



Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії

Л. І. Кучеренко^{1,2}, С. О. Борсук¹, І. А. Мазур^{1,2}, Л. Г. Черковська¹, Д. Ю. Скорина¹

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²НВТ «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна,

Актуальним завданням сучасної медицини є розроблення засобів для лікування захворювань центральної нервової системи. Рішенням цієї проблеми стало створення нового ефективнішого нейропсихотропного препарату, який виявляє виражені антидепресивні, ноотропні, нейропротективні й антиоксидантні властивості на основі фіксованої комбінації L-триптофану з тіотриазоліном. Одним з етапів під час створення нового лікарського засобу є стандартизація діючих речовин.

Велику увагу приділяють новим фізико-хімічним методам досліджень лікарських засобів, зокрема високоефективній рідинній хроматографії (ВЕРХ). Усе частіше для визначення діючих речовин органічної природи як у монопрепаратах, так і в комбінованих лікарських формах використовують метод ВЕРХ. Тому для визначення діючих речовин, виходячи з їхніх властивостей, у новому комбінованому лікарському засобі L-триптофану та тіотриазоліну запропонували методику ВЕРХ.

Мета роботи – розробка методики одночасної стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну у штучній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії, зокрема підбір рухомої та нерухомої фаз.

Матеріали та методи. На першому етапі роботи здійснили підбір фази та елюентів для модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну у співвідношенні 1:1. За основу взяли методику аналізу тіотриазоліну на оберненій фазі (С 18) із використанням елюентів, що являють собою водно-метанольні суміші.

Результати. Протягом дослідження встановили, що зі збільшенням вмісту метанолу в суміші з фосфатним буфером об'єм утримування як триптофану, так і тіотриазоліну зменшився, а коефіцієнт розділення піків збільшився разом з числом теоретичних тарілок. Тому як на елюент звернули увагу на розчин 20 % метанолу з 80 % фосфатним буфером. У цих умовах об'єм утримування триптофану дорівнював 15,11 мл, тіотриазоліну – близько 6,05 мл, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком триптофану, – майже 3300 теоретичних тарілок.

Висновки. Розробили високочутливу методику одночасного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ, яку плануємо використовувати надалі. Розробили методику не тільки для стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну в комбінованому лікарському засобі, але і для їх визначення в біологічних рідинах.

Подбор оптимальных условий анализа смеси L-триптофана и тиотриазолина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Л. И. Кучеренко, С. А. Борсук, И. А. Мазур, Л. Г. Черковская, Д. Ю. Скорина

Актуальной задачей современной медицины является разработка средств для лечения заболеваний центральной нервной системы. Решением этой проблемы стало создание нового более эффективного нейропсихотропного препарата, который проявляет выраженные антидепрессивные, ноотропные, нейропротективные и антиоксидантные свойства на основе фиксированной комбинации L-триптофана с тиотриазолином. Одним из этапов при создании нового лекарственного средства является стандартизация действующих веществ.

Большое внимание уделяется новым физико-химическим методам исследования лекарственных средств, в частности высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Все чаще для определения действующих веществ органической природы как в монопрепаратах, так и в комбинированных лекарственных формах используется метод ВЭЖХ. Поэтому для определения действующих веществ, исходя из их свойств, в новом комбинированном лекарственном средстве L-триптофана и тиотриазолина была предложена методика ВЭЖХ.

Цель работы – разработка методики одновременной стандартизации L-триптофана и тиотриазолина в искусственной смеси методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, в частности подбор подвижной и неподвижной фаз.

Материалы и методы. На первом этапе работы осуществлен подбор фазы и элюента для модельной смеси L-триптофана и тиотриазолина в соотношении 1:1. За основу взята методика анализа тиотриазолина на обратной фазе (С 18) с использованием элюентов, представляющих собой водно-метанольные смеси.

ВІДОМОСТІ ПРО СТАТТЮ



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/133170>

УДК: 615.31:[547.792+547.757]:074:543.544.5.068.7
DOI: 10.14739/2409-2932.2018.2.133170

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2018. – Т. 11, № 2(27). – С. 142–147

Ключові слова: L-триптофан, тіотриазолін, комбіновані лікарські засоби, модельна суміш, високоефективна рідина хроматографія.

