

Росада М. В., Бевз Н. Ю., Георгіянц В. А.
Національний фармацевтичний університет, м Харків

Використання методу високоефективної рідинної хроматографії для кількісної оцінки L-аргініну у комбінованих таблетках

Розроблено методику кількісного визначення L-аргініну у комбінованому лікарському засобі «Кораргін», таблетки, вкриті оболонкою, з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії. Проведено валідацію розробленої методики. Оцінено специфічність методики щодо впливу розчинника, плацебо і другої діючої речовини лікарської форми — рибоксину. Вивчено валідаційні характеристики, такі як специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність, діапазон застосування та внутрішньолабораторна прецизійність. Доведено можливість застосування методики під час контролю якості лікарського засобу. Розроблену методику включено до методів контролю якості препарату «Кораргін», таблетки, вкриті оболонкою, виробництва ПрАТ «Технолог», м. Умань, Україна.

Ключові слова: L-аргінін, таблетки, метод ВЕЖХ, валідація, стандартизація.

Вступ

Згідно зі статистичними даними ВОЗ, захворювання серцево-судинної системи є основною причиною смертності в усьому світі. Україна посідає одне з перших місць у цій статистиці. Рибоксин та L-аргінін широко використовуються у медичній практиці для лікування таких захворювань серця, як ішемічна хвороба, інфаркт міокарда, кардіоміопатія, порушення ритму серця, а також для лікування захворювань печінки (гепатити, цироз та ін.) [1].

Комбінація L-аргініну та рибоксину позитивно впливає на ендотеліальну функцію мікросудинного русла вже через 6 годин [2] та має виражені вазодилатуючі властивості. Комбінація двох складових позитивно впливає на кардіо- і системну гемодинаміку: поліпшує скоротливу здатність міокарда, покращує коронарний кровообіг, сприяє зниженню артеріального тиску, зокрема в літньому віці [3, 4]. Прийом рибоксину у комбінації з L-аргініном супроводжується підвищенням вмісту оксиду азоту (NO) в крові, що призводить до посилення антигіпоксичних та антиоксидантних властивостей і нормалізує структуру та метаболізм міокарда при/у разі гіпоксії та кардіоміопатії [5, 6].

Комбіновані препарати мають ряд суттєвих переваг перед монопрепаратами, але з аналітичного погляду виникають складнощі з розробкою методик контролю якості кожного з активних фармацевтичних інгредієнтів.

Отже, розробка та валідація методики визначення L-аргініну у таблетках з рибоксином є актуальною.

У літературі зустрічаються публікації щодо кількісного визначення L-аргініну в комбінованих лікарських засобах з мілдронатом, L-гістидином та L-лізином [7–9] та у біологічних матрицях [10–12] методом високоефек-

тивної рідинної хроматографії (ВЕРХ) з мас-спектрометричним детектуванням.

Метою роботи є розробка та валідація методики кількісного визначення L-аргініну методом ВЕРХ у присутності рибоксину в комбінованих таблетках «Кораргін», а також її валідація відповідно до вимог ДФУ до лікарських препаратів у формі таблеток [13].

Результати досліджень і їх обговорення

Об'єктом досліджень є таблетки «Кораргін», вкриті оболонкою (діючі речовини: рибоксин 100 мг, L-аргініну гідрохлорид в еквіваленті L-аргініну 100 мг, допоміжні речовини: лактози моногідрат, крохмаль картопляний, повідон 25, кремнію діоксид колоїдний безводний, магнію стеарат, гіпромелоза (гідроксипропілметилцелюлоза), титану діоксид (Е 171), тальк, полісорбат 80, поліетиленгліколь 6000 (макрогол 6000), індигокармін (Е 132), хіноліновий жовтий (Е 104)). Як стандарт використовували фармакопейний стандартний зразок аргініну гідрохлориду, серія 1 від 15.01.2012 (ФСЗ ДФУ). Аналітичні дослідження проводили методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 фірми «Agilent Technologies» (Німеччина) з використанням ваг лабораторних електронних OHAUS AP 250D фірми «Ohaus Corporation» (США), мірного посуду класу А та реактивів, які відповідають вимогам ДФУ.

За описом досліджувані таблетки — вкриті оболонкою, від світло-зеленого до зеленого кольору, з двоопуклою поверхнею.

Кількісний вміст рибоксину у препараті «Кораргін», таблетки, вкриті оболонкою, визначали за такою ж методикою, як і у монопрепараті «Рибоксин», таблетки, вкриті оболонкою [14]. Під час вивчення специфічності було підтверджено відсутність впливу плацебо та L-аргініну на кількісне визначення рибоксину [15]. Для кількісного визначення L-аргініну

у таблетках запропоновано використовувати метод рідинної хроматографії. Для визначення вмісту L-аргініну у випробовуваному розчині використовували як розчин порівняння розчин стандартного зразка L-аргініну. Оскільки, відповідно до вимог ДФУ, методика кількісного визначення має бути валідована, нами були досліджені основні валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність), правильність та діапазон застосування.

