

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ
КОМБІНАЦІЇ АЦЕТИЛСАЛЦИЛОВОЇ КИСЛОТИ ТА КЛОПІДОГРЕЛЮ
У ТВЕРДИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти 5 курсу,
групи 10804

напряму підготовки 22 «Охорона здоров'я»
спеціальності 226 «Фармація, промислова
фармація»

освітньої програми «Фармація»

Троцюк Анастасія Василівна

Керівники: завідувачка кафедри,

кандидатка хімічних наук,

доцентка Зайцева Галина Миколаївна

старша викладачка Лисенко Тетяна Анатоліївна

Рецензент: кандидатка хімічних наук,

доцентка Глушаченко Ольга Олександрівна

Київ – 2025

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. Статистика захворюваності на ішемічну хворобу серця	6
1.2. Етіологія та патогенез ішемічної хвороби серця	7
1.3. Лікарські засоби, що використовуються для лікування ішемічної хвороби серця	11
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	22
2.1. Вибір об'єкту дослідження	22
2.2. Матеріали та методи дослідження	23
2.3. Методики дослідження.....	25
2.3.1. Методи ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти	25
2.3.2. Методи ідентифікації клопідогрелю	26
2.3.3. Методи ідентифікації комбінації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю	28
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	34
3.1. Порівняльний аналіз валідаційних характеристик методик одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах.....	35
3.2. Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах.....	39
3.3. Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у таблетованих формах	41
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45
ДОДАТОК	49
SUMMARY	50

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

АСК – ацетилсаліцилова кислота

КП – клопідогрель

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ІХС – ішемічна хвороба серця

АГ – артеріальна гіпертензія

СН – серцева недостатність

АПФ – ангіотензинперетворюючий фермент

АК – антагоністи кальцію

ОФРХ – зворотно-фазова рідина хроматографія

ВЕРХ – високоефективна рідина хроматографія

ВТШХ – високоефективна тонкошарова хроматографія

USP – Фармакопея США

ДФУ – Державна фармакопея України

LOD – межа виявлення

LOQ – межа кількісного визначення

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ICH – міжнародна рада з питань гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських засобів для людини

ВСТУП

Актуальність теми. У сучасному світі серед неінфекційних захворювань найбільш поширеними залишаються серцево-судинні захворювання. У національному масштабі смертність від серцево-судинних захворювань складає 64,3 % від загальної кількості смертей.

Великий інтерес викликають можливості комбінування різних антиагрегантних препаратів при лікуванні захворювань серця. Враховуючи різні механізми дії антиагрегантів, комбінації цих препаратів дозволяють досягати більш швидкого і вираженого ефекту гальмування агрегації тромбоцитів, при цьому дози діючих речовин можуть бути зменшені, що поліпшує профіль безпеки використовуваної комбінації.

Серед сучасних схем подвійної антиагрегантної терапії лідером є комбінація ацетилсаліцилової кислоти і клопідогрелю. Її ефективність у профілактиці тромбозів стентів і лікуванні гострих коронарних синдромів доведена в клінічних дослідженнях.

Одночасне визначення ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах має низку важливих переваг для лабораторій, зокрема: економія часу та ресурсів, зменшення кількості зразків та реагентів, підвищення продуктивності, зменшення похибок вимірювання.

Мета роботи: провести порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю з метою оптимізації їх контролю у твердих лікарських формах.

Завдання:

1) провести аналіз наявних монографій у Державній Фармакопеї України та наукових статей щодо методів ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю;

2) здійснити порівняльний аналіз рекомендованих методик та визначити переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у таблетованих формах;

3) встановити оптимальний метод для одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах.

Методи дослідження: бібліографічний аналіз, аналітико-порівняльний метод, метод узагальнення та логічний аналіз.

Новизна та значення одержаних результатів: дослідження та порівняння методів ідентифікації комбінації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю з метою подальшого можливого впровадження для рутинного контролю у центральних лабораторіях контролю якості та в дослідницьких установах.

Апробація результатів дослідження: за результатами роботи було опубліковано 1 тезу у збірнику 2-гої Міжнародної науково-практичної конференції “Global trends in science and education”, 10-12 березня 2025 року, Київ, Україна (Додаток 1).

Публікації: Троцюк А. В., Лисенко Т. А. Аналіз методів ідентифікації та кількісного визначення комбінації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах // Тези доповідей 2-гої Міжнародної науково-практичної конференції “Global trends in science and education”, 10-12 березня 2025 року, Київ, Україна. С.173-176.

Структура роботи: кваліфікаційна робота викладена на 51 сторінці друкованого тексту, містить 4 рисунки, 3 таблиці і складається з вступу, трьох розділів, списку використаних джерел (34 джерел), 1 додатку та анотації.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Статистика захворюваності на ішемічну хворобу серця

У сучасному світі серед неінфекційних захворювань найбільш поширеними залишаються серцево-судинні хвороби, що вражають міокард і систему кровообігу. За даними дослідження «Глобальний тягар хвороб» (Global Burden of Disease), у 2019 році серцево-судинні захворювання стали причиною 64,3% усіх смертей в Україні (449 376 випадків). Серед чоловіків працездатного віку серцево-судинні захворювання (ССЗ) спричинили близько 30% випадків передчасної смертності. Через це Україна входить до переліку країн із найвищими показниками смертності від серцево-судинних патологій.

Ішемічна хвороба серця (ІХС) є однією з основних форм серцево-судинних захворювань, що розвивається через порушення кровопостачання міокарда внаслідок ураження коронарних артерій. В Україні ішемічна хвороба серця є причиною близько 46% смертей серед усіх зареєстрованих випадків летальності [2].

Термін «ішемічна хвороба серця» був введений Комітетом експертів ВООЗ у 1962 році для опису як гострих, так і хронічних уражень серця, спричинених коронарною недостатністю – станом, коли спостерігається дисбаланс між потребою міокарда в кисні та об'ємом коронарного кровотоку, зумовлений недостатнім кровопостачанням серцевого м'яза.

У 99% випадків ІХС виникає внаслідок атеросклерозу. До інших, менш поширених причин, відносять: коронарит (при сифілісі, дифузних захворюваннях сполучної тканини, системних васкулітах), амілоїдоз, розширюючу аневризму аорти, вроджені аномалії коронарних артерій (наприклад, відходження лівої коронарної артерії від легеневої артерії) та емболії коронарних судин.

За даними Європейського товариства кардіологів (ESC, 2003), до факторів ризику розвитку атеросклерозу та пов'язаних із ним серцево-судинних захворювань належать:

- Модифіковані фактори ризику: зміни способу життя, біохімічних та фізіологічних показників.

- Немодифіковані фактори ризику: генетична схильність, вік, стать [3].

Епідеміологічні дослідження свідчать, що поширеність ішемічної хвороби серця (ІХС) зростає зі збільшенням артеріального тиску (АТ). Частота ІХС у людей з артеріальною гіпертензією (АГ) у 3,5 рази вища, ніж у осіб із нормальним тиском. У кожного другого пацієнта з ІХС спостерігається підвищений артеріальний тиск, причому найчастіше вона поєднується з ізольованою систолічною або змішаною гіпертензією.

Ймовірність розвитку ІХС у чоловіків віком 40–49 років при високих рівнях систолічного артеріального тиску (САТ) збільшується в 4 рази, а у віковій групі 50–59 років – у 6 разів порівняно з низькими показниками САТ. Подібна тенденція простежується і для діастолічного артеріального тиску (ДАТ): ризик розвитку ІХС у чоловіків 40–49 років у 3 рази, а у 50–59 років – у 5 разів вищий за показники з низьким ДАТ.

У жінок високий САТ підвищує ризик розвитку ІХС у 2,7 рази у віці 40–49 років і в 5 разів для 50–59 років, тоді як підвищений ДАТ збільшує ризик у 2 та 3 рази відповідно. Середній рівень АТ у пацієнтів з ІХС суттєво перевищує показники осіб без цієї патології.

1.2. Етіологія та патогенез ішемічної хвороби серця

Артеріальна гіпертензія, коронарна та серцева недостатність залишаються одними з найбільш поширених хвороб, що спричиняють значні соціальні та економічні витрати для будь-якої країни, незалежно від рівня її розвитку. Зниження частоти серцево-судинних ускладнень і смертності від цих захворювань значною мірою залежить від ефективної профілактики, своєчасної діагностики та адекватного лікування [3].

Класифікація ІХС Комітету експертів ВООЗ:

1. Стенокардія:

- 1.1. Стенокардія напруження:
 - а) первинна;
 - б) стабільна;
 - в) прогресуюча;
- 1.2. Стенокардія спокою, у тому числі особлива стенокардія.
2. Інфаркт міокарда:
 - 2.1. Гострий (встановлений, ймовірний);
 - 2.2. «Давній».
3. Серцева недостатність.
4. порушення ритму.
5. Раптова коронарна смерть [3].

Стенокардія – це форма ішемічної хвороби серця (ІХС), що проявляється болем у грудній клітці, спричиненим недостатнім кровопостачанням міокарда (ішемією). Цей термін був запропонований у XVIII столітті лікарем Вільямом Геберденом, який вперше детально описав класичні прояви цього стану.

Масштабне дослідження в США показало, що майже 39% пацієнтів, відібраних для коронарографії через підозру на стенокардію та/або позитивний не-інвазивний стрес-тест, мають необструктивну ІХС. Ця частота вища серед жінок (приблизно 50-70%) порівняно з чоловіками (30-50%).

Основною причиною розвитку стенокардії є атеросклероз коронарних артерій. Проте стенокардичний синдром може виникати навіть за відсутності атеросклеротичних змін у коронарних судинах. Така форма характерна для стенозу аорти, недостатності аортальних клапанів та гіпертрофічної кардіоміопатії. Крім того, подібні симптоми можуть спостерігатися при вираженій легеневій гіпертензії, зокрема у пацієнтів з ідіопатичною легеневою гіпертензією або мітральним стенозом [3, 4].

Основою порушення насосної функції серця при ішемічній хворобі серця (ІХС) є дифузні дрібні вогнища замісного склерозу та інтерстиціального фіброзу

міокарда, що зазвичай супроводжують поширений стенозуючий атеросклероз коронарних артерій. Вони виникають внаслідок незворотної дистрофії окремих груп м'язових волокон після епізодів ішемії.

