

<https://doi.org/10.31891/2307-5732-2025-349-85>

УДК 661.12:001.891

ФЕДОРЕНКО ВОЛОДИМИР

Київський національний університет технологій та дизайну
Акціонерне товариство «Фармак»
<https://orcid.org/0009-0003-5113-6848>
e-mail: fedorenko.vv@knutd.edu.ua

БЕГДАЙ АНАСТАСІЯ

Київський національний університет технологій та дизайну
<https://orcid.org/0009-0001-9868-066X>
e-mail: a.behdai@kyivpharma.eu

ЯРЕМЕНКО ВОЛОДИМИР

Київський національний університет технологій та дизайну
Акціонерне товариство «Фармак»
<https://orcid.org/0009-0001-1757-5500>
e-mail: yaremenko.vv@knutd.edu.ua

ЧОРНИЙ ОЛЕКСАНДР

Акціонерне товариство «Фармак»
<https://orcid.org/0000-0002-6949-9247>
e-mail: o.chornyi@farmak.ua

ГОЙ АНДРІЙ

Акціонерне товариство «Фармак»
<https://orcid.org/0009-0004-7044-4050>
e-mail: a.goy@kyivpharma.eu

РОЗРОБКА НЕФЕЛОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ КОАГУЛЯЦІЇ ПЛАЗМИ КРОВІ

Пероральне введення лікарських засобів (ЛЗ) залишається найбільш зручним і бажаним методом доставки, забезпечуючи високий комплаєнс для пацієнтів. Однак, обмежена абсорбція, зумовлена низькою розчинністю або проникністю активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), часто призводить до низької біодоступності таких препаратів. Для вирішення цієї проблеми поширеним є використання твердих дисперсних систем (ТДС), які дозволяють покращити розчинність АФІ. Наприклад, одним з таких АФІ, які потребують підвищення розчинності є ривароксабан, прямий пероральний антикоагулянт фактора Ха. Проте, використання ТДС для підвищення розчинності даного АФІ потребує надійних аналітичних методик для оцінки їх ефективності, зокрема для вивчення кінетики коагуляції плазми крові.

Тому, метою дослідження було розроблення аналітичної *in vitro* методики для вивчення кінетики коагуляції плазми крові з використанням лазерного нефелометра, яка б дозволила оцінювати вплив різних підходів до підвищення розчинності АФІ, зокрема ТДС, та їх безпосередній вплив на ключовий показник – коагуляцію.

Методика була розроблена на основі аналізу літературних даних щодо методів дослідження антитромботичних ЛЗ. Було виявлено, що визначення активованого часткового тромбопластинового часу (АЧТЧ) є ефективним інструментом для оцінки впливу ривароксабану. Для використання даного засобу виконано розробку аналітичної методики на лазерному нефелометрі NEPHELOstar. Вона включала оптимізацію складу проби (плазма, реагент АЧТЧ, хлорид кальцію, розчин АФІ) і розробку параметрів приладу (температура, ширина лазера, чутливість, час циклу та ін.).

У результаті дослідження було визначено значення параметрів налаштування приладу: температура 37°C, ширина променя лазера 1,7 мм, чутливість 70%, час циклу 13 с та ін. Розроблена методика дозволяє візуалізувати вплив різних концентрацій ривароксабану (5 мкМ, 10 мкМ, 15 мкМ) на кінетику коагуляції плазми крові. Підтверджено що дана методика дозволяє визначити залежність кінетики коагуляції від концентрації ривароксабану.

Розроблена аналітична *in vitro* методика з використанням лазерного нефелометра є ефективним інструментом для вивчення кінетики коагуляції плазми крові та оцінки впливу антикоагулянтів, зокрема ривароксабану. Методика може бути використана для оцінки ефективності різних методів підвищення розчинності АФІ, шляхом аналізу кінетики коагуляції плазми крові.

