

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
факультет по подготовке иностранных граждан
кафедра медицинской химии**

КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

на тему: **«СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
АРГИНИНА АСПАРТАТА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ И
ДИЕТИЧЕСКИХ ДОБАВКАХ»**

Выполнил: соискатель высшего образования
группы Фм19(5,0д)і-03
специальности 226 Фармация, промышленная фармация
образовательной программы Фармация
Мохамед БАССУ

Руководитель: заведующая кафедры медицинской
химии, д.фарм.н., профессор Лина ПЕРЕХОДА

Рецензент: доцент заведения высшего образования
кафедры фармацевтической химии, к.фарм.н., доцент
Наталия БЕВЗ

Харьков – 2024 год

АННОТАЦИЯ

Разработана методика спектрофотометрического определения аргинина аспартата в лекарственных средствах и диетических добавках, в основу которой положена реакция аминокислот с нингидрином, подобраны условия, изучены стабильности растворов и подчиняемость основному закону светопоглощения. Результаты статистически обработаны и достоверны. Квалификационная работа состоит из введения, трех разделов, общих выводов и списка использованной литературы, состоящего из 33 источников. Содержание работы изложено на 42 страницах, включает 6 таблиц и 5 рисунков.

Ключевые слова: аргинина аспартат, спектрофотометрический метод, контроль качества, стандартизация.

ANNOTATION

The method of spectrophotometric determination of arginine aspartate in medicines and dietary supplements has been developed, which is based on the reaction of amino acids with ninhydrin, conditions have been selected, stability of solutions and obedience to the basic law of light absorption have been studied. The results are statistically processed and reliable. The qualification work consists of an introduction, three sections, general conclusions and a list of used literature consisting of 33 sources. The content of the work is set out on 42 pages, includes 6 tables and 5 figures.

Key words: arginine aspartate, spectrophotometric method, quality control, standardization.

ЗМІСТ

ВВЕДЕНИЕ	4
РАЗДЕЛ I. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АРГИНИНА	
АСПАРТАТА (обзор литературы)	7
1.1. Ассортимент лекарственных средств и диетических добавок с аргинином	8
1.2. Применение аргинина в медицинской практике.....	12
1.2.1. Аргинин при онкологических заболеваниях.....	13
1.2.2. Аргинин в схеме лечения ишемической болезни сердца	16
1.2.3. L-аргинин - субстрат для синтеза оксида азота	19
Выводы к разделу I	23
РАЗДЕЛ II. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА АРГИНИНА	
АСПАРТАТА.....	24
2.1. Физико-химические свойства аргинина аспартата.....	24
2.2. Методы анализа аргинина аспартата	24
Выводы к разделу II	28
РАЗДЕЛ III. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ	
АРГИНИНА АСПАРТАТА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ.....	29
3.1. Материалы и методы	30
3.3. Результаты количественного определения аргинина аспартата в объектах исследования	35
3.3.1. Определение аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин»	36
3.3.2. Определение аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат»	39
Выводы к разделу III.....	41
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ	42
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	43

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Аргинина аспартат является ключевой аминокислотой, играющей важную роль в биохимических процессах организма. Аргинина аспартат активно используется в медицине и в пищевой промышленности, в качестве активных ингредиентов входит в состав лекарственных препаратов и диетических добавках.

Важнейшая из функций солей аргинина заключается в том, что он является источником NO - молекулы, которая выполняет ряд жизненно важных функций. Прежде всего регулирует тонус сосудов, оказывает антитромботическое действие. Кроме того, NO обладает иммуномодулирующими, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами, регулирует апоптоз и др. Огромную роль NO играет в работе нервной системы, улучшает когнитивные функции, способствует устранению астенических явлений и общему укреплению организма во время умственных и физических нагрузок. Дефицит аминокислоты L-аргинин, содержащей NO, может вызвать катастрофические последствия, вплоть до инсульта или инфаркта, тогда как корректируется он довольно просто.

Несмотря на важность аргинина аспартата и его широкое применение, в фармакопее мира не включено монографию на готовые лекарственные препараты аргинина. Кроме того, многие из существующих методов требуют сложных пробоподготовок и оборудования, что затрудняет их применение в реальных условиях производства и контроля качества.

Разработка спектрофотометрической методики представляет собой обещающий подход к решению проблемы определения аргинина аспартата. Спектрофотометрия позволяет быстро и точно измерять поглощение света веществом, что делает ее идеальным инструментом для качественного анализа аминокислот в различных образцах. Методика спектрофотометрии может быть легко адаптирована для анализа как лекарственных препаратов, так и

диетических добавок, обеспечивая высокую степень чувствительности и специфичности.

Разработка спектрофотометрической методики для определения аргинина аспартата в составе лекарственных препаратов и диетических добавок представляет собой важный шаг в обеспечении качества и безопасности этих продуктов. Этот подход обладает значительным потенциалом для улучшения контроля качества и соответствия стандартам в производстве лекарственных средств и диетических добавок.

Цель исследования. Разработка универсальной спектрофотометрической методики определения аргинина аспартата в составе лекарственных средств и диетических добавок.

Задания исследования. Достижение цели достигалось в следующей последовательности:

1. Рассмотреть и обобщить данные научной литературы относительно фармакологических свойств и роли L-аргинина в организме человека.

2. Обобщить данные научной литературы относительно физико-химических свойств и применения в медицинской практике аргинина и его соли - аргинина аспартата.

3. Рассмотреть возможные методы идентификации и количественного определения аргинина аспартата в субстанции и готовых лекарственных средствах.

4. Изучить возможность использования метода абсорбционной спектрофотометрии для проведения определения аргинина аспартата в лекарственном средстве «Саргин» (производства АО "Фармак", Украина) и диетической добавки «Аргитат» (производитель ООО «НПК «Виларус», Украина).

5. Разработать спектрофотометрическую методику количественного определения аргинина аспартата в объектах исследования.

6. Методом статистической обработки результатов химического эксперимента рассчитать метрологические характеристики методики и сделать вывод о пригодности методики для задач фармацевтического анализа.

Объект исследования. Лекарственное средство «Саргин», раствор оральный, аргинина аспартат – 200 мг/мл (с.20123, производства АО "Фармак", Украина) и диетическая добавка «Аргитат», раствор для внутреннего употребления, 10 мл содержит L-аргинина аспартат – 1900 мг (производитель ООО «НПК «Виларус», Украина).

Предмет исследования. Разработка спектрофотометрической методики определения L-аргинина аспартата в объектах исследования, которые бы отвечали современным требованиям, предъявляемым к методикам проведения контроля качества.

Методы исследования. Абсорбционная спектрофотометрия в видимой области, математические расчеты и статистическая обработка полученных результатов химического эксперимента.

Практическое значение полученных результатов. Разработана спектрофотометрическая методика контроля качества L-аргинина аспартата, которая может применяться для дальнейшего анализа активного фармацевтического компонента в составе лекарственных средств и диетических добавках для проведения контроля качества по пунктам "Идентификация" и "Количественное определение".

Апробация результатов исследования и публикации. Работа апробирована на XXX Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов "АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ" (НФаУ, г. Харьков, Украина).

Структура и объем квалификационной работы. Квалификационная работа состоит из введения, трех разделов, общих выводов и списка использованной литературы, состоящего из 33 источников. Содержание работы изложено на 42 страницах, включает 6 таблиц и 5 рисунков.

РАЗДЕЛ I

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АРГИНИНА АСПАРТАТА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

L-аргинин — основная эндогенная аминокислота. Очень хорошо известна его значительная метаболическая роль как продукта детоксикации аммиака, метаболита цикла трикарбоновых кислот, предшественника белков, орнитина, мочевины и креатинина, а также аминокислоты, участвующей в образовании активных центров ферментов. Современный интерес к этой аминокислоте обусловлен главным образом ее тесной связью с важной сигнальной молекулой оксидом азота (NO), так как L-аргинин является единственным субстратом продукции NO, влияющего на сердечнососудистую систему (кровеносные сосуды и сердце). Большинство экспериментальных и клинических исследований четко показывают благотворное влияние L-аргинина на эндотелий при состояниях, связанных с его гипофункцией и, следовательно, со снижением синтеза NO. Некоторые клинические исследования с участием здоровых добровольцев или пациентов, страдающих гипертонией и диабетом, показывают, что он также может регулировать сосудистый гемостаз. Более того, эксперименты, проведенные на животных, и данные *in vitro* также позволяют предположить, что L-аргинин может оказывать комплексное антиагрегационное, антикоагулянтное и профибринолитическое действие. Следовательно, новый терапевтический потенциал L-аргинина вызывает интерес у производителей лекарственных средств, что приводит к постоянному расширению фармацевтического рынка препаратами аргинина, в частности, солей аргинина — аргинина гидрохлорид, аргинина аспартата, аргинина аспарагината, которые выпускают в качестве диетических добавок и лекарственных средств [1].

1.1. Ассортимент лекарственных средств и диетических добавок с аргинином

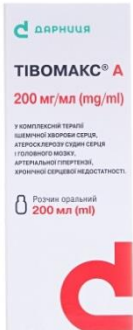
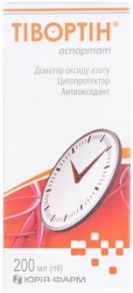
Перед проведением исследований был проведен анализ фармацевтического рынка по наличию лекарственных средств и диетических добавок, содержащих соли L-аргинина. Ассортимент фармацевтической продукции, представленный на рынке Украины приведен в таблице 1.1 [2, 3].

