного титрування у неводних розчинниках згідно ДФУ (2 Вид., с.67) застосовується для кількісного визначення речовин, що являють собою кислоти, основи або солі, титрування яких у воді утруднене або неможливе через слабкі кислотно-основні властивості або малу розчинність. У неводних розчинниках різко змінюються кислотно-основні властивості різних речовин. В залежності від розчинника та сама речовина може бути кислотою, основою або взагалі не виявляти кислотно-основних властивостей. Застосування різних розчинників дозволяє управляти кислотно-

основними властивостям и речовин. Як кислоти можна титрувати: карбонові кислоти, феноли, барбітурати, сульфаміди, амінокислоти та ін. Як основи можна титрувати: аміни, азотвмісні гетероциклічні сполуки, аміді, четвертинні і амонієві основи та ін. Оптимальні умови титрування для слабких кислот досягаються в основних неводних розчинниках, таких як піридин, диметилформамід; для слабких основ у кислих неводних розчинниках, таких як оцтова кислота і оцтовий ангідрид. Метод неводного титрування застосовують також для кількісного визначення речовин, які містять карбонільну групу, мають слабо виражені кислотно-основні властивості й не піддаються прямому титруванню в неводних розчинниках. Титрування в неводних середовищах може бути проведене як з індикаторами, так і потенціометрично з використанням як індикаторного скляного або інших оборотних до протона електродів. Як електрод порівняння звичайно використовують хлорсрібний електрод. При титруванні в основних розчинниках належить вживати заходів для захисту титрованого розчину і титранту від вуглецю діоксиду, який міститься в повітрі. Титрування краще проводити в атмосфері інертного газу (азоту, гелію).

Статистична обробка

Статистичну обробку проводили методами математичної статистики з використанням пакетів прикладних програм «Биостатистика для Windows, версія 4.03» і «Microsoft Excel 2002». Для кожної ознаки, що досліджувалась, визначали показники середнього арифметичного (M) і стандартної помилки середнього арифметичного (m). Нормальність розподілення перевіряли з використанням тесту Колмогорова-Смирнова. При умові відповідності нормальності розподілу достовірність отриманих відмінностей величин, що порівнювались, оцінювали за допомогою t -критерію Стьюдента. Достовірність відмінностей відносних величин оцінювалась з використанням критерію χ^2 . Достовірними вважали відмінності з рівнем значимості більше 95% ($p < 0,05$). (Лапач С.Н., Губенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-

биологических исследованиях с использованием EXCEL. – К. : «МОРИОН», 2002. – 640 с.).

Вивчення біодоступності, фармакологічних властивостей, безпечності (гостра токсичність (ЛД₅₀), загальна і нейротоксичність, гепатоксичність), 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".

Референс (стандартні препарати)

Як референс-препарат використано:

- Мілдронат - в капсулах по 250 мг виробництва АТ «Гриндекс» (Латвія).

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК «АНГІОЛІН» МЕТОДОМ ВОЛОГОЇ ГРАНУЛЯЦІЇ

3.1 Актуальність розробки таблетованої лікарської форми на основі препарату «Ангіолін»

В даний час основним об'єктом уваги нейрофізіологів, фармакологів і клініцистів став ендотелій судин, який вважається як органом - мішенню для артеріальної гіпертонії, атеросклерозу, цукрового діабету, мозкового інсульту, так і ефектором в патогенезі даних захворювань. Проте і на зараз немає препаратів з доведеним ендотеліопротективною дією [238, 239]. Майбутнє за препаратами, що мають не тільки нейропротективну дію, але і опосередкований позитивний вплив на ендотеліальну функцію [3, 50]. Великий практичний інтерес може представляти комплексне лікування ендотеліальної дисфункції при судинній патології головного мозку, коли реперфузійна, антитромботична і нейропротективна терапія буде поєднуватися із застосуванням інших препаратів - коректорів порушень функцій ендотелію [226, 227, 233].

Враховуючи роль оксидативного стресу в механізмах пошкодження клітини при більшості захворювань людини, практично обов'язковим є включення антиоксидантів в комплекс медикаментозного лікування з метою потенціювання дії засобів базової терапії [234, 235].

Крім цього, враховуючи ряд серйозних побічних ефектів базових засобів, спрямованих на порушення тонких ланок метаболізму органів і тканин, включення в комплексну терапію антиоксидантів може підвищити безпеку пропонованого медикаментозного лікування.

У цьому зв'язку, одним з перспективних підходів у розробці лікарських засобів, створюваний співробітниками Запорізького державного медичного університету на фахівцями НВО «Фарматрон» під керівництвом Мазура І. А.,

є зв'язування діючих речовин у молекулярний комплекс з сумісними за фізико-хімічними та фармакологічними характеристиками антиоксидантами або метаболітами, і створення препарату на основі фіксованої комбінації, що забезпечує захист базового препарату від швидкого метаболізму в організмі і покращує його транспорт через біологічні мембрани. Такий підхід до створення комбінованих препаратів визначає і їх більш високу, у порівнянні з застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність, і дозволяє пролонгувати ефект діючої речовини за рахунок підвищення афінності до рецептора органу-мішені.

При проведенні хімічної модифікації молекули препарату - лідера тіотриазоліну були отримані нові катіонно-аніонні активні сполуки. Найбільш активним стало з'єднання, що поєднує в своїй молекулі структурні фрагменти тіотриазоліну і амінокислоти лізину [115, 116].

У таких клінічно перевірених активних фармацевтичних інгредієнтів знаходять нові властивості. Завдяки саме такому підходу створено співробітниками НВО «Фарматрон» і співробітниками Запорізького державного медичного університету під керівництвом професора Мазура І. А. новий активний фармацевтичний інгредієнт під робочою назвою «Ангіолін». «Ангіолін» є сіллю (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату. АФІ планується застосовувати для терапії захворювань серцево-судинної групи, особливо при хронічній патології [118, 119].

Лікарські засоби, які здатні переривати або зменшувати каскад несприятливих метаболічних реакцій, викликаних ішемією і об'єднаних назвою «метаболітотропні кардіопротектори», надають захисну дію на міокард і мають безсумнівні перспективи в клінічній практиці.

Численними дослідженнями про вплив лікарської форми на терапевтичну ефективність лікарських препаратів встановлено, що оптимальна активність лікарської речовини досягається тільки при призначенні його в раціональній лікарській формі. Крім того, в цьому випадку

можна уникнути багатьох побічних ефектів лікарських препаратів на організм [7, 27, 128, 129].

В ході опрацювання літературних джерел встановлено, що «метаболітотропні кардіопротектори» в більшості випадків потрібно застосовувати протягом довготривалого часу, а іноді й усього життя. Більшість препаратів для лікування серцево-судинних захворювань застосовуються у вигляді таблеток. Виходячи з вищесказаного, актуальною є розробка технології таблеток на основі ангіоліну.

3.2 Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції

Систематичні доклінічні дослідження ангіоліну як метаболітотропного кардіопротекторного препарату дало можливість встановити ED_{50} на тваринах і спрогнозувати доцільність його прийому людиною в дозі 200 мг на прийом[74].

Беручи до уваги результати фармакологічних досліджень, стало доцільним розробити технологію таблеток «Ангіолін» із вмістом діючої речовини 200 мг. Тому метою нашої роботи є розробка технології таблеток «Ангіолін» із вмістом діючої речовини 200 мг [140, 150, 151, 152].

Ангіолін – дрібнодисперсний порошок, технологічні властивості якого вказують на можливість отримання таблеток методом вологої грануляції. Були проведені морфометричні дослідження субстанції ангіоліну та встановлено розміри часток порошку в діапазоні від 42,8 мкм до 96,4 мкм, середнє значення розміру часток складає 63,2 мкм (рис. 3.1).



Рис. 3.1 Мікроснімок порошку субстанції ангіоліну (масштаб 1:400)

Дослідження фармако-технологічних властивостей порошку «Ангіолін» показало, що досягти необхідних показників, при яких забезпечується пряме пресування таблеток з вмістом 0,200 г АФІ дуже складно. Навіть додавання значної кількості ДР, за допомогою яких отримують таблетки прямим пресуванням не вдалося досягти позитивного результату [44, 45, 49, 76, 162]. Тому був запропонований метод вологої грануляції так, як цей метод найбільш поширений в нашій країні і в усьому світі [163, 164]. Проведені дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин (ДР) з метою отримання таблеток «Ангіолін» вологою грануляцією. Були досліджені чотири групи допоміжних речовин, які володіють різними фізичними та технологічними властивостями (табл. 3.1.).

Таблиця 3.1

**Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці складу таблеток
«Ангіолін»**

Фактори	Рівні факторів
1	2
А – Наповнювачі на основі цукрів	а ₁ – цукор пудра а ₂ – лактоза гранулак 100

1	2
	a ₃ – лудифлеш a ₄ – сорбіт
В – Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію	b ₁ – МКЦ 101 b ₂ – МКЦ бурст b ₃ – МКЦ 102 b ₄ – кальцій дигідрофосфат безводний
С – Зв'язуючі розчини	c ₁ – 3% крохмальний клейстер c ₂ – 3% р-н метилцеллюлози 15 c ₃ – 3% р-н ГПМЦ 50 c ₄ – 5 % р-н колідону 90 Ф
Д – Ковзні речовини	d ₁ – тальк d ₂ – неуселін УС 2 d ₃ – просолв 90 d ₄ – МКЦ 200

Досліджували 16 допоміжних речовин, більшість з яких з'явилися на ринку в останні роки і не мають прикладів використання у фармацевтичній технології при створенні таблетованих препаратів [78, 137, 138, 157, 159, 204, 205].

При складанні рецептури таблеток виходили із наступних співвідношень (на 1 таблетку): ангіоліну – 0,200 г (62,5%), наповнювачі на основі цукрів – 0,0472 г (14,75%), наповнювачі на основі МКЦ та кальцію дигідрофосфату безводного – 0,006 г (18,75 %), зв'язуючого розчину – скільки потрібно до отримання пластичної маси [89, 90, 123]. Вологу масу протирали через сито з розміром отворів 3 мм на протвині та висушували в сушильній шафі при температурі 60°C [148, 149]. Суху масу протирали через сито з

розміром отворів 1 мм, опудрювали ковзкими речовинами (3%) та кальцію стеаратом (1%) [92, 156].

Отримані гранули володіли доброю плинністю та іншими показниками необхідними для отримання таблеток на лабораторній таблетковій машині.

При вивченні чотирьох якісних факторів використовували один із планів дисперсійного аналізу - чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату [46, 101, 112]. Досліди реалізовані у двох повторностях, що дозволили зменшити помилку експерименту.

Матриця планування експерименту та результати дослідження порошкових мас та таблеток «Ангіолін» наведені в табл. 3.2. За результатами експериментальних досліджень провели дисперсійний аналіз (Додаток А)

Таблиця 3.2

**Чотирьохфакторний експеримент на основі гіпер-греко-латинського квадрату та результати дослідження
порошкових мас та таблеток «Ангіолін»***

N зп	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	3,51	3,47	5	5	5	5	0,22	0,21	92,7	92,3	18,33	17,58	99,74	100,41	99,45	100,15	0,639	0,655
2	a ₁	b ₂	c ₂	d ₄	4,04	4,09	5	5	5	5	0,19	0,2	93,8	94,5	6,58	7,03	100,95	100,30	100,38	100,13	0,885	0,883
3	a ₁	b ₃	c ₃	d ₂	3,42	3,41	5	5	5	4	0,25	0,24	118,4	118,1	31,61	31,86	99,75	100,40	99,55	100,12	0,000	0,000
4	a ₁	b ₄	c ₄	d ₃	2,73	2,74	5	5	4	4	0,13	0,13	117,7	118,2	7,08	6,85	99,85	100,20	99,45	99,88	0,919	0,919
5	a ₂	b ₁	c ₂	d ₃	2,28	2,29	4	4	4	5	0,52	0,5	32,2	32,5	6,41	6,23	100,05	100,35	99,87	100,08	0,716	0,738
6	a ₂	b ₂	c ₁	d ₂	3,15	3,19	5	5	5	5	0,31	0,33	37,5	37,1	2,03	2,41	99,70	99,25	99,10	99,05	0,817	0,815
7	a ₂	b ₃	c ₄	d ₄	1,22	1,2	4	4	4	3	0,59	0,6	28,8	28,2	0,91	1,06	100,25	100,45	100,04	100,07	0,597	0,500
8	a ₂	b ₄	c ₃	d ₁	2,96	2,95	3	3	3	2	0,31	0,31	62,8	63,3	10,33	10,57	99,60	100,10	99,40	99,77	0,606	0,000
9	a ₃	b ₁	c ₃	d ₄	2,6	2,63	4	4	5	5	0,18	0,18	57,3	56,6	8,28	8,34	100,65	100,15	100,34	99,89	0,875	0,880
10	a ₃	b ₂	c ₄	d ₁	2,26	2,28	5	5	4	4	0,65	0,63	33,6	33,5	2,4	2,61	100,25	100,35	100,05	99,88	0,698	0,704
11	a ₃	b ₃	c ₁	d ₃	1,62	1,61	3	2	4	5	0,25	0,26	95,12	95,1	20,26	20,54	100,20	99,85	99,98	99,76	0,454	0,000
12	a ₃	b ₄	c ₂	d ₂	5,24	5,26	5	5	4	4	0,29	0,29	51,1	51,4	9,33	9,1	99,75	100,15	99,45	100,04	0,677	0,728
13	a ₄	b ₁	c ₄	d ₂	1,3	1,31	3	2	3	2	0,17	0,18	44,3	43,9	20,16	19,84	100,55	100,05	100,12	99,68	0,363	0,000

Продовження табл. 3.2

14	a_4	b_2	c_3	d_3	2,63	2,58	4	4	4	4	0,29	0,27	33,5	33,4	13,25	13,03	100,80	100,25	100,21	99,87	0,688	0,691
15	a_4	b_3	c_2	d_1	2,72	2,68	4	4	3	4	0,14	0,15	41,6	41,8	22,25	21,87	99,85	100,10	99,34	99,76	0,449	0,423
16	a_4	b_4	c_1	d_4	1,87	1,88	4	4	3	3	0,21	0,21	62,7	62,5	10,58	10,24	100,65	100,05	100,33	99,78	0,755	0,742

Примітка.* y_1 і y'_1 – однорідність маси таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, $\pm\%$; y_2 і y'_2 – процес пресування таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, бали; y_3 і y'_3 – зовнішній вигляд таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, бали; y_4 і y'_4 – стиранність таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, $\%$; y_5 і y'_5 – міцність таблеток першої і другої серії дослідів відповідно першої серії дослідів, Н; y_6 і y'_6 – час розпадання таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, хв.; y_7 і y'_7 – кількісний вміст діючої речовини після виготовлення таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, $\%$; y_8 і y'_8 – кількісний вміст діючої речовини через 6 міс. зберігання таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, $\%$; D і D' – функція бажаності першої і другої серії дослідів відповідно

На основі проведеного дисперсійного аналізу зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток «Ангіолін». Після встановлення значимості досліджених факторів, проводили порівняння для вивчених рівнів.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на однорідність маси таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $C > A > B > D$

На рис. 3.2 показано вплив наповнювачей на основі цукрів (фактору А) на однорідність маси таблеток «Ангіолін».

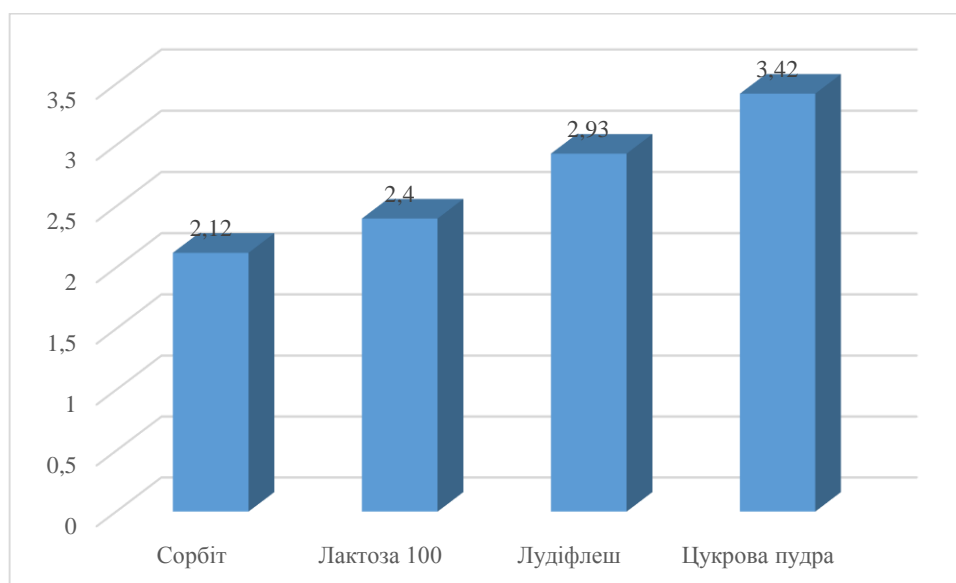


Рис. 3.2 Вплив наповнювачей на основі цукрів (фактор А) на однорідність маси таблеток «Ангіолін»

Найкращі показники спостерігали при використанні сорбіту, який має перевагу над лактозою 100, лудифлешем та цукровою пудрою. Зазначимо, що для всіх видів досліджених цукрів однорідність маси отриманих таблеток знаходилась у фармакопейних нормах.

В подальших дослідженнях було вивчено вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактор В) на однорідність дозування таблеток «Ангіолін» (рис. 3.3).

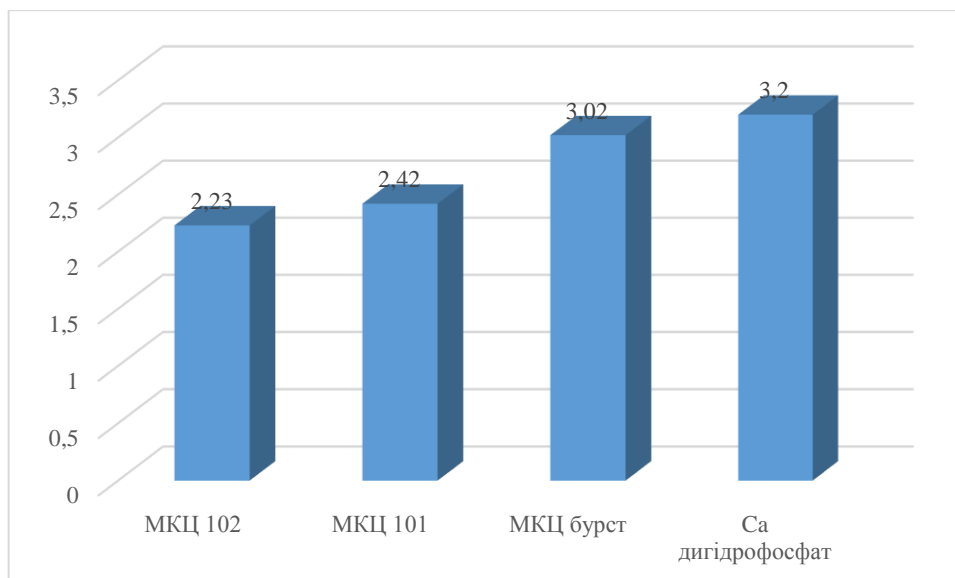


Рис. 3.3 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактор В) на однорідність маси таблеток «Ангіолін»

З наведеного рис. 3.3 бачимо, що найкраще однорідність маси таблеток «Ангіолін» забезпечується при використанні МКЦ-102 і МКЦ-101, які мають переваги над МКЦ-бурст та кальцію дигідрофосфату безводного.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на однорідність дозування маси таблеток, результати наведено на рис. 3.4

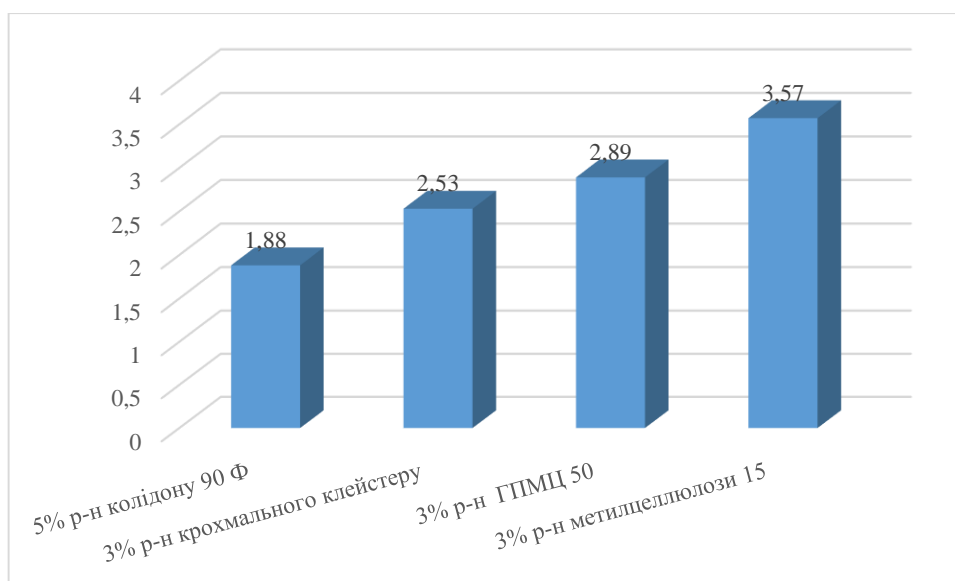


Рис. 3.4 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на однорідність маси таблеток «Ангіолін»

На рис. 3.4 досліджувані допоміжні речовини розміщені за впливом на однорідність маси таблеток. Найкращі показники спостерігаються при використанні 5% розчину колідону 90 Ф, який має перевагу 3% крохмальним клейстером і 3% розчином метилцелюлози 15 та суттєву перевагу над 3% розчином ГПМЦ 50.

Наступним дослідженням стало вивчення впливу ковзких речовин (фактор D) на однорідність дозування маси таблеток «Ангіолін», результати наведено на рис. 3.5

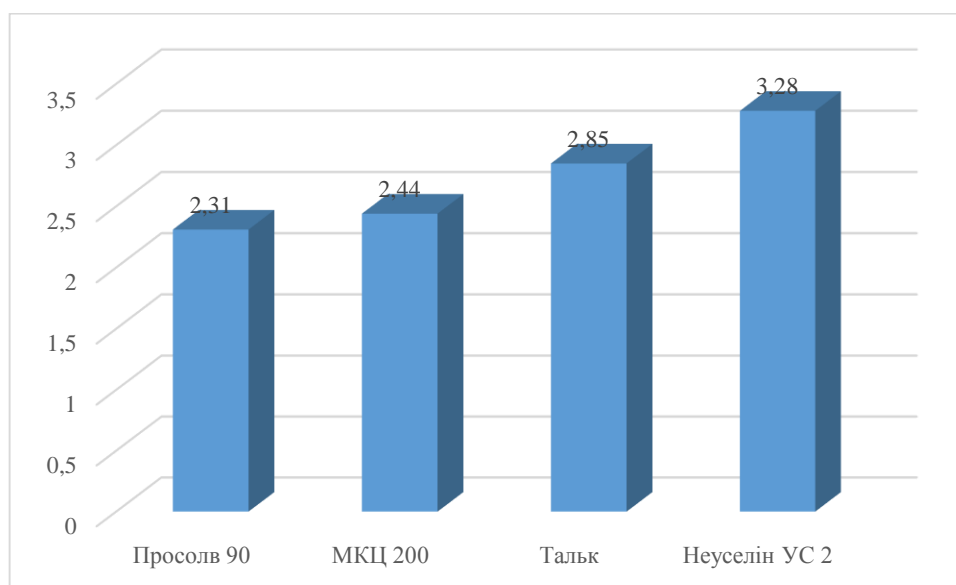


Рис. 3.5 Вплив ковзких речовин (фактор D) на однорідність маси таблеток «Ангіолін»

На основі проведеного дисперсійного аналізу зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток «Ангіолін». Результати дисперсійного аналізу показали, що на процес пресування таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $A > B > C > D$

Вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактор A) на процес пресування таблеток наведено на рис. 3.6

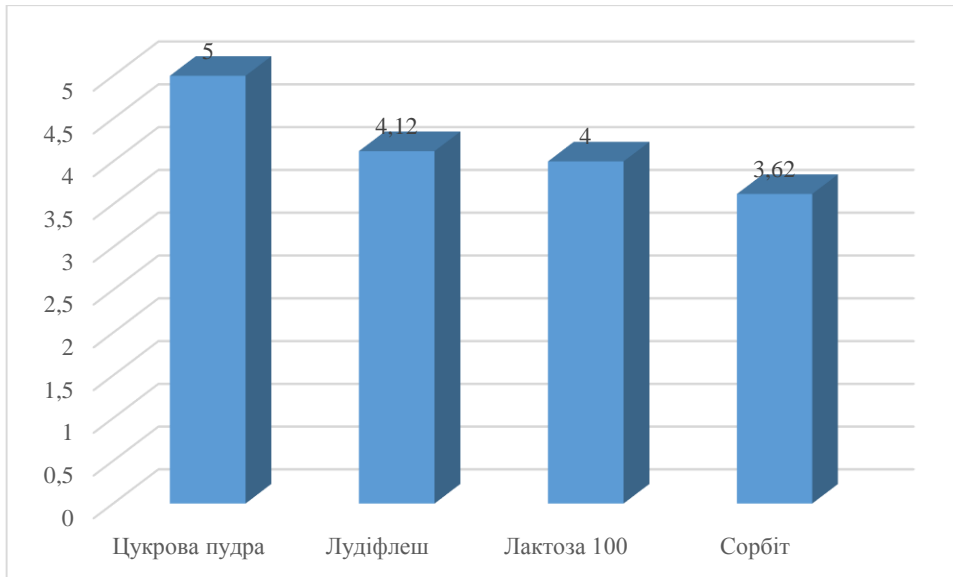


Рис. 3.6 Вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактору А) на процес пресування таблеток

Аналіз рис. 3.6 показав, що найкраще впливають на процес пресування допоміжна речовина цукрова пудра, гірше впливають лудіфлеш, лактоза 100 та сорбіт.

В наступних дослідженнях розглянуто вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на процес пресування таблеток

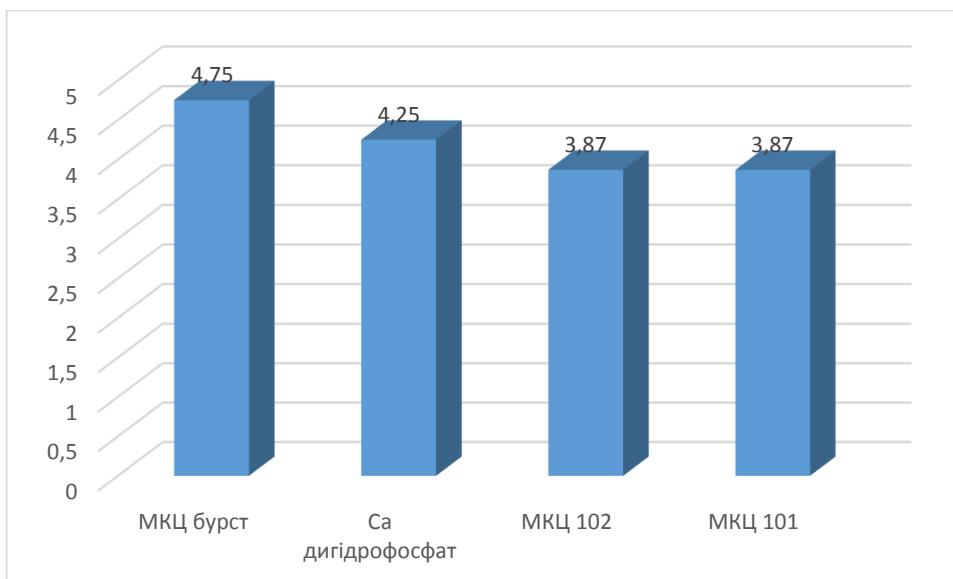


Рис. 3.7 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактор В) на процес пресування таблеток

Аналіз рис. 3.7 показав, що наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію за впливом на процес пресування таблеток можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ бурст > МКЦ 101 > МКЦ 102 > Кальція дигідрофосфат безводний. Найкраще себе зарекомендували МКЦ бурст.

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

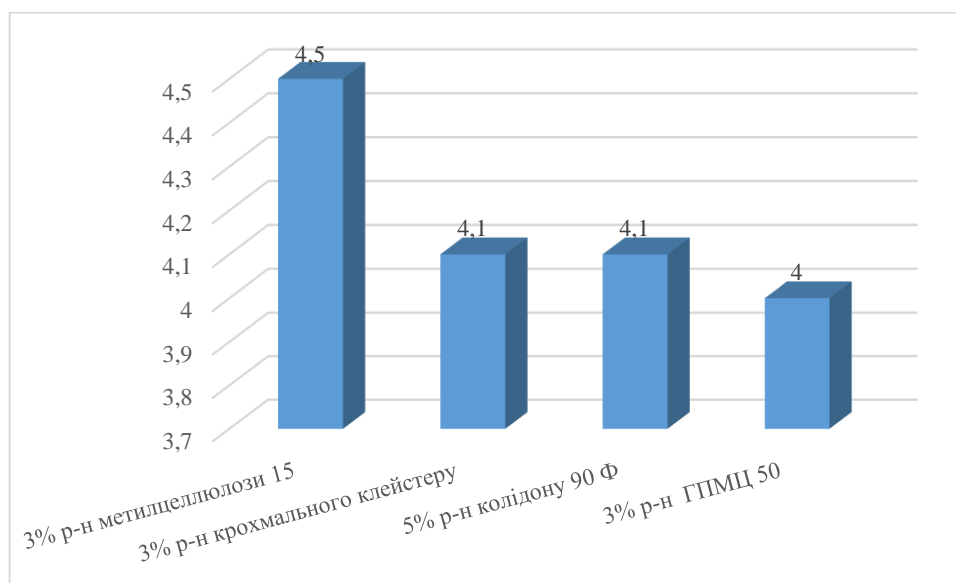


Рис. 3.8 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на процес пресування таблеток

Проаналізувавши рис. 3.8 можна сказати, що найкраще впливають на процес пресування таблеток допоміжні речовини, а саме 3% розчин метилцелюлози 15, який має перевагу над 3% крохмальним клейстером, 5% розчином колідону 90 Ф та 3% розчином ГМПЦ 50.

В подальших дослідженнях було розглянуто вплив ковзких речовин (фактору D) на процес пресування таблеток (рис. 3.9).

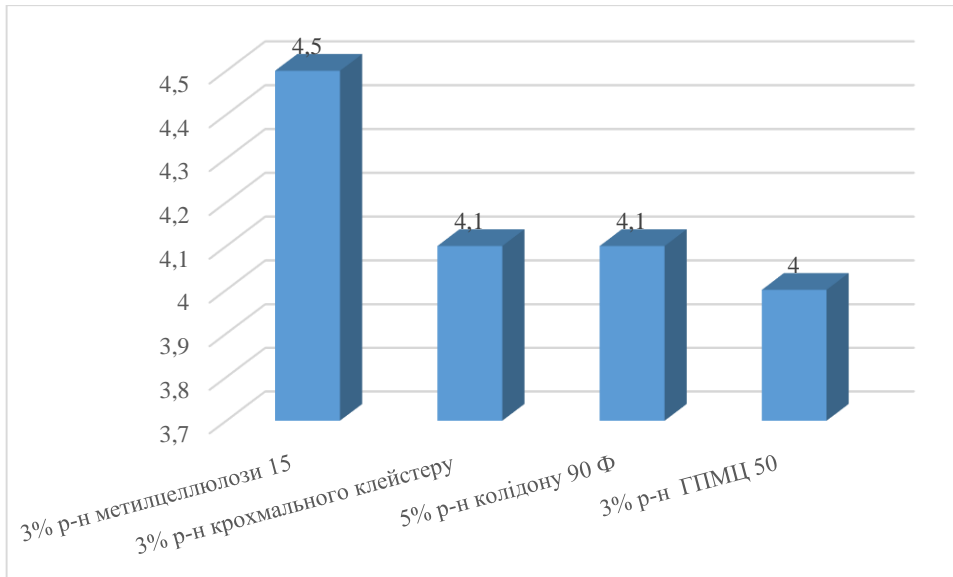


Рис. 3.9 Вплив ковзних речовин (фактору D) на процес пресування таблеток

Аналіз рис. 3.9 показав, що найкраще впливають на процес пресування допоміжна речовина МКЦ 200, гірше впливають тальк, просолв 90 та неуселін УС 2.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на зовнішній вигляд таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $A > C > B > D$.

Було досліджено вплив наповнювачів на основі цукрів (фактор A) на зовнішній вигляд таблеток (рис. 3.10).

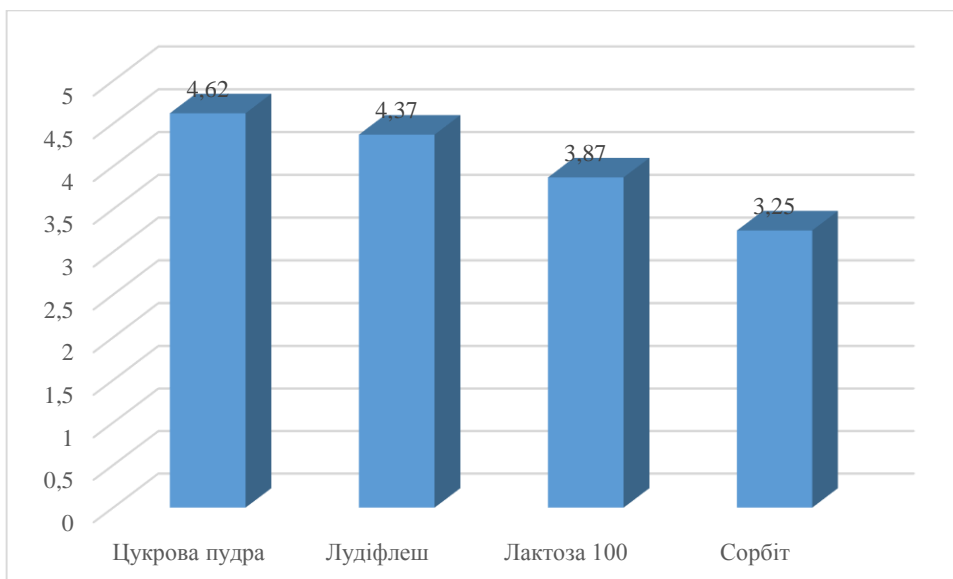


Рис. 3.10 Вплив наповнювачів на основі цукрів (фактор A) на зовнішній вигляд таблеток

На наведеному рис. 3.10 досліджувані допоміжні речовини розміщені за впливом на зовнішній вигляд таблеток. Найкращі показники спостерігали при використанні цукрової пудри та лудіфлеш, які мають перевагу над лактозою 100 та сорбітом.

В подальших дослідженнях було вивчено вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на зовнішній вигляд таблеток (рис. 3.11).

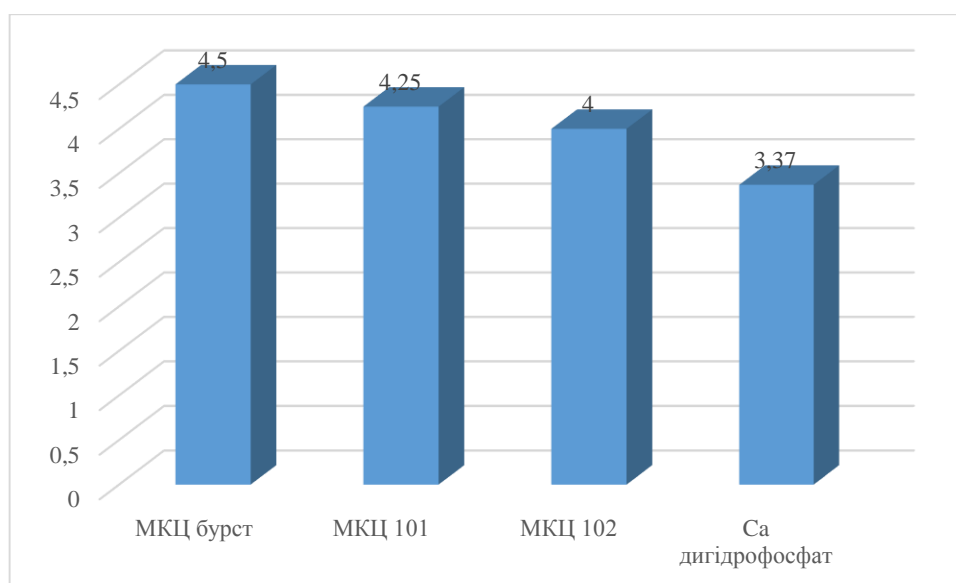


Рис. 3.11 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на зовнішній вигляд таблеток.

Аналіз рис. 3.11 показав, що найкраще впливають на зовнішній вигляд допоміжна речовина МКЦ бурст, гірше впливають МКЦ 101, МКЦ 102 та Кальцію дигідрофосфат безводний.

В наступних дослідженнях нами було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішньому вигляді таблеток (рис. 3.12.).

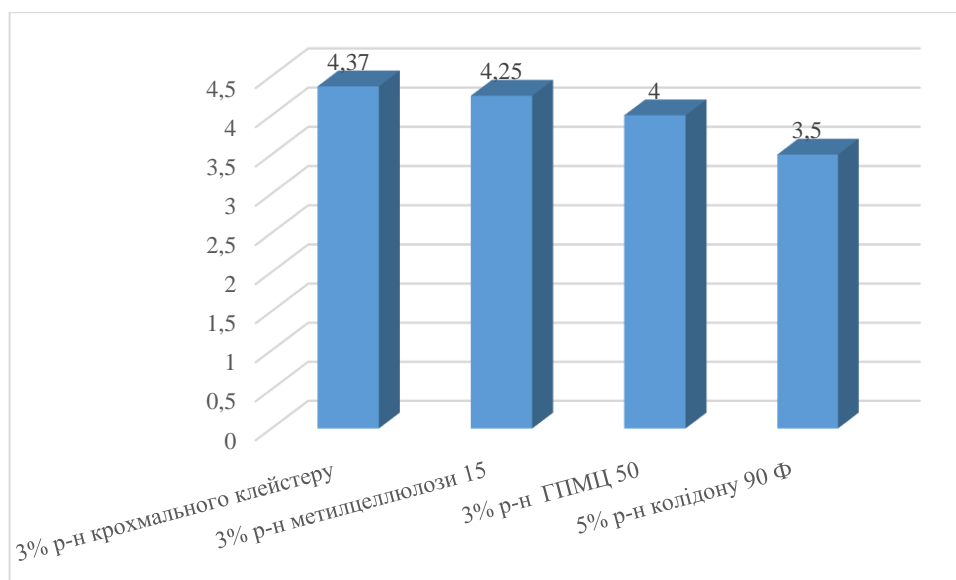


Рис. 3.12 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішній вигляд таблеток.

На рис. 3.12 досліджувані допоміжні речовини розміщені за впливом на зовнішній вигляд таблеток. Найкращі показники спостерігаємо при використанні 3% крохмального клейстеру та 3% розчину ГПМЦ, які мають перевагу над 3% розчином метилцелюлози 15 та 5% розчином колі дону 90 Ф.

Наступним дослідженням стало вивчення впливу ковзких речовин (фактору D) на зовнішньому вигляді таблеток (рис. 3.13.).

