



# NORWEGIAN JOURNAL OF DEVELOPMENT OF THE INTERNATIONAL SCIENCE

№50/2020

**Norwegian Journal of development of the International Science**

ISSN 3453-9875

VOL.2

It was established in November 2016 with support from the Norwegian Academy of Science.

## DESCRIPTION

The Scientific journal “Norwegian Journal of development of the International Science” is issued 24 times a year and is a scientific publication on topical problems of science.

Editor in chief – Karin Kristiansen (University of Oslo, Norway)

The assistant of the editor in chief – Olof Hansen

- James Smith (University of Birmingham, UK)
- Kristian Nilsen (University Centre in Svalbard, Norway)
- Arne Jensen (Norwegian University of Science and Technology, Norway)
- Sander Svein (University of Tromsø, Norway)
- Lena Meyer (University of Gothenburg, Sweden)
- Hans Rasmussen (University of Southern Denmark, Denmark)
- Chantal Girard (ESC Rennes School of Business, France)
- Ann Claes (University of Groningen, Netherlands)
- Ingrid Karlsen (University of Oslo, Norway)
- Terje Gruterson (Norwegian Institute of Public Health, Norway)
- Sander Langfjord (University Hospital, Norway)
- Fredrik Mardosas (Oslo and Akershus University College, Norway)
- Emil Berger (Ministry of Agriculture and Food, Norway)
- Sofie Olsen (BioFokus, Norway)
- Rolf Ulrich Becker (University of Duisburg-Essen, Germany)
- Lutz Jäncke (University of Zürich, Switzerland)
- Elizabeth Davies (University of Glasgow, UK)
- Chan Jiang (Peking University, China) and other independent experts

1000 copies

Norwegian Journal of development of the International Science

Iduns gate 4A, 0178, Oslo, Norway

email: [publish@njd-iscience.com](mailto:publish@njd-iscience.com)

site: <http://www.njd-iscience.com>

# PHARMACEUTICS

## DETERMINATION OF ACTIVE SUBSTANCES IN THE «TIOGAMK» TABLETS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

**Khromylova O.,**

*PhD, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry,  
Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine*

**Kucherenko L.**

*Dr.hab., Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry,  
Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine*

## ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧИХ РЕЧОВИН В ТАБЛЕТКАХ «ТІОГАМК» МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

**Хромильова О.В.,**

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

**Кучеренко Л.І.**

*д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фармацевтичної хімії,  
Запорізький державний медичний університет, Україна*

### Abstract

Previous research has shown the feasibility of creating a new combination drug, which includes gamma-aminobutyric acid and thiotriazoline in tablets. Created combined tablets need to develop methods for their standardization. The article is devoted to the development of a method for determining the active substances in tablets "Tiogamk" by high performance liquid chromatography.

### Анотація

Попередніми дослідженнями нами доведено доцільність створення нового комбінованого лікарського препарату у вигляді таблеток, до складу якого входять гама-аміномасляна кислота і тіотриазолін. Для створених комбінованих таблеток необхідно розробити методи їх стандартизації. Стаття присвячена розробці методики визначення діючих речовин в таблетках «Тіогамк» методом вискоєфективної рідинної хроматографії.

**Keywords:** GABA, thiotriazoline, tablets, HPLC.

**Ключові слова:** ГАМК, тіотриазолін, таблетки, стандартизація, ВЕРХ

На теперішній час однією з найбільш характерних ознак сучасного світу є старіння населення. Все це означає, що менше людей здатні працювати та у літніх людей вищий попит на послуги медичної допомоги та довготривалого догляду. Результатом закономірних інволютивних змін, які відбуваються в головному мозку у процесі старіння, є ослаблення концентрації уваги та пам'яті. Крім того, на сьогодні у світі визначається тенденція до збільшення психопатичних та психопатологічних розладів. Така ситуація зростає завдяки різним негативним факторам, які існують у сучасному суспільстві, а саме: нестабільність економічного та політичного становища, наявність боєвих дій у різних кутах світу, та на жаль на сході України, соціально-екологічні проблеми, погіршення пам'яті в поєднанні з руховими та іншими когнітивними порушеннями тощо. Тому, на сьогодні є актуальним створення нових лікарських засобів, які будуть покращувати якість життя людей, а саме створення нового комбінованого препарату, до складу якого входять ноотроп – гама-аміномасляна кислота (ГАМК) та антиоксидант – тіотриазолін у вигляді таблеток, під умовною назвою «Тіогамк» [1-4]. Для нового комбінованого лікарського засобу необхідно розробити методи стандартизації. В попередніх дослідженнях

нами було доведено можливість стандартизації діючих речовин (ГАМК і тіотриазоліну) в модельній суміші та таблетковій масі методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) та встановлено оптимальні умови проведення аналізу [5]. Тому для якісного і кількісного визначення діючих речовин в таблетках ми використовували саме метод ВЕРХ [6-10].