E-mail: farm_chem@bigmir.net, borsuksergejij@gmail.com

Надійшла до редакції: 15.02.2018 // Після доопрацювання: 19.02.2018 // Прийнято до друку: 20.02.2018

Результати. В ході дослідження встановлено, що з увеличенням содержания метанола в суміші з фосфатним буфером об'єм утримання як триптофану, так і тіотриазоліну зменшився, а коефіцієнт розділення піків збільшився разом з числом теоретических тарелок. Позтому в качестве елюента звернули увагу на розчин 20 % метанола з 80 % фосфатним буфером. В даних умовах об'єм утримання триптофану становить 15,11 мл, тіотриазоліну – приблизно 6,05 мл, ефективність хроматографіческої колонки, розрахована по піку триптофану, – приблизно 3300 теоретических тарелок.

Висновки. Розроблено високочувствительна методика одночасного визначення L-триптофану і тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЭЖХ, яку плануємо використовувати в подальших дослідженнях. Розроблено методика не тільки для стандартизації L-триптофану і тіотриазоліну в комбінованому лікарському засобі, але і для їх визначення в біологіческіх рідинах.

Ключеві слова: L-триптофан, тіотриазолін, комбіновані лікарські засоби, модельна суміш, високоефективна рідинна хроматографія.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики. – 2018. – Т. 11, № 2(27). – С. 142–147

Optimization of L-tryptophan and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography

L. I. Kucherenko, S. O. Borsuk, I. A. Mazur, L. G. Cherkovska, D. Yu. Skoryna

Introduction. An actual task of modern medicine is the development of treatment methods of the central nervous system diseases. The solution of this problem was the creation of new, more effective neuropsychotropic drug that shows pronounced antidepressant, nootropic, neuroprotective and antioxidant effects based on the fixed combination of L-tryptophan with thiotriazoline. One of the steps in creating a new drug is the standardization of active ingredients.

Today, much attention is being paid to new physical-chemical methods of drugs study, including high-performance liquid chromatography (HPLC). Increasingly, the HPLC method is used for the determination of active ingredients of organic nature, both in mono-preparations and in combined dosage forms.

Therefore, we have proposed the HPLC method for new combined L-tryptophan and thiotriazoline drug in order to determine active substances based on their effects.

The purpose of our study is to develop a method for the simultaneous standardization of L-tryptophan and thiotriazoline in an artificial compound by high-performance liquid chromatography, in particular the selection of the mobile and stationary phase.

Materials and methods. In the first stage of our work, a selection of phase and eluents was carried out for L-tryptophan and thiotriazoline model compound in a ratio of 1:1. The analysis method of thiotriazoline in the reverse phase (C 18) using the eluents, which are water-methanol compounds, was taken as a basis.

Results. In the course of study, it was found that the retention volume of both tryptophan and thiotriazoline decreased, and the peak distribution coefficient increased with the number of theoretical plates with increasing content of methanol in phosphate buffer compound. Therefore, as an eluent, attention was drawn to a solution of 20 % methanol with 80 % phosphate buffer. Under these conditions, the tryptophan retention volume was 15.11 ml, thiotriazoline – about 6.05 ml, the efficacy of the chromatographic column, calculated on the tryptophan peak of about 3300 theoretical plates.

Findings. A highly sensitive technic was developed as part of the study for the simultaneous determination of L-tryptophan and thiotriazoline in a model mixture by HPLC (high performance liquid chromatography method, that is planned to be used in further study, was developed as a part of the study. The method is developed not only for L-tryptophan and thiotriazoline standardization in the combined drug, but also for their determination in biological fluids.

