

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ХРОМИЛЬОВА ОЛЬГА ВОЛОДИМИРІВНА

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

**РОЗРОБКА ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ФІКСОВАНИХ КОМБІНОВАНИХ
НЕЙРОМЕТАБОЛІТОТРОПНИХ ЦЕРЕБРОПРОТЕКТОРІВ НА ОСНОВІ
КОМБІНАЦІЙ ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ З АЛІФАТИЧНИМИ
ТРАНСМІТЕРНИМИ АМІНОКИСЛОТАМИ**

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

доктора фармацевтичних наук

Харків – 2021

Дисертацією є рукопис.

Дисертаційна робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий консультант: доктор фармацевтичних наук, професор,
КУЧЕРЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА
Запорізький державний медичний університет,
завідувачка кафедри фармацевтичної хімії.

Офіційні опоненти: доктор хімічних наук, професор,
ГРИЗОДУБ ОЛЕКСАНДР ІВАНОВИЧ
Директор ДП «Український науковий
фармакопейний центр якості лікарських
засобів»,
Завідувач відділу Державної фармакопеї
України, м. Харків;

доктор фармацевтичних наук, професор,
МАРТИНОВ АРТУР ВІКТОРОВИЧ
ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені
І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків,
завідувач лабораторії та клінічного відділу
молекулярної імунофармакології;

доктор фармацевтичних наук, професор,
АЛМАКАЄВА ЛЮДМИЛА ГРИГОРІВНА
Ужгородський національний університет,
професор кафедри фармацевтичних дисциплін.

Захист відбудеться «21» квітня 2021 року о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий « 17 » березня 2021 р.

В.о. ученого секретаря
спеціалізованої вченої ради, професор

О. А. Рубан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження.

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

На початку ХХ століття була розроблена поетапна стратегія комплексної терапії гострого порушення мозкового кровообігу, що включає в себе реперфузійну і реканалізаційну терапію, первинну і вторинну нейропротекцію. Реперфузійна і реканалізаційна терапія полягає в застосуванні в гострому періоді інсульту тромболітиків, антикоагулянтів і, з урахуванням формування ендотеліальної дисфункції (ЕД) - ендотеліопротекторів. З огляду на порушення в системі NO і дефіциту цього трансмітера в формуванні ЕД, як ендотеліопротектори розглядають: прекурсор NO L-аргінін, антиоксиданти та модулятори тіол-дисульфідної системи, що підвищують біодоступність NO – тіотриазолін, ангіолін. Первинна нейропротекція спрямована на переривання найраніших процесів ішемічного (глутамат-кальцієвого) каскаду, що розгортаються в межах «терапевтичного вікна» і лежать в основі швидкого некротичного пошкодження тканини мозку (J. Castillo, A. Davalos, Чекман І.С., Волошин Н.А.). До первинних нейропротекторів, ефективність яких доведена клінічно, відносять блокатори потенціалзалежних кальцієвих каналів (німодипін, цереброкрас, ісрадипін), блокатори натрієвих каналів, що запобігають пресинаптичному вивільненню глутамата (лубелузол, фенітоїн). До первинних нейропротекторів відносять антагоністи фенциклідинового і глутамінового сайтів NMDA-рецепторів – магнію сульфат та гліцин. Гліцин разом з нейротрансмітерною дією надає метаболітотропний, антиоксидантний і протиішемічний ефекти (Fisher M., Evans P., Клигуненко Е.Н., Площенко Ю.А.).

Вторинна нейропротекція входить до комплексу невідкладної терапії ішемічного інсульту, її дія спрямована на запобігання відстроченим механізмам пошкодження нейрону (оксидативний стрес, експресія прозапальних цитокінів,

розвиток запальної реакції, індукція апоптозу, дискоординація метаболічних циклів, зменшення трофічної дисфункції тощо). До засобів вторинної нейропротекції відносять антиоксиданти (емоксипін, мексидол, тіотриазолін), ноотропи (пірацетам, семакс, неоглютил, ноопент, фенотропіл) та метаболітотропні препарати (мілдронат) (Дзяк Л.А., Мазур І.А., Беленічев І.Ф.).

Проте, сучасний арсенал засобів лікування мозкових інсультів не задовольняє всім вимогам клініцистів. Так, засоби первинної нейропротекції, особливо антагоністи глутаматних рецепторів, мають часті побічні ефекти, що не дає можливості для їх застосування в клініці, самотійна ефективність інших засобів мало доведена. Все це обумовлює створення нових високоефективних і малотоксичних препаратів нейропротективної дії. У створенні нових засобів основну роль відіграють фундаментальні дослідження, які дозволяють розкрити тонкі механізми загибелі нейрону в умовах гострої ішемії і намітити основні ланки-мішені. В цьому відношенні перспективними ланками є - глутаматна ексайтотоксичність, порушення в системі NO, оксидативний і нітрозативний стрес і ЕД. В даний час успіхи в розробці нових лікарських засобів пов'язані не тільки з синтезом нових хімічних сполук, але й, в значній мірі, з поліпшенням властивостей існуючих препаратів, зокрема, шляхом створення нових лікарських форм з направленою доставкою до органу-мішені (Чекман І.С., Мазур І.А., Беленічев І.Ф.). Одним з перспективних підходів в розробці подібних лікарських форм є комбінація речовини, що діє, з антиоксидантами, які забезпечують посилення фармакологічної дії базового препарату. На теперішній час одним з відомих вітчизняних антиоксидантів є тіотриазолін. Тіотриазолін (морфолінію тіазотат) володіє антиоксидантною, мембраностабілізуючою, протиішемічною, антиаритмічною, імуномодулюючою, протизапальною, гепатопротекторною, кардіопротективною дією. Тіотриазолін регулює рівень АФК і NO, активує і регулює компенсаторний малат-аспартатний шунт енергії в умовах ішемії, підвищує активність тіол-дисульфідної системи. Крім того, тіотриазолін має унікальну властивість, а саме здатність підвищувати нейродоступність нейропсихотропних засобів та нейротрасмітерних амінокислот (Мазур І.А., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І.). Як активні інгредієнти в потенційних комбінованих препаратах розглядаються нейротрансмітерні амінокислоти - ГАМК, гліцин, а також L-аргінін, які не тільки регулюють сигнали в нейронах, але беруть участь у механізмах нейроапоптозу, синтезі білків шаперонів, енергетичному обміні, регуляції тонуусу церебральних судин (Комісаров І.В., Гусев Е.А., Геруш О.В.). Низкою робіт показана роль порушень в системі NO не тільки в патогенезі ішемічних інсультів, а й при інфаркті міокарда, ХСН, артеріальній гіпертензії, фетоплацентарній недостатності і т. інш. Все це обґрунтовує застосування нейротрансмітерних амінокислот, а також засобів, які нормалізують синтез NO, таких як L-аргінін, і створення на їх основі більш ефективних лікарських форм, в т.ч. комбінованих. Все вищезазначене дозволяє зробити висновок про доцільність і актуальність розробок у цьому напрямку.

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

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету "Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0113U000802) та "Пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та розробка оригінальних і комбінованих лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0118 U 004257).

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

Завдання дослідження:

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

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

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

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

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

6. Розробити технологію одержання таблеток «Тіогамк» з фіксованим вмістом ГАМК та тіотриазоліну, скласти технологічну схему їх виробництва, дослідити стабільність, встановити термін придатності розроблюваних

таблеток, провести дослідження за визначенням специфічної фармакологічної дії та відпрацювати технологію таблеток «Тіогамк» в умовах заводу-виробника.

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

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

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

Об'єкт дослідження: розробка нових комбінованих лікарських препаратів на основі похідних 1,2,4-триазолу (морфолінію тіазотат) з аліфатичними нейротрансмітерними кислотами (L-аргінін, гліцин, гамма-аміномасляна кислота) у вигляді таблеток, дослідження їх властивостей і стабільності та розробка методів стандартизації отриманих комбінованих таблеток.

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

Методи дослідження: У роботі були застосовані наступні методи досліджень: органолептичні (зовнішній вигляд), фізико-хімічні (кристалографічні властивості порошків, розчинність, термогравіметричний аналіз), фармакотехнологічні (стираність та стійкість таблеток до роздавлювання, середня маса, розпадання, однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу, однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, розчинення), мікробіологічні (мікробіологічна чистота), якісний і кількісний аналіз АФІ (високоєфективна рідинна

хроматографія, тонкошарова хроматографія), фармакологічні (вивчення специфічної дії препаратів у порівнянні з референтними препаратами), математичні (математичне планування експерименту та дисперсійний аналіз з метою оптимізації якісного та кількісного складу таблеток, статистична обробка експериментальних даних).

Наукова новизна отриманих результатів:

Вперше розроблено комбіновані засоби для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно, які за нейротропними властивостями значно переважають референс-препарати Тівортін, Гліцин та Пірацетам.

