



# Щодо підбору оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотріазоліном методом вискоєфективної рідинної хроматографії

Л. І. Кучеренко <sup>ID</sup>\*1,2,A,C,F, О. В. Хромільова <sup>ID</sup>1,B,D,E, О. О. Портна <sup>ID</sup>1,E, Г. І. Ткаченко <sup>ID</sup>1,B

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>2</sup>НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Україна посідає одне з перших місць у Європі за показниками цереброваскулярної захворюваності та смертності від інсульту. Тому розробка нових лікарських засобів для лікування цих патологій є актуальним завданням сучасної фармації, а створення нового комбінованого препарату на основі гліцину (нейротрансмітерної амінокислоти) та тіотріазоліну (антиоксиданта) є доцільним і актуальним. Для нового комбінованого лікарського засобу запропонували раціональну лікарську форму – таблетки. Для створених комбінованих таблеток необхідно розробити методи стандартизації. Найчастіше для стандартизації готових лікарських форм і аптечного, і заводського виготовлення використовують фізико-хімічні методи дослідження.

Нашу увагу привернув метод вискоєфективної рідинної хроматографії, який дає змогу одночасно здійснити стандартизацію діючих речовин в одній наважці. Для розробки методики ВЕРХ передусім необхідно дібрати оптимальні умови аналізу діючих речовин.

**Мета роботи** – підбір оптимальних умов одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном у модельній суміші методом ВЕРХ.

**Матеріали та методи.** Під час досліджень використовували гліцин і тіотріазолін. Дослідження виконали, використовуючи модульну систему ВЕРХ BISCHOFF зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010. Використовували колонки Prontosil 120-5-CN, Hypersil ODS-C18-5u. Як елюенти використовували воду, 0,05 % водний розчин трифтороцтової кислоти,  $\text{Cu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л у воді,  $\text{Cu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л, 0,02 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  у воді,  $\text{Cu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л, 0,05 % розчин трифтороцтової кислоти у воді.

**Результати.** За результатами дослідження, серед різних елюентів і фаз, які використали, надалі для сумісного визначення гліцину з тіотріазоліном і в модельній суміші, і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати як елюент тетрабутиламоній в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буфера – 0,05 % розчину трифтороцтової кислоти.

**Висновки.** Протягом досліджень дібрали оптимальні умови одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном в одній наважці. Встановили, що визначення діючих речовин необхідно здійснювати в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з застосуванням елюента з тетрабутиламонієм з одночасним використанням кислого буфера – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

## Optimization of glycine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography

L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova, O. O. Portna, H. I. Tkachenko

Today, Ukraine is ranked first in Europe in terms of cerebrovascular morbidity and mortality from stroke. Therefore, the creation of new drugs for the treatment of these pathologies is an urgent task of modern pharmacy. For that reason, the creation of a new combination drug based on glycine – a neurotransmitter amino acid and thiothiazolin – an antioxidant is appropriate and relevant. For the new combination drug, a rational dosage form in the form of tablets was proposed. New standardization methods should be developed for the combination of tablets. Nowadays, physical-chemical methods of research are widely used for standardization of finished dosage forms, both in pharmacy and factory production. Our attention was drawn to the method of high-performance liquid chromatography, which allows us to simultaneously standardize the active substances in one sample. To develop the HPLC methodology, it is first necessary to select the optimal conditions for the analysis of active substances.

**The aim of work** is a selection of optimal conditions for the simultaneous determination of glycine with thiotriazoline in the model mixture by HPLC method.

**Materials and methods.** In the course of the research, glycine, thiotriazolin were used. The studies were performed using a BISCHOFF HPLC modular system with a Lambda 1010 spectrophotometric detector. The columns used were: Prontosil 120-5-CN, Hypersil ODS-C18-5u.

### ВІДОМОСТІ ПРО СТАТТЮ

УДК 615.31'466.22+615.31'792].074:543.544.5.068.7

DOI: [10.14739/2409-2932.2020.2.207180](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180)

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 2(33). С. 244–248

Ключові слова: гліцин, тіотріазолін, таблетки, амінокислоти, ВЕРХ.

