

## АНОТАЦІЯ

Доброва А. О. Дослідження хімічної взаємодії та розробка методик контролю якості лікарських препаратів з доксицикліном та амоксициліном. –

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

У дисертаційній роботі висвітлено питання хімічної взаємодії доксицикліну та амоксициліну із солями металів, що входять до складу мінеральних, столових вод та антацидів, розробки методик контролю якості доксицикліну, а також амоксициліну у його комбінованих лікарських формах із клавулановою кислотою.

Із постійним розширенням фармацевтичного ринку зростає кількість лікарських засобів, відповідно ще більшої актуальності набуває питання поліпрагмазії. Одночасний прийом декількох лікарських засобів може викликати зниження ефективності, побічні реакції чи неочікувані ефекти. Саме тому вивчення лікарських взаємодій є важливим. Такі дослідження можна виконувати як *in vivo*, так і *in vitro*. З іншого боку, результати хімічних та/або фізико-хімічних експериментів (*in vitro*) дозволяють оцінювати доцільність *in vivo* дослідження, коли вони є вкрай необхідними, а коли ними можна знехтувати.

Катіони кальцію, магнію, алюмінію містяться в антацидних лікарських засобах, дієтичних добавках, входять до складу харчових продуктів та напоїв. Відомо, що доксициклін здатен утворювати комплекси метал-ліганд. Однак наявні дані довели, що структура комплексів, їхні властивості залежать від умов, у яких вони утворюються. Тому в нашому дослідженні було використано

доксидциклін, як модельну молекулу для вивчення процесів комплексоутворення із катіонами кальцію, магнію, заліза та алюмінію в заданих фіксованих умовах із подальшим перенесенням методик аналізу на молекулу амоксициліну.

У *першому* розділі здійснено аналіз наукових джерел щодо проблем взаємодії антибактеріальних лікарських засобів з іншими ЛЗ, іонами металів, їжею та напоями. У ході систематичного пошуку визначено й узагальнено дані щодо можливостей та особливостей застосування фізико-хімічних методів для дослідження питання взаємодії лікарських засобів з іонами металів.

У *другому* розділі обґрунтовано використані в дослідженні об'єкти та методи. У роботі використано сучасні хімічні та фізико-хімічні методи аналізу, з-поміж яких: спектрофотометрія у видимій та ультрафіолетовій областях (УФ), тест розчинення, електроімпедансна спектроскопія (ЕІС), тонкошарова хроматографія (ТШХ), високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ), високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), ультраефективна рідинна хроматографія (УЕРХ).

У *третьому* розділі висвітлено результати дослідження комплексоутворення доксицикліну та амоксициліну із солями металів методами спектрофотометрії в ультрафіолетовій та видимій областях спектра. Спектрофотометричне дослідження передбачало використання двох підходів – метод Джоба та метод стехіометричних співвідношень, що показали себе дієвими для аналізу сполук метал-ліганд. У рамках умов проведеного експерименту було визначено, що амоксицилін утворює комплексну сполуку із солями магнію у стехіометричному співвідношенні 1:1 у середовищі 0,1 М кислоти хлористоводневої.

Уперше для капсул доксицикліну й таблеток амоксициліну було проведено моделювання їх одночасного прийому із мінеральними/столовими водами та виявлено в тесті розчинення *in vitro* вплив катіонного складу

досліджуваних вод на розчинення і вивільнення діючої речовини. Для експерименту було обрано мінеральні та столові води, наявні у вільному доступі на ринку України, що містять найбільшу кількість катіонів лужноземельних металів. У відібраних зразках мінеральних/столових вод за допомогою потенціометричного титрування та з використанням рідинної хроматографії попередньо було визначено їхній точний катіонний склад.