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

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

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

За результатами фармакологічних досліджень вперше встановлено потенціювання нейропротективних властивостей тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот, що стало підґрунтям для чотириразового зниження терапевтичної дози тіотриазоліну у розроблених комбінованих засобах «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк». Вперше виявлено потужну їх нейро-, кардіо- та ендотеліопротективну дію, а також антиоксидантні, протиішемічні, протитривожні та ноотропні властивості.

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

Практичне значення отриманих результатів.

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

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

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

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

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси: кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 09.12.2020 р.); кафедри фармацевтичної,

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

Особистий внесок здобувача

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

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

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

Апробація результатів дисертації

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

Апробацію роботи проведено на спільному засіданні кафедр аналітичної хімії; біологічної хімії, технології ліків; органічної і біоорганічної хімії; природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії; фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; фізколоїдної хімії; медичної та фармацевтичної інформатики і новітніх технологій; управління і економіки фармації; управління і економіки фармації; та фармацевтичної технології ФПО Запорізького державного медичного університету від 16 грудня 2020 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 44 наукові праці, а саме: 24 статей у наукових фахових виданнях (з них 11 – у закордонних виданнях, 3 цитуються наукометричною базою даних Scopus, 3 цитуються наукометричною базою даних Web of Science), 2 патенти України на винахід, 1 інформаційний лист, 17 тез доповідей.

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

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У *вступі* обґрунтовано вибір теми, сформульовано мету та основні завдання дисертаційного дослідження, визначено наукову новизну та практичну цінність напрацьованих результатів, наведена структура роботи.

У *розділі 1* «Сучасний стан медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та морфолінію тіазотату і їх комбінацій з іншими лікарськими засобами (Огляд літератури)» проведено аналіз джерел літератури у світлі новітніх уявлень щодо лікування захворювань ЦНС, методичних підходів до розробки лікарських засобів в таблетках та перспектив застосування антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК як препаратів, що впливають на метаболічні процеси. Вивчено ринок лікарських засобів України з групи засобів, що впливають на метаболічні процеси, а саме амінокислоти; вивчено асортимент психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів.

У *розділі 2* «Характеристика матеріалів та методів» представлено характеристику об'єктів і методів дослідження, наведено матеріали та методи, які були використані при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

У *розділі 3* «Розробка оптимального складу, технології виробництва та стандартизація таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом» наведено результати експериментальних досліджень щодо розробки оптимального складу, технології та стандартизації нового комбінованого лікарського засобу L-аргініну з тіотриазоліном у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. По-перше, були проведені квантово-хімічні розрахунки, які показали, що між діючими речовинами не виникають стійкі хімічні зв'язки, а тільки нестійкі водневі, що дає можливість поєднання L-аргініну та тіотриазоліну в одній лікарській формі. Крім того, проведено дериватографічні дослідження, які підтвердили, що L-аргінін та тіотриазолін є сумішшю речовин, які не взаємодіють між собою.

Для нового комбінованого лікарського препарату була обрана раціональна лікарська форма – таблетки. Спочатку були проведені морфометричні дослідження порошків L-аргініну, морфолінію тіазотату та їх суміші. За результатами дослідження розмірів та форми кристалів L-аргініну та морфолінію тіазотату, їх технологічних властивостей, для отримання комбінованих таблеток був запропонований метод вологої грануляції.

На другому етапі були проведені дослідження з вибору раціональних ДР для отримання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції. Для цього вивчали чотири групи ДР, а саме наповнювачі на основі цукрів, розпушувачі, регулятори вологи та зв'язуючі речовини, всього 16 речовин.

Далі в лабораторних умовах були виготовлені 16 серій таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом згідно плану 4x4 греко-латинського квадрата. Вивчали вплив природи ДР на процес пресування, зовнішній вигляд, однорідність в масі, стираниість, міцність та час розпадання таблеток. Всі дослідження проведені у двох повторностях. Проведено дисперсійний аналіз результатів, який дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі ДР, які дають можливість запропонувати оптимальний склад таблеток-ядер. Далі були проведені дослідження із створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. В якості плівкоутворюючих композицій використовували готові суміші торгової марки OPADRY, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами. Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання. Аналіз експериментальних результатів показав, що найкращою плівкоутворюючою системою для нанесення покриття є OPADRY.

В результаті проведених досліджень було встановлено оптимальний склад таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, які покриті плівковим покриттям, які за всіма фармако-технологічними показниками відповідають вимогам ДФУ: L-аргінін – 0,200 г; морфолінію тіазотат – 0,050 г; маніт – 0,048 г; МКЦ 301 – 0,054 г; крохмаль картопляний – 0,034 г; магнію стеарат – 0,004 г; 3% розчин ГПМЦ 2910 – Qs, Opadry – Qs. Середня маса таблетки – 0,412 г. Розроблена технологічна схема виробництва таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП "ДНЦЛЗ" та в промислових умовах на базі ПрАТ «Лекхім-Харків».

Проведені дослідження з розробки методик стандартизації отриманих таблеток. Попередньо були вивчені методи стандартизації кожної діючої речовини, модельної суміші, таблеткової маси, а далі розроблену методику застосовано для отриманих таблеток. Для визначення L-аргініну з морфолінію тіазотатом в модельній суміші запропоновано використовувати іон-парне хроматографування з використанням кислого буфера – 0.05% розчину трифтороцтової кислоти. Дослідження проводили з використанням модульної системи VERX BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) з спектрофотометричним детектором Lambda 1010. Умови проведення аналізу: колонка Hypersil ODS-C18-5 μ , 4.6 x 250 mm, діаметр часток 5 мкм; елюент: водний розчин, що містить 3.4 г/л Cu_4NHSO_4 і 0.05% трифтороцтової кислоти; швидкість

рухомої фази: 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм; об'єм введеної проби: 20 мкл. Зразки хроматограм випробуваного розчину та розчину стандартного зразку L-аргініну та морфолінію тіазотату наведено на рис. 1, 2.

Результати аналізу шести зразків таблеткової маси методом ВЕРХ наведені в табл. 1.

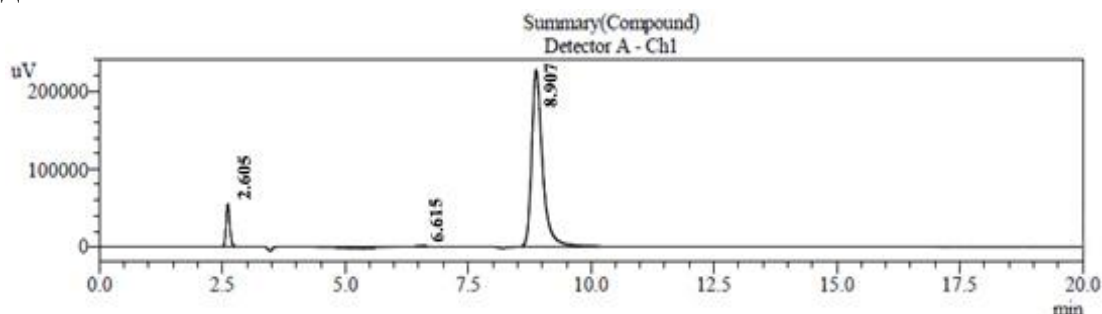


Рис. 1 Хроматограма випробуваного розчину таблеткової маси L-аргініну та морфолінію тіазотату

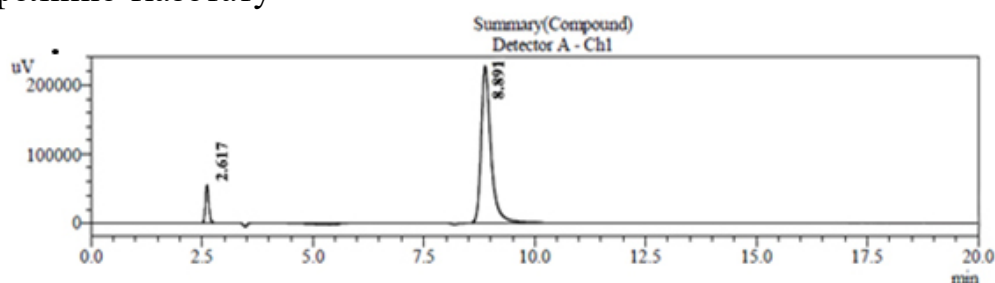


Рис. 2 Хроматограма розчину стандартного зразку L-аргініну та морфолінію тіазотату

Таблиця 1

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

Зразок	Наважка таблеток	L-Аргінін			Морфолінію тіазотат		
		Середня площа, S, mV*sec	Знайдено, мг	Статистика	Середня площа, S, mV*sec	Знайдено, мг	Статистика
№ 1	400,50	297739	199,68	$\bar{x} = 199,74$ $S_x = 0,86$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,73$ $\Delta \bar{x} = 0,71$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 199,74 \pm 0,71$ $e_{\bar{x}} = 0,35\%$	3504297	50,00	$\bar{x} = 50,34$ $S_x = 0,39$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 0,79$ $\Delta \bar{x} = 0,33$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 50,34 \pm 0,33$ $e_{\bar{x}} = 0,65\%$
№ 2	399,90	294911	198,07		3495546	49,91	
№ 3	400,10	297963	200,02		3554052	50,72	
№ 4	400,00	298067	200,14		3561570	50,84	
№ 5	400,20	298708	200,47		3510083	50,08	
№ 6	399,80	297829	200,08		3534582	50,48	
Розчин порівняння	РСЗ L-аргініну 200,1 РСЗ морфолінію тіазотату 49,9	298097			3497467		

З наведених в таблиці 1 даних видно, що кількісний вміст діючих речовин відповідає фармакопейним вимогам. Таким чином, запропонована методика ВЕРХ є відтворюваною і коректною, її апробовано і впроваджено у систему контролю якості ПрАТ «Лекхім-Харків».