Таблица 1.1

Ассортимент лекарственных средств и диетических добавок
с солями L-аргинина

Название и фотоиллюстрация фармацевтического препарата	Активный фармацевтический ингредиент, дозировка и форма выпуска	Производитель
1	2	3
Лекарственные средства		
Аргиллайф 	раствор оральный, аргинина аспартат (L-аргинина аспартат) – 200 мг/мл	ПАО "Галичфарм", Украина
Саргин 	раствор оральный, аргинина аспартат (L- аргинина аспартат) – 200 мг/мл	АО "Фармак", Украина

Продолж. табл. 1.1.

1	2	3
Тивомакс® А 	раствор оральный, аргинина аспартат (L- аргинина аспартат) – 200 мг/мл	ЧАО "Фармацевтическая фирма "Дарница", Украина
Тивортин® Аспартат 	раствор оральный, аргинина аспартат (L- аргинина аспартат) – 200 мг/мл	ООО "Юрия-Фарм", Украина
Диетические добавки		
L-аргинин 	таблетки, L-аргинин – 500 мг	“Квайссер Фарма ГмбХ и Ко. КГ”, Германия

Продолж. табл. 1.1.

1	2	3
Аргинин Palianytsia 	таблетки, L-аргинин – 350 мг	ООО «Био Лайт», Украина
Аргинин Актив 	1 саше/ флакон (10 мл) содержит 1 г бетаина, 1 г аргинина цитрата (что соответствует 0,476 г L-аргинина)	ООО «ФК «Здоровье»
Аргитат 	Раствор для внутреннего употребления, 10 мл содержит: L-аргинина аспарат – 1900 мг	ООО «НПК «Виларус», Украина
Кордоктор 	L-аргинина аспарат - 3000 мг в форме саше для внутреннего использования	ООО «МКМ Найнекс», Украина

Продолж. табл. 1.1.

1	2	3
Кордоктор + 	15 мл раствора содержит: аргинина сукцината - 3000 мг, L- карнитина тартрат - 500 мг, магния - калия цитрат - 200 мг	ООО «МКМ Найнекс», Украина
Таваргин 	1 мл раствора для внутреннего применения содержит: основные вещества: L – аргинин – 200 мг (mg), L – цитруллин – 20 мг (mg)	ООО «Агрика Пром», Украина

Также аргинин входит в многокомпонентные лекарственные средства с другими аминокислотами, которые представлены в форме растворов для парентерального питания, такие как «Олимель N7E» (производства Бакстер С.А., Бельгия), «Аминосол нео» (производитель АД «Хемофарм», Сербия), «Нутрифлекс липид специальный» (производства АГ «Б.Браун Мельзунген», Германия [4].

Исходя из ассортимента фармацевтической продукции, более 50% лекарственных средств и диетических добавок аргинина содержат соль аргинина аспартат, что стало объектом для проведения дальнейших исследований.

1.2. Применение аргинина в медицинской практике

Аргинин является заменимой аминокислотой, играющей важную роль в пластическом и энергетическом обмене, регулирующей иммунные, метаболические процессы. Аргинин имеет широкий спектр биологических свойств, многофункционален. Современная медицинская наука располагает большим фактическим материалом относительно роли аргинина в лечении отдельных заболеваний. Аргинин может использоваться в форме гидрохлорида, ацетиласпарагината, аспартата, соли лимонной кислоты, глутамата и др.

Широкий спектр фармакологического действия L-аргинина обуславливает создание и разработку многочисленных лекарственных препаратов на его основе, которые применяют при следующих состояниях и заболеваниях: гипертония, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, болезни печени, сахарный диабет, астения и др. L-аргинин хорошо переносится здоровыми добровольцами и пациентами при внутривенном и пероральном введении в дозах 3-8 г/день. Положительный клинический опыт использования L-аргинина обуславливает его востребованность на фармакологическом рынке как препарата широкого клинического применения, а также актуально его применение в качестве вспомогательного вещества.

Пути поступления аргинина в организм:

- Синтез в системе тонкого кишечника - почек из тонкокишечного глутамина и глутамата, глутамина плазмы крови, пролина пищи, NH_3 и CO_2 , образованных кишечной микрофлорой.
- Деградация тела белков.
- Поступление с пищей и всасывание в кишечнике.
- Локальные механизмы ферментативной рециркуляции цитруллина.

Физиологическая потребность тканей и органов большинства млекопитающих в аргинине удовлетворяется его эндогенным синтезом и/или поступлением с пищей, однако для молодых людей и взрослых при стрессе или болезни эта аминокислота становится эссенциальной. Аргинин служит необходимым предшественником для синтеза белков и многих биологически важных молекул, таких как орнитин, пролин, полиамины, креатин и агматин. Однако главная роль аргинина в организме человека - быть субстратом для синтеза оксида азота (NO) [5].

1.2.1. Аргинин при онкологических заболеваниях

Важным шагом в развитии опухоли является метаболическая адаптация, позволяющая справиться с требованиями быстрого деления клеток, а также с гипоксией и микроокружением, лишенным питательных веществ [6]. Различные опухоли используют разные стратегии для перепрограммирования своих метаболических путей. При этом опухолевые клетки обнаруживают специфические уязвимости, которые можно использовать терапевтически. Например, опухолевые клетки, а не их нормальные аналоги, «пристрастились» к определенным внешним питательным веществам, включая аминокислоты, и в последние годы терапия аминокислотным голоданием получила значительный импульс [7]. Одним из наиболее распространенных метаболических дефектов опухолевых клеток является нарушение внутренней способности синтезировать аргинин [8]. Нацеливание на экзогенный аргинин с помощью ферментов, метаболизирующих аргинин, таких как аргиназа, аргининдекарбоксилаза и аргининдеиминаза, привлекает все большее внимание в качестве методов лечения различных видов рака [9].

Аргинин участвует во многих биологических функциях, включая пролиферацию клеток, передачу сигналов клеткам, сокращение мышц,

иммунитет, нейротрансмиссию, расширение сосудов, синтез факторов роста и других аминокислот [10]. Три основных источника аргинина включают:

- пищевые добавки, обогащенные аргинином, поступающие с пищей, например, из курицы, свиной корейки, тыквенных семечек, арахиса, соевых бобов и т. д. (приблизительно 5 г аргинина в день),
- эндогенный синтез из аргинина (цитруллин (15% от общего производства аргинина),
- катаболизм белка (примерно 80% циркулирующего аргинина).

Аргинин является прямым источником оксида азота (NO), орнитина и агматина посредством трех ферментных реакций. Аргинин метаболизируется до NO и цитруллина под действием синтазы оксида азота (NOS), в орнитин и мочевины под действием аргиназы и в агматин под действием аргининдекарбоксилазы. NO выполняет множество физиологических функций.

И орнитин, и агматин являются основными источниками путресцина, который является важным предшественником полиаминов. Эти метаболиты играют ключевые функции в физиологии клеток и здоровье человека, как и аргинин. Тем не менее, аргинин также считается «полунезаменимой» или «условно незаменимой» аминокислотой. Это связано с присущей нормальным клеткам способностью синтезировать эту молекулу из цитруллина и аспартата посредством аргининосукцинатсинтазы 1 и аргининосукцинатлиазы в цикле мочевины. Цитруллин можно синтезировать из глутамата, пролина и глутамина [11]. Таким образом, нормальные клетки не полностью зависят от внешнего аргинина. Тем не менее, многие раковые клетки «пристрастились» к внешнему аргинину.

Большая часть нашего нынешнего понимания влияния аргинина на метаболизм рака основана на исследованиях депривации аргинина в раковых клетках с низким уровнем аргининосукцинатсинтазы 1. Реакция зависит от изучаемых типов клеток, но обычно их можно разделить на две категории.

В клетках рака молочной железы и предстательной железы аргининовое голодание вызывает глобальное подавление транскрипции метаболических генов, включая те, которые участвуют в окислительном фосфорилировании и функциях митохондрий, гликолизе, синтезе пуринов и пиримидинов, генах репарации ДНК, из-за эпигенетического ремоделирования [12]. Удаление аргинина вызывает фрагментацию митохондрий и нарушение митохондриальных функций, что измеряется скоростью потребления кислорода и мембранным потенциалом [13]. Подавление транскрипции генов, участвующих в функциях митохондрий, отражено в метаболомических исследованиях, которые показывают общее истощение метаболитов цикла трикарбоновых кислот, таких как α KG, малат, фумарат и сукцинат. Было высказано предположение, что, по крайней мере, в клетках рака молочной железы такое истощение частично происходит из-за ER-стресс-опосредованной активации аспарагинсинтетазы, которая истощает аспартат и уменьшает аспартат-малатный челнок, отрицательно влияя на цикл трикарбоновых кислот. Нарушение реакции окислительного фосфорилирования из-за истощения метаболитов, поддерживаемое подавлением транскрипции ядерно-кодируемых генов окислительного фосфорилирования, генерирует обильное количество mtROS, что приводит к повреждению ДНК и возможной гибели клеток. Действительно, в этих клетках функциональный нокаут митохондрий предотвратил повреждение ДНК и гибель клеток. Дополнительные доказательства повреждения митохондрий из-за депривации аргинина включают морфологические изменения от гиперфузии на ранней стадии до фрагментации на поздней стадии. Этот переход вызван сниженной экспрессией митофусина 2, опосредованной индуцированной депривацией аргинина активацией p38 и фосфорилированием KAP-1.