Key words: L-tryptophan, thiotriazoline, combination drugs, model mix, high-performance liquid chromatography.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2018; 11 (2), 142–147

У сучасному розумінні стрес – це тривожність стану свідомості та тіла, що пов'язана з занепокоєнням, напруженням, нервозністю. У житті кожної людини трапляються моменти, коли вона перебуває у стресі або тривожному стані. Стан тривоги допомагає людині упоратися з зовнішніми небезпеками, змушуючи мозок інтенсивно працювати і приводячи організм у стан готовності до дії. Коли тривоги та стреси починають придушувати людину, впливати на її повсякденне життя, можуть виникати так звані стресові розлади. Такі стани (зокрема панічні стани, страх втратити роботу, специфічні страхи, посттравматичні стреси, obsesивно-компульсивні розлади та загальний стан неспокою), як правило, починають проявлятися у віці 15–20 років. Нині такі розлади є одними з найбільш поширених порушень нервової системи, їх

вважають хронічними хворобами, які можуть прогресувати без лікування [1].

У лікуванні таких порушень та ускладнень ЦНС використовують анксиолітичні лікарські засоби. Однак їхнє застосування обмежує токсичність, а також низка побічних ефектів [2].

Вирішенням порушеної проблеми стало створення нового більш ефективного нейропсихотропного засобу, який виявляє виражені анксиолітичні, стрес-протекторні та ноотропні властивості [3].

Велику увагу в Європі та світі серед анксиолітичних лікарських засобів викликає структурний аналог нейротрансмітерів – L-триптофан. Ця незамінна амінокислота сприяє зниженню тривожності, гіперактивності, нав'язливих станів і синдрому хронічної

втоми, підвищує настрій, усуває напруження та відчуття страху, поліпшує засинання, нормалізує сон. Але цей лікарський засіб не має ноотропної, стреспротективної та антиоксидантної дії при самостійному застосуванні, а також характеризується такими побічними ефектами, як сухість ротової порожнини, сонливість, зниження апетиту [2].

Цю проблему може розв'язати створення нейропсихотропного препарату, який має виражені антидепресивні, ноотропні, нейропротективні й антиоксидантні властивості, на основі фіксованої комбінації L-триптофану з тіотриазоліном, що дало змогу також значно зменшити обсяг побічних ефектів. Таким препаратом є лікарський засіб L-триптофану з тіотриазоліном (250 мг L-триптофану, 50 мг тіотриазоліну, 250 мг допоміжних речовин), який виявляє більш виражені анксиолітичні, стреспротекторні, седативні властивості. Виявили також його нові фармакологічні властивості: ноотропну, нейропротективну, антиоксидантну, протишемічну й актопротективну, – що дають змогу розширити його застосування, на відміну від L-триптофану та інших анксиолітичних засобів [3,4].

Одним із завдань під час розробки нових лікарських засобів є підтвердження їхньої якості. Сучасний розвиток фармацевтичного аналізу потребує глибшого та детальнішого аналізу хімічного складу різноманітних сумішей і комбінацій. Крім того, для хімічного виробництва, зокрема для виготовлення лікарських засобів, характерне постійне підвищення вимог до їхньої чистоти, посилення методів контролю, тенденція до кількісних критеріїв під час оцінювання якості. Тому крім оцінювання інтегральних характеристик, властивих об'єкту дослідження загалом, часто потрібне детальне вивчення вмісту окремих компонентів, що визначають якість лікарського препарату [5]. Оптимальним рішенням цього завдання є одночасне визначення L-триптофану з тіотриазоліном у модельній суміші. Частіше за все сумісне визначення компонентів у багатокомпонентній суміші ускладнюється або неможливе без застосування сучасних фізико-хімічних методів. Серед таких методів переважає високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Бурхливий розвиток цього методу відкрив можливість одночасного визначення сумішей, що містять десятки, а то й сотні компонентів [6,7]. Цей метод у відповідних умовах дає змогу одночасно ідентифікувати та кількісно визначити діючі речовини в лікарських засобах, тому актуальною є розробка методики одночасного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші за допомогою методу ВЕРХ.

Мета роботи

Розроблення методики одночасної стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну у штучній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії, зокрема підбір рухомої та нерухомої фаз.

Матеріали і методи дослідження

Для нового комбінованого лікарського засобу, що містить L-триптофан і тіотриазолін, необхідно розробити оптимальні методи стандартизації. Для цього виготовили 6 серій модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну в співвідношенні 1:1. Таке співвідношення обрали, щоб визначити можливість одночасного сумісного визначення L-триптофану (виробник Sigma-Aldrich) та тіотриазоліну (виробник ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України).