\*E-mail: [fam\\_chem@bigmir.net](mailto:fam_chem@bigmir.net)

Надійшла до редакції: 02.03.2020 // Після доопрацювання: 19.03.2020 // Прийнято до друку: 23.03.2020



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/207180>

As eluent used: water; 0.05 % aqueous trifluoroacetic acid solution; Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3.4 g/l in water; Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3.4 g/l, 0.02 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> in water; Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3.4 g/l, 0.05 % trifluoroacetic acid solution in water.

**Results.** As can be seen from the results obtained, it is expedient to use tetrabutylammonium in the conditions of pair chromatography on the reverse phase, among different eluents and phases used, for the subsequent determination of glycine with thiotriazolin, both in the model mixture and in the combined dosage forms with the simultaneous use of acid buffer – 0.05 % solution of trifluoroacetic acid.

**Conclusions.** During the research, the optimal conditions for the simultaneous determination of glycine with thiotriazoline in one sample by HPLC were selected. It was found that the determination of the active substances should be carried in the conditions of pair chromatography on the reverse phase when using tetrabutylammonium eluent with the simultaneous use of acid buffer – 0.05 % solution of trifluoroacetic acid

**Key words:** glycine, thiotriazoline, tablets, amino acids, HPLC.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2020; 13 (2), 244–248**

### Підбор оптимальних умов аналізу суміші гліцину з тіотріазоліном методом вискоєфективної рідинної хроматографії

Л. І. Кучеренко, О. В. Хромылёва, Е. А. Портная, Г. І. Ткаченко

Україна займає одне з перших місць в Європі за показателями цереброваскулярної захворюваності та смертності від інсульту. Пошук нових лікарських засобів для лікування цих патологій – актуальна задача сучасної фармації, а створення нового комбінованого препарату на основі гліцину (нейротрансмітерної амінокислоти) і тіотріазоліну (антиоксиданта) цілесообразно і актуально. Для нового комбінованого лікарського засобу пропонується раціональна лікарська форма – таблетки. Для створення комбінованих таблеток необхідно розробити методи стандартизації. Частіше для стандартизації готових лікарських форм і аптечного, і заводського виготовлення використовують фізико-хімічні методи дослідження. Наше увагу привлек метод вискоєфективної рідинної хроматографії, який дозволяє одночасно провести стандартизацію діючих речовин в одній навесці. Для розробки методики ВЕЖХ перш за все необхідно вибрати оптимальні умови проведення аналізу діючих речовин.

**Цель работы** – підбор оптимальних умов одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном в модельній суміші методом ВЕЖХ.

**Матеріали і методи.** В ході досліджень використовували гліцин, тіотріазолін. Дослідження проводили з використанням модульної системи ВЕЖХ BISCOFF со спектрофотометричним детектором Lambda 1010. Використовували колонки ProntoSil 120-5-CN, Hypersil ODS-C18-5u. В якості елюента використовували воду, 0,05 % водний розчин трифтороуксусної кислоти Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3,4 г/л в воді, Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3,4 г/л, 0,02 М Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> в воді, Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> 3,4 г/л, 0,05 % розчин трифтороуксусної кислоти в воді.

**Результати.** Згідно отриманим результатам, серед різних використаних елюентів і фаз в подальшому для спільного визначення гліцину з тіотріазоліном і в модельній суміші, і в комбінованих лікарських формах цілесообразно використовувати в якості елюента тетрабутиламоній в умовях іон парного хроматографування на зворотній фазі з одночасним використанням кислотної буфера – 0,05 % розчину трифтороуксусної кислоти.

**Висновки.** В ході досліджень вибрані оптимальні умови одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном в одній навесці. Встановили, що визначення діючих речовин необхідно проводити в умовях іон парного хроматографування на зворотній фазі при використанні елюента тетрабутиламонія з одночасним використанням кислотної буфера – 0,05 % розчину трифтороуксусної кислоти.