Ключові слова: тверда дисперсна система, ривароксабан, коагуляція, нефелометр, активний фармацевтичний інгредієнт

FEDORENKO VOLODYMYR

Kyiv National University of Technologies and Design
«Farmak» Joint Stock Company

BEHDAI ANASTASIIA

Kyiv National University of Technologies and Design

YAREMENKO VOLODYMYR

Kyiv National University of Technologies and Design
«Farmak» Joint Stock Company

CHORNIY OLEKSANDR, GOY ANDRIY

«Farmak» Joint Stock Company

RESEARCH OF STRUCTURAL AND MECHANICAL PROPERTIES OF MEAT AS AN OBJECT OF PROCESSING IN MEAT COMMUNOTOR

Oral administration of medicinal products (MPs) remains the most convenient and preferred method of delivery, ensuring high patient compliance. However, limited absorption due to low solubility or permeability of active pharmaceutical ingredients (APIs) often leads to low bioavailability of such drugs. To solve this problem, it is common to use solid dispersion systems (SDS) to improve the solubility

of the API. For example, one such API that requires increased solubility is rivaroxaban, a direct oral factor Xa anticoagulant. However, the use of TDSs to increase the solubility of this API requires reliable analytical methods to evaluate their effectiveness, in particular, to study the plasma coagulation kinetics.

Therefore, the aim of the study was to develop an *in vitro* analytical methodology for studying the kinetics of plasma coagulation using a laser nephelometer, which would allow to assess the effect of different approaches to increasing the solubility of APIs, in particular, TDS, and their direct impact on the key indicator - coagulation.

The methodology was developed based on the analysis of literature data on methods for testing antithrombotic drugs. It was found that the determination of activated partial thromboplastin time (APTT) is an effective tool for assessing the effect of rivaroxaban. To use this tool, an analytical method was developed using the NEPHELOstar laser nephelometer. It included the optimisation of the sample composition (plasma, APTT reagent, calcium chloride, API solution) and the development of instrument parameters (temperature, laser width, sensitivity, cycle time, etc.).

As a result of the study, the values of the instrument setup parameters were determined: temperature 37°C, laser beam width 1.7 mm, sensitivity 70%, cycle time 13 s, etc. The developed method allows visualising the effect of different concentrations of rivaroxaban (5 µM, 10 µM, 15 µM) on the kinetics of plasma coagulation. It was confirmed that this method allows to determine the dependence of coagulation kinetics on the concentration of rivaroxaban.

The developed *in vitro* analytical method using a laser nephelometer is an effective tool for studying the coagulation kinetics of blood plasma and assessing the effect of anticoagulants, in particular rivaroxaban. The technique can be used to evaluate the effectiveness of various methods of increasing the solubility of APIs by analysing the plasma coagulation kinetics.

Keywords: solid dispersion system, rivaroxaban, coagulation, nephelometer, active pharmaceutical ingredient

Постановка проблеми у загальному вигляді та її зв'язок із важливими науковими чи практичними завданнями

Використання перорального шляху введення ліків є найпоширенішим та бажаним методом доставки лікарських засобів завдяки своїй зручності. Завдяки цьому прихильність пацієнта до фармакотерапії і, отже, медикаментозне лікування такими ЛЗ є більш конкурентним порівняно з іншими шляхами доставки. Проте, такий підхід для багатьох препаратів може бути проблематичним і неефективним через низку причин. Наприклад, однією з таких причин є обмежена абсорбція ліків, що призводить до низької біодоступності. Вона є першочерговою серед потенційних проблем, з якими можна зіткнутися при пероральному введенні активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). Так, найбільш значущим фактором, що спричинює дані проблеми є невисока розчинність у воді та/або низький рівень проникності молекули АФІ через мембрану клітини. Таким чином, низькорозчинний у воді препарат, як правило, матиме обмежену швидкість всмоктування. Тому одним з напрямків фармацевтичних досліджень, спрямованих на покращення біодоступності діючих речовин є підвищення розчинності та швидкості розчинення важко розчинних у воді ЛЗ [1].

Для підвищення розчинності АФІ можна використовувати ряд методів: утворення солей, використання глибоких евтектичних сумішей, іонних рідин, поверхнево-активних речовин, комплексоутворення з циклодекстринами, солюбілізацію ЛЗ у розчинниках та подрібнення часток АФІ. Проте, одним з найефективніших та комерційно привабливих методів є включення АФІ у склад твердих дисперсних систем. ТДС – це щільний розподіл одного чи кількох АФІ в інертному, стабільному носії, наприклад полімері. При цьому важливими факторами, які зумовлюють підвищення розчинності та біодоступності у складі ТДС, є площа поверхні часток АФІ та його змочуваність. Використання ТДС дозволяє вирішити цілу низку проблем з безпекою, якістю, ефективністю та доступністю, які виникають під час створення різних ЛЗ, що містять важко розчинні у воді АФІ 2-го та 4-го класів, відповідно до біофармацевтичної системи класифікації (БСК) [2].