Проведена валідація розробленої методики та доведена її придатність для одночасного кількісного визначення діючих речовин у таблетках. Валідаційні дослідження кількісного визначення діючих речовин в таблетках L-аргініну з тіотриазоліном проведені за наступними показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність, прецизійність та робастність.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату продемонстрована на рис. 3.

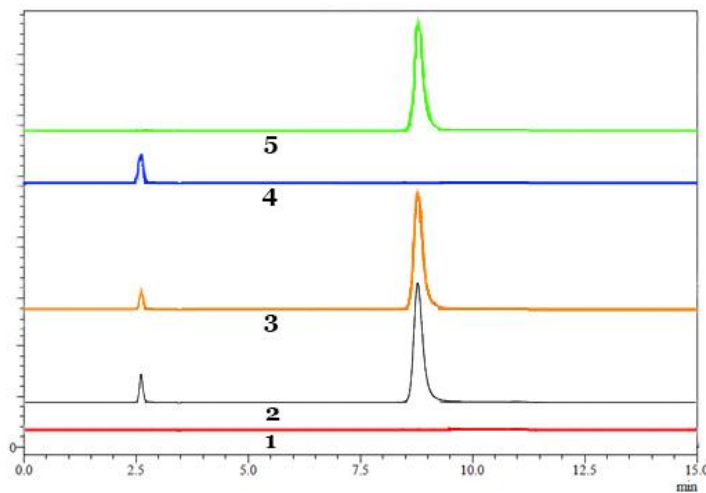


Рис. 3 Хроматограми розчинів: 1 – розчин «плацебо», 2 – випробуваний розчин препарату, 3 – розчин порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату, 4 – модельний розчин препарату з L-аргініном, 5 – модельний розчин препарату з морфолінію тіазотатом

Підтверджується специфічність методики кількісного та якісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату тим, що: на хроматограмі розчину «плацебо» відсутні піки з часом утримування піків L-аргініну з морфолінію тіазотатом; час утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах досліджуваного розчину співпадають з часом утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах розчину порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату; на хроматограмах досліджуваного розчину та розчину порівняння L-аргініну з морфолінію тіазотатом спостерігається повне розділення піків L-аргініну та морфолінію тіазотату. Таким чином, встановлено, що методика ідентифікації та кількісного визначення L-аргініну з морфолінію тіазотатом в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

Лінійність досліджували в діапазоні концентрацій L-аргініну та морфолінію тіазотату від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення. На рис. 4 та 5 представлені графіки лінійної залежності, а результати розрахунків наведені в табл. 2 та 3.

З представлених даних видно, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто підтверджується лінійність методики кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту $\pm 5\%$.

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

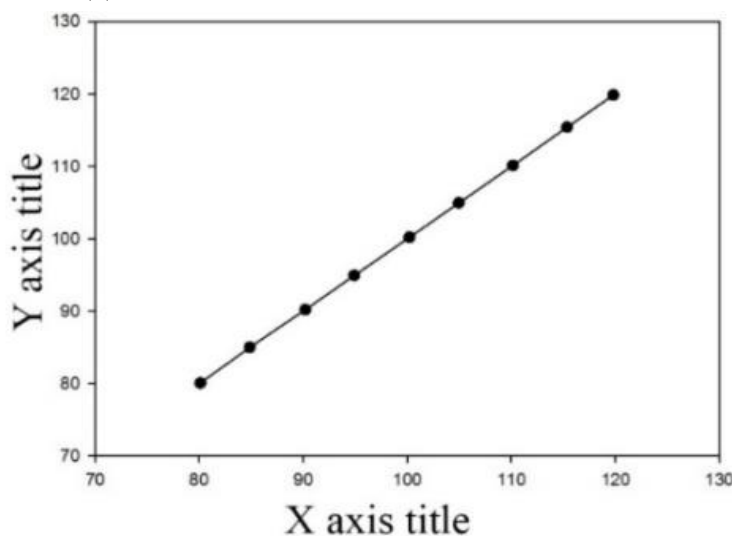


Рис. 4 Лінійна залежність знайденої концентрації L-аргініну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

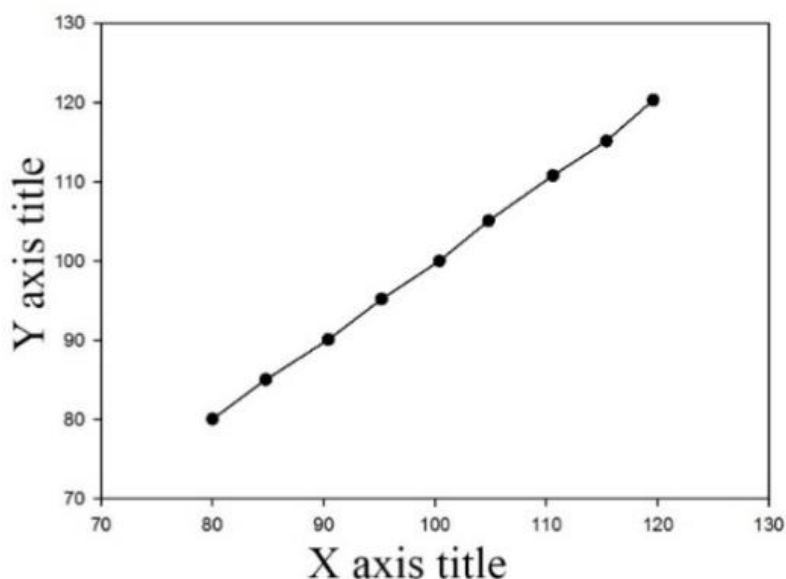


Рис. 5 Лінійна залежність знайденої концентрації морфолінію тіазотату від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Таблиця 2

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

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

Таблиця 3

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

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

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

Була перевірена правильність та збіжність методики методом «введено-знайдено». Результати кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 4 та 5. З даних, представлених в табл. 4 та 5, виходить, що методика кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Як свідчать дані, наведені в табл. 4 и 5, в діапазоні концентрацій L-аргініну та морфолінію тіазотату від 80 % до 120% по відношенню до номінальної концентрації, методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

Досліджена стабільність препаратів в процесі зберігання протягом двох років. В ході проведених досліджень встановлено, що при зберіганні впродовж 24 місяців та температурі $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, в захищеному від світла місті таблетки відповідали вимогам проєкту МКЯ. Тому запропоновано встановити термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C .

Розроблені методики стандартизації таблеток L-аргініну з тіотриазоліном включені до специфікації, які покладені в основу проєкту документу «Методи контролю якості на лікарський засіб».

Розроблені комбіновані таблетки «Аргітрил» включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків».

Розділ 4 «Розробка оптимального складу, технології виробництва та стандартизація таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом» присвячений розробці складу, технології та стандартизації нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину та морфолінію тіазотату.

Під час розробки нового препарату, до складу якого входять декілька компонентів, одним з важливих факторів є їх сумісність. Тому для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин попередньо були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів гліцину з морфолінію тіазотатом, які показали можливість утворення в них лише множинних водневих зв'язків. Таким чином, це теоретично доказує відсутність стійкої хімічної взаємодії між компонентами та підтверджує можливість комбінування гліцину та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі. Далі, для усунення сумнівів щодо можливості комбінування діючих речовин, ми також проводили термогравіметричний аналіз субстанції гліцину, суміші гліцину-морфолінію тіазотату. Встановлено, що суміш гліцину з морфолінію тіазотатом є сумішню діючих речовин, які не взаємодіють між собою, і це дає нам можливість комбінувати їх в одній лікарській формі у вигляді таблеток.

Для нового комбінованого лікарського препарату обрано раціональну лікарську форму - таблетки. По-перше, нами були вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанцій гліцину, тіотриазоліну та їх суміш, з метою вибору способу отримання таблеток. За допомогою електронно-мікроскопічних методів з використанням комп'ютерної програми Inter VideoWinDVR були проведені дослідження форми та розміру часток. В результаті ми виявили, що субстанції гліцину та тіотриазоліну представляють собою полідисперсні кристалічні порошки у вигляді пластинчастих багатогранників та їх уламків.