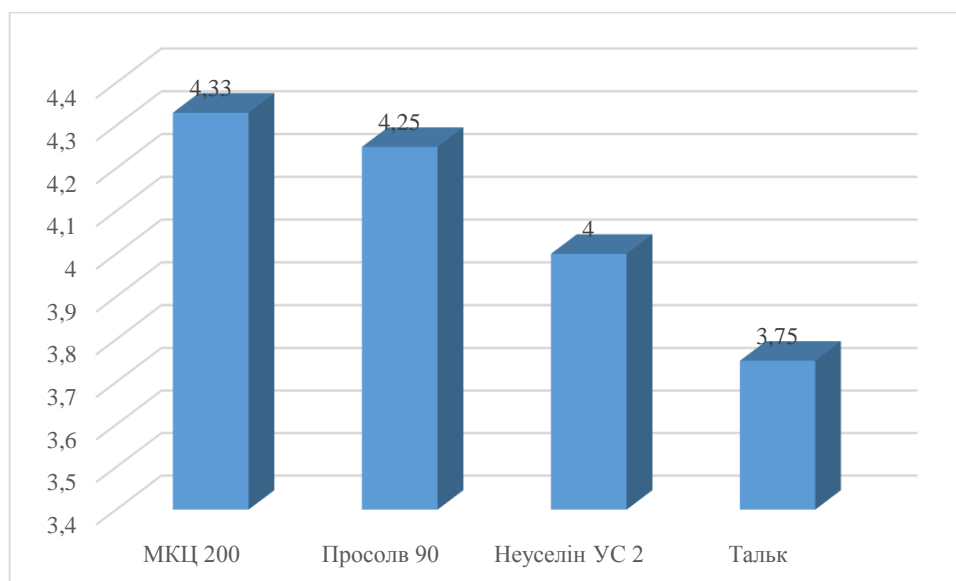


Рис. 3.13 Вплив ковзких речовин (фактору D) на зовнішній вигляд таблеток.

Проаналізувавши рис. 3.13 можна сказати, що найкраще впливають на зовнішній вигляд таблеток допоміжні речовини МКЦ 200, який має перевагу над просолвом 90, тальком та неуселіном УС 2.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на стиранність таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $A > B > C > D$.

Проведено дослідження впливу наповнювачів, на основі цукрів (фактор А) на стиранність таблеток (рис. 3.14).

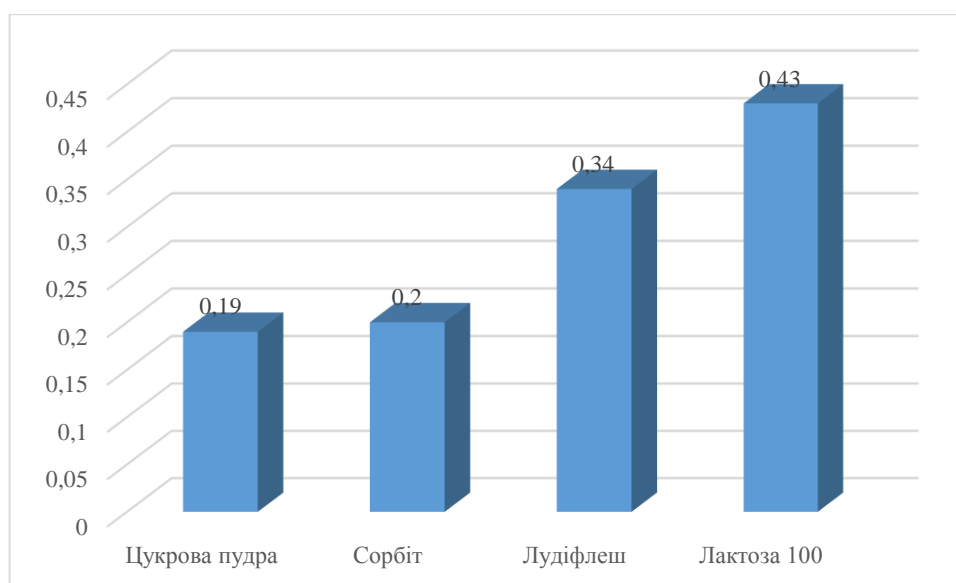


Рис. 3.14 Вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактор А) на стиранність таблеток.

Аналіз рис. 3.14 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на стиранність таблеток можна розмістити в наступній послідовності: цукрова пудра > сорбіт > лудіфлеш > лактоза 100. Найкраще себе проявила цукрова пудра, тоді як лактоза 100 показала найвищий відсоток стираності таблеток.

Далі нами було розглянуто вплив наповнювачей на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на стиранність таблеток (рис. 3.15).

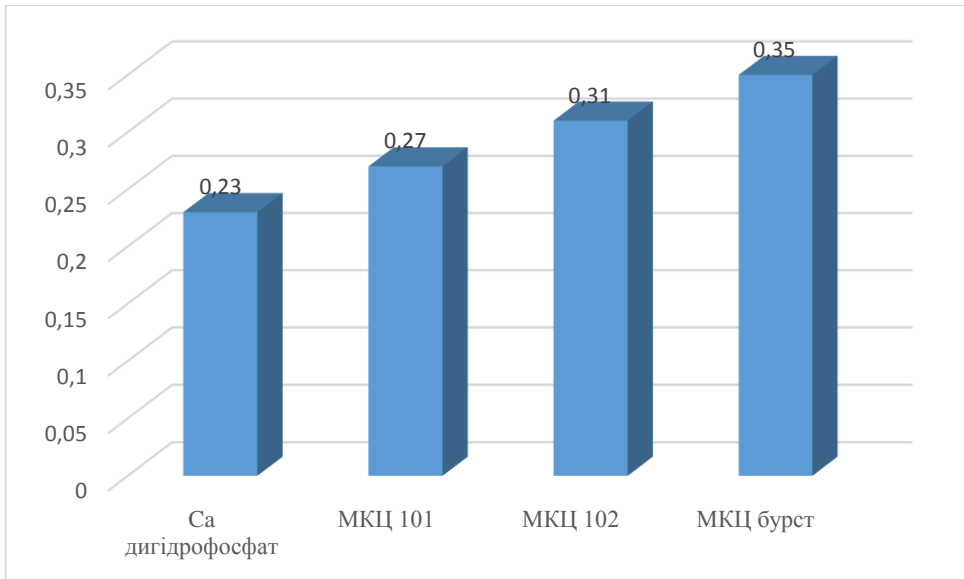


Рис. 3.15 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на стиранність таблеток.

Аналіз рис. 3.15 показав, що найменше значення стиранності спостерігається при використанні кальцію дигідрофосфату безводному, який має перевагу над МКЦ 101, МКЦ 102, МКЦ бурст.

У подальших дослідженнях нами було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на стиранність таблеток (рис. 3.16).

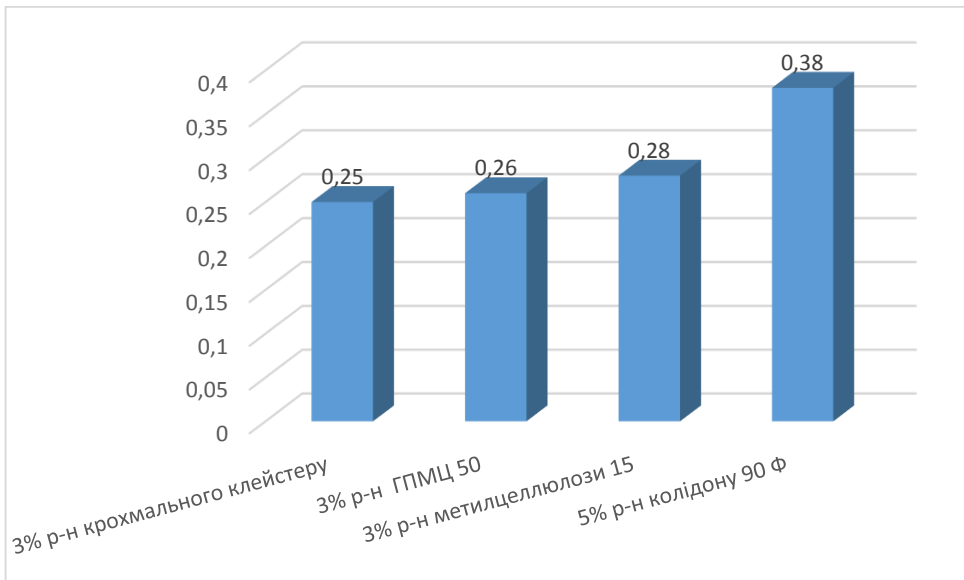


Рис. 3.16 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на стиранність таблеток.

З рис. 3.16 бачимо, що найменшу стиранність мають таблетки при використанні у якості наповнювача для забезпечення технологічних показників 3% крохмальний клейстер, якій не суттєво поступається 3% розчину ГМПЦ 50 та 3% розчину метилцелюлози 15, а суттєво 5% розчин колідону 90 Ф.

У наступних дослідженнях нами було вивчено вплив ковзних речовин (фактору D) на стиранність таблеток (рис. 3.17).

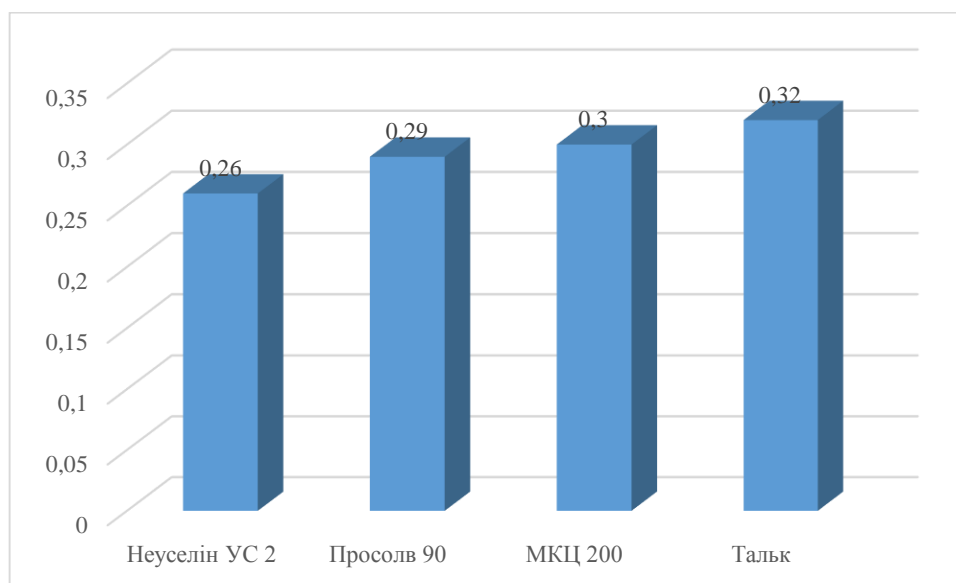


Рис. 3.17 Вплив ковзних речовин (фактору D) на стиранність таблеток

Аналіз рис. 3.17 показав, що найменше значення стиранності спостерігається при використанні нуеселіну УС 2, який має перевагу над МКЦ 200, просолом 90 і тальком.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на міцність таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $B > A > C > D$.

Розглянемо вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактор А) на міцність таблеток (рис. 3.18).

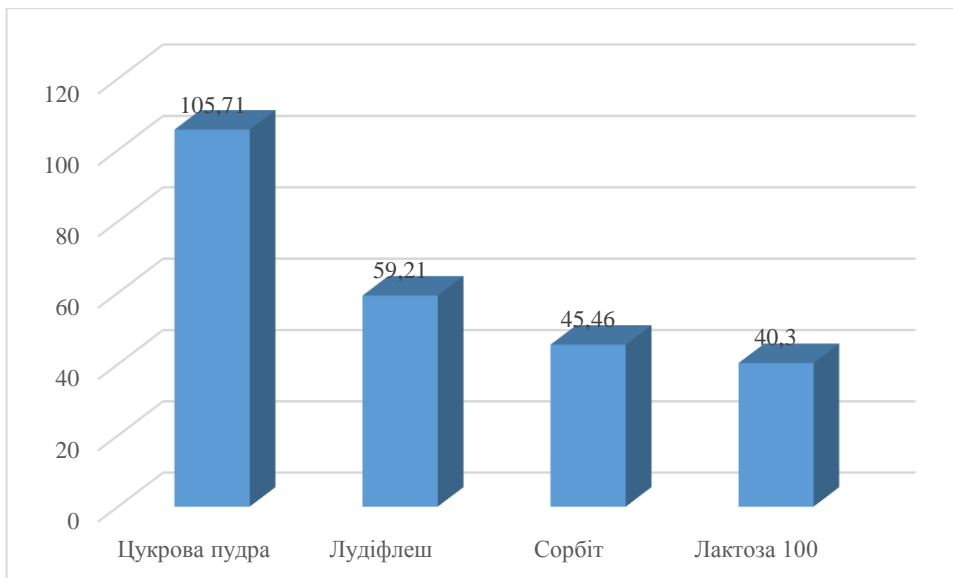


Рис. 3.18 Вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактор А) на міцність таблеток.

Аналіз рис. 3.18 показав, що ефективність рівнів фактора А можна проілюструвати наступним рядом переваг: лудифлеш, сорбіт, лактоза 100, цукрова пудра. Лідером серед речовин досліджуваної групи є лудифлеш.

Далі було досліджено вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на міцність таблеток (рис. 3.19).

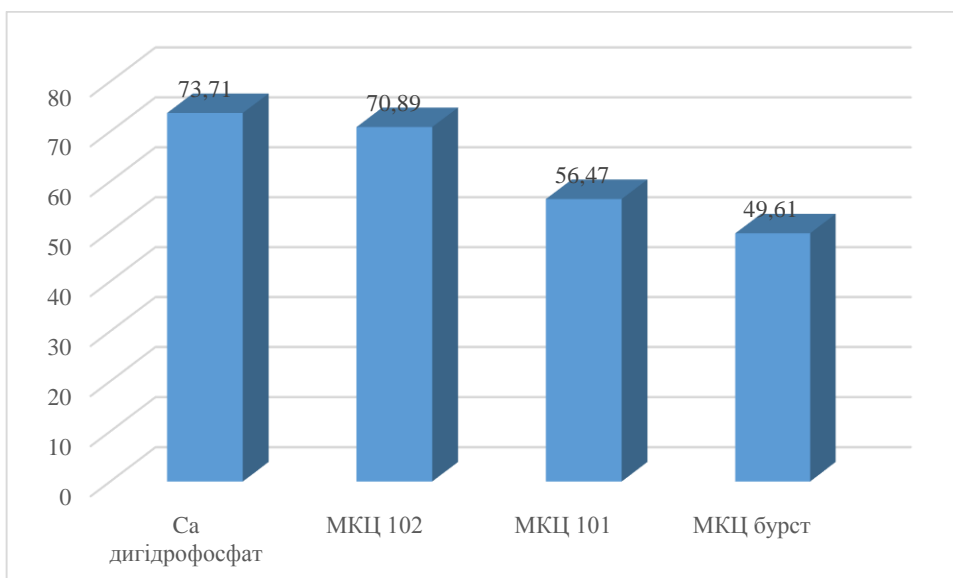


Рис. 3.19 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на міцність таблеток

Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію на механічну стійкість таблеток до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: Кальцій дигідрофосфат безводний > МКЦ 102 > МКЦ 101 > МКЦ бурст.

В подальшому було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на міцність таблеток (рис. 3.20).

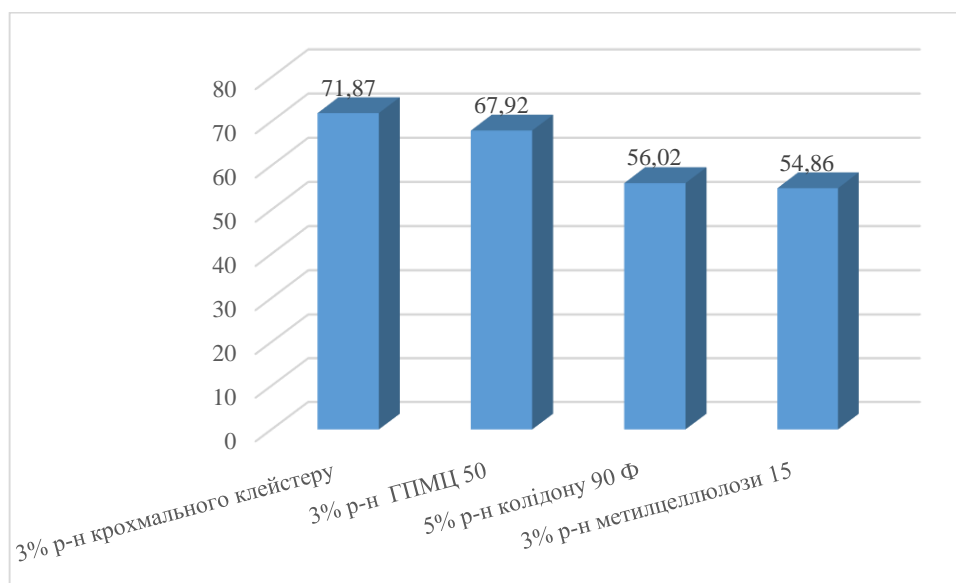


Рис. 3.20 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на міцність таблеток

З рис. 3.20 бачимо, що найбільшу стійкість до роздавлювання таблеток серед групи наповнювачів для забезпечення технологічних показників таблеток забезпечує 3% розчин крохмального клейстеру, не суттєво йому поступається 3% розчин ГПМЦ 50, а суттєво – 5% розчин колідону 90 Ф та 3% розчин метилцелюлози 15.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив ковзних речовин (фактору D) на міцність таблеток (рис. 3.21).

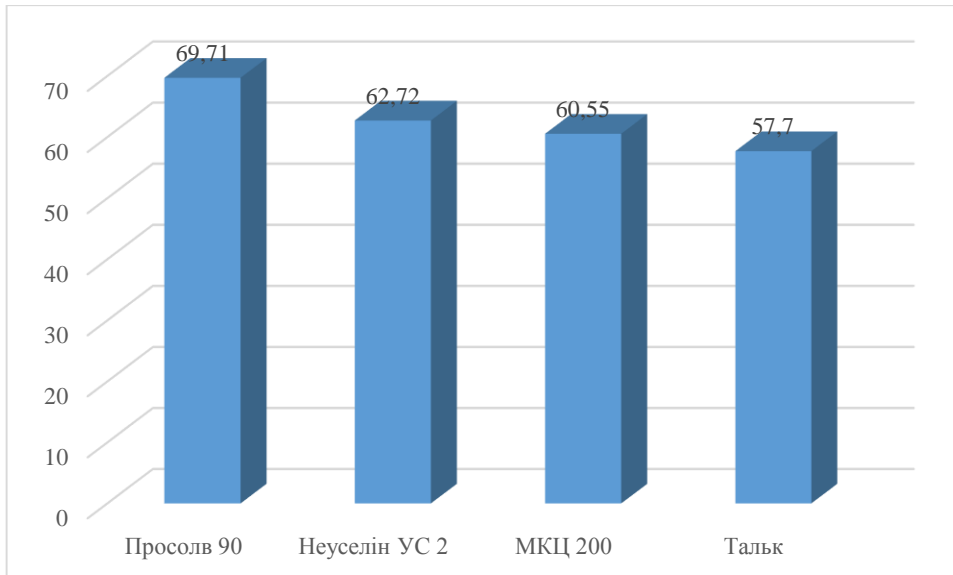


Рис. 3.21 Вплив ковзних речовин (фактору D) на міцність таблеток

Ковзні речовини за впливом на механічну стійкість таблеток до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: просолв 90 > неуселін УС 2 > МКЦ 200 > тальк.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на процесі розпадання таблеток «Ангіолін» впливають всі чотири вивчені фактори: $B > A > C > D$.

Проведено дослідження впливу наповнювачів, на основі цукрів (фактор A) на процес розпадання (рис. 3.22).

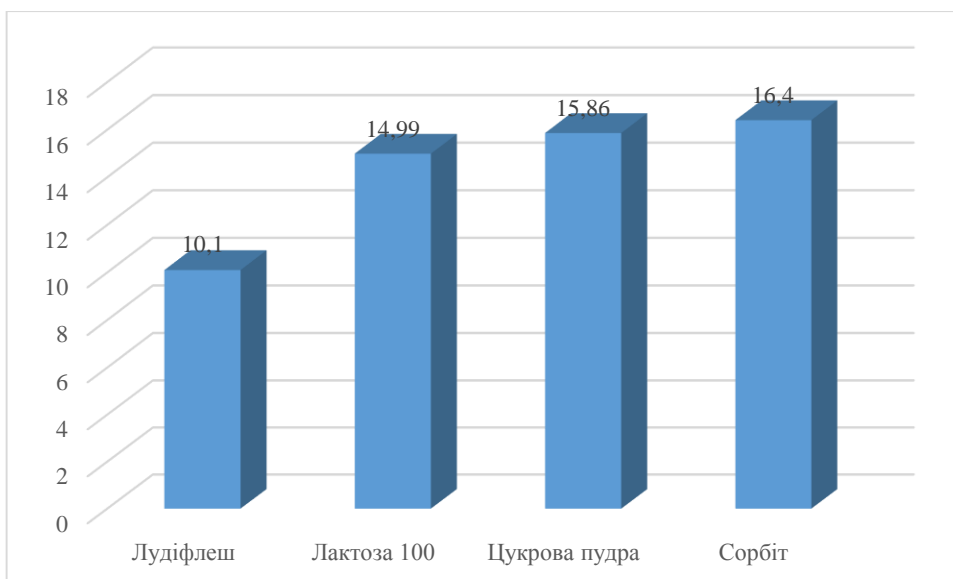


Рис. 3.22 Вплив наповнювачів, на основі цукрів (фактор A) на процес розпадання таблеток

Найшвидше розпадалися таблетки «Ангіолін», що містили водорозчинні допоміжні речовини (ДР) – лудіфлеш (10,1 хв.). Ця речовина має суттєву перевагу над лактозою 100 (14,99 хв.), цукровою пудрою (15,86 хв.) та сорбітом (16,4 хв.).

Далі було розглянуто вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на процес розпадання (рис. 3.23).

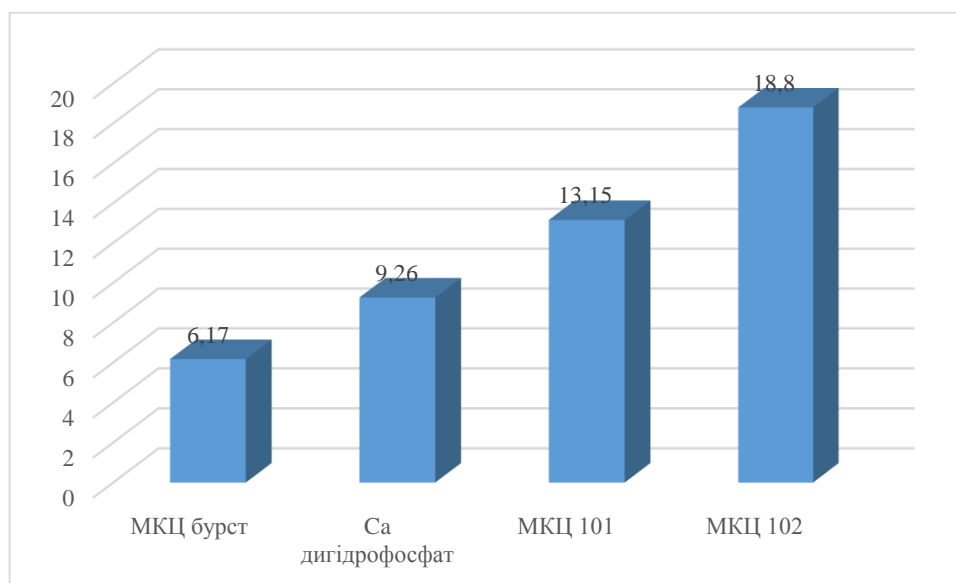


Рис.3.23 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактору В) на процес розпадання таблеток

Найшвидше розпадалися таблетки «Ангіолін», що містять в своєму складі МКЦ бурст (6,17 хв) і кальцій дигідрофосфат безводний (9,26 хв). Вказані допоміжні речовини мають значну перевагу над МКЦ 101 (13,15 хв) та МКЦ 102 (18,8 хв).

Далі розглянемо вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на процес розпадання (рис. 3.24).

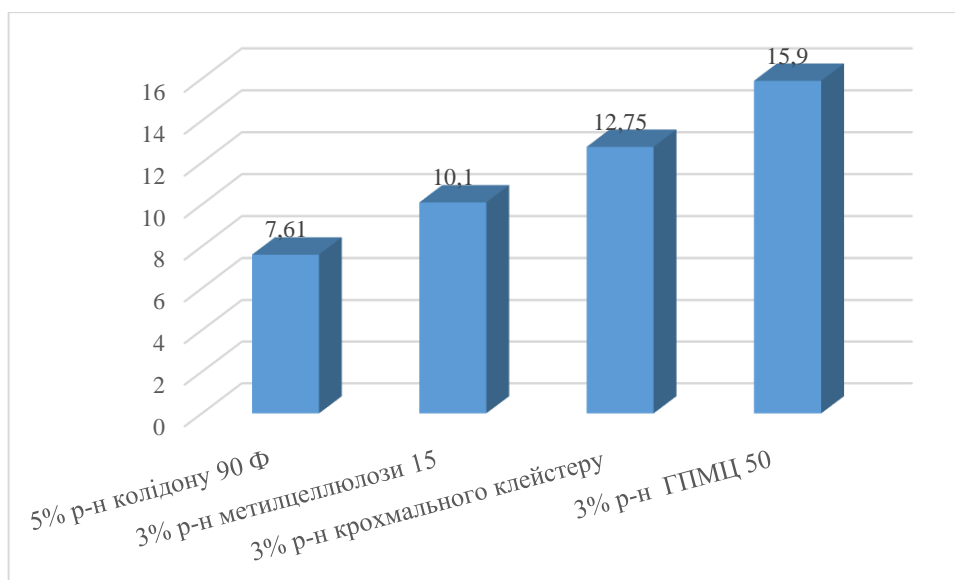


Рис.3.24 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на процес розпадання таблеток

Аналіз рис. 3.24 показав, що найменший час розпадання таблеток спостерігається при використанні 5% розчину колідону 90 Ф (7.61 хв). Вказана речовина має перевагу над 3% розчином метилцеллюлози 15 (10,1 хв), 3% крохмальним клейстером (12,75 хв) та 3% розчином ГПМЦ 50 (15,9 хв).

Далі було досліджено вплив ковзких речовин (фактору D) на процес розпадання (рис. 3.25).

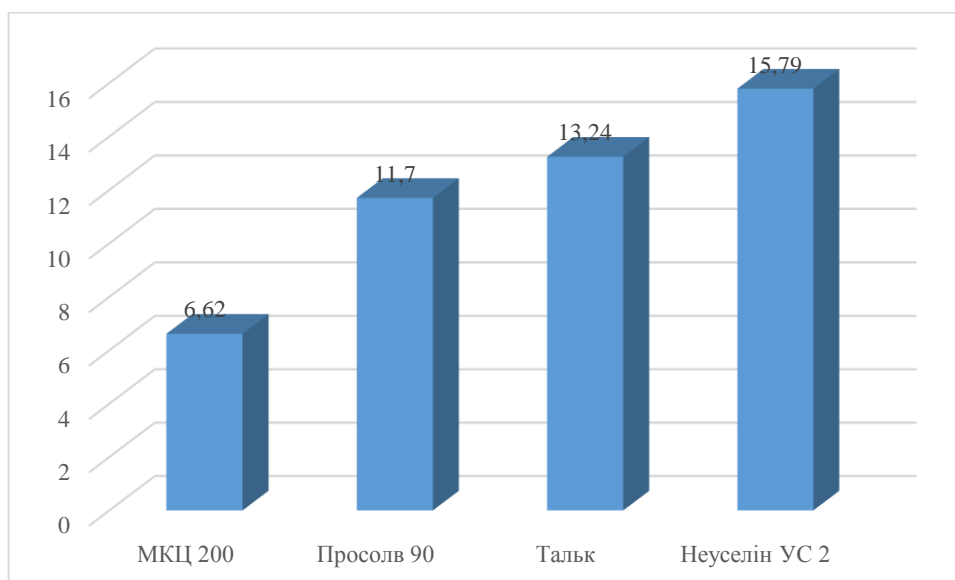


Рис.3.25 Вплив ковзких речовин (фактору D) на процес розпадання таблеток

Згідно наведеного рис. 3.25, найшвидше розпадалися таблетки, що мали у своєму складі МКЦ 200 (6,62 хв), який має перевагу над просолвом 90 (11,7 хв), тальком (13,24 хв) і неуселіном УС 2 (15,79 хв).

На основі проведеного дисперсійного аналізу зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості таблеток «Ангіолін». Результати дисперсійного аналізу показали, що на кількісний вміст діючої речовини через 6 місяців зберігання таблеток «Ангіолін» впливає лише ковзкі речовини (фактор D) (рис. 3.26).

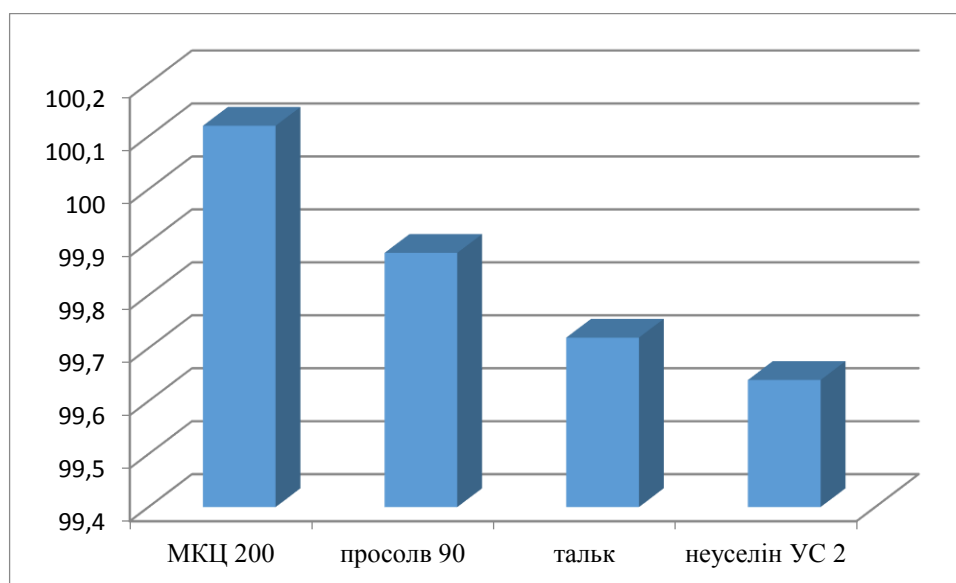


Рис.3.26 Кількісний вміст діючої речовини через 6 місяців зберігання таблеток «Ангіолін»

Аналіз рис. 3.26 показав, що найкращі показники має МКЦ 200, який має перевагу над просолвом 90, тальком і неуселіном УС 2.

Проведені дослідження показали, що вивчені чотири кількісні фактори по-різному впливають на фармако-технологічні властивості таблеток «Ангіолін». Якщо брати до уваги один із основних показників властивостей таблеток «Ангіолін» - час розпадання, то найкращі результати отримані в досліді № 2 і 4, в яких значення u_5 менше 10 хв, міцність більше 50 Н, при добрих показниках за іншими відгуками. В досліді № 2 вивчалось наступне поєднання рівнів факторів – $a_1b_2c_2d_4$, в досліді № 4 - $a_1b_4c_4d_3$. В обох серіях співпадає використання цукрової пудри, як кращої ДР.

Для прийняття компромісного рішення щодо вибору раціонального поєднання вивчених ДР використали узагальнений показник – функцію бажаності. Для цього первинні результати за відгуками y_1 , y_2 , y_3 , y_4 і y_5 переводили в безрозмірні величини за допомогою рис.3.27. Результати отриманих значень наведені в табл. 3.2. (графа D), результати дисперсійного аналізу - в Додатку А.

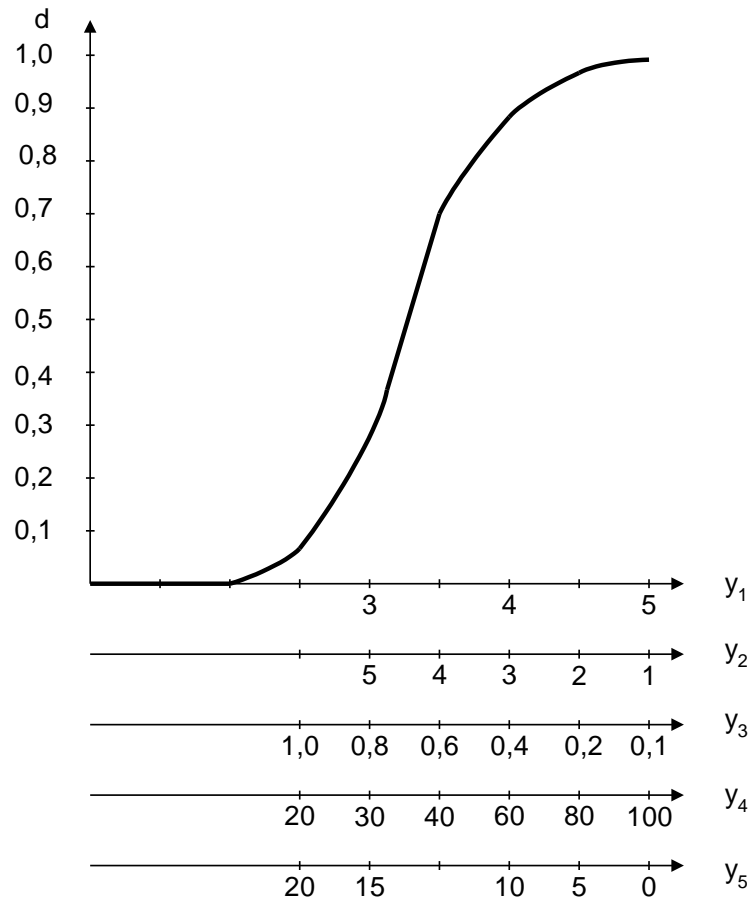


Рис. 3.27 Функція бажаності для таблеток «Ангіолін»: y_1 – процес пресування таблеток; y_2 – однорідність маси таблеток; y_3 – стираниність таблеток; y_4 – стійкість таблеток до роздавлювання; y_5 – час розпадання таблеток

Результати дисперсійного аналізу функції бажаності показали статистичну значущість факторів В та D.

Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактор В) на функцію бажаності показано на рис. 3.28

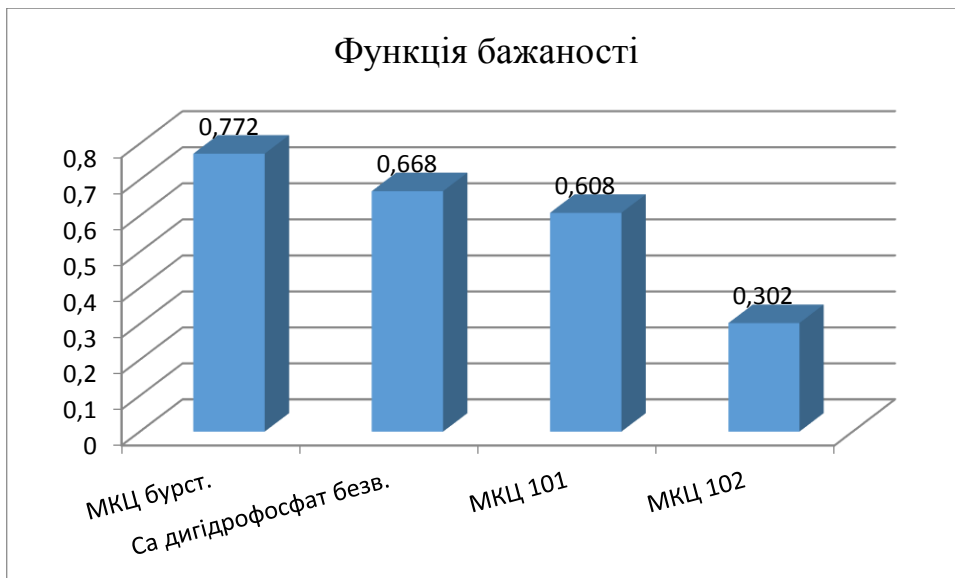


Рис. 3.28 Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію (фактор В) на функцію бажаності

Аналіз рис. 3.28 показав, що за сукупним показником кращі результати отримані при використанні МКЦ бурст. та Са дигідрофосфату безв. Для подальших досліджень було відібрано МКЦ бурст.

Вплив природи ковзних речовин (фактор D) на функцію бажаності показано на рис. 3.29

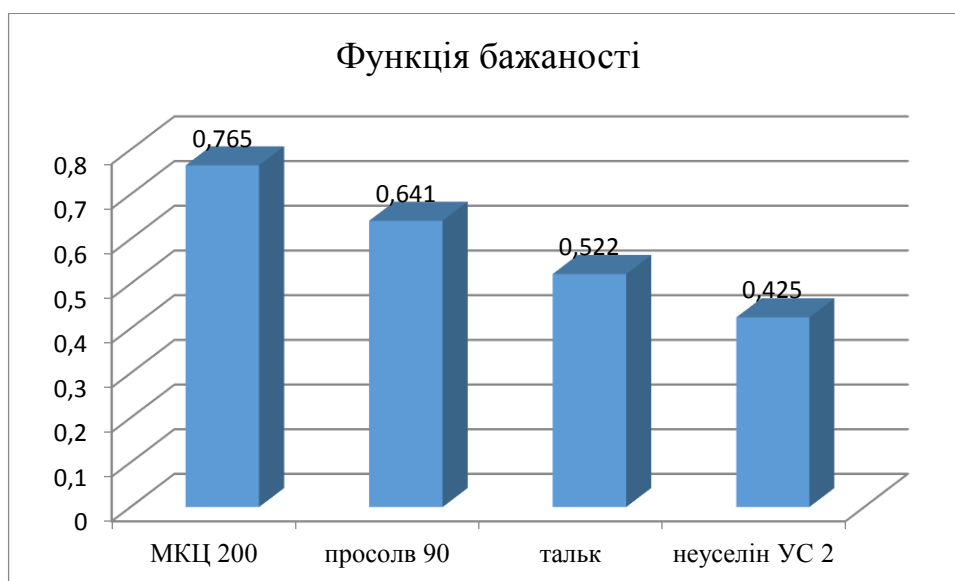


Рис. 3.29 Вплив природи ковзних речовин (фактор D) на функцію бажаності

З рис. 3.29 видно, що значну перевагу має МКЦ 200, який має перевагу над просолв 90, тальком та неуселін УС 2. Для подальших досліджень відібрана МКЦ 200.

При рівні значущості 0,95 суттєвої різниці між зразками наповнювачів на основі цукрів немає. Порівняння середніх значень для фактору А при рівні значимості 0,9 показало перевагу лудифлешу та у цукрової пудри над сорбітом та лактозою гранулак 100. Для подальших досліджень відібрана цукрова пудра.

Порівняння середніх значень рівнів для природи зв'язуючих речовин показало, що найкращі результати отримували при використанні 3% розчину МЦ 15, яка має переваги над крохмальним клейстером, розчином колідону 90 Ф та розчином ГПМЦ 50.

Отримані за допомогою функції бажаності результати підтвердили, що найкращим поєднанням рівнів вивчених факторів є умови серії № 2 (табл.3.2.): a_1 (цукрова пудра), b_2 (МКЦ бурст.), c_2 (розчин МЦ 15) і d_4 (МКЦ 200). В умовах вказаного дослідження процес пресування та зовнішній вигляд отриманих таблеток експерти оцінили на 5 балів, стиранність таблеток складала менше 0,5%, стійкість до роздавлювання - більше 90 Н, час розпадання – менше 10 хв. Кількісний вміст діючої речовини після виготовлення таблеток та в процесі 6-ти місячного зберігання знаходиться в межах 100%. Однак, відмічається відхилення від середньої маси – більше 4% і хоч цей показник владуються у фармакопейні вимоги, при встановленні оптимального складу таблеток на це звертали особливу увагу.

3.3 Вивчення природи розпушувачів на фармако-технологічні властивості таблеток «Ангіолін»

В розд. 3.2 було встановлено, що за більшістю фармако-технологічних показників таблетки «Ангіолін» знаходились в межах фармакопейних норм. Однак, час розпадання отриманих таблеток знаходився на граничному рівні. Приймаючи до уваги, що у промислових умовах при пресуванні таблеток

питомий тиск може змінюватися в різних режимах, а час розпадання таблеток знаходиться в прямій залежності від прикладеного тиску пресування, було вирішено розширити коло розпушувачів і вивчити їх більш детально [28, 29, 38, 39, 202].

