

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ

О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

(назва кафедри)

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Дослідження методом ВЕРХ діючої речовини декстрометорфану гідроброміду на присутність домішки гідрокортизону»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи ФЗА
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Белей Валерія Андріївна

(прізвище та ініціали)

Керівник: к.б.н., ас. Мелешко Р.А.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: проф., д.м.н. Ніженковська І.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2023-2024 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	9
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ЛЕВОРФАНОЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ.....	9
1.1. Особливості хімічної будови леворфанолу.....	9
1.2. Біологічна активність леворфанолу.....	12
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ЛЕВОРФАНОЛІВ.....	14
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості леворфанолів.....	14
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЦДІ – цукровий діабет

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

DM – Декстрометорфан

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спіно-спінової взаємодії, герци

MOR – μ -opioid receptor

ВСТУП

Актуальність теми. Декстрометорфан (DM) – це синтетичний лікарський засіб, який за хімічною структурою відноситься до леворфанолів. За хімічною номенклатурою ІЮПАК має назву (+)-3-метокси-17-метил(9a,13a,14a)-морфінан або (4bS,8aR,9S)-3-метокси-11-метил-6,7,8,8a,9,10-гексагідро-5H-9,4b-(епіміноетано)фенантрен. Є правообертаючим ізомером морфінану. Декстрометорфан є агоністом σ_1 - та σ_2 -опіатних рецепторів та інгібіторів зворотного захоплення серотоніну, антагоністом глутаматних NMDA-рецепторів та $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ -нікотинових рецепторів.

В основі молекул леворфанолів лежить конденсована тетрациклічна ароматична система фенантренизохіноліну. Така структура притаманна багатьом природним алкалоїдам, які є хімічними похідними фенантренизохіноліну. При передозуванні декстрометорфану спостерігаються небажані ефекти: запаморочення, алергічні реакції, шкірний висип, набряк Квінке, гіперемія шкіри, біль у животі, артеріальна гіпотензія. Можливе виникнення ейфорії, галюцинацій.

Передозування або немедичне застосування призводить до втрати сприйняття власної особи та часу, для отримання наркотичного сп'яніння. При немедичному застосуванні спостерігаються параноїдальний синдром, виражена загальна слабкість, панкреатит, токсичний гепатит, розвиток депресії, загострення виразкової хвороби. Налоксон – є антидотом при передозуванні препарату[1-10].

DM використовують для знеболення у онкохворих, для лікування нейротоксичності. Декстрометорфан (DM) проявляє протизапальні властивості. Виявлено вплив DM при лікуванні цукрового діабету (ЦД). При використанні у лікуванні ЦД у інфікованих мишей отримано наступні

результати: підвищено рівень виживання інфікованих тварин, кількість бактерій стала нижчою для тих тварин, яких лікували DM. Лікування ЦБ запобігало поширенню бактерій у крові. При цьому знижувалися сироваткові рівні прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6 (IL-6). За допомогою DM ураження печінки було зменшено. У цілому, DM зменшує запальні реакції. DM рекомендується як допоміжний засіб у комбінації з антибіотиками, проти бактеріальної інфекції [11-14].

Введення мелатоніну запобігало загостренню механічної аллодінії з паралельним покращенням стану депресії. Вивчався вплив лікування мелатоніном з DM у щурів WKY на розвиток болю. DM був ефективним у дозах 15, 30 або 60 мг/кг, при цьому зменшувалася термічна гіпералгезія, а при дозах 30, 60 мг/кг зменшувалася аллодінія. Комбіноване застосування мелатоніну та DM ефективно при термічній гіпералгезії та при механічному аллодінію. Результати підтверджують той факт, що комбінація антагоністу рецептору NMDA з мелатоніном є ефективною для лікування нейропатичного болю [15-17].

Леворфаноли є поліфункціональні органічні сполуки. Молекули містять фармакофорні угруповання, функціональні групи – алкокси, епіміно-, алкіл радикали.

Можна передбачати у субстанції формування нових зв'язків, внутрішньомолекулярну взаємодію, реакційну здатність функціональних груп у реакціях заміщення.

Під час синтезу леворфанолу або (4bS,8aR,9S)-3-метокси-11-метил-6,7,8,8a,9,10-гексагідро-5H-9,4b-(епіміноетано)фенантрону утворюються побічні продукти реакцій, неприпустимі домішки – супровідні речовини або споріднені речовини. Все це впливає на якість субстанції. Тому, розширення кола інструментальних методів для аналізу цієї субстанції, окрім тих методів,

які рекомендовано Фармакопеями, дуже важливе для підвищення якості аналізу.

Як показано вище, ДМ досить часто застосовують у комбінації з іншими лікарськими речовинами. У якості додаткових компонентів у фармацевтичних композиціях декстрометорфану можуть бути деякі БАР, наприклад, гідрокортизон.

Гідрокортизон відноситься негалогенізованим кортикостероїдом, має протизапальну, протинабрякову та протисвербіжну дію. Якщо застосовувати гідрокортизон у рекомендованих дозах, то не відбувається пригнічення гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної системи.

У разі не коректно розроблених умов хроматографування під час проведення хроматографічних досліджень комбінованих фармацевтичних композицій можуть призводити до деградації гідрокортизону, як додаткового компоненту компонентів.

Тому, актуальним завданням є розробка та адаптація хроматографічних умов методом ВЕРХ, які дозволять зберігати структуру компонентів хімічної суміші фармацевтичних композицій декстрометорфану та гідрокортизону їх подальшою ідентифікації.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка та адаптація хроматографічних умов при аналізі методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану з додатковим компонентом – гідрокортизоном, які дозволять зберегти структуру компонентів хімічної суміші фармацевтичних композицій захистити його хімічну структуру від деградації.

Завдання експериментального дослідження:

- розробити та адаптувати коректні умови хроматографування методом

ВЕРХ композиції декстрометорфану субстанції з компонентом – гідрокортизоном з метою визначення супровідних речовин та домішок та захисту структури гідрокортизону від деградації;

- розробити методику хроматографування методом ВЕРХ композиції декстрометорфану субстанції з компонентом – гідрокортизоном;
- провести хроматографічне дослідження методом ВЕРХ випробувальних зразків у порівнянні зі стандартними за розробленою методикою та інтерпретувати отримані результати.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає розробці спеціальних умов хроматографування методом ВЕРХ композиції декстрометорфану з додатковим компонентом – гідрокортизоном, які дозволять зберегти його хімічну структуру від деградації.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції «Освіта і наука в період глобальних криз та конфліктів у ХХІ столітті» (Секція «Природничі науки»), НАН ВО України, м. Київ, 08-09 грудня 2023 року.

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 30.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ЛЕВОРФАНОЛУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ

1.1. Особливості хімічної будови леворфанолу

Леворфанол або декстрометорфан – правообертальний ізомер морфіану відноситься до класу гетероциклів з конденсованою ароматичною полісистемою. За хімічною номенклатурою ІЮПАК має назву (+)-3метокси-17-метил(9а,13а,14а)-морфіанан. На рисунку 1.1.1 зображена хімічна формула декстрометорфану.

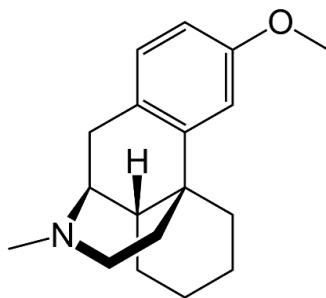


Рисунок 1.1.1. Декстрометорфан, хімічна формула.

В основі структури декстрометорфану лежить кільце ізохіноліну або бензоізохіноліну (рис. 1.1.2, 1.1.3).

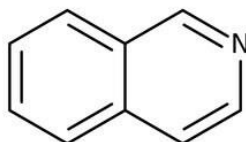


Рисунок 1.1.2. Ізохінолін.

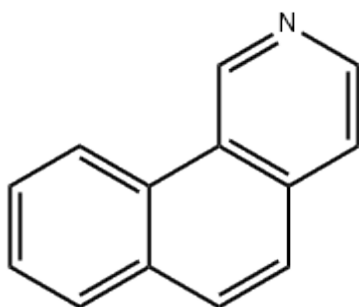


Рисунок 1.1.3. Бензоізохінолін.

Серед природних алкалоїдів – похідних ізохіноліну можна згадати морфін (рис.1.1.4). Крім морфіну, до цієї групи БАР відносяться героїн, гідроморфон, гідрокодон, оксикодон. Метилуванням морфіну отримують БАР та лікарський засіб – кодеїн.

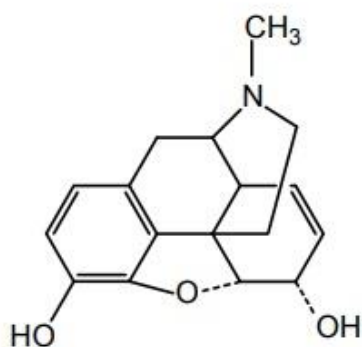


Рисунок 1.1.4. Формула морфіну.

Деякі аналоги морфіну виступають у ролі антагоністів опіоїдних рецепторів, можуть блокувати або усувати дію опіатів. Налоксон відноситься до опіоїдних антагоністів. Він синтезується шляхом заміни метил-радикалу на алліл-радикал ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$) [18-20].

В медичній практиці використовують інші похідні леворфанолу: нарцеїн, носкапін, меконова кислота тощо [21, 22].

Алкалоїди, такі як болдин, кодеїн, нарцеїн і морфін, є активними факторами впливу на рецептори. Болдин має морфіноподібні властивості та діє на опіоїдні рецептори. Оскільки болдин можна розглядати при розвитку лікування наркотичної залежності. Кодеїн зв'язується з опіатними

рецепторами, для зменшення бронхіальної секреції. Кодеїн може використовуватися як засіб, що пригнічує кашель при дії на центр довгастого мозку. Морфін та нарцеїн діють на μ -опіатні та β -рецептори. Це відомі анальгетики, використовуються як болезаспокійливі засоби. Нарцеїн використовується для лікування кашлю (рис.1.1.5).