У результаті експерименту виявлено взаємодію доксицикліну із мінеральними водами «Боржомі», «Єсентуки-17», «Трускавецька», «Карпатська джерельна» та газованим безалкогольним напоєм «Спрайт» у середовищі 0,1 М кислоти хлористоводневої. Розрахунок факторів подібності досліджуваних зразків показав, що профілі розчинення капсул доксицикліну у середовищі 0,1 М HCl із додаванням усіх вищезазначених зразків мінеральних/столових вод та напою не є подібними, у порівнянні із контрольним зразком. На практиці це означає, що одночасний прийом доксицикліну та вищезазначених мінеральних вод та напоїв є неприпустимим, оскільки може вплинути на ефективність лікарського засобу.

Моделювання одночасного прийому амоксициліну та мінеральних/столових вод показало, що у середовищі кислоти хлористоводневої із додаванням порції усіх досліджуваних зразків спостерігається значне зниження концентрації вивільненого з таблеток амоксициліну, у порівнянні із контрольним зразком. Концентрація амоксициліну при додаванні мінеральної води «Трускавецька» також знижується, проте в меншій мірі.

*Четвертий* розділ містить результати моделювання взаємодії доксицикліну з солями кальцію, магнію, заліза(III) та алюмінію в середовищі води очищеної з подальшим аналізом зразків методом електроімпедансної спектроскопії (EIS). Дієву модель було розроблено на прикладі вже відомого комплексоутворення доксицикліну з  $Fe^{3+}$ , яка дозволила провести як якісне, так

і кількісне оцінювання зазначеного процесу. Утворення комплексів спостерігається на змінах кривих Найквіста та Бода. Використання методу дозволило виявити стехіометричне співвідношення, у якому відбувається взаємодія, тобто ймовірну будову комплексних сполук доксицикліну із солями кальцію, магнію, заліза(III) та алюмінію. Результати засвідчили, що за співвідношення концентрацій 1:1 відбувається комплексоутворення ліганду та досліджуваних іонів. На основі значень молярної провідності було розраховано константи стабільності утворених комплексних сполук. Це дозволило кількісно оцінити утворення комплексів. Розраховані константи стабільності утворення комплексів розташовані в такому порядку:  $Al^{3+} (2,65) > Mg^{2+} (2,43) > Ca^{2+} (1,9)$ .

Розроблену модель дослідження було застосовано і для вивчення комплексів амоксициліну. У результаті проведення експериментального дослідження взаємодії амоксициліну із зазначеними солями методом електроімідансної спектроскопії було виявлено, що за співвідношення концентрацій 1:1 відбувається стійке утворення комплексу метал-ліганд із  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  та  $Al^{3+}$ , що підтверджується якісним аналізом і кількісними оцінками за допомогою констант стабільності.

Розраховані константи стабільності утворення комплексів амоксициліну засвідчують, що найбільш стійкі комплекси утворюються з солями заліза (3,57). Цей показник майже дорівнював відповідному показнику для алюмінію (3,48). Константи стабільності комплексів амоксициліну з солями магнію та кальцію дорівнювали 2,67 і 2,38 відповідно.

Згідно з даними літературних джерел, надто низькі значення констант стабільності (від негативних до 1) свідчать про те, що комплекс метал-ліганд не тільки розчиняється у воді, але й легко дисоціює на іон металу та ліганд. Отже, усі досліджувані комплексні сполуки демонструють доволі високу стабільність.

У *п'ятому* розділі проведено верифікацію методик для одночасної ідентифікації, кількісного визначення, визначення компонентів, визначення вмісту домішок та проведення тесту розчинення комбінованих таблеток амоксициліну та клавуланової кислоти, рекомендованих Британською фармакопеею. Верифіковані методики було перенесено в умови ультраефективної хроматографії для підвищення ефективності процесу аналізу. Для оптимізації методик до параметрів хроматографування було внесено деякі зміни. Модифіковані методики були валідовані. За результатами валідації вони відповідали всім відповідним критеріям: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, стабільність. Окрім того, було розраховано межі виявлення та кількісного визначення. УЕРХ-метод кількісного визначення дозволив зменшити тривалість аналізу з 15 хв до 7,5 хв. Для зіставлення ВЕРХ та УЕРХ-методів кількісного визначення комбінованих таблеток амоксициліну та клавуланової кислоти було здійснено порівняльне оцінювання на відповідність принципам «зеленої» хімії та статистичне оцінювання результатів визначення. З погляду екологічності, впливу на навколишнє середовище та персонал обидва методи є екологічні та безпечні. Статистичне оцінювання обох методів за допомогою регресійного методу Пассінга-Баблока довело відповідність отриманих результатів, тому ці методи можуть бути рекомендовані для аналізу комбінованих таблеток амоксициліну та клавуланової кислоти.