Напротив, депривация аргинина в клетках меланомы и саркомы с низким содержанием ASS1 приводит к понижению модуляции пути гликолиза

с увеличением анаплероза глутамина и синтеза серина для поддержания цикла ТСА [14]. Авторы предполагают, что подавление эффекта Варбурга является одной из причин того, как раковые клетки адаптируются к стрессовой среде и в конечном итоге становятся устойчивыми к лечению. Характерной чертой этих клеток является активация с-тус при лишении аргинина, что не обязательно имеет место при раке простаты и молочной железы, описанном выше, и может объяснить различия в их ответах на лишение аргинина. Известно, что с-тус активирует глутаминазу и делает клетки зависимыми от глутамина. Соответственно, эти виды опухолей являются синтетически летальными с ингибитором глутаминазы [15].

В любом из вышеперечисленных случаев митохондрии подвергаются депривации аргинина, а аргинин представляет собой основной регулятор активности митохондрий при метаболизме опухоли.

1.2.2. Аргинин в схеме лечения ишемической болезни сердца

Патоморфологической основой развития ишемической болезни сердца (ИБС) является атеросклероз коронарных артерий, который является системным патологическим процессом и требует системных подходов к лечению. Ключевая роль в комплексном консервативном лечении пациентов с ИБС уделяется интенсивной гиполипидемической терапии. Однако кроме нарушений липидного обмена этиопатогенез атеросклеротического поражения сосудов (в том числе коронарных) включает еще несколько важных звеньев, центральным из которых на сегодняшний день признано эндотелиальную дисфункцию. Эндотелий является тонкой полупроницаемой мембраной, отделяющей кровотока от более глубоких структур сосуда, которая непрерывно вырабатывает огромное количество биологически активных веществ, в связи с чем является гигантским паракринным органом. Главная

роль эндотелия заключается в поддержании гомеостаза путем регуляции противоположных процессов, происходящих в организме [16]:

- тонуса сосудов (баланса вазоконстрикции и вазодилатации);
- анатомического строения сосудов (потенцирование и ингибирование факторов пролиферации);
- гемостаза (потенцирование и ингибирование факторов фибринолиза и агрегации тромбоцитов);
- местного воспаления (выработка про- и противовоспалительных факторов).

Было доказано, что эндотелий является первым барьером на пути реализации воздействия на организм неблагоприятных факторов внешней среды. Именно потеря нормальной функции эндотелия выступает первым этапом развития атеросклеротического процесса [17].

Эндотелиоциты синтезируют целый ряд биологически активных субстанций, участвующих в регуляции воспалительного ответа (ФНО- α , супероксидные радикалы, С-натрийуретический пептид, оксид азота и др.), гемостаза (тромбоцитарный ростовой фактор, тканевый активатор плазминогена и ингибитор активатора плазминогена, фактор Виллебранда, ангиотензин IV, эндотелин I, простациклин, оксид азота), процессов роста и пролиферации (ангиотензин, эндотелин I, супероксидные радикалы, простациклин, С-натрийуретический пептид, оксид азота) и в регуляции тонуса гладких мышц сосудов (эндотелин, ангиотензин II, тромбоксан A₂, простациклин, эндотелиальный фактор деполяризации, оксид азота).

Центральная роль во всех этих процессах принадлежит оксиду азота (NO). Именно NO, присутствующий во всех эндотелиальных клетках, обладает наиболее выраженными сосудорасширяющими свойствами, и именно эта молекула сегодня является главной "мишенью" для фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции. Снижение уровня биологически активного NO, продуцируемого сосудистым

эндотелием, или снижение его биодоступности считается ключевым моментом в формировании эндотелиальной дисфункции. Важнейшим звеном в цепи механизмов, ведущих к развитию дефицита NO и эндотелиальной дисфункции при многих патологиях, в том числе при ИБС и сахарном диабете, является дефицит концентрации L-аргинина, которая колеблется в зависимости от возраста и диеты.

Гиперхолестеринемия ухудшает функцию эндотелия. Однако в исследованиях на животных сообщается, что производство/высвобождение оксида азота из гиперхолестеринемической аорты усиливается, а не ухудшается. L-аргинин улучшает функцию эндотелия у пациентов с гиперхолестеринемией. Было проведено исследование влияния L-аргинина на функцию эндотелия и окислительный стресс у пациентов с гиперхолестеринемией. Результаты которого показали, что опосредованная потоком вазодилатация была ниже, а концентрация TBARS была выше в группе с гиперхолестеринемией, чем в контрольной группе при инфузии физиологического раствора. Добавление L-аргинина усилило опосредованную потоком вазодилатацию и уменьшило концентрацию TBARS в группе с гиперхолестеринемией. Функция эндотелия притуплена, а окислительный стресс повышается у пациентов с гиперхолестеринемией. L-аргинин улучшает функцию эндотелия со снижением окислительного стресса. Увеличение производства/высвобождения оксида азота, вызванное L-аргонином, может действовать как антиоксидант и способствует улучшению функции эндотелия у пациентов с гиперхолестеринемией.

Также было доказано, что L-аргинина аспартата в форме перорального раствора в комплексной терапии у пациентов с артериальной гипертензией и ревматоидным артритом способствует: улучшению эндотелиальной функции сосудов преимущественно путем коррекции значительного снижения показателей эндотелийзависимой вазодилатации и вазоконстрикторного

ответа на пробу с реактивной гиперемией и повышению эффективности контроля артериального давления [18].

У лиц с гиперхолестеринемией наблюдается опосредованная потоком вазодилатация, которая в значительной степени связана со снижением активности оксида азота, полученного из эндотелия (endothelium-derived nitric oxide - EDNO). Было показано, что оральный прием больших количеств (6-21 г/день) L-аргинина, предшественника EDNO, улучшает эндотелий-опосредованную вазодилатацию при гиперхолестеринемии. Также был разработан батончик питательных веществ, обогащенный L-аргинином, а также другими ингредиентами, которые дополнительно усиливают активность EDNO. Пилотное исследование с участием пациентов с гиперхолестеринемией показало, что данная форма хорошо переносилась, не имела неблагоприятного влияния на химический состав сыворотки или липидный профиль, а также нормализовала эндотелиальную вазодилататорную функцию. Данные результатов доказали, что использование питательного батончика, предназначенного для усиления активности EDNO, улучшает опосредованную потоком эндотелий-зависимую вазодилатацию у лиц с гиперхолестеринемией [19].

1.2.3. L-аргинин - субстрат для синтеза оксида азота

Открытие того, что клетки млекопитающих производят оксид азота, газ, который ранее считался просто загрязнителем атмосферы, предоставляет важную информацию о многих биологических процессах. Оксид азота синтезируется из аминокислоты L-аргинина семейством ферментов, синтазами оксида азота, с помощью до сих пор неизвестного метаболического пути, а именно, пути L-аргинин-оксид азота.

Синтез оксида азота эндотелием сосудов отвечает за вазодилататорный тонус, необходимый для регуляции артериального давления. В центральной

нервной системе оксид азота является нейромедиатором, который отвечает за несколько функций, включая формирование памяти. На периферии существует широкая сеть нервов, которые ранее были признаны неадренергическими и нехолинергическими, которые действуют через механизм, зависящий от оксида азота, чтобы опосредовать некоторые формы нейрогенной вазодилатации и регулировать различные функции желудочно-кишечного, дыхательного и мочеполового тракта. Оксид азота также способствует контролю агрегации тромбоцитов и регуляции сократимости сердца. Все эти действия опосредуются активацией растворимой гуанилатциклазы и последующим увеличением концентрации циклического гуанозинмонофосфата в клетках-мишенях. Данные свидетельствуют о том, что некоторые заболевания связаны с нарушением образования или действия оксида азота.

Кроме того, оксид азота вырабатывается в больших количествах во время защитных и иммунологических реакций хозяина. Поскольку он обладает цитотоксическими свойствами и вырабатывается активированными макрофагами, он, вероятно, играет роль в развитии неспецифического иммунитета. Кроме того, он участвует в патогенезе таких состояний, как септический шок и, возможно, также гипердинамическое состояние цирроза и воспаления [20].

Таким образом, аргинин является единственным источником синтеза оксида азота (NO). В ходе многоступенчатой реакции с помощью NO-синтетазы (NOS) аргинин превращается в NO и цитруллин (Рис. 1.1).