Допуски вмісту (В) L-аргініну в готовій лікарській формі на момент випуску становлять $\pm 7.5\%$, тому під час проведення валідації критеріями оцінки цієї методики були параметри для $V = 7.5\%$, тобто максимальна невизначеність аналізу ($\Delta_{\text{Ав}}$) має бути не більше 2.4% [16, 17].

Валідації піддавали методику, що описана нижче.

Випробовуваний розчин. 20 таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, додають 250.0 мл 0.1 M розчину кислоти хлористоводневої, витримують на ультразвуковій бані до повного розпадання таблеток, інтенсивно струшують протягом 5 хв, доводять об'єм розчину водою P до позначки, перемішують і фільтрують крізь мембранний фільтр з розміром пор не більше 0.5 мкм, відкидаючи перші 10 мл фільтрату. 1.0 мл отриманого фільтрату поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 10.0 мл розчину 0.01 M натрію тетраборату, 0.4 мл розчину динітрофторбензолу, перемішують та витримують на водяній бані за температури від $80\text{ }^\circ\text{C}$ до $85\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 45 хв. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Розчин порівняння. Точну наважку 130.0 мг стандартного зразка (СЗ) аргініну гідрохлориду (ФСЗ ДФУ) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30.0 мл 0.1 M розчину кислоти хлористоводневої, доводять об'єм розчину водою P до позначки і перемішують. 1.0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 10.0 мл 0.01 M розчину натрію тетраборату, 0.4 мл розчину динітрофторбензолу, перемішують та витримують на водяній бані за температури від $80\text{ }^\circ\text{C}$ до $85\text{ }^\circ\text{C}$ протягом 45 хв. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Хроматографування проводять в описаних нижче умовах:

— колонка розміром 150×4.6 мм, заповнена сорбентом Nupersil ODS з розміром частинок 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Придатність хроматографічної системи»;

— швидкість рухомої фази — 1.0 мл/хв;
— детектування за довжини хвилі 360 нм;
— температура колонки — $40\text{ }^\circ\text{C}$.

По 10 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння хроматографують на рідинному хроматографі зі спектрофотометричним детектором, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного з розчинів.

На хроматограмі випробовуваного розчину та розчину порівняння присутні два основних піки з відносними часами утримування: реагент (динітрофторбензол) — 1.00 , динітробензолне похідне аргініну — близько 2.07 .

Вміст L-аргініну в одній таблетці, у міліграмах, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S \times m_0 \times 1000 \times 50 \times 1 \times P \times 0.827}{S_0 \times 1 \times 20 \times 50 \times 50 \times 100},$$

де S — середнє значення площ піків динітробензолного похідного аргініну, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину;
 S_0 — середнє значення площ піків динітробензолного похідного аргініну, обчислене з хроматограм розчину порівняння;
 m_0 — маса наважки СЗ аргініну гідрохлориду, у міліграмах;
 0.827 — коефіцієнт перерахунку аргініну гідрохлориду на аргінін;
 P — вміст аргініну гідрохлориду у СЗ аргініну гідрохлориду, у відсотках;
 20 — кількість таблеток, що використовується для приготування випробовуваного розчину.

Перевірка придатності хроматографічної системи:

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

— коефіцієнт розділення піків реагенту та динітробензолного похідного аргініну має бути не менше 2.0 ;
— ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком динітробензолного похідного аргініну, має бути не менше 2000 теоретичних тарілок;
— відносне стандартне відхилення, розраховане з площ піків динітробензолного похідного аргініну з хроматограм розчину порівняння, має бути не більше 1.0% ;
— коефіцієнт симетрії піка, розрахований з площ піків динітробензолного похідного аргініну з хроматограм розчину порівняння, має бути не більше 1.7 .

Приготування рухомої фази. Суміш 0.01 М розчину амонію ацетату рН 6.0 та ацетонітрилу Р у співвідношенні 85:15, дегазована будь-яким підходящим способом.

Приготування 0.01 М розчину амонію ацетату рН 6.0. 0.80 г амонію ацетату Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, розчиняють у 200 мл води Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують. Доводять рН до 6.0 потенціометрично (ДФУ, 2.2.3) за допомогою кислоти оцтової безводної Р.