Одним з таких АФІ, що належать до 2-го класу БСК та потребують підвищення розчинності є ривароксабан, що відноситься до прямих пероральних антикоагулянтів фактора Ха (активованого фактора Х). Використання даного АФІ та інших, які відносяться до пероральних антикоагулянтів, набуло в останні роки високої популярності серед пацієнтів, які мають проблеми зі згортанням крові. Це в свою чергу підштовхнуло наукову спільноту до пошуку ефективних рішень з покращення ефективності даних препаратів шляхом підвищення розчинності АФІ.

Проте, для коректної оцінки проведених досліджень по створенню твердих дисперсій чи будь-яких інших способів підвищення розчинності, є необхідним використання валідованих аналітичних методик. Так, для дослідження АФІ антитромботичної дії, ключовою характеристикою ефективності є вивчення кінетики коагуляції плазми крові. Проте, в переважній більшості, дані по розробці таких методик є закритою корпоративною інформацією. Тому головною проблематикою даного дослідження стане розробка методики вивчення коагуляції плазми крові з використанням лазерного нефелометра. При розробці методики, вибору та характеристиці її ключових параметрів, що можуть вплинути на ефективність експериментів, необхідно спиратися на детальний аналіз літературних даних.

Аналіз досліджень та публікацій

Сучасні наукові дослідження з вивчення антитромботичних лікарських засобів у великій мірі спрямовані на пошук нових та дослідження генеричних препаратів. Кожен із цих напрямків потребує унікальних методик підготовки зразків та проведення досліджень [3]. Так, для порівняння нових генериків з активним фармацевтичним інгредієнтом ривароксабаном, використовували порівняльні дослідження *in vitro*. Розчинення отриманих таблеток здійснювали в розчині диметилсульфоксиду (ДМСО) який є сильним нефізіологічним розчинником, та не впливає на результати аналізів коагуляції. Вплив різних концентрацій ривароксабану (50-750 нг/мл) перевіряли проведенням наступних тестів: протромбінового часу (ПЧ), активованого часткового тромбoplastинового часу (АЧТЧ), тромбінового

часу (ТЧ) та інших методів. Найкращу кореляцію залежності коагуляції від концентрації АФІ було продемонстровано при дослідженні ПЧ, АЧТЧ та розбавленого тесту на отруту гадюки Рассела [4]. Набори АЧТЧ та ПТ використовували також при дослідженні цитратної плазми в яку додавали інгібітори фактора Ха в діапазоні концентрацій від 1,000 мкг/мл до 0,062 мкг/мл [5].

Для виявлення нових пероральних антикоагулянтів можна, наприклад, використовувати тромбеластографію. Застосування даного методу відпрацьовувалося на АФІ дабігатрану, апіксабану та ривароксабану. Основний розчин ривароксабану готували перемішуванням 20-мг таблетки ривароксабану в розчині диметилсульфоксиду та води 1:1, який розводили до кінцевої концентрації 20 нг/мкл ривароксабану [6]. Для досліджень використовували цитратну цільну кров з фінальною концентрацією АФІ від 22 нг/мл до 500 нг/мл. При цьому відмічалось, що пероральна доза 10 мг ривароксабану має максимальну концентрацію в плазмі 141 нг/мл [7].

Помітною є тенденція до використання при визначенні впливу антитромботичних засобів більш доступних та поширених наборів: протромбінового та активованого часткового тромбопластинового часу. Їх оцінка від різних виробників показує, що дані тести підходять більше для перевірки антикоагуляційного ефекту ривароксабану. В даному дослідженні АФІ розчиняли в ДМСО до концентрації 50 мкг/мл і розводили в плазмі людини в концентраціях від 31,3 нг/мл до 500 нг/мл. Також зазначається, що ривароксабан у дозі 20 мг спричинює середній мінімальний рівень 32 нг/мл і середній піковий рівень 290 нг/мл [8].