**Ключевые слова:** гліцин, тіотріазолін, таблетки, амінокислоти, ВЕЖХ.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2020. Т. 13, № 2(33). С. 244–248**

Україна посідає одне з перших місць в Європі за показниками цереброваскулярної захворюваності та смертності від інсульту. Щороку в Україні реєструють до 150 тис. інсультів, майже 40 % хворих, які вижили, стають залежними від сторонньої допомоги, тільки близько 20 % повертаються до повноцінного життя. Тому створення нових лікарських засобів для лікування цих патологій є актуальним завданням сучасної фармації. Перспективним напрямом первинної нейропротекції при церебральній ішемії є корекція дисбалансу збудливих і гальмівних нейротрансмітерних систем за допомогою активації природних гальмівних процесів. Гліцин належить до нейротрансмітерних амінокислот, забезпечує захисне гальмування у центральній нервовій системі. Гліцин є також коагоністом глутаматних

NMDA-рецепторів, у субмікромолекулярних концентраціях необхідний для їхнього нормального функціонування [1]. Встановлено, що одночасне застосування нейрометаболічних церебропротекторів (препаратів базової терапії) з антиоксидантами здебільшого потенціують терапевтичний ефект основної діючої речовини [2,3]. Морфолінію тіазотат (тіотріазолін) – оригінальний вітчизняний антиоксидант, який застосовують у медицині протягом більш ніж 20 років. Тому доцільним і актуальним є створення нового комбінованого препарату, до складу якого входять гліцин і тіотріазолін [4–6].

Для нового комбінованого лікарського засобу запропонували та створили раціональну лікарську форму – таблетки. Для створення комбінованих таблеток

необхідно розробити методи стандартизації. Найчастіше для стандартизації готових лікарських форм і аптечного, і заводського виготовлення використовують фізико-хімічні методи дослідження. Проаналізувавши відомості наукової літератури щодо стандартизації діючих речовин, які входять до складу готових лікарських форм, встановили: найчастіше для цього використовують метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Саме цей метод, який дає змогу одночасно стандартизувати діючі речовини в одній наважці, привернув нашу увагу [7–10]. Для розробки методики ВЕРХ передусім необхідно дібрати оптимальні умови аналізу діючих речовин.

### Мета роботи

Підбір оптимальних умов одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном у модельній суміші методом ВЕРХ.

### Матеріали і методи дослідження

На кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету виготовили 6 серій модельних сумішей гліцину з тіотріазоліном. Під час досліджень використовували гліцин (виробник Китай, партія 101-1303008), тіотріазолін (виробник ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117). Дослідження виконали, використовуючи модульну систему

ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, ФРН) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010. У роботі використали колонки Prontosil 120-5-CN, Hypersil ODS-C18-5u. Швидкість рухомої фази – 1 мл/хв. Довжина хвилі детектора – 220 нм. Як елюенти використали воду, 0,05 % водний розчин трифтороцтової кислоти,  $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л у воді,  $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л, 0,02 М  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  у воді,  $\text{Bu}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л, 0,05 % розчин трифтороцтової кислоти у воді.

Досліджували концентрації діючих речовин у межах від 0,04 мг/мл до 0,4 мг/мл.

### Результати

Аналіз відомостей наукової літератури показав, що визначення аліфатичних амінокислот методом ВЕРХ виконують після попередньої дериватизації різними модифікувальними агентами через їхнє низьке поглинання. Обираючи метод аналізу гліцину з тіотріазоліном, зупинилися на детектуванні при довжині хвилі 210 нм без попередньої модифікації амінокислоти.

Спочатку аналізували розчини на оберненій фазі, але аліфатичні амінокислоти за таких умов виходять на «мертвому об'ємі» (рис. 1).

Далі використовували ціановану фазу, але це не дало змоги значущо вплинути на утримування амінокислоти (отримали задовільні форму піка та час виходу тіотріазоліну, подвійні піки гліцину) (рис. 2).