Специфічність методики підтверджується відсутністю впливу допоміжних речовин, що відображають хроматограми:

- хроматограма розчину плацебо (Рис. 1);
- хроматограма розчину динітрофторбензолу (Рис. 2);
- хроматограма розчину порівняння (Рис. 3);
- хроматограма випробовуваного розчину (Рис. 4).

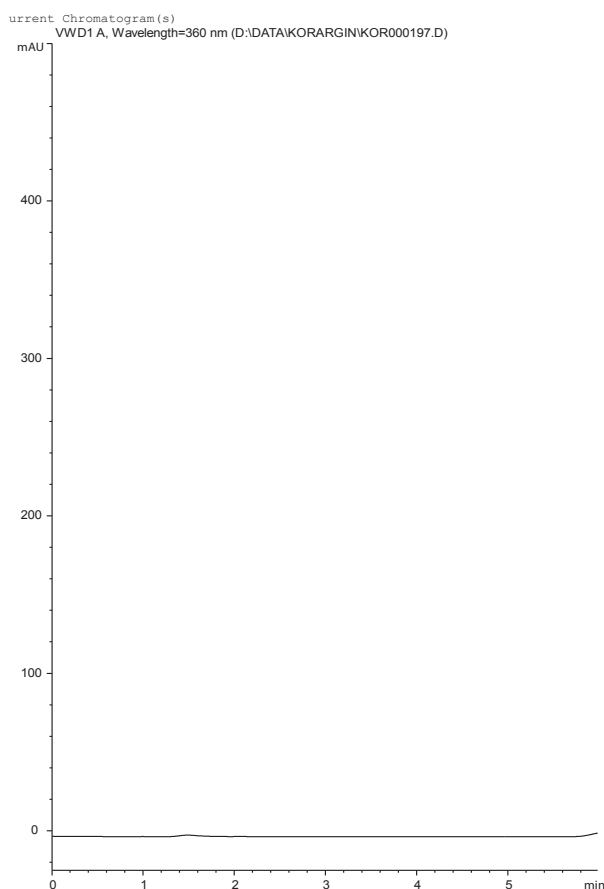
Придатність хроматографічної системи виконується, оскільки піки реагенту та динітробензольного похідного аргініну повністю розділяються (Рис. 5).

Лінійність, збіжність, правильність і діапазон застосування методики визначали на модельних сумішах з відомим вмістом L-аргініну в межах від 80 % до 120 % відносно максимального допустимого значення. Розчин порівняння та модельні розчини готувалися за однією методикою, фактичні величини X_i знаходили зі співвідношення $X = S_i/S_{st} \times 100 \%$. Значення X_i дорівнювали відношенню фактичних наважок СЗ аргініну гідрохлориду, які взяли для приготування модельного розчину і розчину порівняння. Робоча концентрація випробовуваного розчину і розчину порівняння становить близько 40 мкг/мл. Встановлено лінійність залежності площ піків розчинів від концентрації в області приблизно від 32.0 мкг/мл до 48.0 мкг/мл. На Рис. 6 наведено лінійну залежність площі піка від концентрації динітробензольного похідного аргініну в нормалізованих координатах.

Методом найменших квадратів проведено розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \times X_i + a$ для аргініну (Табл. 1).

Як видно з Табл. 1, виконуються всі вимоги до параметрів лінійної залежності, тобто лінійність методики кількісного визначення аргіні-

Рисунок 1



Хроматограма розчину плацебо

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності для аргініну

Величина	Значення	Критерій (для допусків 92.5–107.5 %), $g = 9$	Висновок
b	1.0112	—	—
S_b	0.0112	—	—
a	0.5679	1) $\leq 1.8946 \times S_a = 2.1320$, 2) якщо не виконується 1), то ≤ 3.8	Відповідає
S_a	1.1253	—	—
S_r	0.4378	≥ 1.27	—
r	0.9996	≥ 0.9957	Відповідає