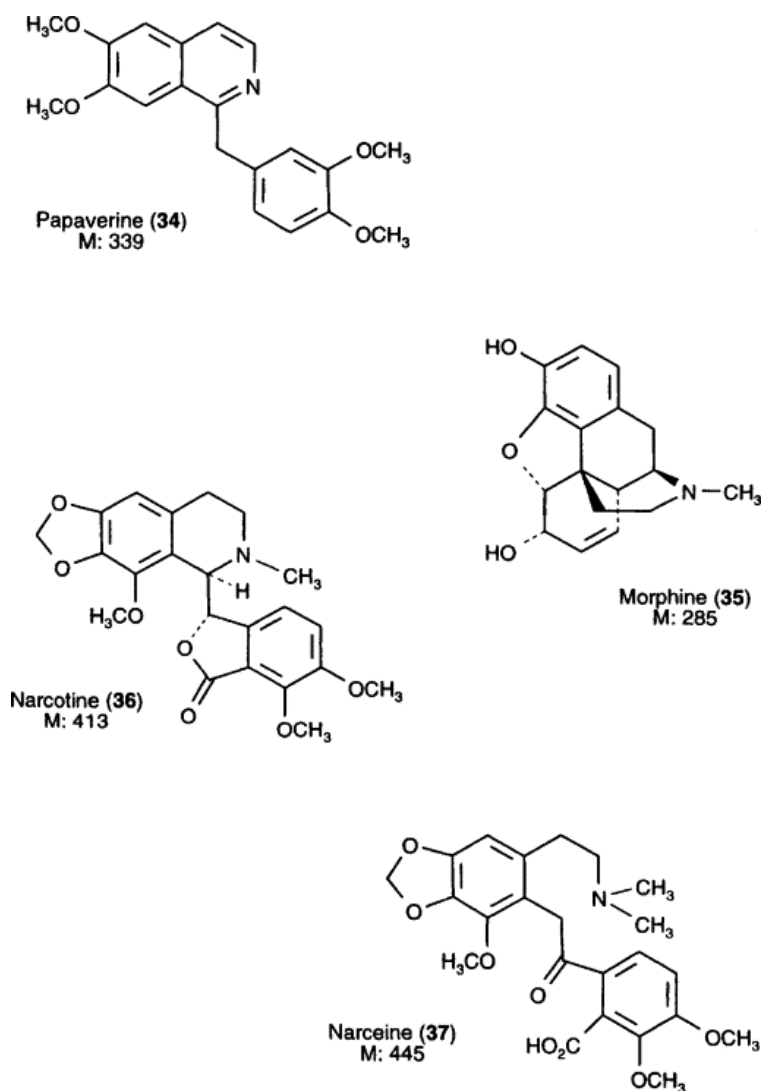


Рисунок 1.1.5. Похідні леворфанолу.

Порівняно з морфіном, леворфанол не має повної перехресної толерантності, має внутрішню активність щодо μ -opioid receptor (MOR). Тривалість дії велика порівняно з іншими аналогічними анальгетиками і

варіюється у інтервалі 4-15 годин.

З цієї причини леворфанол корисний для полегшення хронічного болю та подібних станів. Співвідношення пероральної та парентеральної ефективності леворфанолу становить 2:1, що є найбільшим із сприятливих серед сильних наркотиків.

Його антагонізм щодо рецептора NMDA, подібний до опіоїдів з відкритим ланцюгом фенілгептиламіну (як метадон, фенілпіперидин кетобемідон) робить леворфанол корисним для тих типів болю, проти яких інші анальгетики можуть бути не ефективними.

Виключно висока знеболювальна ефективність леворфанолу при лікуванні невропатичного болю надається його дією на транспортери серотоніну та норадреналіну та взаємно доповнює знеболювальний ефект його антагонізму до рецепторів NMDA.

1.2. Біологічна активність леворфанолу

Загальна картина токсичності морфіну змінюється залежно від виду тварин, що підтверджено і для леворфанолу. Оскільки левалорфан структурно тісно пов'язаний з леворфанолом, можна було очікувати, що їх токсичні ефекти на різні види тварин будуть подібними.

У мишей левалорфан при внутрішньовенному введенні в сублетальних дозах викликає утруднене дихання та судоми. Типовий феномен хвоста Штрауба, характерний для препаратів морфіну, очевидний лише при токсичних дозах.

З іншого боку, у щурів реакція полягає в депресії, як у випадку з леворфанолом. Кролики після токсичних доз левалорфану колапсують з опістотонусом і тризмом. При смертельній підшкірній дозі тварини гинуть після паралічу, а при внутрішньовенній — від судом. Кішки реагують на високі пероральні дози клонічними судомами.

Описано утворення двох його основних метаболітів морфіну – M6G і

M3G. Метаболізм відбувається у печінці. Метаболіт M6G спричинює аналгезію разом із побічними ефектами. M6G становить 5% -15% метаболітів морфіну. Метаболіт M3G (50% із метаболітів) не має опіоїдного агонізму, але викликає ефекти, які протидіють аналгетичній дії морфіну. Більш високий рівень M3G і M6G утворюється при пероральному прийомі морфіну.

Позапечінковий метаболізм морфіну відбувається в епітелії шлунку, у кишківнику. Глюкуроніди можуть підлягати декон'югації. Накопичення M6G і M3G може бути токсичним.

Циклопентанопергідрофенантрени утворюються на основі насиченого фенантрени, конденсованим із циклопентановим циклом. До таких сполук відносяться статеві та адренкортикальні гормони, жовчні кислоти, вітамін D і стерини (рис.1.2.1).

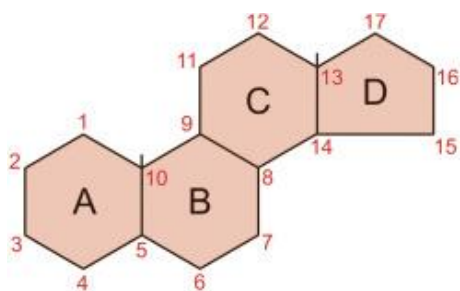


Рисунок 1.2.1. Стероїд – загальна формула.

У циклопентанопергідрофенантреновому циклі є шість асиметричних Карбонових центрів. У природі зустрічаються його ізомери по позиції C5.

Оксикодон – це напівсинтетичний агоніст опіатів. Його отримують з алкалоїду тебаїну. Оксикодон використовується як знеболювальний лікарський засіб. Його випускають у вигляді таблеток із контрольованим вивільненням, у комбінації з аспірином або ацетамінофеном.

Синтетичні опіоїди модифікують шляхом зменшення кількості конденсованих циклів на фенантреновій частині.

Тебаїн має знеболювальні властивості, але є попередником сильної аналгетичної сполуки оксикодону та антагоністом налоксону.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ЛЕВОРФАНОЛІВ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості леворфанолів

Леворфанол та його похідні синтезують класичними та сучасними методами. Класичний метод синтезу леворфанону – це каталітична конденсація з окисненням (каталіз металами) (рис. 2.1.1).

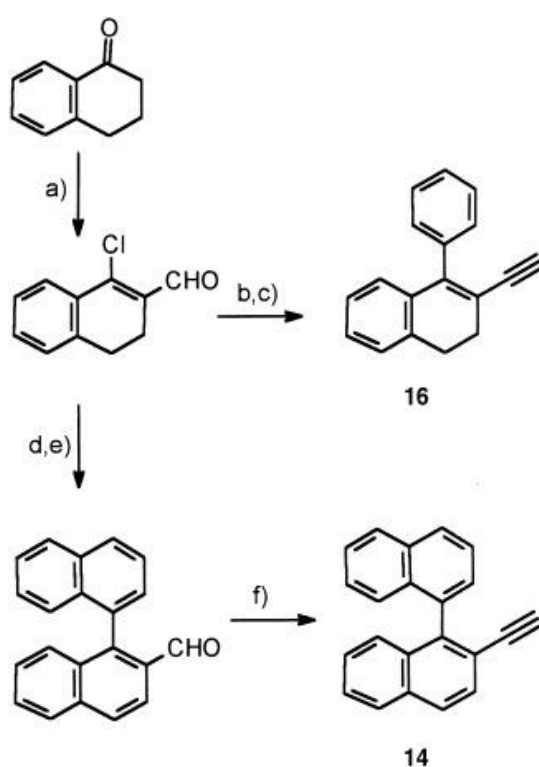


Рисунок 2.1.1. Синтез леворфанолу – загальна схема.

На рисунку 2.1.2 схема синтезу фенантренових алкалоїдів.

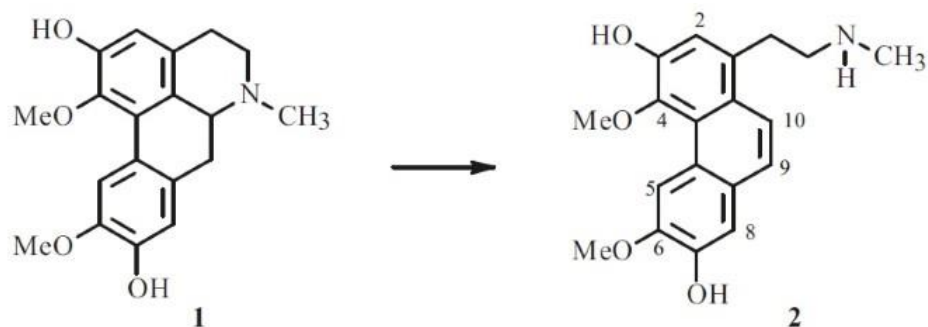


Рисунок 2.1.2. Отримання фенантренових алкалоїдів.

Для синтезу похідних леворфанолу застосовувалися діастереоселективні та енантіоселективні методи.

Синтези Пікте–Шпенглера, Бішлера–Напіральського та Померанца–Фріча–Боббіта – це традиційні методи синтезу.

Використовують методи замикання нітрогеновмісного кільця ізохінолінового ядра. При цьому утворюються зв'язки між атоми C1–N2, N2–C3, C1–N2/N2–C3 і C1–N2/C4–C4a [23-29].

Використовують методи з введенням замісників при C1 ізохінолінового ядра. Крім того, використовують різні біокаталітичні методи.