В науковій літературі аналізується також чутливість різних тестів. Визначається, що крива АЧТЧ доза-відповідь є нелінійною, і ця нелінійність сильно зростає з концентрацією прямих пероральних антикоагулянтів фактора Ха. Показано, що АЧТЧ дещо подовжується при максимальній концентрації препаратів. Порівняно з іншими прямими інгібіторами фактора Ха, ривароксабан має вищу чутливість до АЧТЧ. Проте, варто взяти до уваги, що в деяких випадках, тест АЧТЧ не виявляє концентрації до 200 нг/мл. Однак чутливість, часто варіюється в залежності від використовуваного виробника реагенту, та, відповідно, повинна встановлюватися для кожного виробника індивідуально [9]. Дослідниками відзначається помірне концентраційно залежне подовження тесту АЧТЧ, та зазначається, що чутливість залежить від реагенту, а між лабораторіями відхилення в результатах аналізів може становити від 14,3 % до 15,5 %. Протромбіновий час теж подовжується ривароксабаном, проте демонструє слабку кореляцію від концентрації АФІ. Також спостерігається зменшення кореляції зі збільшенням концентрації АФІ більше 50-100 нг/мл [10].

Окремо також досліджувався вплив ривароксабану при пероральному застосуванні, що є прямим інгібітором активованого фактора X (Ха), на протромбіновий час і активований частковий тромбопластиновий час до і після введення 15 мг ривароксабану. В даному випадку спостерігалася позитивна кореляція між концентрацією АФІ та тривалістю ПЧ та АЧТЧ [11].

Можна зробити висновок, що використання фінансово вигідних та водночас ефективних наборів для дослідження коагуляції плазми крові є достатньо поширеним та ефективним підходом для вивчення даного процесу. Тому доцільним буде при розробці методики визначення коагуляції плазми використовувати набір для вивчення АЧТЧ. Оскільки його використання надає змогу зафіксувати кореляцію між коагуляцією та концентрацією АФІ у плазмі крові.

Формулювання цілей статті

Метою роботи є розробка аналітичної *in vitro* методики для вивчення кінетики коагуляції плазми крові з використанням лазерного нефелометра, яка дасть змогу оцінювати вплив методів підвищення розчинності АФІ, зокрема твердих дисперсних систем, на коагуляційні властивості прямих пероральних коагулянтів, що впливають на фактор Ха, наприклад таких як ривароксабан.

Виклад основного матеріалу

Реактиви та обладнання. При проведенні експериментальних досліджень використовувалися такі реактиви: ривароксабан (Assia Chemical Industries Ltd, Ізраїль); диметилсульфоксид (Merck KGaA, Німеччина); кальцію хлорид (ПАТ «Галичфарм», Україна); контрольні плазми Dia-CONT I-II для коагуляційних тестів (Діагон ЛТД, Угорщина); АЧТЧ, рідкий Dia-PTT LIQUID (Діагон ЛТД, Угорщина); вода очищена.

У процесі досліджень застосовували таке обладнання та допоміжні матеріали: ваги аналітичні AS 60/220. R2 (Radwag, Польща); лабораторна установка водопідготовки RO-4 (Werner, Німеччина); пробірки типу Eppendorf об'ємом 2 мл; лазерний нефелометр NEPHELOstar (BMG LABTECH GmbH, Німеччина); кювети з кварцового скла з товщиною оптичного шару 1 см (Agilent, США); термостат для кювет DB-10C (Biosan, Латвія); одноканальні напівавтоматичні дозатори об'ємами 50, 1000 мкл (Dragon-Lab, Китай); таймер; лабораторний посуд.

Процес розробки методики. Виходячи з аналізу літературних даних по дослідженню антитромботичних ЛЗ та відповідних наборів для перевірки коагуляції плазми крові, було прийнято рішення побудувати дослідження на визначенні активованого часткового тромбопластинового часу. Для цього обрано відповідні реагенти: контрольну плазму, розчин Dia-PTT LIQUID та хлорид кальцію. Критеріями для вибору виробників аналітичних матеріалів були наявність сертифікатів якості на продукцію, прийнятна вартість та стабільність у виконанні замовлень. Так, в якості ключового компоненту було обрано пуловану плазму людини від здорових донорів, яка пройшла суху заморозку та

призначена для контролю АЧТЧ. Перед використанням дану плазму необхідно розвести 1 мл води очищеної та виконати помірне перемішування без струшувань.

