

## АНОТАЦІЯ

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

На кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ були виготовлені шість серій очних крапель «Ангіолін», використовували субстанцію ангіолін та робочий стандартний зразок, як допоміжні речовини використовували метилцелюлозу, натрію хлорид, воду очищену. Для проведення дослідження були підібрані наступні умови: рідинний хроматограф з УФ детектором; колонка «Hypersil ODS C-18 250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм.

Для збільшення числа теоретичних тарілок використовували

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

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

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

стандартизації, а саме: методом спектрофотометрії, методом Фольгарда та високоефективної рідинної хроматографії очних крапель «Ангіолін». Після проведення валідації розроблених методик визначення кількісного вмісту діючої та допоміжної речовини в очних краплях «Ангіолін» всі показники відповідали вимогам ДФУ.

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

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

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

ангіоліну при моделюванні катаракти. Вивчено ефективність 1% очних крапель Ангіолін в умовах моделювання катаракти.

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

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

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ:

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

2. Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of Angiolin in Cataract Modeling / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, R. R. Akopyan, E. A. Portnaya. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2019. Vol. 6, N 1. P. 113–120. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

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

4. Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель Ангіолін / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, Р. Р. Акопян, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 1 (35). С. 52–55. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

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

матеріалів наук.-практ. конф. (9 груд. 2017 р. Запоріжжя). Запоріжжя, 2017. С. 18–20.

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

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

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

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

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

11. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Фармакоекономічний аналіз лікарських засобів для лікування катаракти. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали V міжнар.



наук.-практ. конф., (12-13 бер. 2020 р., Харків). Харків, 2020. Т. 2. С. 353. *(Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).*

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

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

14. Кучеренко Л. И., Акопян Р. Р. Перспективность создания нового офтальмологического средства для лечения ожогов глаз и катаракты. *Modern science: Problems and innovations: abstracts of 6th International scientific and practical conference (August 23-25, 2020)*. Stockholm, SSPG Publish, 2020. P. 119–120. *(Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).*

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

16. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р., Павлюк І. В. Щодо розробки методики стандартизації очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення*

*лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 вер. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 147–148. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

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

18. Кучеренко Л. І., Акоюн Р. Р., Хромильова О. В. Щодо підбору оптимальних умов визначення очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії. *Results of modern scientific research and development* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. конф., 28-30 черв. 2021 р. Мадрид, 2021. С. 96–98. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

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