ТНІQ – це природні продукти тетрагідроізохіноліну, одне з найбільших сімейств алкалоїдів. Хімічний синтез цих алкалоїдів та їх аналогів ТНІQ та складних алкалоїдів trisТНІQ (ектеїнасцидини) ретельно досліджений завдяки їх складним структурним особливостям. Описано загальну структуру та біосинтез кожної родини ТНІQ.

Синтетичні стратегії відрізняються від біоміметичних підходів. Це відкриває шлях до комплексних алкалоїдів ТНІQ порівняно з попередніми синтезами.

Описано синтез ряду алкалоїдів ТНІQ – салсолідін та естеїнасцидін, які відрізняються новими синтетичними схемами (рис. 2.1.3).

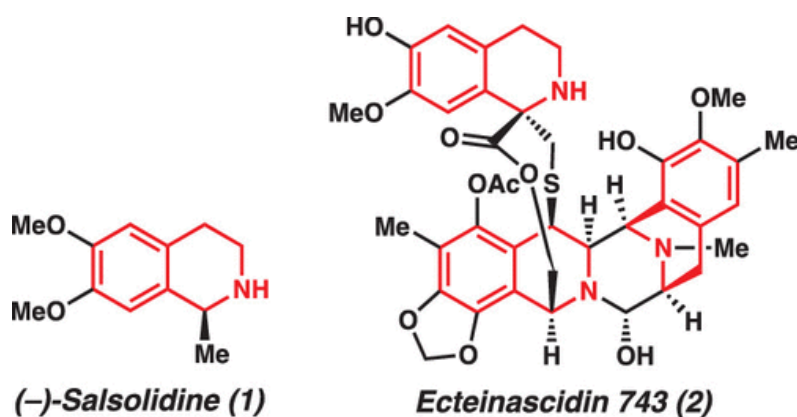


Рисунок 2.1.3. Структури ТНІQ алкалоїдів – салсолідін та естеїнасцидін.

Більшість алкалоїдів ТНІQ добувають із природних джерел – рослин родин кактусів *Cactaceae*, *Chenopodiaceae* та *Fabaceae*. Кактуси містять алкалоїди β-фенілетиламіну, прості тетрагідроізохіноліни (рис. 2.1.4).

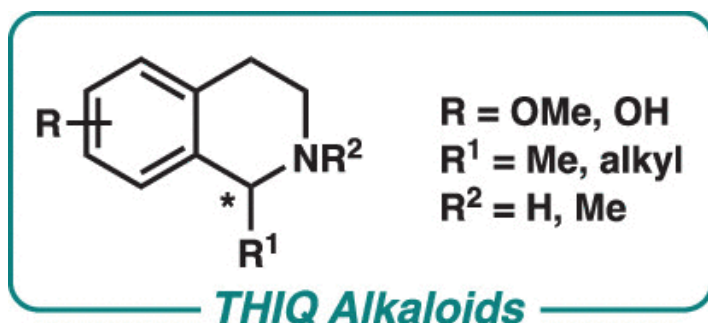


Рисунок 2.1.4. Структури ТНІQ алкалоїдів.

Біосинтез ТНІQ відбувається шляхом конденсації β-фенілетиламіну з еквівалентом формальдегіду або ацетальдегіду. Ця реакція забезпечує утворення тетрагідроізохінолінового фрагменту. Це і є основною стратегією створення гетероциклу як основного каркасу у молекулах природних ТНІQ.

Біосинтез алкалоїдів еритрину відбувається з норретикуліну.

Відбувається окислювальне з'єднання фенолу з утворенням проміжної сполуки, перегрупування, розкриття кільця тетрагідроізохінолінового. Було використано ¹³C-мічення для вивчення утворення проміжної сполуки алільного катіону.

Новий спосіб синтезу гідроброміду декстрометорфану заключається у наступних особливостях: використання нікелю Рені як відновника замінюється борогідридом калію, рацемічну суміш ізохіноліну октагідриду розкладають R-ібупрофеном, трихлорид алюмінію замінює фосфорну кислоту для циклізації.

На рисунку 2.1.5 зображена схема синтезу фенантренизохінолінових сполук – норретикулін, норісосалутарідін, ерітралін.

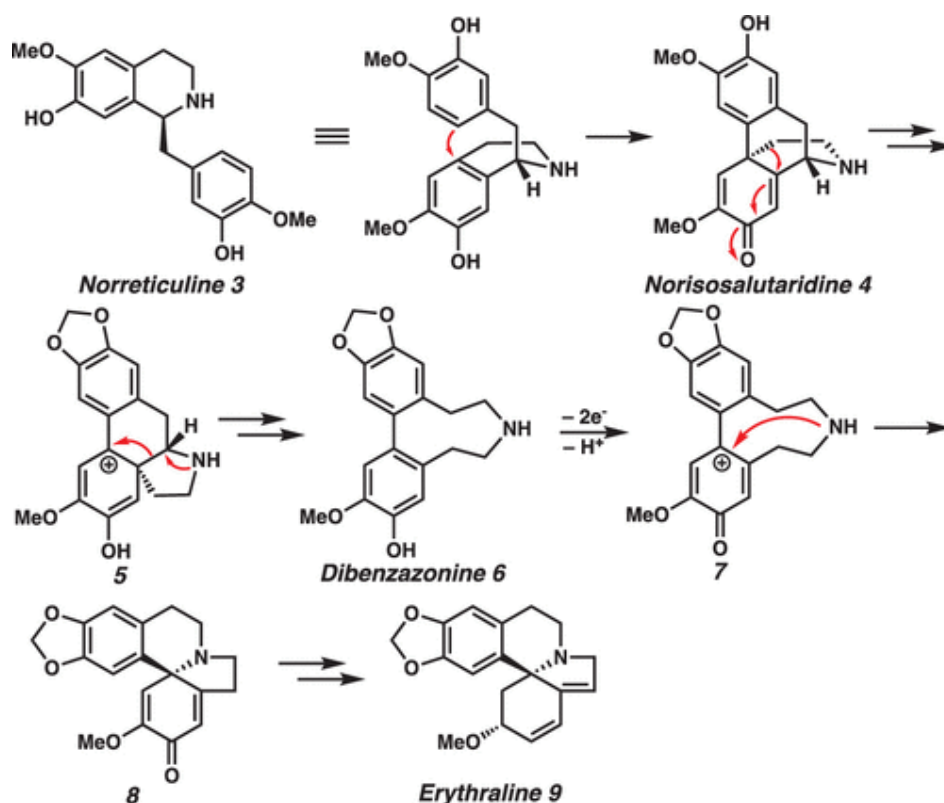


Рисунок 2.1.5. Схема синтезу норретікулін, норісосалутарідін, ерітралін.

Гомоанісова кислота та тетрагідробензен-етамін утворюють напівпродукт (сполука 3), яка під дією фосфору оксихлориду вступає у реакцію циклізації.

Це відома реакція циклізації Бішлера-Напіральського. Проводиться гідрування при нормальному тиску при Реней-Ni каталізі. Дією бромоводню при підкисленні отримують продукт (сполука 5). Сполука 5 взаємодією з розчином формальдегіду, гідруванням за участі каталізатора Реней-Ni, утворює рацемічний N-метилат (\pm)-7, (\pm)-7, який розщеплюється при дії D-тартрату. Утворюється сполука 7, яка при 130-140 °C та у 75% розчині фосфорної кислоти, реакцією з гідроксиду триметилфеніламонію утворює кінцевий продукт – декстрометорфан HBr (у розчині толуену) (рис. 2.1.6).

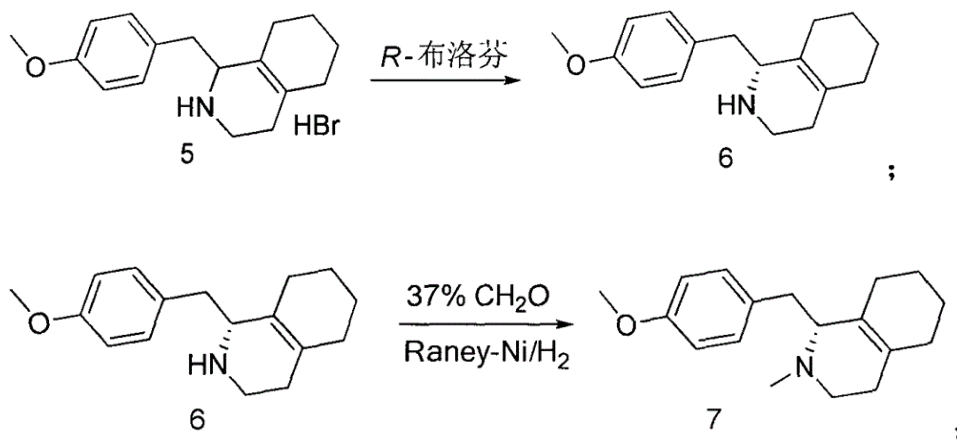


Рисунок 2.1.6. Перші стадії синтезу гідроброміду декстрометорфану.

Таким чином, рекомендоване використання каталітичне гідрування Реней-Ni. Важливе використання розчину ортофосфатної кислоти.

Дані умови синтезу розроблено для вдосконалення класичних методів, спрощення методик синтезу.

Циклізація Бішлера-Напіральського проходить на другій стадії синтезу під дією фосфору оксихлориду. Краще використовувати Борогідрид калію як відновник (рис. 2.1.7).

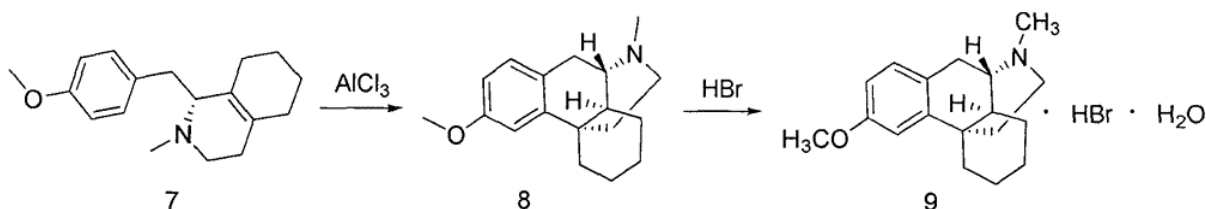


Рисунок 2.1.7. Кінцева стадія синтезу декстрометорфану.

