



Щодо стандартизації гліцину та тіотріазоліну в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії

О. В. Хромільова ^{*A,C,D,F}, М. О. Авраменко ^{B,D,E}, Г. Р. Німенко ^D, Е. Ю. Гура ^B

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Щороку в Україні трапляється майже 150 000 інсультів, понад 100 000 людей помирають від порушень кровотоку в мозку. Тому актуальним завданням сучасної фармації є створення нових вискоєфективних лікарських засобів для терапії цих патологій. Отже, доцільне й актуальне створення нового комбінованого препарату, до складу якого входять гліцин (нейропротектор) і тіотріазолін (антиоксидант). Для нового комбінованого лікарського засобу у формі таблеток необхідно розробити методи стандартизації.

Нині для стандартизації діючих речовин у комбінованих лікарських засобах доцільно застосовувати нові, чутливіші методи аналізу, зокрема вискоєфективну рідинну хроматографію (ВЕРХ).

Мета роботи – розроблення методики стандартизації гліцину та тіотріазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ.

Матеріали та методи. У дослідженнях використовували сертифіковані субстанції гліцину та тіотріазоліну. Дослідження здійснили, використовуючи хроматограф моделі LC-20 Prominence Shimadzu. Застосували колонку Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 × 250 мм, діаметр часток – 5 мкм; елюент: водний розчин 3,4 г/л Bu₄NHSO₄ та 0,05 % трифтороцтової кислоти; швидкість рухомої фази – 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора – 220 нм; об'єм проби – 20 мкл.

Результати. У лабораторних умовах виготовили 6 серій модельної суміші гліцину та тіотріазоліну у співвідношенні 4:1. По черзі хроматографували розчин випробування і розчин робочого стандартного зразка, отримуючи не менше ніж три хроматограми для кожного розчину. Встановили, що вміст гліцину в модельній суміші – від 198,46 мг до 201,11 мг, а тіотріазоліну – від 49,59 мг до 50,86 мг. Отже, за вмістом діючих речовин серія модельної суміші гліцину та тіотріазоліну у співвідношенні 4:1 відповідає вимогам ДФУ.

Висновки. Під час досліджень розробили методику стандартизації діючих речовин гліцину та тіотріазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ. Розроблена методика є відтворюваною і точною, після валідації її можна застосовувати під час стандартизації діючих речовин у лікарських формах.

Ключові слова: гліцин, тіотріазолін, ВЕРХ, інсульт, церебропротектори.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 3(34). С. 378–382

Regarding the standardization of glycine and thiotriazoline in the model mixture by high-performance liquid chromatography

O. V. Khromylova, M. O. Avramenko, H. R. Nimenko, E. Yu. Hura

There are about 150 thousand strokes and more than 100 thousand people die from brain blood flow disorders every year in Ukraine. Therefore, the urgent task of modern pharmacy is to create new highly effective drugs for the treatment of these pathologies. Thus, the creation of a new combined drug, which includes glycine-neuroprotector and thiotriazoline-antioxidant, today is appropriate and relevant. It is necessary to develop standardization methods for a new combination drug, in the form of tablets. Today, it is advisable to use new, more sensitive methods of analysis, as high-performance liquid chromatography for the standardization of active substances in combined drugs.

The aim of the work is to develop a method of standardization of glycine and thiotriazoline in the model mixture by HPLC.

Materials and methods. Certified glycine and thiotriazoline substances were used in the studies. The research was performed using a chromatograph model LC-20 Prominence Shimadzu. It was used column Hypersil ODS-C18-5u, 4.6 × 250 mm, particle diameter 5 μm; eluent: aqueous solution of 3.4 g/l Bu₄NHSO₄ and 0.05 % trifluoroacetic acid; mobile phase velocity: 1 ml/min; analytical wavelength of the detector: 220 nm; sample volume: 20 μl.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/216213>

UDC 615.31'466.22'792.074:543.544.5.068.7

DOI: [10.14739/2409-2932.2020.3.216213](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216213)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2020; 13 (3), 378–382

Key words: glycine, thiotriazoline, HPLC, stroke, cerebroprotectors.