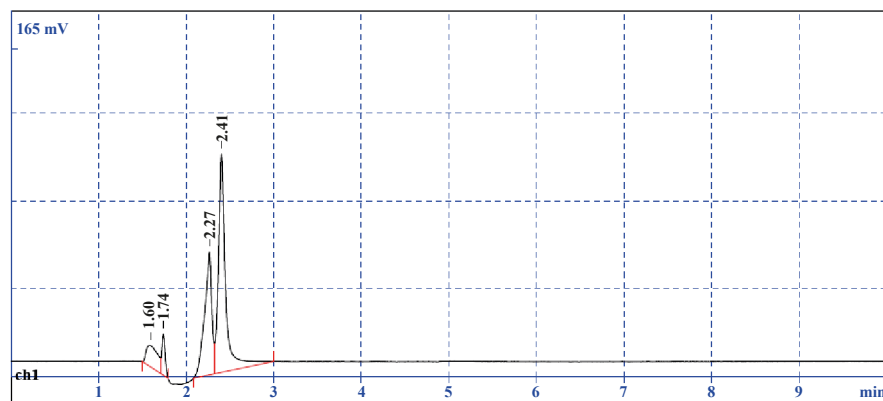


Рис. 1. Хроматограма гліцину з тіотріазоліном. Елюент – вода. Фаза – C18.

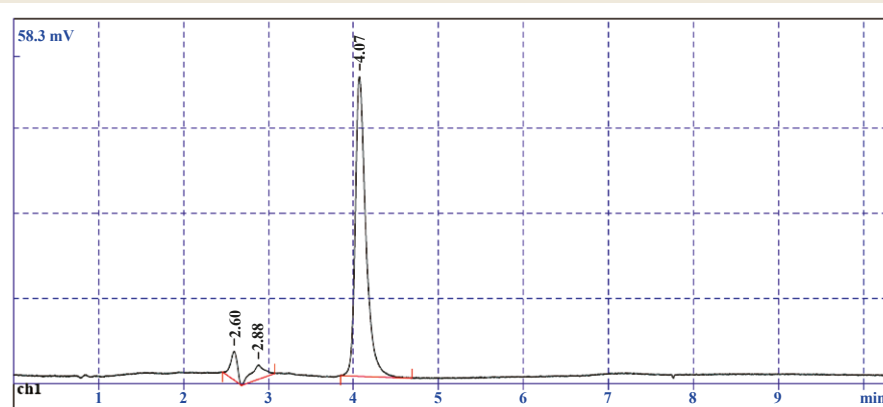
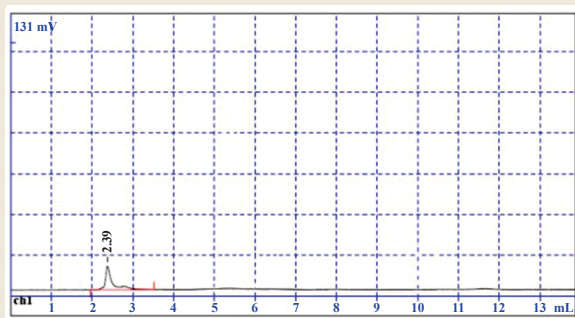
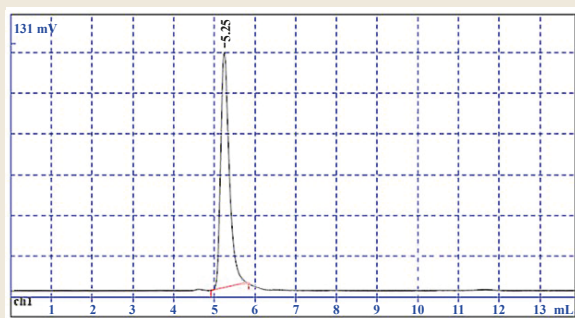


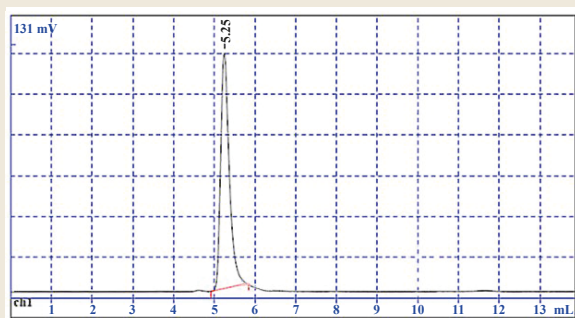
Рис. 2. Хроматограма гліцину з тіотріазоліном. Елюент – 0,05 % водний розчин трифтороцтової кислоти. Фаза – CN.



**Рис. 3.** Хроматограма розчину гліцину. Елюент –  $\text{V}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л та 0,05 % трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – С18.



**Рис. 4.** Хроматограма тіотріазоліну. Елюент –  $\text{V}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л та 0,05 % трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – С18.