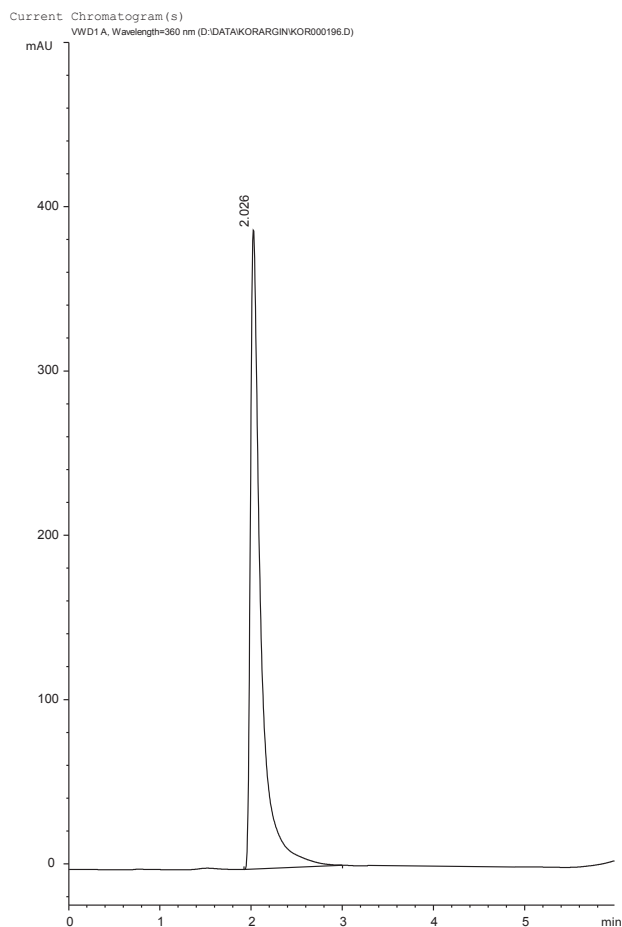
ну підтверджується у всьому діапазоні концентрацій (80-120 %). Високе значення коефіцієнта кореляції для аргініну $r = 0.9996$ задовольняє вимоги критерію прийнятності ($r = 0.9957$) і підтверджує лінійність між введеною і знайденою кількістю досліджуваної речовини (Табл. 2).

Для аргініну методика аналізу характеризується достатньою прецизійністю (збіжністю), оскільки знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (0.7296) менше критичного значення для збіжності результатів (2.4 %) (Табл. 2).

Виконується критерій незначущості систематичної похибки методики: систематична похибка методики (0.67) є практично незначущою, тобто методика аналізу характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій від 80 % до 120 % (Табл. 2).

Дослідження внутрішньолабораторної прецизійності проводили на 5 пробах однієї серії препарату різними аналітиками в різні дні (три дні) з використанням різного мірного посуду шляхом оцінки значення відносного довірчого інтервалу, яке має бути менше максимально

Рисунок 2



Хроматограма розчину динітрофторбензолу

допустимої невизначеності результатів аналізу: $\Delta \bar{Z} \leq 2.4$ (за $B = 7.5$ %).

Внутрішньолабораторна прецизійність результатів аналізу підтверджена тим, що величина відносного довірчого інтервалу для п'яти паралельних визначень однієї серії препарату ($\Delta \bar{Z} = 0.20$ %) задовольняє критерій прийнятності (≤ 2.4 %) (Табл. 3).

Вимоги щодо прогнозованої невизначеності прободготовки (Δ_{Sp}) легко регулюються правильним вибором розведень та наважок, які використовуються під час аналізу. Отже, було підібрано раціональну схему прободготовки (Табл. 4).

Прогнозована повна невизначеність результатів аналізу не має перевищувати максимально допустиму невизначеність результатів аналізу для допусків вмісту ± 7.5 % та становить $\max \Delta_{As} \leq 2.4$ %.

Розрахунок Δ_{As} (%) проводили з урахуванням невизначеності прободготовки та невизначеності кінцевої аналітичної операції (вимірювання):

$$\Delta_{As}, \% = \sqrt{0.43^2 + 0.7^2} = 1.14 \% \leq \Delta_{As\text{теор}} = 2.4 \%$$