Великі осередки склерозу, такі як рубцеві зміни, що залишаються після перенесеного інфаркту міокарда, класифікують як постінфарктний кардіосклероз. Часто єдиним клінічним проявом кардіосклерозу стає застійна серцева недостатність (СН). Її розвиток можуть ускладнювати такі стани, як хронічна аневризма серця, ішемічна дисфункція сосочкових м'язів мітрального клапана з регургітацією (зворотним потоком крові) та порушеннями серцевого ритму [3, 5].

Інфаркт міокарда – це некроз серцевого м'яза як результат необоротної ішемії внаслідок відносної або абсолютної нестачі надходження крові. Некроз може захоплювати всю товщу міокарда, від ендо- до епікарда, або обмежуватися його субендокардіальними шарами [3].

Головною причиною розвитку інфаркту міокарда є атеросклероз коронарних артерій, який діагностується у 95–97% пацієнтів, що померли від цього захворювання. В окремих випадках (1–2%) інфаркт може виникати за відсутності значного атеросклеротичного ураження, наприклад, при артеріїтах (хвороба Бюргера, вузликовий періартеріїт) або внаслідок тромбоемболії коронарної артерії.

Ключову роль у розвитку інфаркту відіграє утворення обтурирувального (закупорюючого) тромбу в просвіті коронарної артерії. Додатково до цього може виникати функціональний стеноз, спричинений формуванням пристінкового тромбу або спазмом коронарної артерії, найчастіше в зоні атеросклеротичного ураження [6].

Рівень смертності від гострого інфаркту міокарда в Україні залишається одним із найвищих у світі. Асоціація кардіологів України наголошує на високих показниках летальності: смертність від гострого інфаркту міокарда серед

українських пацієнтів сягає 30%. Це значно перевищує показники західних країн, де від аналогічних серцево-судинних ускладнень помирає лише близько 5% пацієнтів.

Кардіологи відзначають, що за останнє десятиліття спостерігається тенденція до «омолодження» інфаркту міокарда. Якщо раніше серцево-судинні проблеми переважно виникали після 50 років, то нині ця патологія все частіше діагностується у людей працездатного віку, починаючи з 35 років. За статистичними даними, інфаркт міокарда у чоловіків діагностується майже в п'ять разів частіше, ніж у жінок. Водночас у жінок цей стан зазвичай виникає на 10-15 років пізніше, ніж у чоловіків [7].

Серцева недостатність (СН) – це клінічний синдром, що характеризується нездатністю серця ефективно виконувати насосну функцію, забезпечуючи органи та тканини кров'ю у достатньому обсязі для підтримання нормальних метаболічних процесів.

Згідно з рекомендаціями Європейського товариства кардіологів (ESC, 2001), серцеву недостатність слід розглядати як патофізіологічний стан, за якого внаслідок ураження серцево-судинної системи відбувається зниження скоротливої здатності серця, що спричиняє дисбаланс між потребами організму в кровопостачанні та функціональними можливостями серця.

Гостра серцева недостатність (СН), згідно з визначенням Європейського товариства кардіологів (ESC, 2005), є клінічним синдромом, що характеризується раптовим розвитком симптомів та ознак порушення функції серця. Вона може виникати як унаслідок наявної серцевої патології, так і вперше (*de novo*).

Цей стан супроводжується як систолічною, так і діастолічною дисфункцією, а також потенційно небезпечними для життя порушеннями серцевого ритму, що потребують негайного медичного втручання.

При хронічній серцевій недостатності (СН) спостерігається порушення основних функцій серця: скорочення (систолічна дисфункція) та/або розслаблення (діастолічна дисфункція) міокарда.

Діастолічна дисфункція, навпаки, виникає через порушення процесу наповнення шлуночків серця кров'ю. Це спостерігається при таких патологіях, як стеноз атріовентрикулярних отворів (лівого або правого), констриктивний та ексудативний перикардити, пухлини або кісти перикарда.

До діастолічної дисфункції також можуть призводити стани, що супроводжуються підвищеною жорсткістю камер серця та/або міокарда, зокрема: гіпертрофія міокарда, дифузний фіброз (склероз), артеріальна гіпертензія, рестриктивна кардіоміопатія, амілоїдоз, фіброеластоз, а також деякі форми ішемічної хвороби серця (ІХС) [3].

1.3 Лікарські засоби, що використовуються для лікування ішемічної хвороби серця

Прийом лікарських препаратів при ІХС необхідний для зниження ризику стенокардії та інфаркту міокарда.

Схема медикаментозного підходу до лікування може включати такі препарати:

- антагоністи кальцію;
- антиагреганти;
- антиаритмічні препарати;
- бета-адреноблокатори;
- діуретики;
- інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ);
- органічні нітрати (для полегшення болю під час нападу);
- прямі антикоагулянти;
- статини [8].

Стратегія терапії за допомогою ліків підбирається для кожного пацієнта індивідуально.

Антагоністи кальцію

Антагоністи кальцію (блокатори кальцієвих каналів) – це речовини, які здатні блокувати потік кальцію всередину міжклітинного простору гладких м'язів серця та судин.

Існує багато типів кальцієвих каналів, але для серцево-судинної системи істотно важливими є L- і T-канали. В гладеньких м'язах L-канали відіграють важливу роль в електромеханічному сполученні.

Сучасні АК за впливом на функцію кальцієвих каналів поділяють на три групи:

1. Селективні АК з переважним впливом на судини. За хімічною структурою це похідні дигідропіридину (ніфедипін короткої дії, ніфедипін ретард, фелодипін, амлодипін, лерканідипін).

2. Селективні АК з переважним впливом на серце. За хімічною структурою ця група препаратів належить до похідних фенілалкіламіну та бензотіазепіну (верапаміл, дилтіазем).

3. Неселективні АК, представником яких є похідне фенілалкіламіну фендилін.

За тривалістю дій АК поділяють на дві групи: препарати короткої і тривалої дії. Короткодійні дигідропіридинові похідні повинні застосовуватись тільки у випадках надання невідкладної допомоги, а тривалодійні препарати, які поступово вивільнюються з лікарської форми, призначають для довготривалого використання.

АК проявляють не лише антигіпертензивну дію, але і знижують ризик тромбозу, що відбувається унаслідок блокування надходження іонів кальцію в тромбоцити, пригнічення АДФ і колагеніндукованої агрегації.

Антисклеротичний ефект АК пов'язаний із властивістю коригувати дисфункцію ендотелію, що зумовлено їх антиоксидантною і антипроліферативною дією.

Антиангінальні ефекти АК зумовлені збільшенням доставки крові до міокарда (за рахунок дилатації коронарних артерій), а також зниженням потреби міокарда в кровопостачанні (за рахунок зменшення післянавантаження). АК розширюють більшою мірою ті коронарні артерії, в яких відмічається атеросклеротичне ураження, тому відбувається перерозподіл крові від неітемізованих ділянок до ішемізованих [9].

Серед АК третього покоління найчастіше застосовують амлодипін. Для цього препарату характерні такі ознаки: більш передбачувана антигіпертензивна ефективність, пов'язана з високою біодоступністю і тривалістю дії (24-36 годин). Застосування амлодипіну не супроводжується підвищенням синтезу реніну і альдостерону.

Як показали дослідження, антиатерогенний ефект амлодипіну супроводжувався також зменшенням товщини комплексу інтима-медіа сонної артерії навіть при атеросклеротичному ураженні артерій більш ніж на 70%, з достовірним зниженням прогресування атеросклерозу і всіх кардіоваскулярних ускладнень [9].

Одним із найбільш ефективних із антигіпертензивних засобів в лікуванні АГ є АК фелодипін, що характеризується високою вибірковою дією на прекапілярні резистивні судини. Його вплив на судинну тканину у сто разів сильніший, ніж на міокард. Така судинна селективність робить застосування цього препарату необхідним у лікуванні хворих із вадами функції серця, на які фелодипін майже не діє.

Згідно з результатами дослідження, під час 10-тижневого лікування хворих на АГ, асоційовану із ішемічною хворобою серця (ІХС), найбільший

антигіпертензивний ефект серед всіх АК проявляв фелодипін, який одночасно поліпшував реологічні властивості крові [9].

Істотне місце в терапії АГ посідає похідне дигідропіридинів III покоління лерканідипін, який відрізняється від інших АК деякими особливостями. Препарат має своєрідну фармакокінетику, характеризується високою ліпофільністю і максимальним показником судинної селективності. Ці властивості забезпечують надійний цілодобовий контроль АТ без активації симпато-адреналової системи. В клінічних дослідженнях показано, що лерканідипін через три місяці лікування проявляє виражений антигіпертензивний ефект у пацієнтів з АГ другої стадії, а також поліпшує показники добового моніторингу АТ, що підвищує якість життя пацієнтів.

Показано, що лерканідипін виявляє нефропротекторні властивості, оскільки на відміну від інших АК препарат розширює не тільки привідні, але і відвідні артерії. Лерканідипін має високу гіпотензивну активність у хворих з хронічною нирковою недостатністю.

У хворих на АГ із ІХС під впливом лерканідипіну однаковою мірою зменшувались швидкість ранкового підвищення АТ і діастолічного АТ, що знижувало ризик ранкових подій [9].

Антиаритмічні препарати

Антиаритмічні препарати – лікарські препарати, що застосовують для нормалізації ритму скорочень серця.

В основу класифікації антиаритмічних препаратів покладено їх вплив на електрофізіологічну активність міокарда, зокрема, на швидкість де- та реполяризації, потенціалу дії.

Блокатори швидких натрієвих каналів. блокують натрієві канали, перешкоджаючи входу іонів натрію у клітини під час фази деполяризації потенціалу дії. Це уповільнює проведення збудження в міокарді, особливо в

ділянках із порушеною провідністю, що допомагає припинити циркуляцію хвиль збудження, які спричиняють аритмії.

Класифікація:

IA: помірно уповільнюють деполяризацію, подовжують потенціал дії та рефрактерний період (наприклад, хінідин, прокаїнамід).

IB: мінімально впливають на деполяризацію, прискорюють реполяризацію, незначно впливають на провідність (лідокаїн, мексилетин).

IC: суттєво уповільнюють деполяризацію та подовжують провідність (флекаїнід, пропафенон).