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

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

Домінуюча фракція представлена ізодіаметричними частинками неправильної форми. Вивчили розміри кристалів гліцину та тіотриазоліну, їх технологічні властивості. Для отримання комбінованих таблеток було запропоновано метод прямого пресування. Серед ДР вибрали речовини, які за літературними даними найчастіше використовуються для отримання таблеток методом прямого пресування. ДР за технологічними ознаками згрупували в

чотири групи: ДР на основі мікрокристалічної целюлози; ДР на основі цукрів; ДР на основі гранульованих неорганічних солей та змащуючі речовини. Всього 16 ДР.

Таблиця 5

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

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

Для вивчення якісних факторів було використано один з планів дисперсійного аналізу – греко-латинський квадрат. По-перше, приготували порошок маси. Далі порошок суміші досліджували на текучість, кут природного укосу, насипну густину та насипну густину після усадки. Пресували таблетки на лабораторному таблеточному пресі "ТП -1". Вивчали

вплив природи ДР на процес пресування, зовнішній вигляд, однорідність маси, стираність, час розпадання, стійкість до роздавлювання, органолептичні показники отриманих таблеток.

Дисперсійний аналіз результатів дослідження, отриманих за допомогою функції бажаності, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі ДР: із зразків ДР на основі мікрокристалічної целюлози – МКЦ 302, із зразків ДР на основі цукрів – манітол 300, із зразків ДР на основі гранульованих неорганічних солей – неуселін УС 2, серед зразків змащуючих речовин – кальцію стеарат.

Склад таблетки: гліцин – 0,200 г; морфолінію тіазотат – 0,050 г; МКЦ 302 – 0,0660 г; манітол 300 – 0,0200 г; неуселін УС2-0,0204 г; кальцію стеарат – 0,0036 г. Середня маса таблетки – 0,3600 г.

Нами була розроблена технологічна схема виробництва таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом методом прямого пресування, яку апробовано на базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП "ДНЦЛЗ" та в промислових умовах на базі ПрАТ "Лекхім-Харків".

Для визначення діючих речовин у новому комбінованому лікарському засобі на основі гліцину з морфолінію тіазотатом був запропонований метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно проводити як ідентифікацію, так і кількісне визначення діючих речовин в лікарських засобах. По-перше, необхідно було підібрати умови визначення діючих речовин. Було встановлено, що для сумісного визначення гліцину з морфолінію тіазотатом як в модельній суміші, так і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати як елюент – тетрабутиламоній в умовах іон-парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буферу – 0.05% розчину трифтороцтової кислоти.

Нами були розроблені методики визначення діючих речовин методом ВЕРХ в модельній суміші та таблетковій масі, тому для визначення гліцину з морфолінію тіазотатом в таблетках ми використовували саме цей метод.

Приклад хроматограми випробовуваного розчину таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом та розчину порівняння наведено на рис. 6.

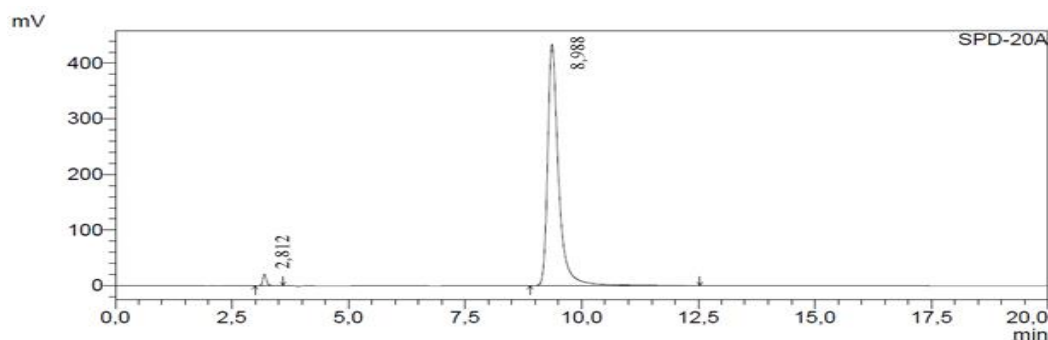


Рис. 6 Хроматограма випробовуваного розчину таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом

Приклад хроматограми розчину порівняння гліцину з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 7.

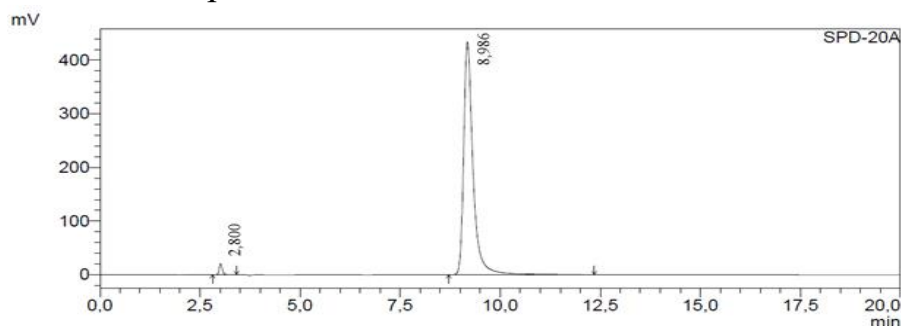


Рис. 7 Хроматограма розчину порівняння гліцину з морфолінію тіазотатом

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 6. З наведених в таблиці даних видно, що в досліджених серіях вміст гліцину становив від 0,1907 г до 0,2013 г, морфолінію тіазотату - від 0,0475 мг до 0,0514 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст гліцину - 200 мг \pm 7,5%, морфолінію тіазотату - 50 мг \pm 10%.

Таблиця 6

Результати кількісного визначення гліцину та морфолінію тіазотату в таблетках методом ВЕРХ

Зразок	Наважка таблеток	Гліцин			Морфолінію тіазотат		
		Середня площа, S, mV*sec	Знайдено в мг	Статистика	Середня площа, S, mV*sec	Знайдено в мг	Статистика
№ 1	359,99	205964	196,93	$\bar{x} = 199,51$ $S_x = 1,63$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 3,29$ $\bar{\Delta x} = 1,34$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 199,51 \pm 1,34$ $e_{\bar{x}} = 0,67\%$	3478020	48,83	$\bar{x} = 50,09$ $S_x = 0,76$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,54$ $\bar{\Delta x} = 0,63$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 50,09 \pm 0,63$ $e_{\bar{x}} = 1,25\%$
№ 2	360,04	209455	200,24		3581796	50,28	
№ 3	360,12	210955	201,63		3635319	51,02	
№ 4	359,96	207829	198,73		3605929	50,63	
№ 5	360,00	208302	199,16		3543648	49,75	
№ 6	360,06	209654	200,42		3567748	50,08	
Розчин порівняння	РСЗ гліцину 200,1 РСЗ морфолінію тіазотату 49,9	209243			3554332		

Валідацію методики кількісного визначення проводили за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність та робасність.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну продемонстрована на рис. 8.

Специфічність методики кількісного та якісного визначення гліцину та тіотриазоліну підтверджується тим, що: на хроматограмі розчину «плацебо» відсутні піки з часом утримування піків гліцину з тіотриазоліном; час утримування піків гліцину та тіотриазоліну на хроматограмах досліджуваного розчину співпадають з часом утримування піків гліцину та тіотриазоліну на хроматограмах розчину порівняння гліцину та тіотриазоліну; на хроматограмах досліджуваного розчину та розчину порівняння гліцину з тіотриазоліном спостерігається повне розділення гліцину та тіотриазоліну.

Таким чином, можна сказати, що методика ідентифікації та кількісного визначення гліцину з тіотриазоліном в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

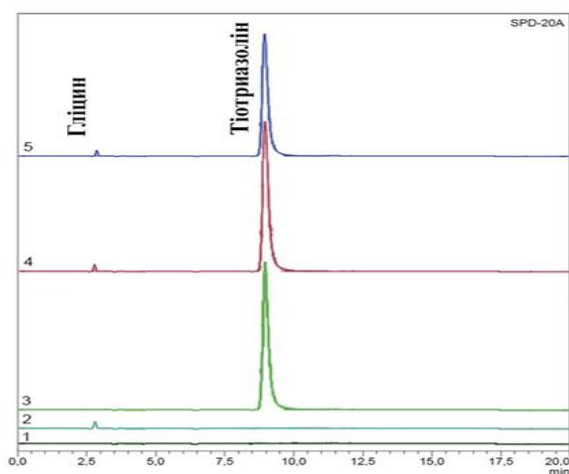


Рис. 8 Хроматограми розчинів: 1 – розчин «плацебо», 2 – модельний розчин препарату з гліцином, 3 – модельний розчин препарату з тіотриазоліном, 4 – випробуваний розчин препарату, 5 – розчин порівняння гліцину та тіотриазоліну

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій гліцину та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення. Графік лінійної залежності представлений на рис. 9 та 10, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 7 та 8.