Насамперед за основу взяли вже відому методику аналізу тіотриазоліну на зворотній фазі з використанням кислого фосфатного буфера (рН 3) при довжині хвилі 220 нм. У цих умовах тіотриазолін утримується майже 8 хв [8,9].

Приклад хроматограми робочого розчину тіотриазоліну (0,4 мг/мл) наведено на *рис. 1*.

Використовуючи цю методику, а також у відповідних умовах хроматографування зняли хроматограму робочого розчину L-триптофану.

Приклад хроматограми робочого розчину L-триптофану (0,4 мг/мл) наведено на *рис. 2*.

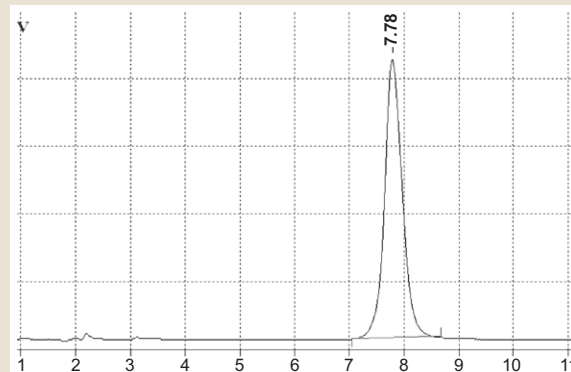


Рис. 1. Хроматограма робочого розчину тіотриазоліну (0,4 мг/мл тіотриазоліну). Елюент: 10 % метанолу: 90 % фосфатного буфера. Фаза: С 18.

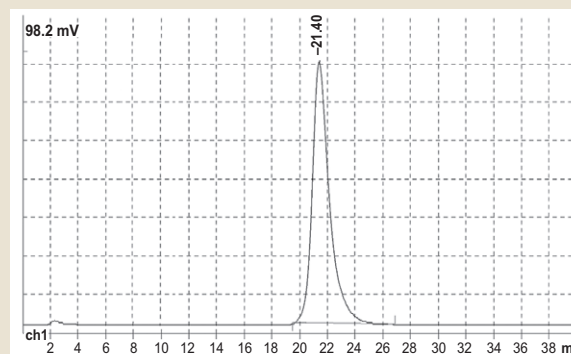


Рис. 2. Хроматограма робочого розчину триптофану (0,4 мг/мл L-триптофану). Елюент: 10 % метанолу: 90 % фосфатного буфера. Фаза: С 18.

На основі досліджень розробили методику одночасного визначення L-триптофану з тіотриазоліном у модельній суміші з використанням таких самих рухомої та нерухомої фаз, а також схожих умов хроматографування, які використовували під час дослідження тіотриазоліну.

Для спільного визначення діючих речовин методом ВЕРХ користувалися методикою, яку наводимо.

Приготування розчинів

Робочий розчин 1. 0,01 г (точна наважка) тіотриазоліну розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Робочий розчин 2. 0,01 г (точна наважка) триптофану розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Досліджуваний розчин. 1 мл робочого розчину 1 і 1 мл робочого розчину 2 поміщають у мірну колбу на 10 мл і доводять водою до мітки.

Застосовували свіжоприготований розчин.

Хроматографували досліджуваний розчин не менше ніж тричі та розрахували середню площу піків.

Дослідження виконали з використанням модульної системи для ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, ФРН) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010 на оберненій фазі.

Для кількісного визначення діючих речовин методом ВЕРХ використовували:

– колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мл з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

– елюент: 10 % метанолу – 90% фосфатного буфера, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калію та фосфатну кислоту (рН 3).

– швидкість рухомої фази – 1 мл/хв;

– довжина хвилі детектора – 220 нм;

– об'єм введеної проби – 10 мкл;

– температура термостату колонки – +25 °С.

Здійснили інші дослідження сумісного визначення модельної суміші L-триптофану й тіотриазоліну з використанням тих самих умов хроматографування, але з іншим елюентом, до складу якого входять 20 % метанолу та 80 % фосфатного буфера.

За вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ), для визначення ефективності та селективності методу вираховували такі показники, як коефіцієнт розділення, число теоретичних тарілок.