*E-mail: hromylova.olga@gmail.com

Received: 02.07.2020 // Revised: 04.08.2020 // Accepted: 06.08.2020

Results. Six series of a model mixture of glycine and thiotriazoline in ratio 4 : 1 were produced in the laboratory. The test solution and the working standard sample solution were chromatographed alternately to obtain at least three chromatograms for each solution. It was established: the content of glycine in the model mixture was in the range from 198.46 mg to 201.11 mg, and thiotriazoline – from 49.59 mg to 50.86 mg. Thus, the investigated series of the model mixture of glycine and thiotriazoline in ratio 4:1 were conformed to the requirements of HFC.

Conclusions. In the research, we have developed a method of standardization of the active substances of glycine and thiotriazoline in the model mixture by HPLC. The developed technique was reproducible, accurate and in the future, after its validation, can be used for standardization of active substances in dosage forms.

Key words: glycine, thiotriazoline, HPLC, stroke, cerebroprotectors.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2020; 13 (3), 378–382

Стандартизация глицина и тиотриазолина в модельной смеси методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

О. В. Хромылёва, Н. О. Авраменко, А. Р. Нименко, Э. Ю. Гура

Ежегодно в Украине происходит около 150 000 инсультов, более 100 000 человек умирают от нарушений кровотока в мозге. Поэтому создание новых высокоэффективных лекарственных средств для терапии этих патологий – актуальная задача современной фармации. Таким образом, целесообразно и актуально создание нового комбинированного препарата, в состав которого входят глицин (нейропротектор) и тиотриазолин (антиоксидант). Для нового комбинированного лекарственного средства в виде таблеток необходимо разработать методы стандартизации. Для стандартизации действующих веществ в комбинированных лекарственных средствах целесообразно применять новые, более чувствительные методы анализа, в частности высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ).

Цель работы – разработка методики стандартизации глицина и тиотриазолина в модельной смеси методом ВЭЖХ.

Материалы и методы. В исследованиях использовали сертифицированные субстанции глицина и тиотриазолина. Исследования провели с использованием хроматографа модели LC-20 Prominence Shimadzu. Использовали колонку Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 × 250 мм, диаметр частиц – 5 мкм; елюент: водный раствор 3,4 г/л Bu_4NHSO_4 и 0,05 % трифторуксусной кислоты, скорость подвижной фазы – 1 мл/мин; аналитическая длина волны детектора – 220 нм; объем пробы – 20 мкл.

Результаты. В лабораторных условиях изготовили 6 серий модельной смеси глицина и тиотриазолина в соотношении 4:1. Попеременно хроматографировали исследуемый раствор и раствор рабочего стандартного образца, получая не менее 3 хроматограмм для каждого раствора. Установлено, что содержание глицина в модельной смеси – от 198,46 мг до 201,11 мг, а тиотриазолина – от 49,59 мг до 50,86 мг. Таким образом, по содержанию действующих веществ исследуемая серия модельной смеси глицина и тиотриазолина в соотношении 4:1 соответствует требованиям ГФУ.

Выводы. В ходе исследований разработана методика стандартизации действующих веществ глицина и тиотриазолина в модельной смеси методом ВЭЖХ. Разработанная методика воспроизводима и точна, после валидации ее можно применять при стандартизации действующих веществ в лекарственных формах.

Ключевые слова: глицин, тиотриазолин, ВЭЖХ, инсульт, церебропротекторы.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2020. Т. 13, № 3(34). С. 378–382

Щороку в Україні трапляється майже 150 000 інсультів, понад 100 000 людей помирають від порушень кровотоку в мозку. Більшість людей, які вижили після інсульту, протягом усього життя відчують його фізичні, когнітивні, психічні й соціально-економічні наслідки, що зумовлює величезний тягар цієї хвороби для сімей, громад і держави. Тому актуальним завданням сучасної фармации є створення нових високоефективних лікарських засобів для лікування цих патологій.

Гліцин як нейропротектор – препарат, що захищає від розвитку ішемічного каскаду в межах терапевтичного вікна. Численні дослідження показали здатність амінокислоти гліцину оберігати тканини при гіпоксії, інтоксикації або реперфузії [1]. Встановлено, що одночасне застосування нейрометаболічних церебропротекторів (препарати базової терапії) з антиоксидантами в більшості випадків потенціують терапевтичну дію основної діючої речовини [2,3].