Циклізація відбувається на 5-й стадії хімічного перетворення за участю кислоти Льюїса. Утворюється сполука 8, яка перетворюється на моногідрат декстрометорфану гідроброміду (рис. 2.1.8).

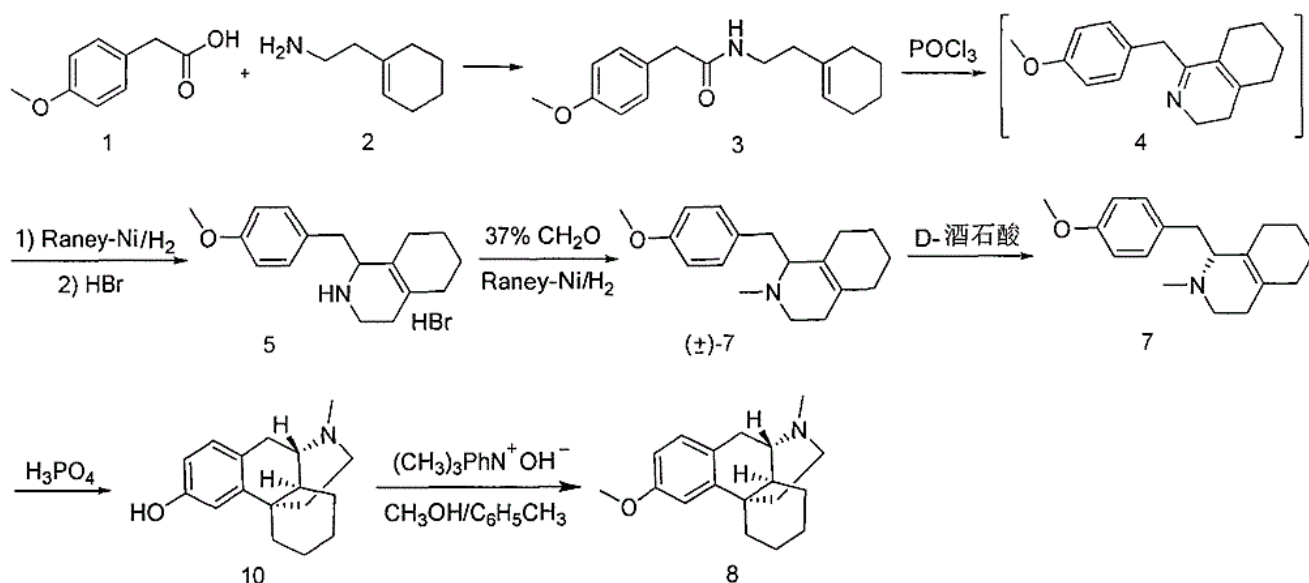


Рисунок 2.1.8. Узагальнена схема синтезу гідроброміду декстрометорфану.

Леворфанол ((-)-3-гідрокси-N-метилморфінан) є похідним морфіну. Леворфанол синтезують з циклогексанону шляхом конденсації з ціанооцтовою кислотою (реакція Кновенагеля). Під час реакції відбувається одночасне декарбосиловання з утворенням 1-циклогексенілацетонітрилу.

Відновлення нітрильної групи проводиться воднем у присутності кобальту Ренея. Утворюється 2-(1-циклогексеніл)етиламін. Отриманий амін ацилюється 4-метоксифенілацетилхлоридом, утворюється амід 2-(1-циклогексеніл)етил-4-метоксифенілацетамід. Циклізація амиду за допомогою оксихлориду фосфору призводить до утворення 1-(4-метоксибензил)-3,4,5,6,7,8-гексагідрохіноліну.

Імінний зв'язок гідується в присутності нікелю Ренея з утворенням 1-(4-метоксибензил)-1,2,3,4,5,6,7,8-октагідрохіноліну, який метилується формальдегідом у присутності нікелю Ренея до 1-(4-метоксибензил)-2-метил-1,2,3,4,5,6,7,8-октагідрохіноліну. На останній стадії синтезу 1-(4-метоксибензил)-2-метил-1,2,3,4,5,6,7,8-октагідрохінолін піддається циклізації з одночасним деметилуванням до 3-гідрокси-N-метилморфінану (леворфанол). З леворфанолу відокремлюють оптичні антиподи за допомогою (+)-винної кислоти (рис.2.1.9).

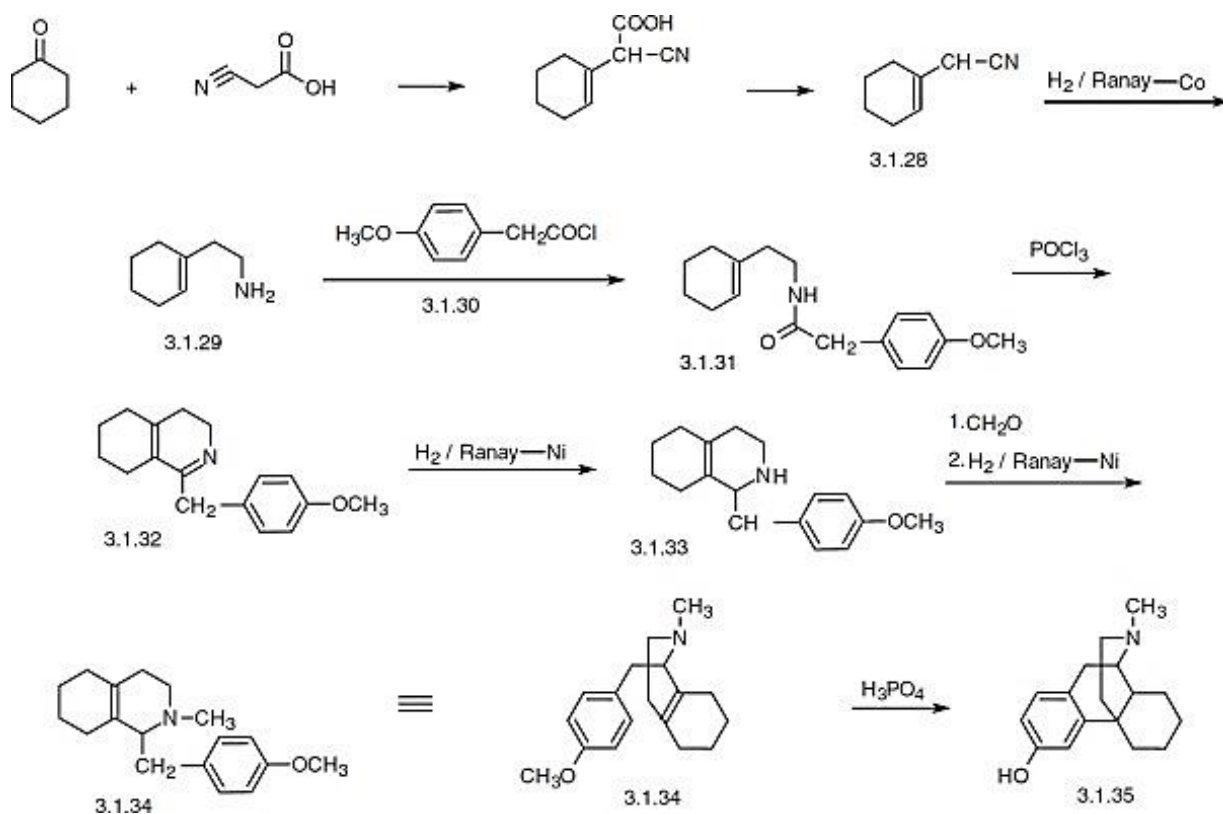


Рисунок 2.1.9. Узагальнена схема синтезу леворфанолу.

Медичне використання алкалоїдів привело до виробництва рослинних лікарських засобів та їх компонентів. Як правило, модифікація хімічної структури синтетичних препаратів виявляють кращу реакцію, ніж натуральні.

Однак алкалоїди відіграють значну роль у фототерапії, гомеопатії та альтернативній медицині.

Клінічне значення мають похідні індолу, ізохіноліну, тропану.

Рослинні препарати модифікуються на лікарські засоби, щоб отримати кращу терапевтичну відповідь порівняно з синтетичними препаратами. Похідні тропану (атропін, гіосцин і гіосціамін) широко рекламуються, для клінічних цілей. Атропінол містить активний інгредієнт атропіну сульфат. Бускопан є похідним гіосцину. Використовується в трансдермальних пластирах. Інша сполука *Bella sanol* також містить гіосціамін.

Існує 50 різних лікарських засобів на основі алкалоїдів. Важливі алкалоїди – болдин, кодеїн, нарцеїн та морфін, відіграють значну роль у

клінічній терапії. Оксиболдин має морфіноподібну фармакологічну дію. Кодеїн є однією з найпопулярніших компонентів щонайменше в 250 фармацевтичних препаратах на ринку. Для цих цілей можна застосовувати Кодикапс або Кодіпронт. Нарцеїновмісні препарати споріднені кодеїну. В основному використовується для лікування кашлю. Похідні тубокурарину (тубарин або джексин) застосовувалися як міорелаксанти.

Морфіновмісні препарати (морфалгін і спазмофен) застосовуються у важких випадках, таких як хірургічні операції та післяопераційне лікування.

Хімічні компоненти алкалоїдів індолу (ефедрин, ерготамін, ергометрин і йохімбін) застосовуються в різних комбінованих препаратах.

Основною діючою речовиною препарату Дорекс або Ендрін є ефедрин. Він використовується для лікування симптомів носової застуди або бронхіальної астми.

Основною хімічною складовою ріжків є ерготамін. Ергостат або Міграл є проданими продуктами на основі ерготаміну. Ці алкалоїди використовуються для лікування мігрені. Йохімбін є основними діючими молекулами афродину або йохімекса. Ці препарати застосовуються для лікування проблем, пов'язаних з імпотенцією у чоловіків. Стрихнін використовується для лікування багатьох розладів, захворювань очей. Активним компонентом Dysurgal або Pasuma є використання стрихніну в клінічних дозах.