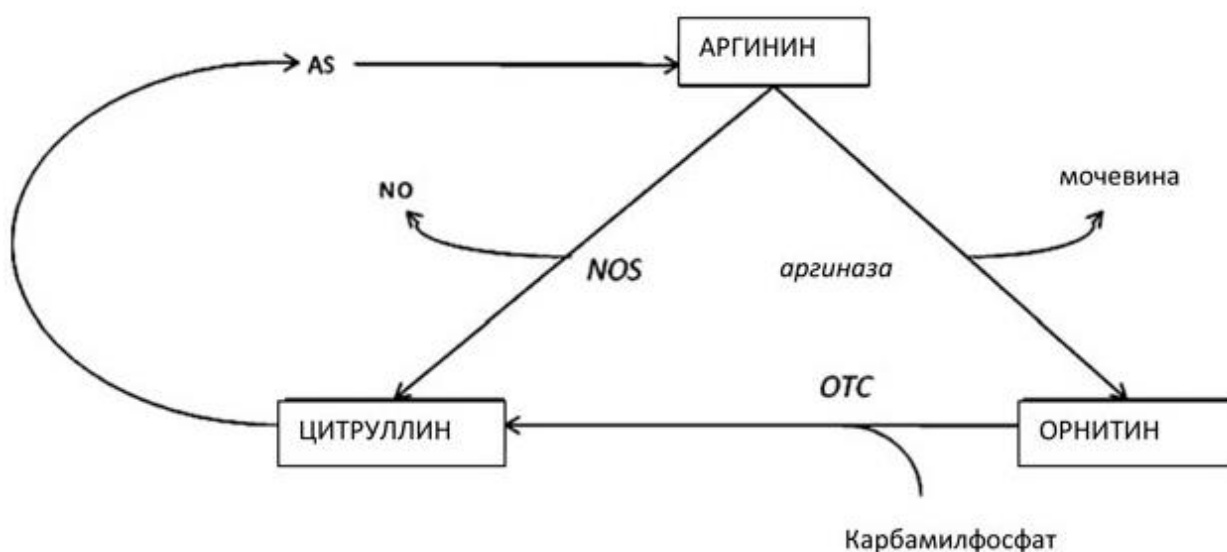


Рисунок 1.1 Общая схема метаболизма аргинина, где NO - оксид азота, NOS - синтетаза оксида азота, OTC - орнитинтранскарбамилаза, AS - аргининосукцинат

Данные литературы [21, 22] свидетельствуют об эффективности применения солей аргинина при следующих состояниях:

- атеросклероз сосудов сердца и головного мозга;
- атеросклероз периферических сосудов, в том числе с проявлениями;
- перемежающейся хромоты;
- повышение уровня холестерина;
- диабетическая ангиопатия;
- ишемической болезни сердца; хронической сердечной недостаточности;
- артериальной гипертензии;
- после перенесенных нарушений мозгового кровообращения, инсультов;
- острых и хронических гепатитах различной этиологии;

- для иммунокоррекции при снижении функции вилочковой железы;
- хронических обструктивных заболеваний легких, интерстициальной пневмонии;
- остеоартроз.

Таким образом, аргинина аспартат оказывает антигипоксическое, цитопротекторное, антиоксидантное, дезинтоксикационное, мембраностабилизирующее действия. L-аргинина аспартат в организме играет важную роль в процессах нейтрализации аммиака и стимуляции выведения его из организма, усиливает дезинтоксикационную функцию печени, а также оказывает гепатопротекторное действие и положительно влияет на процессы энергообеспечения в гепатоцитах. Как донатор оксида азота, аргинина аспартат участвует в процессах энергообеспечения организма, уменьшает адгезию лейкоцитов и тромбоцитов к эндотелию сосудов, предотвращая снижение функционального состояния комплекса "интима-медиа" сосудов артериального русла и образования и развитии. Препарат оказывает умеренное анаболическое действие, стимулирует деятельность вилочковой железы, способствует синтезу инсулина и регулирует содержание глюкозы в крови во время физической нагрузки, способствует коррекции кислотно-щелочного равновесия.

Были проведены клинические исследования применения комбинации L-аргинина и аспарагиновой кислоты пациентам со стабильной стенокардией напряжения, которые показали, что [23]:

1. У больных с хронической ишемической болезнью сердца данная комбинированная терапия улучшает функцию эндотелия плечевой артерии.
2. У больных со стабильной стенокардией напряжения III функционального класса терапия данной комбинацией увеличивала толерантность к физической нагрузке.

3. Применение данной комбинации улучшало качество жизни больных - значительно уменьшилось потребление нитроглицерина, у многих больных прекратилась боль в состоянии покоя.

Выводы к разделу I

1. Проведен анализ лекарственных препаратов и диетических добавок, содержащих соли аргинина, которые выпускаются в форме раствором для перорального использования, саше с порошком для приготовления растворов, растворы для парентерального использования и таблеток. Определено, что большую часть фармацевтического рынка занимают препараты аргинина аспартата.

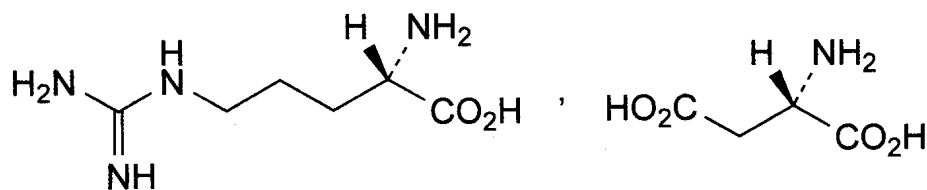
2. Рассмотрены фармакологические свойства аргинина аспартата, незаменимой аминокислоты, принимающей участие во многих физиологических процессах, в том числе при состояниях, сопровождающихся атеросклерозом, диабетом, ишемической болезнью, онкологическим заболеванием.

РАЗДЕЛ II

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА АРГИНИНА АСПАРТАТА

2.1. Физико-химические свойства аргинина аспартата

Аргинина аспартат (Arginine aspartate)



$C_6H_{14}N_4O_2, C_4H_7NO_4$

М.м 307.3

(2S)-2-Амино-5-гуанидинопентановая кислота (2S)-2-аминобутандиоат

Свойства:

Внешний вид субстанции: белые или почти белые гранулы или порошок.

Растворимость: очень хорошо растворим в воде, практически нерастворим в спирте и метиленхлориде.

2.2. Методы анализа аргинина аспартата

Субстанция аргинина аспартата есть официальной, монография включена в Европейскую фармакопею, в соответствии с которой для контроля качества субстанции предложены следующие методы [24]:

Удельное оптическое вращение 10% раствора препарата в разведенной хлористоводородной кислоте должно составлять + 25° до + 27°.

Идентифицировать аргинина аспартат в субстанции и готовой фармацевтической продукции предложено методом абсорбционной спектрофотометрии в инфракрасной области. ИК-спектр поглощения исследуемого аргинина аспартата сравнивают со спектром СЗ аргинина аспартата или со спектром базы прибора (Рис. 2.1.).

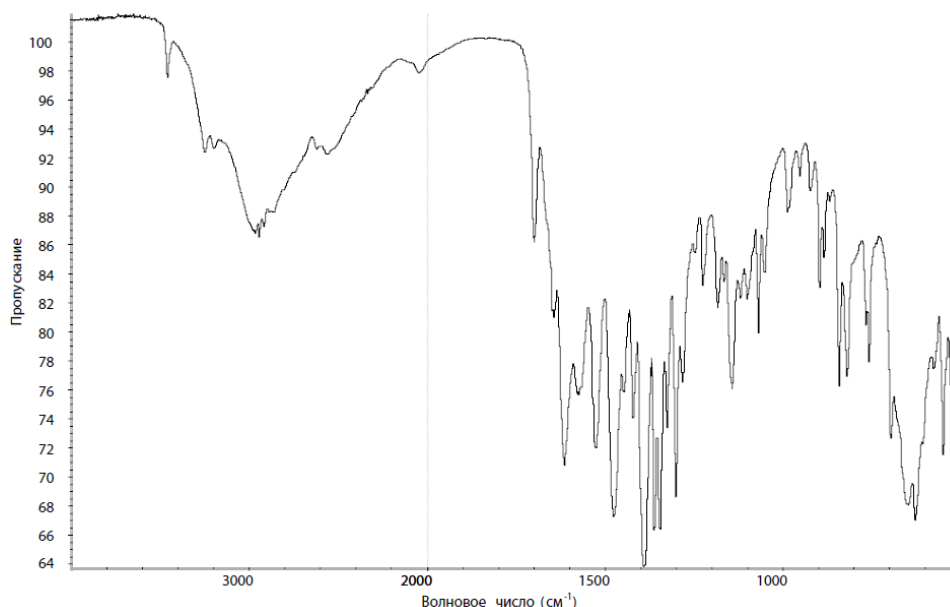
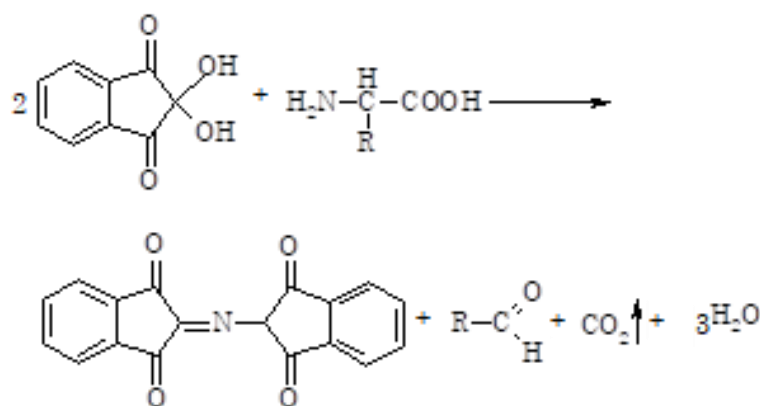