Ключові слова: доксициклін, амоксицилін, клавуланова кислота, лікарські взаємодії, комплекси металів, електроімпедансна спектроскопія

Список публікацій здобувача:

1. Добрава А. О., Матерієнко А. С., Головченко О. С., Георгіянц В. А. Біофармацевтичне дослідження взаємодії доксицикліну з мінеральними водами та напоями «*in vitro*». *Клінічна фармація*. 2017. № 3. С. 55-62. (Особистий внесок – виконання експериментальних досліджень, оброблення та аналіз результатів, участь у написанні статті).
2. Dobrova A., Golovchenko O., Georgiyants V. Verification of dissolution test for doxycycline hyclate in capsules to implement into the pharmacopoeial monograph. «*ScienceRise: Pharmaceutical Science*». 2018. № 1 (11). P. 16–20. (Особистий внесок – планування та проведення експериментальної частини, оброблення результатів, участь у написанні статті).
3. Добрава А. О., Попов О. С., Зупанець І. А., Георгіянц В. А. Аналіз сучасних підходів до попередження антимікробної резистентності: роль і місце фізико-хімічних методів досліджень *in vitro* та оцінки біоеквівалентності. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. №3(59). 2019. С. 16-24. (Особистий внесок – аналіз літературних джерел, оформлення матеріалів)
4. Dobrova A. O., Golovchenko O. S., Georgiyants V. A. Modelling and investigation of amoxicillin chemical interaction with mineral waters containing a significant amount of calcium and magnesium salts. *Pharmacia*. 2021. 68(1). P. 101-107. (**Scopus**) (Особистий внесок – планування та проведення експериментальної частини, оброблення та аналіз результатів, оформлення матеріалів)
5. Dobrova A., Golovchenko O., Bezruk I., Ivanauskas L., Georgiyants V. Simultaneous determination of amoxicillin and potassium clavulanate in combined medicinal forms: procedure transfer from HPLC to UPLC.

- Ces.slov.Farm.* 69 (4), 2020. P. 186-193. (**Scopus**) (Особистий внесок – планування експерименту, участь у проведенні експериментальної частини, оформлення та підготовка статті до друку)
6. Dobrova A., Antonenko Y., Golovchenko O., Harna N., Garna S., Georgiyants V. Development of the method for estimating complex formation using the electrochemical impedance spectroscopy on the example of the doxycycline and iron (III) interaction. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2021. № 1 (29), P. 31-38. (**Scopus**) (Особистий внесок – участь у плануванні експерименту, підготовка досліджуваних зразків, оброблення результатів, участь в оформленні статті до друку)
  7. Добрава А. О. Безрук І. В., Георгіянець В. А., Іванаускас Л., Головченко О. С. Спосіб визначення калію клавуланату та амоксициліну в складі комбінованих лікарських форм: пат. на корисну модель № 142575 Україна № u202000686; заявл. 05.02.2020; опубл. 10.06.2020, Бюл. № 11. (Особистий внесок – участь у патентному пошуку, планування та проведення експериментальної частини, оформлення матеріалів)
  8. Dobrova A., Golovchenko O., Georgiyants V. Study of doxycycline interaction with some mineral waters and drinks. «*ChemCYS 2018*» *Chemistry Conference for Young Scientists: Book of Abstracts* (February 21-23). Blankenberge, Belgium, 2018. P. 87.
  9. Dobrova A., Golovchenko O., Georgiyants V. Applying the comparative kinetics “Dissolution” test for studying possible doxycycline interaction. *The 8th International Conference on Pharmaceutical Sciences and Pharmacy Practice dedicated to the 80th anniversary of the Museum of History of Lithuanian Medicine and Pharmacy: Book of Abstracts*. Kaunas, Lithuania, 2017. P.59-60.