При проведенні експерименту були вивчені наступні розпушувачі: a_1 – крохмаль катопляний, a_2 – натрію кроскармелоза, a_3 – поліплаздон XL 10, a_4 – натрію карбоксиметилкрохмаль, a_5 – мікрокристалічна целюлоза (МКЦ) бурст, a_6 – лікотаб Р (преджелатанізований крохмаль кукурудзяний). Із зазначених розпушувачів в попередньому розділі (3.1) досліджувалася тільки МКЦ бурст, яка серед інших ДР дозволяла отримувати таблетки «Ангіолін» з часом розпадання не більше 10 хв.

Одна таблетка «Ангіолін» з врахуванням дослідів попереднього розділу включала: ангіоліну 0,2 г, цукрової пудри 0,0256 г, МКЦ 101 0,0528 г, МКЦ 200 0,0128 г.

Кількість розпушувача в таблетках складала 8 %. Зволоження порошкової маси здійснювали розчином метилцелюлози (МЦ) 15. Після висушування гранул і їх регрануляції опудрення проводили за допомогою кальцію стеарату. Пресування таблеток здійснювали на лабораторній таблетковій машині.

План однофакторного експерименту та результати дослідження таблеток «Ангіоліну» наведені в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Однофакторний експеримент та результати дослідження таблеток «Ангіолін»*

N зп	Розпушувач	y ₁	y ₁ '	y ₁ ''	y ₂	y ₂ '	y ₂ ''	y ₃	y ₃ '	y ₃ ''	y ₄	y ₄ '	y ₄ ''	y ₅	y ₅ '	y ₅ ''	y ₆	y ₆ '	y ₆ ''
1	Крохмал картопляний	5	5	5	5	5	5	2,20	2,46	2,01	42,5	40,1	43,5	0,38	0,36	0,35	13,3	13,5	14,5
2	Натрію кроскармелоза	4	5	5	5	5	5	4,04	3,64	3,87	27,0	25,0	28,0	0,72	0,77	0,78	6,5	6,0	5,5
3	Поліплаздон ХЛ 10	4	5	5	4	5	5	2,72	2,60	2,98	34,0	37,0	35,0	0,26	0,27	0,29	18,6	17,1	16,5
4	Натрій карбокси- метилкрохмаль	4	5	5	4	5	4	2,73	2,45	2,97	65,6	62,6	60,7	0,35	0,34	0,38	15,0	14,1	15,5
5	МКЦ бурст.	4	5	4	4	4	5	2,61	2,96	2,44	121,7	125,7	128,6	0,19	0,15	0,14	10,4	9,5	10,5
6	Лікотаб Р.	4	5	5	5	5	5	3,45	3,76	3,21	130,8	131,8	133,0	0,16	0,14	0,19	12,0	12,5	13,4

Примітка.* y₁, y₁' і y₁'' – процес пресування таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, бали; y₂, y₂' і y₂'' – зовнішній вигляд таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, бали; y₃, y₃' і y₃'' – однорідність маси таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, %; y₄, y₄' і y₄'' – міцність таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, Н; y₅, y₅' і y₅'' – стиранність таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, %; y₆, y₆' і y₆'' – розпадання таблеток першої, другої і третьої серії дослідів відповідно, хв

Кожна серія дослідів була реалізовано в трьох повторностях. Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних наведені в Додатоку Б.

На основі проведеного дисперсійного аналізу зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток «Ангіолін».

Результати дисперсійного аналізу показали, що на процес пресування та зовнішній вигляд отриманих таблеток «Ангіолін» вивчені розпушувачі не впливають. Це означає, що при використанні будь-якого із 6-ти вивчених розпушувачів отримуємо однаковий результат.

На рисунку 3.30 показано вплив розпушувачів на однорідність маси таблеток «Ангіолін».

Найкращі показники спостерігали при використанні крохмалю картопляного, який має перевагу над МКЦ бурст, натрій карбоксиметилкрохмалем, поліплаздом ХЛ 10, лікотаб Р, натрію кроскармелозою. Зазначимо, що для всіх видів досліджених розпушувачів однорідність маси отриманих таблеток «Ангіолін» знаходилась у фармакопейних нормах.

Вплив природи розпушувачів на стійкість таблеток «Ангіолін» до роздавлювання зображено на рис. 3.31

Аналіз рис. 3.31. показав, що ефективність розпушувачів можна проілюструвати наступним рядом переваг: лікотаб Р. > МКЦ бурст > натрію карбоксиметилкрохмаль > крохмаль картопляний > поліплаздон ХЛ 10 > натрію кроскармелоза. Лідерами серед речовин досліджуваної групи є лікотаб Р та МКЦ бурст. МКЦ бурст створена як допоміжна речовина, в якій зберігаються всі властивості раніше створених зразків (МКЦ 102, МКЦ 101 та інш.) та придані властивості розпушувача.

Вплив розпушувачів на стиранисть таблеток «Ангіолін» наведено на рис. 3.32

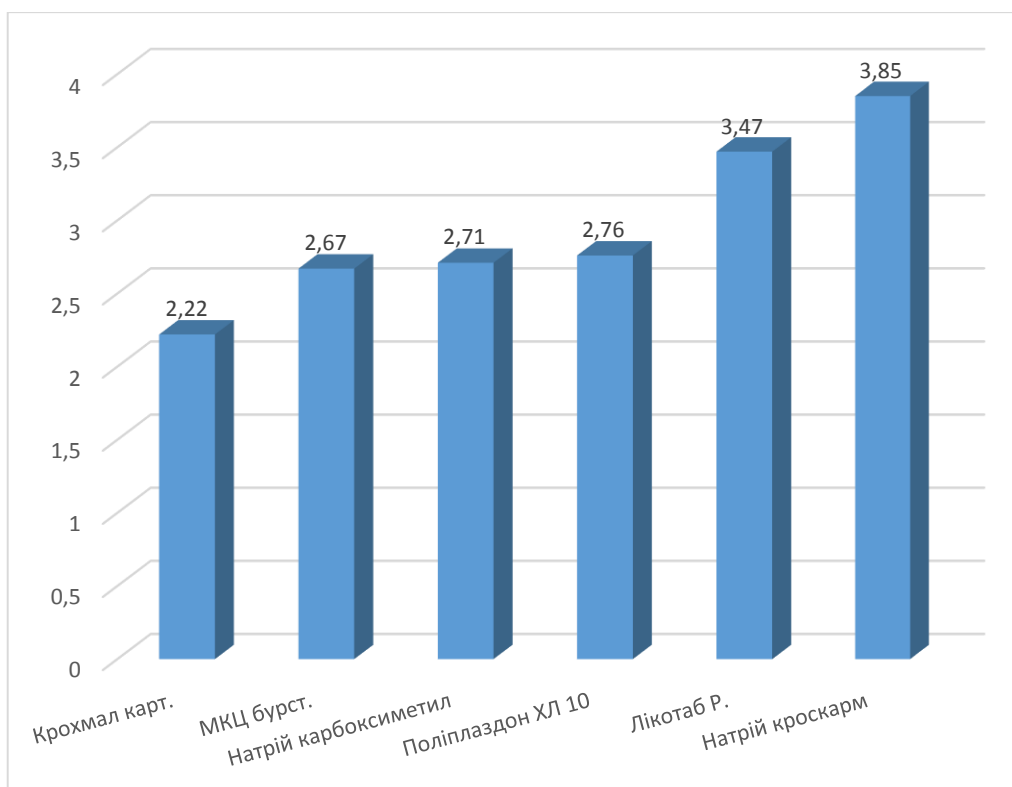


Рис. 3.30 Вплив розпушувачів на однорідність маси таблеток «Ангіолін»

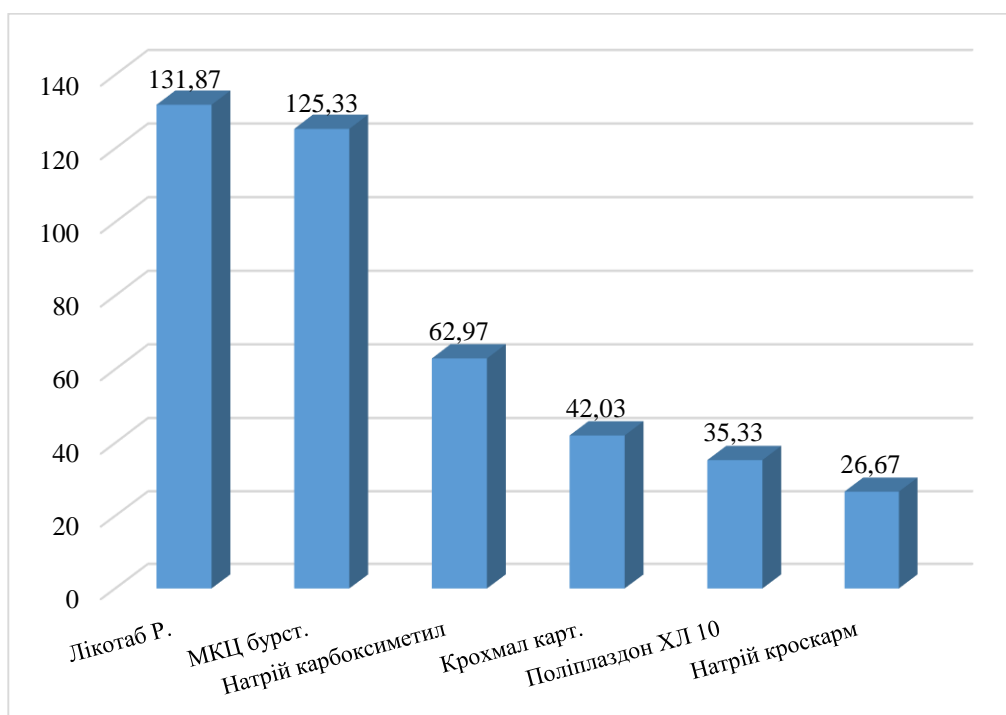


Рис. 3.31 Вплив розпушувачів на міцність таблеток «Ангіолін».

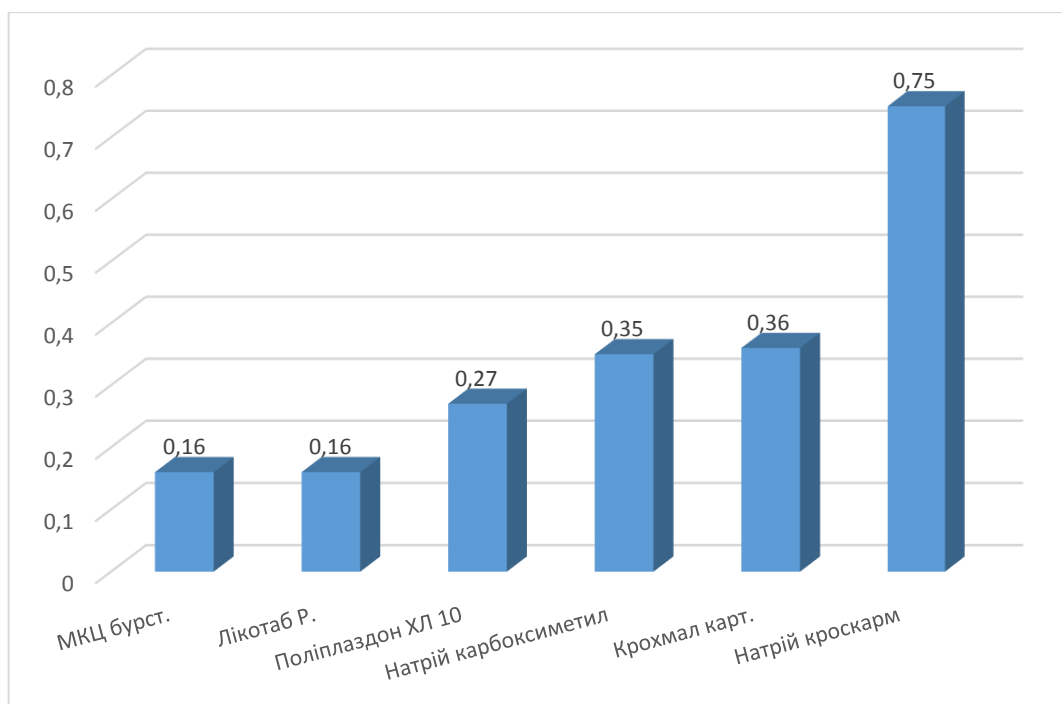


Рис.3.32 Вплив розпушувачів на стирність таблеток «Ангіолін»

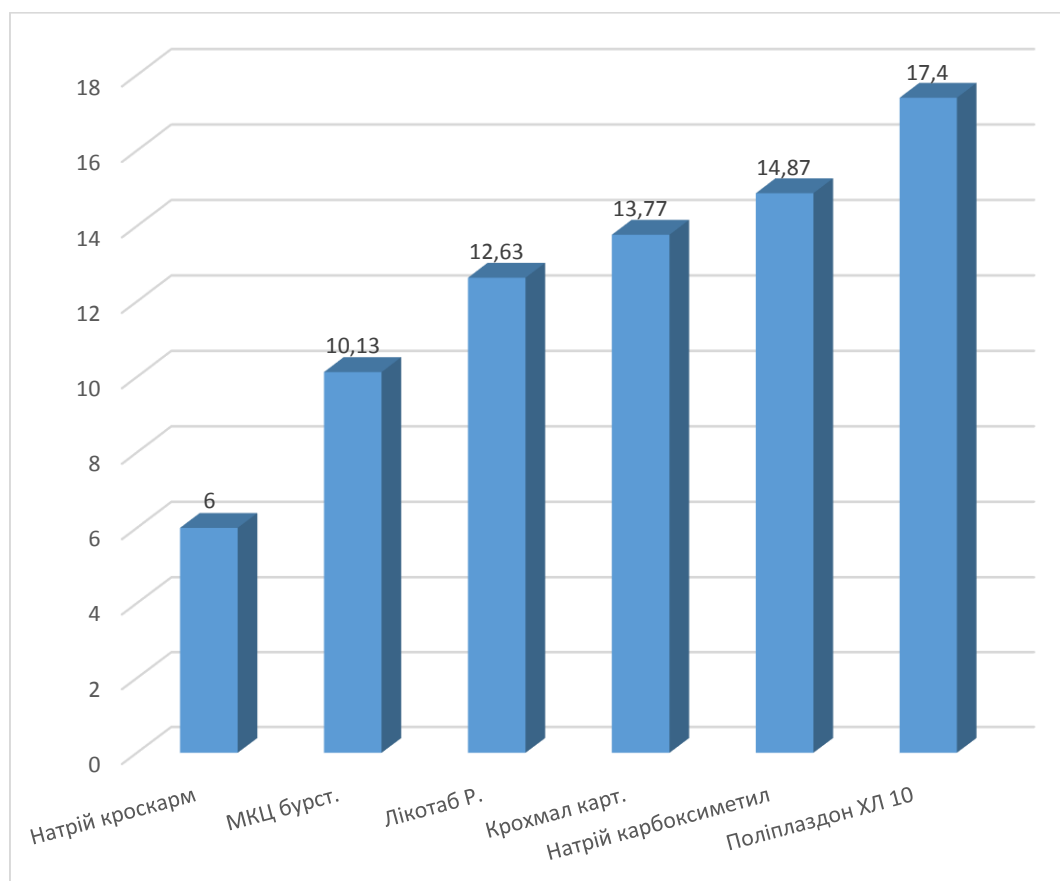


Рис.3.33 Вплив розпушувачів на процес розпадання таблеток «Ангіолін»

Аналіз рис. 3.32 показав, що вивчені допоміжні речовини за впливом на стиранність таблеток можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ бурст > лікотаб Р. > поліплаздон ХЛ 10 > натрій карбоксиметил > крохмаль картопляний > натрій кроскармелоза. Найкраще себе проявила речовина МКЦ бурст, тоді як натрій кроскармелоза показала найвищий відсоток стираності таблеток.

Вплив розпушувачів на розпадання таблеток «Ангіолін» наведено на рис. 3.33

Ряд переваг для вивчених розпушувачів за впливом на час розпадання таблеток «Ангіолін» можна проілюструвати наступним чином: натрію кроскармелоза > МКЦ бурст > лікотаб Р > крохмаль картопляний > натрію карбоксиметилкрохмаль > поліплаздон ХЛ 10. Поведінка розпушуючої речовини поліплаздону ХЛ 10, яка в порівнянні з іншими вивченими ДР дає найбільший час розпадання таблеток «Ангіолін», пов'язана із специфічними властивостями полімеру, для якого в залежності від діючої речовини існує екстремум. Проведені дослідження підтвердили ефективність використання нової ДР МКЦ бурст в якості компонента таблеток «Ангіолін».

Для подальших досліджень із створення оптимального складу та технології таблеток «Ангіолін» раціонально використовувати МКЦ бурст. Середнє значення часу розпадання таблеток «Ангіолін» при використанні МКЦ бурст складає 10,1 хв., міцність до роздавлювання – 125,3 Н і стиранність - 0,16%. Якщо виходити із головного показника таблеток «Ангіолін» - розпадання, то заслуговує уваги розпушувач натрію крокармелози. При її використанні середнє значення часу розпадання таблеток «Ангіолін» складає 6 хв, однак стійкість до роздавлювання – 25 Н і стиранність 0,75%. Можна висунути здогадку, що для кожної із вказаних ДР існує свій оптимум в складі, отже кількісне співвідношення в таблетка раціонально вивчити більш детально [250].

3.4 Розробка оптимального складу та технології таблеток «Ангіолін»

При розробці оптимального складу таблеток «Ангіолін» приймали до уваги інформацію, яку отримали в розд. 3.2. за допомогою функції бажаності.

В якості кращих допоміжних речовин відібрали цукор пудру, МКЦ бурст, МКЦ 200 та МЦ 15. На цьому етапі дослідження встановлювали оптимальне співвідношення між вказаними ДР в складі таблеток «Ангіолін».

На підставі інформації, яку отримали в розд. 3.3. підтверджено раціональність використання МКЦ бурст в якості компонента таблеток «Ангіолін», так як ця ДР забезпечує високе значення стійкості таблеток «Ангіолін» до роздавлювання (понад 100 Н) та невеликий час розпадання (біля 10 хв).

З метою зменшення часу розпадання таблеток «Ангіолін» до їх складу раціонально вводити натрія кроскармелозу, яка забезпечує найменше значення вказаного показника (біля 6 хв.). Крім цього, натрію кроскармелоза на другому етапі досліджень (розділ 3.3.) забезпечувала необхідну стійкість таблеток «Ангіолін» до роздавлювання [144, 145, 147, 177, 223].

Біло вивчено 5 кількісних факторів. Перелік кількісних факторів та їх рівнів наведено в табл.3.4 .

Таблиця 3.4

Фактори та їх рівні, які вивчалися при розробці оптимального складу таблеток «Ангіолін»

Фактори	Рівні факторів		
	Нижній рівень «-»	Основний рівень «0»	Верхній рівень «+»
x ₁ -кількість цукрової пудри, %	8	12	16
x ₂ -кількість МКЦ бурст, %	4	6	8
x ₃ - кількість натрій кроскармелози	4	6	8
x ₄ - концентрація розчину МЦ 15, %	2	3	4
x ₅ - кількість МКЦ 200 на стадії опудрення, %	2	3	4

При складанні рецептури таблеток кількість кальцію стеарату на стадії опудрення гранул складала 1%. В тих випадка, коли згідно плану експерименту середня маса таблеток «Ангіолін» була меншою 0,32 до необхідної кількості добавляли МКЦ 101, яка в розд. 3.1 показала добрий результат.

Вивчення 5-ти кількісних факторів проводили за допомогою дробного факторного експерименту типу 2^{5-2} . В якості генеруючого відношення прийняли $x_4 = x_1x_2x_3$ і $x_5 = x_1x_2$. План експерименту та результати дослідження таблеток «Ангіолін» наведені в табл.3.5.

Таблиця 3.5

Матриця планування на основі дробного факторного експерименту 2^{5-2} та результати дослідження таблеток «Ангіолін»*

№	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6
1	-	-	-	-	+	5	5	2,27	28,6	0,06	3,15
2	+	-	-	+	-	5	5	1,82	69,1	0,03	6,25
3	-	+	-	+	-	5	5	0,78	73,7	0,17	7,34
4	+	+	-	-	+	5	5	0,98	87,8	0,17	7,86
5	-	-	+	+	+	5	5	1,02	142,2	0,41	13,25
6	+	-	+	-	-	5	5	1,12	64,8	0,03	6,50
7	-	+	+	-	-	5	5	1,39	31,9	0,13	4,15
8	+	+	+	+	+	5	5	1,37	76,9	0,12	8,45

Примітка.* Позначення відгуків y_1 - y_6 аналогічне табл.3.2.

Взаємозв'язок між вивченими кількісними факторами та фармако-технологічними показниками таблеток виражали рівняннями регресії першого порядку.

При отриманні таблеток «Ангіолін» у всіх серіях дослідів процес пресування проходив добре та зовнішній їх вигляд відповідав щодо однорідності та якості поверхні, тому за цими відгуками (y_1 і y_2) рівнянь регресії не наводимо.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та однорідністю дозування таблеток «Ангіолін» описується наступним рівнянням регресії:

$$y_3 = 1,34 - 0,021x_1 - 0,213x_2 - 0,118x_3 - 0,096x_4 + 0,066x_5$$

Вплив вивчених факторів оцінювали за величиною коефіцієнтів та знаками перед ними.

З рівняння регресії видно, що із збільшенням кількості МКЦ бурст, натрію кроскармелози та цукрової пудри в складі таблеток «Ангіолін», а також концентрації розчину МЦ 15 однорідність їх маси покращується. При збільшенні кількості МКЦ 200 на стадії опудрення гранул однорідність маси таблеток «Ангіолін» погіршується. Це пов'язано з тим, що МКЦ 200 добре текуча ДР і проходить сепарація порошкової маси в процесі роботи таблеткової машини.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та механічною стійкістю таблеток «Ангіолін» до роздавлювання описується наступним рівнянням регресії:

$$y_4 = 71,87 + 2,77x_1 - 4,34x_2 + 7,07x_3 + 18,6x_4 + 12,8x_5$$

Згідно рівняння регресії, найбільший вплив на стійкість таблеток «Ангіолін» проявляють фактори x_4 і x_5 . Із збільшенням концентрації розчину МЦ 15, який використовували для отримання гранул, та кількості МКЦ 200 на стадії опудрення гранул стійкість таблеток «Ангіолін» до роздавлювання суттєво підвищується. Підвищується стійкість до роздавлювання таблеток «Ангіолін» при збільшенні кількості натрію кроскармелози та цукрової пудри в їх складі. Можна зробити заключення, що властивості натрію кроскармелози за впливом на стійкість таблеток до роздавлювання проявляються також в залежності від співвідношення інших компонентів. Збільшення кількості МКЦ бурст веде до зменшення стійкості таблеток «Ангіолін» до роздавлювання. Взаємозв'язок між вивченими факторами та стиранистю таблеток «Ангіолін» описується наступним рівнянням регресії:

$$y_5 = 0,14 - 0,052x_1 + 0,0075x_2 + 0,0325x_3 + 0,0425x_4 + 0,055x_5$$

Аналіз рівняння регресії показує, що із збільшенням кількості цукру пудри в складі таблеток «Ангіолін» їх стиранисть зменшується, а кількості МКЦ 200, натрію кроскармелози, МКЦ бурст, а також концентрації розчину МЦ 15 – підвищується. Зазначимо, що на даному етапі досліджень стиранисть таблеток «Ангіолін» у всіх

серіях дослідів була невеликою. Взаємозв'язок між вивченими факторами та розпаданням таблеток «Ангіолін» описується наступним рівнянням регресії:

$$y_6 = 7,18 + 0,14x_1 - 0,08x_2 + 0,97x_3 + 1,70x_4 + 1,06x_5$$

Аналіз рівняння регресії показав, що із збільшенням кількості МКЦ 200 на стадії опудрення гранул і концентрації розчину МЦ 15 час розпадання отриманих таблеток «Ангіолін» підвищується. Зазначимо, що тільки в досліді № 5 час розпадання отриманих таблеток «Ангіолін» був більшим 10 хв. Із збільшенням кількості МКЦ бурст час розпадання таблеток зменшується, а кількості натрію кроскармелози та цукру пудри – підвищується. Проведені дослідження показали, що в 5-ти із 8-ми серій дослідів отримали таблетки «Ангіолін» з стійкістю до роздавлювання більше 50 Н та часом розпадання менше 10 хв. Були проведені додаткові дослідження за схемою «крутого сходження» до оптимуму, в результаті яких запропоновано наступний склад таблеток «Ангіолін», який наведено в табл. 3.6.

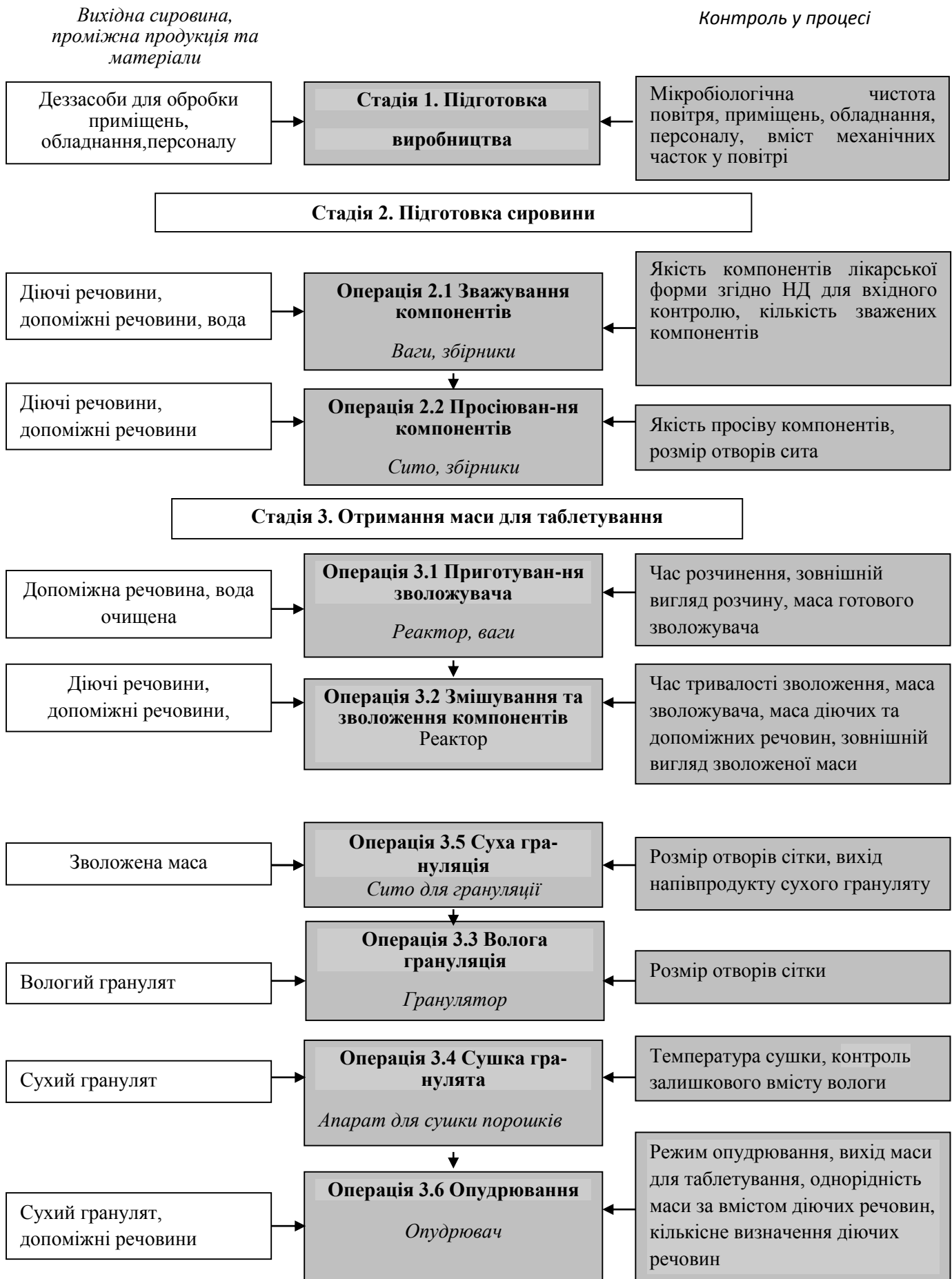
Таблиця 3.6

Склад таблеток «Ангіолін»

Діюча речовина	Грамований вміст речовини в одній таблетці	Відсотковий вміст речовини в одній таблетці
Ангіолін	0,2000	62,5%
Цукрова пудра	0,0256	8,0%
МКЦ бурст	0,0256	8,0%
Натрій кроскармелоза	0,0256	8,0%
МКЦ 101	0,0336	10,5%
Розчин МЦ 15 – 2%	Qs	
Кальцію стеарат	0,0032	1,0%
МКЦ 200	0,0064	2,0%

Розроблено методику отримання таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції» (Додаток Е).

Розроблена технологічна схема виробництва таблеток «Ангіолін»



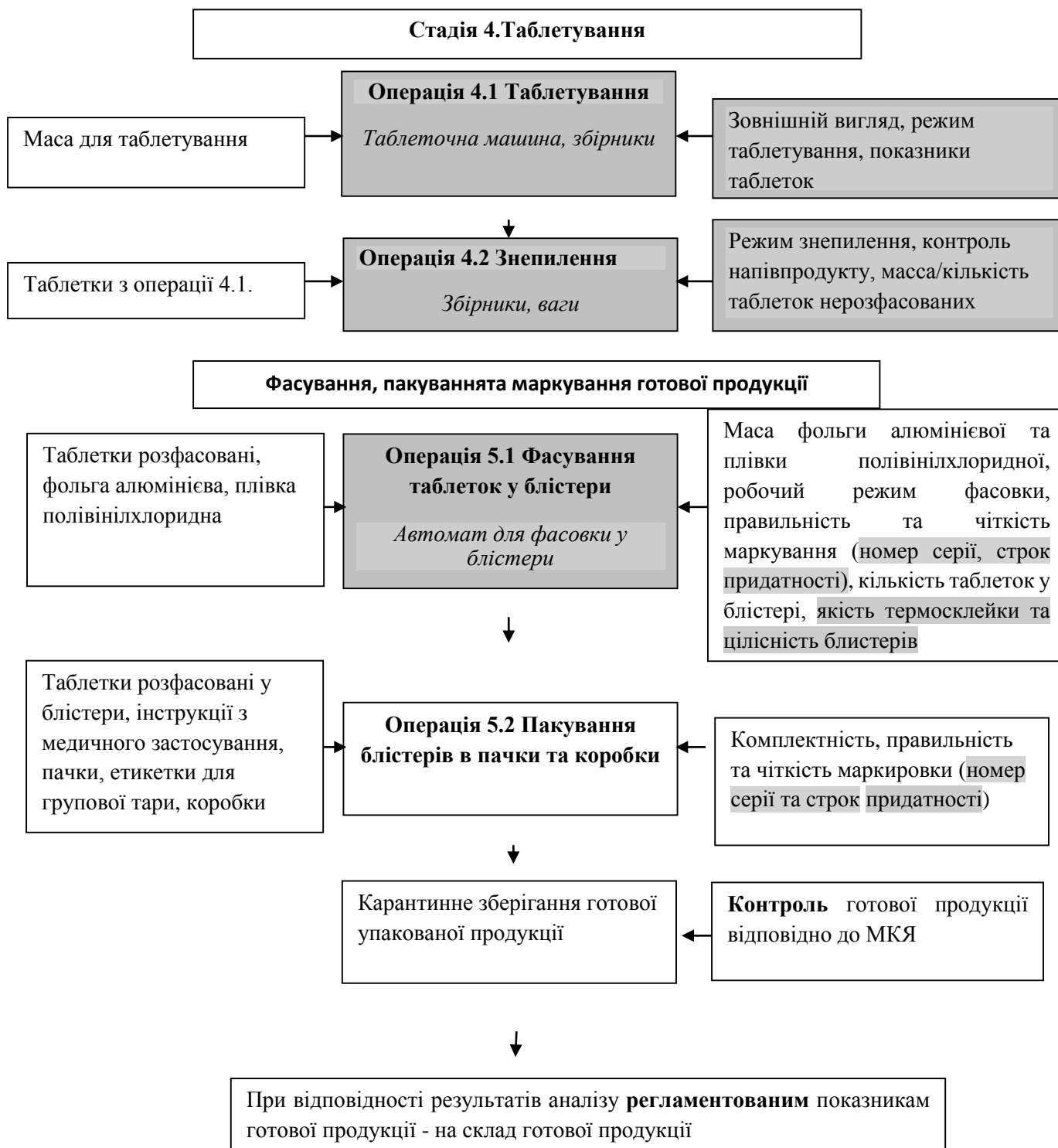


Рис. 3.35 Технологічна схема виробництва таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції (сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва)

Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (Додаток К) та на кафедрі управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Ж).

Висновки до розділу 3

1. Проведені морфометричні дослідження субстанції ангіоліну та встановлено розміри часток порошку в діапазоні від 42,8 мкм до 96,4 мкм, середнє значення розміру часток складає 63,2 мкм.

2. Проведені дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин з метою отримання таблеток «Ангіолін» вологою грануляцією. Досліджено чотири групи допоміжних речовин, які володіють різними фізичними та технологічними властивостями. Використовували сучасні допоміжні речовини як вітчизняного, так і закордонного виробництва, які відповідають вимогам ДФУ та міжнародним стандартам.

3. Для створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції з 16 допоміжних речовин (наповнювачі на основі цукрів, зразки цукрів, наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози і солі кальцію, зв'язуючі розчини, ковзні речовини) було відібрано чотири оптимальні (цукрова пудра, МКЦ 101, МЦ 15, МКЦ 200).

4. У зв'язку з тим, що деякі фармако-технологічні показники відібраних серій таблеток перебували на граничній межі, було запропоновано додатково ввести до складу цих серій розпушувач. Відібрано розпушувач, а саме натріюокроскармелоза який показав найкращі результати і в подальшому буде використаний в отриманні таблеток «Ангіоліна» методом вологої грануляції

5. Беручи до уваги результати дослідження якісного та кількісного співвідношення обраних допоміжних речовин, було розроблено оптимальний склад і технологію отримання таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції.

6. Розроблено технологічну схему виробництва таблеток «Ангіолін» , яку апробовано на базі ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції» (акт апробації від 02.03.2017р.).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Selection of disintegrants for wet granulation method of "Angiolin" tablets / I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, Ye. A. Portnaya// Запорозж. мед. журн. – 2016. – № 5. – С. 97. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

2. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О.С., Моряк З. Б.// Фармац. часопис. – 2016. – № 2. – С. 16–22. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

3. Підбір кількісного складу допоміжних речовин при створенні таблеток «Ангіолін» / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І.// Фармац. часопис. – 2016. – № 4. – С. 12–15. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

4. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 323. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

5. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції. / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Ткаченко Г. І. // Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10-11 листоп. 2016 р. – Тернопіль, 2016. – С. 89. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

6. Бидненко А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина» / Бидненко А. С. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук», 29 листоп. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 83. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

7. Бідненко О. С. Стратегія створення фіксованих комбінацій з тіотриазоліном / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Матеріали ІІІ всеукр. наук.- практик. конф. молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки», 18 квіт. 2013 р. – Луганськ, 2013. – С. 146. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

8. Про розвиток методології наукових досліджень при створенні лікарських препаратів / Бідненко О. С., Грошовий Т. А., Вронська Л. В. [та ін.] // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 337. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК «АНГІОЛІН»

4.1 Аналіз субстанції ангіоліну існуючими методами

Для нового таблетованого лікарського засобу «Ангіолін» постала необхідність розробити методики стандартизації, які відповідатимуть вимогам ДФУ та міжнародним стандартам. Для цього спочатку нами було вивчено вже існуючі методики контролю якості субстанції ангіоліну [4, 23, 24, 25, 31, 35, 56, 91, 252, 263].

У теперішній час велику увагу приділяють новим, сучасним методам стандартизації субстанцій [206, 264, 269]. Спираючись на хімічну будову ангіоліну, (рис.2.1) було проведено аналіз субстанції згідно розроблених методик, які наведені в розділі 2.

Наступним етапом досліджень стало визначення супровідних домішок у ангіоліні методом тонкошарової хроматографії [10, 16, 21, 97, 111, 121, 158].

Методика.

Випробуваний розчин. 0,100 г субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 10,00 мл, розчиняють у 6 мл 96% спирту, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують.

Розчин порівняння (a). 0,010 г ФСЗ 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону поміщають у мірну колбу місткістю 100,00 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 50,00 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом до мітки і перемішують.

Розчин використовують свіже приготованим.

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

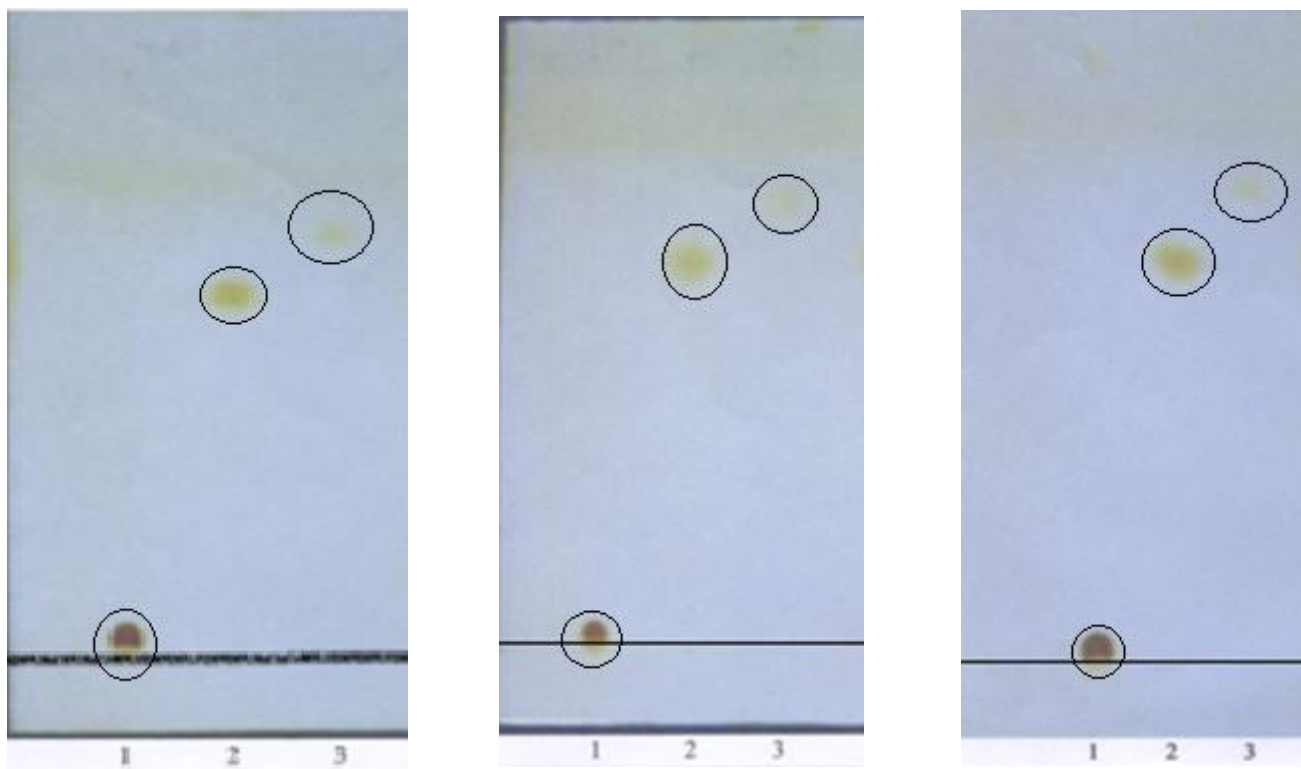
25,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50,00 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом Р до мітки і перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

На лінію старту хроматографічної пластинки «Сорбфіл ПТСХ-АФ-В», розміром 10 см×15 см наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а), 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (b) та в одну точку наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а) і 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (b) (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи). Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, потім поміщають у камеру із сумішшю розчинників вода Р – ацетон Р (2:50) та хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде близько 12 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі протягом 15 хв і поміщають на 10 хв до йодної камери.