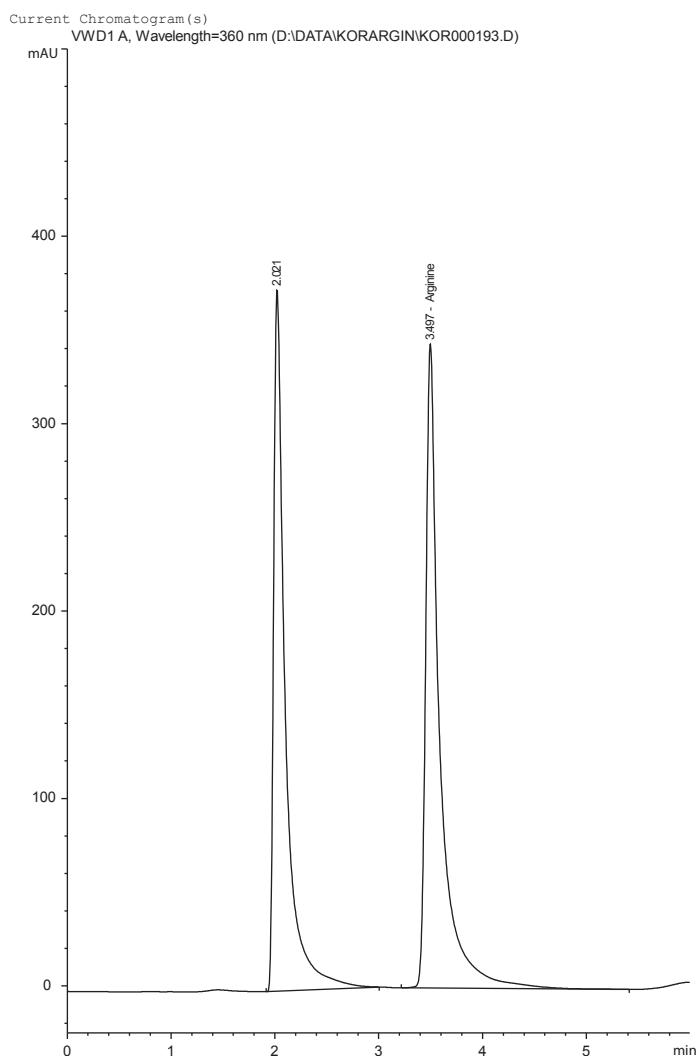
Отже, повна прогнозована невизначеність результатів для тесту «Кількісне визначення L-аргініну» не перевищує критичне значення $\Delta_{As\text{теор}} = 2.4$ %, тобто методика буде давати коректні результати в інших лабораторіях.

Висновки

1. Розроблено методику кількісного визначення L-аргініну методом високоефективної рідинної хроматографії.

2. Проведено валідацію методики кількісного визначення L-аргініну з використанням критеріїв прийнятності для допусків вмісту ± 7.5 %, яка підтверджує специфічність, лінійність, пре-

Рисунок 3



Хроматограма розчину порівняння

Таблиця 2

Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для кількісного визначення аргініну

№ модельного розчину	Наважка ФСЗ аргініну гідрохлориду, мг $m_{st} = 130.3$ мг	Введено, у % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C_{st}$ %)	Середні значення площі піка (S_i) ($S_{st} = 2657.66$)	Знайдено, у % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i/S_{st}$ %)	Знайдено, у % до введеного $Z_i = 100 \times (Y_i/X_i)$, %
1	103.3	79.28	2112.60	79.49	100.26
2	110.5	84.80	2269.26	85.39	100.70
3	117.7	90.33	2441.47	91.11	100.86
4	123.4	94.70	2541.88	95.64	100.99
5	130.1	99.85	2667.17	100.36	100.51
6	136.5	104.76	2789.92	104.98	100.21
7	143.3	109.98	2936.10	110.48	100.45
8	149.5	114.74	3094.00	116.42	101.46
9	156.8	120.34	3215.80	121.00	100.55
середнє, \bar{Z} %					100.67
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , %					
$RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$					0.3924
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z(\%) = t(95, n-1) \times RSD_z = 1.860 \times RSD_z$, %					0.7296
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As} , % (гранична невизначеність)					2.4
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $					0.67
Критерій незначущості систематичної похибки $\delta\% = \frac{\Delta_z}{\sqrt{n}} = \frac{\Delta_z}{3} = \frac{0.7296}{3} = 0.243$ ($0.243 \geq 0.67$); якщо не виконується 1), то $\Delta \leq \Delta_z$ ($0.67 \leq 0.7296$)					Не виконується Виконується
Загальний висновок про точність методики					Коректна