Рисунок 2.1. Характеристический ИК-спектр пропускания СЗ аргинина аспартата

Также, фармакопейным методом идентификации, предложенный в соответствии с монографией на препарат – метод тонкослойной хроматографии, в основу которого положена реакция аминокислоты с нингидрином:



Для проведения анализа готовят 0,2 % водный раствор испытуемого вещества и раствор сравнения, который готовится путем растворения 25 мг аргинина R и 25 мг аспаргиновой кислоты P в воде P и доведения объема до 25 мл этим же растворителем. 2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу и доводят до 50 мл с использованием воды P. Для проведения

тонкослойной хроматографии используется пластина ТСХ силикагель G. В качестве подвижной фазой используют смесь, состоящей из аммиака Р и пропанола Р в соотношении 36:64 об/об. Наносится 5 мкл образца, фронт растворителя должен пройти 2/3 пластины, затем осуществляется высушивание при 100-105 °С в течение 10 мин. Детекция производится путем опрыскивания раствором нингидрина и нагревания при 100-105 °С в течение 10 мин. Пригодность системы оценивается на основе эталонного раствора, где на хроматограмме должны быть видны два четко разделенных основных пятна. Предел обнаружения определяется на основе испытуемого раствора, где любая примесь должна проявляться как пятно, не более интенсивное, чем каждое из двух основных пятен в хроматограмме, полученной с использованием эталонного раствора, и не превышающее 0,2% от общего объема.

Для количественного определения аргинина аспартата в субстанции утвержден фармакопейный метод ацидиметрии в среде безводной муравьиной кислоты и уксусной кислоты безводной. Титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты, определяя конечную точку потенциометрически [24, 25].

Для определения концентрации L-аргинина в растворах описаны в литературных источниках такие методы анализа как: высокоэффективная жидкостная хроматография, абсорбционная спектрофотометрия у ультрафиолетовом и видимом диапазоне, капиллярный и зонный электрофорез, полярография и др. [26, 27].

Стандартные методы анализа аминокислот и аминокислотоподобных молекул в фармацевтических препаратах включают использование специальных систем, основанных на ионообменной хроматографии или предколоночной дериватизации с последующей обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии [28].

Для определения аргинина аспартата в присутствии других аминокислот в составе пищевых добавок предложен метод жидкостной хроматографии с

гидрофильным взаимодействием В настоящем исследовании с использованием колонки HILIC с ядром и оболочкой Kinetex без силикагеля 2,6 мкм использовалась для разделения некоторых важных гидрофильных аминокислот и аминокислотоподобных молекул, то есть аспарагиновой кислоты, креатина, карнитина, аргинина и трипептида глутатиона. Вклад распределения, адсорбции и ионного обмена в механизм удерживания был изучен путем варьирования таких параметров, как содержание воды и концентрация противоионов в подвижной фазе. В оптимальных условиях применялась колонка Phenomenex Kinetex ядро-оболочка 2,6 мкм HILIC (внутренний диаметр $100 \times 4,6$ мм) и подвижная фаза ацетонитрил/калийфосфатного буфера (12,5 мМ; pH = 2,8) 85:15, по объему, при скорости потока. 1,4 мл/мин, с использованием УФ-детектирования при 200 нм [29].

Комбинация аргинина и ибупрофена широко используется для облегчения боли с более быстрым началом действия, чем обычный ибупрофен. Поэтому определение обоих соединений за один цикл очень желательно для быстрого контроля качества. Предложен сверхбыстрый метод (100 инъекций/ч) для одновременного определения аргинина и ибупрофена с помощью капиллярного электрофореза с емкостной связью бесконтактного определения проводимости. Разделение аргинина как катиона и ибупрофена как аниона было достигнуто с помощью фонового электролита, состоящего из эквимольной смеси 10 ммоль/л 2-(циклогексиламино) этансульфоновой кислоты и борной кислоты с pH, доведенным до 8,4 с помощью гидроксида калия. Пределы обнаружения составляли 5,3 и 10,0 мкмоль/л для аргинина и ибупрофена соответственно. Предложенный метод является простым, быстрым (один анализ каждые 35 с), экологически чистым (минимальное образование отходов) и точным (значение восстановления от 95 до 98%) [30].

Выводы к разделу II

1. Проведен обзор литературы относительно физико-химических свойств аргинина аспартата и возможных методов анализа в субстанции и готовых моно- и комбинированных лекарственных средствах, среди которых химические методы и физико-химические, которым на сегодняшний день отдается предпочтение благодаря их точности, чувствительности, экспрессности и селективности.

РАЗДЕЛ III

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРГИНИНА АСПАРТАТА В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТАХ

Современная стратегия лечения заболеваний характеризуется системностью и предусматривает проведение эффективной и безопасной комплексной терапии, которая обязательно включает фармакотерапию. Рациональная фармакотерапия по определению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) предусматривает такое применение препаратов, при котором пациент получает качественные средства, соответствующие условиям клинической ситуации, в необходимой дозе и с наименьшими затратами для пациента и государства [31].

Характерной особенностью современного фармацевтического рынка является насыщение преимущественно неоригинальными препаратами, а уже известными лекарственными средствами, которые скрыты за различными торговыми названиями - генериками, а также диетическими добавками, которые предусматривают профилактику заболеваний и являются дополнительным источником биологически активных веществ.

Как препараты с хорошо изученным медицинским применением, так и традиционные готовые лекарственные средства и диетические добавки относятся к категории безрецептурных и используются на этапе доврачебной помощи для симптоматической терапии и повышения качества жизни пациента. Регистрация лекарственных средств и диетических добавок регламентируется рядом законодательных актов, международных требований, постановлений, инструкций и приказов, согласно которым обеспечение качества - является одной из задач практической фармации, поэтому актуальным является разработка экспресного, экономического и экологического метода идентификации и количественного определения L-

аргинином аспартата в лекарственных препаратах в форме растворов и диетических добавках [32].

3.1. Материалы и методы

В качестве объектов исследования выбран фармацевтический препарат «Саргин», раствор оральный, аргинина аспартат – 200 мг/мл (с.20123, производства АО "Фармак", Украина) и диетическая добавка «Аргитат», раствор для внутреннего употребления, 10 мл содержит L-аргинина аспартат – 1900 мг (производитель ООО «НПК «Виларус», Украина).

Для идентификации и количественного определения предложена спектрофотометрическая методика (метод стандарта), в основу которой положена реакция препарата с нингидрином и определения оптической плотности полученного продукта в видимом диапазоне.

Спектрофотометрическое определение аргинина аспартата в объектах исследования было проведено по следующей методике: объем испытуемого препарата, эквивалентного 0,100 г аргинина аспартата, помещают в мерную колбу вместимостью 100,0 мл, доводят водой очищенной до метки. К 10,0 мл полученного раствора добавляют 11 мл 0,2% спиртового раствора нингидрина, нагревают смесь на водяной бане 10 мин при температуре 100°C; охлаждают, количественно переносят в мерную колбу на 25,0 мл и доводят объем водой очищенной до метки.

Параллельно готовят раствор с использованием 0,100 г образца аргинина аспартата, который помещают в мерную колбу на 100,0 мл и растворяют в воде, доводя водой очищенной до метки. К 10,0 мл полученного раствора добавляют 11 мл 0,2% спиртового раствора нингидрина, нагревают смесь на водяной бане 10 мин при температуре 100°C; охлаждают, количественно переносят в мерную колбу на 25,0 мл и доводят объем водой очищенной до метки.

Компенсационный раствор: 11,0 мл 0,2% спиртового раствора нингидрина смешивают с 10,0 мл воды и нагревают в тех же условиях, что и исследуемые образцы. Раствор охлаждают, помещают в мерную колбу на 25,0 мл и доводят водой очищенной до метки.

Спектры поглощения исследуемых растворов и оптическую плотность аналитических растворов регистрировали с помощью спектрофотометра Evolution 60s. Измерение оптической плотности проводили с использованием кювет кварцевого стекла с толщиной слоя 10 мм по сравнению с раствором стандартного образца на фоне компенсационного раствора.

Количественное содержание аргинина аспартата в миллиграммах в объектах исследования рассчитывали на 1 мл, по формуле:

$$X, \text{ г} = \frac{A \cdot m_{\text{HCO}} \cdot \%_{\text{CO}} \cdot 1 \text{ мл} \cdot 1000}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{H}} \cdot 100}$$

где:

A - оптическая плотность раствора исследуемого образца;

$A_{\text{ст}}$ - оптическая плотность раствора СО аргинина аспартата;

m_{HCO} - масса навески СО аргинина аспартата, г;

m_{H} - масса навески препарата, взятая для анализа, г;

$\%_{\text{CO}}$ - процентное содержание действующего вещества в СО аргинина аспартата.

3.2. Спектральные характеристики продукта реакции аргинина аспартата с нингидрином

С целью разработки спектрофотометрической методики был приготовлен 0,08 % водный раствор аргинина аспартата и проведена реакция с 0,2 % спиртовым раствором нингидрина. Характер абсорбционного спектра поглощения окрашенного раствора был изучен в видимой области в диапазоне от 400 нм до 700 нм (рис. 3.1.).