Через високу важливість аналіз алкалоїдів опію часто описується ретельно, оскільки ці речовини мають токсичні домішки. ВЕРХ є важливим методом для розділення та кількісного визначення цих сполук.

Оскільки основні алкалоїди відрізняються за структурою, основністю та ліпофільністю, вони повинні легко відокремлюватися за допомогою ВЕРХ, тому, що зв'язок структура-рухливість можна просто передбачити. Було досліджено суміш шести ізохінолінових алкалоїдів: тебаїн, кодеїн, папаверин, морфін та наркотин.

Пік амфотерного нарцеїну з'являється на спектрі пізніше на 24 хв. Базове розділення спостерігалось для перших п'яти алкалоїдів у діапазоні 14-17 хвилин (рис. 2.1.10). В ряду морфінанів властивості міграції можна пояснити: диметоксирований та ліпофільний тебаїн мігрує найшвидше, за ним проявляється монометоксирований кодеїн та більш полярний дигідроксильований морфін. Як видно із електрофорограми СЕ-УФ в цьому випадку зв'язок структура-рухливість легко пояснюється.

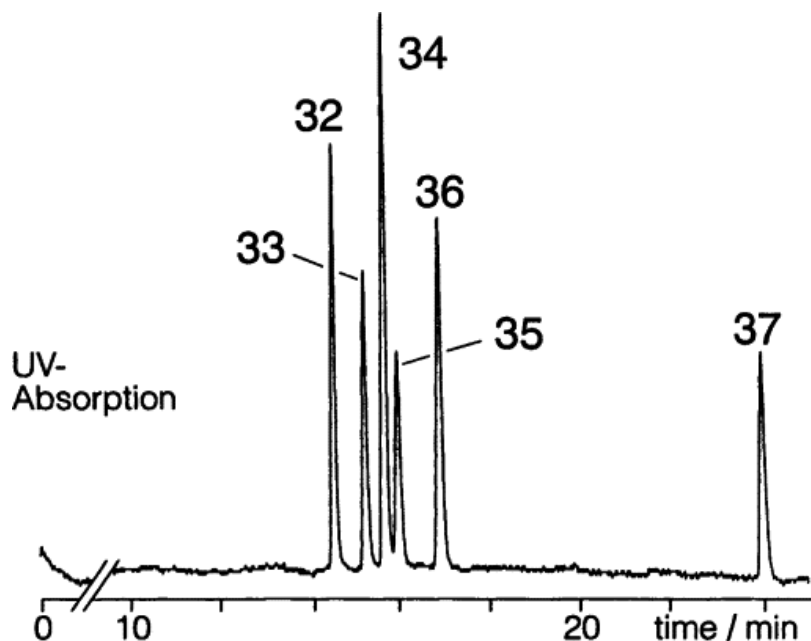


Рисунок 2.1.10. Електрофорограма СЕ-УФ аналізу ізохінолінових алкалоїдів.

Розділення сирової суміші природних сполук необхідно для подальших хімічних аналізів. Під час процесу розділення онлайн ідентифікація аналітів (спектроскопічними методами) дуже важлива для розуміння, чи працювати з цією фракцією далі, чи ні. Тому, актуальним є поєднання методів капілярного електрофорезу (СЕ) та мас-спектрометрії (МС).

ПРИНЦИПИ КАПІЛЯРНОГО ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ З УФ- ТА МС-ДЕТЕКТУВАННЯМ ТА РОЗРОБКА СИСТЕМИ ДЛЯ АНАЛІЗУ АЛКАЛОЇДІВ. Розроблено ряд можливих інтерфейсів СЕ-МС та основи

процесу електророзпилення, розробка електроліту СЕ. Основна увага приділяється встановленню набору параметрів КЕ для аналізу широкого спектру класів алкалоїдів. Велика увага у цих дослідженнях приділяється розділенню та ідентифікації сировини, наприклад, морфін і споріднені алкалоїди в сирому морфїні, маку.

СЕ-АНАЛІЗ АЛКАЛОЇДНИХ СТАНДАРТИВ. Розроблена система була застосована для загального розділення алкалоїдів із застосуванням різних стандартних сумішей алкалоїдів. Вони склалися з алкалоїдів індолу, алкалоїдів протоберберину та бензофенантридину, β-карболінових алкалоїдів та алкалоїдів опію (з діапазоном мас від 150 до 800 Да).

СЕ-MS АНАЛІЗ АЛКАЛОЇДНИХ СТАНДАРТИВ. Розроблено буферний електроліт для аналізу стандартів алкалоїдів лише СЕ-UV. Він був розроблений з урахуванням обмежень мас-спектрометрії з електророзпиленням. Отримано результати аналізу двох стандартних сумішей алкалоїдів за допомогою СЕ-MS on-line сполучення.

UHPLC-MS/MS метод. За допомогою тандему мас-спектрометрії (MS/MS) отримано перевагу для профілювання героїну, оскільки використовується моніторинг множинних реакцій (MRM), який забезпечує вищу селективність, нижчі межі виявлення, порівняно із методом MS. А також, може підтвердити ідентичність піку. Ця методика потребує оптимізації інструментальних параметрів для кожного аналіту. Досліджена комбінація методів UHPLC-MS/MS з позитивною іонізацією електророзпиленням (ESI) у режимі моніторингу множинної реакції (MRM). Використовували цю комбінацію для високоселективного та чутливого виявлення героїну, основних домішок, основних та нейтральних побічних продуктів. За допомогою даної методики можна виявити основні домішки до рівня 10-6%. Цей підхід використовувався для виявлення незадекларованих основних домішок та побічних продуктів (ретикулін, нарцеїн, лауданідин, лауданозин,

криптопін, норлауданозин, ретикуліну моно- і діацетат). Порівняно з УФ-виявленням, значення MRM дають вищу повторюваність площі піку. Виходячи з діапазону лінійності, УФ-виявлення має вищі межі виявлення, ніж MS/MS. MRM окремих основних домішок та побічних продуктів були створені для профілювання героїну з використанням рухомих фаз з низьким і високим рН. MRM для нейтральних побічних продуктів були створені з використанням рухомих фаз з високим рН.

Рухома фаза з вищим рН дозволила збільшити завантаження зразка. Вона дає значні відмінності у селективності, вищі межі виявлення MRM. Профілювання героїну при високому рН дозволяє збільшити завантаження проби та аналізувати нейтральні домішки.

Основні розчинені речовини демонструють в 10 разів більші межі виявлення, ніж з низьким рН. Значний гідроліз героїну до 6-МAM стає проблемою при високому рН. Хроматографічна система з низьким рН (кількість героїну на колонці менше 10 мкг) буде сприятливою для профілювання основних домішок героїну (рис. 2.1.11).

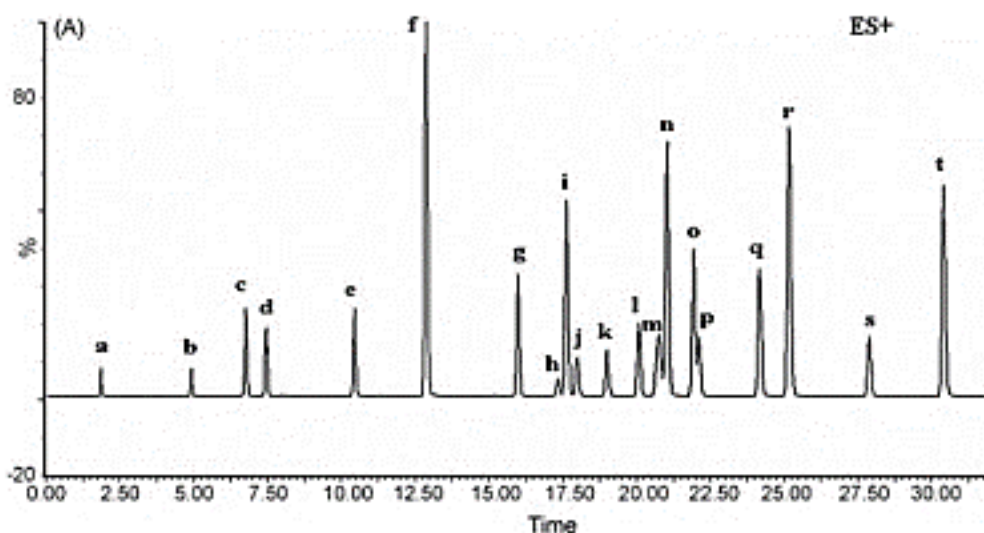


Рис. 2.1.11. UHPLC-MS/MS градієнтне розділення героїну, основних домішок, основних і нейтральних побічних продуктів: а) морфін, б) кодеїн, с) О-3-моноацетилморфін, d) О-6-моноацетилморфін, е) болдин, f) ретикулін.

Декстрометорфан ((+)-3метокси-17-метил(9а,13а, 14а)-морфінан).
Може містити домішку гідрокортизону у якості додаткового компоненту. Не коректно підібрані хроматографічні умови під час досліджень субстанції можуть призводити до деградації гідрокортизону, як додаткового компоненту.

Якщо розглядати Гідрокортизон як лікарську речовину – субстанцію для проведення фармацевтичного аналізу, то це – кристалічний порошок білого або майже білого кольору. М.м. 404,5. Його хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК – 11 β ,17-дигідрокси-3,20-діоксопрегн-4-ен-21-іл ацетат (рис.2.1.12).

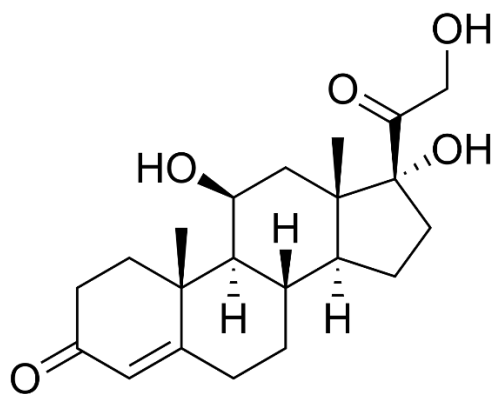


Рисунок 2.1.12. Хімічна формула гідрокортизону.

Гідрокортизону ацетат субстанція не розчинний у воді *P* та дуже мало розчинний у етанолі (96%) *P* та метиленхлориді.