**Мета роботи** – розробка методики визначення діючих речовин в таблетках «Тіогамк» методом ВЕРХ.

**Матеріали і методи:** в дослідженнях використовували 6 серій таблеток «Тіогамк», виготовлених в лабораторних умовах. Для отримання яких використовували сертифіковані субстанції ГАМК (виробник: «Sigma-Aldrich», партія 11-021) та тіотриазоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 110460919), сертифіковані допоміжні речовини, як вітчизняного, так і закордонного виробництва. Проводили дослідження з використанням хроматографу моделі LC-20 Prominence Shimadzu. Використовували колонку Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 x 250 мм, діаметр часток 5 мкм; елюент: водний розчин

3,4 г/л  $\text{V}_{14}\text{NH}_4\text{SO}_4$  та 0,05% трифтороцтової кислоти; швидкість рухомої фази: 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм; об'єм проби: 20 мкл. Для стандартизації діючих речовин в таблетках використовували метод ВЕРХ, який попередньо був розроблений для визначення діючих речовин в таблетковій масі, а в ході досліджень був модифікований для визначення діючих речовин в таблетках «Тіогамк».

### Результати.

Попередньо на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету в лабораторії «Стандартизації і технології лікарських засобів» було виготовлено шість серій таблеток «Тіогамк» методом вологої грануляції.

По-перше приготували розчини.

Методика приготування випробуваного розчину таблеток «Тіогамк».

Близько 350 мг (точна наважка) розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 15,0 мл дистильованої води, перемішують на магнітній мішалці протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5,0 мл фільтрату.

5,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50,0 мл та доводять водою до мітки.

### Методика приготування стандартного розчину порівняння (розчину порівняння)

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) ГАМК (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст ГАМК в СЗ 99,98%) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тіазатату (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст морфолінію тіазатату в СЗ 100 %) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 5,0 мл розчину порівняння 1 і 5,0 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 50,0 мл і доводять водою до мітки. Розчини застосовують свіжоприготованими.

Зразки хроматограм випробуваного розчину таблеток та розчину стандартного зразку ГАМК та морфолінію тіазатату наведено на рис. 1, 2.

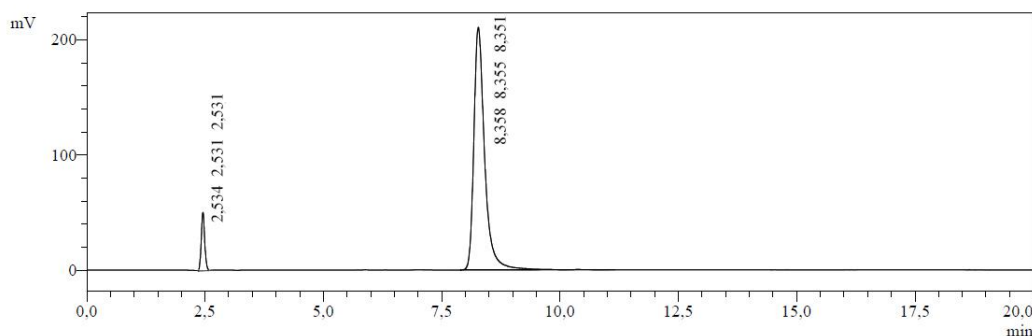


Рис. 1 Хроматограма випробуваного розчину таблеток «Тіогамк»

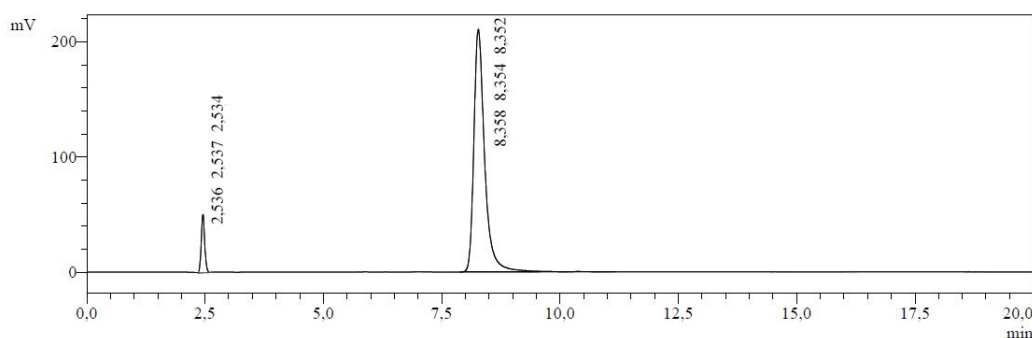


Рис. 2 Хроматограма розчину порівняння ГАМК з морфолінію тіазататом

Хроматографували випробуваний розчин таблеток і розчин робочого стандартного зразка поперемінно, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного розчину. Дослідження проводили в умовах наведених вище.