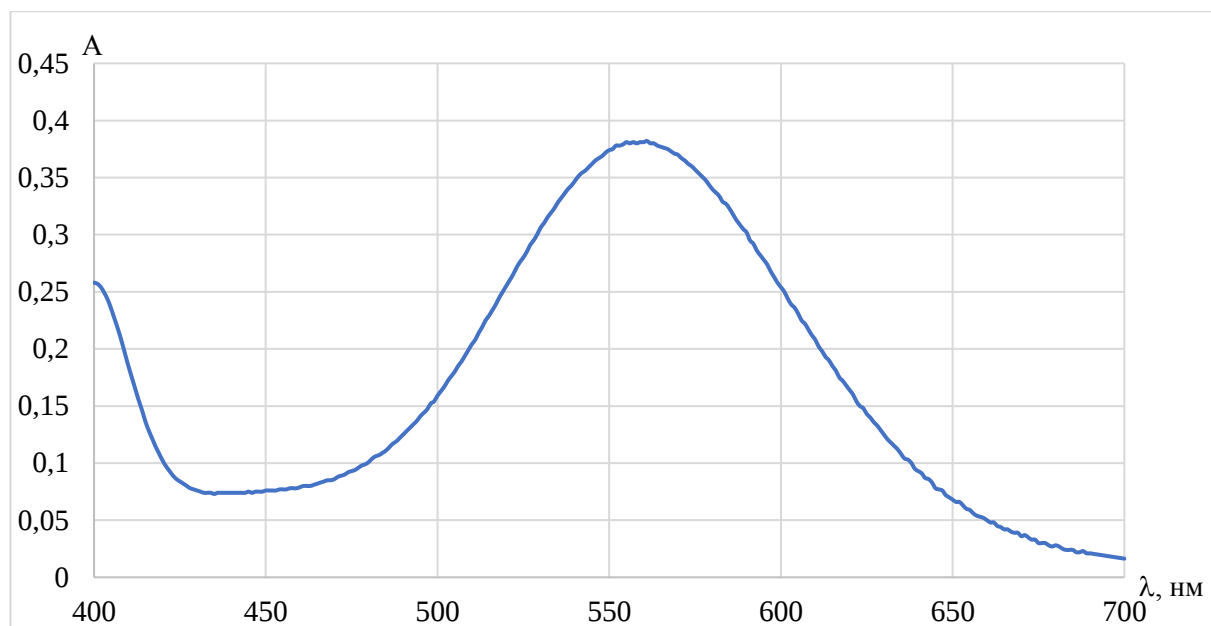


Рисунок 3.1 Абсорбционный спектр поглощения водного раствора СО аргинина аспартата после реакции с нингидрином

Как видно из рисунка 3.1. на спектре имеется специфический максимум светопоглощения окрашенного раствора аргинина аспартата с нингидрином при длине волны 561 нм.

Перед переносом методики для анализа диетической добавки, изучали характер спектра раствора диетической добавки и раствора плацебо по сравнению со спектром стандартного образца.

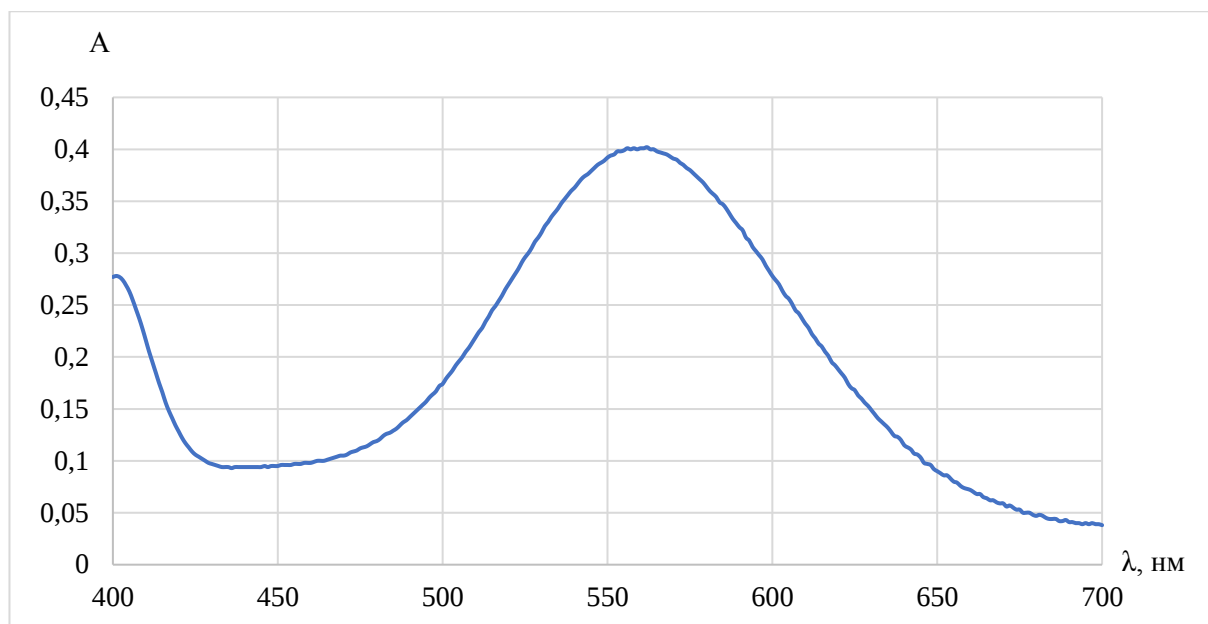


Рисунок 3.2. Абсорбционный спектр поглощения водного раствора диетической добавки после реакции с нингидрином

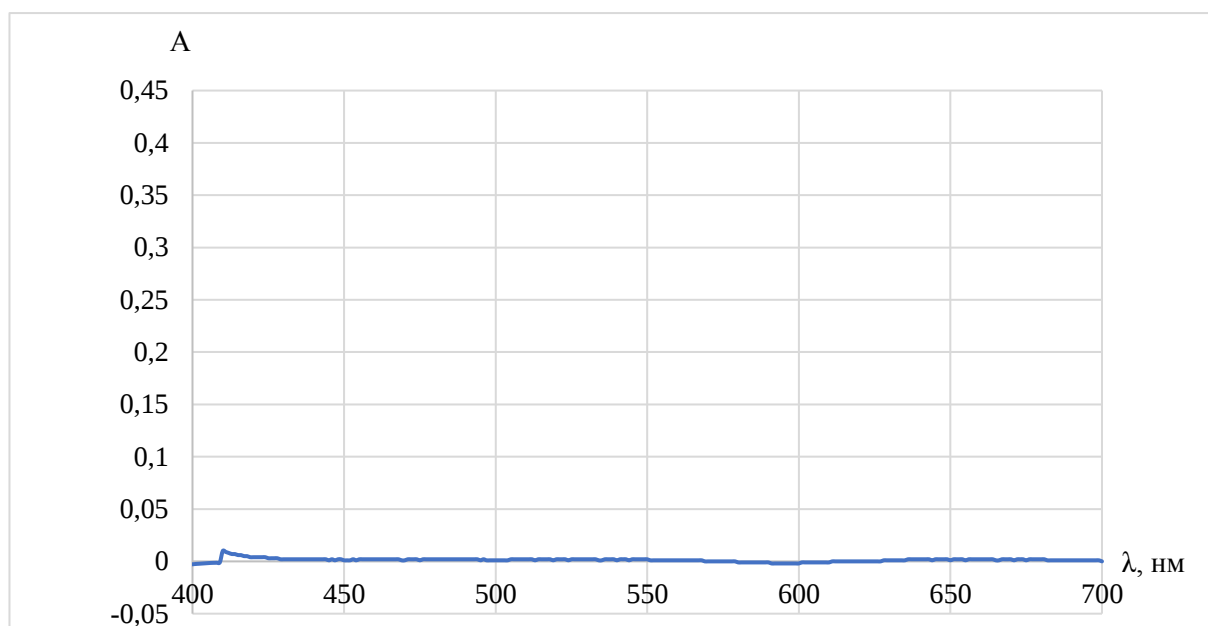


Рисунок 3.3 Абсорбционный спектр поглощения водного раствора плацебо после реакции с нингидрином

Как показали результаты изучения спектральных характеристик, то вспомогательные вещества не вносят вклад в оптическую плотность аргинина аспартата и поэтому методику можно предлагать для проведения определения активного фармацевтического ингредиента в составе диетической добавки.

Для дальнейшего применения реакции для количественного определения устанавливали время проведения реакции, температурный режим нагрева, стабильность растворов со временем, соотношение действующего вещества и нингидрина и подчинение окрашенного продукта реакции основному закону светопоглощения.

Было установлено, что реакция происходит на кипящей водяной бане в течение 10 мин в мольном соотношении действующего вещества к нингидрину (0,000011 моль : 0,00012 моль) (таблица 3.1).

Таблица 3.1.