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

Результати аналізу вважали вірогідними, бо виконувалися вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»: на хроматограмі суміші для перевірки придатності хроматографічної системи виявлені плями чітко діляться. Результати аналізу подано на рис. 4.1.



серія 1

серія 2

серія 3

Рис. 4.1 Визначення технологічних домішок у досліджуваних серіях «Ангіоліну»: 1. «Ангіолін» - стандартний зразок, 2. Ацетилтіосемікарбазид, 3. 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіон

Для визначення придатності використання ТШХ для визначення домішок, які виявляються нингідрином, застосовують аргінін (для того, щоб показати, що L-лізин і аргінін мають різний R_f).

Методика аналізу ангіоліну методом ТШХ

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (2.2.27), використовуючи ТШХ пластинки "Sorbfil" із шаром силікагелю Г.

Випробуваний розчин: 0,2 г субстанції розчиняють у воді Р і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 10 мл.

Розчин порівняння: 0,5 мл випробуваного розчину доводять водою Р до 100 мл.

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи: 10 мг лізину гідрохлориду та 5 мг аргініну розчиняють в 10 мл 0,1 М кислоти хлористоводневої Р і доводять об'єм розчину водою Р до 25 мл.

Розчини технологічних домішок: 10 мг домішки розчиняють в 0,1 М кислоті хлористоводородній Р і доводять об'єм розчину тим же розчинником до 100 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки 20×20 см наносять 2,5 мкл (0,25%) розчину порівняння, 5 мкл (0,5%) розчину порівняння, 7,5 мкл (0,75%) розчину порівняння, 10 мкл (1,0%) розчину порівняння, 5 мкл випробуваного розчину, по 5 мкл технологічних домішок. Платівку сушать на повітрі і поміщають в камеру з сумішшю розчинників розчин аміаку концентрований Р - 2-пропанол Р (30:70). Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають з камери, сушать при температурі від 100 до 105°C до зникнення запаху аміаку і обприскують розчином нингідринна Р. Платівку нагрівають при температурі від 100 до 105°C протягом 15 хв.

На хроматограмі випробуваного розчину будь-яка пляма, крім основної, не повинна бути інтенсивніше плями на хроматограмі розчину порівняння (0,5%).

Результати аналізу вважаються достовірними, якщо на хроматограмі розчину для перевірки придатності хроматографічної системи виявляються дві чітко розділених плями.



Рис. 4.2 ТШХ водного розчину (S) -2,6-діаміногексанової кислоти (41,7%)

Таблиця 4.1.

Розрахунки показника R_f для (S) -2,6-діаміногексанової кислоти

<i>№ з/п</i>	<i>Найменування розчину</i>	<i>R_f</i>
1	придатність хроматографічної системи	0,18 0,1
2	аргінін (Aldrich MKBS8391V)	0,09
3	лізин гідрохлорид	0,17
4	(S) -2,6-діаміногексановая кислота, 41,7% розчин	0,17

У водному розчині (S) -2,6-діаміногексанової кислоти (41,7%) методом ТШХ сторонні домішки не виявлені рис. 4.3 Для визначення придатності системи був використаний аргінін, який має різні відносні часи утримування з L-лізину гідрохлориду. Результати перевірки наведені в табл. 4.1.



Рис. 4.3 ТШХ для перевірки чутливості методики

Таблиця 4.2.

Розрахунки показника R_f для розчинів порівняння

<i>№ з/п</i>	<i>Найменування розчину</i>	<i>R_f</i>
1	розчин порівняння 1,0 %	0,19
2	розчин порівняння 0,75 %	0,18
3	розчин порівняння 0,50 %	0,18
4	розчин порівняння 0,25 %	0,17
5	випробуваний розчин ангіоліну с. 010713	0,17
6	придатність хроматографічної системи	0,18 0,11

Була перевірена чутливість методики рис. 4.4. (нанесені концентрації розчину порівняння від 0,25% до 1%), чутливість становить 0,25% (точки 1-4). На хроматограмі випробуваного розчину (точка 5) технологічні домішки не виявлені.



Рис.4.4 ТШХ розчину «Ангіолін»

Таблиця 4.3.

Розрахунки показника R_f для (S) -2,6-діаміногексанової кислоти

<i>№п/п</i>	<i>Найменування розчину</i>	<i>R_f</i>
1	розчин порівняння 1,0 %	0,15
2	розчин порівняння 0,75 %	0,15
3	розчин порівняння 0,50 %	0,15
4	розчин порівняння 0,25 %	0,14
5	L-lysine ((s)-2,6-діаміногексанова кислота)	0,13
6	придатність хроматографічної системи	0,13 0,07

Згідно до вимог ДФУ та проекту МКЯ субстанції повинно аналізувати хімічними методами, а для органічних сполук фармакопея регламентує метод неводного

титрування, точку еквівалентності при якому фіксується як з використанням індикаторів, так і потенціометрично [14, 15, 16, 17, 25, 27].

По-перше, було вивчено можливість кількісного визначення субстанції вищезазначеним методом. Відомо, що субстанції, до складу яких входять похідні триазолів, розчиняються в *мурашиній кислоті безводній Р* [51, 54].

Була вивчена можливість розчинення в ній ангіоліну з подальшим додаванням оцтової кислоти безводної Р та проведенні в отриманому розчині кількісного визначення. Для цього була розрахована теоретична наважка субстанції, на кількісне визначення якої повинно піти *10 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти*. Ця наважка становила 0,1 г.

Наважки розчиняли з додаванням *мурашиної кислоти безводної Р* від 1 до 10 мл. *Кислоти оцтової безводної Р* використано від 20 до 40 мл.

У результаті лабораторного дослідження було встановлено оптимальний склад розчинника, що складається з *2 мл кислоти мурашиної безводної Р* та *40 мл кислоти оцтової безводної Р*.

Була розроблена методика кількісного визначення субстанції з використанням вище зазначеного розчинника.

Кількісне визначення «Ангіолін» проводили методом неводного титрування з фіксацією точки еквівалентності методом потенціометрії, використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів [51, 52].

Кількісне визначення. 0,100 г субстанції розчиняють у 5 мл *кислоти мурашиної безводної Р*, додають 40 мл *кислоти оцтової безводної Р* і титрують *0,1 М розчином кислоти хлорної* потенціометрично (ДФУ*, 2.2.20), використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів.

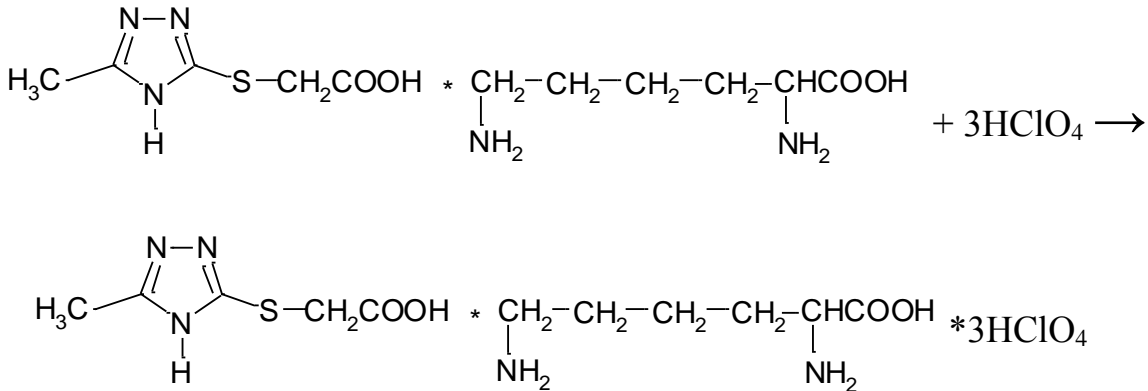


Рис. 4.5 Хімізм кількісного визначення

1 мл 0,1 М розчину кислоти хлорної відповідає 13,00 мг L-лізинію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату.

Паралельно проводять контрольний дослід.

Результати, які були отримані нами при кількісному визначенні субстанції методом неводного титрування та їх статистична обробка наведені в табл. 4.4.

Таблиця 4.4

**Дослідження субстанції «Ангіолін» методом неводного титрування
потенціометрично**

Сполука	серія	наважка, г	V,мл	Vк,мл	Кп	С,%	Статистична обробка
Ангіолін	1	0,1039	8,50	0,50	1,0058	100,67	$\bar{x} = 100,40$ $S^2 = 0,08615$ $S = 0,29351$ $\Delta x = 0,33735$
Ангіолін	2	0,1065	8,70	0,50	1,0058	100,67	
Ангіолін	3	0,1058	8,60	0,50	1,0058	100,10	
Ангіолін	4	0,1006	8,20	0,50	1,0058	100,08	
Ангіолін	5	0,1015	8,30	0,50	1,0058	100,48	

Як видно з наведених даних (див. таблицю) можна зробити висновок, що наведена методика є відтворюваною та досить точною, а фіксація точки еквівалентності потенціометричним методом є найбільш зручною, тому ця методика відповідає всім вимогам Державної фармакопеї України та міжнародним стандартам.

Розроблено методику кількісного визначення субстанції ангіоліну спектрофотометричним методом, яку апробовано та впроваджено у систему якості на базі ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України (Додаток М).

Розроблено методику визначення супровідних домішок в субстанції ангіоліну методом тонкошарової хроматографії, яку апробовано та впроваджено у систему якості на базі ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України (Додаток Н).

Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної хімії, фармакогнозії та хімії Київського медичного університету (Додаток П)

4.2 Розробка методики стандартизації субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії

В зв'язку з тим, що до складу таблеток, крім діючої речовини, входять допоміжні речовини, які ускладнюють процес проведення аналізу, було звернуто увагу більше на фізико-хімічні методи аналізу, які найчастіше застосовуються для аналізу таблетованих лікарських форм [48, 88, 91, 243].

Тому в ході досліджень було вивчено можливість стандартизації субстанції ангіоліну спектральними методами, які є одними з найсучасніших методів фармацевтичного аналізу. До переваг спектральних методів аналізу можна віднести об'єктивність, високу чутливість та точність вимірювань, селективність. Також спектральні методи характеризуються невеликою тривалістю проведення аналізу та можливістю їх автоматизації та комп'ютеризації, що значно спрощує процес аналізу [154, 155].

Для ідентифікації субстанції ангіоліну запропоновано та проведено її спектроскопічне дослідження. Для цього були підібрані оптимальні умови здійснення аналізу розчинів субстанції різної концентрації. Концентрацію випробуваного

розчину підбирали з таким розрахунком, щоб абсорбція знаходилася в оптимальному діапазоні (0,2-1А).

Результати проведених досліджень показали, що крива поглинання в УФ-області субстанції ангіолін має плече поглинання, при: $\lambda = 238$ нм (рис. 4.6).

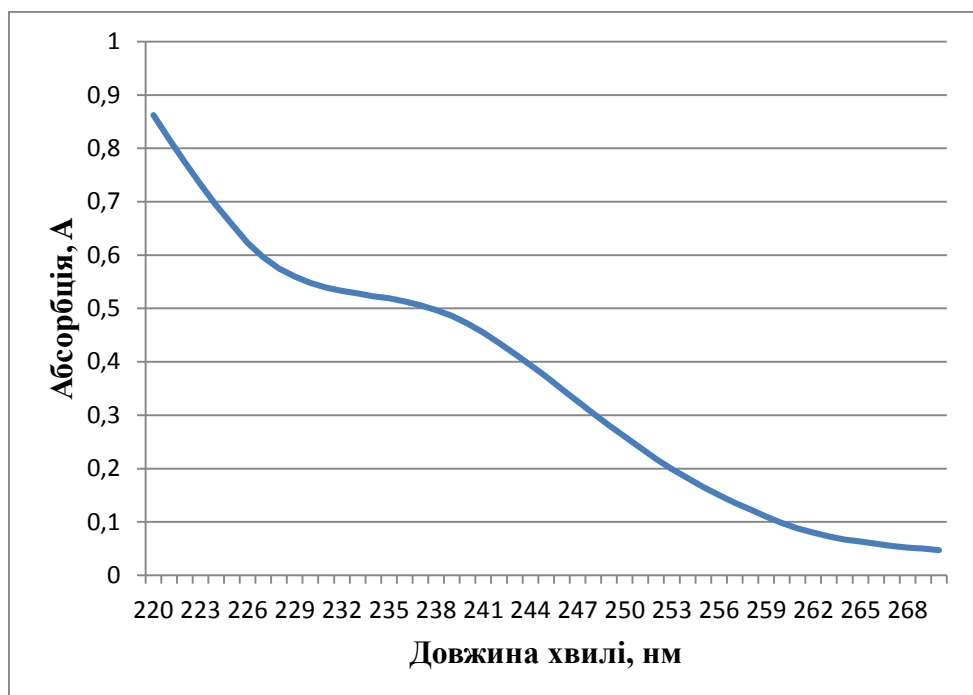


Рис. 4.6 УФ-спектр розчину субстанції ангіоліну у воді

Як зазначалося вище, спектральні методи мають ряд переваг над іншими методами аналізу. Тому постало завдання розробити методіку спектрофотометричного визначення кількісного вмісту субстанції ангіоліну. В ході роботи підбрані оптимальні умови здійснення аналізу. Паралельно, за тих же умов, проводили вимірювання абсорбції Фармакопейного стандартного зразку ФСЗ ангіоліну, отриманого з ДП «Завод хімічних реактивів» (м. Харків).

Визначення проводили за наступною методикою: 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна) вносять у мірну колбу ємкістю на 250,00 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять до мітки тим же розчинником, ретельно перемішують. Далі 10,00 мл отриманого розчину переносять у колбу ємкістю на 25,00 мл і доводять до мітки.

Вимірюють абсорбції РСЗ при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм. Як стандартний зразок використали ФСЗ 2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна).

Розчини застосовують одразу після приготування.

Криві поглинання в УФ-області ангіоліну та його ФСЗ наведено на рис.4.6 та рис. 4.7.

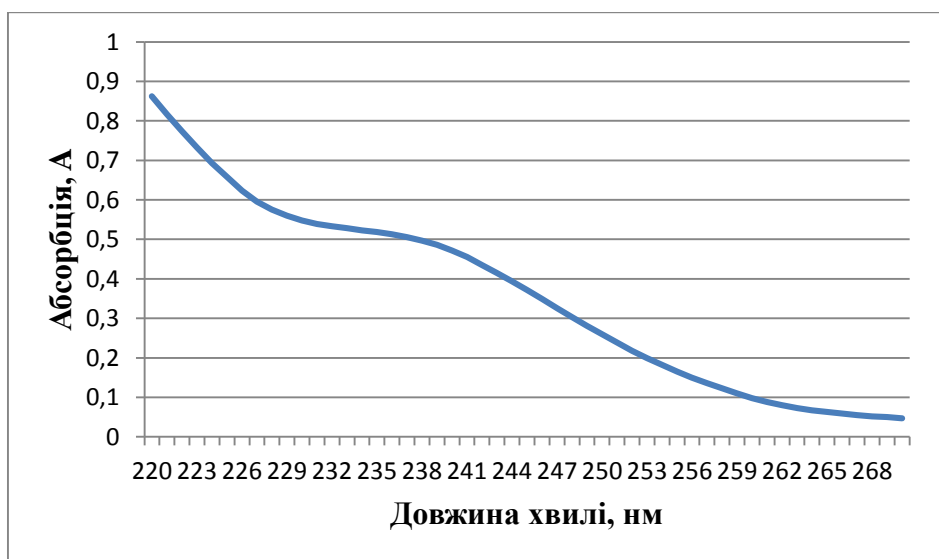


Рис.4.7 УФ-спектр ФСЗ ангіоліну у воді

Кількісний вміст ангіоліну розраховували за формулою:

$$C_{\%} = \frac{A_x \times m_0 \times 100\%}{A_0 \times m_x}, \quad (4.1)$$

де A_x – абсорбція розчину субстанції ангіоліну;

m_0 – наважка стандартного зразка ангіоліну, г;

A_0 – абсорбція розчину стандартного зразка;

m_x – наважка субстанції ангіоліну, г.

Результати аналізу субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії наведено в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

Результати аналізу субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії

Серія №06 № досліду	Наважка ангіоліну, г	Абсорбція, А	Кількісний вміст, %	Статистика
1	0,0504	0,494	100,01	-
2	0,0501	0,498	100,40	$x = 99,99$
3	0,0506	0,497	99,21	$s_x = 0.491$
4	0,0507	0,501	99,89	$t(0.95, 5) = 2.015$
5	0,0504	0,498	99,80	$\Delta_{\bar{x}} = 0.404$
6	0,0505	0,503	100,61	$\varepsilon = 0.404\%$
Розчин порівняння	РСЗ ангіоліну 0,0500	0,495		

З табличних даних видно, що результати кількісного визначення субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії та методом неводного титрування суттєво не відрізняються та знаходяться в межах допустимих норм. Це доводить, що розроблена нами методика визначення кількісного вмісту субстанції ангіоліну методом спектрофотометрії є точною, відтворюваною, зручною і простою у виконанні та відповідає діючим вимогам [70, 71, 72].

4.3 Розробка методик стандартизації таблеткової маси ангіоліну

4.3.1 Розробка методик стандартизації таблеткової маси ангіоліну методом спектрофотометрії

В зв'язку з тим, що до складу таблеток, крім діючої речовини, входять допоміжні речовини, які ускладнюють процес проведення аналізу, ми звернули увагу

на більш доступні методи аналізу, які найчастіше застосовуються для аналізу таблетованих лікарських форм [31, 168, 178, 179].

Тому в ході досліджень було вивчено можливість стандартизації субстанції ангіоліну спектральними методами, які є одними з найсучасніших методів фармацевтичного аналізу. До переваг спектральних методів аналізу можна віднести об'єктивність, високу чутливість та точність вимірювань, селективність. Також спектральні методи характеризуються невеликою тривалістю проведення аналізу та можливістю їх автоматизації та комп'ютеризації, що значно спрощує процес аналізу.

Для ідентифікації субстанції ангіоліну було розроблено методіку спектрофотометричного визначення субстанції L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату. Для цього були підібрані оптимальні умови здійснення аналізу. Концентрацію випробуваного розчину підбирали з таким розрахунком, щоб абсорбція знаходилася в оптимальному діапазоні (0,2-1A). Паралельно, за тих же умов, проводили вимірювання абсорбції Фармакопейного стандартного зразку (ФСЗ) L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату, отриманого з ДП «Завод хімічних реактивів» (м.Харків)[1,2,7]. Результати проведених досліджень показали, що крива поглинання в УФ-області Фармакопейного стандартного зразку L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату має максимум поглинання, а саме: $\lambda_1 = 238$ нм. Для аналітичних досліджень доцільно використовувати довжину хвилі $\lambda = 238$ нм. Криву поглинання в УФ-області ФСЗ L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату наведено на рис. 4.7.

Також було проведене спектрофотометричне визначення L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату та допоміжних речовин у таблетковій масі (рис. 4.8).

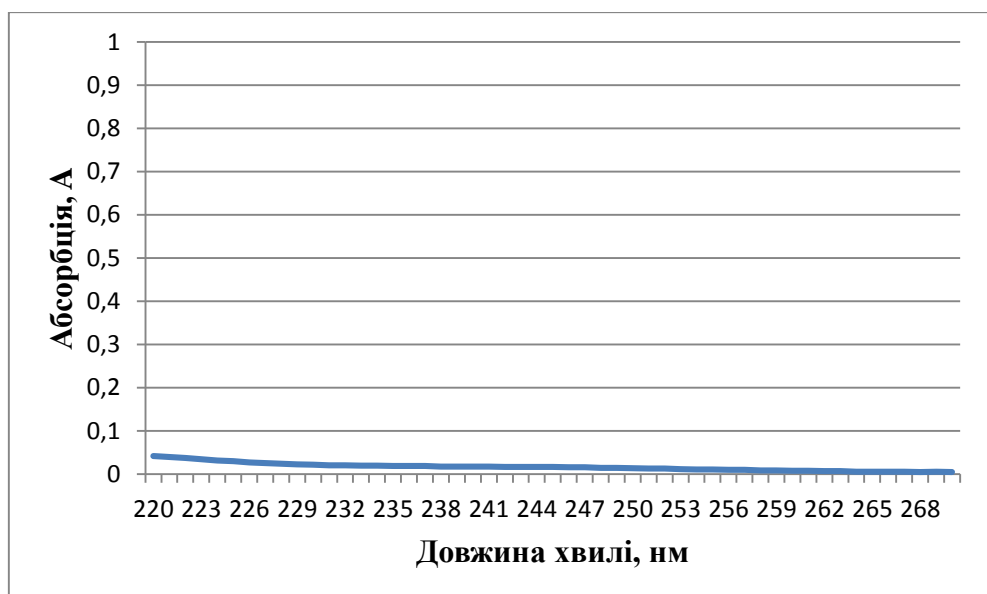


Рис.4.8 УФ-спектр допоміжних речовин у воді

Як видно з кривої поглинання, наведені на рис. 4.8 допоміжні речовини не впливають на результати аналізу. З кривої поглинання (рис. 4.9) видно, що крива поглинання таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату та ФСЗ L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату рис. 4.7 співпадають. Це доводить, що допоміжні речовини у складі таблеткової маси не впливають на результати аналізу. Криву поглинання в УФ-області таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату наведено на *рис. 4.9*.

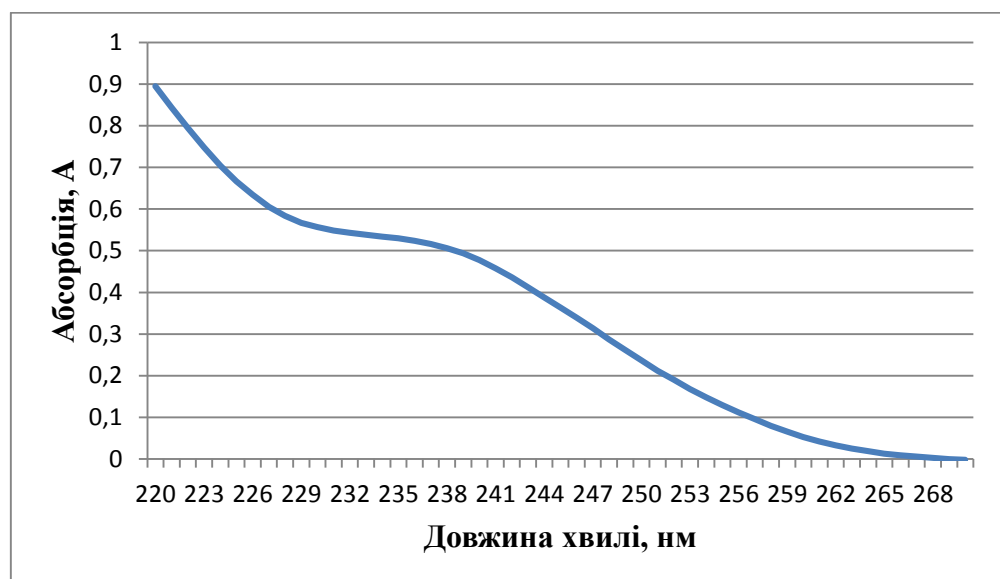


Рис.4.9 УФ-спектр таблеткової маси ангіоліну у воді

Для кількісного визначення L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату у таблетковій масі ми удосконалили методику спектрофотометричного визначення, яку розробили та використовували для стандартизації субстанції L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату.

Визначення вмісту L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату у таблетковій масі методом спектрофотометрії.

Приготування розчинів таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату. Близько 0,073 г (точна наважка) таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату вносять у мірну колбу ємкістю на 250,00 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше ніж 0,45 мкм, перші 5 – 10 мл відкидаємо, далі 10,00 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25,00 мл і доводимо до мітки. Вимірюють абсорбція розчину таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм.

Приготування стандартного розчину (розчин порівняння). 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна) вносять у мірну колбу ємкістю на 250,00 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять до мітки тим же розчинником, ретельно перемішують. Далі 10,00 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25,00 мл і доводимо до мітки. Вимірюють абсорбцію РСЗ при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм. Як стандартний зразок використали ФСЗ 2,6-діаміногексанової килоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна) [2, 7]. Розчини застосовують одразу після приготування.

Умови спектрофотометричного визначення.

Вимірювання абсорбції розчинів проводили на скануючому спектрофотометрі Optizen POP, відносно розчинника води, товщина кювети 1 см, довжина хвилі $\lambda = 238$ нм. Вміст L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату в таблетковій масі у перерахунку на одну таблетку розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times m \times 250 \times 25 \times 10 \times P}{A_0 \times m_x \times 10 \times 250 \times 25 \times 100} = \frac{A_x \times m_0 \times m \times P}{A_0 \times m_x \times 100}, \quad (4.2)$$

де A_x – абсорбція розчину таблеткової маси;

m_0 – наважка стандартного зразка L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату, г;

m – маса однієї таблетки, г;

P – відсотковий вміст L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату в ФСЗ;

A_0 – абсорбція РСЗ;

m_x – наважка таблеткової маси, г.

Результати аналізу шести серій таблеткової маси методом спектрофотометрії наведено в табл 4.6.

Таблиця 4.6

Результати аналізу зразків таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату методом спектрофотометрії

Серія	Наважка таблеткової маси, г	Абсорбція A, нм	Грамовий вміст в таблетковій масі, г	Статистика
№1	0,0852	0,527	0,1991	– $x = 0,2014$ $s_x = 0,00354$ $t(0,95, 5) = 2,015$ $\Delta_{\bar{x}} = 0,00291$ $\varepsilon = 1,45\%$
№2	0,0853	0,522	0,1970	
№3	0,0837	0,531	0,2039	
№4	0,0841	0,527	0,2017	
№5	0,0803	0,516	0,2068	
№6	0,0815	0,506	0,1998	
Розчин порівняння	РСЗ Ангіоліну 0,0500	0,497		

Згідно з результатами, наведеними в табл. 4.7, можна зробити висновок, що розроблена нами методика визначення кількісного вмісту L-лізиній 3-метил-1,2,4-

триазоліл-5-тіоацетату в таблетковій масі методом спектрофотометрії є зручною та простою у виконанні та досить точною.

Дослідження в подальшому також були проведені на всіх серіях виготовленої таблеткової маси.

За результатами спектрофотометричного дослідження таблетованої маси вміст діючої речовини становив в межах від 0,195 до 0,207 гр. у перерахунку на 1 таблетку, що відповідає всім вимогам Державної фармакопеї та міжнародним стандартам.

4.4 Розробка методик стандартизації таблеток «Ангіолін»

Доброякісність таблеток згідно ДФУ [70,71,72] визначається цілим рядом показників, а саме:

- опис;
- ідентифікація;
- однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу;
- середня маса;
- супровідні домішки;
- розчинення або розпадання;
- кількісне визначення діючих речовин;
- умови зберігання;
- терміни придатності.

В дослідженнях зупинилися на наступних показниках: опис, середня маса, ідентифікація, розпадання, розчинення, кількісне визначення.

Склад на одну таблетку. В результаті фармако-технологічних досліджень було запропоновано наступний склад таблеток «Ангіолін»:

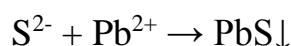
- ангіоліну – 0,2000 г
- допоміжних речовин – достатня кількість до одержання таблетки масою 0,3200 г

Опис. Таблетки білого кольору.

Ідентифікація. При здійсненні ідентифікації отриманих таблеток нами було проведено характерну реакцію (с) 3-Метил-1,2,4-три-азоліл-5-тіооцтової кислоти на ацетати, а саме – близько 30 мг випробовуваної субстанції розчиняють у 3 мл води Р. До одержаного розчину або до 3 мл розчину, зазначеного в окремій статті, послідовно додають 0.25 мл розчину лантану нітрату Р, 0,1 М 0,05 М розчину йоду і 0,05 мл розчину аміаку розведеного Р₂. Суміш обережно нагрівають до кипіння; протягом декількох хвилин утворюється синій осад або з'являється синє забарвлення.

Характерну реакцію на аміно групу: 0,05 г розтертих таблеток розчиняють при нагріванні в 1 мл свіжопрокип'яченої води, додають 1 мл свіжоприготований розчин нінгідрину та нагрівають, з'являється синьо-фіолетове забарвлення розчину.

Наступна реакція ідентифікації була проведена на сірку: побуріння смужки фільтрувального паперу, змоченого розчином свинцю (II) ацетату Р, у парах субстанції при нагріванні[70,71,72].



Також для ідентифікації діючої речовини у складі таблеток було використано спектральні методи, а саме – спектроскопію. В ході спектроскопічного дослідження отриманих таблеток було побудовано криву поглинання (рис.4.10.), з якої видно, що максимуми поглинання таблеток ангіоліну та ФСЗ ангіоліну (рис.4.7.) співпадають.

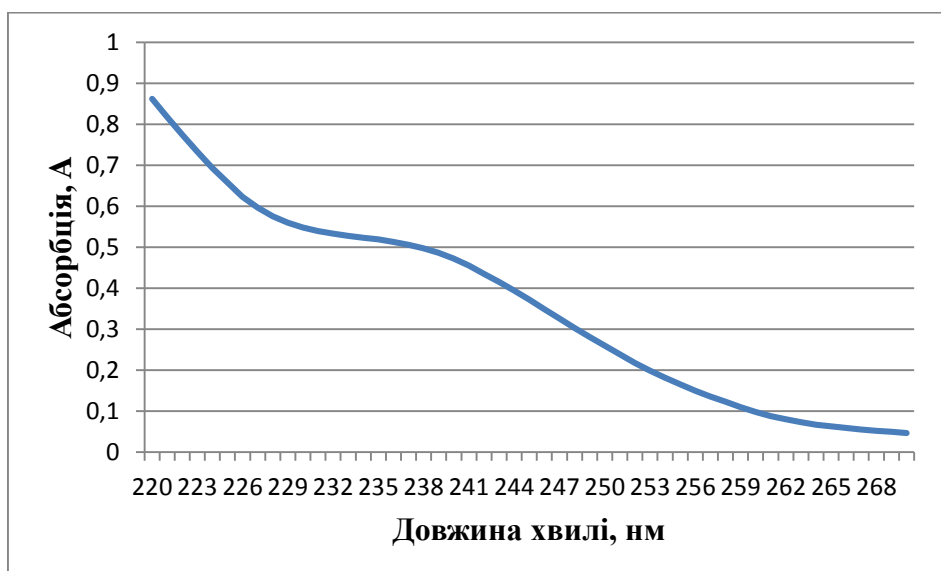


Рис.4.10 УФ-спектр таблеток ангіоліну у воді

Середня маса. Середня маса таблеток ангіоліну має бути в межах від 0,304 г до 0,336 г. Було проведено дослідження на 6-ти серіях отриманих в лабораторних умовах таблеток та встановлено, що середня маса розроблених нами таблеток знаходиться у допустимих межах $0,32 \pm 0,0160$ г і відповідає вимогам ДФУ, 2.9.5.

Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу, ДФУ, 2.9.5. (Відхилення маси кожної таблетки від середньої маси має бути в межах 5%. При випробуванні 6-ти серій отриманих нами таблеток, по 20 таблеток в кожній серії, відхилень від середньої маси на величину понад 5% не спостерігалось. Результати проведених досліджень наведені в таблиці 4.7.

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, ДФУ, 2.9.6. Вимоги тесту вважаються виконаними за умови, що вміст діючої речовини у кожній з 10 одиниць, визначений за методом прямого визначення, знаходиться в межах 85,0 – 115,0% від зазначеного в розділі "Склад", а відносне стандартне відхилення (стандартне відхилення, виражене у відсотках до середнього результату) не перевищує 7,5 %. Тест проводили методом спектрофотометрії, використовуючи 10 таблеток ангіоліну, отриманих в лабораторних умовах.

Приготування робочого розчину. Точну наважку порошку однієї подрібненої таблетки вносять у мірну колбу ємкістю на 250 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше ніж 0,45 мкм., перші 5 – 10 мл відкидаємо. Далі 10 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25 мл і доводимо до мітки.

Приготування стандартного розчину (розчин порівняння). Близько 0,073 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) ангіоліну вносять у мірну колбу ємкістю на 250 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше ніж 0,45 мкм., перші 5 – 10 мл відкидаємо. Далі 10 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25 мл і доводимо до мітки.

Вимірювання абсорбції розчинів проводили на скануючому спектрофотометрі Optizen POP, товщина кювети 10 мм, довжина хвилі $\lambda = 238$ нм, використовуючи воду очищену в якості компенсаційного розчину.

Вміст діючої речовини в одній таблетці розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times 1000 \times 25 \times 10 \times P}{A_0 \times m_x \times 10 \times 250 \times 25 \times 100} = \frac{A_x \times m_0 \times 4 \times P}{A_0 \times m_x \times 100}, \quad (4.3)$$

де A_x – абсорбція розчину однієї таблетки;

m_0 – наважка стандартного зразка ангіоліну, г;

P – відсотковий вміст ангіоліну в стандартному зразку;

A_0 – абсорбція РСЗ;

m_x – маса діючої речовини в одній таблетці, г.

Результати дослідження наведено в табл. 4.8

Таблиця 4.7

Визначення однорідності маси для таблеток «Ангіолін»

	№1	Відхилення%	№2	Відхилення %	№3	Відхилення%	№4	Відхилення%	№5	Відхилення%	№6	Відхилення%
1	0,3113	2,6	0,3161	3,16	0,3121	2,89	0,3261	1,49	0,333	3,03	0,3169	1,7
2	0,3261	2,03	0,3172	2,82	0,3204	0,31	0,3192	0,65	0,3261	0,9	0,3058	1,86
3	0,3254	1,81	0,3254	0,31	0,3251	1,15	0,3209	0,12	0,3281	1,52	0,3204	2,82
4	0,3215	0,59	0,3295	0,95	0,3172	1,31	0,3211	0,06	0,3222	0,31	0,3134	0,58
5	0,3236	1,25	0,3277	0,4	0,3175	1,21	0,3241	0,87	0,3207	0,77	0,3204	2,82
6	0,3234	1,19	0,3158	3,25	0,3114	3,11	0,3303	2,8	0,3124	3,34	0,3081	1,12
7	0,3231	1,1	0,3246	0,55	0,3137	2,4	0,3281	2,12	0,3256	0,74	0,3042	2,37
8	0,3152	1,38	0,3211	1,62	0,3281	2,08	0,3172	1,28	0,3334	3,16	0,3107	0,29
9	0,3105	2,85	0,3342	2,39	0,3161	1,65	0,3174	1,21	0,3255	0,71	0,3136	0,64
10	0,3248	1,63	0,3286	0,67	0,3212	0,06	0,3276	1,96	0,3333	3,13	0,3038	2,5
11	0,3157	1,22	0,3378	3,49	0,3274	1,87	0,3157	1,74	0,3244	0,37	0,3074	1,35
12	0,3243	1,47	0,3294	0,92	0,3195	0,59	0,3265	1,62	0,3202	0,93	0,3092	0,77
13	0,3222	0,81	0,3281	0,52	0,3214	0	0,3136	2,4	0,3161	2,2	0,3143	0,87
14	0,3264	2,13	0,3335	2,18	0,3261	1,46	0,3164	1,53	0,316	2,23	0,3107	0,29
15	0,3177	0,59	0,3315	1,56	0,3142	2,24	0,3211	0,06	0,3279	1,45	0,3075	1,32
16	0,3179	0,53	0,3221	1,32	0,3187	0,84	0,3152	1,9	0,3174	1,79	0,3142	0,83
17	0,3155	1,28	0,3354	2,76	0,3234	0,62	0,3238	0,78	0,3212	0,62	0,3126	0,32
18	0,3182	0,44	0,3213	1,56	0,3226	0,37	0,3259	1,43	0,321	0,68	0,3111	0,16
19	0,3171	0,78	0,3276	0,37	0,3231	0,53	0,3157	1,74	0,318	1,61	0,3132	0,51
20	0,3204	0,25	0,3214	1,53	0,3234	0,62	0,3204	0,28	0,3221	0,34	0,3153	1,19
Маса середня	0,3196		0,3256		0,3214		0,3213		0,3232		0,3116	

**Результати визначення однорідності вмісту діючої речовини в таблетках
«Ангіолін»**

№	Абсорбція	Маса таблетки, г	Вміст ангіоліну, г	Вміст ангіоліну відносно вказаного у складі, %	Відносне стандартне відхилення, ±%
1.	0,504	0,3216	0,2036	101,81	0,69
2.	0,499	0,3225	0,2016	100,81	0,29
3.	0,501	0,3250	0,2024	101,21	0,10
4.	0,503	0,3205	0,2032	101,62	0,49
5.	0,500	0,3231	0,2020	101,01	0,10
6.	0,502	0,3214	0,2028	101,41	0,30
7.	0,501	0,3252	0,2024	101,21	0,10
8.	0,498	0,3246	0,2012	100,60	0,49
9.	0,496	0,3221	0,2004	100,20	0,89
10.	0,502	0,3254	0,2028	101,41	0,29
Середнє	0,500	0,3231	0,2022	101,12	0,37
Розчин	0,495	0,05000			

Отримані результати показали, що вміст ангіоліну в кожній з 10 випробуваних таблеток знаходиться в межах 100,20%-101,81% від зазначеного в розділі «Склад», а відносне стандартне відхилення становить від 0,1% до 0,89%, що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Розпадання, ДФУ, 2.9.1. Дослідження проводили на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ з використанням тестеру для визначення розпадання таблеток ERWEKA серії ZTx20.

В результаті дослідження 6-ти серій отриманих таблеток час розпадання не перевищував 15 хв., що відповідає вимогам ДФУ.

Розчинення. Відомо, що в таблетованих лікарських формах велику увагу приділяють біодоступності. Тому для оригінального лікарського препарату «Ангіолін» нами було проведено тест «Розчинення». Визначення кількісного вмісту речовини, яка перейшла у розчин, було знайдено за допомогою метода спектрофотометрії, який застосовували для аналізу субстанції і таблеткової маси[8,60,110].

Випробуваний розчин. Для випробування у посуд для розчинення поміщали одну таблетку. Через 45 хвилин відбирали 25 мл розчину і фільтрували крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5-10 мл фільтрату.

Приготування стандартного розчину (розчин порівняння). Близько 0,2000 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) ангіоліну вносять у мірну колбу ємкістю на 1000 мл, розчиняють у 50 мл води очищеної, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше ніж 0,45 мкм., перші 5 – 10 мл відкидаємо. Далі 10 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25 мл і доводимо до мітки.

Вимірювання абсорбції розчинів проводили на скануючому спектрофотометрі Optizen POP, товщина кювети 10 мм, довжина хвилі $\lambda = 238$ нм, використовуючи воду очищену в якості компенсаційного розчину.

Вміст діючої речовини в одній таблетці розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times t \times 1000 \times 25 \times 10 \times P}{A_0 \times m_x \times 10 \times 1000 \times 25 \times 100} = \frac{A_x \times m_0 \times t \times P}{A_0 \times m_x \times 100}, \quad (4.4)$$

де A_x – абсорбція розчину однієї таблетки;

m_0 – наважка стандартного зразка ангіоліну, г;

P – відсотковий вміст ангіоліну в стандартному зразку;

A_0 – абсорбція РСЗ;

m_x – маса діючої речовини в одній таблетці, г.

t – середня маса однієї таблетки, г.