Бета-адреноблокатори блокують бета-адренорецептори міокарда, знижуючи вплив симпатичної нервової системи. Це зменшує автоматизм синусного вузла, знижує збудливість ектопічних осередків та уповільнює провідність через атріовентрикулярний вузол. Приклади: метопролол, атенолол.

Блокатори калієвих каналів блокують калієві канали, подовжуючи реполяризацію та рефрактерний період. Це зменшує здатність мембран до спонтанної деполяризації. Приклади: аміодарон, соталол.

Блокатори кальцієвих каналів пригнічують повільні кальцієві канали (L-типу), знижуючи автоматизм синусного вузла та уповільнюючи провідність через атріовентрикулярний вузол. Використовуються переважно при суправентрикулярних аритміях. Приклади: верапаміл, дилтіазем [10].

Інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту

Механізм дії інгібіторів ангіотензинперетворювального ферменту (АПФ) полягає у блокуванні ферменту, який забезпечує перетворення ангіотензину I (малоефективного біологічно) в ангіотензин II (потужний ефекторний гормон ренін-ангіотензинової системи, РАС). Блокування РАС сприяє покращенню тканинної перфузії, зменшенню ремоделювання серця та зниженню активності симпатико-адреналової системи.

Окрім цього, інгібітори АПФ збільшують рівень брадикініну, що проявляється вазодилататорним ефектом, покращенням функції ендотелію та підвищенням тромболітичної активності крові. На жаль, цю важливу сторону їхнього впливу часто недооцінюють при поясненні механізму дії. Точно визначити, який саме механізм є вирішальним для досягнення довгострокових клінічних ефектів, поки неможливо.

На основі хімічної структури інгібітори АПФ поділяють на чотири групи залежно від того, яка функціональна група їхньої молекули зв'язується з іоном цинку в активному центрі ферменту:

1. Препарати, що містять сульфгідрильну групу.
2. Засоби з карбоксиалкільною групою.
3. Препарати з фосфінільною групою.
4. Засоби, що містять гідроксамову групу.

За фармакокінетичними властивостями інгібітори АПФ поділяються на:

1. Первинно активні препарати: наприклад, каптоприл, лізиноприл.
2. Неактивні речовини (проліки), які після метаболічної активації у печінці або шлунково-кишковому тракті утворюють активні метаболіти (наприклад, еналаприл).

Однією з важливих властивостей інгібіторів АПФ є їх ліпофільність. Чим вищий рівень ліпофільності, тим краще препарат здатний проникати в органи-мішені, такі як серце, судини, нирки, легені та надниркові залози. Це може забезпечувати не лише пригнічення циркулюючої РАС, але й більш ефективне блокування тканинної РАС, що сприяє захисту органів-мішеней і, ймовірно, уповільненню прогресування атеросклерозу [11].

Статини

Статини (вастатини) – це група гіполіпідемічних препаратів, до яких належать ловастатин, симвастатин, правастатин, флувастатин і аторвастатин. Перший представник цієї групи, ловастатин, був виділений у 1987 році з грибів

рифоміцетів. Пізніше були створені інші природні сполуки (симвастатин, правастатин) та синтетичні аналоги (флувастатин, аторвастатин), які мають подібний механізм дії.

Статини є інгібіторами ферменту ГМГ-КоА редуктази, який бере участь у початкових етапах синтезу холестерину в печінці. Їх дія знижує рівень холестерину ЛПНЩ (ліпопротеїдів низької щільності) та ЛПДНЩ (ліпопротеїдів дуже низької щільності) у плазмі крові, а також дещо зменшує рівень тригліцеридів. Одночасно спостерігається підвищення рівня ЛПВЩ (ліпопротеїдів високої щільності), що має антиатерогенний ефект.

Ловастатин і симвастатин – проліки, які після метаболізації в організмі перетворюються на активну β -гідроксикислоту.

Правастатин – діє у вигляді цільної молекули, без необхідності метаболічної активації.

Флувастатин – добре всмоктується та не утворює активних метаболітів.

Аторвастатин – синтетичний препарат другого покоління, який містить фторфеноловий радикал і залишок гептанової кислоти. Має більш виражену здатність знижувати рівень ЛПНЩ та тригліцеридів у порівнянні з іншими статинами.

Дослідження вказують, що антиатеросклеротичний вплив статинів пов'язаний не лише з їх здатністю знижувати рівень холестерину, але й з прямим впливом на судини. Статини покращують функцію ендотелію, пригнічують запальні процеси, сприяють регресії атеросклеротичних бляшок, знижують ризик тромбоутворення [12].

Прямі антикоагулянти

Антикоагулянти – це лікарські препарати, які гальмують процес згортання крові. Антикоагулянти гальмують утворення ниток фібрину; перешкоджають тромбоутворенню, пригнічують ріст тромбів, які вже виникли, підсилюють дію на тромби ендогенних фібринолітичних ферментів.

Антикоагулянти прямої дії – гепарин натрію та низькомолекулярні гепарини (нандропарин, еноксапарин, фраксипарин, ревіпарин та ін.), апіксабан, натрію гідроксид, які виявляють швидкий ефект, діють *in vitro* та *in vivo*;

Натрію гідроксид чинить антикоагулянтну дію шляхом зв'язування іонів кальцію (утворюється кальцій оксидат). Кальцій бере участь у багатьох реакціях каскаду згортання крові. Його інактивація зупиняє цей процес. Натрію гідроксид використовують лише для консервації донорської крові.

Антикоагулянтний ефект гепарину пов'язаний із прямою дією на систему згортання крові завдяки утворенню комплексів з багатьма факторами гемокоагуляції і виявляється в гальмуванні I, II і III фази згортання крові. Гепарин додатково гальмує агрегацію тромбоцитів. Сам гепарин активізується лише в присутності антитромбіну III. Його антагоністом є протаміну сульфат.

Низькомолекулярні гепарини виявляють високу активність до фактора Ха та низьку активність до фактора IIa, завдяки чому практично не впливають на час згортання крові, що зменшує вірогідність розвитку кровотеч. Крім того, низькомолекулярні гепарини характеризуються пролонгованою дією [13].

Апіксабан є потужним оборотним прямим та високоселективним інгібітором активної ділянки фактора Ха, призначеним для перорального прийому. Для антитромботичної дії він не потребує антитромбіну III. Апіксабан пригнічує вільний та зв'язаний з тромбом фактор Ха, а також пригнічує активність протромбінази.

Апіксабан не впливає безпосередньо на агрегацію тромбоцитів, але опосередковано пригнічує процес агрегації тромбоцитів, індукований тромбіном. За рахунок пригнічення фактора Ха апіксабан перешкоджає утворенню тромбіну та формуванню тромбу [13].

Антиагреганти

Антиагреганти перешкоджають агрегації тромбоцитів і еритроцитів, зменшують їх здатність до склеювання і прилипання до ендотелію судин.

Антиагреганти полегшують деформацію еритроцитів при проходженні через капіляри, покращують плинність крові.

Існуючі антиагреганти різняться за механізмом фармакологічної дії:

1. Неселективні інгібітори циклооксигенази (ЦОГ) (ацетилсаліцилова кислота (АСК), індобуфен, трифлузал);
2. Блокатори дії АДФ і інших індукторів (тромбіну, серотоніну) агрегації тромбоцитів (клопідогрель, тиклопідин)
3. Інгібітори фосфодіестерази тромбоцитів і аденозінамінази (дипіридамом, трифлузал)
4. Стимулятори аденілатциклази (ілопрост)
5. Антагоністи P_2 / Th глікопротеїнових рецепторів (Абциксимаб, ептифібатид, тирофібан, ламіфібан, монафрам)

Антиагрегантна терапія тривалий час була представлена лише одним антиагрегантом – АСК (аспірином), який вже кілька десятиліть залишається її стандартом, будучи найбільш вивченим і застосовуваним сьогодні препаратом. Препарат профілактично призначають для запобігання подальшого тромбоутворення, здатного повторно закупорити пошкоджену або іншу артерію.

Доведено ефективність аспірину при всіх формах ішемічної хвороби серця: стабільній стенокардії, ГКС, гострому ІМ, після перенесеного інфаркту, а також після аортокоронарного шунтування і ангіопластики, при ішемічному інсульті та після перенесеного ішемічного інсульту, при ураженні периферичних артерій.

Альтернативні АСК антиагрегантні препарати донедавна розглядалися тільки як засоби, які показані при непереносимості АСК або розвитку резистентності до неї. Проте ряд досліджень останніх років все більш виразно вказують на самостійну цінність таких препаратів в певних клінічних ситуаціях – і як альтернативи АСК, і в комбінації з нею.

Тиклопідин і його дериват клопідогрель є інгібіторами АДФ-стимульованої агрегації тромбоцитів, не впливають на циклооксигеназу й цАМФ; їхній

антиагрегантний ефект триває 24–48 год після прийому всередину; індукована АДФ агрегація тромбоцитів повертається до вихідних значень через 4–8 днів після відміни препарату. Основним недоліком препаратів є повільне наростання антитромбоцитарного ефекту (впродовж кількох діб) [15].

Клопідогрель є альтернативою АСК для пацієнтів з протипоказаннями до АСК.

Клопідогрель селективно пригнічує зв'язування аденозиндифосфату (АДФ) з рецептором на поверхні тромбоцита та подальшу активацію комплексу GPIIb/IIIa під дією АДФ і таким чином пригнічує агрегацію тромбоцитів. Для утворення активної інгібіції агрегації тромбоцитів необхідна біотрансформація клопідогрелю. Клопідогрель також пригнічує агрегацію тромбоцитів, індуковану іншими агоністами, шляхом блокування підвищення активності тромбоцитів вивільненням АДФ. Клопідогрель необоротно модифікує АДФ-рецептори тромбоцитів.

Отже, тромбоцити, що увійшли у взаємодію з клопідогрелем, змінюються до кінця їх життєвого циклу. Нормальна функція тромбоцитів відновлюється зі швидкістю, що відповідає швидкості оновлення тромбоцитів. [16].

Комбінована терапія

Великий інтерес викликають можливості комбінування різних антиагрегантних препаратів. Враховуючи різні механізми дії антиагрегантів, комбінації цих препаратів дозволяють досягати більш швидкого і вираженого ефекту гальмування агрегації тромбоцитів, при цьому дози діючих речовин можуть бути зменшені, що поліпшує профіль безпеки використовуваної комбінації.