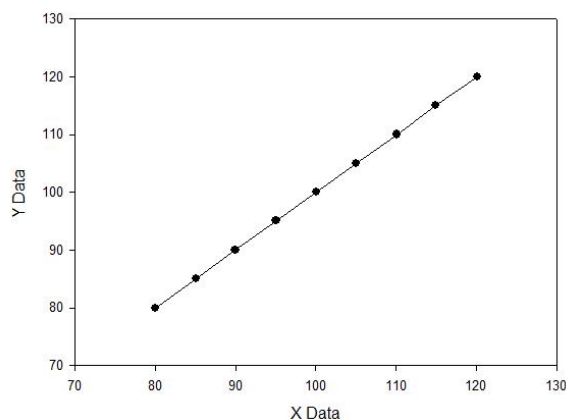


Рис. 9 Лінійна залежність знайденої концентрації гліцину від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

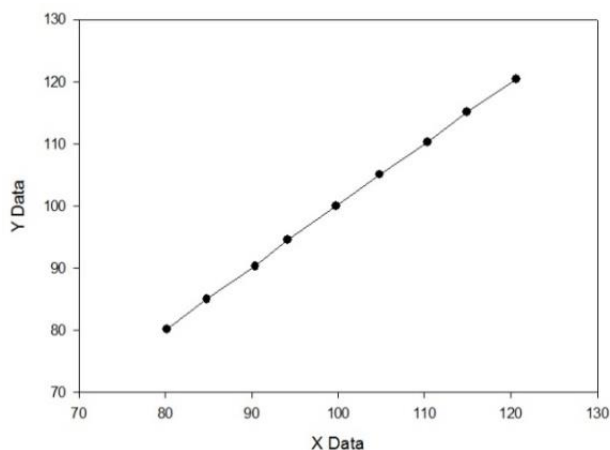


Рис. 10 Лінійна залежність знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

З представлених в таблицях даних видно, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту $\pm 5\%$.

Таблиця 7

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації гліцину від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0012			
S _b	0,0021			
a	-0,1446	$\leq 0,24 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 1 критерієм
S _a	0,2116			
SD ₀	0,0813			
SD ₀ /b	0,08120	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Правильність та збіжність методики була перевірена методом «введено-знайдено».

Таблиця 8

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0067			
S _b	0,0103			
a	-0,5328	$\leq 0,66 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	1,0346			
SD ₀	0,3984			
SD ₀ /b	0,3957	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	0,99993	$> 0,99810 $		Виконуються

Таблиця 9

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

№ Роз-чину	Наважка гліцину, г ($m_{st} = 0,2000$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 19316$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	2	3	4	5	6
1	0,1600	80,04	15450	79,97	99,91
2	0,1701	85,07	16414	84,96	99,87
3	0,1799	89,96	17387	90,00	100,04
4	0,1901	95,06	18361	95,04	99,98
5	0,2000	100,02	19335	100,08	100,06
6	0,2099	104,99	20274	104,94	99,95
7	0,2201	110,09	21253	110,008	99,93
8	0,2298	114,93	22227	115,05	100,10
9	0,2402	120,11	23189	120,03	99,93
Середнє, $Z_{ср}$, % =					99,97
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % =					0,08
Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 1) \times RSD_z = 1.86 \times 0.10 =$					0,14
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка $\delta \% = Z_{ср} - 100 =$					0,02
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.14/3 = 0.05 \% > 0.02 \%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$:					Виконується
2) практична незначущість: $\delta \% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51 \% > 0.02 \%$					Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

Результати кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 9 та 10.

З даних, наведених в табл. 9 та 10, виходить, що методика кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною. Як свідчать дані, наведені в табл. 11 і 12, в діапазоні концентрацій гліцину та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінальної концентрації методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

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

№ Розчину	Наважка тіотриазоліну, г ($m_{st} = 0,0500$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 323067$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,0401	80,2	258808	80,11	99,89
2	0,0424	84,8	274380	84,93	100,15
3	0,0452	90,4	291567	90,25	99,83
4	0,0471	94,2	305362	94,52	100,34
5	0,0499	99,8	322776	99,91	100,11
6	0,0524	104,8	339284	105,02	100,21
7	0,0552	110,4	356084	110,22	99,84
8	0,0575	114,9	371979	115,14	100,21
9	0,0603	120,6	389101	120,44	99,87
Середнє, Z_{cp} , % =					100,05
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % =					0,19
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 2) \times RSD_z = 1,89 \times 0,19 =$					0,37
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$					0,05
Критерій незначущості систематичної похибки:					
1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,37 : 3 = 0,12\% > 0,05\%$					Виконується
Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$:					Виконується
2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51\% > 0,05\%$					Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

Була розроблена специфікація на отримані таблетки гліцину з тіотриазоліном. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, супровідні домішки, розчинення, кількісне визначення та мікробіологічна чистота. Також було проведено дослідження стабільності створених таблеток гліцину з тіотриазоліном. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

Розроблені комбіновані таблетки «Гліцитрил» включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків».

У розділі 5 «Розробка оптимального складу, технології виробництва та стандартизація таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом» наведено дані досліджень щодо розробки складу, технології та стандартизації нового лікарського засобу на основі ГАМК та морфолінію тіазотату у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. Для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин нами були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ГАМК з тіотриазоліном, які показали, що між діючими речовинами не виникають стійкі ковалентні зв'язки, а тільки водневі, це дає можливість комбінування ГАМК та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток. Для підтвердження та усунування ризиків фізичної взаємодії між діючими речовинами були проведені термогравіметричні дослідження та встановлено, що суміш ГАМК і тіотриазоліну є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою, що дає нам можливість комбінувати їх в одній лікарській формі. Проведені дослідження фізико-хімічних та фармако-технологічних показників субстанцій ГАМК та тіотриазоліну дозволили запропонувати можливість отримання таблеток методом вологої грануляції. Далі проводили дослідження щодо вибору допоміжних речовин для отримання таблеток ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції. ДР за технологічними ознаками згрупували в три групи: наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози; зв'язуючі розчини; змазуючі речовини. Всього 12 ДР. Для вивчення трьох факторів, кожен з яких взятий на чотирьох рівнях, використовували латинський квадрат третього порядку. Вивчали вплив природи ДР на зовнішній вигляд таблеток, однорідність їх маси, стиранність, час розпадання та стійкість до роздавлювання. Серед вивчених зразків наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози найкращим раціонально вважати – МКЦ 301, за допомогою якої забезпечується найкраща однорідність маси, стійкість до роздавлювання та стираність таблеток. Із зразків зв'язуючих речовин найкращі фармако-технологічні показники таблеток забезпечувались за допомогою 3 % розчину МЦ 100, за допомогою якого забезпечується найкращі зовнішній вигляд, стійкість до роздавлювання таблеток; із зразків змазуючих речовин – магнію стеарат, за допомогою якого забезпечуються найкращі зовнішній вигляд, однорідність маси та час розпадання таблеток.

Далі для відібраних кращих ДР необхідно встановити оптимальне співвідношення в таблетках ГАМК з тіотриазоліном. Раціонально було дослідити вплив концентрації розчину МЦ 100, кількості магнію стеарату в складі таблеток та їх середню масу. В якості наповнювача використовували МКЦ 301, яку вводили до складу таблеток в різних кількостях в залежності від їх середньої маси та кількості магнію стеарату. Для вивчення трьох кількісних факторів використовували дробний факторний експеримент типу 2^{3-1} . За основу був взятий повний факторний експеримент 2^2 з побудовою матриці для 2-х факторів, а для третього фактора використали генеруюче відношення $x_3 = x_1x_2$.

Вивчали вплив ДР на однорідність в масі, стійкість до роздавлювання, стиранність та час розпадання таблеток. В результаті проведених досліджень запропоновано оптимальний склад таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном. Далі нами були проведені дослідження із створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном. В якості плівкоутворюючих композицій використовували готові суміші торгової марки OPADRY. При нанесенні оболонки використовували установку для нанесення плівкоутворюючого покриття Glatt, об'єм барабану 0,8 л, маса завантаження 400 г. Таблетки при обертанні в котлі прогривають до 40 °С. На таблетки-ядра наносили 3 % плівкоутворювача до досягнення середньої маси таблеток 0,3605 г.

Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання. Аналіз експериментальних результатів показав, що найкращою плівкоутворюючою системою для нанесення покриття є «OPADRY® II Complete film coating system 85F18422 White».

В результаті проведених досліджень було встановлено оптимальний склад таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом, які покриті плівковим покриттям, які за фармако-технологічними показниками відповідають вимогам ДФУ: ГАМК – 0,200 г; морфолінію тіазотат – 0,050 г; МКЦ 301 – 0,0965 г; магнію стеарат – 0,0035 г; 3% р-н МЦ 100 – Qs; OPADRY® II 85F18422 White – Qs. Середня маса таблетки – 0,3605 г.

В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції, яку апробовано на базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП "ДНЦЛЗ" та в промислових умовах на базі ПрАТ "Лекхім-Харків".

Для стандартизації діючих речовин у новому комбінованому лікарському засобі на основі ГАМК з морфолінію тіазотатом був запропонований метод ВЕРХ. Нами були розроблені методики одночасного визначення вмісту амінокислот (гліцин, L-аргінін) та тіотриазоліну шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти, тому для визначення ГАМК з тіотриазоліном ми використовували саме цю методику.