Коефіцієнт симетрії піка обчислюється за формулою:

$$A_s = \frac{b_{0,05}}{2d},$$

$b_{0,05}$: ширина піка на одній двадцятій висоти піка;

d : відстань між перпендикуляром, який опущений з максимуму піка, і передньою межею піка на одній двадцятій висоти піка.

Коефіцієнт розділення (R_s) обчислюється за формулою:

$$R_s = \frac{1,18(t_{Rb} - t_{Ra})}{b_{0,5a} + b_{0,5b}},$$

$$t_{Rb} > t_{Ra}$$

t_{Ra} і t_{Rb} : відстані вздовж базової лінії від точки введення до перпендикулярів, опущених з максимумів двох сусідніх піків, у міліметрах;

$b_{0,5a}$ і $b_{0,5b}$: ширина піків на половині висоти, у міліметрах.

Якщо немає інших позначок у конкретній статті, результати аналізу вважають вірогідними, коли коефіцієнт розділення для вимірюваних піків на хроматограмі понад 1,0.

Число теоретичних тарілок (n) обчислюється з даних, що одержані в ізократичному режимі, за формулою:

$$n = 5,54 \left(\frac{t_R}{t_{0,5}} \right)^2,$$

t_R : відстань вздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикуляра, опущеного з максимуму піка аналізованої речовини, у міліметрах;

$t_{0,5}$: ширина піка на половині висоти, у міліметрах [10].

Результати та їх обговорення

Аналізуючи модельну суміш L-триптофану та тіотриазоліну з використанням як елюенту 10 % суміші метанолу й фосфатного буфера, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калію і фосфатну кислоту (рН 3), колонки Prontosil Eurobond C-18, отримали наступні результати. Об'єм утримування L-триптофану в цих умовах – майже 21,4 мл, тіотриазоліну – майже 7,6 мл. Симетрія піків задовільна (коефіцієнт симетрії піку тіотриазоліну дорівнює 1,125, L-триптофану – 1,18), коефіцієнт розділення – майже 8, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком L-триптофану, – майже 2100 теоретичних тарілок.

Приклад хроматограми робочого розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 3.

Надалі поступово збільшували вміст метанолу з 10 % до 20 % для зменшення об'єму утримування L-триптофану. В цих умовах об'єм утримування L-триптофану – майже 15,11 мл, тіотриазоліну – майже 6,05 мл. Коефіцієнт симетрії піків зменшився як для тіотриазоліну (з 1,125 до 1,030), так і для L-триптофану (з 1,180 до 1,100).

Приклад хроматограми робочого розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.

Як бачимо, зі збільшенням вмісту метанолу в суміші з фосфатним буфером зменшився об'єм утримування як тіотриазоліну (з 7,64 мл до 6,05 мл), так і L-триптофану (з 21,40 мл до 15,11 мл); коефіцієнт розділення збільшився до 10, а також збільшилось число теоретичних тарілок (з 2100 до 3300). Як відомо з фахової літератури, чим більше число теоретичних тарілок, тим вища ефективність, а

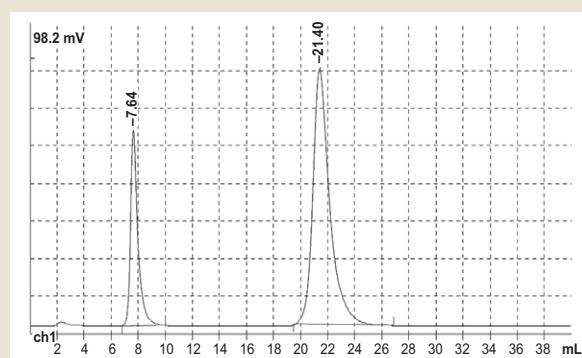


Рис. 3. Хроматограма робочого розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном. Елюент: 10 % метанолу – 90 % фосфатного буфера. Фаза: С 18.