Одним із відомих вітчизняних антиоксидантів є тиотриазолін, який характеризується антиоксидантною, мембра-

ностабілізуючою, протиішемічною, антиаритмічною, імунотропною, протизапальною, гепатопротекторною, кардіопротективною діями. Отже, доцільним і своєчасним є створення нового комбінованого препарату, до складу якого входять гліцин і тиотриазолін [4–6].

Для нового комбінованого лікарського засобу запропонована та створена раціональна лікарська форма – таблетки. Для створених комбінованих таблеток необхідно розробити методи стандартизації. Для стандартизації діючих речовин, що входять до складу готових лікарських форм, доцільно застосовувати нові, чутливіші методи аналізу, зокрема високоефективну рідинну хроматографію (ВЕРХ). Цей метод привернув нашу увагу та дав можливість здійснити одночасну стандартизацію діючих речовин в одній наважці [7–10].

Мета роботи

Розроблення методики стандартизації гліцину та тиотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ.

Матеріали і методи дослідження

У дослідженнях використовували сертифіковані субстанції гліцину («Sigma-Aldrich», партія 101-1303008) та тіотріазоліну (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117). Дослідження здійснили, використовуючи хроматограф моделі LC-20 Prominence Shimadzu в такій комплектації: два насоси LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат СТО-20А, системний контролер CBM-20 ALITE. Використовували колонку Hypersil ODS-C18-5 μ , 4,6 \times 250 мм, діаметр часток – 5 мкм; елюент: водний розчин 3,4 г/л В₄NH₄SO₄ та 0,05 % трифтороцтової кислоти; швидкість рухомої фази – 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора – 220 нм; об'єм проби – 20 мкл. У попередніх дослідженнях [11] запропонували одночасне визначення вмісту гліцину та тіотріазоліну шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буфера – 0,05 % розчину трифтороцтової кислоти.

Результати

Передусім у лабораторних умовах виготовили 6 серій модельної суміші гліцину та тіотріазоліну в терапевтичних дозах, співвідношення – 4:1.

По черзі хроматографували розчин випробування і розчин робочого стандартного зразка в умовах, що на-

ведені, отримуючи не менше ніж три хроматограми для кожного розчину.

Готували розчини згідно з методиками.

Розчин випробування. Майже 250 мг (точна наважка) модельної суміші розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл і доводять водою до позначки. 5,0 мл такого розчину поміщають у мірну колбу на 50,0 мл і доводять водою до позначки.

Розчин робочого стандартного зразка

Робочий розчин 1. 200 мг (точна наважка) гліцину розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл і доводять водою до позначки.

Робочий розчин 2. 50 мг (точна наважка) тіотріазоліну розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл і доводять водою до позначки.

Досліджуваний розчин. 5,0 мл робочого розчину 1 і 5,0 мл робочого розчину 2 поміщають у мірну колбу на 50,0 мл і доводять водою до позначки.

Зразки хроматограм, що одержали, наведені на рис. 1, 2.

З наведеної хроматограми видно, що час утримування гліцину за цих умов становить 2,79 хв, тіотріазоліну – 8,96 хв. Ступінь розділення піків гліцину та тіотріазоліну становить 21,8. Ефективність хроматографічної системи за піком гліцину – 6776 теоретичних тарілок, за піком тіотріазоліну – 13755; коефіцієнт симетрії піку гліцину – 1,2, тіотріазоліну – 1,25.