Результати дослідження наведено в табл. 4.9

Таблиця 4.9

Результати тесту «Розчинення» зразків таблеток методом спектрофотометрії

№ лабораторної серії	Номер досліджу	Вміст ангіоліну в одній таблетці	Ангіолін		
			Абсорбція ангіоліну	Маса таблетки	Знайдено у грамах
1	2	3	4	5	6
1	1	0,2000	0,495	0,3185	0,2001
	2		0,488	0,3169	0,1983
	3		0,491	0,3173	0,1993
	4		0,494	0,3191	0,1993
	5		0,486	0,3146	0,1989
	6		0,482	0,3154	0,1967
2	1	0,2000	0,488	0,3162	0,1987
	2		0,492	0,3165	0,2001
	3		0,493	0,3200	0,1991
	4		0,497	0,3250	0,1969
	5		0,498	0,3300	0,1943
	6		0,501	0,3198	0,1956
3	1	0,2000	0,503	0,3220	0,2011
	2		0,505	0,3254	0,1998
	3		0,508	0,3299	0,1982
	4		0,507	0,3300	0,1978
	5		0,510	0,3280	0,2002
	6		0,512	0,3298	0,1999
4	1	0,2000	0,482	0,3225	0,1925
	2		0,486	0,3215	0,1947
	3		0,491	0,3169	0,1995
	4		0,478	0,3189	0,1930
	5		0,488	0,3207	0,1959
	6		0,493	0,3218	0,1973
5	1	0,2000	0,484	0,3178	0,1961
	2		0,491	0,3218	0,1965
	3		0,479	0,3173	0,1944
	4		0,489	0,3194	0,1971
	5		0,499	0,3224	0,1993
	6		0,492	0,322	0,1972

Продовж. табл. 4.9

1	2	3	4	5	6
6	1	0,2000	0,491	0,3162	0,1999
	2		0,481	0,3142	0,1971
	3		0,494	0,3232	0,1968
	4		0,483	0,3156	0,1970
	5		0,481	0,3186	0,1944
	6		0,489	0,3181	0,1979
Розчин порівняння		РСЗ ангіоліну 0,2000	0,497		

Отримані результати дослідження довели, що грамівий вмість діючої речовини, що перейшла в розчин з таблеток «Ангіолін» через 45 хв становить від 0,1925 до 0,2011, що відповідає вимогам ДФУ.

Кількісне визначення. В результаті проведених фармако-технологічних досліджень розроблено таблетки ангіоліну з середньою масою 320,0 мг, із вмістом діючої речовини 200,0 мг.

Попередньо була розроблена методика визначення діючої речовини в таблетковій масі спектрофотометричним методом, яка застосовується при постадійному контролю якості таблеток [31].

Для кількісного визначення вмісту ангіоліну в отриманих таблетках апробували методику спектрофотометричного визначення, яку розробили та використали для стандартизації таблеткової маси.

Приготування випробуваного розчину. Близько 0,073 г (точна наважка) порошку подрібнених таблеток ангіоліну вносять у мірну колбу ємкістю на 250,00 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять водою очищеною до мітки, ретельно перемішують і фільтрують через фільтр із діаметром пор не більше ніж 0,45 мкм, перші 5 – 10 мл відкидаємо. Далі 10,00 мл отриманого розчину переносимо у колбу ємкістю на 25,00 мл і доводимо до мітки. Вимірюють абсорбції розчину таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм.

Розчин порівняння. 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразка ангіоліну (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу

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

Вимірюють абсорбцію РСЗ при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм. Як стандартний зразок використали ФСЗ 2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна.

Вимірювання абсорбція випробуваного розчину і розчину порівняння проводили на скануючому спектрофотометрі Optizen POP, в кюветах з товщиною шару 10 мм при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм, використовуючи воду очищену в якості компенсаційного розчину.

Вміст діючої речовини в одній таблетці розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times m \times P}{A_0 \times m_x \times 100}, \quad (4.5)$$

де A_x – абсорбція робочого розчину;

m_0 – наважка стандартного зразка, г;

m – маса однієї таблетки, г;

P – відсотковий вміст речовини в стандартному зразку, %;

A_0 – абсорбція розчину порівняння;

m_x – наважка порошку подрібнених таблеток, г.

Результати аналізу таблеток ангіоліну методом спектрофотометрії наведено в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

Результати аналізу зразків таблеток ангіоліну методом спектрофотометрії

№ п/п	Наважка порошку подрібнених таблеток, г	абсорбція, A	Грамовий вміст в таблетці, г	Статистика
1	0,0731	A ₁ = 0,479 A ₂ = 0,481 <u>A₃ = 0,480</u> A = 0,480	0,2009	– x = 0.20095 s _x = 0.000497
2	0,0739	A ₁ = 0,486 A ₂ = 0,486 <u>A₃ = 0,484</u> A = 0,485	0,2008	t(0.95, 5) = 2.015 Δ _x = 0.00409
3	0,0733	A ₁ = 0,483 A ₂ = 0,478 <u>A₃ = 0,480</u> A = 0,481	0,2008	ε = 0.20%
4	0,0720	A ₁ = 0,475 A ₂ = 0,473 <u>A₃ = 0,474</u> A = 0,474	0,2014	
5	0,0749	A ₁ = 0,488 A ₂ = 0,493 <u>A₃ = 0,489</u> A = 0,490	0,2002	
6	0,0722	A ₁ = 0,477 A ₂ = 0,472 <u>A₃ = 0,476</u> A = 0,475	0,2016	
РСЗ	0,0500	A ₁ = 0,524 A ₂ = 0,524 <u>A₃ = 0,523</u> A = 0,524	m ср. табл. = 0,3207	

Розглянувши результати, наведені в табл. 4.11, можна зробити висновок, що розроблена нами методика визначення кількісного вмісту діючої речовини в таблетках ангіоліну спектрофотометричним методом є зручною та простою у виконанні, точною та відтворюваною. За результатами проведених досліджень розроблено проект МКЯ (Додаток С) та специфікацію на таблетки «Ангіолін».

Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (Додаток Р).

4.5 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток «Ангіолін»

Для того, щоб аналітична методика зайняла гідне місце в системі забезпечення якості, відповідала своєму призначенню, тим самим гарантувала достовірні та точні результати аналізу, передбачена процедура валідації аналітичних методик [224].

Згідно з ДФУ запропоновані методики кількісного визначення досліджуваних таблеток мають бути перевірені за валідаційними характеристиками такими як специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робастність [6, 40, 41, 70, 71, 72, 93, 212, 255].

Специфічність розроблених методик кількісного визначення таблеток «Ангіолін» встановлювали шляхом приготування модельних сумішей допоміжних речовин та аналізували розчин «плацебо» [61, 62, 80, 94, 95].

В результаті дослідження, як бачимо на рис. 4.11, що допоміжні речовини таблеток «Ангіолін» майже не поглинають випромінювання в області спектра, в якій спостерігаються максимум поглинання діючої речовини, і їх внесок у величину абсорбція зразків складає менше 1%.

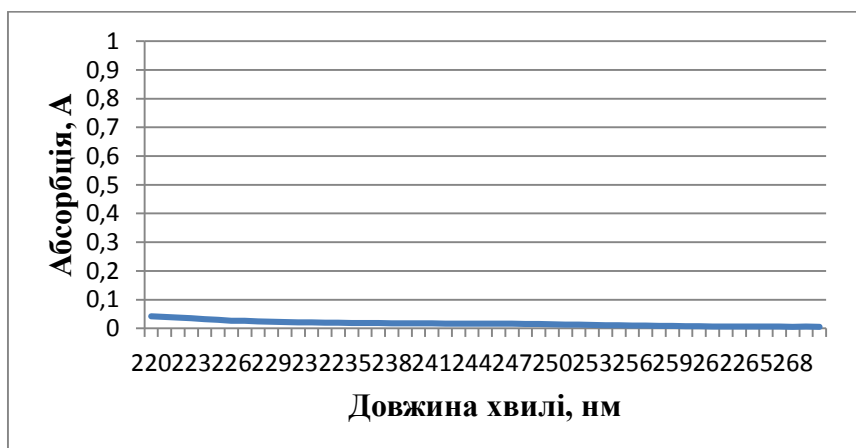


Рис. 4.11 УФ-спектр допоміжних речовин у воді

Перевірка стабільності досліджуваного розчину порівняння є одним з елементів вивчення робастності методики і повинна проводитися перед початком всіх інших валідаційних досліджень [139, 167, 221, 222, 232]. В результаті дослідження доведено, що розчин є стабільним не менше години. Для цього проводили паралельний вимір оптичної щільності розчину через час $t = 0, 15, 30, 45$ і 60 хв.

Результати проведення випробування стабільності нашого розчину в часі вказані в табл. 4.11.

Таблиця 4.11

Стабільність розчинів у часі

t, хв	0	15	30	45	60	Середнє	RSDt%	$\Delta t\%$	max
A ₀	0.485	0.485	0.486	0.486	0,486	0,486	0,11	0,23	0,56
A	0.481	0.481	0.482	0.482	0,483	0,482	0.17	0,30	0,56

Лінійну залежність досліджували у межах діапазону застосування розроблених методик. Вона була підтверджена безпосередньо на таблетках, шляхом розведення стандартних розчинів (використано 9 концентрацій).

За отриманими даними будували графіки залежності абсорбція отриманих розчинів від їх концентрації.

Одержані результати обробляли методом найменших квадратів та розраховували рівняння лінійної регресії, що мали загальний вигляд: $y = a + b \cdot x$, де y – вимірювана величина (абсорбція), x – концентрація визначуваної лікарської речовини, a – вільний член лінійної залежності для розрахованої регресійної прямої, b – кутовий коефіцієнт для розрахованої регресійної прямої.

Для кількісної оцінки відтворюваності результатів визначень та адекватності лінійної залежності розраховували числові показники лінійної залежності, а саме, коефіцієнт кореляції R (повинен бути більше загального індексу кореляції R_c), залишкове стандартне відхилення S_0 (не повинно перевищувати максимальну невизначеність аналізу ΔA_s), вільний член лінійної регресії a ($|a| \leq \Delta a$) та коефіцієнт регресії b (табл. 4.12) та лінійна залежність зображена на рис. 4.12.

Числові показники лінійної залежності

Найменування величини	Значення	Критерії	Висновок
1	2	3	4
b	0,9961	–	–
S _b	0,0168	–	–
A	0,8951	1) $\leq 1,8946 * S_a = 3,16$; 2) Якщо не виконується 1), то $\leq 2,6$	відповідає
S _a	1,6681	–	–
S _r	1,1312	$\leq 0,84$	–
R	0,9990	$\geq 0,99814$	відповідає

Розраховані числові показники лінійної залежності свідчать про те, що лінійність відповідає вимогам ДФУ в обраних діапазонах концентрацій.

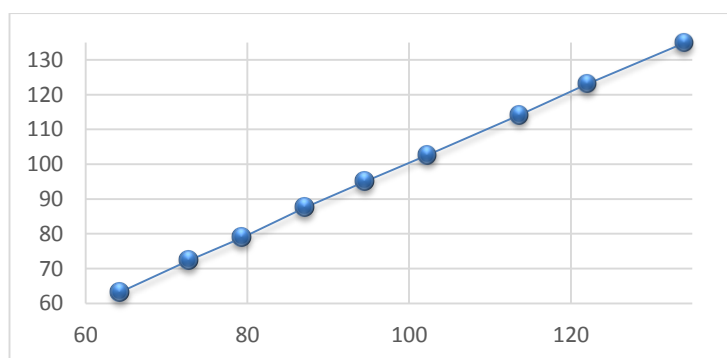


Рис.4.12 Лінійна залежність абсорбції від концентрації ангіоліна у нормалізованих координатах

Згідно до вимог ДФУ, таку валідаційну характеристику як *правильність та точність* розроблених методик кількісного визначення діючої речовини у складі лікарських препаратів встановлювали методом модельних сумішей (табл 4.13).

Загальною метою при визначенні правильності методик є виявлення можливих систематичних похибок, які виникають в результаті впливу на результати визначень допоміжних речовин, що входять до складу лікарського засобу.

Таблиця 4.13

Результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка

№ модельного розчину	Наважки ангіоліна, Γ ($m_{st} = 0,0825$)	Введено в% до конц. розчину порівняння – X_i , факт. %	Середні показники абсорбції ($A_i^{st} = 0,485$)	Знайдено в% до концентрації розчину порівняння – $Y_i\%$	Знайдено в% до введення $Z_i = 100 \times (Y_i/X_i)\%$
1.	0,0530	62,24	0,316	65,15	101,41
2.	0,0601	72,84	0,351	72,37	99,35
3.	0,0655	79,39	0,383	78,96	99,45
4.	0,0719	87,15	0,425	87,62	100,53
5.	0,0780	94,54	0,456	94,02	99,44
6.	0,0844	102,30	0,498	102,68	100,37
7.	0,0938	113,69	0,554	114,22	100,47
8.	0,1007	122,06	0,597	123,09	100,84
9.	0,1107	134,06	0,654	134,84	100,58
Середнє, \bar{Z} %					100,27
Відносне стандартне відхилення, $s_z\%$					0,71
Відносний довірчий інтервал $\Delta\% = t(95\%, 8) \times s_z = 1.860 \times s_z =$					1,28
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta\% \leq$					1,6
Систематична похибка $\delta = \bar{Z} - 100 $					0,27
Критерій незначимості систематичної похибки $\delta \leq \Delta/3 = 1,28/3 = 0,44;$					Виконується
Загальний висновок про методику:					Коректна

Прецизійність методики визначається близькістю результатів для серії вимірів, виконаних за даною методикою при різних пробах одного і того самого однорідного зразка, та обумовлюється наявністю випадкових похибок. Згідно ДФУ, прецизійність методики розглядається на трьох рівнях: внутрішньолабораторна прецизійність, збіжність та відтворюваність. В даному дослідженні було проведено визначення прецизійності запропонованої методики на рівні збіжності. Для цього в кожному випадку проводили п'ятнадцять паралельних визначень (п'ять наважок, три повтори), а за результатами розраховували метрологічні характеристики. Згідно даних наведених у табл.4.14 встановлено, що у всіх випадках однобічний довірчий інтервал не перевищує максимально допустиму невизначеність аналізу, тому методики є точними на рівні збіжності.

Таблиця 4.14

Прецизійність

№ розчину	Величини Z_i		
	1 дослід	2 дослід	3 дослід
1	99,62	99,20	99,87
2	99,38	97,78	99,09
3	97,76	98,56	98,87
4	99,48	99,64	99,01
5	98,22	98,81	97,95
Середнє	98,89	98,79	98,95
Об'єднане середнє $Z_{int ra}$ %	98,87		
S_z (%)	0,84	0,7	0,69
SD_z (%)	0,12		
Δ_{intra} % (k=5)	= 1,76*0,12=0,21≤1,6		

Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не повинна перевищувати максимально допустимої невизначеності результатів аналізу $\max \Delta_{As}$. Повну прогнозовану відносну невизначеність розраховуємо за формулою:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (4.6)$$

де, Δ_{SP} - невизначеність пробопідготовки

Δ_{FAO} - прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції.

Результати, які отримали у результаті невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення таблеток «Ангіолін» наведені в табл. 4.15.

Таблиця 4.15

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність
Розчин порівняння		
1. Взяття наважки СЗ ангіоліна	m_0	$0,2/50 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,4\%$
2. Доведення до об'єму в мірній колбі 250 мл	250	0,08%
3. Взяття аліквоти піпеткою 10 мл	10	0,25%
4. Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%
Випробуваний розчин		
5. Взяття наважки таблеток	m_1	$0,2/80 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,25\%$
6. Доведення до об'єму в мірній колбі 250 мл	250	0,08%
7. Взяття аліквоти піпеткою 10 мл	10	0,25%
8. Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%

$$\Delta SP = \sqrt{0,4^2 + 0,08^2 + 0,25^2 + 0,23^2 + 0,25^2 + 0,08^2 + 0,25^2 + 0,23^2} = 0,68\%$$

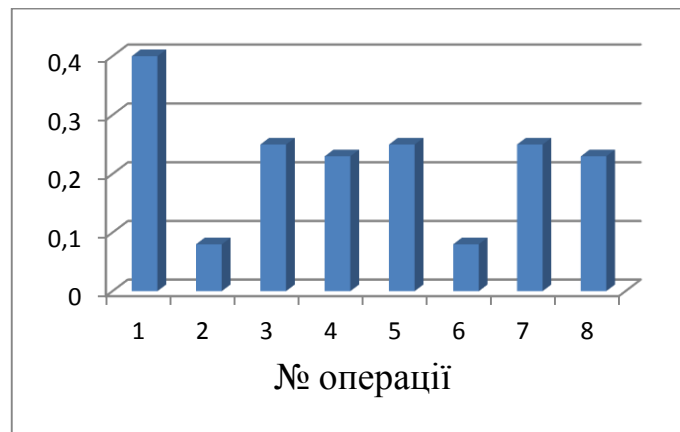


Рис.4.13 Розподіл невизначеності пробопідготовки за операціями для кількісного визначення таблеток «Ангіолін»

З рис.4.13 видно, що найбільшу невизначеність в пробопідготовку вносить операція 1 - Взяття наважки СЗ ангіоліна, а також операція 3,7 - взяття аліквоти піпеткою 10 мл і 5 - взяття наважки таблеток. Такий розподіл складових невизначеності пробопідготовки є досить характерним при контролі якості лікарських засобів. Далі нами було проведено аналіз невизначеності пробопідготовки для однорідності вмісту діючої речовини в таблетках «Ангіолін» наведені в таблиці 4.16.

Таблиця 4.16

**Розрахунок невизначеності пробопідготовки для однорідності
вмісту діючої речовини**

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність
1	2	3
Розчин порівняння		
1. Взяття наважки СЗ ангіоліна	m_0	$0,2/50 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,4$

Продовж. табл. 4.16

1	2	3
2. Доведення до об'єму в мірній колбі 250 мл	250	0,08%
3. Взяття аліквоти піпеткою 10 мл	10	0,25%
4. Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%
Дослідний розчин		
5. Доведення до об'єму в мірній колбі 250 мл	250	0,08%
6. Взяття аліквоти піпеткою 10 мл	10	0,25%
7. Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%

$$\Delta SP = \sqrt{0,4^2 + 0,08^2 + 0,25^2 + 0,23^2 + 0,08^2 + 0,25^2 + 0,23^2} = 0,63\%$$

Наступним етапом було проведено аналіз невизначеності пробопідготовки для розчинення таблеток «Ангіолін», результати наведені наведені в табл. 4.17.

Таблиця 4.17

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для тесту «Розчинення»

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність
1	2	3
Розчин порівняння		
1. Взяття наважки СЗ ангіоліна	m_0	$0,2/50 \text{ мг} \cdot 100\% = 0,4\%$

Продовж. табл. 4.17

1	2	3
2. Доведення до об'єму в мірній колбі 250 мл	250	0,08%
3. Взяття аліквоти піпеткою 10 мл	10	0,25%
4. Доведення до об'єму в мірній колбі 25 мл	25	0,23%
Дослідний розчин		
5. Доведення до об'єму циліндром 1000 мл	1000	0,1%

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0,4^2 + 0,08^2 + 0,25^2 + 0,23^2 + 0,1^2} = 0,54\%$$

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \times \frac{RSD_A \times 1,65}{\sqrt{3}} = 0,55$$

Повна невизначеність аналітичної методики

Кількісне визначення:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{0,68^2 + 0,55^2} = 0,87 \leq \max \Delta_{As} = 1,6\%$$

Однорідність вмісту:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{0,63^2 + 0,55^2} = 0,84 \leq \max \Delta_{As} = 1,6\%$$

Розчинення:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} = \sqrt{0,54^2 + 0,55^2} = 0,77 \leq \max \Delta_{As} = 1,6\%$$

Як видно, прогнозована повна невизначеність результатів для усіх трьох методик аналізу не перевищує критичне значення (1,75%), тобто методики будуть давати коректні результати і у інших лабораторіях.

Діапазоном застосування аналітичної методики є інтервалом між мінімальною та максимальною концентраціями досліджуваної речовини, для якого показано, що методика має потрібну лінійність, правильність та прецизійність. За результатами

проведених досліджень, діапазони застосування для розроблених методик знаходяться у межах робочих інтервалів для методик кількісного визначення згідно вимог ДФУ (80 – 120%).

Оцінку *робасності* проводили на стадії розробки методик шляхом визначення факторів, що впливають на величину абсорбції. Вплив цих факторів було враховано при виборі оптимальних умов визначення.

4.6 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток «Ангіолін»

Метою вивчення стабільності таблетованих лікарських форм є отримання інформації про те, яким чином змінюється їх якість з плином часу під впливом факторів навколишнього середовища (температури, вологості, освітлення). Отримані дані використовуються для встановлення рекомендованих умов зберігання і термінів придатності лікарського засобу.

Одним з найважливіших показників якості лікарських засобів є термін придатності – час, протягом якого не спостерігається негативних змін фізико-хімічних, фармакологічних або споживчих характеристик препарату. Тому нами було проведено дослідження стабільності створених таблеток «Ангіолін» для визначення терміну придатності та умов їх зберігання [106, 109]. Дослідження стабільності проводили згідно настанови 42-3.3:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів [96]. При розробці складу нового лікарського препарату термін придатності визначають експериментально, шляхом періодичної оцінки вказаних в МКЯ показників якості. Дослідження проводили для таблеток, які було виготовлено в лабораторних умовах та расфасовані у блістери. На підставі того, що субстанція ангіоліну є гігроскопічною та потребує захисту від світла за кімнатними умовами, для встановлення терміну придатності спостерігали за випробуваними зразками таблеток 27 місяців у сухому захищеному від світла місці, при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$. Для оцінки якості таблеток, що зберігалися у вищевказаних умовах, оцінювали зовнішній вигляд, проводили ідентифікацію, визначали кількісний вміст діючої речовини [126,127].

Встановлено, що при зберіганні впродовж 27 місяців та температурі $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, захищеному від світла місті таблетки відповідали вимогам проекту МКЯ. Тому запропоновано встановити термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C (Додаток В).

Висновки до розділу 4

1. Розроблені методики якісного та кількісного визначення субстанції ангіоліну спектрофотометричним методом, які є точними, відтворюваними та апробовані і впровадженні в діяльність науково дослідної лабораторії на базі ДП "Завод хімічних реактивів" НТК "Інститут монокристалів" НАН України (акт впровадження від 21.02.2017р).
2. Розроблено методику визначення супровідних домішок в субстанції методом ТШХ, яку апробовано і впровадженно в діяльність науково дослідної лабораторії на базі ДП "Завод хімічних реактивів" НТК "Інститут монокристалів" НАН України (акт апробації від 21.02.2017р.).
3. Розроблено методику спектрофотометричного визначення діючих речовин в таблетковій масі ангіоліну, яку планується запровадити при постадійному контролі таблеток в процесі виробництва.
4. Для створених таблеток «Ангіолін» із вмістом діючої речовини 200 мг (середня маса таблетки – 320 мг) розроблено методики стандартизації.
5. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки «Ангіолін».
6. Розроблена методика кількісного визначення ангіоліну була валідована та перевірена за такими характеристиками як специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність.
7. Вивчено стабільність таблеток «Ангіолін» у процесі зберігання та визначено термін та умови їх зберігання – 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C .

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 1. – С. 35–39. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

2. Щодо стандартизації таблеток L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 2. – С. 38–42. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

3. Regarding L-lysine- 3-methyl- 1,2,4- triazole 5 thioacetate standartization/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, G. I. Tkachenko // Фармац. часопис. – 2017. – № 1. – С. 22-25. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

4. Bidnenko O. On the issue of development of medicines in series of 1,2,4-triazole derivaties / Bidnenko O., Belenicheva O. // XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013, 18-21 вер. 2013 р. – Белосток, 2013. – С. 103. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

5. Bidnenko O. S. Разработка методов синтеза нового оригинального препарата «Лизиний» / Bidnenko O., Belenicheva O. // V Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых "Science4health 2013", 29 окт.-2 нояб. 2013 г. – М., 2013. – С. 8. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

6. Бидненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тиоуксусной кислоты / Бидненко А. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації - 2013», присвяч. Дню науки, 16-17 трав. 2013 р. – Запоріжжя,

2013. – С. 209. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

7. Бидненко А. С. Создание метаболитотропных энодотелиопротекторов - фокус на «Ангиолин» / Бидненко А. С., Павлюк И. В. // Материалы I науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», 3-5 июня. 2013 г. – М., 2013. – С. 13. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

8. Бідненко О. С. Розробка методів стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату / Бідненко О. С., Гулевська О. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.- практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю – Запоріжжя, 2016. – С. 222. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

9. Бидненко А. С. Создание нового метода получения лекарственного препарата / Бидненко А. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез, 2-4 квіт. 2014 р. – Чернівці, 2014. – С. 326. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

10. Бидненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоуксусной кислоты / Бидненко А. С. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – № 2. – С. 195 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

11. Бідненко О. С. Щодо розробки технології отримання (S) - 2,6-діаміногексанової кислоти / Бідненко О. С., Окатенко І. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.- практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю - 2016. – Запоріжжя, 2016. – С. 241. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТАБЛЕТОК «АНГІОЛІН»

В останні роки у зв'язку з ростом кількості захворювань, що перебігають з нейродегенеративними змінами та супроводжуються порушеннями когнітивних функцій здійснюється активний пошук сучасних високоефективних, малотоксичних біологічно активних сполук – перспективних препаратів з ендотеліопротективною та нейропротективною діями [83, 84, 102, 108].

У механізмах ішемічної нейродеструкції важливу роль відіграє оксидативний стрес, в основі якого лежить гіперпродукція активних форм кисню (АФК) біоенергетичними і нейрохімічними системами головного мозку. Накопичення в нейрональній клітці продуктів окисної модифікації білків (ОМБ), ліпідів, нуклеїнових кислот призводить до дисфункції мітохондрій, дефіциту енергії, зниження чутливості і специфічності рецепторів, порушення синаптичної передачі, а в подальшому - до некротичної або апоптичної (в залежності від концентрації АФК і антиоксидантного дефіциту) загибелі певної популяції нервових клітин і як наслідок - розвитку у тих, що вижили пацієнтів когнітивного дефіциту [1, 2, 5, 11, 13].

Нині арсенал медикаментозних засобів лікування мозкових інсультів включає тромболітики, антикоагулянти, блокатори кальцієвих каналів, модулятори глутамінових рецепторів, антиоксиданти, ноотропи та нейропептиди. Не зважаючи на наявність широкого вибору лікарських засобів, проблема лікування мозкових інсультів залишається актуальною[20,22]

На кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету синтезовано нову сполуку, яка отримала назву «Ангіолін», що поєднує фрагменти L-лізину (ендотеліопротектора) і тіотриазоліну (антиоксиданту). В ході досліджень встановлена висока нейропротективна і ендотеліотропна активність[9,12,16,26,34,114,253,254].

Тому для більш поглибленого вивчення ендотеліопротективної і нейропротективної дії оригінального лікарського препарату «Ангіолін» проведено дослідження фармакологічної активності. Дослідження проводили на базі НМЛЦ (керівник лабораторії, професор Абрамов А. В.), а також на кафедрі фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри, професор Бєленічев І. Ф.).

5.1 Дослідження гострої токсичності таблеток «Ангіолін»

Визначення гострої токсичності нового препарату «Ангіолін» проводили за методом Кербера в модифікації А.О. Лойт і М.Ф. Савченкова, Використовуючи класифікацію К.К. Сидорова. Для встановлення середньосмертельної дози (LD_{50}) досліджуваного препарату «Ангіолін», таблеткову масу вводили внутрішньошлунково у вигляді водного розчину за допомогою металевого зонда, одноразово 5 груп (при кожному шляху введення) лабораторних тварин (безпородні білі щурі), по 6 голів у кожній. Вводили кілька доз таблеткової маси «Ангіолін», включаючи дозу що не викликає загибелі жодної тварини і дозу, що викликає загибель всіх тварин в групі. Після введення таблеткової маси «Ангіолін» за рештою в живих тваринами вели спостереження протягом двох тижнів[7,26,33,213,214,215,260].

Розрахунок проводили за формулою:

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum(Z \cdot d)}{n}, \quad (5.1)$$

де Z - середня арифметична величина, отримана від ділення на 2 кількості загиблих від двох суміжних доз;

d - інтервал між двома дозами, що стоять поруч;

n - число тварин для кожної дози.

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

Результати досліджень, представлені в табл. 5.1, свідчать про те, що одноразове внутрішньошлункове введення таблеткової маси «Ангіолін» в дозі 15000 мг / кг не викликало загибелі жодної тварини. При введенні таблеткової маси «Ангіолін» в дозі 17000 мг / кг загинув 1 щур під кінець 2 доби спостереження, а 5 залишалися живими. Від дози 19000 мг / кг протягом 48 год загинуло 3 тварин з 6. Введення таблеткової маси «Ангіолін» в дозі 21000 мг / кг викликало загибель 5 тваринного в нічний час з 1 на 2 добу після введення. Одноразове внутрішньоочеревинне введення «Ангіолін» в дозі 23000 мг / кг викликало 100% загибель тварин протягом доби

Таблиця 5.1

Результати дослідів по визначенню гострої токсичності таблеткової маси «Ангіолін» при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим беспородним щурам через 2 тижні спостереження

Доза, мг/кг (№ групи)	15000 (1)	17000 (2)	19000 (3)	21000 (4)	23000 (5)
Вижило	6	5	3	1	0
Загинуло	0	1	3	5	6

$$LD_{50} = 23000 - \frac{24000}{6} = 19000 \pm 278 \text{ мг/кг}$$

Спостереження за тваринами, які отримували проміжні дози таблеткової маси «Ангіолін», дозволили нам визначити LD_{50} при внутрішньошлунковому введенні, яка становить 19000 ± 278 мг / кг

Картина гострого отруєння тварин, які отримали токсичну дозу пігулки маси «Ангіолін» при внутрішньошлунковому введення, характеризувалася млявістю, загальмованістю, пасивністю, полідипсією у всіх щурів. Через кілька хвилин симптоми посилюються, дихання по Чейн-Стоксу, гіподинамія. Через 2 год дихання стає ледве помітним, слабким, відсутні будь-які рухи. Загибель тварин відбувалася від паралічу дихального центру. У тварин, які отримали проміжні дози «Ангіолін», що вижили до 14 діб, протягом 12 год

спостерігалася млявість, загальмованість, пасивність, полідипсія. Дихання чейн-стоківського типу, внаслідок порушення кровопостачання і зниження збудливості дихального центру.

Через 36 год, симптоми поступово почали слабшати, аж до повного зникнення. Через 72 год після введення препарату щурам дихання нормалізувалося, відновилися рухова активність, з'явився здоровий апетит. Нашими дослідженнями показано, що зміни маси тіла, що вижили щурів, яким одноразово вводили таблеткову масу ангіоліну як в дозах від 15000 до 21000 мг / кг внутрішньошлунково, були в межах фізіологічної норми (табл. 5.1, 5.2). Таким чином, можна зробити висновок, що таблеточна маса «Ангіолін» при внутрішньошлунковому введенні відноситься до V класу токсичності.

Таблиця 5.2

Динаміка зміни маси тіла, що вижили щурів після одноразового внутрішньошлункового введення таблеткової маси «Ангіолін»

(15000 -21000 мг / кг) ($M \pm m$)

Терміни спостереження	Вихідна маса, г	Вага на 7-у добу, г	Вага на 14-у добу, г
Інтактні тварини (n=6)	177,3 ± 5,1	179,7 ± 5,7	183,3 ± 4,2
Тварини, які одноразово отримали «Ангіолін» (n=15)	175,2 ± 6,0	178,3 ± 5,7	180,8 ± 5,7

При анатомічному розтині загиблих щурів з усіх груп, яким внутрішньошлунково вводили таблеткової масу «Ангіолін», спостерігалася виражене повнокров'я судин очеревини, печінка повнокровна, світло-коричневого кольору, м'якої консистенції, края печінки закруглені. Слизова шлунку гіперемована і набрякла. На розрізі тканина з блиском. Портальні тракти набрякли, повнокров'я центральних междолькових вен.

Головний мозок - без видимих змін, дрібні крововиливи, судини мозочка і стовбура розширені, повнокровні. Тимус помірно в'ялий, блідо-рожевий. Сечовий міхур повний. Тонка кишка заповнена вмістом, низхідна ободова - роздута. Нирки без видимих зовнішніх змін. В серці у загиблих тварин шлуночки щільні в стадії скорочення, кровonosні судини артеріального і венозного русла повнокровні, в навколосерцевому просторі невелике скупчення крові.

5.2 Вивчення ендотеліопротективної і нейропротективної дії таблеток «Ангіолін»

З метою більш поглибленого вивчення ендотеліопротективної і нейропротективної дії таблеток «Ангіолін» використовували модель порушення мозкового кровообігу за типом ішемічного інсульту. Дану модель відтворювали шляхом двосторонньої оклюзії загальних сонних артерій у щурів лінії Вістар [130].

З огляду на високу смертність для цієї експериментальної моделі, оперували таку кількість тварин, щоб до 18 доби в кожній групі було по 10 тварин. Операцію проводили під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Тварин різних груп виводили з експерименту на 18-у добу спостереження під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Нейропротективну активність препаратів оцінювали за впливом препаратів на активність тіол-дисульфідної системи і зв'язаної з нею системи оксиду азоту і експресії білків теплового шоку масою 70 Кда.

Було обрано внутрішньошлунковий шлях введення препарату, який забезпечує простоту введення, високу біодоступність і відповідає передбачуваному в клінічній практиці пероральному введенню лікарської форми препарату (таблетки) протягом лікування [142, 160, 161, 165].

Досліджувані препарати вводили у вигляді суспензії розчинів внутрішньошлунково за допомогою металевого зонда відразу після виходу

тварин з наркозу протягом 18 діб – таблеткова маса «Ангіолін» 320 мг в перерахунку на діючу речовину 100 мг / кг, Мілдронат - 250 мг / кг. Для фармакологічних досліджень таблеток «Ангіолін» в якості референт-препарату було мілдронат, тому що згідно з рекомендаціями Європейського співтовариства кардіологів важливими компонентами комплексної терапії серцево судинних захворювань є кардіопротектори. Одним з кардіопротекторів, ефективність якого доведена в численних дослідженнях, і є мілдронат. У цій серії експерименту було чотири групи тварин:

- 1) інтактні - (10 щурів);
- 2) контрольні - нелікованих з порушенням мозкового кровообігу (ПМК), обстежені на 18-у добу (10 щурів);
- 3) тварини з ПМК, які одержували «Ангіолін», обстежені на 18-у добу (10 щурів);
- 4) тварини з ПМК, які одержували Мілдронат, обстежені на 18-у добу (10 щурів);

В роботі використовувалися: «Ангіолін» - таблеточна маса, яка була виготовлена на кафедрі Запорізького державного медичного університету, та Мілдронат - в капсулах по 250 мг виробництва АТ «Гриндекс» (Латвія).

Після закінчення експерименту, згідно з протоколом дослідження кожної моделі, тварин наркотизували тіопенталом натрію (40 мг / кг), у них розкривалася грудна клітка, забиралася кров з черевної аорти і в разі потреби - головний мозок.

З головного мозку швидко видаляли кров, відокремлювали від мозкової оболонки і досліджувані шматочки поміщали в рідкий азот. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану і гомогенізували в 10-кратному обсязі середовища при (2°C), що містить (в ммоль): сахарози - 250, трис-НСІ-буфера - 20, ЕДТА -1 (рН 7,4), при температурі (+ 4°C) методом диференціального центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну фракцію[169,170,171,172].

Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо проводилося центрифугування протягом 7 хвилин при 1000g, а потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хв при 17000g. Супернатант зливали і зберігали при -80°C . Осад мітохондрій ресуспендували в середовищі виділення, що містить бичачий сироватковий альбумін (0,5 мг / мл) і знову осаджували протягом 10 хвилин при 17000g. Мітохондрії суспендували в середовищі виділення, суспензія містила 40-60 мг білка / мл.

Для тривалого зберігання мітохондрії заморожують при -80°C . Для визначення швидкості відкриття мітохондріальної пори використовували суспензію 0,5-1,0 мг білка / мл. У цитозольних фракціях визначали відновлений і окислений глутатіон спектрофлюорометрично, активність глутатіонредуктази, глутатіопероксидази, глутатіонтрансферази, а також гомоцистеїн, метіонін і цистеїн спектрофотометрично [173, 174, 175, 220].

Нітротирозин визначали в цитозольних фракціях гомогенату серця твердофазним імуносорбентним сендвіч - ІФА методом (ELISA Kit (Кат №НК 501-02) фірми Hycult Biotech) і виражали в нм / г тканини. Концентрацію в цитоплазматичній або мітохондріальній фракціях органів (серце, головний мозок) і HSP₇₀ визначали методом Вестерн-блот аналізу. Білки розділяли в 10% поліакриламідному гелі (ПААГ). Поділ білкових фракцій проводився шляхом електрофорезу при напрузі 100 В (для ущільнення гелю), коли проби досягали межі розділу гелів - при 200 В напрузі, до того часу, поки проби не досягнуть закінчення гелю. Білки з гелю переносили на нітроцелюлозну мембрану при напрузі 100 В і силі струму 0,35 А протягом 1 год. Після перенесення мембрану поміщали в блокуючий буфер, що містить 1% розчин бичачого сироваткового альбуміну (SIGMA, США, кат. № A2153) на 20 год. Відмиту на шейкері протягом 5 хв в розчині 0,1 фосфатного буфера мембрану поміщали в розчин первинних антитіл проти HSP₇₀ (1: 500), (Santa Cruz Biotechnology) і інкубували 2 год при кімнатній температурі. Відмивали на шейкері 4 рази по 5 хв в 0,1 фосфатному буфері. Поміщали мембрану в розчин

вторинних антитіл (1:1000), (біотинілірування, анти-мишачий IgG, Sigma, США, кат № 051M4885.), 2 години інкубували. Відмивали на шейкері 4 рази по 5 хвилин в розчині 0,1 фосфатного буфера. Поміщали мембрану в розчин ExtrAvidin-пероксидази (SIGMA, США, кат №051M4885.) в 1% розчині бичачого сироваткового альбуміну (1: 1000). інкубували 1 год і промивали. Для візуалізації мембрану обробляли розчином АЕК: 1 таблетка 3-аміно-9-етілкарбазолу (Sigma, США, кат № a6926), розчинена в 2,5 мл ДМФА, що містить 47,5 мл 0,05М ацетатного буфера, рН 5,0, 25 мкл 30% H_2O_2 [187, 189, 208]. Інкубували мембрану в субстратній суміші 5-10 хв. Червоний нерозчинний преципітат характеризує комплекс антиген-антитіло в блоті. Промивали мембрану в дистильованій воді кілька разів. Висушували смужки між листами фільтрувального паперу під потоком холодного повітря. Детекцію HSP₇₀ здійснювали за допомогою денситометрії в програмі Adobe Photoshop. Для трансмісійного електронно-мікроскопічного дослідження тканину головного мозку (CA₁ зона гіпокампу) фіксували 3% розчином глутаральдегіду в буфері, рН 7,4 на протязі 2 год при 40°C; потім дофіксували 1% розчином чотириокису осмію в буфері протягом 1,5 год і зневоднювали в розчинах спиртів зростаючої концентрації (70% спирт був насичений ураніл-ацетатом).

Зразки тканини заливали в епоксидну смолу Епон-812, розведену ацетоном в 3, 2 і 1,5 рази відповідно, кожен раз залишаючи препарати для просочення смолою на ніч при кімнатній температурі. Останнім етапом було розміщення препаратів в нерозведену смолу при 37°C протягом ночі і подальша полімеризація епона при 60 ° C до твердого склоподібного стану. Серійні ультратонкі зрізи готували на ультрамікросомі LKB-III і фарбували свинцем по Рейнольдсу. Отримані препарати переглядали і фотографували в електронному мікроскопі. Результати дослідження розраховували із застосуванням стандартного статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® для Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 2003». Нормальність розподілу

оцінювали за критерієм Шапіро-Wilk. Дані представлені у вигляді середнього значення. Достовірність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стюдента при нормальному розподілі. У разі розподілу, відмінного від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U Манна-Уїтні. Для порівняння незалежних змінних в більш ніж двох вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Крускала-Уолліса для розподілу, відмінного від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності $p < 0,05$ (95%).