Для подальшої активації внутрішнього шляху коагуляції використовується розчин Dia-PTT LIQUID, який містить стандартизовану кількість фосфоліпідів та контактний активатор (еллагову кислоту), що ініціює внутрішній шлях коагуляції. А подальше додавання хлориду кальцію індукуює утворення фібринового згустку. Тому, відповідно до рекомендацій виробника по застосуванню даного набору, було визначено об'єм та склад проби для подальших досліджень: 50 мкл плазми, 50 мкл розчину Dia-PTT LIQUID та 50 мкл хлориду кальцію. Згідно з рекомендаціями виробника концентрація хлориду кальцію в 50 мкл має становити 0,025 М.

Даний концепт було прийнято за основу для виконання подальших етапів компонування проби відповідно до визначених потреб. Тобто використання даного набору для дослідження впливу АФІ антитромботичних ЛЗ на кінетику коагуляції плазми крові. Тому вирішено зменшити використовуваний об'єм розчину хлориду кальцію з 50 мкл до 20 мкл при цьому збільшивши його концентрацію до 0,0625 М. Для цього необхідно взяти 500 мкл вихідного розчину з концентрацією 0,9 М та розвести його в 6700 мкл води очищеної. Це дозволяє використати 30 мкл для аналізу бажаного розчину не змінюючи рекомендований виробником об'єм проби.

Для відповідного аналізу було обрано АФІ ривароксабан. З літературних даних відомо, що даний компонент має низьку розчинність у воді [12]. Тому спочатку його розчиняли в ДМСО, потім додавали воду очищену в пропорції 1:1 та відбирали 30 мкл для внесення в аналізовану пробу. Для розробки методики було обрано наступні концентрації АФІ в перерахунку на 150 мкл об'єму проби: 5 мкМ, 10 мкМ та 15 мкМ. Щоб отримати дані концентрації необхідно зважити 0,00440 г АФІ, розчинити його в ДМСО та додати воду очищену. Кінцева концентрація в приготованому розчині становить 1000 мкМ (або ж 200 мкМ в 150 мкл). Подальше приготування необхідних концентрацій здійснюється шляхом розведення головного зразку до необхідних концентрацій.

Для первинного підбору параметрів було обрано використання розчину ДМСО:вода в пропорції 1:1 без використання АФІ. Це пов'язано з необхідністю нівелювання впливу АФІ на АЧТЧ та подальшої можливості використання сертифікатів якості для підтвердження часу коагуляції зазначеної виробником плазми та розчину Dia-PTT LIQUID. Тому підбір параметрів вимірювання виконувався без використання АФІ. Відповідно фінальний склад цільової аналізованої проби містив: 50 мкл плазми, 50 мкл розчину Dia-PTT LIQUID, 20 мкл хлориду кальцію та 30 мкл розчину з АФІ або без нього.

Після оптимізації проби для аналізу, було проаналізовано всі параметри лазерного нефелометра, які можна налаштовувати для виконання вимірювань. Повний перелік наявних показників для підбору та налаштування наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Перелік змінних показників лазерного нефелометра

Показник	Трактування показника	Розмірна величина	Діапазон можливих значень
Number of cycles	Кількість вимірів однієї лунки	н/в	1 - 200
Measurement time	Тривалість одного виміру	Секунди	0,05 - 25,0
Positioning delay	Затримка перед вимірюванням	Секунди	0,0 – 1,0
Read	Напрямок вимірювання лунок	н/в	Горизонтально/вертикально
Cycle time	Тривалість одного циклу	Секунди	1 - 12000
Gain	Чутливість фотоелектронного перетворювача	Відсотки	0 - 255
Laser beam focus	Ширина променя лазера	Міліметри	1,5 – 3,5
Shaking parameters	Параметри перемішування	н/в	Орбітально/лінійно
			Перед кожним циклом
			Перед першим циклом
			Після першого циклу
			Не перемішувати
Shaking time	Тривалість перемішування	Секунди	1 - 300
Shaking width	Відстань яку проходить планшета при перемішуванні	Міліметри	1 - 7
Temperature	Температура у вимірювальній камері	Градуси Цельсія	+5 - + 38

Першим обраним параметром є температура. Вона має становити, згідно з вимогами виробника набору для визначення коагуляції – 37 °С. Для цього у вимірювальній камері було увімкнено нагрів, а приготовлений розчин хлориду кальцію було додано в кювету та поміщено в термостат для підтримки його при постійному нагріві за температури 37 °С. Далі проводилося дослідження впливу ширини променя лазера та чутливості фотоелектронного перетворювача на рівень сигналу і його відповідність сертифікатам якості на плазму та Dia-PTT LIQUID. Для цього необхідно було підібрати Gain, який налаштовується залежно від ширини лазера та тривалості одного виміру. Відповідно чим більші дані