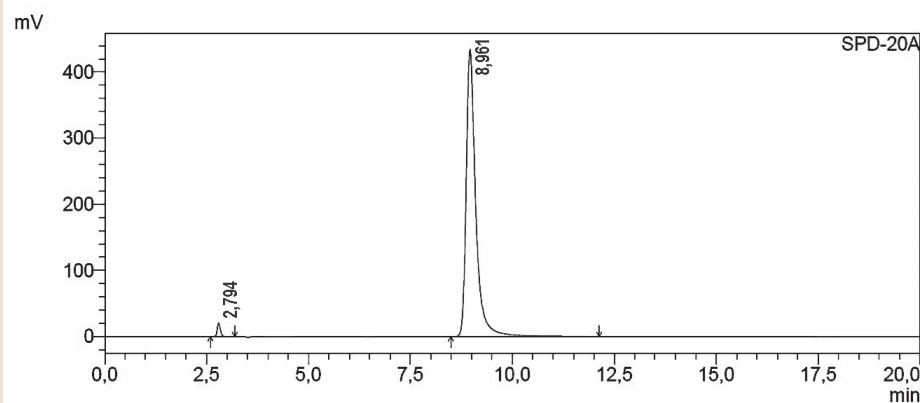


Рис. 1. Хроматограма розчину, що досліджували.

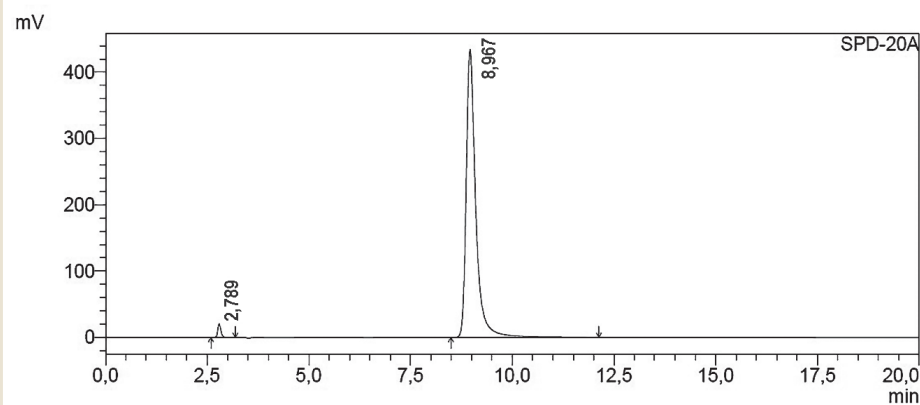


Рис. 2. Хроматограма розчину стандартного зразка.

Таблиця 1. Кількісне визначення вмісту гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ

	Гліцин				Тіотриазолін			
1.	208054	208599	200,22	$\bar{x} = 199,91$ $S_x = 0,96$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,93$ $\Delta \bar{x} = 0,79$ $\bar{x} \pm \Delta_x = 199,91 \pm 0,79$ $e_x = 0,40 \%$	3501256	3498594	50,1	$\bar{x} = 50,1$ $S_x = 0,64$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,29$ $\Delta \bar{x} = 0,53$ $\bar{x} \pm \Delta_x = 50,1 \pm 0,53$ $e_x = 1,05 \%$
	209590				3502184			
	208153				3492342			
2.	207596	207709	199,32		3607287	3611068	50,86	
	208423				3619703			
	207107				3606214			
3.	209872	208081	199,70		3587342	3543831	49,88	
	207042				3522416			
	207328				3521735			
4.	208785	209104	200,67		3607862	3600919	50,69	
	209437			3592473				
	209089			3602423				
5.	207052	206763	198,46	3513807	3521801	49,59		
	206124			3524256				
	207114			3527340				
6.	209985	209545	201,11	3521232	3578731	50,37		
	209887			3609234				
	208763			3605727				
ССЗ	208489	208333		3528254	3551627			
	208052		3577863					
	209458		3548764					

Вміст гліцину та тіотриазоліну (X) у модельній суміші (в мг) розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100}$$

де S_1 – середнє значення площі піків гліцину (тіотриазоліну), що розраховане з хроматограм розчину, котрий досліджували;

S_0 – середнє значення площі піків гліцину (тіотриазоліну), що розраховане з хроматограм розчину робочого стандартного зразка;

m_1 – маса наважки модельної суміші, мг;

m_0 – маса наважки СЗ гліцину (тіотриазоліну), мг;

P – вміст основної речовини СЗ гліцину (тіотриазоліну), % (відсотковий вміст L-аргініну в СЗ – 99,95 %, тіотриазоліну – 100,00 %);

b – середня маса діючих речовин у перерахунку на 1 таблетку (250 мг).