Результати проведених нами досліджень вказують на те, що формування хронічної церебральної ішемії у щурів призводить до зміщення тиол-дисульфідної системи у вигляді зменшення пулу її відновлених форм аж до 18 діб експерименту (табл. 2). Так, в даних умовах відзначалося виражене - на 95%, в порівнянні з групою псевдооперованих тварин, зниження значень тиол-дисульфідної системи, а також збільшення в 2,3 рази рівня окисленого глутатіону. У функціонуванні глутатіонзалежної ферментативної системи в тканинах мозку у щурів з ГПМК, зареєстровано порівнянне зниження активності ГПР і ГР на 77,0% і 73,3% відповідно, в порівнянні з групою псевдооперованих тварин (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Вплив Ангіоліну і Мілдронату на стан ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи в тканинах головного мозку тварин з порушенням мозкового кровообігу (ПМК) на 18-ту добу експерименту*

Група тварин	ГР мкмоль/мг білку /хв	ГПР мкмоль/мг білку /хв	Г-S-T мкмоль/мг білку /хв
1	2	3	4
Псевдооперовані (інтакт) (п=10)	19,5 ± 1,35	61,8 ± 2,9	15,8±1,07
ПМК (контроль)(п=10)	5,2 ± 0,42	14,2 ± 1,54	6,1±0,57
ПМК + Мілдронат, 250 мг/кг (п=10)	8,1 ± 0,75* (+55%)	16,2 ± 1,19* (+14%)	9,8±0,82* (+60%)
ПМК + Ангіолін, 100 мг/кг (п=10)	16,2 ± 0,71* ¹ (+211%)	47,5 ± 1,75* ¹ (+234%)	13,5±1,22* ¹ (+121%)

Примітки: * - p < 0,05 по відношенню до контрольної групи

¹ - p < 0,05 по відношенню до групи Мілдронату

На цьому тлі характерним було достовірне підвищення рівня гомоцистеїну в 4,6 рази (табл. 3).

В умовах проведення експериментальної терапії були отримані наступні результати впливу цих засобів на тіол-дисульфідну рівновагу (табл. 2). На тлі курсового введення ангіоліну відзначені виражені зміни, які характеризувалися значущим (в 7,14 рази) збільшенням відновлених інтермедіатів тіол-дисульфідної системи в порівнянні з контролем. Паралельно відзначалося підвищення в 4,9 рази рівня відновленого глутатіону, на тлі зниження вмісту його окисленої форми на 21,2%.

Подібні за спрямованістю зміни були відзначені і при використанні Мілдронату, однак параметри зафіксованих значень в цій групі, за виразністю поступалися показникам групи тварин з введенням ангіоліну. Так,

відзначалося помірно, в порівнянні з контролем, зростання значень інтермедіатів тіол-дисульфідної системи - підвищення активності ГР і ГПР на 55,7% і 14,0% відповідно. У свою чергу, рівень окисленого глутатіону в цій групі знижувався на 17,0%, а вміст його відновленої форми зростав на 61% ($p < 0,05$). Застосування Ангіоліну також призводило і до зниження вмісту в тканинах мозку потенційних нейротоксичних речовин - нітротирозину і гомоцистеїну на 42,0% і 52,9% відповідно (табл. 5.3). При цьому Ангіолін підвищував активність ГР в 3,1 рази, а ГПР - в 3,34 рази відносно показників тварин з ПМК на 18 добу експерименту.

Відомо, що саме зміни з боку тіольної неферментативної і ферментативної ланки антиоксидантної системи, які проявляються в зниженні відновленої і підвищенні окисленої форм, є одним з ранніх ознак порушення захисту клітин при ішемічних станах мозку. Зниження рівня відновленого глутатіону в тканинах мозку, виявлене нами у щурів з ішемічним інсультом, можливо, може бути наслідком порушення його синтезу, пов'язаного з порушенням тканинного дихання, обумовленого ішемією. Це, в свою чергу, призводить до зменшення рівня АТФ, необхідного для синтезу глутатіону. Іншою причиною зменшення пулу внутрішньоклітинного глутатіону може бути дефіцит рівня цистеїну, внаслідок його активного використання як антиоксиданту, що також показано в наших дослідженнях (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив Ангіоліну і Мілдронату на стан неферментної ланки тіол-дисульфідної системи в тканинах головного мозку тварин з ПМК на 18-ту добу експерименту*

Група тварин	SH-групи мкмоль/г тканини	SS-групи мкмоль/г тканини	Глутатіон відновлений мкмоль/г тканини	Глутатіон окисл. мкмоль/г тканини
Псевдооперовані (інтакт) (n=10)	57,3 ± 2,8	3,5 ± 0,2	4,3 ± 0,23	0,033 ± 0,008
ПМК (контроль) (n=10)	14,4 ± 1,32	17,2 ± 1,64	0,62 ± 0,05	0,076 ± 0,005
ПМК + Мілдронат, 250 мг/кг (n=10)	20,4 ± 1,38* (+41%)	11,4 ± 0,91* (-33%)	1,00 ± 0,75* (+61%)	0,063 ± 0,004* (-17%)
ПМК + Ангіолін, 100 мг/кг (n=10)	45,6 ± 2,58* ¹ (+216%)	5,5 ± 0,48* ¹ (-68%)	2,24 ± 0,12* ¹ (+261%)	0,035 ± 0,003* ¹ (-53%)

Примітки: * - p < 0,05 по відношенню до контрольної групи

¹ - p < 0,05 по відношенню до групи Мілдронату

Збільшення функціонування системи глутатіону, а також пов'язаних з його обміном антиоксидантних ферментів ГПР і ГР, захищає мозок від активних форм O₂ і продуктів пероксидації і певною мірою дозволяє відновити рівновагу і поліпшити редокс-регуляцію.

Проведення експериментальної церебропротекторної терапії у щурів з хронічною ішемією головного мозку сприяє зниженню інтенсивності хронічного оксидативного стресу в нервовій тканині. Однак, ступінь

вираженості змін показників тіол-дисульфідної системи, в залежності від використаного лікарського засобу, в кожній групі була різною.

Найбільш суттєві зміни зареєстровані при використанні Ангіоліну, а при призначенні мілдронату не було виявлено достовірних змін щодо групи нелікованих тварин. При введенні Ангіоліну встановлюється найбільш оптимальне співвідношення між рівнями відновлених і окислених тіольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тфол-дисульфідної системи в нейтралізації продуктів вільно-радикального окислення. Крім того, збільшення функціональності тіол-дисульфідної системи в умовах ішемічного інсульту, під впливом Ангіоліну, сприяє підвищенню біодоступності оксиду азоту, а також зменшує цитотоксичність NO і його дериватів, що проявлялося у вигляді вираженого зниження рівня нітротирозину. Ймовірно, що в умовах нітрозуючого і окислативного стресу, завдяки зазначеним механізмам, засоби, що вивчаються, збільшують стійкість нервової тканини до явищ ішемії.

Таблиця 5.5

Вплив Ангіоліну і Мілдронату на стан неферментної ланки ТДС в тканинах головного мозку тварин з ГПМК на 18-ту добу експерименту*

Група тварин	Гомоцистеїн мкмоль/г тканини	Цистеїн мкмоль/г тканини	Метіонін мкмоль/г тканини	Нітротирозин нмоль/г тканини
1	2	3	4	5
Псевдооперовані (інтакт) (n=10)	2,8 ± 0,26	3,15 ± 0,16	2,86 ± 0,15	10,6 ± 0,8
ПМК (контроль) (n=10)	12,95 ± 1,1	1,14 ± 0,074	1,25 ± 0,082	38,3 ± 1,66

ПМК + Мілдронат, 250 мг/кг (n=10)	10,7 ± 0,95 (-17%)	1,57 ± 0,11* (+38%)	1,74 ± 0,16* (+39%)	36,8 ± 1,2 (-4%)
НМК + Ангиолин, 100мг/кг (n=10)	6,1 ± 0,45* ¹ (-52%)	2,65 ± 0,093* ¹ (+132%)	2,53 ± 0,11* ¹ (+102%)	22,2 ± 1,1* ¹ (-42%)

Примітки: * - p < 0,05 по відношенню до контрольної групи;

¹ - p < 0,05 по відношенню до групи Мілдронату.

Таким чином, однією з ланок нейропротективного ефекту препарату «Ангіолін» стала його здатність стабілізувати тіол-дисульфідну рівновагу. Так, найбільш важливим ефектом зазначеного препарату в умовах ПМК стала нормалізація активності антиоксидантних ферментів, і, як наслідок, гальмування окисної модифікації білка. Подібна дія характерна для найбільш активних нейропротекторів. Багато авторів відносять окисну модифікацію білка до найбільш важливої ланки патогенезу ішемії головного мозку внаслідок того, що окислення білкових макромолекул рецепторів, іонних каналів призводить до порушення генерації, передачі і розпізнавання нервового імпульсу, порушення функціональної активності нейронів і в кінцевому підсумку - до розвитку неврологічного та когнітивного дефіциту. Негативний ефект окислювально-модифікованих білків у клітині пов'язаний з тим, що окислені білки здатні виступати в якості додаткового джерела вільних радикалів і виснажувати запаси внутрішньоклітинних антиоксидантів - аскорбінової кислоти, глутатіону.

Продукти вільно-радикального окислення білків також опосередковують окислювальні пошкодження ДНК, призводять до зниження функції білків у ланцюгу переносників електронів, активності АТФази, вибірковості дії транспортних пір. Зміна окисно-відновного потенціалу

мітохондріальної мембрани може відобразитися на дисфункції каскаду дихального ланцюга, порушуючи метаболізм в нейрональній клітині.

Відомо, що модулюючи рівень ендogenous відновленого глутатіону, можливо регулювати експресію білків теплового шоку в клітині.

Останнім часом з'явилися дані про захисну роль білків теплового шоку при церебральній ішемії, що супроводжується інтенсифікацією процесів вільнорадикального окислення, зміщенням тиол-дисульфідній рівноваги, розвитком нітрузуючого стресу, глутаматної ексайтотоксичності.

Виявлено зниження білка теплового шоку HSP₇₀ в головному мозку експериментальних тварин (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив Ангіоліну і Мілдронату на неврологічний статус і рівень HSP₇₀ в тканинах головного мозку тварин з ПМК на 18-ту добу експерименту*

Група тварин	HSP ₇₀ , у.о./ г білка		Середній бал за шкалою McGrow
	Мітохондріальна фракція	Цитозольна фракція	
Псевдооперовані (інтакт) (n=10)	7,2 ± 0,21	15,5 ± 0,36	0
ПМК (контроль) (n=10)	2,1 ± 0,11	6,4 ± 0,55	6,2 ± 1,2
ПМК + Мілдронат, 250 мг/кг (n=10)	2,0 ± 0,61 (-4%)	7,5 ± 0,58 (+17%)	4,9 ± 1,2 (-21%)
ПМК + Ангіолін, 100мг/кг (n=10)	8,1 ± 0,44* ¹ (+285%)	21,7 ± 0,98* ¹ (+239%)	2,4 ± 0,8* (-61%)

Примітки: * - p < 0,05 по відношенню до контрольної групи;

¹ - p < 0,05 по відношенню до групи Мілдронату.

Так, в групі нелікованих тварин спостерігалось зниження рівня HSP₇₀ в 2,4 і 3,4 рази відповідно в цитозольних мітохондріальних фракціях гомогенату головного мозку на 18 добу експерименту в порівнянні з аналогічними показниками інтактної групи. Введення Ангіоліну сприяло нормалізації рівня цього показника, що свідчить про його протекторні властивості і здатність запобігати пригніченню експресії гена HSP₇₀ в нейронах. При курсовому введенні Ангіоліну концентрація білка HSP₇₀ в цитоплазмі гомогенату головного мозку тварин підвищувалася на 239%, а в мітохондріях - на 285% у порівнянні з показниками контролю. Концентрація HSP₇₀ в головному мозку тварин, які отримували Ангіолін, була вище аналогічних показників інтактних групи (псевдооперованих тварин). Отримані дані свідчать про активацію експресії гена HSP₇₀ в нейронах під дією Ангіоліну. Так як цей білок відноситься до сімейства білків теплового шоку і володіє шаперон-активністю, підвищення його рівня відіграє значну роль в нормалізації життєдіяльності клітин і запобігання розвитку апоптозу і некрозу в умовах ГПМК.

Білки сімейства HSP індуюються в клітинах всіх живих організмів у відповідь на дію численних стресових факторів, таких як тепловий шок, гіпоксія, ішемія, метаболічні порушення, вірусна інфекція і вплив фармакологічних агентів. Гени цих білків активуються не тільки в умовах стресу, але і в ході основних процесів клітинної життєдіяльності, проліферації, диференціювання та апоптозу. HSP беруть участь у всіх процесах життєдіяльності тканин і органів. Мабуть, більшість захисних функцій HSP₇₀ пов'язана з шаперною активністю, тобто, з їх здатністю визнавати пошкоджені або знову синтезовані поліпептиди і виправляти їх структуру АТФ-опосередкованим чином або видаляти білки які не піддаються виправленню через протеосомний апарат. Останнім часом з'явилися дані про регулюючий вплив HSP₇₀ на явища мітохондріальної дисфункції, що розвивається при ішемічному ураженні головного мозку. У ряді робіт було показано, що в умовах *in vitro* HSP₇₀ здатний запобігати агрегації окислювально пошкоджених цитратсинтази, глутатіон-S-трансферази,

глутатіонредуктази, супероксиддисмутази, лактатдегідрогенази, малатдегідрогенази, регулювати тиол-дисульфідну рівновагу.

Крім того, однією з основних функцій HSP₇₀ є індукція, а також збільшення тривалості життя стабільної форми HIF-1a, яка включає подальші пристосувальні реакції в клітці. Нами встановлено, що HSP₇₀, «продовжує» дію HIF-1a, а також самостійно підтримує експресію НАД-МДГ-мх, тим самим довгостроково підтримуючи активність компенсаторного механізму вироблення АТФ - малат-аспартатного човникового механізму.

HSP₇₀ дефіцит – одна з причин формування мітохондріальної дисфункції з усіма впливаючими наслідками для життєдіяльності клітини. Дефіцит HSP₇₀ в нейроні на тлі депривації глутатіонової ланки тиол-дисульфідної системи, ймовірно, пов'язаний з гіперпродукцією АФК і цитотоксичних форм оксиду азоту, що призводять не тільки до модифікації (оборотної і необоротної) макромолекул, в тому числі і самого HSP₇₀, але і до зниження експресійної активності генів, що кодують синтез останнього. Низкою робіт доведена роль дериватів оксиду азоту в гальмуванні генної активності і зниженні рівня різних транскрипційних факторів. По всій видимості, надлишок таких форм оксиду азоту, як пероксинітрит і іон нітрозонія спочатку нитролізують тиольні – редоксизалежні ділянки цих генів, потім, при підвищенні концентрації, окислюють їх. HSP₇₀ індукуються в клітинах всіх живих організмів у відповідь на дію численних стресових факторів, таких як тепловий шок, гіпоксія, ішемія, метаболічні порушення, вірусна інфекція і вплив фармакологічних агентів. Відомо, що HSP₇₀ беруть участь у всіх процесах життєдіяльності клітини. За рахунок стабілізації окислювально пошкоджених макромолекул, HSP₇₀ здатний перешкоджати відкриттю мітохондріальної пори, блокуючи тим самим, вихід із мітохондрій цитохрому С, проявляючи тим самим пряму антиапоптичну дію. Крім того, відзначена і антиапоптична дія білків теплового шоку, обумовлена стимуляцією експресії антиапоптичного білка Bcl⁻².

Електронна мікроскопія CA₁-зони гіпокампу тварин з ПМК на 18-ту добу експерименту виявила порушення ультраструктури нейронів, які мають мозаїчний характер. Частина нейроцитів - з ознаками некротичних і некробіотичних змін. Більшість нейроцитів містять ядра з ознаками різко або помірно обмеженої функціональної активності, фрагментованою нуклеолою. У перикаріоні - вакуолярно-літичне пошкодження органел. У нейронах з явищами хроматолізу - набухання і вакуолізація цистерн пластинчастого апарату, часто з деформацією цистерн і їх фрагментацією. Поблизу - підвищена кількість лізосом різного ступеня зрілості, мультивезикулярних тілець і дрібних осміофільних включень. В ЕПР - масивне утворення вакуолеподібних цистерн.

Структура мітохондрій в нейроцитах з помірним ушкодженням порушена по вакуолярно-літичному типу. Більшість мітохондрій збільшені в розмірах, мають фрагментовану зовнішню мембрану, зруйновані кристи і електронно-прозорий матрикс. Іноді зустрічаються мітохондрії гігантських розмірів за рахунок різкого набряку матриксу. Незначна частина мітохондрій - з відносно збереженими кристами, невеликих розмірів. Характерною є наявність мікромітохондрій з гетероморфною структурою: частина з них містить стабільні мембрани в складі крист, інша частина - електронно-щільні включення на тлі щільного матриксу.

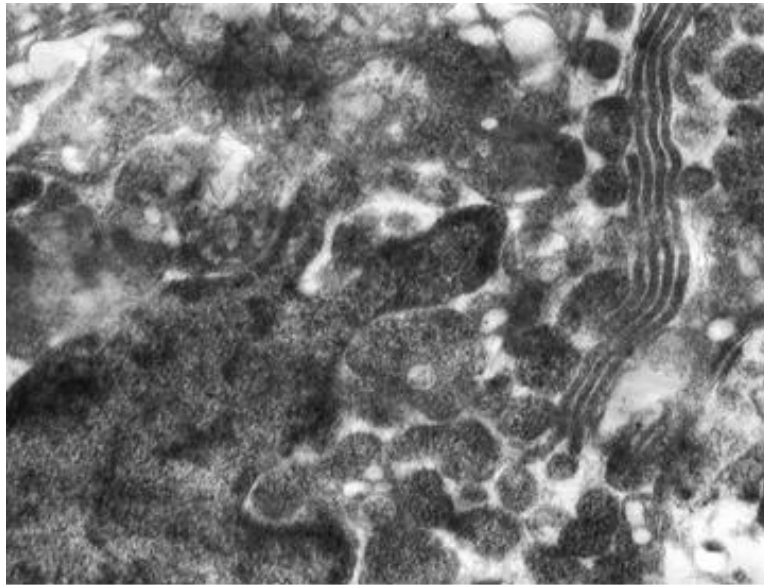


Рис. 5.1 Група псевдооперованих тварин (інтактні). Фрагмент нейрона гіпокампу щура. Мітохондрії з варіюючими кристами і матриксом, що варіює по щільності. Численні елементи гранулярного ендоплазматичного ретикулула. Розвинений комплекс Гольджі. Електронограма. $\times 2500$

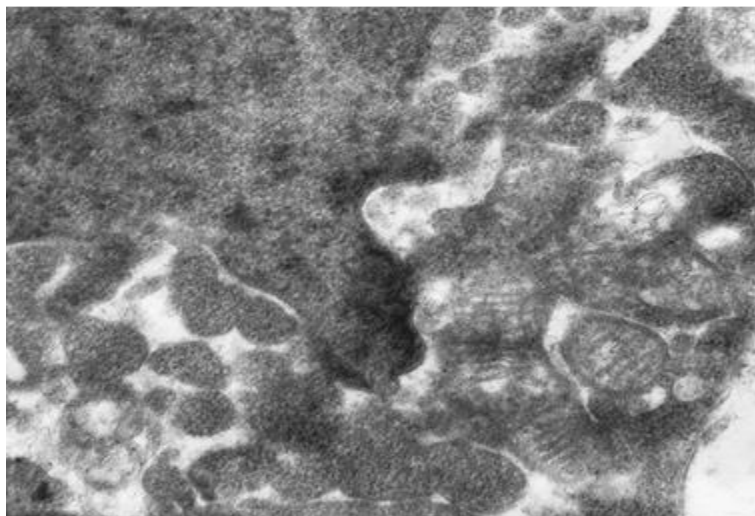


Рис. 5.2 Група псевдооперованих тварин (інтактні). Парануклеарна зона нейрона гіпокампу щура. Ядро з помірно активною нуклеоплазмою. Активні мітохондрії великих розмірів з ознаками межмітохондріальних контактів. Численні елементи гранулярного ендоплазматичного ретикулула. Електронограма. $\times 25000$

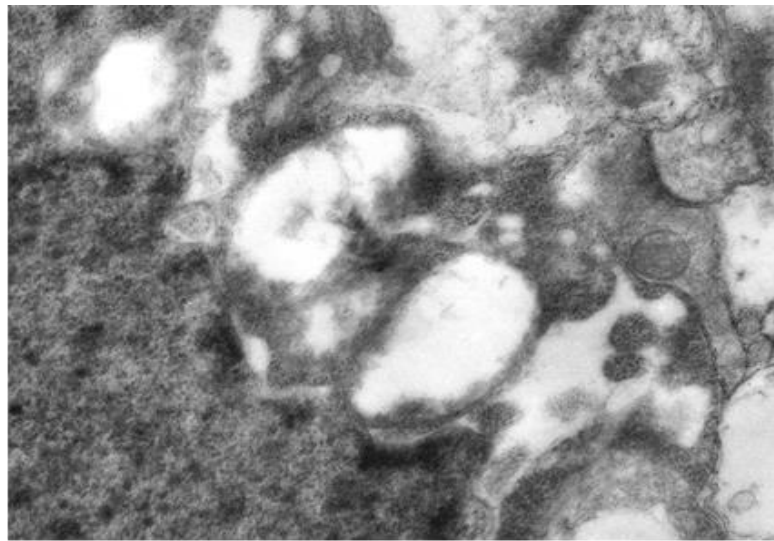


Рис. 5.3 Група тварин з ПМК без лікування 18 доба (контроль). Ділянка перікаріону нейрона гіпокампу щура. Вакулярно-літичні пошкодження мітохондрій і ендоплазматичного ретикулула. Поодинокі мікромітохондрії. Електронограма. $\times 30000$.

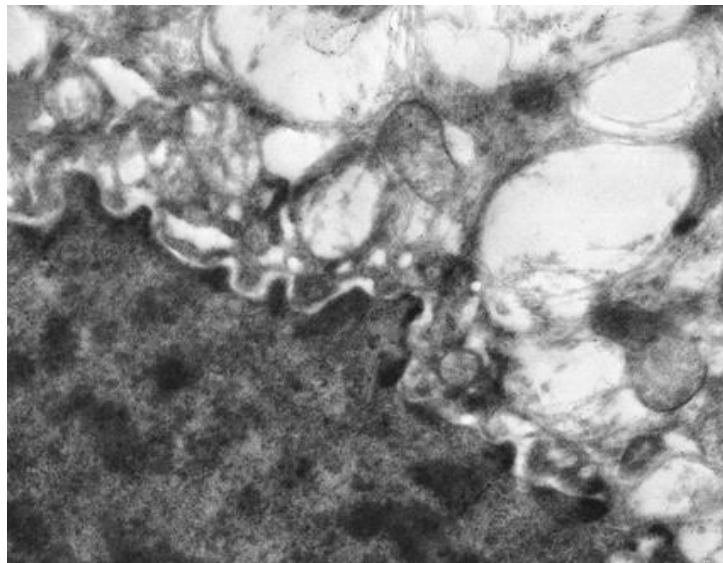


Рис. 5.4 Група тварин з ПМК без лікування 18 доба (контроль) Фрагмент нейрона гіпокампу щура. Вакулярно-літичні пошкодження перікаріону. Масивний кристалізм мітохондрій. Електронно-щільні включення в складі численних мікромітохондрій. Деструкція мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулула. Електронограма. $\times 30000$

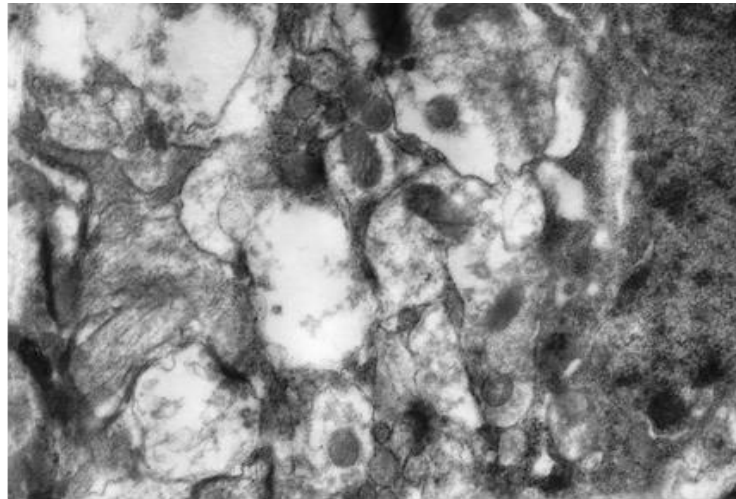


Рис. 5.5 Група тварин з ПМК, які отримували «Ангіолін» протягом 18 діб (100 мг/кг). Ділянка нейрона гіпокампу щура. Апоптоз за мітохондріальним типом у фазі індукції. Дестабілізація мітохондріальних мембран. Частковий кристалізм і нерівномірна електронна щільність матриксу. Великодисперсні пошкодження нуклеоплазми. Електроннограма. $\times 30000$

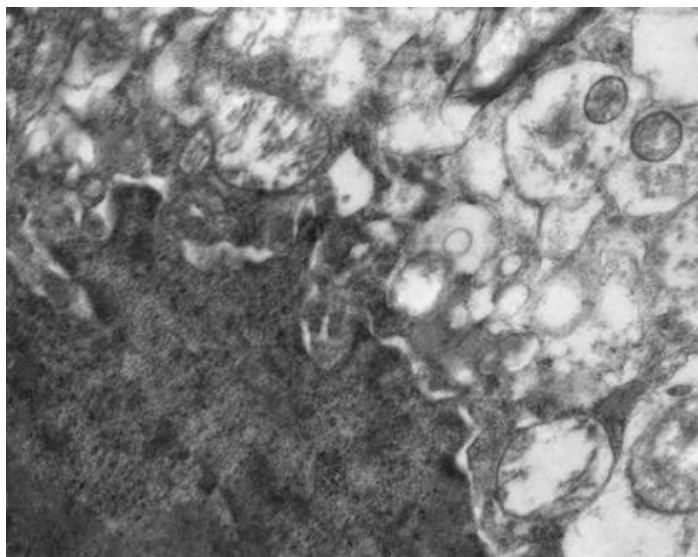


Рис. 5.6 Група тварин з ПМК, які отримували Ангіолін протягом 18 діб (100мг/кг). Фрагмент нейрона гіпокампу щура. Вакулярний тип пошкодження перикаріону. Активна нуклеоплазма. Помірний кристалізм мітохондрій. Стабільні мембрани мікромітохондрій. Часткова деструкція мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулула. Електроннограма. $\times 30000$

Порушення ультраструктури мітохондрій нейронів проявлялися в значному збільшенні загальної частки пошкоджених нейронів в загальній структурі мітохондрій, що характеризувалося підвищенням абсолютної кількості пошкоджених мітохондрій, більш ніж в 12 разів по відношенню до інтактної групи тварин (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Вплив Ангіоліна і Мілдроната на стан мітохондрій CA₁-зони гіпокампу головного мозку тварин з ПМК на 18-ту добу експерименту*

Група тварин	Кількісне пошкодження мітохондрій (абсолютне значення)	Відсоткова доля пошкоджених мітохондрій, %
Псевдооперовані (інтакт) (n=10)	6,8±0,51	8,5%
ПМК (контроль) (n=10)	77,9±3,7	97,4%
ПМК + Мілдронат, 250 мг/кг (n=10)	76,4±3,7 (-1,9%)	95,5%
ПМК + Ангіолін, 100 мг/кг (n=10)	38,5±4,1* ¹ (-50,5%)	48,2%

Примітки: * - p < 0,05 по відношенню до контрольної групи;

¹ - p < 0,05 по відношенню до групи Мілдронату.

Курсове введення таблеток «Ангіолін» протягом 18 діб після оклюзії обох сонних артерій призводило до покращення ультраструктури нейронів CA₁ - зони гіпокампу. Так, порушення ультраструктури нейронів в цій групі тварин мають більш різноманітний характер у порівнянні з контрольною групою. Крім одиничних нейроцитів з ознаками некробіотичних змін і великої кількості нейроцитів з ознаками відносної адаптації, зустрічаються фігури апоптозу нейронів. В основному це початкові стадії апоптотичних процесів,

що розвиваються за мітохондріальним типом. У таких клітинах спостерігається великодисперсне пошкодження нуклеоплазми з частково збереженою активністю ядра. Лізосом незначна кількість. У перікаріоні – помірна дезорганізація гранулярного ретикулума з набуханням цистерн і утворенням вакуолеподібних цистерн. Мітохондрії мають ділянки дефрагментації зовнішніх мембран, частково зруйновані кристи, нерівномірну електронну щільність матриксу. Зрідка зустрічаються мітохондрії із збереженою структурою крист.

Більшість нейрокитів з помірними порушеннями перікаріону за вакуолярним типом містять ядра з активною нуклеоплазмою або з ознаками помірно обмеженої функціональної активності. Нуклеолеми на всьому протязі стабільні, без фрагментації. Явища хроматолізу, набухання і вакуолізації цистерн пластинчастого апарату і ЕПР не виражені.

Мітохондрії представлені різними за структурою органеллами. Зустрічаються збільшені в розмірах мітохондрії з вакуолярним типом ушкодження, без ознак руйнування зовнішніх мембран, помірним кристолізісом, електронно-світлим матриксом. Гігантські мітохондрії не виявлені. Частина мітохондрій – з відносно стабільними кристами, невеликих розмірів, з помірно щільним матриксом. Кількість мікромітохондрій істотно не відрізняється від контрольної групи, проте всі вони містять стабільні зовнішні мембрани і кристи, гомогенний матрикс без електронно-щільних включень.

Звертало на себе увагу значне зменшення загального числа пошкоджених мітохондрій в мозку тварин, які отримували експериментальну терапію. Так, введення ангіоліну призводило до зниження пошкоджених мітохондрій більш ніж на 40% по відношенню до тварин контрольної групи. Ультраструктура нейронів СА₁ – зони гіпокампу тварин, які отримували 18 денним курсом Мілдронат (250 мг/кг) після оклюзії обох сонних артерій не відрізнялася від такої групи нелікованих тварин (контроль). Мітопротективні ефекти ангіоліну статистично достовірно перевищували такі Мілдронату.

Проведення терапії ангіоліну тваринам з ПМК виявило наявність у цього препарату нейропротективної, мітопротективної, антиоксидантної і метаболітотропної активності, про що свідчать проведені біохімічні дослідження стану тіол-дисульфідної системи, а також результати електронної мікроскопії. Наявність у цього препарату зазначених властивостей пояснюється наявністю в його структурі тіолової групи 1,2,4-триазолового кільця і залишку амінокислоти лізину. В основі ефективності ангіоліну лежить його здатність позитивно впливати на активність анаеробного гліколізу за рахунок збереження продукції енергії на трикарбоновій ділянці і впливати на активацію дикарбонової ділянки, стабілізуючи при цьому енергетичний метаболізм клітини в умовах ішемічного ушкодження. Залишок лізину, що знаходиться в складі молекули ангіоліну, в нейронах з'єднується з метіоніном, в результаті чого утворюється молекула карнітину. Карнітин відіграє роль "човника" в процесі утворення ацетил-СоА з жирних кислот. Оскільки процес активації жирних кислот і їх окислення просторово розділені, в клітині функціонує механізм перенесення довголанцюжкових жирних кислот через внутрішню мітохондріальну мембрану в мітохондріальний матрикс за участю карнітину і спеціальної ферментної системи. Ця система зворотно перекидає ацил на зовнішній стороні мембрани з СоА на карнітин, а на внутрішній - з карнітину на внутрішньомітохондріальний СоА. Також відомо, що посилення мітохондріального енергетичного метаболізму, що викликається карнітином, може запобігти утворенню пероксінітриту і інших вільних радикалів в умовах гіпоксії.

Залишок лізину в тканинах мозку метаболізується також і в піпеколінову кислоту, яка підсилює афінність ГАМК-бензодіазепінрецепторного комплексу. Цей ефект лізину особливо важливий в умовах глутаматної «ексайтотоксичності», яка має місце при гіпоксії і призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} , NO-активації синтази, інтенсивного утворення NO і пероксінітриту ($ONOO^-$), який є безпосередньою причиною загибелі клітин. Посилюючи афінність ГАМК-рецепторів, піпеколіновая

кислота знижує гіперзбудливість глутаматних рецепторів, зменшує викид збуджуючих амінокислот (глутамату і аспартату) і, тим самим, нейтралізує прояви глутаматної «ексайтотоксичності».

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

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

Моделювання порушення мозкового кровообігу у щурів шляхом білатеральної оклюзії загальних сонних артерій призводить на 18-ту добу ішемії до стійких порушень тіол-дисульфідної системи головного мозку, активації нітрозуючого стресу, дефіциту ендогенних нейропротекторів (білків теплового шоку) і пошкодження структури мітохондрій нейронів СА₁-зони гіпокампу. Порушення ультраструктури мітохондрій нейронів виявлялися в значному збільшенні загальної частки пошкоджених нейронів в загальній структурі мітохондрій, що характеризувалося підвищенням абсолютної кількості пошкоджених мітохондрій - більш ніж в 12 разів по відношенню до інтактної групи тварин. Призначення ангіоліну в дозі 100 мг/кг тваринам з хронічною церебральною ішемією призводить до нормалізації ферментативної і неферментативної ланок тіол-дисульфідної системи головного мозку - підвищенню активності ГПР на 234%, ГР на 211%,

глутатіонтрансферази - на 121% і підвищенню вмісту глутатіону відновленого на 261%, метіоніну - на 102%, цистеїну - на 132% на тлі зниження маркера нітрозуючого стресу - нітротирозину на 42% і маркера дисфункції ендотелію - гомоцистеїну - на 52%.

Під дією ангіоліну встановлюється найбільш оптимальне співвідношення між рівнями відновлених і окислених тіольних груп, а також глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тіол-дисульфідної системи в нейтралізації продуктів вільно-радикального окислення. Крім того, збільшення функціональності тіол-дисульфідної системи в умовах ішемічного інсульту, під впливом ангіоліну, сприяє підвищенню біодоступності оксиду азоту, а також зменшує цитотоксичність NO і його дериватів, що проявлялося у вигляді вираженого зниження рівня нітротирозину. Ймовірно, що в умовах нітрозуючого і оксидативного стресу, завдяки зазначеним механізмам, вивчені засоби збільшують стійкість нервової тканини до явищ ішемії. Нормалізація глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи і підвищення рівня відновленого глутатіону в головному мозку щурів при хронічній церебральній ішемії під дією ангіоліну призводило до підвищення рівня ендогенного нейропротектора - білка теплового шоку (HSP₇₀) в мітохондріях і цитоплазмі нейронів. Так, при курсовому введенні ангіоліну концентрація білка HSP₇₀ в цитоплазмі гомогенату головного мозку тварин підвищувалася на 239%, а в мітохондріях - на 285% у порівнянні з показниками контролю. Концентрація HSP₇₀ в головному мозку тварин, які отримували ангіолін, була вище аналогічних показників інтактної групи (псевдооперовані тварини). Отримані дані свідчать про те, що ангіолін за допомогою нормалізації глутатіонової ланки тіол-дисульфідної системи головного мозку регулює рівень HSP₇₀, який володіє шаперон активністю, що грає важливу роль в нормалізації життєдіяльності нейронів, їх захисту від оксидативного стресу і запобіганні розвитку апоптозу і некрозу в умовах церебральної ішемії. Курсове введення таблеток «Ангіолін» протягом 18 діб після оклюзії обох сонних артерій призводило до покращення ультраструктури нейронів CA₁ - зони гіпокампу.

Так, порушення ультраструктури нейронів в цій групі тварин мають більш різноманітний характер у порівнянні з групою нелікованих тварин з церебральною ішемією. Звертало на себе увагу значне зменшення загального числа пошкоджених мітохондрій в мозку тварин, які отримували експериментальну терапію. Так, введення «Ангіолін» призводило до зниження пошкоджених мітохондрій більш ніж на 40% по відношенню до тварин контрольної групи. Ультраструктура нейронів СА₁ - зони гіпокапму тварин, які отримували 18 денним курсом Мілдронат (250 мг/кг) після оклюзії обох сонних артерій не відрзнялася від такої групи нелікованих тварин (контроль).

Висновки до розділу 5

1. Фармакологічними дослідженнями встановлено, що LD_{50} таблеток «Ангіолін» становить 19000 ± 278 мг / кг і це дало змогу віднести препарат до V класу токсичності за класифікацією К.К. Сидорова.

2. Встановлено нейропротективну дію таблеток «Ангіолін» на моделі хронічної церебральної ішемії спрямовану на нормалізацію тиол-дисульфідної системи головного мозку, підвищення експресії HSP₇₀ і збереженню ультраструктури мітохондрій.

3. Визначено, що застосування ангіоліну в дозі 100 мг / кг тваринам з хронічною церебральною ішемією призводить до нормалізації ферментативного і неферментативного ланок тиол-дісульфідної системи головного мозку - підвищення активності ГПР на 234%, ГР на 211%, глутатіонтрансферази на 121% і підвищенню вмісту глутатіону відновленого на 261 %, метіоніну на 102%, цистеїну на 132%, на тлі зниження маркера нітрозуючого стресу -нітротірозіна на 42% і маркера дисфункції ендотелію - гомоцистеїну на 52%.

4. Встановлено, що курсове введення таблеток «Ангіолін» протягом 18 діб після оклюзії обох сонних артерій призводило до покращення ультраструктури нейронів CA₁ - зони гіпокампу.

5. Визначено, що нейропротективні, антиоксидантні і мітопротективні ефекти таблеток ангіоліна, статично достовірно перевищували дію мілдронату.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / Ярош О. К., Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Бідненко О. С. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

2. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolite-tropic cardioprotector "Angiolin" / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya [et al.] // Int. J. Basic Clin. Pharmacol. – 2015. – N 2. – P.15. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

3. The Molecular and Ultrastructural Aspects of the Formation of Mitochondrial Dysfunction in the Modeling of Chronic Cerebral Ischemia: The Mitoprotective Effects of Angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya, S. V. Gorbacheva, A. S. Bidnenko // Neurochem. J. – 2016. – N 2. – P. 131–136. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

4. Патент на винахід 111462 Україна. МПК А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01), А61Р 25/32 (2006.01). Застосування (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату як активної основи лікарських засобів для профілактики та лікування порушень життєзабезпечуючих функцій ЦНС при важких формах гострого отруєння етанолом / Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Беленичева І.Ф., Павлюк І.В.; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон».-№ а201600367. Заяв. 16.01.2016, опубл. 25.04.2016. (Особистий внесок: участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, участь в експерименті, підготовці формули винаходу та опису до патенту, оформленні патенту).

5. HSP70 - зависимые молекулярные механизмы метаболитотропной кардиопротекции в условиях хронической алкогольной интоксикации / Бідненко О. С., Стеблюк В. С., Смирнова Д. Д., Дюкарь О. П. // Зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. «Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я - 2016», 24-25 бер. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 76–78. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

6. Бідненко О. С. Ангіолін - новий представник метаболитотропних препаратів з вираженим впливом на ендотелій судин головного мозку та серця / Бідненко О. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез., квітень 2016 р. – Чернівці, 2016. – С. 580. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

7. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболитотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Ліки - людині : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю між нар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. – Х., 2016. – С. 106–108. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

8. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболитотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф. // Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології», 24-25 листоп. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 23–25 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

ВИСНОВКИ

Вперше в результаті проведених досліджень створений новий оригінальний таблетований лікарський засіб «Ангіолін» з ендотеліо- та нейропротекторною діями, розроблено його склад, технологію та методи стандартизації, визначені його фармакологічні характеристики.

1. Проаналізовано дані наукової літератури щодо поширення захворюваності населення України захворювань серцево-судинної системи, перспектив створення нових метаболітотропних ендотеліо- та нейропротекторів, методичних підходів до створення таблетованих лікарських форм, що підтвердило актуальність створення таблетованого лікарського засобу «Ангіолін» з ендотеліопротекторною та нейропротекторною діями.