Приклади хроматограм випробуваного розчину таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом та розчину порівняння наведено на рис. 11.

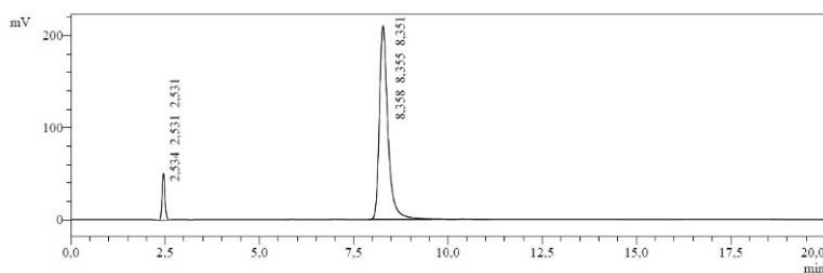


Рис. 11 Хроматограма випробуваного розчину таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом

Приклад хроматограми розчину порівняння ГАМК з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 12.

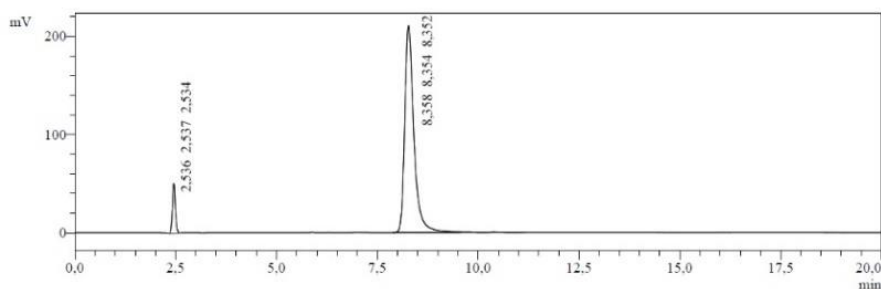


Рис. 12 Хроматограма розчину порівняння ГАМК з морфолінію тіазотатом

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 11. З наведених в таблиці даних видно, що в досліджених серіях вміст ГАМК становив від 197,58 мг до 202,28 мг, морфолінію тіазотату - від 48,53 мг до 51,34 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст ГАМК - 200 мг \pm 7,5%, морфолінію тіазотату - 50 мг \pm 10%.

Таблиця 11

Результати кількісного визначення ГАМК та морфолінію тіазотату в таблетках методом ВЕРХ

Зразок	Наважка таблеток	ГАМК			Морфолінію тіазотат		
		Середня площа, S, mV*sec	Знайдено в мг	Статистика	Середня площа, S, mV*sec	Знайдено в мг	Статистика
№ 1	350,1	261229	197,58	$\bar{x} = 200,00$ $S_x = 1,57$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 3,17$ $\bar{\Delta x} = 1,30$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 200,00 \pm 1,30$ $e_{\bar{x}} = 1,64\%$	3259633	48,53	$\bar{x} = 49,96$ $S_x = 1,03$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 2,09$ $\bar{\Delta x} = 0,86$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 49,96 \pm 0,86$ $e_{\bar{x}} = 1,71\%$
№ 2	349,9	263776	199,62		3446404	51,34	
№ 3	350,0	264551	200,15		3414486	50,85	
№ 4	350,2	265734	200,93		3302892	49,16	
№ 5	349,8	267214	202,28		3346767	49,87	
№ 6	350,2	263790	199,46		3361314	50,03	
Розчин порівняння	РСЗ ГАМК 199,8 РСЗ морфолінію тіазотату 50,02	264036			3358753		

Для того, щоб аналітична методика зайняла гідне місце в системі забезпечення якості, сприяла своєму призначенню, тобто гарантувала достовірні та точні результати аналізу, передбачена процедура валідації

аналітичних методик. Валідацію методик ідентифікації та кількісного визначення таблеток з ГАМК та тіотриазоліном проводили за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність. Специфічність методик ідентифікації та кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну продемонстрована на рис. 13.

На хроматограмах випробуваного розчину та розчину порівняння ГАМК з тіотриазоліном спостерігається повне розділення піків ГАМК та тіотриазоліну. Отже, методика ідентифікації та кількісного визначення ГАМК з тіотриазоліном в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

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

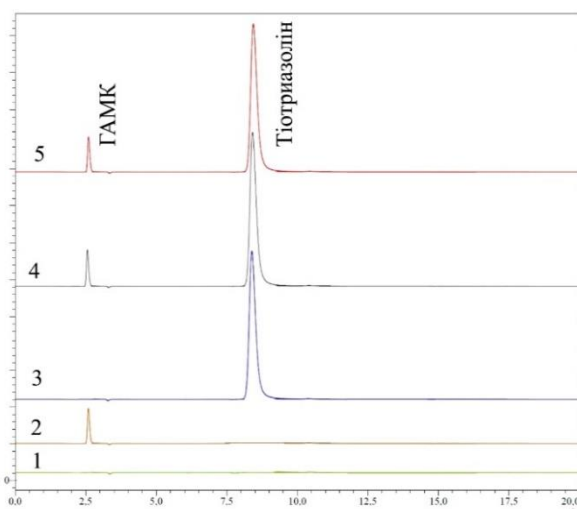


Рис. 13 Хроматограми розчинів: 1 – розчин «плацебо», 2 – модельний розчин препарату з ГАМК, 3 – модельний розчин препарату з тіотриазоліном, 4 – випробуваний розчин препарату, 5 – розчин порівняння ГАМК та тіотриазоліну

Графіки лінійної залежності представлено на рис. 14, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 12 та 13.

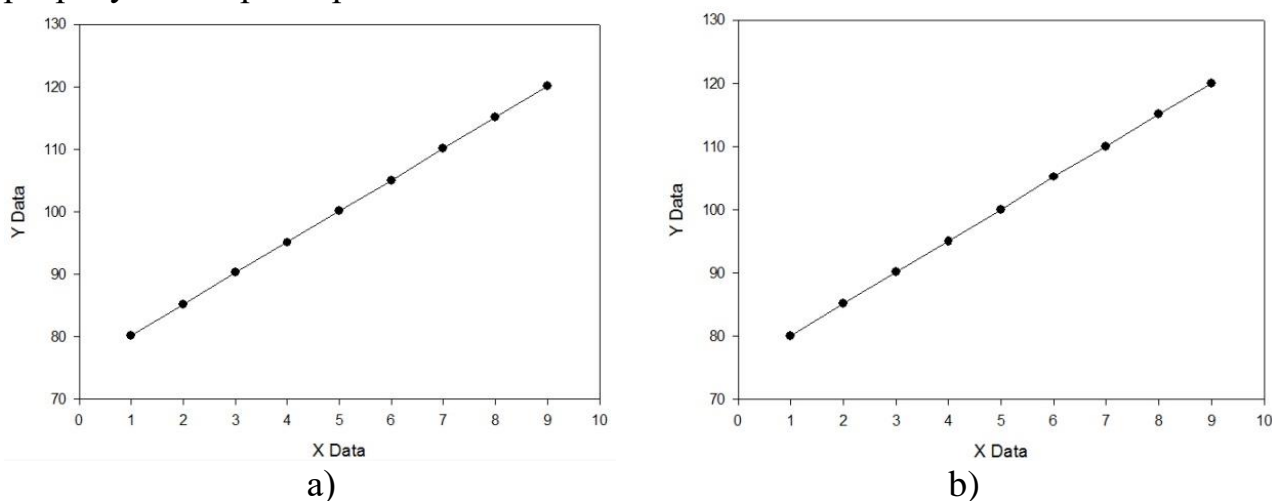


Рис. 14 Лінійна залежність знайденої концентрації ГАМК (а) тіотриазоліну (б) від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

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

Таблиця 12

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації ГАМК від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	0,9965			
S _b	0,0030			
a	0,4059	$\leq 0,24 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	0,3023			
SD ₀	0,1155			
SD ₀ /b	0,1159	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Правильність та збіжність методики була перевірена методом «введено-знайдено». Результати кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 14 та 15.