У таблиці 1 наведені результати визначення кількісного вмісту діючих речовин у модельній суміші (серія 1).

Обговорення

За даними, що наведені в таблиці 1, вміст гліцину в модельній суміші становить від 198,46 мг до 201,11 мг,

тіотриазоліну – від 49,59 мг до 50,86 мг. Отже, за вмістом діючих речовин досліджувана серія модельної суміші гліцину та тіотриазоліну у співвідношенні 4:1 відповідає вимогам ДФУ [12]. Проаналізували й інші п'ять серій модельної суміші. Всі ці серії відповідали вимогам ДФУ за кількісним вмістом діючих речовин.

Вважаємо, що розроблена методика стандартизації гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші є відтворюваною.

Висновки

Протягом досліджень розробили методику стандартизації діючих речовин гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ.

Розроблена методика є відтворюваною і точною, після валідації її можна застосовувати під час стандартизації діючих речовин у лікарських формах.

Перспективи подальших досліджень. Наступні дослідження можуть бути присвячені використанню розробленої методики для стандартизації гліцину з тіотриазоліном у таблетках.

Подяка

Дякуємо за плідну співпрацю начальнику лабораторії ФХК ОТК ЗХР ДП «Завод хімічних реактивів» Людмилі Віталіївні Дудник.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

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)

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

ORCID ID: [0000-0002-4268-5947](https://orcid.org/0000-0002-4268-5947)

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

ORCID ID: [0000-0002-6486-5113](https://orcid.org/0000-0002-6486-5113)

Гура Е. Ю., канд. мед. наук, асистент каф. внутрішніх хвороб 1 та симуляційної медицини, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-6822-2748](https://orcid.org/0000-0002-6822-2748)

Information about authors:

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

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

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

Hura E. Yu., PhD, Assistant of the Department of Internal Medicine 1 and Simulation Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторах:

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

Авраменко Н. О. канд. фарм. наук, доцент каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Нименко А. Р., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. фармацевтической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Гура Э. Ю., канд. мед. наук, ассистент каф. внутренних болезней 1 и симуляционной медицины, 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 фармаци*. 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 thiotriazolinone on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur et al. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21.

[7] Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Моряк, Г. І. Ткаченко. *Запорізький медичний журнал*. 2014. № 2. С. 118-120.

[8] Optimization of l-arginine and thiotriazolinone compound analysis by high-performance liquid chromatography/ L. I. Kucherenko, I. A.

Mazur, O. V. Khromylova, Z. B. Moriak. *Запорізький медичний 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] Щодо підбору оптимальних умов аналізу суміші гліцину та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 2. С. 243-247. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>

[12] 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). Prime-nienie 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 napravleniye sovremennoy farmakologii [The development of medicines based on fixed combinations with antioxidants is a promising area of modern pharmacology]. *Farmakologhiya ta likarska toksykologhiya*, (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 neiroproteksii* [Combination drug for primary neuroprotection]. Retrieved from <https://base.uipv.org/search/INV/search.php?action=viewdetails&ldClaim=235079>

[6] Kucherenko, L., Belenichev, I., Mazur, I., Khromylova, O., & Parniuk, N. (2018). Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazolinone on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 42(1), 14-21.

[7] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., Moriak, Z. B., & Tkachenko, H. I. (2014). Pidbir optymalnykh umov analizu sumishi izoniazidu z tiotriazolinom metodom vysokoefektivnoi ridynnoi khromatohrafiy [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 thiotriazolinone 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 vysokoefektivnoi zhidkostnoi khromatografii* [Practical and methodological foundations of high-performance liquid chromatography]. Krasnodar. [in Russian].

[11] Kucherenko, L. I., Khromylova, O. V., Portna, O. O., & Tkachenko, H. I. (2020). Shchodo pidboru optymalnykh umov provedenniya analizu sumishy glytsiny z tiotriazolinom metodom vysokoefektivnoi ridynnoi khromatohrafiy [Optimization of glyinine and thiotriazolinone compound analysis by high-performance liquid chromatography]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 13(2), 243-247. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>

[12] 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].