Комбінація апіксабану та клопідогрелю застосовується у пацієнтів з ІХС, які мають високий ризик тромбозу, наприклад після перенесеного гострого коронарного синдрому, у пацієнтів з встановленими коронарними стентами, при

миготливій аритмії, що супроводжується ІХС, у хворих із мультифокальним атеросклерозом.

Ця комбінація спрямована на подвійне пригнічення тромбоутворення - апіксабан запобігає активації факторів згортання крові, а клопідогрель пригнічує тромбоцитарний компонент тромбоутворення.

Переваги комбінації:

- Зниження тромбоемболічних ускладнень: така терапія ефективна для запобігання тромбозу, особливо у високоризикових пацієнтів.
- Покращення прогнозу у пацієнтів після ГКС та стентування.
- Мультифокусний вплив на різні механізми тромбоутворення.

Дослідження показують, що поєднання апіксабану та клопідогрелю може бути ефективним у зниженні ризику тромбоемболічних подій у порівнянні зі стандартною антитромбоцитарною терапією [17].

Комбіноване використання антикоагулянтів (апіксабан) та антиагрегантів (клопідогрель) при ішемічній хворобі серця (ІХС) є сучасним підходом до лікування, який спрямований на зниження ризику тромбоутворення у пацієнтів з високим тромботичним ризиком.

Здійснивши аналіз фармацевтичного ринку України, було виявлено відсутність комбінованих препаратів з активними фармацевтичними інгредієнтами апіксабан та клопідогрель. Наразі ці два активні компоненти доступні на ринку як два окремі препарати у твердій лікарській формі.

РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

2.1. Вибір об'єкту дослідження

Серед усіх досліджуваних варіантів поєднання антиагрегантів на сьогоднішній день лідирує комбінація ацетилсаліцилової кислоти (АСК) з клопідогрелем.

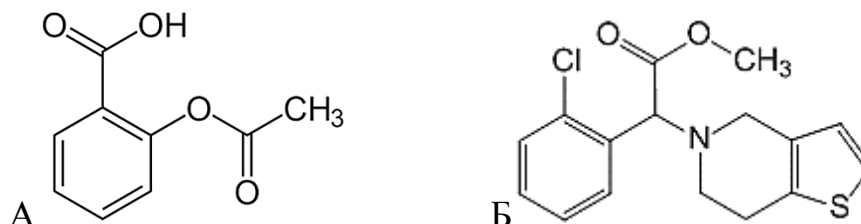


Рис.2.1. Хімічні формули ацетилсаліцилової кислоти (А) та клопідогрелю (Б)

Ацетилсаліцилова кислота (2-ацетоксибензойна кислота) є нестероїдним протизапальним препаратом і інгібітором агрегації тромбоцитів. Механізм її дії полягає в інгібуванні циклооксигенази. Ацетилсаліцилова кислота практично не розчиняється у воді, але вільно розчиняється в етанолі 96% [31].

Ацетилсаліцилову кислоту призначають дорослим у наступних дозах:

- 1) Навантажувальна доза: 150–300 мг перорально (іноді до 325 мг)
- 2) Підтримуюча доза: 75–100 мг один раз на добу

Клопідогрелю біфосфат (S-метил 2-(2-хлорфеніл-6,7-дигідротієно[3,2-с]піридин-5(4)-ацетатсульфат) є тієнопіридиновим антитромбоцитарним препаратом. Це антитромботичний засіб, що інгібує агрегацію тромбоцитів, опосередковану аденозиндифосфатом, шляхом селективного та незворотного блокування пуринергічних P2Y₁₂-рецепторів тромбоцитів. Клопідогрелю біфосфат практично не розчиняється у воді при нейтральному рН, але добре розчиняється при рН 1. Також він добре розчиняється в метанолі, але малорозчинний у метиленхлориді [31].

Клопідогрель призначають дорослим у наступних дозах:

- 1) Навантажувальна доза: 300–600 мг перорально (600 мг частіше при плановому чи ургентному стентуванні)

2) Підтримуюча доза: 75 мг один раз на добу

Приклади комерційних комбінацій:

Комбіновані препарати часто випускаються у наступних дозах: 75 мг клопідогрелю + 100 мг АСК або 75 мг клопідогрелю + 75 мг АСК.

Тривалість комбінованої терапії залежить від клінічного випадку, але зазвичай становить від 1 до 12 місяців, після чого пацієнт може залишитись лише на АСК або клопідогрелі, залежно від ризику тромбозу та кровотечі.

Подвійна антиагрегантна терапія (ПАТ) АСК і клопідогрелю довела свою ефективність і безпеку в попередженні тромбозів стентів коронарних судин, а також забезпечує суттєві клінічні переваги перед монотерапією АСК у випадку ГКС [15].

Основний підхід до антиагрегантної терапії при подібних клінічних станах полягає в якнайшвидшому призначенні обох препаратів або їх фіксованої комбінації. Підтримувальна подвійна терапія (ацетилсаліцилова кислота + клопідогрель) має бути безперервною та тривати достатній період часу. Тривалість застосування подвійної антитромбоцитарної терапії визначається індивідуально, залежно від клінічного випадку. Ці підходи базуються на надійних доказах, отриманих у масштабних клінічних дослідженнях, та знайшли відображення у провідних міжнародних рекомендаціях останніх років [18, 19, 20].

2.2. Матеріали та методи дослідження

У процесі дослідження порівняльного аналізу методів ідентифікації комбінації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю використані різні методи теоретичного дослідження: бібліографічний аналіз, аналітико-порівняльний метод, метод узагальнення та логічний аналіз. Кожен з цих методів дозволяє глибоко дослідити та систематизувати наявні знання, визначити сильні та слабкі сторони різних підходів, а також сформулювати наукові висновки.

Бібліографічний метод є різновидом теоретичного дослідження, який полягає в цілеспрямованому пошуку, доборі, аналізі та критичному осмисленні наукових джерел з метою узагальнення існуючих знань щодо певної тематики.

Бібліографічний метод охоплює роботу з різними типами джерел: науковими публікаціями, дисертаціями, оглядовими статтями, монографіями, нормативними документами, фармакопеями, аналітичними звітами тощо [21].

Аналітико-порівняльний метод належить до базових теоретичних підходів у науковому дослідженні. Його сутність полягає у зіставленні та аналізі характеристик, структур, функціональних властивостей або концептуальних положень різних об'єктів, явищ чи методів з метою виявлення спільних рис і відмінностей. Такий підхід дозволяє визначити переваги й недоліки досліджуваних об'єктів, обґрунтувати вибір найбільш ефективного варіанта або сформулювати аргументовані наукові висновки.

Цей метод є особливо ефективним у фармацевтичній, біомедичній сферах, де широко застосовується для аналізу ефективності методик, препаратів, технологічних процесів або нормативних систем [22].

Метод узагальнення є класичним теоретичним підходом у науковому дослідженні, що полягає в логічному об'єднанні окремих фактів, результатів спостережень, експериментальних даних та інформації з літературних джерел у єдину, цілісну систему знань. Завдяки цьому методу вдається виявити спільні закономірності, принципи та тенденції, що дозволяє формувати наукові концепції, гіпотези або висновки.

Метод узагальнення є ключовим на завершальному етапі наукового дослідження для формулювання підсумкових висновків та рекомендацій [23].

Метод логічного аналізу є важливим інструментом теоретичного дослідження, що використовується для розуміння, розкриття та аналізу складних наукових явищ, концепцій або теоретичних положень через застосування логічних операцій. Цей метод передбачає детальне дослідження структури та

взаємозв'язків елементів, а також виявлення внутрішніх протиріч або неясностей у теоретичних побудовах.

Метод логічного аналізу широко використовується в різних галузях наукового пізнання, зокрема в біомедицині та фармацевтиці. Він дозволяє не лише здійснити глибокий аналіз теоретичних засад, але й надає можливість формувати нові наукові гіпотези на основі виявлених закономірностей та логічних висновків [24].

Отже, бібліографічний метод забезпечує фундамент для вивчення існуючих досліджень і нормативних документів, що стосуються аналізу комбінованих лікарських засобів. Аналітико-порівняльний метод дозволяє провести порівняння різних методів ідентифікації, виявити їхні переваги та недоліки. Метод узагальнення допомагає на основі отриманих даних сформулювати загальні закономірності та теоретичні положення. Метод логічного аналізу сприяв детальному вивченню внутрішніх зв'язків і логіки існуючих теоретичних підходів, що дозволило обґрунтувати вибір найбільш ефективних методик для подальшого застосування у фармацевтичній практиці.

Загалом, ці методи дозволили комплексно підійти до аналізу проблеми, забезпечивши теоретичну базу для подальших експериментальних і практичних досліджень.

2.3. Методики дослідження

2.3.1. Методи ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти

Для ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти можуть бути використані такі методи, як спектрофотометрія, високоефективна рідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія.

За фармакопеєю України ідентифікація ацетилсаліцилової кислоти визначається за допомогою УФ-спектрофотометрії. Ультрафіолетовий спектр поглинання випробовуваного розчину в області від 200 нм до 350 нм повинен мати максимум при 275 нм [25].

У роботі польських вчених ідентифікація ацетилсаліцилової кислоти проводилася методом вискоєфективної рідинної хроматографії з використанням колонки Waters Symmetry C18 (4.6×250 мм). Рухома фаза складалася зі суміші 85% ортофосфорної кислоти, ацетонітрилу та очищеної води у співвідношенні 2:400:600 (V/V/V). Детекція здійснювалася на довжині хвилі 237 нм при швидкості потоку 1,0 мл/хв. Метод був валідований за такими показниками: лінійність, прецизійність, точність, специфічність, робастність, стабільність [26].

Також для ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти в таблетках було розроблено методику адсорбційної тонкошарової хроматографії (NP-TLC) з денситометрією. УФ-денситометрію проводили в режимі поглинання на довжині хвилі 200 нм. Запропонований метод був валідований за показниками специфічності, лінійності, точності, прецизійності та робастності.

Метод TLC-денситометрії також порівнювали з фармакопейним УФ-спектрофотометричним методом для ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти, і результати статистично підтвердили, що метод NP-TLC-денситометрії може використовуватися як альтернативний. Таким чином, можна сказати, що метод NP-TLC-денситометрії підходить для рутинного аналізу ацетилсаліцилової кислоти в лабораторіях контролю якості [27].