**Рис. 5.** Хроматограма модельної суміші гліцину з тіотріазоліном. Елюент –  $\text{V}_4\text{NHSO}_4$  3,4 г/л і 0,05 % трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – С18.

Час утримування гліцину збільшився у випадку використання елюента з тетрабутиламонієм в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі. Результати, які були найбільш достовірними, отримали, використовуючи кислий буфер одночасно з іон парним реагентом. Тому для визначення гліцину з тіотріазоліном у модельній суміші запропонували використовувати іон парне хроматографування з використанням кислого буфера – 0,05 % розчину трифтороцтової кислоти.

За цих умов час утримування гліцину становив близько 2,38 хв, час утримування тіотріазоліну – близько 5,25 хв.

Для аналізу надалі приготували:

1. Стандартні розчини гліцину та тіотріазоліну:

– розчин 1. 0,01 г (точна наважка) гліцину розчиняють у 5 мл елюента в мірній колбі на 25,0 мл і доводять

елюентом до мітки. Отримують розчин із концентрацією 0,4 мг/мл (рис. 3);

– розчин 2. 0,01 г (точна наважка) тіотріазоліну розчиняють у 5 мл елюента в мірній колбі на 25,0 мл і доводять елюентом до мітки. Отримують розчин із концентрацією 0,4 мг/мл (рис. 4).

2. Досліджуваний розчин: 0,02 г (точна наважка) суміші гліцину з тіотріазоліном у співвідношенні 1:1 розчиняють в 10 мл елюента в мірній колбі на 25,0 мл і доводять елюентом до мітки. Отримують розчин із концентрацією 0,4 мг/мл кожного компонента (рис. 5).

Для визначення ефективності та селективності методу розраховали ступінь розділення, число теоретичних тарілок, коефіцієнт симетрії [11]. У результаті підрахунків отримали такі параметри придатності хроматографічної системи:

– ступінь розділення піків гліцину і тіотріазоліну становив 7,9 (за вимогами, має дорівнювати понад 1,5);

– ефективність хроматографічної системи за піком гліцину становила 2183 теоретичних тарілок, за піком тіотріазоліну – 3248;

– коефіцієнт симетрії піку гліцину – 1,07, тіотріазоліну – 1,1 (за вимогами – від 0,8 до 1,5).

## Обговорення

За результатами дослідження, серед різних елюентів і фаз, які застосували, для сумісного визначення гліцину з тіотріазоліном і в модельній суміші, і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати як елюент тетрабутиламоній в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буфера – 0,05 % розчину трифтороцтової кислоти.

## Висновки

1. Під час дослідження встановили оптимальні умови одночасного визначення гліцину з тіотріазоліном в одній наважці.

2. Виявили, що визначення діючих речовин необхідно здійснювати в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі, застосовуючи елюент з тетрабутиламонієм з одночасним використанням кислого буфера – 0,05 % розчину трифтороцтової кислоти.

## Фінансування

Робота є складовою частиною сумісної комплексної роботи кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та ТОВ НВО «Фарматрон».

**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.

ORCID ID: [0000-0003-2229-0232](https://orcid.org/0000-0003-2229-0232)

Хромильова О. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5274-9676](https://orcid.org/0000-0002-5274-9676)

Портна О. О., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-4752-1888](https://orcid.org/0000-0002-4752-1888)

Ткаченко Г. І., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармацевтичної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-7604-6094](https://orcid.org/0000-0002-7604-6094)

#### 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.

Khromylova O. V., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Portna O. O., PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Tkachenko H. I., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

#### 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.

Хромилёва О. В., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Портная Е. А., канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Ткаченко Г. И., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

#### Список літератури

- [1] Кучеренко Л. И., Хромилёва О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт.* 2016. Т. 19. № 5. С. 616-620.
- [2] Горчакова Н. А., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. Механизм антиоксидантного и противоишемического действия тиотриазолина. *Новости медицины и фармации.* 2007. № 2. С. 11-21.
- [3] Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др. Запорожье: ЗГМУ; Львов: Наутилус, 2005. 156 с.
- [4] Разработка лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций с антиоксидантами – перспективное направление современной фармакологии / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др. *Фармакология та лікарська токсикологія.* 2011. № 5. С. 199-200.
- [5] Патент 114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В., Хромильова І. А. Мазур та ін. № а201612503; заявл. 08.12.2016; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9.
- [6] Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazolin on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Mazur et al. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21. <https://doi.org/10.1501/Eczfak-0000000598>
- [7] Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хро-

матографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Морьяк, Г. І. Ткаченко. *Запорожский медицинский журнал.* 2014. № 2. С. 118-120.