значення, – тим вищий рівень сигналу. Для кінетичних процесів необхідно виконувати такі налаштування параметрів, щоб значення перетвореного сигналу на початку процесу дослідження мали місце для збільшення і не переходили за недозволені виробником приладу межі. Виходячи з даного підходу було обрано тривалість одного вимірювання 1 с, оскільки це дозволяє отримувати максимальні значення вимірів до 500 000 a.u. Дане значення було обрано сталим оскільки дозволяє мати вже досить широкий діапазон при вимірюваннях, але ще не зменшує чутливість до швидкості реакції.

Для надання зразку більшої однорідності було додано перемішування. Так, для 96 лункового планшета рекомендується використовувати максимальну відстань яку планшет проходить при перемішуванні, тобто 7 мм за орбітальною траєкторією. Тривалість перемішування була визначена 10 с та здійснювалася перед першим виміром. Спочатку було встановлено ширину променя лазера 3,4 мм, при цьому чутливість фотоелектронного перетворювача становила 50 %. Отримані результати 5 вимірів були суперечливими та не показували чітких залежностей, відтворюваності і не відповідали вимогам сертифікатів якості. Причиною такого результату є те, що досліджувана суміш є досить в'язкою і викликає появу яскраво вираженого меніска, який негативно впливає на отриманий результат. Тому ширину променя лазера було зменшено до 1,7 мм, при цьому чутливість фотоелектронного перетворювача становила 70 %. Проведені 5 послідовних вимірів мали близькі результати до очікуваних – коагуляція починалася через 70 с від початку вимірювання, експоненційно зростала та поступово виходила на плато.

Далі було визначено кількість вимірів однієї лунки та тривалість одного циклу. Для цього було виконано вимірювання коагуляції під впливом 5 мкМ АФІ ривароксабану. Кількість циклів становила 200, а тривалість – 40 с. Було відмічено, що для фіксування експоненційної частини графіка необхідно щонайменше 20 хв, тому до цього часу було додано ще 8 хв, що забезпечує оптимальну тривалість дослідження та враховує можливі відхилення при вимірюваннях. Тривалість одного циклу була оцінена відповідно до коагуляції плазми, що не містила АФІ. Так як зазначений процес експоненційного зростання може тривати 100-130 с, то було вирішено збільшити кількість частоту вимірювань шляхом зменшення тривалості одного циклу до 13 с.

Відповідно фінальні параметри лазерного нефелометра для вимірювання кінетики коагуляції виглядають наступним чином: Number of cycles – 130; Measurement time – 1,0 с; Positioning delay – 0,1 с; Read – горизонтально; Cycle time – 13 с; Gain – 70 %; Laser beam focus – 1,7 мм; Shaking parameters – орбітально, перед першим циклом; Shaking time – 10 с; Shaking width – 7 мм; Temperature – 37,0 °C.

Використовуючи підібрані параметри дослідження було проаналізовано вплив трьох різних концентрацій ривароксабану (5 мкМ, 10 мкМ та 15 мкМ) на коагуляцію плазми крові (рис 1). Вимірювання зразків здійснювалося по чергово з використанням одних і тих самих параметрів. Було підтверджено, що дана методика дозволяє побачити вплив різних концентрацій антикоагулянта на кінетику процесу.