2.3.2. Методи ідентифікації клопідогрелю

Для ідентифікації клопідогрелю можуть бути використані такі методи, як зворотно-фазова вискоєфективна рідинна хроматографія (RP-HPLC), УФ-спектрофотометрія та тонкошарова хроматографія.

За фармакопеею США ідентифікація клопідогрелю бісульфату визначається за допомогою УФ-спектрофотометрії або рідинної хроматографії.

Спектральний діапазон для ідентифікації клопідогрелю спектрофотометричним методом становить 250-300 нм. Довжина хвилі, при якій відбувається максимальне поглинання світла становить приблизно 270 нм.

Для хроматографічного аналізу хроматограф має бути оснащений колонкою 4,6мм×15см. Рухома фаза – суміш фосфатного буферу з ацетонітрилом (75:25), швидкість потоку – 1 мл на хвилину, відносний час утримання – 1,0, об'єм проби – 10 мкл розчиненого у метанолі клопідогрелю бісульфіту, детектування – спектрофотометрично при довжині хвилі 220 нм [28].

За фармакопесю України для ідентифікації клопідогрелю використовують аналогічними методами, але з наступними відмінностями. Клопідогрель визначається у вигляді гідросульфіту. Час утримання клопідогрелю при хроматографічному методі ідентифікації становить 5,3 хв [29].

Чеськими вченими описана НРТLC-методика (високоєфективна тонкошарова хроматографія) для ідентифікації клопідогрелю бісульфіту як у вигляді чистої речовини, так і в лікарських формах. Хроматографічні умови. Зразки наносили у вигляді смужок шириною 6 мм на попередньо покриту силікагелем алюмінієву пластинку (60F-254, 20×10 см, товщина 250 мкм; E. Merck, Німеччина) за допомогою шприца Camag μ l (Швейцарія). Рухома фаза: тетрахлорид вуглецю: хлороформ: ацетон (6:4:0.15, об./об./об.). Розділення проводили у хроматографічній камері при кімнатній температурі, з попередньою насиченістю 30 хв. Детекція – денситометром на 230 нм. Статистичний аналіз підтверджує, що метод відтворюваний, селективний, точний та специфічний [30].

Також розроблено RP-HPLC метод для ідентифікації клопідогрелю в лікарських формах. Колонка BDS C8 (250 × 2,1 мм, 5 мкм). Рухома фаза: натрію дигідрофосфат (0,01 М, рН 3.0): ацетонітрил (35:65, об./об.), швидкість потоку – 0,3 мл/хв. УФ-детекція – 235 нм. Час утримання: клопідогрель – 3,08 хв, напроксен (внутрішній стандарт) – 6,28 хв. Межі виявлення – 0,12 мкг/мл, кількісного визначення – 0,39 мкг/мл. [30].

2.3.3. Методи ідентифікації комбінації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю

У літературі описано багато методів для ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю окремо, але існує лише кілька методів для їх одночасного визначення. Однак, незважаючи на поширене застосування цих препаратів у комбінації та наявності комбінованих препаратів на ринку України, в офіційних фармакопейних монографіях відсутні методики для одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю.

Переважаюча частина робіт базується на хроматографічному методі розділення та ідентифікації суміші ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю бісульфату. Використовують такі методики хроматографічного визначення, як високоефективна рідинна хроматографія, зворотно-фазова рідинна хроматографія, високоефективна тонкошарова хроматографія [31-34].

Метод високоефективної рідинної хроматографії для одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах

Матеріали. Референтні зразки ацетилсаліцилової кислоти (АСК) та клопідогрелю (КП) HPLC чистоти; розчинники: ацетонітрил, метанол, вода HPLC чистоти; ортофосфорна кислота, триетиламін аналітичного класу чистоти; мембранні фільтри (нейлон, 0,45 мкм, 47 мм); таблетки ацетилсаліцилової кислоти (75 мг) і клопідогрелю (75 мг).

Обладнання. Для ВЕРХ (HPLC) використовували систему Series 200 (PerkinElmer, США) з діодним детектором, градієнтним насосом, термостатованим колонковим відсіком, ручним інжектором з петлею на 20 мкл, програмним забезпеченням Turbochrom Navigator (версія 6.1.1.0.0:K20) та колонкою Nucleosil C8 (150 мм × 4.6 мм, 5 мкм, SGE, США).

Приготування розчинів

Стандартні розчини:

10 мг АСК і 10 мг КП розчинили в метанолі в мірній колбі 100 мл – одержано розчин по 100 мкг/мл кожного.

Розчини зразків:

20 таблеток подрібнювали, брали кількість, що відповідає 75 мг кожного компонента, розчиняли в метанолі, обробляли ультразвуком 15 хв, доводили до 100 мл. Потім 0,4 мл розводили до 25 мл – отримували розчин по 12 мкг/мл кожного компонента. Фільтрували через мембрану 0,45 мкм [33].

Хроматографічні умови. Використовували колонку Nucleosil C8 за кімнатної температури. Мобільна фаза: ацетонітрил–фосфатний буфер (55:45, об'єм/об'єм), рН доведено до $3,0 \pm 0,02$ з ортофосфорною кислотою та триетиламіном; швидкість потоку – 1 мл/хв. Перед використанням фазу фільтрували через мембрану 0,45 мкм і дегазували. Детекція – при 235 нм, об'єм ін'єкції – 20 мкл.

Для оптимізації параметрів ВЕРХ випробовували різні склади рухомої фази. Задовільне розділення АСК і КП з гарною симетрією піків і стабільною базовою лінією було досягнуто при використанні рухомої фази ацетонітрил–фосфатний буфер (55 + 45, об'ємні частки), з рН, відрегульованим до 3.0. Кількісне визначення проводили методом УФ-детекції на довжині хвилі 235 нм за площею піків. Було досягнуто повного розділення піків із чіткою базовою лінією. Середній час утримання ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю становив 2,38 і 4,44 хвилини відповідно [33].

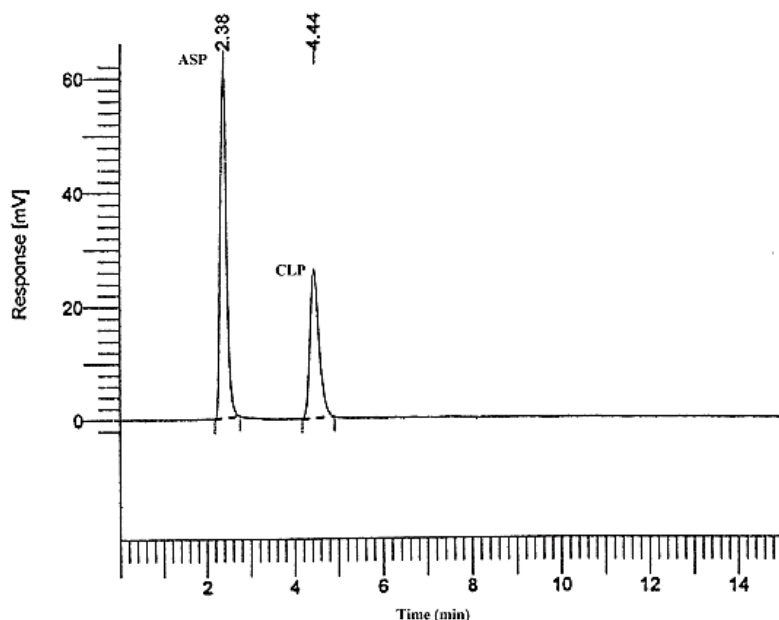


Рис.2.2. Високоєфективна рідинна хроматограма АСК і КП і відповідний час утримання з детекцією при 235 нм

Метод високоєфективної тонкошарової хроматографії для одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах

Матеріали. Референтні зразки ацетилсаліцилової кислоти (АСК) та клопідогрелю (КП) HPLC чистоти; розчинники: метанол, вода HPLC чистоти; етиловий ацетат, толуол та льодяна оцтова кислота аналітичного класу чистоти; таблетки ацетилсаліцилової кислоти (75 мг) і клопідогрелю (75 мг).

Обладнання. Для ВТШХ (HPTLC) використовували автоспоттер Linomat V, сканер TLC Scanner III з програмним забезпеченням winCATS-4, камери для хроматографії типу twin-trough, а також детектор з УФ-лампами (Camag, Швейцарія); пластини розміром 10 × 10 см з алюмінієвою підкладкою, покриття - силікагель 60F254, товщина шару 0,2 мм.

Приготування розчинів

Стандартні розчини:

10 мг АСК і 10 мг КП розчинили в метанолі в мірній колбі 100 мл – одержано розчин по 100 мкг/мл кожного.

Розчини зразків:

20 таблеток подрібнювали, брали кількість, що відповідає 75 мг кожного компонента, розчиняли в метанолі, обробляли ультразвуком 15 хв, доводили до 100 мл. Потім 0,4 мл розводили до 25 мл – отримували розчин по 12 мкг/мл кожного компонента. Фільтрували через мембрану 0,45 мкм [33].

Хроматографічні умови. Розчини АСК і КП наносили на пластини силікагелю 60F254 (10×10 см) за допомогою автоматичного пристрою Linomat V. Розділення проводили у камері, насиченій паром рухомої фази (етилацетат–метанол–толуол–льодяна оцтова кислота 5:1:4:0,1) протягом 30 хв на відстань 8 см. Детекція – при 235 нм.

Для досягнення високого розділення АСК і КП випробовували кілька складів рухомої фази. Найкращих результатів досягнуто при використанні фази етилацетат–метанол–толуол–льодяна оцтова кислота (5.0 + 1.0 + 4.0 + 0.1, об'ємні частки) на пластинах ВТШХ 10 × 10 см із силікагелем 60F254 на алюмінієвій основі. Значення R_f становили 0.55 для АСК і 0.79 для КП. Довжина хвилі 235 нм використовувалась для кількісного аналізу. Піки були добре розділені з чіткою базовою лінією [33].