- [8] Optimization of l-arginine and thiotriazolin compound analysis by high-performance liquid chromatography/ L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, O. V. Khromylova, Z. B. Moriak. *Запорожский медицинский журнал.* 2018. Т. 20, № 6. С. 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.6.146760>
- [9] Садек П. Растворители для ВЭЖХ. Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2009. 704 с.
- [10] Сапрыкин Л. В. Практика и методические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии: учеб. пособие. Краснодар, 2006. 151 с.
- [11] Державна Фармакопея України: в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків: Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 1. 1126 с.

#### References

- [1] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., & Levykh, A. E. (2016). Primenenie neurotransmitternykh aminokislot v sovremennoy meditsine [Use of neurotransmitter aminoacids in modern medicine]. *Retsept*, 19(5), 616-620. [in Russian].
- [2] Horchakova, N. A., Belenichev, I. F., & Mazur, I. A. (2007). Mekhanizm antioksidantnoho i protivoišemicheskoho deystviya tiotriazolina [The mechanism of antioxidant and anti-ischemic action of thiotriazolin]. *Novosti meditsyny i farmatsii*, (2), 11-21. [in Russian].
- [3] Mazur, I. A., Voloshin, N. A., Chekman, I. S., Zimenkovskii, B. S., & Stets, V. R. (2005). *Tiotriazolin: farmakologicheskie aspekty i klinicheskoe primeneniye* [Thiotriazolin: pharmacological aspects and clinical usage]. Zaporozhye; Lvov: Nautilus. [in Russian].
- [4] Mazur, I. A., Chekman, I. S., Belenichev, I. F., & Kucherenko, L. I. (2011). Razrabotka lekarstvennykh sredstv na osnove fiksirovannykh kombinatsii s antioksidantami – perspektivnoye napravlenie sovremennoi farmakologii [The development of medicines based on fixed combinations with antioxidants is a promising area of modern pharmacology]. *Farmakologhiia ta likarska toksykologhiia*, (5), 199-200. [in Russian].
- [5] Kucherenko, L. I., Khomylova, O. V., Mazur, I. A., Belenichev, I. F., & Horbacheva, S. V. (2017). Ukrainian Patent No. 114270. *Kombinovanyi likarskyi zasib dlia pervynnoi neuroproteksii* [Combination drug for primary neuroprotection]. Retrieved from <https://base.uipv.org/search/IV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=235074>
- [6] Kucherenko, L., Belenichev, I., Mazur, I., Khromylova, O., & Parniuk, N. (2018). Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazolin on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 42(1), 14-21. <https://doi.org/10.1501/Eczfak-0000000598>
- [7] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., Moriak, Z. B., & Tkachenko, H. I. (2014). Pidbir optimalnykh umov analizu sumishi izoniazidu z tiotriazolynom metodom vysokoeffektivnoi ridynnoi khromatografii [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].
- [8] Kucherenko, L. I., Mazur, I. A., Khromylova, O. V., & Moriak, Z. B. (2018). Optimization of l-arginine and thiotriazolin compound analysis by high-performance liquid chromatography. *Zaporozhye medical journal*, 20(6), 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.6.146760>
- [9] Sadek, P. (2009). *Rastvoriteli dlya VEZhKh* [Solvents for HPLC]. Moscow: Binom. Laboratoriya znaniy. [in Russian].
- [10] Saprykin, L. V. (2006). *Praktika i metodicheskie osnovy vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii* [Practical and methodological foundations of high-performance liquid chromatography]. Krasnodar. [in Russian].
- [11] State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. (2014). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy* [The State Pharmacopoeia of Ukraine] (2nd ed.). Vol. 1. Kharkiv: State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality. [in Ukrainian].