Вміст ГАМК та морфолінію тіазатату в одній таблетці, в міліграмах, розраховують за формулою:

$$X_3 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100}$$

де:  $S_1$  - середнє значення площ піків ГАМК (морфолінію тіазатату) в таблетках;

$S_0$  - середнє значення площ піків розчину порівняння для ГАМК та морфолінію тіазатату;

$m_1$  - маса наважки таблеток в міліграмах;

$m_0$  - маса наважки ФСЗ або РСЗ ГАМК (морфолінію тіазатату), в міліграмах;

$P$  - вміст основної речовини в ФСЗ або РСЗ ГАМК (99,98%); морфолінію тіазатату (100%), у відсотках;

$b$  - середня вага таблетки в міліграмах.

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток «Тіогамк» наведені в табл. 1, 2

Таблиця 1

Результати кількісного визначення ГАМК в таблетках «Тіогамк» методом ВЕРХ (серія 1)

Зразок	Наважка таблеток	ГАМК			Статистика
		Площа, S, mV*sec		Знайдено в мг	
			середня		
№ 1	350,1	262123 260234 261331	261229	197,58	$\bar{x} = 200,00$ $S_x = 1,57$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 3,17$ $\Delta \bar{x} = 1,30$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 200,00 \pm 1,30$ $e^{\bar{x}} = 1,64\%$
№ 2	349,9	264546 263739 263042	263776	199,62	
№ 3	350,0	263981 264831 264842	264551	200,15	
№ 4	350,2	265967 266252 264984	265734	200,93	
№ 5	349,8	268047 266473 267123	267214	202,28	
№ 6	350,2	263952 264137 263282	263790	199,46	
Розчин порівняння	РСЗ ГАМК 199,8 РСЗ морфолінію тіазатату 50,02	264628 263649 263830	264036		

Таблиця 2

Результати кількісного визначення морфолінію тіазатату в таблетках «Тіогамк» методом ВЕРХ (серія 1)

Зразок	Наважка таблеток	Морфолінію тіазатат			Статистика
		Площа, S, mV*sec		Знайдено в мг	
			середня		
№ 1	350,1	3262872 3257534 3258494	3259633	48,53	$\bar{x} = 49,96$ $S_x = 1,03$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 2,09$ $\Delta \bar{x} = 0,86$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 49,96 \pm 0,86$ $e^{\bar{x}} = 1,71\%$
№ 2	349,9	3449239 3451518 3438454	3446404	51,34	
№ 3	350,0	3419858 3397812 3425787	3414486	50,85	
№ 4	350,2	3302892 3306798 3298985	3302892	49,16	
№ 5	349,8	3367692 3348013 3324596	3346767	49,87	
№ 6	350,2	3361432 3359383 3363127	3361314	50,03	
Розчин порівняння	РСЗ морфолінію тіазатату 50,02	3359625 3362813 3353822	3358753		

З наведених в таблиці даних видно, що в дослідженій серії вміст ГАМК становив від 197,58 мг

до 202,28 мг, морфолінію тіазатату - від 48,53 мг до 51,34 мг. В подальшому були проаналізовані інші

п'ять серій таблеток, які відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючих речовин [11].

Висновок: в ході проведених досліджень розроблена методика визначення діючих речовин в таблетках «Тіогамк». Вміст діючих речовин відповідає вимогам фармакопеї України. В подальшому після валідації методика може бути включена до проекту методик контролю якості на таблетки «Тіогамк».

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ:

1. Кучеренко Л.И. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине /Кучеренко Л.И., Хромилева О.В., Левых А.Э.// «Рецепт». 2016. Т. 19. №5. С.616-620.
2. Горчакова Н.А., Беленичев И.Ф., Мазур И.А. Механизм антиоксидантного и противовоспалительного действия тиотриазолина// Новости медицины и фармации. 2007. №2(206). С.11-21
3. Тиотриазолін: фармакологічні аспекти та клінічне застосування / Мазур І. А., Волошин Н. А., Чекман І. С. // Новини медицини та фармації, 2005. 160 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.] // Фармакологія та лікарська токсикологія. 2011. № 5. С. 199–200.
5. Кучеренко Л.И, Хромилева О.В., Німенко Г.Р. Визначення гама-аміномасляної кислоти з тиотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії/ Österreichisches Multiscience Journal (Innsbruck, Austria)//. – 2020. – Vol. 1, no. 33. – P.16-19.
6. Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромилева, З. Б. Моряк, Г. І. Ткаченко // Запоріж. мед. журн. 2014. № 2. С. 118–120.
7. Садек П. Растворители для ВЭЖХ / П. Садек. – М. : Бинум. Лаборатория знаний, 2009. 704с.
8. Сапрыкин Л. В. Практика и методические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии : учеб. пособие / Л. В. Сапрыкин. – Краснодар, 2006. 151 с.
9. *Kucherenko L.I.* Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography/ *Kucherenko L.I., Mazur I.A., Khromylova O.V., Moriak Z.V.*//Запорізький медичний журнал. 2018. Т.20. №6 (111). С. 837-840. DOI: 10.14739/2310-1210. 2018.6.146760
10. Щодо підбору оптимальних умов аналізу суміші гліцину та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромилева, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. № 2 (33). С. 243–247.
11. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 1. 1126 с.