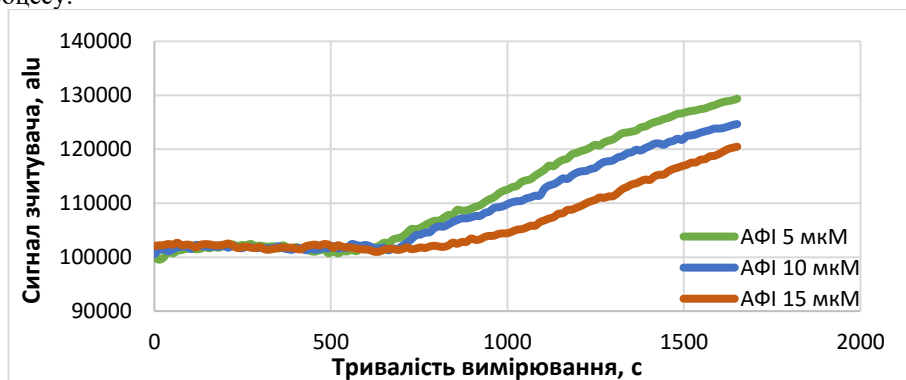


Рис. 1 Кінетичні криві коагуляції плазми крові під дією різних концентрацій АФІ

Так, на графіках чітко можна розділити кути нахилу кривих, час початку коагуляції, або ж її затримку по відношенню до зразків без АФІ та з'являється можливість розрахунку констант швидкості реакцій.

Висновки з дослідження і перспективи подальших розвідок у даному напрямі

Розроблено аналітичну *in vitro* методику для вивчення кінетики коагуляції плазми крові з використанням лазерного нефелометра. Ця методика дозволяє оцінити вплив різних концентрацій антикоагулянтів, зокрема ривароксабану, на процес коагуляції плазми крові. В результаті дослідження було визначено параметри лазерного нефелометра для вимірювання кінетики коагуляції.

Розроблена методика може бути використана для оцінки ефективності нових антикоагулянтів, а також для вивчення впливу різних факторів на процес коагуляції плазми крові. Це має важливе значення для розробки нових лікарських засобів, оцінки впливу твердих дисперсних систем на ефективність АФІ та може бути використана для вирішення широкого кола наукових і практичних завдань. Наступним етапом досліджень стане проведення превалідації та валідації даної методики.

Література

1. Kaushik, R., Budhwar, V., & Kaushik, D. (2020). An overview on recent patents and technologies on solid dispersion. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 14(1), 63-74. doi: 10.2174/1872211314666200117094406
2. Kapourani, A., Eleftheriadou, K., Kontogiannopoulos, K. N., & Barmplexis, P. (2021). Evaluation of rivaroxaban amorphous solid dispersions physical stability via molecular mobility studies and molecular simulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 157, 105642. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105642.
3. Ageno, W., Caramelli, B., Donadini, M. P., Girardi, L., & Riva, N. (2024). Changes in the landscape of anticoagulation: a focus on direct oral anticoagulants. *The Lancet Haematology*, 11 (12), 938-950. doi: 10.1016/S2352-3026(24)00281-3.
4. Mangion, K., Vella, K., Gatt, A., Vella, A. M., Borg, M., Borg-Aquilina, D., ... & Riva, N. (2024). A comparative in vitro study of the anticoagulant effect of branded versus generic rivaroxaban. *Thrombosis Research*, 235, 41-51. doi: 10.1016/j.thromres.2024.01.017.
5. Siddiqui, F., Hoppensteadt, D., Jeske, W., Iqbal, O., Tafur, A., & Fareed, J. (2019). Factor Xa inhibitory profile of apixaban, betrixaban, edoxaban, and rivaroxaban does not fully reflect their biologic spectrum. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 25, 1076029619847524. doi: 10.1177/1076029619847524.
6. Dias, J. D., Norem, K., Doorneweerd, D. D., Thurer, R. L., Popovsky, M. A., & Omert, L. A. (2015). Use of thromboelastography (TEG) for detection of new oral anticoagulants. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 139(5), 665-673. doi: 10.5858/arpa.2014-0170-OA.
7. Mueck, W., Schwerts, S., & Stampfuss, J. (2013). Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thrombosis journal*, 11, 1-17. doi: 10.1186/1477-9560-11-10.
8. Dale, B. J., Ginsberg, J. S., Johnston, M., Hirsh, J., Weitz, J. I., & Eikelboom, J. W. (2014). Comparison of the effects of apixaban and rivaroxaban on prothrombin and activated partial thromboplastin times using various reagents. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 12(11), 1810-1815. doi: 10.1111/jth.12720.
9. Dunois, C. (2021). Laboratory monitoring of direct oral anticoagulants (DOACs). *Biomedicines*, 9(5), 445. doi: 10.3390/biomedicines9050445.
10. Samuelson, B. T., Cuker, A., Siegal, D. M., Crowther, M., & Garcia, D. A. (2017). Laboratory assessment of the anticoagulant activity of direct oral anticoagulants: a systematic review. *Chest*, 151(1), 127-138. doi: 10.1016/j.chest.2016.08.1462.
11. Hillarp, A., Baghaei, F., Blixter, I. F., Gustafsson, K. M., Stigendal, L., Sten-Linder, M., ... & Lindahl, T. L. (2011). Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9(1), 133-139. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04098.x
12. Jeong, J. S., Ha, E. S., Park, H., Lee, S. K., Kim, J. S., & Kim, M. S. (2022). Measurement and correlation of solubility of rivaroxaban in dichloromethane and primary alcohol binary solvent mixtures at different temperatures. *Journal of Molecular Liquids*, 357, 119064. doi: 10.1016/j.molliq.2022.119064.