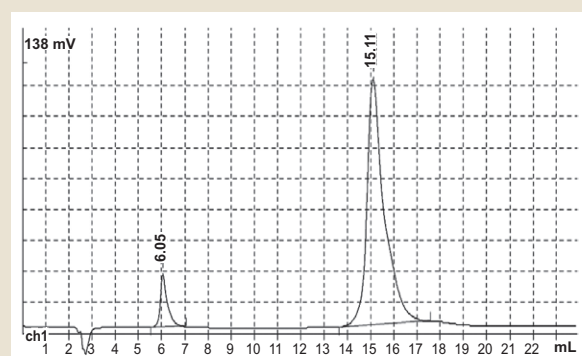


Рис. 4. Хроматограма робочого розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном. Елюент: 20 % метанолу: 80 % фосфатного буфера. Фаза – С 18.

також менша ширина піка. Тим більше, при визначенні в таких умовах хроматографування час утримування аналізованих речовин менший.

За наведеними результатами, при використанні як елюенту 20 % розчину метанолу в фосфатному буфері отримали точніші результати. Тому свій вибір зупинили на використанні цієї рухомої фази.

Висновки

1. Під час дослідження розробили високочутливу методику одночасного визначення модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом вискоєфективної рідинної хроматографії, яку плануємо використовуватися в наступних дослідженнях. Підібрані оптимальні умови для одночасної стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну в одній наважці.

2. Розроблену методику плануємо використовувати для стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну в комбінованому лікарському засобі.

Перспективи подальших досліджень. Плануємо використовувати розроблену методику ВЕРХ для визначення діючих речовин не тільки для стандартизації комбінованого лікарського засобу, до складу якого входять L-триптофан і тіотриазолін, але і для їх визначення в біологічних рідинах.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Кучеренко Л. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, віце-президент НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна.

Борсук С. О., викладач-стажист каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Мазур І. А., д-р фарм. наук, професор каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, президент НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна.

Черковська Л. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Скорина Д. Ю., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Кучеренко Л. И., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, вице-президент НПО «Фарматрон», г. Запорожье, Украина.

Борсук С. А., преподаватель-стажер каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Мазур И. А., д-р фарм. наук, профессор каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, президент НПО «Фарматрон», Украина.

Черковская Л. Г., канд. фарм. наук, доцент каф. фарм. химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Скорина Д. Ю., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Kucherenko L. I., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Vice-President of SPA "Farmatron", Zaporizhzhia, Ukraine.

Borsuk S. A., Teaching Assistant, Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Mazur I. A., Dr.hab., Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, President of the SPA "Farmatron", Zaporizhzhia, Ukraine.

Cherkovska L. G., PhD, Associate Professor, Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Skoryna D. Yu., PhD, Senior Lecturer, Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Неврозы и стресс / Ю.А. Фесенко, Л.П. Чурилов, В.А. Худик, и др. – СПб. : Фолиант, 2018. – 352 с.
- [2] Компендиум. Лекарственные препараты / под. ред. В.Н. Коваленко. – К. : Морион, 2013. – 2320 с.
- [3] Патент на винахід 112513 / № а201604961 МПК (2016), А61К 31/405 (2006.01) А61К 31/41 (2006.01) А61 Р 25/00 А61Р 25/28 (2006.01). Україна. Комбінований лікарський засіб анкіолітичної, стрес-протективної, ноотропної, антиоксидантної дії / Л.І. Кучеренко, С.О. Борсук, І.Ф. Беленічев. – заявл. 04.05.2016; опубл. 24.06.16 // Бюлетень. – №12.
- [4] Мазур І.А. Тіотриазолін / І.А. Мазур, Н.А. Волошин, І.С. Чекман. – Запорожье ; Львов : Наутилус, 2005. – 156 с.
- [5] Георгиевский Г.В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4 – триазола / Г.В. Георгиевский // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13. – №1. – С. 58–69.
- [6] Пахомов В.П. Хроматография у хіміко-фармацевтичних дослідженнях / В.П. Пахомов // Хіміко-фармацевтичний журнал. – 2003. – Т. 37. – №8. – С. 55–56.