2. В ході експериментальних досліджень розроблено склад таблетованої лікарської форми на основі діючої речовини «Ангіолін»:

– проведені морфометричні дослідження порошку ангіоліну, спираючись на фізико-хімічні властивості діючої речовини запропоновано отримувати таблетки методом вологої грануляції;

– здійснено вибір раціональних допоміжних речовин, які забезпечують відповідність таблеток всім фармако-технологічним вимогам, вказаним в ДФУ;

– запропоновано оптимальний склад таблеток «Ангіолін»;

– науково обґрунтовано технологію виготовлення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції;

– розроблено технологічну схему виробництва таблеток «Ангіолін» відповідним методом, яка була апробована і впровадженна в діяльність науково дослідної лабораторії на базі, яку апробовано на базі ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції»

3. Розроблені методики стандартизації таблеток «Ангіолін»:

– раціональні методики стандартизації субстанції, таблеткової маси, таблеток;

– методика кількісного визначення ангіоліну методом спектрофотометричного визначення була валідована та перевірена за такими характеристиками як специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність;

– розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки «Ангіолін»;

– вивчено стабільність таблеток «Ангіолін» у процесі зберігання та визначено термін та умови їх зберігання – 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

4. На підставі комплексу доклінічних досліджень визначено фармакологічні характеристики отриманого лікарського препарату:

– токсикологічними дослідженнями встановлено, що ЛД₅₀ таблеток «Ангіолін» становить 19000 ± 278 мг / кг і це дало змогу віднести препарат до V класу токсичності..

– в результаті проведених досліджень виявлено нейропротективну дію таблеток «Ангіолін» на моделі хронічної церебральної ішемії спрямовану на нормалізацію тиол-дисульфідної системи головного мозку, підвищення експресії HSP₇₀ і збереженню ультраструктури мітохондрій.

– курсове введення таблеток «Ангіолін» протягом 18 діб після моделювання хронічного порушення мозкового кровообігу призводило до покращення ультраструктури нейронів CA₁ - зони гіпокампу.

– нейропротективні, антиоксидантні і мітопротективні ефекти Ангіоліна, статично достовірно перевищували аналогічні Мілдронату.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. HSP - опосредованные механизмы нейропротективного действия селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов (SERM) / Беленичев И. Ф., Абрамов А. В., Павлов С. В., Бухтиярова Н. В. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5. – С. 24.
2. HSP70 - зависимые молекулярные механизмы метаболитотропной кардиопротекции в условиях хронической алкогольной интоксикации / Бідненко О. С., Стеблюк В. С., Смирнова Д. Д., Дюкарь О. П. // Зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. «Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я - 2016», 24-25 бер. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 76–78.
3. Амосова, Е. Н. Метаболическая терапия поврежденных миокарда, обусловленного ишемией. Новый подход к лечению ишемической болезни сердца и сердечной недостаточности / Амосова Е. Н. // Укр. кардиол. журн. – 2000. – № 4. – С. 86–92.
4. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под. ред. В. П. Георгиевского. – Х. : НТМТ, 2011. – Т. 1. – 464 с.
5. Антиоксиданты: клініко-фармакологічний аспект / Чекман І. С., Беленичев І. Ф., Горчакова Н. О. [та ін.] // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1 (99). – С. 22–28.
6. Арзамасцев, А. П. Валидация аналитических методов / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Ю. Я. Харитонов // Фармация. – 2006. – № 4. – С. 8–12.
7. Арзамасцев, А. П. Оценка высвобождения лекарственных веществ из твердых дозированных лекарственных форм в испытаниях *in vitro* / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Т. Ю. Лутцева // Фармация. – 2004. – № 4. – С. 6–9.

8. Арзамасцев, А. П. Сравнительная оценка уровня требований к испытанию «Растворение» / А. П. Арзамасцев, Н. П. Садчикова, Т. Ю. Лутцева // Хим.-фармац. журн. – 2003. – Т. 37, № 1. – С. 39–45.

9. Беленичев, И. Ф. Митохондриальная по-синтаза - перспективная мишень нейропротекции / Беленичев И. Ф. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5. – С. 25–26.

10. Беленичев И. Ф. Некоторые аспекты противоишемического действия тиотриазолина в условиях экспериментального нарушения мозгового кровообращения / Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Коваленко С. И. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 43–48.

11. Беленичев, И. Ф. Роль белков теплового шока в реализации молекулярно-биохимических механизмов нейропротекции / Беленичев И. Ф. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 6. – С. 72–80.

12. Беленичев, И. Ф. Соединения L-лизина в фармакокоррекции нарушений энергетического метаболизма головного мозга при моделировании геморрагического инсульта / Беленичев И. Ф. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 6. – С. 3–8.

13. Беленичев, И. Ф. Ферментативное и не ферментативное звено тиол-исульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией: эффекты селеназы / Беленичев И. Ф. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2015. – № 1. – С. 13–18.

14. Белоножко, И. Маркетинг и менеджмент / Белоножко И. // Ежедневник АПТЕКА. – 2011. – № 32. – С. 7.

15. Белошапка, В. А. Стратегическое управление и маркетинг в практике фармацевтических фирм : учеб. пособие / Белошапка В. А., Загорий Г. В., Усенко В. А. ; под. ред. В. А. Белошапки. – К. : РИА "Триумф", 2001. – 368 с.

16. Береговая, Е. Г. Влияние на катионно-транспортные функции биомембран как основа антиаритмического действия тиотриазолина /

Береговая Е. Г. // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 49–53.

17. Береговых, В. В. Управление качеством в фармацевтической промышленности : учеб.-метод. пособие для слушателей ф-тов последиплом. проф. образования провизоров и спец. по пр.-ву и контролю качества лек. средств / [В. В. Береговых, Н. В. Иващенко, И. П. Рудакова и др.]. – М. : Русский врач, 2004. – 268 с.

18. 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.

19. Беленічев І. Ф. Порівняльна оцінка антиоксидантної і протиішемічної активності тіотриазоліну і пірацетаму за умов експериментальної ішемії головного мозку / Беленічев І. Ф. // Одеський мед. журн. – 2009. – № 4 (54). – С. 28–31.

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

21. Бидненко, А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина» / Бидненко А. С. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук», 29 листоп. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 83.

22. Бидненко, А. С. Создание метаболитотропных эндотелиопротекторов - фокус на «Ангиолин» / Бидненко А. С., Павлюк И. В. // Материалы I науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», 3-5 июн. 2013 г. – М., 2013. – С. 13.

23. Бидненко, А. С. Создание нового метода получения лекарственного препарата / Бидненко А. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез, 2-4 квіт. 2014 р. – Чернівці, 2014. – С. 326.

24.Бидненко, А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты / Бидненко А. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації - 2013», присвяч. Дню науки, 16-17 трав. 2013 р. – Запоріжжя, 2013. – С. 209.

25.Бидненко, А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты / Бидненко А. С. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – № 2. – С. 195.

26.Биологическая доступность лекарственных препаратов и методы ее определения: лекция для студ. спец. «Клиническая фармация» : учеб. пособие для внеаудит. работы студ. / А. И. Тихонов, Т. Г. Ярных, В. Н. Чушенко, Ю. Н. Азаренко. – Х. : Изд-во НФаУ, 2008. – 32 с.

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

28.Бідненко, О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 323.

29.Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції. / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Ткаченко Г. І. // Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10-11 листоп. 2016 р. – Тернопіль, 2016. – С. 89.

30.Бідненко О. С. Маркетингові дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічної дії / Бідненко О. С., Зарічна Т. П. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Здобутки та перспективи управління фармацевтичною системою», 25-26 вер. 2014 р. – Львів, 2014. – С. 49–50.

31.Бідненко О. С. Розробка методів стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тіоацетату / Бідненко О. С., Гулевська О. О.

// Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.- практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю – Запоріжжя, 2016. – С. 222.

32.Бідненко О. С. Стратегія створення фіксованих комбінацій з тіотриазоліном / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Матеріали III всеукр. наук.- практ. конф. молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки», 18 квіт. 2013 р. – Луганськ, 2013. – С. 146.

33.Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Ліки - людині : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю між нар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. – Х., 2016. – С. 106–108.

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

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

36.Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Ангіолін» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015», присвяч. Дню науки, 14-15 трав. 2015 р. – Запоріжжя, 2015. – С.143.

37.Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Лізиній» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2014», присвяч. Дню науки, 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 163.

38.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 «Сьогодні та майбутнє фармації» (16-19 квіт. 2008 р., м. Харків). – Х., 2008. – С. 246.

39.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.

40.Боровиков В. П. STATISTICA. Статистический анализ и обработка данных в среде Windows / В. П. Боровиков, И. П. Боровиков. – М. : Филдинг, 1997. – 608 с.

41.Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна фармакопея України / Держ. п-во “Науково-експертний фармакопейний центр”. – 1-е вид., 2 допов. – Х. : Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – С. 85–100.

42.Ветютнева Н. О. Актуальные вопросы обеспечения качества биологических лекарственных средств / Н. О. Ветютнева, О. П. Шукаєва // Актуальные вопросы медицины : тез. докл. II Междунар. науч.-практ. конф., г. Баку, Азербайджан. – Баку, 2013. – С. 121–122.

43.Ветютнева Н. О. Методи управління якістю у фармацевтичному секторі / Н. О. Ветютнева, Т. М. Буднікова, Л. Б. Пилипчук // Зб. наук. праць НМАПО ім. П.Л. Шупика. – К., 2011. – Вип. 20, кн. 2. – С. 708–716.

44.Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О.С. [та ін.] // Фармац. часопис. – 2016. – № 2. – С. 16–22.

45.Вивчення впливу природи допоміжних речовин на властивості таблеток тіотриазоліну з пірацетамом /Л. І. Кучеренко, Б. С. Зіменковський, Т. А. Грошовий [та ін.] // Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики : зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2002. – Вип. VIII. – С. 93–100.

46.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.

47. Використання методів апіорного ранжування факторів при проведенні маркетингових досліджень / Т. А. Грошовий, М. Б. Павлюк, О. В. Тригубчак [та ін.] // Економічна освіта та наука: досвід та перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. – Х. : Вид-во НФаУ, 2007. – С. 311–313.

48. Воспроизводимость фармакопейных спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в разных лабораториях / А. И. Гризодуб, Н. Н. Зволинская, Н. Н. Архипова [и др.] // Фармаком. – 2004. – № 2. – С. 20–34.

49. Вспомогательные вещества для производства твердых лекарственных форм : информ. листок [Электронный ресурс] / Витэк групп. – Одесса : Витэк групп. – Режим доступа : <http://www.witec.com.ua>.

50. Георгиевский Г. В. Биологическая активность производных 1,2,4-триазола / Г. В. Георгиевский // Фармаком. – 2006. – № 3. – С. 27–31.

51. Георгиевский Г. В. Обоснование проведения анализа производных 1,2,4-триазола при кислотно-основном титровании в неводных средах / Г. В. Георгиевский // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 60–65.

52. Георгиевский Г. В. Разработка комплекса фізико-хімічних методик, забезпечуючих створення і контроль якості оригінальних вітчизняних препаратів, производных 1,2,4-триазола / Г. В. Георгиевский // Запорож. мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 58–69.

53. Георгиевский Г. В. Целенаправленный поиск новых фармакологически активных средств в ряду производных триазола / Г. В. Георгиевский // Фармаком. – 2007. – № 2. – С. 60–66.

54. Георгієвський Г. В. Аналітичне забезпечення синтезу, стандартизації та організації виробництва похідних 1,2,4-триазолу та їх лікарських форм : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук / Г. В. Георгієвський. – Х., 2013. – 42 с.

55. Гепатопротекция при ишемической болезни сердца / Визир В. А., Волошина И. Н., Мазур И. А. [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – № 3. – С. 65–67.

56. Глущенко Н. Н. Фармацевтическая химия : учеб. для студ. сред. проф. учеб. заведений / Н. Н. Глущенко, Т. В. Плетенева, В. А. Попков ; под. ред. Т. В. Плетенева. – М. : Издат. центр «Академия», 2004. – 384 с.

57. Горбась І. М. Епідеміологія основних факторів ризику серцево-судинних захворювань / І. М. Горбась // Артеріальна гіпертензія. – 2008. – № 2. – С. 15–18.

58. Горбась І. М. Ішемічна хвороба серця: епідеміологія і статистика / І. М. Горбась // Здоров'я України. – 2009. – № 2. – С. 34–35.

59. Горбась І. М. Фактори ризику серцево-судинних захворювань: поширеність і контроль / І. М. Горбась // Здоров'я України. – 2007. – № 21/1. – С. 62–63.

60. Гризодуб А. И. Обеспечение фармакопейных требований к растворению твердых дозированных форм с традиционным высвобождением / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. В. Дмитриева // Фармаком. – 2006. – № 4. – С. 39–50.

61. 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.

62. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб // Фармаком. – 2006. – № 1-2. – С. 35–44.

63. Громовик Б. П. Стандарти фармацевтичного управління / Б. П. Громовик // Фармац. журн. – 2004. – № 3. – С. 18–28.

64. Дамулин И. В. Актуальные аспекты нейрогерiatrics в практике терапевта : метод. рекомендации для врачей общей практики / И. В. Дамулин. – М. : РКИ Соверопресс, 2005. – 24 с.

65. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
66. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 1 допов. – Х. : РІРЕГ, 2004. – 520 с.
67. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 2 допов. – Х., 2008. – 620 с.
68. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., 3 допов. – Х., 2009. – 280 с.
69. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., 4 допов. – Х., 2011. – 540 с.
70. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.
71. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 3. – 723 с.
72. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 1. – 1126 с.
73. Джордж С. Всеобщее управление качеством: стратегии и технологии, применяемые сегодня в самых успешных компаниях (TQM) / С. Джордж, А. Ваймерских. – СПб. : Виктория плюс, 2002. – 256 с.
74. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рекомендации / под ред. А. В. Стефанова. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.
75. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов : метод. рекомендации / [Чекман И. С., Губский Ю. И., Беленичев И. Ф. и др.]. – К., 2010. – 81 с.

76. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / [авт.-уклад. : І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, В. Д. Рибачук та ін.] ; за ред. І. М. Перцева. – Х. : Золоті сторінки, 2010. – 600 с.

77. 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.

78. Дослідження різних зразків мікрокристалічної целюлози при отриманні таблеток методом прямого пресування / Л. І. Кучеренко, О. В. Тригубчак, М. Б. Демчук [та ін.] // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали 3-ї наук.-практ. конф. (м. Тернопіль, 1-2 жовт. 2009 р.). – Тернопіль : Укрмедкнига, 2009. – С. 59.

79. 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.

80. Евтифеева О. А. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения экстенпоральных лекарственных средств в условиях аптек и лабораторий по контролю качества / О. А. Евтифеева, В. А. Георгиянц // Фармаком. – 2007. – № 1. – С. 69–81.

81. Експериментальні дослідження фармакологічних властивостей похідних триазолу / І. А. Мазур, І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев [та ін.] // Фармац. часопис. – 2007. – № 4 (4). – С. 60.

82. Казаринов М. О. Проблеми і сучасний стан виробництва таблетованих лікарських засобів / Казаринов М. О., Штейнгатт М. В., Грошовий Т. А. // Фармац. журн. – 1994. – № 4. – С. 64–67.

83. Капечук В. В. Эффективность препарата L-лизина эсцината в комплексном лечении острой сосудистой оптической нейропатии и его

влияние на состояние липофильной антиоксидантной системы / В. В. Капечук, В. В. Савко // Офтальмол. журн. – 2009. – № 3. – С. 50–54.

84. Клиническое применение Тиотриазолина в терапии / Мазур И. А., Волошин Н. А., Чекман И. С. [и др.] // Сучасна гастроентерологія. – 2005. – № 6. – С. 77–81.

85. Клиническое применение тиотриазолина для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы // Тиотриазолин, тиоцетам, тиодарон в практике врача / Н. А. Волошин, В. А. Визир, И. Н. Волошина. – Запорожье : ЗГМУ, 2008. – Гл. 1. – С. 15–17.

86. Компендиум 2013 - лекарственные препараты / под ред. В. Н. Коваленко. – К. : Морион, 2013. – 1408 с.

87. Коняхин А. Ю. Современные патогенетические подходы к коррекции ишемии миокарда : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук / А. Ю. Коняхин. – М., 2007. – 47 с.

88. Кучеренко Л. І. Вивчення впливу допоміжних речовин на властивості таблеток тіотриазоліну / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Георгієвський Г. В. // Научные направления в создании лекарственных средств в фармацевтическом секторе Украины : сб. тезисов. – Х., 2000. – С. 84–85.

89. 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.

90. 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.

91. Кучеренко Л. І. Визначення основних параметрів доброякісності препарату МТ / Л. І. Кучеренко // Запорож. мед. журн. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 96–99.

92. Кучеренко Л. І. Оптимізація складу таблеток тіотриазоліну / Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А. // Вісник фармації. – 2001. – № 3 (27). – С. 54.

93.Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL / С. Н. Лапач, А.В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : МОРИОН, 2000. – 320 с.

94.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.

95.Леонтьев Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний. Система Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины / Д. А. Леонтьев // Фармаком. – 2002. – № 1. – С. 36–43.

96. Лікарські засоби. Випробування стабільності : настанова 42-3.3:2004. – К. : МОРИОН, 2004. – 60 с.

97.Луцкевич Д. Д. Хроматографія / Луцкевич Д. Д., Мороз А. С., Рибальська О. В. // Аналітична хімія. – К. : Здоров'я, 2003. – С. 278–285.

98.Мазур И. А. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев. – Запорожье, 2007. – 309 с.

99.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.

100. Мазур И. А. Тиотриазолин / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман. – Запорожье ; Львов : Наутилус, 2005. – 156 с.

101. 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.

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

103. Метаболитотропные препараты / [Мазур И. А., Чекман И. С., Беленичев И. Ф. и др.]. – Запорожье, 2007. – 304 с.

104. Метаболические кардиопротекторы / В. А. Визир, Н. А. Волошин, И. А. Мазур, И. Ф. Беленичев. – Запорожье, 2006. – 34 с.
105. Механизм противоишемического и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, Н. А. Волошин [и др.] // Клинич. фармакология. – 2006. – № 2. – С. 18–22.
106. Мешковский А. П. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных препаратов [Электронный ресурс] / А. П. Мешковский // Аптека. – 2000. – № 237 (16). – Режим доступа : <http://www.apteka.ua/article/10658>.
107. Минко А. И. Эффективность и безопасность препарата ноофен 500 в лечении больных, зависимых от алкоголя / А. И. Минко, И. В. Линский // Укр. вісник психоневрології. – 2013. – Т. 21, № 4. – С. 133–138.
108. Молекулярный механизм энерготропного и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, И. С. Чекман, Н. А. Волошин // Ліки. – 2006. – № 3-4.– С. 12–16.
109. Настанова 42-3.3:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності. – К. : МОЗ України, 2004. – 59 с.
110. Об общей фармакопейной статье «Растворение» / В. Л. Багирова, Л. Н. Вздорова, Л. К. Граковская [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2001. – Т. 35, № 4. – С. 39–41.
111. Оптимізація методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотриазоліну / В. В. Ващенко, З. Б. Моряк, О. О. Портна [та ін.] // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – № 1. – С. 49–53.
112. 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.
113. Оцінка поширеності та контролю факторів ризику серцево-судинних захворювань серед населення та лікарів / І. М. Горбась, О. М. Барна, В. Ю. Сакалош, М. А. Бакуменко // Ліки України. – 2010. – № 1. – С. 4–9.

114. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / Ярош О. К., Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Бідненко О. С. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69.

115. Пат. 59061 Україна, МПК А61К 31/4196 (2006.01), А61К 9/00, А61Р 9/00, А61Р 9/10 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01), С07D 249/08 (2006.01). Лікарський засіб для лікування захворювань серцево-судинної та нервової системи, який проявляє протиішемічну, ендотеліопротективну, антиоксидантну, протигіпоксичну, протизапальну дію / Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Колесник Ю. М. [та ін.] ; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон». – № а201015964 ; заявл. 30.12.10 ; опубл. 10.05.11, Бюл. № 9, 2011р.

116. Пат. 2370492 Российская Федерация, МПК С 07 D 413/00 (2006.01). Лизиний 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, проявляючий нейропротективне, ноотропне, кардіопротективне, ендотеліотропне, противоішемічне, антиоксидантне, противоваспалительне і противогіпоксичне діяння, що володіє низькою токсичністю / Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Колесник Ю. М. [и др.] ; заявитель і патентобладатель ООО НПО «Фарматрон». – № 2007121014 ; заявл. 04.06.07 ; опубл. 20.10.09, Бюл. 29.

117. Пат. 2430728 Российская Федерация, МПК С07D249/08 (2006.01) С07С229/26 (2006.01) А61К31/4196 (2006.01). Спосіб отримання (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетата / Мазур І. А., Кучеренко Л. І., Калашникова Е. Е., Авраменко Н. А. ; заявитель і патентобладатель ООО НПО «Фарматрон». – № 2012123339 ; заявл. 05.06.12, опубл. 20.10.13, Бюл. № 28

118. Пат. на винахід 111462 Україна, МПК А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01), А61Р 25/32 (2006.01). Застосування (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату як активної основи лікарських засобів для профілактики та лікування порушень життєзабезпечуючих функцій ЦНС при важких формах гострого отруєння етанолом / Бідненко О.

С., Кучеренко Л. І., Беленичева І. Ф., Павлюк І. В. ; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон». – № а201600367 ; заявл. 16.01.16 ; опубл. 25.04.16, Бюл. № 19

119. Пат. 99584 Україна, МПК С07D 249/08 (2006.01), А61К 31/4196 (2006.01). Спосіб одержання (S)-2.6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату / Мазур І. А., Кучеренко Л. І., Калашнікова О. Є., Авраменко М. О. ; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон». – № а201205360 ; заявл. 03.05.12 ; опубл. 27.08.12, Бюл. № 16

120. Пат. 86668 Україна, МПК С 07 D 249/08 (2009.01), А 61 К 31/4196, А 61 Р 9/00, А 61 Р 9/10 (2009.01), А 61 Р 25/28 (2009.01). Лізіній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Колесник Ю. М. [та ін.] ; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон». – № а200705865 ; заявл. 25.05.07 ; опубл. 12.05.09, Бюл. 9.

121. Пахомов В. П. Хроматографія у хіміко-фармацевтичних дослідженнях / В. П. Пахомов // Хим.-фармац. журн. – 2003 – Т. 37, № 8. – С. 55–56.

122. 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.

123. Підбір кількісного складу допоміжних речовин при створенні таблеток «Ангіолін» / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С. [та ін.] // Фармац. часопис. – 2016. – № 4. – С. 12–15.

124. Подходы к разработке и созданию метаболитотропных препаратов - производных 1,2,4-триазола / Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. [и др.] // Материалы докл. XII науч.-практ. семинара «Научные основы создания лекарственных средств», 28-30.05.12. – Гурзуф, 2012. – С. 76.

125. Подходы к разработке и созданию метаболитотропных препаратов - производных 1,2,4-триазола / И. А. Мазур, И. Ф. Беленичев, Л. И. Кучеренко [и др.] // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 78–82.

126. Про затвердження документів з питань забезпечення якості лікарських засобів : наказ Міністерства охорони здоров'я України від 16 лют. 2009 р. № 95 [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://www.moz.gov.ua/ua/main/docs/?docID=12796>.

127. Про лікарські засоби : закон України від 04.04.1996 р. № 123/96-ВР [Електронний ресурс]. – Режим доступу : <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80>.

128. Про розвиток методології наукових досліджень при створенні лікарських препаратів / Бідненко О. С., Грошовий Т. А., Вронська Л. В. [та ін.] // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 337.

129. Промышленная технология лекарств : [учебник] : в 2-х т. / [В. И. Чуешов, М. Ю. Чернов, Л. М. Хохлова и др.] ; под ред. В. И. Чуешова. – Х. : МТК-Книга ; Изд-во НФаУ, 2002. – Т. 2. – 716 с.

130. Профіль фармакокінетики сполуки «Лізиній» у крові після парентерального введення / Ярош О. К., Мазур І. А., Бобков В. М. [та ін.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 5 (30). – С. 93–98.

131. 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.

132. Регіональні медико-соціальні проблеми хвороб системи кровообігу. Динаміка та аналіз : аналітико-статистичний посібник / під ред. В. М. Коваленка, В. М. Корнацького. – К., 2013. – 239 с.

133. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / под ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейна, М. А. Гетьмана. – М., 2007. – 46 с.

134. Серцево-судинні захворювання. Класифікація, стандарти діагностики та лікування кардіологічних хворих / за ред. В. М. Коваленка, М. І. Лутая, Ю. М. Сіренка. – К. : Вид-во ПП ВМБ, 2007. – 128 с.

135. Серцево-судинні захворювання. Класифікація, схеми діагностики та лікування / за ред. В. М. Коваленка, М. І. Лутая. – К. : Четверта хвиля, 2004. – 96 с.

136. Соболева И. А. Факторы риска прогрессирования глаукомы с нормальным давлением и эффективность применения латанопроста / И. А. Соболева, Л. П. Колпакова // Матеріали наук.-практ. конф. офтальмологів за міжнар. участю, 25-25 трав. 2012 р, м. Одеса. – Одеса, 2012. – С. 114.

137. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / И. В. Воскобойникова, С. Б. Авакян, Т. А. Сокольская [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2005. – Т. 39, № 1. – С. 22–28.

138. Создание метаболитотропных эндотелиопротекторов - фокус на «Ангиолин» / Бидненко А. С., Парнюк Н. В., Павлюк И. В., Беленичева О. И. // Материалы Первой Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», г. Москва. – М., 2013. – С. 13.

139. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. В. Денисенко, Ю. В. Подпружников // Фармаком. – 2004. – № 3 – С. 3–17.

140. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств / А. В. Стефанов. – К. : Авиценна, 2002. – 568 с.

141. Сучасний погляд на ідею використання гамма-аміномасляної кислоти та її метаболіта для відновлення моторної функції / Родинський О. Г., Демченко Т. В., Мозгунов О. В., Писаревська К. В. // Патологія. – 2015. – № 3. – С. 4–9.

142. Тиол-дисульфидное равновесие - определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга / Чекман И. С., Колесник Ю. М., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. // Журн. НАМН України. – 2013. – Т. 19, № 1. – С. 3–11.

143. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, В. А. Визир, И. Ф. Беленичев. – Запорожье : Печатный мир, 2011. – 303 с.
144. Титова А. В. Вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственных средств. Проблемы и подходы к их решению / А. В. Титова // Фарммедобращение-2005 : материалы совещания, г. Москва, 24-26 окт. 2005 г. – М., 2005. – С. 205.
145. Тихонов А. И. Технология лекарств : учеб. для фармац. вузов и ф-тов / А. И. Тихонов, Т. Г. Ярных ; под ред. А. И. Тихонова. – Х. : Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2002. – 704 с.
146. 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.
147. Тригубчак О. В. Шляхи усунення побічної дії деяких лікарських засобів за рахунок технологічних прийомів / О. В. Тригубчак, М. Б. Павлюк, Т. А. Грошовий // Безпечна фармакотерапія в Україні : матеріали наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2008. – С. 34–35.
148. Фармацевтичне законодавство / [Т. А. Грошовий, К. Л. Косяченко, Т. І. Калинюк та ін.] ; під ред. Т. А. Грошового. – Тернопіль : Вид-во ТДМУ, 2008. – 468 с.
149. 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.
150. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов : метод. рекомендации / И. С. Чекман. – К., 2010. – 80 с.
151. Чекман І. С. Фармакофори: створення лікарських засобів : (огляд літ. та власних досліджень) / Чекман І. С. // Журн. АМН України. – 2010. – Т. 16, № 3. – С. 424–437.

152. Чиждова Д. А. Высвобождение веществ из твердых дозированных лекарственных форм / Д. А. Чиждова, Н. Д. Бунятян, Г. Ф. Василенко // Фармация. – 2008. – № 2. – С. 50–52.
153. Чумак В. Т. Аналіз стану ринку лікарських засобів в Україні / В. Т. Чумак // Аптечний аудит. – 2008. – № 10. – С. 6–11.
154. Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С. [та ін.] // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 1. – С. 35–39.
155. Щодо стандартизації таблеток L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С. [та ін.] // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 2. – С. 38–42.
156. A mathematical model to predict the release of water-soluble drugs from HPMC matrices / X. C. Fu, G. P. Wang, C. Y. Fu, W. Q. Liang // Pharmazie. – 2004. – Vol. 59, № 9. – P. 706–708.
157. A comparison of cellactose with two ad hoc processed lactose–cellulose blends as direct compression excipients / M. Casalderrey, C. Souto, C. Couto et al. [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2000. – Vol. 48, N 4. – P. 458–463.
158. Adamovics J. A. Chromatographic analysis of pharmaceuticals / J. A. Adamovics. – N. Y. : Marcel Dekker, 1997. – 544 p.
159. Allen V. L. Compounding, stability and beyond-use dates [Електронний ресурс] / V. L. Allen // Secundum artem. – Vol. 7, № 3. – Режим доступу : http://drofrx.com/Compounding_files/Secundum%20Artem/Sec%20Artem%207.3.pdf.
160. An efficient synthesis of a novel analog of octreotide with an unnatural l-lysine-like tetrazolyl amino acid / E. A. Popova, S. K. Nikolskaia, I. A. Gluzdikov [et al.] // Tetrahedron Lett. – 2014. – Vol. 55, issue 36. – P. 5041–5046.
161. Ansel H. C. Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems / H. C. Ansel, L. V. Allen, N. G. Popovich. – 8th ed. – Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2005. – 27 p.

162. 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.

163. Antikainen O. New methods to evaluate applicability of powders and granules for tablet compression : PhD Theses Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis / O. Antikainen. – Helsinki, 2003. – P. 1129–1136.

164. Arbocel® Powdered Cellulose - A Unique Functional Filler for Capsules and Tablets : каталог [Электронный ресурс] / J. Rettenmaier & Söhne. – Rosenberg : Business Unit Pharma. – Режим доступа : <http://www.jrspharma.com>.

165. Asgharnejad M. Application of a compaction simulator to the design of a high-dose tablet formulation. Pt. I. / Asgharnejad M., Storey D. E. // *Drug. Dev. and Ind. Pharm.* – 1996. – Vol. 22, N 9–10. – P. 967–975.

166. Aviram M. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular disease / Aviram M. // *Free Radic. Res.* – 2012 – Vol. 33. – P. 85–95.

167. Bajaj S. Stability Testing of Pharmaceutical Products / S. Bajaj, D. Singla, N. Sakhuja // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2012. – Vol. 02 (03). – P. 129–138.

168. Behrens D. GMP-gerechte Herstellung von Filmcoating- und Dragiersuspensionen / Behrens D. // *Pharma Int.* – 2000. – N 2. – P. 68–70.

169. Belenichev I. F. / Disturbance of HSP70 Chaperone Activity is a possible mechanism of Mitochondrial Dysfunction / I. F. Belenichev, Yu. M. Kolesnik, N. V. Bukhtiyarova // *Neurochem. J.* – 2011. – Vol. 5, № 4. – P. 251–256.

170. Belenichev I. F. Nitrozone Stress and Neurological Disorders in Experimental Alcohol Intoxication and Their Pharmacological Correction by Neuropeptides / I. F. Belenichev, E. P. Sokolik // *Inventi Rapid: Mol. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 2011, issue 4. – P. 11–18.

171. Belenichev I. F. Reduction of apoptotic death of neurons CA-1 zone of hippocampus of rats in the condition of prenatal chronic alcoholisation by cerebrocurin and tiocetam / Belenichev I. F., Sokolik E. P., Eugorov A. N. // *Elixir. Int. J. Elixir. Pharmacy.* – 2013. – № 65 A. – P. 20005–20008.

172. Belenichev I. F. The Endothelium - Protective Effect of 3-Methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacrtate(S)-2,6-diaminohoexanic Acid (Lysinium): Effects on the Expression of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and the Characteristics of the Endotheliocytes of the Cerebral Vessels of Animals with Cerebral Ischemia / Belenichev I. F., Mazur I. A., Bukhtiyarova N. V. // *Neurochem. J.* – 2013. – Vol. 7, № 4. – P. 296–303.

173. Belenichev I. F. The study of possible influence of reduced glutathione on regulation apoptosis in neuron of cerebral cortex / Belenichev I. F., Odnokoz E. N., Gorbacheva S. V. // *ESF-EMBO Symp. "Glutatione and Related Thiols in Living Cells"*, 4-9 Sept. 2011. – Sant Feliu de Guixols, 2011. – P. 211.

174. Belenichev I. F. The Thiol-Disulfide Balance and the Nitric Oxide System in the Brain Tissue of Rats Subjected to Experimental Acute Impairment of Cerebral Blood Flow: The Therapeutic Effects of Nootropic Drugs / I. F. Belenichev, S. V. Gorbacheva, N. V. Bukhtiyarova // *Neurochem. J.* – 2014. – Vol. 8, № 1. – P. 24–27.

175. Belenichev I. Nitrozine stress and neurological disorders in experimental alcohol intoxication and their pharmacological correction by neuropeptides / Belenichev I., Sokolik E. // *Mol. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 11, N 4. – P. 12–17.

176. Best Practices for Hospital and Health-System Pharmacy: Positions and Guidance Documents of ASHP 2009-2010 / American Society of Health System Pharmacists (ASHP). – Bethesda, 2009. – 684 p.

177. Bidnenko O. On the issue of development of medicines in series of 1,2,4-triazole derivatives / Bidnenko O., Belenicheva O. // *XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013*, 18-21 вер. 2013 р. – Белосток, 2013. – С. 103.

178. Bidnenko O. S. Разработка методов синтеза нового оригинального препарата «Лизиний» / Bidnenko O., Belenicheva O. // *V Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых "Science4health 2013"*, 29 окт.-2 нояб. 2013 г. – М., 2013. – С. 8.

179. Boese M. Biopharmaceutical formulations studied by FTIR spectroscopy: Industriemesse for Forschung und Entwicklung, Umwelt- und Verfahrenstechnik in Pharmas, Chemie und Biotechnologie (ILMAC) // *Chimia*. – 2005. – Vol. 59, № 4. – P. 173.
180. British Pharmacopoeia [Электронный ресурс] / The British Pharmacopoeia Secretariat. – London, 2009. – Vol. 1. – P. 10952. – Режим доступа : <http://www.vek-com.ru/78022.html>.
181. Cabrera C. The role of nitric oxide in the central control of blood pressure / Cabrera C. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 206. – P. 77–81.
182. Cardiovascular diseases in the United States and prevention approaches / Thom T. J., Kannel W. B., Silbershatz H., D'Agostino R. B. Sr. // *Hurst's the Heart* / eds. Fuster V., Alexander R. W., O'Rourke R. A. [et al.]. – 10 ed. – N. Y. : McGraw-Hill, 2001. – P. 3–18.
183. Carnitine transport into muscular cells. Inhibition of transport and cell growth mildronate / B. Georges, F. Le Borgne, S. Galland [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 2011. – Vol. 59, № 11. – P. 1357–1363.
184. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vital signs: nonsmokers' exposure to secondhand smoke: United States, 1999-2008 // *Morb. Mortal. Wkly Rep.* – 2010. – Vol. 59. – P. 1141–1146.
185. Chapter One - Neuropeptides, Trophic Factors, and Other Substances Providing Morphofunctional and Metabolic Protection in Experimental Models of Diabetic Retinopathy / K. Szabadfi, E. Pinter, D. Reglodi, R. Gabriel // *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* – 2014. – Vol. 311. – P. 1–121.
186. Citicoline for Acute Ischemic Stroke: A Systematic Review and Formal Meta-analysis of Randomized, Double-Blind, and Placebo-Controlled Trials / J. J. Secades, J. Alvarez-Sabín, J. Castillo [et al.] // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2016. – Vol. 25 (8). – P. 1984–1996.
187. Citicoline in the treatment of acute ischaemic stroke: an international, randomised, multicentre, placebo-controlled study (ICTUS trial) / A. Dávalos, J. Alvarez-Sabín, J. Castillo [et al.] for the International Citicoline Trial on acUte

Stroke (ICTUS) trial investigators // *Lancet*. – 2012. – Vol. 380, issue 9839. – P. 349–357.

188. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons* [Electronic version]. – London : Pharmaceutical Press, 2005. – 41 p.

189. Coronary endothelial dysfunction increases the severity of ischaemia-induced ventricular arrhythmias in rat isolated perfused hearts / Z. F. Hassanabad, B. L. Furman, J. R. Parratt, E. Aughey // *Basic. Res. Cardiol.* – 2008. – Vol. 93, № 4. – P. 241–249.

190. Correction of endothelial dysfunction in chronic heart failure: additional effects of exercise training and oral L-arginine supplementation / R. Hambrecht, L. Hilbrich, S. Erbs [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2000. – Vol. 35, № 3. – P. 706–713.

191. Cortexin and combination of nitrite with cortexin decrease swelling and destruction of cerebellar neurons in hemorrhagic stroke / V. Reutov, A. Krushinsky, V. Kuzenkov [et al.] // *Nitric Oxide*. – 2011. – Vol. 24, suppl. – P. S21.

192. Determination of the alterations in prepulse inhibition in mice treated with doxycycline in an animal model of depression / B. S. F. Mello, C. S. Custodio, B. M. M. Ribeiro [et al.] // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2013. – Vol. 23, suppl. 2. – P. S238–S239.

193. Development of two step liquid-liquid extraction tandem UHPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of Ginkgo flavonoids, terpene lactones and nimodipine in rat plasma: Application to the pharmacokinetic study of the combination of Ginkgo biloba dispersible tablets and Nimodipine tablets / Jie Xiao, Tianyang Wang, Pei Li [et al.] // *J. Chromatography B*. – 2016. – Vol. 1028. – P. 33–41.

194. Discovery and evaluation of selective N-type calcium channel blockers: 6-Unsubstituted-1,4-dihydropyridine-5-carboxylic acid derivatives / Takashi Yamamoto, Seiji Niwa, Munetaka Tokumasu [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Let.* – 2012. – Vol. 22, issue 11. – P. 3639–3642.

195. Discovery and SAR of novel series of imidazopyrimidinones and dihydroimidazopyrimidinones as positive allosteric modulators of the metabotropic glutamate receptor 5 (mGlu5) / M. L. Martín-Martín, J. M. Bartolomé-Nebreda, S. Conde-Ceide [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Let.* – 2015. – Vol. 25, issue 6. – P. 1310–1317.

196. Effect of l-arginine on the physical properties of choline chloride and glycerol based deep eutectic solvents / Fareeda Chemat, Hor Jun You, Karuppan Muthukumar, Thanapalan Murugesan // *J. Mol. Liquids.* – 2015. – Vol. 212. – P. 605–611.

197. Effect of Spin Trapping Compound PBN and Thiotriazoline on the Outcome from experimental Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats / Belenichev I., Pavlov S., Sokolik E. [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2011. – Vol.1, issue 3. – P. 90–95.

198. *European Pharmacopoeia.* – 5-th ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2005. – 3503 p.

199. *European Pharmacopoeia.* – 6-th ed. – Strasbourg : EDQM, 2007. – P. 1568–1571.

200. *European Pharmacopoeia.* – 6-th ed. – Strasbourg : EDQM, 2007. – P. 1663–1664

201. *European Pharmacopoeia.* – 6-th ed. – Strasbourg : European Directorate for the Quality of Medicines, 2008. – Vol. 2. – 3308 p.

202. Examining the impact of excipient material property variation on drug product quality attributes: A quality-by-design study for a roller compacted, immediate release tablet / Kushner J. I. V., Langdon B. A., Hiller J. I., Carlson G. T. // *J. Pharm. Sci.* – 2011. – Vol. 100, issue 6. – P. 2222–2239.

203. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000 / Ford E. S., Ajani U. A., Croft J. B. [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2007. – Vol. 356. – P. 2388–2398.