Таблиця 3

Результати перевірки внутрішньолабораторної прецизійності

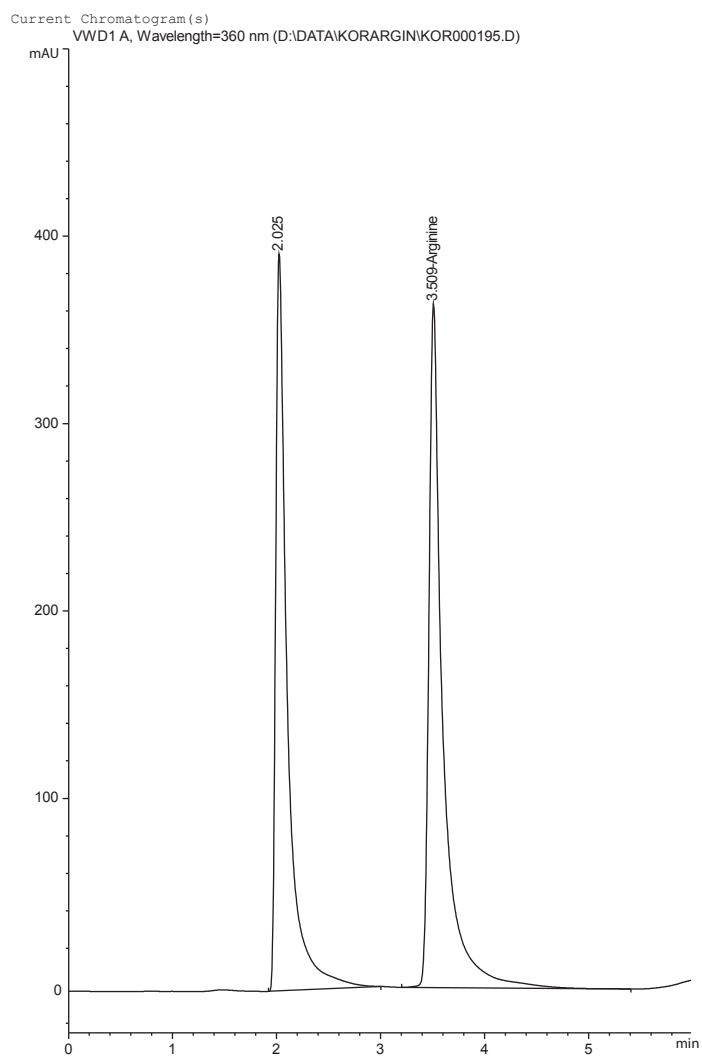
№ розчину	Величина Z_i , %			
	1-й дослід	2-й дослід	3-й дослід	
1	101.21	100.47	100.83	
2	100.58	100.61	100.56	
3	100.67	100.32	100.27	
4	100.94	100.69	100.58	
5	100.33	100.92	100.62	
Середнє \bar{Z} (%), $\bar{Z}(\%) = \frac{1}{5} \sum Z_i$		100.75	100.60	100.57
Об'єднане середнє		100.64		
Відносне стандартне відхилення, RSD_z (%), $RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_i (Z_i - \bar{Z})^2}{15}} \times \frac{100}{\bar{Z}}$		0.25		
Відносний довірчий інтервал, $\Delta_z = t(95\%, 14) \times \frac{RSD_z}{\sqrt{5}}$		$1.76 \times 0.25/\sqrt{5} = 0.20 \leq 2.4$		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %		2.4		

Таблиця 4

Розрахунок невизначеності пробопідготовки розчину порівняння та досліджуваного розчину

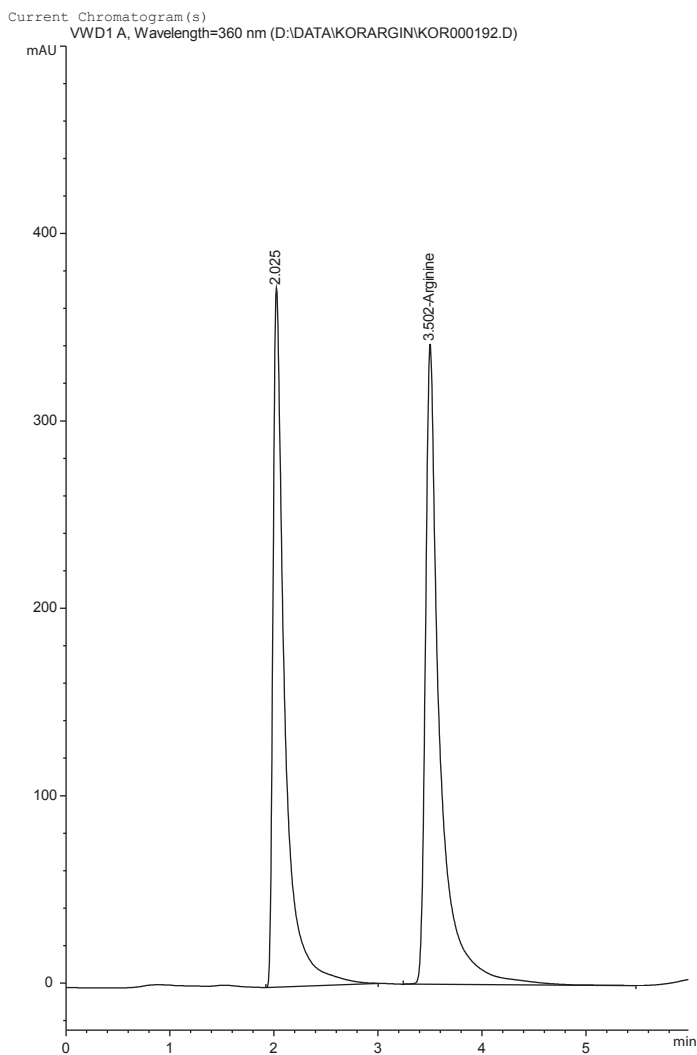
Ч. ч.	Операції пробопідготовки	Невизначеність
Розчин порівняння		
1.	Взяття наважки стандарту	$(0.2 \text{ мг} / 130 \text{ мг}) \times 100 \% = 0.15 \%$
2.	Доведення до об'єму в мірній колбі на 50 мл	0.17 %
3.	Взяття аліквоти піпеткою 1 мл	0.61 %
4.	Доведення до об'єму в мірній колбі на 50 мл	0.17 %
Випробовуваний розчин		
6.	Доведення до об'єму в мірній колбі на 1000 мл	0.05 %
7.	Взяття аліквоти піпеткою 1 мл	0.61 %
8.	Доведення до об'єму в мірній колбі на 50 мл	0.17 %
$\Delta_{SP} = \sqrt{0.15^2 + 0.17^2 + 0.61^2 + 0.17^2 + 0.05^2 + 0.61^2 + 0.17^2} = 0.43 \%$		