- [7] Oiestad E.L. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / E.L. Oiestad, U. Johansen, A.S. Christophersen // *Clin Chem.* – 2007. – №53. – P. 300–309.
- [8] Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова, З.Б. Моряк, Г.І. Ткаченко // *Запорозький медичинський журнал.* – 2014. – №2. – С. 118–120.
- [9] Щодо сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ. Повідомлення 1: підбір фази для сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну у модельній суміші методом ВЕРХ / Л.І. Кучеренко, Г.Р. Німенко, О.В. Ващенко, В.В. Ващенко // *Фармацевтичний часопис.* – 2016. – №1. – С. 54–58.
- [10] Державна Фармакопея України / ДП «Науково експертний фармакопейний центр». – 2-е вид. – X., 2015. – 1126 с.
- References**
- [1] Fesenko, Yu. A., Churilov, L. P., Khudik, V. A., Stroeve, Yu. I., Danilenko, O. V., & Sobolevskaya, P. A. (2018). *Nevrozy i stress [Neurosis and stress]*. Saint Petersburg: Foliant. [in Russian].
- [2] Kovalenko, V. Kh. (ed.) (2013) *Kompendium 2013 – lekarstvennye preparaty [Kompodium 2013 – medications]*. Kyiv: Morion. [in Russian].
- [3] Kucherenko, L. I., Borsuk, S. O., & Belenichev, I. F. (2016) Patent 112513 / № a201604961 Ukraina, МПК (2016), А61К 31/405 (2006.01) А61К 31/41 (2006.01) А61 P 25/00 А61P 25/28 (2006.01). Kombinovanyi likarskyi zasib anksiolitychnoi, stres-protektivnoi, nootropnoi antyoksydantnoi dii [Anxiolytic, stress-protective, nootropic, and anti-oxidant combination drug]. *Biuletyn*, 12. [in Ukrainian].
- [4] Mazur, I. A., Voloshin, N. A., & Chekman, I. S. (2005) *Tiotriazolin [Thiotriazoline]*. Zaporozh'e, Lvov: Nautilus [in Russian].
- [5] Georgievskij, G. V. (2011) Razrabotka kompleksa fiziko-khimicheskikh metodik, obespechivayuschikh sozdanie i kontrol' kachestva original'nykh otechestvennykh preparatov, proizvodnykh 1,2,4-triazola [Development of a complex of physico-chemical methods that provide creation and control of the quality of original domestic preparations, derivatives of 1,2,4-triazole]. *Zaporozhye medical journal*, 1, 58–69. [in Russian].
- [6] Pakhomov, V. P. (2003) Khromatohrafiia u khimiko-farmatsevtichnykh doslidzhenniakh [Chromatography in chemical and pharmaceutical research]. *Khimiko-farmactvicheskij zhurnal*, 37(8), 55–56. [in Ukrainian].
- [7] Oiestad, E. L., Johansen, U., & Christophersen, A. S. (2007) Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.*, 53, 300–309. doi: 10.1373/clinchem.2006.074237.
- [8] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., Moryak, Z. B., & Tkachenko, H. I. (2014) Pidbir optimalnykh umov analizu shtuchnoi sumishi izoniazidu ta tiotriazolinu metodom vysokoeфекtyvnoi ridynnoi khromatohrafiї [Choice of optimal conditions of Isoniazid and Thiotriazolin artificial mixture analysis by high-performance liquid chromatography method]. *Zaporozhye medical journal*, 2, 118–120. [in Ukrainian]. doi: <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.2.25524>.
- [9] Kucherenko, L. I., Nimenko, H. R., Vashchenko, O. V., & Vashchenko, V. V. (2016). Shchodo sumisnoho vyznachennia karbamazepinu ta tiotriazolinu v modelnii sumishi metodom VERKh. Povidomlennia 1: pidbir fazy dlia sumisnoho vyznachennia karbamazepinu ta tiotriazolinu u modelnoi sumishi metodom VERKh [Carbamazepine and thiotriazoline simultaneous definition in model mixture by HPLC. Message 1: phase selection for the simultaneous determination of carbamazepine and thiotriazolin in model mixture by high performance liquid chromatography]. *Farmatsevtichnyi chasopys*, 1, 54–58. [in Ukrainian].
- [10] Derzhavne pidpriemstvo «Naukovo Ekspertnyi farmakopeinyi tsentr» (2015) *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]*. Kharkiv. [in Ukrainian].