Определение времени протекания реакции аргинина аспартата с
нингидрином

Время протекания реакции, мин	5	10	15	20	25	30
Оптическая плотность	0,156	0,384	0,384	0,383	0,309	0,288

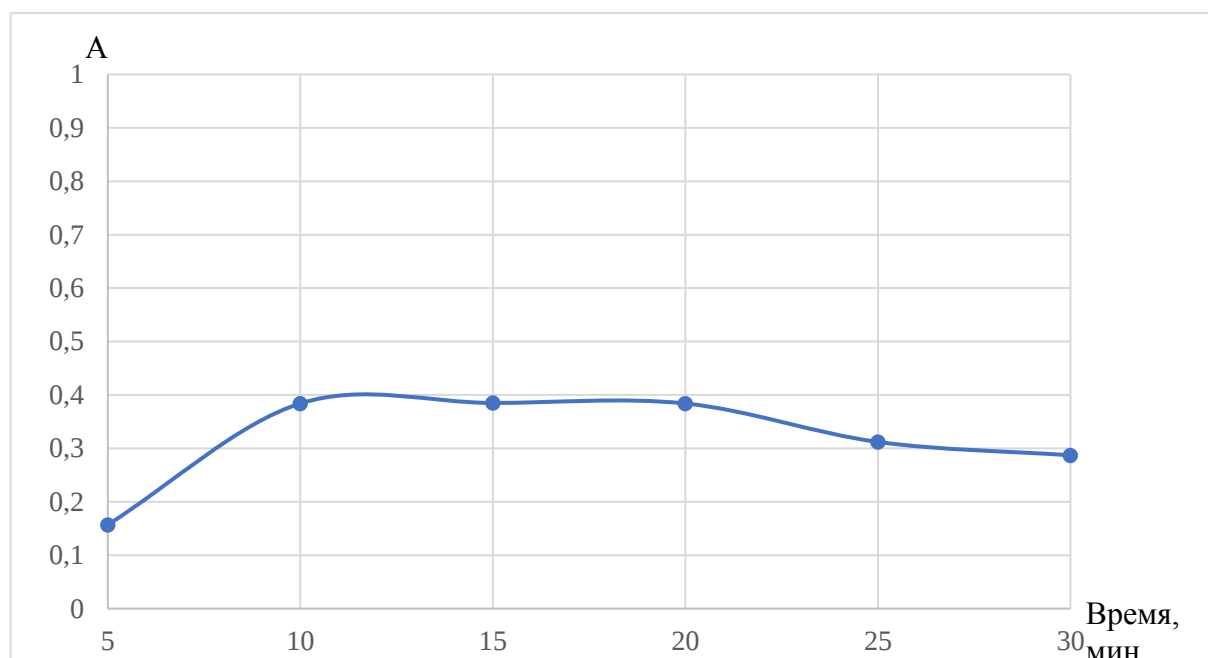


Рисунок 3.2. Зависимость оптической плотности от времени проведения реакции аргинина аспартата с нингидрином

Как видно из таблицы 3.1. и рисунка 3.2. оптимальным временем проведения реакции является диапазон от 10 мин до 20 мин, после интенсивность окраски уменьшается и оптическая плотность начинает снижаться.

Стабильность растворов в этих условиях составляет один час и подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера наблюдается в диапазоне концентраций аргинина аспартата от 0,02% до 0,2% (рисунок 3.3).

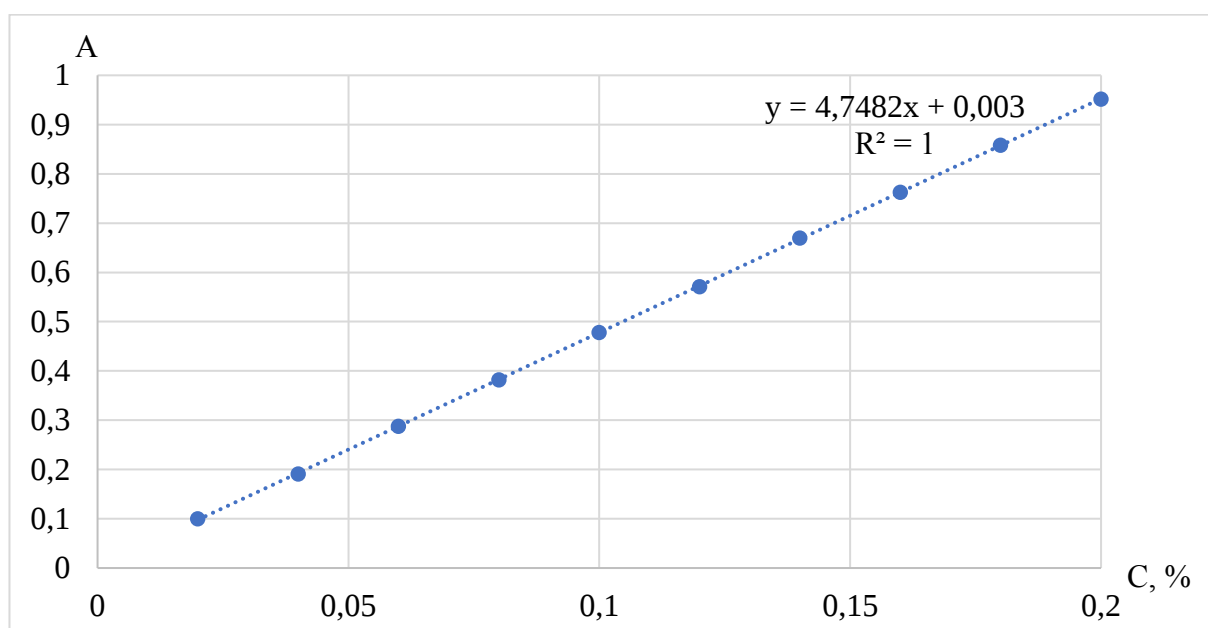


Рисунок 3.3 Подчинение продуктов реакции аргинина аспартата с нингидрином основному закону светопоглощения.

3.3. Результаты количественного определения аргинина аспартата в объектах исследования

Согласно предложенной выше методики (раздел 3.1.) было проведено количественное определение активного фармацевтического ингредиента лекарственного средства «Саргин» (АО "Фармак", Украина) и диетическая добавка «Аргитат» (ООО «НПК «Виларус», Украина). Количественное

определение серии объектов исследования проводили 6 параллельных определений для получения статистически достоверных результатов.

3.3.1. Определение аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин»

Результаты количественного определения содержания аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин» рассчитывали методом стандарта приведены в таблице 3.2.

Таблица 3.2.

Результаты количественного определения аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин» (с.20123)

Объем пробы, мл	Оптическая плотность испытуемого раствора	Масса навески СО аргинина аспартата, г	Оптическая плотность раствора СО аргинина аспартата	Количественное содержание аргинина аспартата, мг
0,5	0,392	0,0996	0,384	202,94
	0,393			203,46
	0,391			202,43
	0,392			202,94
	0,393			203,46
	0,392			202,94
Среднее содержание аргинина аспартата, мг/мл				203,03

Полученные результаты подвергали статистической обработке согласно требованиям Государственной Фармакопеи Украины, общей статьи "5.3.N.1. Статистический анализ результатов химического эксперимента" [33]:

Число степеней свободы: $\nu = n-1$

Среднее значение выборки: $\bar{x} = \frac{\sum_i^n x_i}{n}$

Дисперсия: $S^2 = \frac{\sum_i^n x_i^2 - n \bar{x}^2}{v}$

Стандартное отклонение: $S = \sqrt{S^2}$

Относительное среднее отклонение: $S_r = \frac{S}{\bar{x}}$

Относительное стандартное отклонение: $RSD = S_r \cdot 100\%$

Стандартное отклонение среднего результата: $S_{\bar{x}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$

Относительное стандартное отклонение среднего результата: $S_{\bar{x},r} = \frac{S_{\bar{x}}}{\bar{x}}$

Относительное стандартное отклонение среднего результата, в процентах: $RSD_{\bar{x}} = S_{\bar{x},r} \cdot 100\%$

Предельные значения доверительного интервала результата единичного измерения: $X_i \pm \Delta X = x_i \pm t(P_2; v) \cdot s = x_i \pm t(95\%, 5) \cdot s$

Предельные значения доверительного интервала среднего результата:

$$\bar{X}_i \pm \Delta X = \bar{x} \pm \frac{t(P_2; v) \cdot s}{\sqrt{6}}$$

Относительная неопределенность результата среднего результата:

$$\bar{\varepsilon} = \frac{\overline{X_{i \pm \Delta X}}}{\bar{X}} \cdot 100\%$$

Относительная неопределенность отдельного определения: $\varepsilon = \frac{X_{i \pm \Delta X}}{\bar{X}} \cdot 100\%$

Метрологические характеристики среднего результата спектрофотометрического метода количественного определения аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин» приведены в таблице 3.3.

Таблица 3.3.

Статистическая обработка результатов количественного определения аргинина аспартата в лекарственном препарате «Саргин»

X	$\bar{X}$	ν	$X - \bar{X}$	S^2	S	S_x	ΔX	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}$	ε
202,94	203,03	5	-0,0863	0,1519	0,39	0,16	0,32	0,13	0,06	0,16
203,46			0,4314							
202,43			-0,6040							
202,94			-0,0863							
203,46			0,4314							
202,94			-0,0863							

Таким образом, относительная неопределенность среднего результата количественного определения аргинина аспартата свидетельствует о возможности использования спектрофотометрической методики для определения активного фармацевтического ингредиента в присутствии вспомогательных веществ в лекарственном препарате «Саргин».

3.3.2. Определение аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат»

Результаты количественного определения содержания аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат» рассчитывали методом стандарта приведены в таблице 3.4.

Таблица 3.4.