Рисунок 4



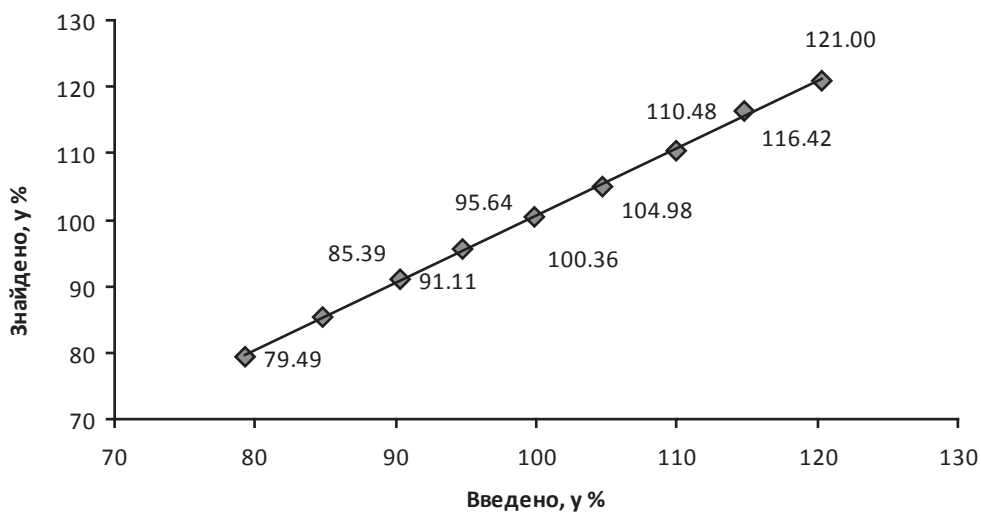
Хроматограма випробовуваного розчину

Рисунок 5



Хроматограма визначення придатності хроматографічної системи

Рисунок 6



Лінійна залежність площі піка від концентрації аргініну

цизійність (збіжність), правильність, діапазон застосування та внутрішньолабораторну прецизійність запропонованої методики.