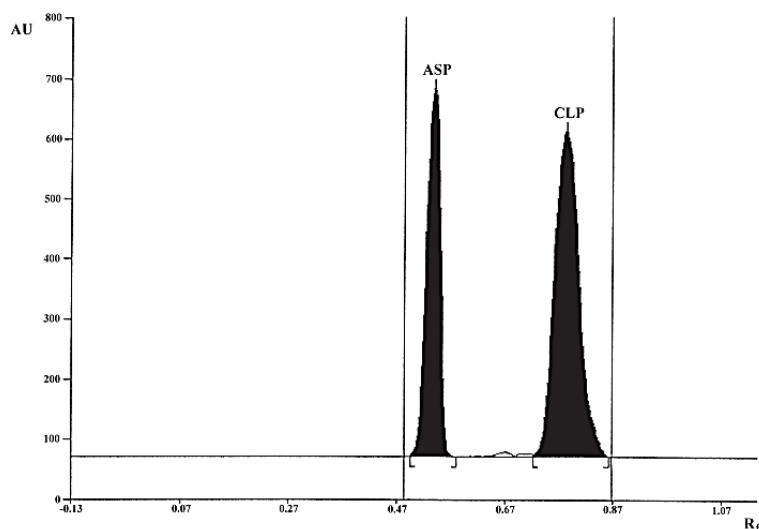


Рис.2.3. Високоєфективна тонкошарова хроматограма АСК і КП з детекцією при 235 нм

Метод обернено-фазової рідинної хроматографії для одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах

Матеріали. Референтні зразки для КП (клопідогрель), АСК (ацетилсаліцилова кислота) та їхніх домішок; таблетки, що містять 75 мг КП і 100 мг АСК в одній таблетці; таблетки, що містять 75 мг КП і 75 мг АСК в одній таблетці; таблетки, що містять 75 мг КП і 150 мг АСК в одній таблетці; моногідрат октансульфонату натрію, ацетонітрил класу для ВЕРХ, метанол класу ВЕРХ, ортофосфорна кислота (98%).

Обладнання. Рідинно-хроматографічні аналізи виконувалися на системі Dionex Ultimate 3000 (Dionex Softron GmbH, Гермерінг, Німеччина) з високонапірним насосом, автозавантажувачем та детектором UV/VIS. Обробка даних здійснювалася в програмному забезпеченні Chromeleon (версія 6.80). Також використовувалися ультразвуковий очищувач Branson (США) та рН-метр Metrohm (Швейцарія) [33].

Приготування розчинів.

Розчини зразків:

З 20 таблеток кожної з концентрацій готували порошок. Відповідну масу (еквівалент 20 мг КП та відповідно 26,67 мг, 20 мг або 40 мг АСК) поміщали в 20 мл мірну колбу, додавали суміш розчинників (рухома фаза А:ацетонітрил 40:60), обробляли ультразвуком 10 хв, доводили до об'єму і фільтрували через нейлоновий фільтр 0,2 мкм. Потім 1 мл розчину розводили до 10 мл.

Стандартні розчини:

Вихідний розчин порівняння КП був приготовлений шляхом розчинення 26,10 мг клопідогрелю гідросульфату. (еквівалентно 20 мг клопідогрелю) у 20,0 мл суміші розчинників. Був виготовлений аналогічний базовий розчин порівняння АСК (20 мг/20 мл). Оскільки вміст АСК різний для трьох продуктів, готували 2 розведення: 1,0 мл вихідного розчину порівняння КП і 1,0 мл

основного розчину порівняння АСК розбавляли до 10,0 мл та 1,0 мл основного розчину порівняння КП і 2,0 мл базовий розчин порівняння АСК розбавляли до 10,0 мл суміші розчинників.

Хроматографічні умови. Розділення здійснювалося на колонці Luna C-18 (150×4.6 мм, 3 мкм). Температура колонки підтримувалася на рівні 35°C за допомогою термостату Julabo. Рухома фаза: А – метанол/розчин октансульфонату натрію (1 г/л) у співвідношенні 5:95, рН 2,5 (ортофосфатна кислота); В – метанол/ацетонітрил 5:95. Градієнтна програма: 0 хв – 10,5% В; 3–48 хв – зростання до 68,5% В; 68–80 хв – зменшення до 10,5%. Швидкість потоку – 1 мл/хв, об'єм ін'єкції – 10 мкл, детекція – на 220 нм. Середній час утримання ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю становив 14,8 і 30,0 хвилини відповідно [33].

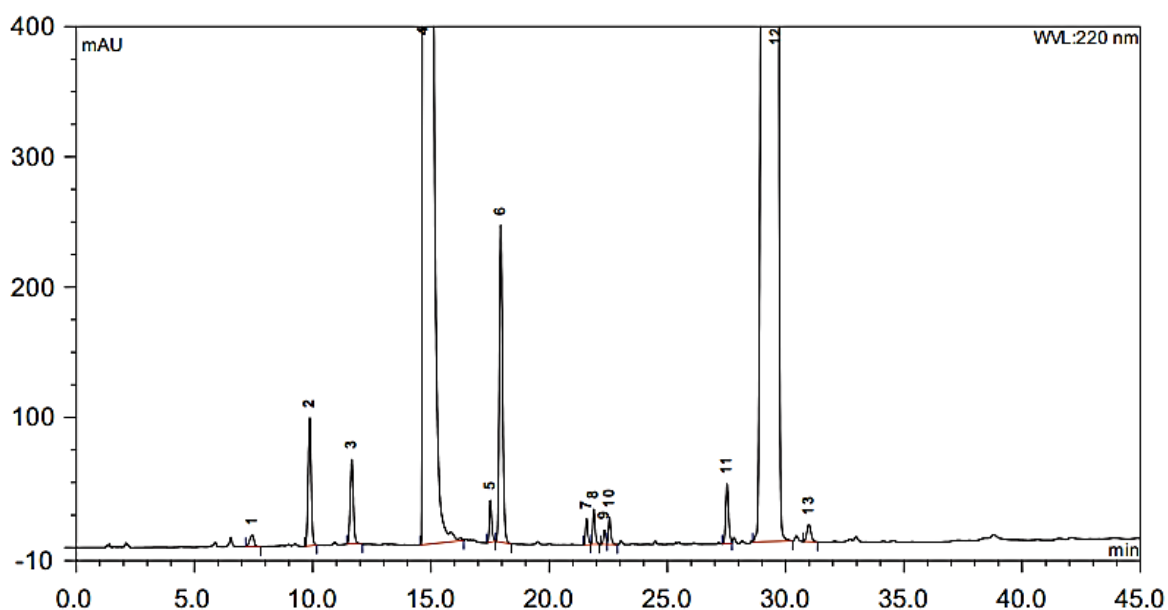


Рис.2.4. Обернено-фазова хроматограма для АСК, КП та їх домішок і відповідний час утримання з детекцією при 220 нм

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Одночасна ідентифікація ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у має низку важливих переваг для лабораторій, зокрема:

Економія часу та ресурсів – один аналітичний цикл дозволяє визначати вміст обох компонентів, скорочуючи загальний час аналізу та кількість витрачених реактивів.

Зменшення кількості зразків і реагентів – для одночасного аналізу потрібно менше зразків і розчинників порівняно з окремим визначенням кожного препарату.

Уніфікація методики контролю якості – дозволяє впровадити єдину методику для комбінованих лікарських форм, спрощуючи документацію та підвищуючи ефективність лабораторного контролю.

Зменшення похибок вимірювань – паралельне визначення компонентів в одній пробі знижує ризики міжсерійних відмінностей та помилок при підготовці зразків.

Підвищення продуктивності – дозволяє лабораторіям швидше обробляти більше зразків, що особливо актуально для виробництв з великим обсягом контролю.

Відповідність міжнародним вимогам – сучасні фармацевтичні стандарти рекомендують використовувати методи одночасного визначення активних речовин у комбінованих препаратах для забезпечення комплексного контролю якості.

Контроль стабільності та домішок – одночасне визначення дає змогу відстежувати зміну вмісту обох речовин при зберіганні, а також контролювати можливі продукти їх взаємодії.

Такий підхід оптимізує рутинну роботу лабораторій, підвищує точність та надійність результатів аналізів.

3.1 Порівняльний аналіз валідаційних характеристик методик одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах

Для перевірки усіх методів були визначені наступні валідаційні параметри: лінійність, прецизійність, точність, специфічність, робастність, значення LOD та LOQ та прецизійність системи. Валідаційні випробування проводилися відповідно до настанов ІСН та наведені у табл. 3.1.

Таблиця 3.1 Результати валідації методик одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю

Параметр	Ацетилсаліцилова кислота	Клопідогрель	Примітка
Високоєфективна рідинна хроматографія			
Діапазон лінійності	4–24 мкг/мл	4–24 мкг/мл	$r > 0,999$
Відновлення (точність)	$99,98 \pm 0,28\%$	$100,16 \pm 66\%$	Висока точність
Прецизійність (RSD)	0,102%	0,189%	$RSD < 1\%$
Проміжна прецизійність	$< 2\%$	$< 2\%$	Висока відтворюваність
LOD	0,014 мкг/мл	0,047 мкг/мл	Висока чутливість
LOQ	0,046 мкг/мл	0,157 мкг/мл	Висока чутливість
Специфічність	Немає впливу	Немає впливу	Допоміжні речовини не мають впливу
Робастність	Варіації площі піків $< 1\%$	Варіації площі піків $< 1\%$	Протягом 24 годин суттєвих змін не спостерігалось

продовження таблиці 3.1

Параметр	Ацетилсаліцилова кислота	Клопідогрель	Примітка
Високоєфективна тонкошарова хроматографія			
Діапазон лінійності	400–1400 нг/пляма	400–1400 нг/пляма	$r > 0,998$
Відновлення (точність)	$99,93 \pm 0,55\%$	$100,21 \pm 83\%$	Висока точність
Прецизійність (RSD)	0,279%	0,311%	RSD < 1%
Проміжна прецизійність	< 2%	< 2%	Висока відтворюваність
LOD	82,86 нг/мл	112,66 нг/мл	Висока чутливість
LOQ	276,21 нг/мл	375,55 нг/мл	Висока чутливість
Специфічність	Немає впливу	Немає впливу	Допоміжні речовини не мають впливу
Робастність	Варіації площі піків < 1%	Варіації площі піків < 1%	Протягом 24 годин суттєвих змін не спостерігалось

Параметр	Ацетилсаліцилова кислота	Клопідогрель	Примітка
Обернено-фазова рідинна хроматографія			
Діапазон лінійності	50-250 мкг/мл	25-125 мкг/мл	$r > 0,999$
Відновлення (точність)	100,2%	100,7%	Висока точність
Прецизійність (RSD)	$RSD \leq 0,5\%$	$RSD \leq 0,5\%$	$RSD < 1\%$
Проміжна прецизійність	$< 2\%$	$< 2\%$	Висока відтворюваність
LOD	82,86 нг/мл	112,66 нг/мл	Висока чутливість
LOQ	276,21 нг/мл	375,55 нг/мл	Висока чутливість
Специфічність	Немає впливу	Немає впливу	Домішки та допоміжні речовини не мають впливу
Робастність	Незначні зміни при варіації параметрів	Незначні зміни при варіації параметрів	Коливання температури, рН та складу фази не впливали на результати

Усі три методи продемонстрували лінійність у відповідному концентраційному діапазоні: для ВЕРХ ідентичний діапазон становив 4–24 мкг/мл для обох субстанцій при коефіцієнті кореляції $r > 0,999$; для ВТШХ – 400–1400 нг/пляма при $r > 0,998$; для ОФРХ – 50–250 мкг/мл для АСК та 25–125 мкг/мл для КП ($r > 0,999$). Це свідчить про здатність усіх методів забезпечувати достовірну кількісну оцінку аналітів у широкому діапазоні концентрацій.