Результаты количественного определения аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат»

Объем пробы, мл	Оптическая плотность испытуемого раствора	Масса навески СО аргинина аспартата, г	Оптическая плотность раствора СО аргинина аспартата	Количественное содержание аргинина аспартата, мг
0,6	0,440	0,0996	0,384	189,83
	0,442			190,69
	0,442			190,69
	0,441			190,26
	0,443			191,12
	0,441			190,26
Среднее содержание аргинина аспартата, мг/мл				190,48

Полученные результаты подвергали статистической обработке по алгоритму, приведенному в п. 3.3.1.

Метрологические характеристики среднего результата спектрофотометрического метода количественного определения аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат» приведены в таблице 3.5.

Таблица 3.5.

Статистическая обработка результатов количественного определения
аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат»

X	$\bar{X}$	ν	$X - \bar{X}$	S^2	S	S_x	ΔX	$\Delta \bar{X}$	$\bar{\varepsilon}$	ε
189,83	190,48	5	-0,6471	0,2047	0,45	0,18	0,37	0,15	0,08	0,20
190,69			0,2157							
190,69			0,2157							
190,26			-0,2157							
191,12			0,6471							
190,26			-0,2157							

Результаты статистической обработки результатов, полученных при спектрофотометрическом определении аргинина аспартата в диетической добавке «Аргитат» свидетельствует о достоверности полученных результатов и демонстрируют возможности использования спектрофотометрической методики для определения активного фармацевтического ингредиента объекте исследования.

Выводы к разделу III

1. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения аргинина аспартата методом абсорбционной спектрофотометрии в видимой области, в основу которой положена реакция аминокислот с нингидрином, подобраны условия, изучены стабильности растворов и подчиняемость основному закону светопоглощения.

2. Преимущества разработанной спектрофотометрической методики для определения аргинина аспартата полагает в том, что методика имеет высокую точность и чувствительность, возможно быстрого и эффективно проводить анализ, методика оказалась универсальной для определения аргинина аспартата в лекарственном средстве и диетической добавке. Также положительным есть - минимальные требования к оборудованию и пробоподготовке.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Рассмотрены и обобщены данные научной литературы относительно фармакологических свойств и роли L-аргинина в организме человека. Проведен анализ фармацевтического рынка и выяснено, что наибольшее количество лекарственных средств аргинина содержат солевую форму – аргинина аспартат.

2. Рассмотрены физико-химические свойства аргинина аспартата. Проведен анализ литературы по методам анализа, приведены преимущества и недостатки рассмотренных методов.

3. Изучить возможность использования метода абсорбционной спектрофотометрии для проведения определения аргинина аспартата в лекарственном средстве «Саргин» (производства АО "Фармак", Украина) и диетической добавки «Аргитат» (производитель ООО «НПК «Виларус», Украина).

4. Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения аргинина аспартата методом абсорбционной спектрофотометрии в видимой области, в основу которой положена реакция аминокислот с нингидрином, подобраны условия, изучены стабильности растворов и подчиняемость основному закону светопоглощения.

5. Методом статистической обработки результатов химического эксперимента рассчитаны метрологические характеристики методики, что подтверждают пригодности методики для задач фармацевтического анализа.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Cylwik D., Mogielnicki A., Buczek W. L-arginine and cardiovascular system. *Pharmacological reports*. 2005. № 57. P. 14-22.
2. Компендіум : Лікарські препарати України. URL: <https://compendium.com.ua/uk/> (дата звернення: 10.10.2023).
3. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua> (дата звернення: 10.11.2023).
4. Premakumar C. M., Turner M. A., Morgan C. Relationship between arginine intake in parenteral nutrition and preterm neonatal population plasma arginine concentrations : a systematic review. *Nutr Rev*. 2019. № 77(12). P. 878-889.
5. Böger R. H. The pharmacodynamics of L-arginine. *J. Nutr*. 2007. Vol. 137. P. 1650-1655.
6. Borroughs L. K., DeBerardinis R. J. Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth. *Nat. Cell Biol*. 2015. № 17. P. 351–359.
7. Targeting extracellular nutrient dependencies of cancer cells / J. Garcia-Bermudez et al. *Mol. Metab*. 2020. № 33. P. 67–82.
8. Arginine metabolism and deprivation in cancer therapy / S. Zou et al. *Biomed. Pharmacother*. 2019. № 118. P. 109-210.
9. Arginine-depleting enzymes—An increasingly recognized treatment strategy for therapy-refractory malignancies / C. Riess et al. *Cell. Physiol. Biochem*. 2018. № 51. P. 854–870.
10. Arginine dependence of tumor cells : Targeting a chink in cancer’s armor / M. D. Patil et al. *Oncogene*. 2016. № 35. P. 4957–4972.
11. Argininosuccinate synthetase from the urea cycle to the citrulline-NO cycle / A. Husson et al. *Eur. J. Biochem*. 2003. № 270. P. 1887–1899.
12. Genome-wide CRISPR/Cas9 knockout screening uncovers a novel inflammatory pathway critical for resistance to arginine-deprivation therapy / C.Y. Chu et al. *Theranostics*. 2021. № 11. P. 3624–3641.

13. Arginine starvation elicits chromatin leakage and cGAS-STING activation via epigenetic silencing of metabolic and DNA-repair genes / S.-C. Hsu et al. *Theranostics*. 2021. № 11. P. 7527–7545.
14. Arginine Deprivation Inhibits the Warburg Effect and Upregulates Glutamine Anaplerosis and Serine Biosynthesis in ASS1-Deficient Cancers / J. C. Kremer et al. *Cell Rep*. 2017. № 18. P. 991–1004.
15. Systems level profiling of arginine starvation reveals MYC and ERK adaptive metabolic reprogramming / C. B. Brashears et al. *Cell Death Dis*. 2020. № 11. P. 662.
16. Arginine Signaling and Cancer Metabolism / Chen C.-L. et al. *Cancers*. 2021. № 13(14). P. 3541.
17. Davignon J., Ganz P. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Atherosclerosis : evolving vascular biology and clinical implications*. 2004. Vol. 109 (23). P. 27-32.
18. Курята О. В., Сіренко О. Ю. Вплив L-аргініну аспартату на ендотеліальну функцію судин у пацієнтів з артеріальною гіпертензією в поєднанні з ревматоїдним артритом. *Укр. мед. часопис*. 2014. № 5 (103). С. 64-66.
19. Endothelial dysfunction in hypercholesterolemia is reversed by a nutritional product designed to enhance nitric oxide activity / A. J. Maxwell et al. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2000. Vol. 14 (3). P. 309-316.
20. Білецький С. Роль оксиду азоту в патогенезі та лікуванні захворювань серцево-судинної системи (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2021. № 25 (98). С. 130-134.
21. Bentsa T. M., Pastukhova O. A. Clinical efficacy of L-arginin aspartate in complex treatment of patients with essential arterial hypertension with concomitant type 2 diabetes mellitus. *Infusion & Chemotherapy*. 2020. № 3. С. 10-11.
22. L-Arginine and nitric oxide in CNS function and neurodegenerative diseases / M. Virarkar et al. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2013. Vol. 53 (11). P.1157-1167.

23. Randomized trial of a medical food for the dietary management of chronic, stable angina / A. J. Maxwell et al. *J Am Coll Cardiol*. 2002. № 39 (1). P. 37-45.
24. Arginine aspartate. *European Pharmacopoeia*. Strasbourg : Council of Europe, 2020. P. 1871-1872.
25. Arginine aspartate. *British Pharmacopoeia*. London : TSO, 2020. P. 200.
26. Determination of L-arginine in amniotic fluid by capillary disk electrophoresis / E. V. Narezhnaya et al. *Zh. Anal. Chim.* 2010. Vol. 65 (12). P. 1309-1312.
27. Гайда Г. З., Стасюк Н. Є., Гончар М. В. Методи аналізу L-аргініну. *Biotechnologia Acta*. 2014. Vol. 7 (1). P. 31-39.
28. Advances in amino acid analysis / H. Kaspar et al. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009. № 393. P. 445-452
29. Themelis T., Gotti R., Gatti R. A novel hydrophilic interaction liquid chromatography method for the determination of underivatized amino acids in alimentary supplements. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2017. Vol. 145. P. 751-757.
30. Do Prado A. A., Ribeiro A. C., Richter E. M. Ultra-rapid capillary zone electrophoresis method for simultaneous determination of arginine and ibuprofen. *Journal of Separation Science*. 2021. № 44 (13). P. 2596-2601.
31. Кучеренко Н. В., Гудзенко О. П. Аналіз фармацевтичного ринку України в аспекті твердих оральних лікарських засобів з відтермінованою дією. *ScienceRise : Pharmaceutical Science*. 2017. №3 (7). С. 4-8.
32. Brown A. An overview of herb and dietary supplement efficacy, safety and government regulations in the United States with suggested improvements. Part 1 of 5 series. *Food and Chemical Toxicology*. 2017. Vol. 107. P. 449 - 471.
33. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ГРАМОТА

за участь

отримав(ла)

Басу Мохамед

у секційному засіданні студентського наукового товариства кафедри
медичної хімії

XXX Міжнародна науково-практична
конференція молодих вчених та студентів
**"Актуальні питання створення нових
лікарських засобів"**

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА

17-19 квітня 2024 р.
м. Харків