ЛІТЕРАТУРА

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 16-е изд., перераб., испр. и доп. — Москва: Новая волна, 2010. — С. 702.
2. Коркушко О.В. Возрастные особенности функционального состояния эндотелия микрососудов / Коркушко О.В., Лишнева В.Ю., Дужак Г.В. // Кровообіг та гемостаз. — 2007. — № 4. — С. 5-11.
3. Hsiao G. Protective mechanisms of inosine in platelet activation and cerebral ischemic damage / G. Hsiao, Kuang H. Lin., Y. Chang [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2005. — V. 25. — P. 1998-2004.
4. Buckley S. *In vivo* inosine protects alveolar epithelial type 2 cells against hyperoxia-induced DNA damage through MAP kinase signaling / S. Buckley, L. Barsky, K. Weinberg, D. Warburton // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* — 2005. — V. 288. — P. L569-L575.
5. Modis K. Cytoprotective effects of adenosine and inosine in an *in vitro* model of acute tubular necrosis / K. Modis, D. Gero, N. Nagy [et al.] // *British Journal of Pharmacology.* — 2009. — V. 158. — P. 1565-1578.
6. Marteau F. Involvement of multiple P2Y receptors and signaling pathways in the action of adenine nucleotides diphosphates on human monocyte-derived dendritic cells // *J. Leukocyte Biol.* — 2004. — V. 76. — P. 796-803.
7. Алмакаєва Л.Г. Валідація методики кількісного визначення міддронату та L-аргініну гідрохлориду в комбінованому препараті у формі концентрату для інфузій / Алмакаєва Л.Г., Назарова О.С., Вербова Ю.М. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2011. — № 4 (18). — С. 60-65.
8. Шовковий А.В. Применение метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в анализе комбинированного препарата «Таблетки Байкамин» [Электронный ресурс] / Шовковий А.В., Шенин А.Т., Лапкина Ю.И. // *Провизор.* — 1999. — № 14. — Режим доступа к журн.: http://www.provisor.com.ua/archive/1999/N14/shenn.php?part_code=14&art_code=1687
9. Георгиевский В.П. Хроматографические методы в создании и контроле лекарственных средств в Украине // *Поверхность.* — 2014. — Вып. 6 (21). — С. 326-421.
10. Погорелова Т.Н. Количественное определение свободных форм L-аргинина и L-пролина в амниотической жидкости / Т.Н. Погорелова, И.И. Крукиер, Е.В. Нарезная, О.И. Аскалєпова, А.А. Никашина // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* — 2011. — № 1. — С. 48-50.
11. Стасюк Н.Е. Метод анализа L-аргинина с использованием аргиназы I / Стасюк Н.Е., Гайда Г.З., Гончар М.В. // *Прикладная биохимия и микробиология.* — 2013. — Т. 49. — № 5. — С. 531-536.
12. Faye B. Vicente. Quantification of arginine and its methylated derivatives in plasma by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) / V. Faye B., G. Vespa, A. Miller, S. Naumond // *Clinical Applications of Mass Spectrometry in Biomolecular Analysis: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology.* — Vol. 1378. — P. 21-30. — DOI 10.1007/978-1-4939-3182-8_3.
13. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». — 2-е вид. — Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015.
14. Росада М.В. Розробка та валідація методики кількісного визначення таблеток з рибоксинам / Росада М.В., Бевз Н.Ю., Георгіянець В.А. // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. — 2015. — № 5. — С. 21-26.
15. Росада М.В. Розробка та валідація методики кількісного визначення рибоксину у комбінованих таблетках кораргін / М.В. Росада, Н.Ю. Бевз, В.А. Георгіянець, Н.В. Гарна // *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи: матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13-16 верес. 2016 р.* — Харків, 2016. — Т. 1. — С. 208.
16. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // *Аналитическое обеспечение создания, стандартизации и контроля качества лекарственных средств / Под ред. В.П. Георгиевского.* — Харьков: НТМТ. — Т. 1. — 2011. — С. 934-1063.
17. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // *Фармаком.* — 2006. — № 1/2. — С. 3-44.

УДК 543.544.5.068.7:54.062:547.495.9:615.453.6

Резюме

Росада Н. В., Бевз Н. Ю., Георгіянець В. А.
Национальный фармацевтический университет

Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для количественной оценки L-аргинина в комбинированных таблетках

Разработана методика количественного определения L-аргинина в комбинированном лекарственном средстве «Кораргин», таблетки, покрытые оболочкой, с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена валидация разработанной методики. Оценена специфичность методики: влияние растворителя, плацебо и второго действующего вещества лекарственной формы — рибоксина. Изучены валидационные характеристики, такие как специфичность, линейность, прецизионность (сходимость), правильность, диапазон применения и внутрिलाбораторная прецизионность. Доказана возможность применения методики при контроле качества лекарственного средства. Разработанная методика включена в методы контроля качества препарата «Кораргин», таблетки, покрытые оболочкой, производства ЗАО «Технолог», г. Умань, Украина.

Ключевые слова: L-аргинин, таблетки, метод ВЭЖХ, валидация, стандартизация.

UDC 543.544.5.068.7:54.062:547.495.9:615.453.6

Summary

Rosada M. V., Bevs N. Yu., Georgiyants V. A.
National University of Pharmacy, Ukraine

The use of high-performance liquid chromatography for the quantitative evaluation of L-arginine in combination tablets

An analytical procedure for the quantitative determination of L-arginine in the dosage form of *Corargin*, coated tablets, by high-performance liquid chromatography with UV-visible detection was developed and validated. Chromatographic analyses were performed on a Hypersil ODS (150 × 4.6 mm) column with a mobile phase of acetonitrile and 0.01 M ammonium acetate (85:15, v/v) at a flow rate of 1 mL/min. The L-arginine was detected and quantified using a UV detector at a wavelength of 360 nm. The specificity of the procedure — the influence of the solvent, placebo and another active ingredient of riboxin was estimated. The following validation characteristics were evaluated: specificity, linearity, precision (repeatability), accuracy, range and reproducibility. The applicability of the analytical procedure for the quality control of the drug was demonstrated. The proposed analytical procedure was included in the methods of quality control of the drug *Corargin*, coated tablets, manufactured by PJSC *Technolog*, Uman, Ukraine.

Keywords: Larginine, tablets, HPLC method, validation, standardization.