За ДФУ гідрокортизону ацетат ідентифікується методом абсорбційної ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), відповідністю спектру ФСЗ гідрокортизону ацетату, ТШХ [30].

Ідентифікацію супровідних домішок субстанції гідрокортизону ацетату проводять методом РХ (2.2.29). Використовують суміш розчинників: ацетатна кислота *P* – вода *P* – метанол *P* (1 : 10 : 90).

Рухома фаза складається із ацетонітрилу *P* – води *P*.

УФ-детектування при 254 нм.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України регламентує [30] аналіз гідрокортизону ацетату субстанції. Однак, ці дослідження не проводили для суміші гідрокортизону-декстрометорфану. В даній роботі така процедура виконується та описується вперше.

Чистота. 97.0-102.0% (підтвердження методом ВЕРХ), структура.

Споріднені сполуки досліджуються методом рідинної хроматографії (РХ), (2.2.29). Субстанцію розчиняють у суміші розчинників.

Серед регламентованих ДФУ специфікованих та неспецифікованих домішок субстанції гідрокортизону ацетату 6 речовин: А, В, С, D, G, E.

При чому, перша ідентифікація проводиться для домішок А, В. Друга ідентифікація проводиться для домішок С, D, E. Для неспецифікованих домішок ліміт 0.10%, разом – 1.0%.

Нами проведено хроматографічне дослідження за допомогою методу ВЕРХ субстанції декстрометорфану із вмістом гідрокортизону з метою розробки та опрацювання умов хроматографування та методик за умов одночасної присутності цих речовин у складі однієї суміші, а також, виявлення специфікованих та неспецифікованих домішок або неприпустимих речовин.

Матеріали та методи.

Для проведення інструментальних досліджень використовували хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором; колонка – INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5 з температурою – 25°C.

Умови хроматографування:

- час хроматографування – 60 хв;
- потік – 0,8 мл/хв
- детектування – УФ при 254 нм
- об'єм інжекції – 10 мкл
- рухома фаза А – ацетонітрил для ВЕРХ

- рухома фаза В – вода для ВЕРХ

Градiєнт- рухома фаза А, рухома фаза В (табл. 3.1).

Таблиця 3.1. Градiєнт.

Час (хвилини)	Рухома фаза А (% v/v)	Рухома фаза В (% v/v)
0,01	74	26
18,00	74	26
32,00	55	45
48,00	30	70
55,00	74	26
60,00	74	26

Методика приготування суміші розчинів:

Ацетонiтрил для ВЕРХ : вода для ВЕРХ (80:20 v/v). Перемішування розчину.

Методика приготування розчину для визначення піку гiдрокортизону:

Розчин для визначення піка гiдрокортизону:

Розводять 2 мг фармакопейного стандартного зразка Державної фармакопеї України гiдрокортизону (містить домішки D, E, G, H, I та N) за допомогою 1 мл суміші розчинників.

Методика приготування стандартного розчину гiдрокортизону:

Стандартний розчин гiдрокортизону:

Точну наважку 20 мг фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України гiдрокортизону поміщають у мірну колбу об'ємом 10 мл, додають 8 мл суміші розчинників, обробляють ультразвуком протягом 10 хв. до розчинення та доводять об'єм розчину до позначки сумішшю розчинників.

Методика приготування стандартного розчину (а) гiдрокортизону:

Стандартний розчин (а):

Точні наважки фармакопейних стандартних зразків Державної фармакопеї України 4 мг преднізолону (домішка А), 2 мг кортизону (домішка В), 8 мг гідрокортизону ацетату (домішка С) та 6 мг речовини S Рейхштейна (домішка F) поміщають в мірну колбу об'ємом 100 мл, додають 40 мл ацетонітрилу, за потреби обробляють ультразвуком до розчинення та доводять об'єм розчину до позначки водою.

Розводять 1 мл отриманого розчину до 10 мл стандартним розчином гідрокортизону.

Методика приготування стандартного розчину (b) гідрокортизону:

Стандартний розчин (b):

Розводять 1 мл стандартного розчину гідрокортизону до об'єму 100 мл сумішшю розчинників.

Далі розводять 1 мл отриманого розчину до об'єму 10 мл сумішшю розчинників.

Методика приготування розчину плацебо:

Чистий розчин плацебо:

Зважують близько 5 г чистого плацебо та поміщають у пробірку для центрифугування, додають 25 мл суміші розчинників та нагрівають до 50 °С до повного диспергування. Обробляють ультразвуком протягом 10 хв. Дають суміші охолонути до кімнатної температури. Центрифугують та використовують відцентрифугований розчин. Фільтрують через мембранний фільтр із розміром пор 0,45 мкм і використовують фільтрат.

Комп'ютерний аналіз за допомогою програми OpenLab CDS.

Для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ використовували реактиви: ацетонітрил (чистоти для ВЕРХ), вода (чистоти для ВЕРХ).

Отримані результати.

При дослідженні стандартних зразківДФУ В(1), В (2), розчинів досліджуваних зразків 1, 2 отримано наступні результати (табл. 3.2, 3.3).

Таблиця 3.2. Розчини стандартних речовин.

	Стандарт В (1)		Стандарт В (2)	
	Гідрокортизон			
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	24,566	59,837	23,097	62,047
	24,559	61,500	23,196	63,333
	24,401	59,467		
Середнє	24,509	60,268	23,147	62,690
SD	0,093	1,083	0,070	0,909
RSD($\leq 2.0\%$)	0,38%	1,80%	0,30%	1,45%

Розчини стандартні:

Гідрокортизон, стандарт В (1):

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 24,401-24,566 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 24,509 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 59,467-61,500;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 60.268;
- SD *Rt* 0.093;
- SD *Ar* 1.083;
- RSD *Rt* ($<2.0\%$) 0.38%;
- RSD *Ar* ($<2.0\%$) 1.80%.

Гідрокортизон, стандарт В (2):

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 23,097-23,196 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 23,147 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 62,047-63,333;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 62.690;
- SD *Rt* 0.070;
- SD *Ar* 0.909;
- RSD *Rt* ($<2.0\%$) 0.30%;
- RSD *Ar* ($<2.0\%$) 1.45%.

Таблиця 3.3. Розчини випробувальних зразків.

	<i>Зразок 1</i>											
	<i>Imp 1</i>		<i>Imp 1</i>		<i>Imp 2</i>		<i>Imp A</i>		<i>Гідрокортизон</i>		<i>Imp C</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	10,101	37,330	12,533	59,458	13,266	67,426	23,127	63,970	24,570	53843,357	34,254	68,640
	10,056	36,364	12,437	60,664	13,170	68,667	22,893	64,577	24,398	54130,106	34,212	66,906
	10,073	36,956	12,453	61,179	13,168	67,796	23,000	64,229	24,469	53924,535	34,225	68,273
Середнє	10,077	36,883	12,474	60,434	13,201	67,963	23,007	64,259	24,479	53965,999	34,230	67,940

	<i>Зразок 2</i>											
	<i>Imp 1</i>		<i>Imp 1</i>		<i>Imp 2</i>		<i>Imp A</i>		<i>Гідрокортизон</i>		<i>Imp C</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	10,079	36,463	12,462	61,750	13,174	67,766	23,014	62,670	24,475	53933,554	34,213	67,971
	10,101	34,879	12,492	62,464	13,203	66,982	23,056	63,283	24,530	54098,502	34,246	68,911
	10,113	34,368	12,508	61,614	13,232	64,952	23,122	62,281	24,583	53843,498	34,287	68,915
Середнє	10,098	35,237	12,487	61,943	13,203	66,567	23,064	62,745	24,529	53958,518	34,249	68,599

Розчини зразків:

Гідрокортизон, зразок 1:

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 24,398-24,570 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 24,479 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 53843,357-54130,106;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 53985.999;

Гідрокортизон, зразок 2:

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 24,475-24,583 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 24,529 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 53843,498-54098,502;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 53958.518;

Домішка А, зразок 1:

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 22,893-23,127 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 23,007 хв;

- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 63,970-64,577;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 64.259;

Домішка А, зразок 2:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 23,014-23,122 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 23,064 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 62,281 -62,670;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 62.745;

Таким чином, виявлені специфіковані домішки А, С, І та неспецифіковані домішки 1, 2.

Хроматограми представлено на рисунках 3.1-3.3.

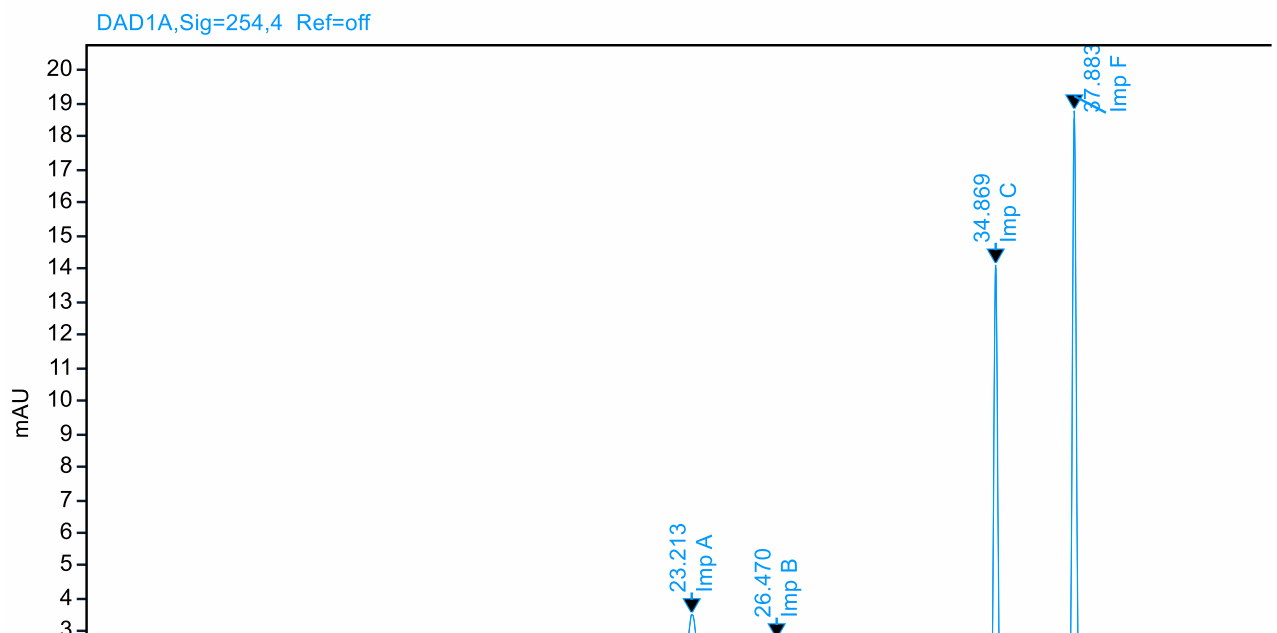


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного зразку (а): домішка А ($R_t=23,213$ хв), домішка В ($R_t=26,470$ хв), домішка С ($R_t=34,869$ хв), домішка F ($R_t=37,883$ хв).