- 10.Доброва А. О. Головченко О. С., Георгиянц В. А., Саидов Н. Б. Перспективы изучения взаимодействия амоксициллина и клавулановой кислоты с солями металлов для обеспечения качественной терапевтической помощи. "Наука и инновация". Душанбе: «Сино». 2017. №3. С. 39-40.
- 11.Доброва А. О., Головченко О. С., Георгиянц В. А. Риск взаимодействия антибиотиков с компонентами минеральных вод. *Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике*: сб. мат. VI науч.-практ. конф. с междунар. участием. Алматы, 2017. С. 68-69.
- 12.Dobrova A. O. Golovchenko O. S., Georgiyants V. A. Amoxycillin and metal salts interaction study by UV- spectrophotometry methods. *Topical issues of new medicines development*: матеріали XXVI Міжнародної науково-практичної конференції молодих учених та студентів (10-12 квіт. 2019 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2019. С.66.
- 13.Bondareva A. Yu., Dobrova A. O., Golovchenko O. S., Georgiyants V. A. Modeling of dissolution kinetics of antibiotics with mineral waters. *Topical issues of new drugs development: Abstracts of XXV International Scientific And Practical Conference of Young Scientists and Student* (Kharkiv, April 18-20, 2018). Kharkiv: NUPh, 2018. P. 86-87.
- 14.Доброва А. О., Георгиянц В. А. Хімічне обґрунтування раціонального прийому препаратів амоксициліну. *ВМСО 2018*: Збірник матеріалів Буковинського міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих учених. БДМУ, Чернівці, 2018. С. 420.
- 15.Dobrova A., Golovchenko O., Georgiyants V. Experimental study of rational drug use. 34th Congress and international scientific-practical conference of the Lithuanian pharmaceutical association (19th of October). Book of abstracts. Vilnius, Lithuania. 2019. P. 12.



- 16.Доброва А. О., Антоненко Є. О., Георгіянц В. А. Перспективи використання імпедансної спектроскопії для дослідження взаємодії лікарських засобів із солями металів. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, м. Харків, 19-20 вересня 2019 р. : у 2 т. редкол. : А. А. Котвіцька та ін. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 361-362.
- 17.Доброва А. О., Головченко О. С., Георгіянц В. А. Перспективи методики ультра-високоєфективної рідинної хроматографії для кількісного визначення таблеток амоксициліну клавуланату. *Збірка тез всеукраїнської науково-практичної конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації»* ( до 50-річчя заснування ЗДМУ) (18-25 квітня, 30 травня 2018 р.). Запоріжжя, 2018. С. 150.
- 18.Dobrova A. O. Bezruk I. V., Georgiyants V. A., Ivanauskas L. Optimization of HPLC conditions for analysis of cations and anions in mineral waters for medicines interaction studies. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIII наук.-практ. конф., м. Харків, 17 трав. 2019 р. X. : НФаУ, 2019. С. 47.
- 19.Доброва А. О., Головченко О. С., Безрук І. В., Іванаускас Л., Георгіянц В. А. Верифікація тесту розчинення таблеток амоксициліну та клавуланової кислоти. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.-практ. конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. X. : НФаУ, 2020. С. 43.
- 20.Доброва А. О., Безрук І. В., Георгіянц В. А., Іванаускас Л. Реалізація методики тонкошарової хроматографії в умовах високоєфективної тонкошарової хроматографії для аналізу таблеток амоксициліну з клавуланатом. *Матеріали науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології, косметології та аромології»* (4 жовтня 2019 р., м. Одеса). 2019. с. 71.