З даних, наведених в табл. 14 та 15, виходить, що методика кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Таблиця 13

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	0,9990			
S _b	0,0029			
a	0,1631	$\leq 0,66 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	0,2932			
SD ₀	0,1111			
SD ₀ /b	0,1112	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Як свідчать дані, наведені в табл. 14 і 15, в діапазоні концентрацій ГАМК та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінальної концентрації методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

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

№ розчину	Наважка ГАМК, г ($m_{st} = 0,2000$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 52296$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,1597	79,86	41858	80,04	100,23
2	0,1699	84,96	44478	85,05	100,11
3	0,1802	90,12	47176	90,21	100,10
4	0,1903	95,15	49692	95,02	99,86
5	0,2001	100,05	52343	100,09	100,04
6	0,2095	104,79	54906	104,99	100,19
7	0,219	109,95	57594	110,13	100,16
8	0,2302	115,14	60177	115,07	99,94
9	0,2403	120,18	62813	120,11	99,94
Середнє, Z_{cp} , % =					100,06
Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % =					0,13
Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.13 =$					0,24
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка $\delta \% = Z_{cp} - 100 =$					0,06
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.24/3 = 0.08 \% > 0.06 \%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta \% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51 \% > 0.06 \%$					Виконується Виконується
Загальний висновок про методика					КОРЕКТНА

Була розроблена специфікація на отримані таблетки ГАМК з тіотриазоліном. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, супровідні домішки, розчинення, кількісне визначення та мікробіологічна чистота. Також було проведено дослідження стабільності створених таблеток ГАМК з тіотриазоліном. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

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

№ Роз-чину	Наважка тіотриазоліну, г ($m_{st} = 0,0500$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 659681$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,03997	79,95	528206	80,07	100,15
2	0,04253	85,07	561520	85,12	100,06
3	0,04504	90,09	594768	90,16	100,08
4	0,04748	94,97	627158	95,07	100,11
5	0,04998	99,96	659944	100,04	100,08
6	0,05259	105,19	692928	105,04	99,86
7	0,05494	109,89	726176	110,08	100,17
8	0,05755	115,11	758765	115,02	99,92
9	0,05995	119,91	792013	120,06	100,13
Середнє, Z_{cp} , % =					100,06
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % =					0,10
Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 2) \times RSD_z = 1,89 \times 0,10 =$					0,19
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка $\delta \% = Z_{cp} - 100 =$					0,06
Критерій незначущості систематичної похибки:					
1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,19 : 3 = 0,17 \% > 0,06\%$					Виконується
Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$:					
2) практична незначущість: $\delta \% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51 \% > 0,06\%$					Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

У розділі 6 «Дослідження фармакологічної активності» наведені результати вивчення кардіопротективної і ендотеліопротективної дії, антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів дії нового комбінованого лікарського засобу на основі L-аргініну з тіотриазоліном, вуглеводно-енергетичних процесів та окисного метаболізму в умовах моделювання гострого порушення мозкового кровообігу нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину з тіотриазоліном, корекції когнітивної дисфункції нового комбінованого лікарського засобу на основі ГАМК з тіотриазоліном.

Дослідження проводили на базі навчального медико-лабораторного центру (керівник – професор Абрамов А. В.), а також на кафедрі фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри професор Беленічев І. Ф.). В ході проведених досліджень встановлено, що Аргітрил достовірно перевершує референс-препарат Тівортін за впливом на досліджувані показники антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної і протиішемічної дії; комбінація гліцину з тіотриазоліном за ступенем впливу на показники енергетичного метаболізму головного мозку перевершувала референс-препарати пірацетам і гліцин; комбінований засіб ГАМК з тіотриазоліном забезпечує більш високу активність у порівнянні з відомими засобами щодо корекції когнітивних розладів після кетамінової анестезії.

Базуючись на дослідженнях, що проведені при виконанні дисертаційної роботи, запропоновано комплексну цитопротективну терапію, яка включає в себе комбіноване застосування тіотриазоліну та L-аргініну у вагітних жінок. Даний метод впроваджений у систему охорони здоров'я.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукової проблеми, що полягає у розробці складу, технології, методик стандартизації та дослідженні фармакологічних властивостей нових комбінованих засобів для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно.

1. Проведений аналіз джерел літератури у світлі новітніх уявлень щодо сучасного стану медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну, методичних підходів до розробки таблетованих лікарських засобів, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі комбінацій антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот з метою оптимізації лікування хвороб ЦНС. Досліджено ринок лікарських засобів України з групи амінокислот, що впливають на метаболічні процеси.

2. Проведеними квантово-хімічними розрахунками показана відсутність утворення стійких ковалентних зв'язків між речовинами у сумішах тіотриазоліну та L-аргініну, тіотриазоліну та гліцину, тіотриазоліну та ГАМК, а термогравіметричними дослідженнями доведена можливість комбінування тіотриазоліну та L-аргініну, тіотриазоліну та гліцину або тіотриазоліну та ГАМК у твердій лікарській формі, такій, як таблетки.

3. Запропонований методологічний підхід щодо математичного планування експериментальних досліджень за вибором допоміжних речовин для таблеток-ядер з вмістом похідних 1,2,4-триазолу та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК. За результатами дисперсійного аналізу складено ранжовані ряди переваг, що

дозволили оптимально обрати допоміжні речовини та запропонувати склад таблеток розроблених комбінованих засобів «Аргітрил», «Гліцитрил», та «Тіогамк».

4. Проведеними фармакологічними дослідженнями визначено оптимальні співвідношення тіотриазоліну та гліцину, тіотриазоліну та L-аргініну або тіотриазоліну та ГАМК в одиниці лікарської форми як 1:4, а методом математичного планування, морфометричними та фармако-технологічними дослідженнями вивчено форму кристалів та встановлено розміри часток порошків діючих речовин, здійснений вибір допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, регулятори вологи та зв'язуючі), плівкоутворюючих систем на основі ПВС для нанесення на таблетки-ядра та розроблений склад таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк».

5. Запропоновано технологічні схеми та розроблено технології одержання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном та ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції, гліцину з тіотриазоліном – методом прямого пресування, які відпрацьовано в умовах заводу-виробника ДП «ДНЦЛЗ» та впроваджено у технологічний процес лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» та у систему контролю якості лабораторії таблетованих лікарських форм ПрАП «Лекхім».

6. Розроблено методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК в модельних сумішах, таблеткових масах та розроблених таблетках «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» методом ВЕРХ. Здійснено валідацію методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК методом ВЕРХ в розроблених таблетках. За результатами валідації доведена прийнятність методик для вирішення питань стандартизації розроблених таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк».

7. За розробленими методиками ВЕРХ та ТШХ, а також фармако-технологічними дослідженнями здійснено стандартизацію таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк». Для визначення якості розроблених таблеток за методиками ДФУ та розробленими методиками здійснено оцінку їх зовнішнього вигляду, проведено ідентифікацію, визначено кількісний вміст діючих речовин, мікробіологічну чистоту та вміст супровідних домішок, проведено тести «розчинення» та «розпадання». За результатами проведених досліджень розроблено специфікації та проекти МКЯ, а розроблені таблетки «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» визначено відповідними вимогам ДФУ. Досліджено стабільність таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» в процесі зберігання та встановлено термін і умови їх придатності – 2 роки за температури 25 ± 2 C° і відносній вологості 60 ± 5 %.

8. Проведені дослідження фармакологічної активності розроблених засобів «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк». Встановлено, що комбінація L-аргініну з тіотриазоліном достовірно перевершує референс-препарат Тівортін

за впливом на досліджувані показники антиоксидантної, енерготропної і NO-модулюючої, кардіопротективної і протиішемичної дії; комбінація гліцину з тіотриазоліном за ступенем впливу на показники нейропротективної, протиішемичної, енерготропної дії перевершує референс-препарати Пірацетам і Гліцин; комбінація ГАМК з тіотриазоліном за силою ноотропної, антиамнестичної та анксиолітичної дії перевершує референс-препарат Пірацетам.

9. Розроблені комбіновані засоби «Аргітрил» та «Гліцитрил» в таблетках включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків». Результати наукових досліджень впроваджені в науково-педагогічні процеси ряду кафедр вищих навчальних закладів України. Наукову новизну досліджень захищено патентом України на винахід № 110597 «Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії» від 12.01.2016 р. та патентом України на винахід № 114270 «Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції» від 10.05.2017 р.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 5. С. 616-620. (Особистий внесок: планування експерименту, обробка отриманих результатів, оформлення статті).

2. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 1. С. 108-112. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).

3. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, О. В. Хромылева. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 54-60. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, проведення морфометричних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

4. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).

5. Theoretical study of the possibility of glycin with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko, O. V. Khromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina.

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

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

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

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

9. Хромилева О. В. Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином, полученных методом влажной грануляции. *Рецепт*. 2018. Т. 21, № 4. С. 516-524.

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

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

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

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

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

15. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густину, насипну густину після усадки, текучість і кут природного укусу порошкових мас гліцину з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, З. Б. Моряк. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 1. С. 98-104 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198182>. *(Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).*

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

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

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

19. Валідація методики кількісного визначення діючих речовин в таблетках «Аргітріл» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко,

С. О. Борсук. *The scientific heritage*. 2020. No. 51-2. P. 59-64. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

20. Дериватографічні дослідження Гамма-аміномасляної кислоти, тіотриазоліну та суміші Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. П. Лисянська, І. В. Павлюк. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 1. No. 47. P. 39-42. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

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

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

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

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

Патенти

1. Пат. на винахід № 110597 Україна, МПК (2015.01) А61К 31/198 (2006.01), А61К 9/00. Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії / І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, В. Г. Сюсюка ; патентовласник ТОВ «Науково-виробниче об'єднання «Фарматрон». № а 2015063887; заявл. 30.06.2015 ; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1. (Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту).