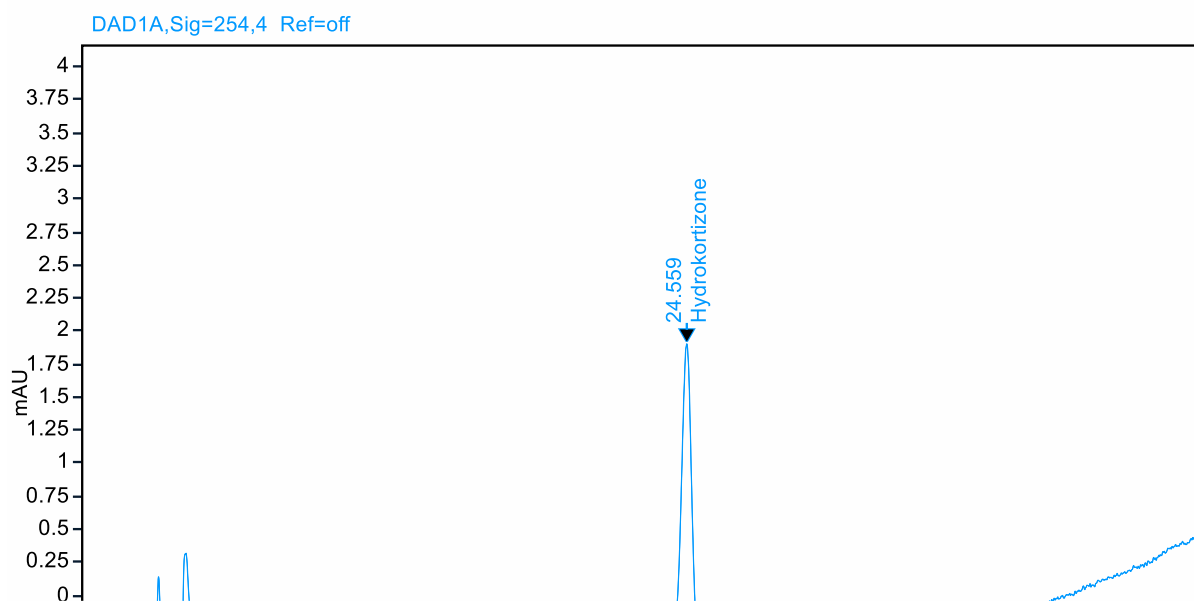


Рисунок 3.2. Хроматограма стандартного зразку (b): гідрокортизон ($R_t=24,559$ хв), неідентифікована домішка.

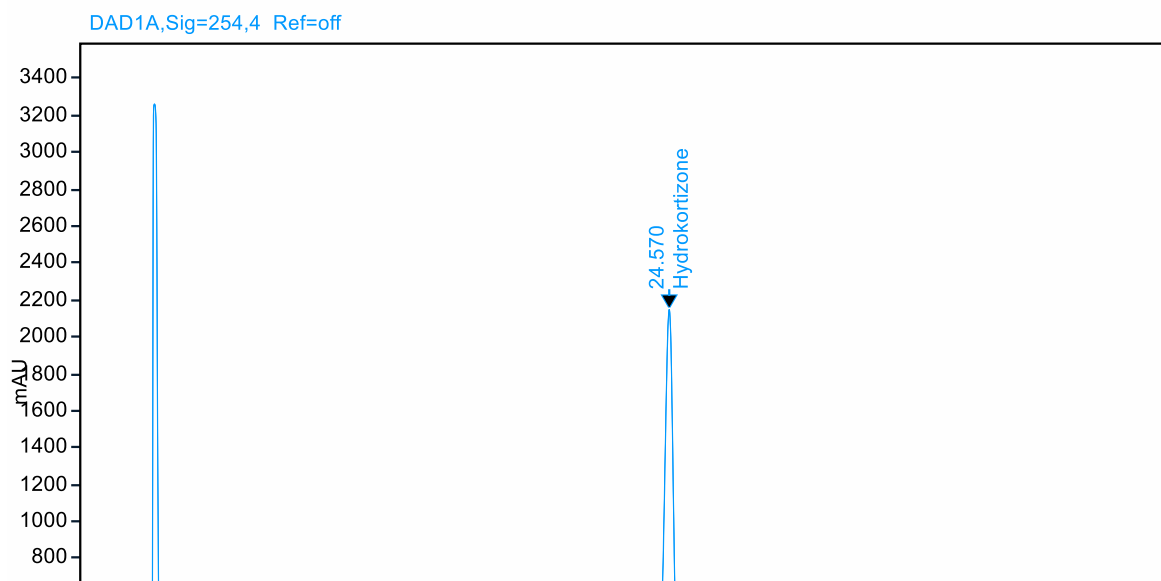


Рисунок 3.3. Хроматограма випробувального зразку: гідрокортизон ($R_t=24,570$ хв), домішка А ($R_t=23,127$ хв), домішка С ($R_t=34,254$ хв), домішка І ($R_t=12,533$ хв), неідентифіковані домішки: домішка 1 ($R_t=10,101$ хв), домішка 2 ($R_t=13,266$ хв).

Гідрокортизон (зміни, що відбулися у хроматографічній картині):

<i>Гідрокортизон, стандарт В (1):</i>	<i>Гідрокортизон, зразок І:</i>
---------------------------------------	---------------------------------

<p>значення R_t знаходиться в інтервалі 24,401-24,566 хв;</p> <p>середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 24,509 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 59,467-61,500;</p> <p>середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 60.268;</p> <p>SD R_t 0.093;</p> <p>SD Ar 1.083;</p> <p>RSD R_t (<2.0%) 0.38%;</p> <p>RSD Ar (<2.0%) 1.80%.</p>	<p>значення R_t знаходиться в інтервалі 24,398-24,570 хв;</p> <p>середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 24,479 хв;</p> <p>площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 53843,357-54130,106;</p> <p>середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 53985.999;</p>
---	--

ВИСНОВКИ

1. Адаптовано розроблені умови хроматографічного дослідження методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з гідрокортизоном з метою захисту структури гідрокортизону від деградації.
2. Розроблено методики для виконання хроматографування методом ВЕРХ, методики приготування випробувальних розчинів фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з гідрокортизоном, розчину плацебо: суміш розчинників – ацетонітрил для ВЕРХ : вода для ВЕРХ (80:20 v/v).
3. Проведене хроматографічне дослідження методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з гідрокортизоном, в результаті чого, виявлено, що хроматографічні умови та методики дослідження розроблено коректно: пік гідрокортизону розташовується з R_t у інтервалі 24,398-24,570 хв, порівняно із стандартним значенням (R_t 24,401-24,566 хв), а також виявлено 2 неспецифіковані неідентифіковані домішки 1 ($R_t=10,101$ хв), домішку 2 ($R_t=13,266$ хв).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Anita Siu, Richard Drachtman. Dextromethorphan: a review of N-methyl-d-aspartate receptor antagonist in the management of pain. *CNS Drug Rev.* 007 Spring;13(1):96-106. doi: 10.1111/j.1527-3458.2007.00006.x.
2. Dextromethorphan Hydrobromide [Архівовано 6.11.2020, Wayback Machine.]
3. <http://www.vidal.ru/drugs/molecule/307> [Архівовано 24.01.2021, Wayback Machine.]
4. DrugBank. Dextromethorphan [Архівовано 6.08.2019, Wayback Machine].
5. Dextromethorphan-Bupropion for the Treatment of Depression: A Systematic Review of Efficacy and Safety in Clinical Trials. Akbar D, Rhee TG, Ceban F, Ho R, Teopiz KM, Cao B, Subramaniapillai M, Kwan ATH, Rosenblat JD, McIntyre RS. *CNS Drugs.* 2023 Oct;37(10):867-881. doi: 10.1007/s40263-023-01032-5. Epub 2023 Oct 4. PMID: 37792265
6. Interventional Mental Health: A Transdisciplinary Approach to Novel Psychiatric Care Delivery. Kuo J, Block T, Nicklay M, Lau B, Green M. *Cureus.* 2023 Aug 15;15(8):e43533. doi: 10.7759/cureus.43533. eCollection 2023 Aug. PMID: 37719598.
7. A double-blinded, placebo-controlled, randomized study to evaluate the efficacy of perioperative dextromethorphan compared to placebo for the treatment of postoperative pain: a study protocol. Jones IA, Piple AS, Yan PY, Longjohn DB, Gilbert PK, Lieberman JR, Gucev GV, Oakes DA, Ratto CE, Christ AB, Heckmann ND. *Trials.* 2023 Mar 29;24(1):238. doi: 10.1186/s13063-023-07240-0. PMID: 36991450.
8. Duloxetine for Postoperative Pain Control Following Knee or Hip Replacement: A Systematic Review and Meta-Analysis. Jones IA, Talehakimi A, Murphy LS, Wang JC, Piple AS, Christ AB, Heckmann ND. *Arthroplast*