Точність (параметр відновлення) у всіх методах перевищувала 99%, що вказує на високу достовірність результатів. Проте слід зазначити, що при аналізі клопідогрелю спостерігалось значне стандартне відхилення у методах ВЕРХ ($\pm 66\%$) та ВТШХ ($\pm 83\%$), що може свідчити про підвищену варіабельність при визначенні цього компоненту.

Прецизійність, виражена через відносне стандартне відхилення (RSD), в усіх випадках була нижче 1%, що відповідає прийнятним межам згідно з регуляторними вимогами. Найнижчі значення прецизійності були досягнуті при використанні методу ВЕРХ (RSD 0,102% для АСК та 0,189% для КП), що вказує на його високу повторюваність. Метод ОФРХ продемонстрував аналогічно відтворюваність ($RSD \leq 0,5\%$).

Оцінка чутливості показала перевагу ВЕРХ над іншими методами. Граничні концентрації виявлення та кількісного визначення були найнижчими саме для ВЕРХ (LOD: 0,014 мкг/мл для АСК і 0,047 мкг/мл для КП; LOQ: 0,046 мкг/мл і 0,157 мкг/мл відповідно), що робить його придатним для аналізу мікроконцентрацій. У той час як ВТШХ та ОФРХ мали аналогічні межі виявлення, але вищі значення LOQ, що свідчить про відносно меншу чутливість.

Усі методи виявились специфічними – допоміжні речовини та домішки не мали впливу на результати аналізу, що підтверджує їх селективність. Крім того, дослідження робастності засвідчили, що варіації параметрів методу (час, температура, склад рухомої фази) не призводили до значних змін у результатах, що свідчить про стабільність методик у змінених умовах.

Таким чином, метод ВЕРХ може вважатися найоптимальнішим з точки зору чутливості та прецизійності, метод ОФРХ – як стабільний та надійний при змінних умовах, а ВТШХ – як альтернативний метод із високою точністю при низьких концентраціях.

3.2 Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах

У табл. 3.2 представлений порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації АСК та КП у твердих лікарських формах. Кожен із наведених методів застосовується для одночасного визначення ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю, проте суттєво відрізняється за технічними характеристиками, умовами аналізу та ефективністю розділення компонентів.

Таблиця 3.2. Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю

Критерій	Метод ВЕРХ	Метод ВТШХ	Метод обернено-фазової РХ
Принцип	Високоефективна рідинна хроматографія (HPLC)	Високоефективна тонкошарова хроматографія (HPTLC)	ВЕРХ з градієнтним елююванням
Колонка / Пластина	Nucleosil C8 (150×4.6 мм, 5 мкм)	Silica gel 60F254, 10×10 см, 0,2 мм шар	Luna C-18 (150×4.6 мм, 3 мкм)
Температура колонки	Кімнатна	Не вимагає температурного контролю	35°C
Мобільна фаза	Ацетонітрил:фосфатний буфер (55:45), рН 3.0	Етилацетат:метанол:толуол:оцтова к-та (5:1:4:0,1)	Градієнт: А (метанол + сольовий розчин), В (метанол:ацетонітрил)
Детекція	UV, 235 нм	UV, 235 нм	UV, 220 нм
Час утримання АСК/КП	2,38 / 4,44 хв	Rf: 0.55 / 0.79	14,8 / 30,0 хв
Об'єм ін'єкції / нанесення	20 мкл	4–14 мкл (нанесення на пластину)	10 мкл

Критерій	Метод ВЕРХ	Метод ВТШХ	Метод обернено-фазової РХ
Особливості	Простота, короткий час аналізу, висока відтворюваність	Недороге технічне забезпечення, можлива візуалізація плям	Висока роздільна здатність, чутливість до домішок
Чутливість до домішок	Не розділяє всі можливі домішки	Обмежена, не ідентифікує домішки окремо	Виявляє домішки, оптимізована селективність

Метод ВЕРХ базується на застосуванні колонки Nucleosil C8 та фази ацетонітрil:фосфатний буфер (55:45, рН 3,0), що забезпечує швидкий хроматографічний процес – час утримання АСК становив 2,38 хв, а КППГ – 4,44 хв. Метод має високу точність, простий у виконанні та дозволяє проводити аналіз у короткий термін.

Метод ВТШХ реалізується на пластинах із силікагелем (Silica gel 60F254), з використанням складної мобільної фази (етилацетат:метанол:толуол:оцтова кислота). Значення R_f для АСК становило 0,55, а для КППГ – 0,79, що свідчить про задовільне розділення. Метод є технічно простішим і економічно вигіднішим, з можливістю візуалізації зон детекції.

Метод обернено-фазової рідинної хроматографії з градієнтним елююванням виявився найчутливішим і найселективнішим. Він використовує колонку Luna C18 та двокомпонентну мобільну фазу з градієнтом, що забезпечує високу роздільну здатність і чутливість до домішок. Час утримання для АСК та КППГ становив відповідно 14,8 хв та 30,0 хв, що значно довше, ніж у ВЕРХ. Проте такий підхід дозволяє повноцінно ідентифікувати активні компоненти та можливі домішки.

Детекція в УФ-діапазоні при 220–235 нм є спільною для всіх методів, однак використання різних довжин хвиль оптимізовано під конкретну систему.

Порівняльний аналіз виявив, що:

- 1) За швидкістю аналізу перевага за ВЕРХ (менше 5 хв загального часу утримання);
- 2) За простотою реалізації та вартістю обладнання лідирує ВТШХ;
- 3) Найвищу селективність і чутливість до домішок демонструє обернено-фазовий градієнтний метод.

3.3. Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у таблетованих формах

Порівняння трьох аналітичних підходів до одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у таблетованих формах показало, що кожен із методів має свої переваги та обмеження, які варто враховувати при виборі методики для конкретних цілей фармацевтичного аналізу.

Таблиця 3.3 Переваги та обмеження методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у таблетованих формах

Метод	Переваги	Обмеження
ВЕРХ	– Висока точність і лінійність результатів – Висока відтворюваність – Підходить для рутинного контролю якості – Швидкий аналіз	– Обмежена здатність до виявлення і розділення домішок – Менш ефективний при аналізі складних матриць
ВТШХ	– Простота реалізації – Низька вартість обладнання – Можливість візуального контролю – Підходить для швидкого скринінгу	– Менша чутливість – Обмежена точність – Не придатний для якісного аналізу домішок – Вимагає досвіду інтерпретації

Метод	Переваги	Обмеження
ОФРХ	– Максимальна селективність і чутливість – Висока точність – Виявлення як діючих речовин, так і домішок – Ідеальний для досліджень і контролю стабільності	– Висока вартість обладнання – Складне налаштування – Триваліший аналіз

Метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) є найбільш поширеним у фармацевтичній практиці завдяки своїй високій точності, лінійності, відтворюваності результатів. Він підходить для рутинного аналізу та контролю якості готових лікарських форм, де основним завданням є кількісне визначення діючих речовин. Проте його здатність виявляти і розділяти домішки є обмеженою, що звужує його застосування в більш складних випадках.

Метод високоефективної тонкошарової хроматографії (ВТШХ) є зручним і економічним інструментом для попереднього або візуального контролю вмісту діючих речовин. Він дозволяє швидко порівнювати зразки, але вимагає досвіду в інтерпретації результатів, є менш чутливим і не забезпечує повноцінного аналізу домішок. Цей метод може бути рекомендований для менш оснащених лабораторій або як допоміжний.

Найбільш складним і водночас найінформативнішим є метод обернено-фазової РХ, який забезпечує максимальну селективність та чутливість, особливо щодо домішок. Цей метод дозволяє детально ідентифікувати як основні речовини, так і домішки, що особливо важливо на етапі розробки лікарських засобів, при контролі стабільності та відповідності вимогам фармакопей. Метод є високоточним і надійним, але потребує більш дорогого обладнання та

складнішого налаштування, тому його доцільно використовувати в центральних лабораторіях контролю якості та в дослідницьких установах.

Таким чином встановлено, що для аналізу вмісту ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю при сумісній присутності у лікарському засобі доступні такі методи, як високоефективна рідинна хроматографія, зворотно-фазова високоефективна рідинна хроматографія, високоефективна тонкошарова хроматографія. Оскільки офіційна фармакопейна монографія у ДФУ на комбінацію ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю відсутня, незважаючи на наявність комбінованих препаратів на ринку України, то вказані методи застосовуються для рутинного аналізу та контролю якості готових лікарських форм. Для кількісного визначення діючих речовин, рекомендовано використовувати метод високоефективної рідинної хроматографії. Метод високоефективної тонкошарової хроматографії (ВТШХ) є зручним і економічним інструментом для попереднього або візуального контролю вмісту діючих речовин. Метод обернено-фазової РХ дозволяє детально ідентифікувати як основні речовини, так і домішки, що особливо важливо на етапі розробки лікарських засобів, при контролі стабільності та відповідності вимогам фармакопей, тому його доцільно використовувати в центральних лабораторіях контролю якості та в дослідницьких установах.