References

1. Kaushik, R., Budhwar, V., & Kaushik, D. (2020). An overview on recent patents and technologies on solid dispersion. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 14(1), 63-74. doi: 10.2174/1872211314666200117094406
2. Kapourani, A., Eleftheriadou, K., Kontogiannopoulos, K. N., & Barmplexis, P. (2021). Evaluation of rivaroxaban amorphous solid dispersions physical stability via molecular mobility studies and molecular simulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 157, 105642. doi: 10.1016/j.ejps.2020.105642.
3. Ageno, W., Caramelli, B., Donadini, M. P., Girardi, L., & Riva, N. (2024). Changes in the landscape of anticoagulation: a focus on direct oral anticoagulants. *The Lancet Haematology*, 11 (12), 938-950. doi: 10.1016/S2352-3026(24)00281-3.
4. Mangion, K., Vella, K., Gatt, A., Vella, A. M., Borg, M., Borg-Aquilina, D., ... & Riva, N. (2024). A comparative in vitro study of the anticoagulant effect of branded versus generic rivaroxaban. *Thrombosis Research*, 235, 41-51. doi: 10.1016/j.thromres.2024.01.017.
5. Siddiqui, F., Hoppensteadt, D., Jeske, W., Iqbal, O., Tafur, A., & Fareed, J. (2019). Factor Xa inhibitory profile of apixaban, betrixaban, edoxaban, and rivaroxaban does not fully reflect their biologic spectrum. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 25, 1076029619847524. doi: 10.1177/1076029619847524.
6. Dias, J. D., Norem, K., Doorneweerd, D. D., Thurer, R. L., Popovsky, M. A., & Omert, L. A. (2015). Use of thromboelastography (TEG) for detection of new oral anticoagulants. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 139(5), 665-673. doi: 10.5858/arpa.2014-0170-OA.
7. Mueck, W., Schwerts, S., & Stampfuss, J. (2013). Rivaroxaban and other novel oral anticoagulants: pharmacokinetics in healthy subjects, specific patient populations and relevance of coagulation monitoring. *Thrombosis journal*, 11, 1-17. doi: 10.1186/1477-9560-11-10.
8. Dale, B. J., Ginsberg, J. S., Johnston, M., Hirsh, J., Weitz, J. I., & Eikelboom, J. W. (2014). Comparison of the effects of apixaban and rivaroxaban on prothrombin and activated partial thromboplastin times using various reagents. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 12(11), 1810-1815. doi: 10.1111/jth.12720.
9. Dunois, C. (2021). Laboratory monitoring of direct oral anticoagulants (DOACs). *Biomedicines*, 9(5), 445. doi: 10.3390/biomedicines9050445.
10. Samuelson, B. T., Cuker, A., Siegal, D. M., Crowther, M., & Garcia, D. A. (2017). Laboratory assessment of the anticoagulant activity of direct oral anticoagulants: a systematic review. *Chest*, 151(1), 127-138. doi: 10.1016/j.chest.2016.08.1462.
11. Hillarp, A., Baghaei, F., Blixter, I. F., Gustafsson, K. M., Stigendal, L., Sten-Linder, M., ... & Lindahl, T. L. (2011). Effects of the oral, direct factor Xa inhibitor rivaroxaban on commonly used coagulation assays. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 9(1), 133-139. doi: 10.1111/j.1538-7836.2010.04098.x
12. Jeong, J. S., Ha, E. S., Park, H., Lee, S. K., Kim, J. S., & Kim, M. S. (2022). Measurement and correlation of solubility of rivaroxaban in dichloromethane and primary alcohol binary solvent mixtures at different temperatures. *Journal of Molecular Liquids*, 357, 119064. doi: 10.1016/j.molliq.2022.119064.