- Today. 2023 Feb 14;20:101097. doi: 10.1016/j.artd.2023.101097. eCollection 2023 Apr.PMID: 36852213.
9. Antipsychotic Drugs Efficacy in Dextromethorphan-Induced Psychosis. Zaremba M, Serafin P, Kleczkowska P. *Biomedicines*. 2023 Jan 3;11(1):123. doi: 10.3390/biomedicines11010123.PMID: 36672631.
 10. Preliminary Results on the Long-Term Effects of Dextromethorphan on MDMA-Mediated Serotonergic Deficiency and Volumetric Changes in Primates Based on 4-[¹⁸F]-ADAM PET/MRI. Yeh SH, Kuo YY, Huang WS, Chiu CH, Yu TH, Li LGF, Tsai CJ, Cheng CY, Ma KH. *Front Neurosci*. 2022 May 19;16:837194. doi: 10.3389/fnins.2022.837194. eCollection 2022.PMID: 35692422.
 11. The Effect of Intrathecal Injection of Dextromethorphan on the Experimental Neuropathic Pain Model. Fahmi A, Aji YK, Aprianto DR, Wido A, Asadullah A, Roufi N, Indrastuti DN, Subianto H, Turchan A. *Anesth Pain Med*. 2021 Jun 29;11(3):e114318. doi: 10.5812/aapm.114318. eCollection 2021 Jun.PMID: 34540637.
 12. Comparative Evaluation of Preemptive Analgesia of Dextromethorphan and Ibuprofen in Third Molar Surgeries. Kale SG, Shetty A, Moin A, Archana TS, Kumar P, Bagga V. *Ann Maxillofac Surg*. 2020 Jul-Dec;10(2):312-319. doi: 10.4103/ams.ams_252_19. Epub 2020 Aug 16.PMID: 33708573.
 13. Expanding Role of NMDA Receptor Antagonists in the Management of Pain.
 14. Kreutzwiser D, Tawfic QA. *CNS Drugs*. 2019 Apr;33(4):347-374. doi: 10.1007/s40263-019-00618-2.PMID: 30826987 Review.
 15. Ming-Han Li, Yueh-Hsia Luo, Chiou-Feng Lin, Yu-Tzu Chang, Shiou-Ling Lu, Chih-Feng Kuo, Jau-Shyong Hong, Yee-Shin Lin. Dextromethorphan efficiently increases bactericidal activity, attenuates inflammatory responses, and prevents group a streptococcal sepsis. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Mar;55(3):967-73. doi: 10.1128/AAC.00950-10.

16. Ran Zhou, Shih-Heng Chen, Guorong Li, Hui-Ling Chen, YuXin Liu, Hung-Ming Wu, Yubao Wang, Jing Feng, Jau-Shyong Hong. Ultralow doses of dextromethorphan protect mice from endotoxin-induced sepsis-like hepatotoxicity. *Chem. Biol. Interact.* 2019 Apr 25;303:50-56. doi: 10.1016/j.cbi.2019.02.025. Epub 2019 Feb 26.
17. Anti-epileptic and Neuroprotective Effects of Ultra-low Dose NADPH Oxidase Inhibitor Dextromethorphan on Kainic Acid-induced Chronic Temporal Lobe Epilepsy in Rats. Yang JJ, Liu YX, Wang YF, Ge BY, Wang Y, Wang QS, Li S, Zhang JJ, Jin LL, Hong JS, Yin SM, Zhao J. *Neurosci Bull.* 2023 Nov 16. doi: 10.1007/s12264-023-01140-8. Online ahead of print. PMID: 37973720
18. Inhibition of SARS-CoV-2 infection in human iPSC-derived cardiomyocytes by targeting the Sigma-1 receptor disrupts cytoarchitecture and beating. Salerno JA, Torquato T, Temerozo JR, Goto-Silva L, Karmirian K, Mendes MA, Sacramento CQ, Fintelman-Rodrigues N, Souza LRQ, Ornelas IM, Veríssimo CP, Aragão LGHS, Vitória G, Pedrosa CSG, da Silva Gomes Dias S, Cardoso Soares V, Puig-Pijuan T, Salazar V, Dariolli R, Biagi D, Furtado DR, Barreto Chiarini L, Borges HL, Bozza PT, Zaluar P, Guimarães M, Souza TML, Rehen SK. *PeerJ.* 2021 Dec 20;9:e12595. doi: 10.7717/peerj.12595. eCollection 2021. PMID: 35036128.
19. 6-Shogaol Mitigates Sepsis-Associated Hepatic Injury through Transcriptional Regulation. Guo X, Qiu J, Qian Y. *Nutrients.* 2021 Sep 28;13(10):3427. doi: 10.3390/nu13103427. PMID: 34684425.
20. Playing With Fire: Proinflammatory Virulence Mechanisms of Group A *Streptococcus*. Wilde S, Johnson AF, LaRock CN. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021 Jul 6;11:704099. doi: 10.3389/fcimb.2021.704099. eCollection 2021. PMID: 34295841.
21. Paul, A. K., et al. (2021). Opioid analgesia and opioid-induced adverse effects: A review. *Pharmaceuticals*, 14(11), 1091.

22. Butnariu, M., et al. (2022). Papaver plants: Current insights on phytochemical and nutritional composition along with biotechnological applications. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022, 1–23.
23. Yong-Jie Wu, Jia-Hao Chen, Ming-Ya Teng, Xiang Li, Tian-Yu Jiang, Fan-Rui Huang, Qi-Jun Yao, Bing-Feng Shi. Cobalt-Catalyzed Enantioselective C–H Annulation of Benzylamines with Alkynes: Application to the Modular and Asymmetric Syntheses of Bioactive Molecules. *Journal of the American Chemical Society* 2023, 145 (45), 24499-24505.
<https://doi.org/10.1021/jacs.3c10714>
24. Wenyan Zhou, Jianbo Gan, Haiwen Li, Cunde Wang. ZnCl₂-Promoted Three-Component Reaction of 2-Aminochromenones, Aromatic Aldehydes, and Quinone Monoketals: Access to 5,6-Dihydro-12H-chromeno[2,3-c]isoquinolin-12-one Derivatives. *The Journal of Organic Chemistry* 2023, 88 (20), 14767-14774.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01405>
25. Yuqian Zhao, Xiaoli Hou, Min He, Yi Wang, Shilei Yang, Wanhui Wang, Ming Bao, Xiaoqiang Yu. Visible-Light-Driven α -Substituted Amines Enabled by In Situ Formation of Amine Substrate Aggregates. *Organic Letters* 2023, 25 (40), 7344-7348. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c02826>
26. Yingxiao Wang, Minghui Qi, Ping Lu, Yanguang Wang. Rh(III)-Catalyzed Reaction of 4-Diazoisochroman-3-imines with (2-Formylaryl)boronic Acids To Access a Straightforward Construction of 5H-Isochromeno[3,4-c]isoquinolines. *The Journal of Organic Chemistry* 2023, 88 (19) , 13544-13552. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01185>
27. Alexia N. Kim, Aurapat Ngamnithiporn, Emily Du, Brian M. Stoltz. Recent Advances in the Total Synthesis of the Tetrahydroisoquinoline Alkaloids

- (2002–2020). *Chemical Reviews* 2023, 123 (15), 9447-9496. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.3c00054>
28. Yi Luo, Yang-Hao Zeng, Lin Dong. Direct Assembly of Vinyl Fluorinated Isoquinolines Via Rh(III)-Catalyzed [4 + 2] Annulation. *The Journal of Organic Chemistry* 2023, 88 (15), 10789-10800.
<https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c00826>
29. De Wang, Xinyu Liu, Manjaly J. Ajitha, Zhixin Liu, Yongyi Hu, Kuo-Wei Huang. Stereospecific [3+2] Cycloaddition of Chiral Arylallenes with C,N-Cyclic Azomethine Imines. *Organic Letters* 2023, 25 (18), 3249-3253. <https://doi.org/10.1021/acs.orglett.3c00984>
30. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2. С. 152-154.

SUMMARY

Beley Valeriya
STUDY BY HPLC OF THE ACTIVE INGREDIENT DEXTROMETHORPHAN
HYDROBROMIDE FOR THE PRESENCE OF HYDROCORTISONE ADMIXTURE

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: PhD (Biol), as. Meleshko R.A.

Keywords: hydrocortisone, dextromethorphan, HPLC, admixture.

Introduction. Compared to morphine, levorphanol does not have complete cross-tolerance, it has intrinsic activity on the μ -opioid receptor (MOR). The duration of action is long compared to other similar analgesics and varies in the range of 4-15 hours. For this reason, levorphanol is useful for the relief of chronic pain and similar conditions. The ratio of oral to parenteral efficacy of levorphanol is 2:1, which is the most favorable among potent drugs. The novelty of the experimental research is the development of special conditions for HPLC chromatography of the composition of dextromethorphan with an additional component - hydrocortisone, which will allow preserving its chemical structure from degradation.

Materials and methods. Research object are hydrocortisone, dextromethorphan substances, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of hydrocortisone, dextromethorphan. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector), column INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. Adapted developed conditions of chromatographic study by HPLC method of pharmaceutical composition of dextromethorphan substance with hydrocortisone in order to protect hydrocortisone structure from degradation. Techniques for performing HPLC chromatography, methods for preparing test solutions of the pharmaceutical composition of dextromethorphan substance with hydrocortisone, placebo solution were developed: mixture of solvents - acetonitrile for HPLC: water for HPLC (80:20 v/v).

Conclusions. A chromatographic study by the HPLC method of the pharmaceutical composition of the dextromethorphan substance with hydrocortisone was carried out, as a result of which it was found that the chromatographic conditions and research methods were developed correctly: the hydrocortisone peak is located with R_t in the interval 24.398-24.570 min, compared to the standard value (R_t 24.401-24.566 min), as well as 2 unspecified unidentified impurity 1 (R_t =10.101 min), impurity 2 (R_t =13.266 min) were detected.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Вельчинська О., Белей В., Кузко А. Переваги методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в аналізі фармацевтичних композицій. Міжнародна науково-практична конференція «Освіта і наука в період глобальних криз та конфліктів у XXI столітті» (Секція «Природничі науки»), НАН ВО України, м. Київ, 08-09 грудня 2023 року.
2. FIP Symposium, Digital Event «Designing pharmacies towards an accessible, patient-centred and service-oriented model of practice» 12.09.2023, The Netherland (Online educational activity). Certificate.