ВИСНОВКИ

1. У результаті проведеного аналізу встановлено відсутність офіційної фармакопейної монографії на комбінацію ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю. Констатовано, що для аналізу цих речовин у комбінації застосовують методи високоефективної рідинної хроматографії, зворотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії, високоефективну тонкошарову хроматографію.

2. Порівняльний аналіз методів одночасної ідентифікації ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю у твердих лікарських формах за критеріями: чутливість (у тому числі до домішок), роздільна здатність та селективність, валідаційні параметри, складність виконання аналізу, необхідне матеріально-технічне забезпечення, показав що кожен підхід має переваги і обмеження.

3. Оптимальним для контролю якості та безпеки комбінованих препаратів ацетилсаліцилової кислоти та клопідогрелю (з урахуванням домішок) є метод обернено-фазової рідинної хроматографії. Для швидкого та рутинного контролю лікарських засобів - методи високоефективної рідинної хроматографії і високоефективну тонкошарову хроматографію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Серцево-судинні захворювання – головна причина смерті українців. Висновки з дослідження Глобального тягаря хвороб у 2019 році. Центр громадського здоров'я МОЗ України. 2021: веб-сайт. URL: <https://phc.org.ua/news/sercevo-sudinni-zakhvoryuvannya-golovna-prichina-smerti-ukrainciv-visnovki-z-doslidzhennya>.
2. Середюк Л.В, Добровольська А.М. Ішемічна хвороба серця: вплив β-адреноблокаторів на фоні анксиолітичної терапії. *Міжнародний науковий журнал «Грааль науки»*. 2024, №37. С 448-450.
3. Мостовой Ю. М. та ін. Артеріальна гіпертензія, ішемічна хвороба серця, серцева недостатність : діагностика, клініка, лікування: Навчальний посібник / Ю. М. Мостовой, І. С. Чекман, А. Г. Степанюк, Л. В. Бурдейна. – Вінниця: ДП «ДКФ», 2012.– 240 с.
4. Мелень Ю.П., Ігнацевич М.П., Скибчи В.А. Особливості стенокардії в пацієнтів без обструктивного ураження коронарних артерій. *Практикуючий лікар*. 2022, №1. С 46-52.
5. Колчин Ю.М., Капронова Ю.С. Удосконалення діагностики та патогенетичного лікування хворих з постінфарктним кардіосклерозом у поєднанні з ожирінням та артеріальною гіпертензією. *Світ медицини та біології*. 2013, №2. С 133-137.
6. Інфаркт міокарда. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3356/infarkt-miokarda#list>.
7. Стожар П. Інфаркт міокарда: хвороба, що “молодшає”. Як вберегтись? *Український інтерес*. 2024: веб-сайт. URL: <https://uain.press/articles/infarkt-miokarda-hvoroba-shho-molodshaye-yak-vberegtis-435816>.

8. Тибекіна Ю.В. Ішемічна хвороба серця – що це, причини, симптоми, лікування. *CompliMed*. 2023: веб-сайт. URL: <https://complimed.com.ua/ishemichna-khvoroba-sertsya-shcho-tse-prychyn/>.
9. . Казак Л.І, Чекман І.С., Реплянчук Н.Д. Антагоністи кальцію у фармакотерапії артеріальної гіпертензії. *Раціональна фармакртеріанія*. 2011, № 19. С 56-58.
10. Антиаритмічні препарати. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2808/antiaritmichni-preparati>.
11. Сіренко Ю.М. Роль інгібіторів ангіотензинперетворюючого ферменту в сучасному лікуванні серцево-судинних захворювань. *Раціональна фармакртеріанія*. 2006. №1.
12. Статини. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/639/statini-abo-vastatini>.
13. Антикоагулянти. Фармацевтична енциклопедія: веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2823/antikoagulyanti>.
14. Еліквіс. Ліки контроль: веб-сайт. URL: [https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?\[30739\]](https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?[30739]).
15. Міщенко О. Я. Антиагрегантна терапія ішемічної хвороби серця. *Сучасна фармація*: веб-сайт. URL: <https://www.modern-pharmacy.com.ua/antiagregantna-terapiya-ishemichnoyi-hvorobi-sertsya>.
16. Клопідогрель. Ліки контроль: веб-сайт. URL: <https://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?%5B20596%5D>.
17. G. D. Barnes. Combining antiplatelet and anticoagulant therapy in cardiovascular disease. *Hematology*. 2020, № 1, P 642–648.

18. S. Yusuf, F. Zhao, S. R. Mehta et al. Effect of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST elevation. The CURE trial investigators. *N. Engl. J. Med.* 2001. V. 345, №7, P. 494–502.
19. S. Mehta, S. Yusuf, R. Peters et al. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet.* 2001. V. 358, P. 527.
20. C. Patrono, F. Bachmann, C. Baigent et al. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents the task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal.* 2004, V. 25, P. 166–181.
21. Важинський С.Е., Щербак Т.І. Методика та організація наукових досліджень. – Суми: СумДПУ імені А.С.Макаренка, 2016. – 260 с.
22. Гриньова В. М. Методологія наукових досліджень: навчальний посібник. – Харків: ХНАДУ, 2018. – 212 с.
23. Гончарук Т.В. Основи наукових досліджень: навч. посіб. – Тернопіль, 2014. – 272 с.
24. Іванова О. П. Логіка і методологія науки: основні напрямки аналізу. – Харків: НФА, 2018.
25. Державна фармакопея України / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. - 1-ше вид. – Доповнення 3 - Харків: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2009. 280 с.
26. M. Kowalska, M. Woźniak, M. Kijek, P. Mitrosz, J. Szakiel, P. Turek. Management of validation of HPLC method for determination of acetylsalicylic acid impurities in a new pharmaceutical product. *Scientific Reports.* 2022, №12, doi:10.1038/s41598-021-99269-x.
27. P. Bocheńska, A. Pyka. Determination of acetylsalicylic acid in pharmaceutical drugs by TLC with densitometric detection in UV. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.* 2012, V.35, №10, P. 1346-1363.

28. United States Pharmacopia, “Clopidogrel bisulfate,” 2022: веб-сайт. URL: http://ftp.uspbpep.com/v29240/usp29nf24s0_m18685.html.
29. Державна фармакопея України / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. - 1-ше вид. – Доповнення 2 - Харків: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2008. 620 с.
30. L. Vocilkovaa, R. Opatrilova, V. Sramek. Determination of clopidogrel by chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2009, V. 5, № 4.
31. E. Osmanovic Omerdic, L. Alagic-Džambic, M. Krstic, M. Pašic-Kulenovic, J. Odovic, D. Vasiljevic. In Vitro dissolution study of acetylsalicylic acid and clopidogrel bisulfate solid dispersions: validation of the RP-HPLC method for simultaneous analysis. *Appl. Sci*. 2020, №10, doi:10.3390/app10144792.
32. P. Shrivastava, P. Basniwal, D. Jain, and S. Shrivastava. Concurrent estimation of clopidogrel bisulfate and aspirin in tablets by validated RP-HPLC method. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. V. 70, № 5, P 667–669.
33. R. B. Patel, M. B. Shankar. Simultaneous estimation of acetylsalicylic acid and clopidogrel bisulfate in pure powder and tablet formulations by high-performance column liquid chromatography and high-performance thin-layer chromatography. *Journal of AOAC international*. 2008, V. 91, №. 4, P. 750-755.
34. G. Kahsay et al. Development and validation of a liquid chromatographic method for purity control of clopidogrel–acetylsalicylic acid in combined oral dosage forms. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2012, № 61, P.271–276.



SUMMARY

Trotsiuk Anastasiia

Topic: “Comparative analysis of methods for identifying the combination of acetylsalicylic acid and clopidogrel in solid dosage forms”

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Zaitseva Galyna, Lysenko Tetiana

Keywords: cardiovascular diseases, ischemic heart disease, anticoagulants, acetylsalicylic acid, clopidogrel, HPTLC, RP-HPLC

Introduction. Cardiovascular diseases remain one of the leading causes of mortality worldwide, including in Ukraine. There is significant interest in the possibilities of combining different antiplatelet agents in the treatment of heart diseases. Considering the different mechanisms of action of antiplatelet drugs, their combinations allow for a faster and more pronounced inhibition of platelet aggregation, while reducing the doses of active substances – which improves the safety profile of the used combination. Among modern dual antiplatelet therapy regimens, the combination of acetylsalicylic acid and clopidogrel remains the leader. Its effectiveness in preventing stent thrombosis and treating acute coronary syndromes has been demonstrated in clinical studies.

The simultaneous determination of acetylsalicylic acid and clopidogrel in solid dosage forms offers several important advantages for laboratories, including time and resource savings, reduction in the number of samples and reagents required, increased productivity, and minimized measurement errors.

Materials and methods. Bibliographic and logical analysis using analytical-comparative method and generalization method to study methods for simultaneous identifying of acetylsalicylic acid and clopidogrel in solid dosage forms.

Results. As a result of bibliosemantic analysis, it was established that there is no official pharmacopoeial monograph for the combination of acetylsalicylic acid and clopidogrel. According to the literature, available methods for the analysis of these

substances in combination include high-performance liquid chromatography (HPLC), reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC), and high-performance thin-layer chromatography (HPTLC).

A comparative analysis of methods for the simultaneous identification of acetylsalicylic acid and clopidogrel in solid dosage forms was performed. The comparison of three approaches for the simultaneous determination of acetylsalicylic acid and clopidogrel demonstrated that each method has its strengths and limitations.

High-performance liquid chromatography is characterized by high accuracy, reproducibility, and linearity, making it suitable for routine quality control, though it offers limited capability for impurity detection.

High-performance thin-layer chromatography is simple, cost-effective, and convenient for preliminary control and comparative analysis of samples, but it is less sensitive and unsuitable for comprehensive impurity determination.

Reversed-phase high-performance liquid chromatography is the most informative and precise method, providing detailed determination of both main substances and impurities. It is recommended for drug development, stability studies, and compliance with pharmacopoeial standards. However, it requires more sophisticated equipment and qualified personnel.

Conclusions. The choice of analytical method depends on the purpose of the analysis, the available equipment, financial resources, and the required level of accuracy and detail. For comprehensive quality and safety control of combined acetylsalicylic acid and clopidogrel preparations, particularly with regard to impurities, the reverse-phase HPLC method is the most appropriate. At the same time, HPLC and HPTLC methods can be valuable in routine practice, especially for rapid and routine testing of pharmaceutical products.