204. Faghihnejad A. Fundamentals of Surface Adhesion, Friction, and Lubrication / Faghihnejad A., Zeng H. // Polymer Adhesion, Friction, and Lubrication / ed H. Zheng. – N. J. : Wiley & Sons, Inc. ; Hoboken, 2013. – P. 1–57.
205. Felton L. A. Characterization of coating systems / L. A. Felton // Pharm. Sci. Tech. – 2007. – 2007. – Vol. 8 (4). – P. 112.
206. Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances / K. Florey. – New Delhi : Reed Elsevier India Pvt Ltd, 2005. – 162 p.
207. Frequency and determinants of lipid testing in ischemic stroke and transient ischemic attack: findings from get with the guidelines-stroke / Smith E. E., Pan W., Olson D. [et al.] // Stroke. – 2010. – Vol. 41 (2). – P. 232–238.
208. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolitotropic cardioprotector "Angiolin" / Belenichev I. F., Kucherenko L. I., Nagornaya E. A. [et al.] // Int. J. Basic Clin. Pharmacol. – 2015. – Vol. 4, № 1. – P. 1–5.
209. Good pharmacy practice in Europe / Pharmaceutical Group of the European Union PGEU. – London : Community pharmacists, 1998. – 37 p.
210. Growth factors and endothelial dysfunction / C. Bauters, I. Six, T. Meurice, E. Van Belle // Drugs. – 2009. – Vol. 59. – P. 11–15.
211. Gualtieri F. Cholinergic receptors and neurodegenerative diseases / Gualtieri F. // Pharmaceutica Acta Helvetiae. – 2000. – Vol. 74, issues 2-3. – P. 85–89.
212. Guidance for Industry (Draft): Stability Testing of Drug Substances and Drug products (FDA). – Revision 2. – Rockville, 2003. – 22 p.
213. Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products : PE 009 - 1 / The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme, September 2003. – Geneva, 2003. – 147 p.
214. Guide to Good Practices for Preparation of medicinal products in pharmacies: PE 010-1 / The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S), August 2006. – Geneva, 2006. – 52 p.

215. Guide to Good Practices for the Preparation of medicinal products in healthcare establishments : PE 010-2 / The Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme (PIC/S), April 2008. – Geneva, 2008. – 46 p.

216. Handbook of Pharmaceutical Excipients / ed. by R. C. Rowe, P. J. Sheskey, S.C. Owen. – London ; Chicago, 2006. – 918 p.

217. Heart disease and stroke statistics - 2012 update: a report from the American Heart Association / Roger V. L., Go A. S., Lloyd-Jones D. M. [et al.] for the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee // *Circulation*. – 2012. – Vol. 125. – P. e2–220.

218. Heart disease and stroke statistics 2013 update: a report from the American Heart Association / Go A. S., Mozaffarian D., Roger V. L. [et al.] // *Circulation*. – 2013. – Vol. 127. – P. e6–e245.

219. Heart rate dependency of cardiac performance in heart failure patients treated / Andersson B., Stromblad S. O., Lomsy M., Waangstein F. // *Eur. Heart J.* – 2009. – Vol. 20. – P. 575–580.

220. HIF-1a Transcription Factor, HSP70 and resistance of membrane structures to ROS in acute hypoxia and adaptation / Sazontova T. G., Zhukova A. G., Anchishkina N. A., Arkhipenko Yu. V. // *Abstr. of the VIII Congress of the Int. Soc. for Adaptive Medicine, Moscow, June 21-24, 2006. – Moscow, 2006. – P. 42–43.*

221. Huynh-Ba K. Handbook of stability testing in pharmaceutical development / K. Huynh-Ba. – N. Y. : Springer, 2009. – 406 p.

222. Individualized guidelines: the potential for increasing quality and reducing costs / Eddy D. M., Adler J., Patterson B. [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 154 (9). – P. 627–634.

223. Innovations in tablet coating technology : a review / Neelam D. Kamble, Prafulla S. Chaudhari, Rajesh J. Oswal [et al.] // *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* – 2011. – Vol. 2, N 1. – P. 214–218.

224. International Conference of Harmonization, Q2A: Text on validation of analytical procedures // *US FDA Federal Register*. – 1995. – Vol. 60. – P. 25.

225. Ischemic myocardial injury and ventricular remodelling / Anversa P., Zang X., Olivetti G., Capasso J. M. // *Cardiovasc. Res.* 2003. – Vol. 27. – P. 145–157.
226. Ischemic tolerance and endogenous neuroprotection / U. Dirnagl, R. P. Simon, J. M. Hallenbeck [et al.] // *J. Trends Neurosci.* – 2009. – Vol. 26. – P. 248–254
227. 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.
228. Kibbe A. H. Handbook of Pharmaceutical Excipients / A. H. Kibbe. – 3rd ed. – Washington : DC, 2000. – 665 p.
229. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems / Dash S., Murthy P. N., Nath L., Chowdhury P. // *Acta Pol. Pharm.* – 2010. – Vol. 67 (3) – P. 217–223.
230. Klusa V. Atypical 1,4-dihydropyridine derivatives, an approach to neuroprotection and memory enhancement / V. Klusa // *Pharmacol. Res.* – 2016. – Vol. 113 (pt B). – P. 754–759.
231. Kotvitska A. A. Marketing researches of market of medications of neuroprotective action in Ukraine / A. A. Kotvitska, I. O. Lobova // *Acta facultatis universitatis comenianae.* – 2013. – Vol. LX (1). – P. 15–20.
232. Kupiec T. C. Stability Versus Potency Testing: The Madness is in the Method / T. C. Kupiec, R. Skinner, L. Lanier // *Int. Jour. Of Pharm. Comp.* – 2008. – Vol. 12, N 1. – P. 50–53.
233. Levytska O. R. Monitoring of prescribed drugs to the patients with acute cerebrovascular pathology / O. R. Levytska, B. P. Hromovyk, M. O. Basarab // *Streszczenia. Farmacja polska na tle Unii europejskiej : XXI Naukowy Zjazd Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego, 12-15 września 2010, Gdańsk.* – Gdańsk, 2010. – S. 415.
234. Lievykh A. E. Condition of thiol-disulfide and nitric oxide balance in brain tissues of rats with alloxan diabetes treated with neuroprotective drugs / A. E.

Lievkykh, V. I. Zhylyuk, V. I. Mamchur // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2011. – Vol. 21, suppl. 3. – P. S282–S283.

235. Lievkykh A. E. Condition of thiol-disulfide and nitric oxide balance in brain tissues of rats with alloxan diabetes treated with neuroprotective drugs / A. E. Lievkykh, V. I. Zhylyuk, V. I. Mamchur // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2011. – Vol. 21, suppl. 3. – P. S282–S283.

236. Meta-analysis of the effect of comprehensive smoke-free legislation on acute coronary events / Mackay D. F., Irfan M. O., Haw S., Pell J. P. // *Heart.* – 2010. – Vol. 96 (19). – P. 1525–1530.

237. Mitochondrial preconditioning: a potential neuroprotective strategy / Correia S. C., Carvalho C., Cardoso S. [et al.] // *Front Aging. Neurosci.* – 2010. – Vol. 26, № 2. – P. 138.

238. National Center for Health Statistics. Health, United States, 2009, With Special Feature on Medical Technology. Hyattsville, MD: National Center for Health Statistics; 2010 [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.cdc.gov/nchs/data/hus/hus09.pdf>.

239. National Center for Health Statistics. National Health Interview Survey, 2013. Public-use data file and documentation [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.cdc.gov/nchs>.

240. Nemoz C. Drug prescription in the postinfarction period (Study of Postinfarct Prescription). A French cooperative study / Nemoz C., Leizorovicz A., Gillet J. // *Arch. Mai. Coeur. Vaiss.* – 2005. – Vol. 88, № 9. – P. 1261–1266.

241. Neuroprotective and endoteliotropical features of the new medical drug "Lisiniy" in ischemical damadge of the brain / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur [et al.] // XXVIth international symposium on cerebral blood flow, Metabolism and function : XIth international conference on quantification of brain function with pet, Shanghai, China, May 20-23, 2013. – China, 2013. – P. 67.

242. Neurotensin receptors as modulators of glutamatergic transmission / L. Ferraro, M. C. Tomasini, R. Mazza [et al.] // *Brain. Res. Rev.* – 2008. – Vol. 58, issue 2. – P. 365–373.

243. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolite-tropic cardioprotector "Angiolin" / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya [et al.] // *Int. J. Basic Clin. Pharmacol.* – 2015. – N 2. – P.15-19.

244. Overgaard K. The Effects of Citicoline on Acute Ischemic Stroke: A Review / K. Overgaard // *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* – 2014. – Vol. 23, issue 7. –P. 1764–1769.

245. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience / Wilson P. W., D'Agostino R. B., Sullivan L. [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2002. – Vol. 162. – P. 1867–1872.

246. Panda A. Stability studies: an integral part of development process / A. Panda, Sukhadakulkarni, R. Tiwari // *Int. J. Pharm. Res. and Biosci.* – 2013. – Vol. 2 (6). – P. 69–80.

247. Pharmacopoeia of the People's Republic of China / Pharmacopoeia Commission of the Ministry of Health of the People's Republic of China. – 9th ed. – China : Medical Science and Technology Press, 2010. – Vol. 1. – 760 p.

248. Rusznyak S. P. Vitamin P: flavonols as vitamins / Rusznyak S. P., Szent-Gyorgyi A. // *Nature.* – 1936. – Vol. 138. – C. 27.

249. Schiller J. S. Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey, 2011. *Vital Health Stat 10.2012;(256):1-218* [Электронный ресурс] / Schiller J. S., Lucas J. W., Peregoy J. A. – Режим доступа : http://www.cdc.gov/nchs/data/series/sr_10/sr10_256.pdf.

250. Selection of disintegrants for wet granulation method of "Angiolin" tablets / I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko [et al.] // *Запорож. мед. журн.* – 2016. – № 5. – С. 97.

251. Shaw L. J. Women and ischemic heart disease: evolving knowledge / Shaw L. J., Bugiardini R., Merz C. N. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2009. – Vol. 54. – P. 1561–1575.

252. Shichkina S. V. Two polymorphs of morpholin-4-ium 2-(5-methyl-1H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl) acetate / S. V. Shichkina, R. I. Zubatyuk, I. A. Mazur // *Crystal Struct. Communications*. – 2009. – Vol. C65. – P. 24–26.

253. Sokolik E. P. Nitrozone stress and neurological disorders in experimental alcohol intoxication and their pharmacological correction by neuropeptides / E. P. Sokolik // *X International Congress of Medical Sciences : abstracts, 12-15 may, 2011, Sofia, Bulgaria*. – Sofia, 2011. – P. 23.

254. Some Aspects of the Endothelioprotective Effect of (S) - 2,6 Diaminogeksanovoy Acid 3 - Methyl-1,2,4 - Triazolil-5-Thioacetate (Lysiniy): Influence on the Vascular Endothelial Growth Factor Expression (VEGF) and Endotheliocytes Characteristic of Brain Vessels of Animals with Cerebral Ischemia / I. F. Belenichev I. A. Mazur A. V. Abramov [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 2013, issue 1. – P. 1–6.

255. Stability testing of active substances and pharmaceutical products. Working document QAS/06.179 / World Health Organization. – Geneva, 2006. – 33 p.

256. Stroke management / J. Alawneh, P. Clatworthy, R. Morris, E. Warburton // *Clin. Evidence*. – 2010. – № 4. – P. 201.

257. The 2004 United States Surgeon General's Report: The Health Consequences of Smoking // *N. S. W. Public Health Bull.* – 2004. – Vol. 15. – P. 107.

258. The Japanese Pharmacopoeia / [Электронный ресурс] / Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. – 16th ed. – Режим доступа : <http://jpdb.nihs.go.jp/jp16e>.

259. The Korean Pharmacopoeia [Электронный ресурс]. – 10th edition. – Режим доступа : <http://www.mfds.go.kr/eng/index.do?nMenuCode=50>.

260. The Molecular and Ultrastructural Aspects of the Formation of Mitochondrial Dysfunction in the Modeling of Chronic Cerebral Ischemia: The Mitoprotective Effects of Angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko [et al.] // *Neurochem. J.* – 2016. – N 2. – P. 131–136.

261. The role of neuropeptide Y in the pathophysiology of atherosclerotic cardiovascular disease / Ping Zhu, Weiwei Sun, Chenliang Zhang [et al.] // *Int. J. Cardiol.* – 2016. – Vol. 220. – P. 235–241.

262. The United State Pharmacopeia : 30 - NF25 [Электронный ресурс] // Rockville: The United State Pharmacopeia, Inc., 2007. – 3503 p. – Режим доступа :<http://pharmacybooks.com/2009/03/united-states-pharmacopoeia-usp30-nf25.html>.

263. Torres S. Y. Chemoenzymatic approach to optically active 1,4-dihydropyridine derivatives / S. Y. Torres, Y. Verdecia, F. Rebolledo // *Tetrahedron.* – 2015. – Vol. 71, issue 23. – P. 3976–3984.

264. Toward a Generic Approach for Stress Testing of Drug Substances and Drug Products / Klick S., Muijselaar Pim G., Waterval J. [et al.] // *Pharm. Technol.* – 2005. – № 2. – P. 48–66.

265. Tsakanova G. V. Oxidative stress in acute ischemic stroke / G. V. Tsakanova // *Electronic J. Natl Sci. NAS RA.* – 2010. – № 2 (15). – P. 53–54.

266. Wang X. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain / X. Wang, E. K. Michaelis // *Front Aging Neurosci* – 2010. – Vol. 2 (12). – P. 24–29.

267. Warner T. D. Relationships between the endothelin and nitric oxide pathways / T. D. Warner // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2009. – Vol. 26, № 3. – P. 247–252.

268. Wenger N. K. Cardiovascular health and disease in women / Wenger N. K., Speroff L., Packard B. // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – Vol. 329. – P. 247–256.

269. Zubatyuk R. I. Crystal. Molecular structure and tautomerism of (5-methyl-1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid / R. I. Zubatyuk, S. V. Shichkina, I. A. Mazur // *Struct. Chem.* – 2008. – Vol. 19. – P. 407–412.

ДОДАТКИ

Додаток А

Дисперсійний аналіз експериментальних даних з контролюю таблеток

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	$F_{експ.}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
u_1 - однорідність маси таблеток						
Фактор A	3	8,030375	2,676792	6798,201	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор B	3	5,212275	1,737425	4412,508	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор C	3	12,0113	4,003767	10168,3	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	4,663125	1,554375	3947,619	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	2,437825	0,812608	2063,767	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,0063	0,000394			
Загальна сума	31	32,3612				
u_2 - процес пресування таблеток						
Фактор A	3	8,125	2,708333	43,33333	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор B	3	4,125	1,375	22	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор C	3	1,125	0,375	6	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	1,125	0,375	6	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	9,375	3,125	50	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	1	0,0625			
Загальна сума	31	24,875				

у ₃ - стиранності таблеток						
Фактор А	3	8,84375	2,947917	13,47619	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	5,59375	1,864583	8,52381	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	3,59375	1,197917	5,47619	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	1,09375	0,364583	1,666667	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	2,34375	0,78125	3,571429	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	3,5	0,21875			
Загальна сума	31	24,96875				
у ₄ - зовнішньому вигляді таблеток						
Фактор А	3	0,317509	0,105836	1472,507	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,068034	0,022678	315,5217	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,095334	0,031778	442,1304	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	0,019634	0,006545	91,05797	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,222259	0,074086	1030,768	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,00115	7,19E-05			
Загальна сума	31	0,723922				
у ₅ - на процес розпадання таблеток						
Фактор А	3	695,1177	231,7059	4293,086	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	711,2956	237,0985	4393,002	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	286,2783	95,42609	1768,071	3,2	$\gamma_k \neq 0$

Продовж. дод. А

Фактор <i>D</i>	3	358,2183	119,4061	2212,376	3,2	$\delta_i \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	108,3605	36,12018	669,2408	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,86355	0,053972			
Загальна сума	31	2160,134				
<i>y</i> ₆ - міцність таблеток						
Фактор <i>A</i>	3	21288,87	7096,29	84404,28	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор <i>B</i>	3	3187,052	1062,351	12635,75	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор <i>C</i>	3	1740,049	580,0164	6898,797	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор <i>D</i>	3	630,6426	210,2142	2500,318	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	2070,123	690,041	8207,446	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	1,3452	0,084075			
Загальна сума	31	28918,08				
<i>y</i> ₇ – кількісний вміст після виготовлення						
Фактор <i>A</i>	3	0,435625	0,145208	1,32	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор <i>B</i>	3	0,2275	0,075833	0,69	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор <i>C</i>	3	0,339375	0,113125	1,02	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор <i>D</i>	3	1,046875	0,348958	3,17	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,379375	0,126458	1,150	3,2	$res \neq 0$

Продовж. дод. А

Похибка всередині клітинки	16	1,7582	0,109888			
Загальна сума	31	4,18695				
u ₈ – кількісний вміст через 6 місяців зберігання						
Фактор А	3	0,316434	0,105478	1,26	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,141809	0,04727	0,56	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,218584	0,072861	0,87	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	1,074809	0,35827	4,30	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,636659	0,21222	2,55	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	1,33135	0,083209			
Загальна сума	31	3,719647				
D - функція бажаності першої і другої серії дослідів відповідно						
Фактор А	3	0,061829	0,02061	0,917526	3,2	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,977862	0,325954	14,51115	3,2	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,198908	0,066303	2,951733	3,2	$\gamma_k \neq 0$
Фактор D	3	0,519391	0,17313	7,707588	3,2	$\delta_l \neq 0$
Залишок (взаємодія)	3	0,571832	0,190611	8,485806	3,2	$res \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,359397	0,022462			
Загальна сума	31	2,68922				

Додаток Б

Дисперсійний аналіз експериментальних даних дослідження таблеток

«Ангіолін»

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	$F_{експ}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
у ₁ - процес пресування таблеток						
Фактор А	5	0,6666	0,1333	0,4800	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	3,3334	0,2777			
Загальна сума	17	4				
у ₂ – зовнішній вигляд таблеток						
Фактор А	5	1,6111	0,3222	1,9339	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	2,0001	0,1666			
Загальна сума	17	3,6112				
у ₃ - однорідність дозування таблеток						
Фактор А	5	5,6684	1,1335	26,9448	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	0,5049	0,04207			
Загальна сума	17	6,1733				
у ₄ - міцність таблеток						
Фактор А	5	32392,44	6478,488	1437,5555	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	54,08	4,5066			
Загальна сума	17	32446,52				
у ₅ – стиранність таблеток						
Фактор А	5	0,7269	0,1453	268,279	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	0,0065	0,0005416			
Загальна сума	17	0,7334				

Продовж. дод. Б

y ₆ - розпадання таблеток						
Фактор А	5	237,2333	47,4466	90,5815	3,11	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	12	6,2867	0,5238			
Загальна сума	17	243,55				

Додаток В

Результати дослідження таблеток «Ангіолін» в процесі зберігання

№ зразка	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Супровідні домішки	Мікробіологічна чистота				Кількісне визначення	Термін придатності		
					6	7	8	9				
		Вимоги проекту МКЯ	Таблетки білого кольору	Відповідність УФ спектру випробуваного розчину і розчину порівняння	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіон не більше 0,5%	В субстанції допускається загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^3 КУО/г	Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^2 КУО/г	Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1г	Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1г	Ангіоліну від 0,19 г до 0,21 г	2 роки	Висновок
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1	14.11.14	Таблетки білого кольору	Відповідає	Відповідає			Відсут.	Відсут.	0,2018	"	Придатний	
	13.03.15	Теж	Теж	Теж			"	"	0,2039	3 міс.	Теж	

Продовж. дод. В

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	09.06.15	"	"	"			"	"	0,2008	6 міс.	"
	13.07.15	"	"	"			"	"	0,2011	9 міс.	"
	04.11.15	"	"	"			"	"	0,2012	1 рік	"
	07.06.16	"	"	"			"	"	0,2027	1 р. 6 міс.	"
	04.11.16	"	"	"	110	30	"	"	0,2026	2 роки	"
	14.02.17	"	"	"	100	20	"	"	0,2031	2 р. 3 міс.	"
2	03.10.14	"	Відповідає	Відповідає			Відсут.	Відсут.	0,2005	"	Придатний
	07.02.15	"	Теж	Теж			Теж	Теж	0,2011	3 міс.	Теж
	03.05.15	"	"	"			"	"	0,2016	6 міс.	"
	09.08.15	"	"	"			"	"	0,2027	9 міс.	"
	10.11.15	"	"	"			"	"	0,2015	1 рік	"
	06.05.16	"	"	"			"	"	0,2016	1 р. 6 міс.	"
	04.11.16	"	"	"	100	20	"	"	0,2013	2 роки	"
	02.02.17	"	"	"	110	30	"	"	0,2017	2 р. 3 міс.	"
3	06.11.14	"	Відповідає	Відповідає			Відсут.	Відсут.	0,2011	"	Придатний
	05.02.15	"	Теж	Теж			Теж	Теж	0,2013	3 міс.	Теж
	06.05.15	"	"	"			"	"	0,2013	6 міс.	"
	06.08.15	"	"	"			"	"	0,2010	9 міс.	"

Продовж. дод. В

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	05.11.15	"	"	"			"	"	0,2012	1 рік	"
	06.05.16	"	"	"			"	"	0,2010	1 р. 6 міс.	"
	04.11.15	"	"	"	100	20	"	"	0,2009	2 роки	"
	03.02.17	"	"	"	110	30	"	"	0,2011	2 р. 3 міс.	"

Додаток Г

Список публікацій здобувача

Статті

1. Selection of disintegrants for wet granulation method of "Angiolin" tablets / I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, Ye. A. Portnaya// Запорж. мед. журн. – 2016. – № 5. – С. 97. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

2. Бидненко А. С. Ангиолин - новый представитель метаболитотропных препаратов с выраженным влиянием на эндотелий сосудов головного мозга и сердца / Бидненко А. С. Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф. // Интер - медикал. – 2015. – № 4. – С. 11–14. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

3. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О.С., Моряк З. Б.// Фармац. часопис. – 2016. – № 2. – С. 16–22. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

4. Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І.// Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 1. – С. 35–39. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

5. Щодо стандартизації таблеток L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І.// Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2016. – № 2. – С. 38–42. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

6. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення / Ярош О. К., Нагорна О. О., Кучеренко Л. І., Бідненко

О. С. // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2 (38). – С. 64–69. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

7. Підбір кількісного складу допоміжних речовин при створенні таблеток «Ангіолін» / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Бідненко О. С., Ткаченко Г. І. // Фармац. часопис. – 2016. – № 4. – С. 12–15. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

8. Regarding L-lysine- 3-methyl- 1,2,4- triazole 5 thioacetate standartization/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko, G. I. Tkachenko // Фармац. часопис. – 2017. – № 1. – С. 22-25. (Особистий внесок: виконання частини експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

9. Functional nitric oxide conjugate systems state/restored heart thiols of rats in modeling isadrine-pituitrin's myocardial infarction using metabolite-tropic cardioprotector "Angiolin" / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya [et al.] // Int. J. Basic Clin. Pharmacol. – 2015. – N 2. – P.15-19. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

10. The Molecular and Ultrastructural Aspects of the Formation of Mitochondrial Dysfunction in the Modeling of Chronic Cerebral Ischemia: The Mitoprotective Effects of Angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, E. A. Nagornaya, S. V. Gorbacheva, A. S. Bidnenko // Neurochem. J. – 2016. – N 2. – P. 131–136. (Особистий внесок: аналіз та узагальнення експериментальних результатів, підготовка статті до друку).

Патенти

11. Патент на винахід 111462 Україна. МПК А61К 31/4196 (2006.01), А61Р 25/28 (2006.01), А61Р 25/32 (2006.01). Застосування (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату як активної основи лікарських засобів для профілактики та лікування порушень

життєзабезпечуючих функцій ЦНС при важких формах гострого отруєння етанолом / Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Беленичева І.Ф., Павлюк І.В.; заявник і патентовласник ТОВ НВО «Фарматрон».-№ а201600367. Заяв. 16.01.2016, опубл. 25.04.2016. (Особистий внесок: участь у патентному пошуку, плануванні експерименту, участь в експерименті, підготовці формули винаходу та опису до патенту, оформленні патенту).

Тези

12. Bidnenko O. On the issue of development of medicines in series of 1,2,4-triazole derivatives / Bidnenko O., Belenicheva O. // XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013, 18-21 вер. 2013 р. – Белосток, 2013. – С. 103. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

13. Bidnenko O. S. Разработка методов синтеза нового оригинального препарата «Лизиний» / Bidnenko O., Belenicheva O. // V Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых "Science4health 2013", 29 окт.-2 нояб. 2013 г. – М., 2013. – С. 8. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

14. HSP70 - зависимые молекулярные механизмы метаболитотропной кардиопротекции в условиях хронической алкогольной интоксикации / Бідненко О. С., Стеблюк В. С., Смирнова Д. Д., Дюкарь О. П. // Зб. матеріалів всеукр. наук.-практ. конф. «Здобутки теоретичної медицини - в практику охорони здоров'я - 2016», 24-25 бер. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 76–78. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

15. Бідненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты / Бідненко А. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації - 2013», присвяч. Дню науки, 16-17 трав. 2013 р. – Запоріжжя, 2013. – С. 209. (Особистий внесок: виконання

експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

16. Бідненко А. С. Создание метаболитотропных эндотелиопротекторов - фокус на «Ангиолин» / Бідненко А. С., Павлюк И. В. // Материали І науч.-практ. конф. молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств», 3-5 июн. 2013 г. – М., 2013. – С. 13. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

17. Бідненко О. С. Ангіолін - новий представник метаболітотропних препаратів з вираженим впливом на ендотелій судин головного мозку та серця / Бідненко О. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез., квітень 2016 р. – Чернівці, 2016. – С. 580. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

18. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 323. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

19. Бідненко О. С. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції. / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Ткаченко Г. І. // Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10-11 листоп. 2016 р. – Тернопіль, 2016. – С. 89. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

20. Бідненко О. С. Маркетингові дослідження національного ринку лікарських засобів кардіологічної дії / Бідненко О. С., Зарічна Т. П. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Здобутки та перспективи управління фармацевтичною системою», 25-26 вер. 2014 р. – Львів, 2014. – С. 49–50.

(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

21. Бидненко А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина» / Бидненко А. С. // Зб. матеріалів наук.-практ. конф. «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук», 29 листоп. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 83. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

22. Бідненко О. С. Розробка методів стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату / Бідненко О. С., Гулевська О. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю – Запоріжжя, 2016. – С. 222. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

23. Бидненко А. С. Создание нового метода получения лекарственного препарата / Бидненко А. С. // Буковинський міжнар. мед. конгрес : зб. тез, 2-4 квіт. 2014 р. – Чернівці, 2014. – С. 326. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

24. Бідненко О. С. Стратегія створення фіксованих комбінацій з тіотриазоліном / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Матеріали III всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки», 18 квіт. 2013 р. – Луганськ, 2013. – С. 146. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

25. Бидненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоуксусной кислоты / Бидненко А. С. // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2013. – № 2. – С. 195 (Особистий

внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

26. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. // Ліки - людині : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю між нар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. – Х., 2016. – С. 106–108. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

27. Бідненко О. С. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін» / Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф. // Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології», 24-25 листоп. 2016 р. – Запоріжжя, 2016. – С. 23–25 (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

28. Бідненко О. С. Щодо розробки технології отримання (S) - 2,6-діаміногексанової кислоти / Бідненко О. С., Окатенко І. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю - 2016. – Запоріжжя, 2016. – С. 241. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

29. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Ангіолін» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015», присвяч. Дню науки, 14-15 трав. 2015 р. – Запоріжжя, 2015. – С.143. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

30. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Лізиній» / Бідненко О. С. // Матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю «Сучасні аспекти медицини та фармації – 2014», присвяч. Дню науки, 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 163.

(Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

31. Про розвиток методології наукових досліджень при створенні лікарських препаратів / Бідненко О. С., Грошовий Т. А., Вронська Л. В. [та ін.] // VIII Нац. з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи», 13-16 вер. 2016 р. – Х., 2016. – С. 337. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

Додаток Д

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на:

1. III Всеукраїнська науково - практична конференція молодих вчених та студентів «Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки» (Луганськ, 18 квітня 2013 р., форма участі – усна доповідь);
2. Науково-практична конференція «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя, 16-17 травня 2013 р., форма участі – усна доповідь);
3. XXII Naukowym Zjeździe Polskiego Towarzystwa Farmaceutycznego 2013 (Белосток, Польща 18 – 21 вересня 2013р., форма участі – усна доповідь);
4. V Международная научно-практическая конференция молодых ученых "Science4health 2013" (Москва, 29 жовтня – 2 листопада 2013 р., форма участі – публікація тез);
5. I научно-практическая конференция молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва, 3-5 червня 2013 р., форма участі – публікація тез);
6. XXI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 7–11 квітня 2014 р., форма участі - публікація тез);
7. 74 Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 15-16 травня 2014 р., форма участі – усна доповідь);
8. III Регіональна науково-практична конференція «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» (Запоріжжя, 27 листопада 2014 р., форма участі – усна доповідь);

9. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2015» (Запоріжжя, 14-15 травня 2015 р. форма участі – усна доповідь);

10. II Міжнародна науково-практична Інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості» (Харків, 12-13 листопада 2015 р. форма участі – публікація тез);

11. Буковинський міжнародний медичний конгрес (Чернівці, 6 – 8 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез);

12. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2016» (Запоріжжя, 12 – 13 травня 2016 р., форма участі – усна доповідь);

13. Ліки - людині. XXXIII Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів (Харків, 08 квітня 2016р., форма участі – усна доповідь);

14. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології», (Запоріжжя, 24–25 листопада 2016 р., форма участі – усна доповідь);

15. VIII Національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез)

Додаток Е

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

В.о. директора ДП "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції",
канд. біол. наук



Н.С. Нікітіна

"_____ 2017 р.

А К Т

апробації результатів наукових досліджень О.С.Бідненко

На базі ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції» (ДП «ДНЦЛЗ») проведено апробацію технології на лікарський препарат таблетки «Ангіолін», яку розроблено методом вологої грануляції на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Бідненко О.С. на тему: «Розробка і стандартизація таблеток «Ангіолін».

Внаслідок проведеної роботи встановлено повну відтворюваність технології, викладеної в проекті технологічного регламенту на обладнанні лабораторії технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ». Виготовлені зразки таблеток «Ангіолін» відповідають вимогам розробленого проекту методів контролю якості (МКЯ) на даний препарат.

Старший науковий співробітник
Лабораторії технології готових лікарських
засобів ДП «ДНЦЛЗ»,
д-р.фарм.н. професор

М.О.Казарінов

Додаток Ж

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Тернопільського державного
медичного університету
ім. І.Я.Горбачевського
д.біол.н., проф. І.М.Кліш



2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** технологія виготовлення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Моряк З. Б.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Моряк З. Б. // Наук.-практ. журн. «Фармацевтичний часопис», № 2 – 2016. – С.16-22.
4. **Впроваджено:** кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського.
5. **Термін впровадження:** з жовтня 2016 р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі медичних ВНЗів України.

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

Т.А.Грошовий

Додаток К



Затверджую

Державний проректор
 НАМН України імені П. Л. Шупика
 член-кор. НАМН України
 проф. Ю. П. Вдовиченко

« 13 » *лютого* 2017 р.

АКТ

впровадження у навчальний процес

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** технологія виготовлення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції.
2. **Ким впроваджено, адреса:** кафедра фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035
3. **Виконавець:** Бідненко Олександр Сергійович
4. **Джерело інформації:** Selection of disintegrants for wet granulation method of “Angiolin” tablets / I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, O. S. Bidnenko [et al.] // Запорізький медичний журнал. – 2016. -№5. – с. 97
5. **Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика МОЗ України, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112.
6. **Результати застосувань:**
7. **Ефективність впровадження:** підвищення якості та ефективності навчального процесу за рахунок впровадження технологічних методів отримання таблеток.
8. **Пропозиції та зауваження:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі медичних ВНЗів України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри

д.ф.н., професор

Л.Л.Давтян

Додаток Л



ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор Національної
медичної академії післядипломної
освіти імені П. Л. Шупика
член-кор. НАМН України
професор Ю.П. Вдовиченко
«12» листопада 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** методика кількісного визначення ангіоліну в таблетковій масі спектрофотометричним методом.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л.І., Бідненко О.С., Мазур І.А., Ткаченко Г.І.
3. **Джерело інформації:** Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізіній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат, Кучеренко Л.І., Бідненко О.С., Мазур І.А., Ткаченко Г.І. // Наук.-практ. журн. «Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики», 2016.-№ 1. С. 35-39.
4. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів на циклі інтернатура «Загальна фармація».
5. **Термін впровадження:** листопад 2016 р.- лютий 2017 р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри контролю якості і
стандартизації лікарських засобів
професор Ветютнева

Ветютнева Наталія Олександрівна
«12» листопада 2017 р.

Додаток М



ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ЗАВОД ХІМІЧНИХ РЕАКТИВІВ»
НАУКОВО-ТЕХНОЛОГІЧНОГО КОМПЛЕКСУ «ІНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛІВ»
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

STATE PLANT FOR CHEMICAL REAGENTS
SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL CORPORATION «INSTITUTE FOR SINGLE CRYSTALS»
OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE»

Місцезнаходження: просп. Науки, 25, м. Харків, 61166, Україна.

Тел. (+380 57) 341-05-01; факс. 719-46-07

E-mail: info@zhr.kharkov.ua; http://www.zhr.kharkov.ua

Реквізити: код ЄДРПОУ 00205096. Р/р № 26007820225401

у відділенні № 20 ПАТ «Банк Грант», м. Харків

МФО 351607. Свідоцтво № 28328601. ІПН 002050920304

Відділ збуту: (+380 57) 702-62-49, 341-05-52; факс. 759-11-38; e-mail: sbyt@zhr.kharkov.ua

Відділ постачання: (+380 57) 341-05-67, 341-05-69; e-mail: snab@zhr.kharkov.ua

№ 01/201 від «21» 01 2017 р.

А К Т

апробації результатів наукових досліджень О.С.Бідненко на базі ДП "Завод хімічних реактивів" НТК "Інститут монокристалів" НАН України та впровадження у систему якості

На заводі ДП "Завод хімічних реактивів" в лабораторних умовах апробовано методику кількісного визначення субстанції ангіоліну спектрофотометричним методом, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Бідненко О.С. на тему: «Розробка і стандартизації таблеток «Ангіолін».

Директор ДП "Завод хімічних реактивів"
 НТК "Інститут монокристалів"
 НАН України"



Т.Ю.Вінниченко

Додаток Н



ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ЗАВОД ХІМІЧНИХ РЕАКТИВІВ»
НАУКОВО-ТЕХНОЛОГІЧНОГО КОМПЛЕКСУ «ІНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛІВ»
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

STATE PLANT FOR CHEMICAL REAGENTS
SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL CORPORATION «INSTITUTE FOR SINGLE CRYSTALS»
OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE»

Місцезнаходження: просп. Науки, 25, м. Харків, 61166, Україна.

Тел. (+380 57) 341-05-01; факс, 719-46-07

E-mail: info@zhr.kharkov.ua; http://www.zhr.kharkov.ua

Реквізити: код ЄДРПОУ 00205096. Р/р № 26007820225401

у відділенні № 20 ПАТ «Банк Грант», м. Харків

МФО 351607. Свідоцтво № 28328601. ППН 002050920304

Відділ збуту: (+380 57) 702-62-49, 341-05-52; факс, 759-11-38; e-mail: sbyt@zhr.kharkov.ua

Відділ постачання: (+380 57) 341-05-67, 341-05-69; e-mail: snab@zhr.kharkov.ua

№ 01/203 від «21» 02 2017 р.

А К Т

апробації результатів наукових досліджень О.С.Бідненко на базі ДП "Завод хімічних реактивів" НТК "Інститут монокристалів" НАН України та впровадження у систему якості

На заводі ДП "Завод хімічних реактивів" в лабораторних умовах апробовано методику визначення супровідних домішок в субстанції ангіоліну методом тонкошарової хроматографії, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Бідненко О.С. на тему: «Розробка і стандартизації таблеток «Ангіолін».

Директор ДП "Завод хімічних реактивів"
 НТК "Інститут монокристалів"
 НАН України



Т.Ю.Вінниченко

Додаток П

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи та післядипломної освіти
ПВНЗ «Київський медичний
університет»

д.м.н., проф.. Доан С.І.

«*22*» *лютого* 2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** методика розробки технології отримання (S) – 2,6-діаміногексанової кислоти.
- 2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Ткаченко Г.І.
- 3. Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):**Щодо розробки технології отримання (S) – 2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату / Бідненко О.С., Окатенко І.О. // Сучас. аспекти мед. і фармац. – 2016 : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. мол. вчених та студ. з міжнар. участю – 2016. – С. 241
- 4. Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії, фармакогнозії та хімії Київського медичного університету
- 5. Термін впровадження:** *вересень 2016р – березень 2017р.*
- 6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
- 7. Пропозиції та зауваження:** немає

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії,
фармакогнозії та хімії,
д.фарм.н., професор

НАУКОВО-МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ
ЗАСТ. РЕКТОРА
П.А.С.ЧЕР



О.Ю. Коновалова

Додаток Р

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Одеського національного
медичного університету
д.м.н., проф. Ю.І. Бажора



2017 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** методика кількісного визначення в таблетках L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату спектрофотометричним методом.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Ткаченко Г.І.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Щодо стандартизації таблеток L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат. Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Ткаченко Г.І.// Наук.-практ. журн. «Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики», №2 – 2016. – С.38-42
4. **Впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** 09.2016-05.2017р.р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
Одеського національного медичного університету
д.хім.н., професор

В.О. Гельмбольдт

Додаток С

ЗАТВЕРДЖЕНО

Ректор Запорізького державного

Медичного університету

професор Колесник Ю.М.



2016 р.

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

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

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
(ПРОЕКТ)**

**АНГІОЛІН
ANGIOLIN**

таблетки по 200 мг, по 10 таблеток у блістері

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ
(ПРОЕКТ)**

**АНГІОЛІН
ANGIOLIN**

таблетки по 200 мг, по 10 таблеток у блістері

1 таблетка містить:

Діюча речовина:

(S)-2,6-діаміногексанової кислоти
3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату 200 мг
(виробництво Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут
монокристалів» НАН України, м. Харків, Україна)

Допоміжні речовини:

Цукрова пудра
МКЦ бурст – достатня кількість для отримання таблетки
Натрій кроскармелоза масою 320 мг
МКЦ 101
Розчин МЦ 15
Кальція стеарат
МКЦ 200

шару 10 мм при довжині хвилі $\lambda = 238$ нм, використовуючи воду очищену в якості компенсаційного розчину.

Вміст $C_{11}H_{21}N_5O_4S$ (ангіоліну) в одній таблетці розраховували за формулою:

$$X = \frac{A_x \times m_0 \times m \times P}{A_0 \times m_x \times 100}, \text{ де}$$

A_x – абсорбція робочого розчину;

m_0 – наважка стандартного зразка, г;

m – маса однієї таблетки, г;

P – відсотковий вміст речовини в стандартному зразку, %;

A_0 – абсорбція розчину порівняння;

m_x – наважка порошку подрібнених таблеток, г.

Вміст $C_{11}H_{21}N_5O_4S$ (ангіоліну) в одній таблетці має бути від 0,1900 г до 0,2100 г, рахуючи на середню масу таблеток.

УПАКОВКА

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

Пачки поміщають у групову тару.

МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал-макету упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Викладач-стажист

кафедри фармацевтичної хімії, ЗДМУ



Бідненко О.С.





УКРАЇНА



ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 111462

ЗАСТОСУВАННЯ (S)-2,6-ДІАМІНОГЕКСАНОВОЇ КИСЛОТИ 3-МЕТИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛІЛ-5-ТІОАЦЕТАТУ ЯК АКТИВНОЇ ОСНОВИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ ПОРУШЕНЬ ЖИТТЄЗАБЕЗПЕЧУЮЧИХ ФУНКЦІЙ ЦНС ПРИ ВАЖКИХ ФОРМАХ ГОСТРОГО ОТРУСННЯ ЕТАНОЛОМ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи **25.04.2016**.

В.о. Голови Державної служби
інтелектуальної власності України

А.А.Малиш