2. Пат. на винахід №114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова. № а201612503 ; заявл. 08.12.2016 ; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9. (*Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту*).

Тези доповідей

1. Фармакологические портреты препаратов, разработанных в НПО «Фарматрон» в галерее инновационных лекарственных средств / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, О. В. Хромылева, Е. А. Нагорная. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 76-77.

2. Щодо доцільності створення нового комбінованого лікарського препарату для лікування захворювань центральної нервової системи / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 376-377.

3. Стратегія розробки нових фіксованих комбінованих лікарських засобів нейропротективної дії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 126.

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

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

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

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

8. Деякі аспекти нейропротективної дії фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном / І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко,

І. А. Мазур. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 7-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 255-256.

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

10. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Щодо технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакоterapiї і призначення лікарських засобів* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. (14-15 березня 2019 р.). Харків, 2019. С. 160.

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

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

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

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

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

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

17. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Беленічев І. Ф. Створення нового комбінованого лікарського засобу на основі гамма-аміномасляної кислоти та

морфолінія тіазотату. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. Харків, 2020. С. 283.

Інформаційний лист

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

АНОТАЦІЯ

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

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

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукової проблеми, що полягає у розробці складу, технології, методик стандартизації та дослідженні фармакологічних властивостей нових комбінованих засобів для лікування судинних захворювань головного мозку з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК.

Розроблено склад, технологію, технологічні схеми отримання нових комбінованих таблеток під умовними назвами "Аргітрил", "Гліцитрил" та "Тіогамк". На отримані таблетки розроблено методики стандартизації діючих речовин в модельних сумішах, таблеткових масах. Розроблені та валідовані методики визначення діючих речовин методом ВЕРХ, специфікації та проєкти МКЯ на отримані комбіновані таблетки. Досліджено стабільність таблеток «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в процесі зберігання та встановлено термін і умови їх придатності – 2 роки в відповідних умовах.

Проведені дослідження фармакологічної активності розроблених лікарських засобів. Встановлено, що «Аргітрил», «Гліцитрил», «Тіогамк» достовірно перевершують референс-препарати за впливом на досліджувані показники.

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

АННОТАЦИЯ

ХРОМЫЛЕВА О.В. Разработка и стандартизация фиксированных комбинированных нейрометаболитотропных церебропротекторов на основе комбинаций производных 1,2,4-триазола с алифатическими трансмитерными аминокислотами. – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора фармацевтических наук по специальности 15.00.03 – стандартизация и организация производства лекарственных средств. – Национальный фармацевтический университет МОЗ Украины, Харьков, 2021.

Диссертация посвящена решению научной проблемы, заключающейся в разработке склада, технологии, методик стандартизации и исследовании фармакологических свойств новых комбинированных средств для лечения сосудистых заболеваний головного мозга с фиксированным содержанием тиотриазолина и алифатических нейротрансмитерных аминокислот – L-аргинина, глицина и ГАМК.

Разработан состав, технология, технологические схемы получения новых комбинированных таблеток под условными названиями "Аргитрил", "Глицитрил" и "Тиогамк". На полученные таблетки разработаны методики стандартизации действующих веществ в модельных смесях, таблеточных массах. Разработаны и валидированы методики определения действующих веществ в комбинированных таблетках методом ВЭЖХ, спецификации и проекты МКК на полученные комбинированные таблетки. Исследована стабильность таблеток «Аргитрил», «Глицитрил» и «Тиогамк» в процессе хранения и установлен срок и условия их хранения - 2 года в соответствующих условиях.

Проведены исследования фармакологической активности разработанных лекарственных средств. Установлено, что «Аргитрил», «Глицитрил», «Тиогамк» достоверно превосходят референс-препараты по влиянию на исследуемые показатели.

Ключевые слова: нейротрансмитерные аминокислоты, L-аргинин, глицин, гамма-аминомасляная кислота, тиотриазолин, таблетки, ВЭЖХ, прямое прессование, влажная грануляция, математическое планирование эксперимента, стандартизация, нейропротекторы, сосудистые заболевания мозга, инсульт

SUMMARY

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

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

The thesis is devoted to solving scientific problems consisting in the development of the composition, technology, methods of standardization and studies of the pharmacological properties of new combined drugs for the treatment of vascular diseases of the brain – " Argitryl", "Glycitryl" and "Tiogamk" in pills with fixed content of Thiotriazoline and aliphatic neurotransmitter amino acids – L-arginine, glycine and GABA, respectively.

Firstly, we carried out the analysis of literature sources within the meaning of the latest ideas about the current state of medical use of neurotransmitter amino acids and thiotriazoline, methodological approaches to the development of tablet drugs, as well as prospects for the use of drugs based on combinations of antioxidants and neurotransmitters. The Ukrainian drug market regarding the group of amino acids, which influence metabolic processes, has been studied.

Then, quantum chemical calculations and derivatographic studies were carried out, which showed the possibility of combining active substances in one medicinal form in tablets. The carried out pharmacological studies determined the optimal ratios of thiotriazoline and glycine, thiotriazoline and L-arginine or thiotriazoline and GABA in the unit dosage form as 1:4. Also by the method of mathematical planning, morphometric and pharmaco-technological methods we have studied the shape of crystals and set the particle sizes of the active substances powders, made a choice of excipients (fillers, disintegrants, moisture regulators and binders), film-forming systems based on PVA for application on nuclear tablets and developed the composition of tablets "Glycitryl", "Argitryl" and "Tiogamk".

In the course of the conducted complex studies we have developed the technology, methods of standardization and studied the pharmacological aspects of new combined drugs under the conditional names "Argitryl", " Glycitryl " and "Tiogamk" for the treatment of vascular diseases, which include such active substances as transmitter amino acids – L-arginine, glycine, gamma-aminobutyric acid and 1,2,4-triazole-thiotriazoline derivative.

Technological schemes of production have been developed for the new combined drugs, which have been tested and implemented in the technological process on the basis of the laboratory of phytochemistry and technology of finished pharmaceutical products of the State Enterprise "State Scientific Centre on Medicines and Medicinal Products" and tested under production-line conditions on the basis of Private Joint Stock Company "Lekhim-Kharkiv".

We have developed the standardization methods of active substances in model mixtures, tablet masses and developed tablets "Argitryl", " Glycitryl " and "Tiohamk" by HPLC method, which have been tested and implemented in the technological process on the basis of Private Joint Stock Company "Lekhim-Kharkiv". Also the validation of determination methods of active substances was carried out by HPLC on the following indicators: specificity, linearity, range of application, accuracy and precision (convergence).

To determine the quality of the developed tablets according to the methods of SPU and the developed methods, their appearance was evaluated, identification was carried out, the quantitative content of active substances, microbiological purity and the content of accompanying impurities were determined, dissolution and disintegration tests were carried out. Based on the results of the carried out studies, the specifications and quality control method projects were developed, and the developed tablets "Argitryl", "Glycitryl" and "Tiohamk" were determined to meet the relevant requirements of the SPU. The stability of tablets "Glycitryl", "Argitryl" and "Tiohamk" in the process of storage was studied, and the storage terms and conditions were established – 2 years at a temperature of $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ and relative humidity $60\pm 5\%$.

Studies of the pharmacological activity of the developed drugs have been carried out. It was found that the combination of L-arginine with thiotriazoline significantly exceeds the reference drug Tivortin in terms of the effect on the studied indicators of antioxidant, energy-stimulating and NO-modulating, cardioprotective and anti-ischemic action; the combination of glycine with thiotriazoline in the degree of influence on the indicators of neuroprotective, anti-ischemic, energetic action was superior to the reference drugs piracetam and glycine; combined GABA with thiotriazoline by nootropic, anti-amnesic, anxiolytic action exceeds piracetam.

Based on the studies conducted during the thesis paper, a complex cytoprotective therapy was proposed, which includes the combined use of thiotriazoline and L-arginine. This method is introduced into the health care system in accordance with the Information sheet on innovations in the field of health care No.161-2020: "Method of complex, cytoprotective therapy of pregnant women with fetal growth retardation".

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

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт
ГАМК	– гамма-аміномасляна кислота
ВЕРХ	– високоефективна рідинна хроматографія
ВООЗ	– Всесвітня організація охорони здоров'я
ГПМЦ	– гідроксипропілметилцелюлоза
ДФУ	– Державна Фармакопея України
МКЯ	– методи контролю якості
ДР	– допоміжні речовини
МОЗ	– Міністерство охорони здоров'я України
МЦ	– метилцелюлоза
ПВП	– полівінілпіролідон
ХСН	– хронічна серцева недостатність
АФК	– активні форми кисню
NMDA	– N-метил-D-аспартат
ЕД	– ендотеліальна дисфункція
ЦНС	– центральна нервова система
ПВС	– полівініловий спирт
ТШХ	– тонкошарова хроматографія

Підписано до друку 15.03.2021. Гарнітура Times New Roman
Папір друкарський. Формат 60×90 1/16. Умовн. друк. арк. 1,83
Наклад – 100 прим. Замовлення № 9110.
Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету 69035
м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.