

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 «Розробка методики ВЕРХ дослідження чистоти субстанції
декстрометорфану гідроброміду на присутність домішки ацикловіру»

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)

Горай Тетяна Вікторівна

(прізвище та ініціали)

Керівник: **к.б.н., ас. Мелешко Р.А.**

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: **проф., д.фарм.н. Вельчинська О.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 ФЕНАНТРЕНІЗОХІНОЛІНІВ.....	9
1.1. Особливості хімічної будови фенантренізохінолінів.....	9
1.2. Біологічна активність фенантренізохінолінів.....	11
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ДЕКСТРОМЕТОРФАНУ.....	14
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості декстрометорфану.....	14
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	23
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

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

DM – Декстрометорфан

Hal – галоген

Heterocycl– гетероциклічний фрагмент

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

NMDA – N-метил-d-аспартату

ВСТУП

Актуальність теми. Декстрометорфан – це протикашльовий засіб. За хімічною номенклатурою ІЮПАК має назву (+)-3метокси-17-метил(9а,13а,14а)-морфінан. Основу молекули декстрометорфану складає тетрациклічна конденсована ароматична система фенантренизохіноліну, яка містить кільця бензену, циклогексану та гетероцикл.

Цей лікарський засіб використовується для полегшення кашлю без мокротиння, спричиненого певними інфекціями дихальних шляхів, але він не є безпечним та ефективними для дітей. Щоб зменшити ризик серйозних побічних ефектів, необхідно дотримуватися інструкцій щодо дозування. Декстрометорфан (DM) є неконкурентним антагоністом рецептору N-метил-d-аспартату (NMDA).

DM запобігає пошкодженню нейронів, модулює відчуття болю через неконкурентний антагонізм амінокислот (ЕАА). DM є корисним для лікування болю у онкохворих, для лікування нейротоксичності [1-6]. Стрептокок (GAS) є важливим патогеном для людини, викликає спектр захворювань, починаючи від легких інфекцій горла та шкіри до важких інвазивних захворювань, навіть, некротичний фасціїт та синдром стрептококового токсичного шоку. Декстрометорфан (DM) має протизапальні властивості. Виявлено захисний ефект ЦД при ГАЗ-інфекції, використовуючи мишачу модель інфекції. Лікування ЦД підвищило рівень виживання інфікованих тварин, а кількість бактерій була нижчою у тих, яких лікували DM. Лікування цукрового діабету запобігало поширенню бактерій у крові та знижувало сироваткові рівні прозапальних цитокінів інтерлейкіну-6 (IL-6). Ураження печінки було зменшено за допомогою DM. У цілому, DM збільшує знищення бактерій, зменшує запальні реакції. DM розглядається як допоміжний засіб, у поєднанні із антибіотиками, проти бактеріальної інфекції [7-12].

Дослідження показали, що введення мелатоніну в передню поясну кору запобігало загостренню механічної аллодінії з одночасним покращенням стану депресії. Досліджено вплив лікування мелатоніном з DM на розвиток болю у щурів WKY. DM був ефективним у зменшенні термічної гіпералгезії при трьох дозах (15, 30 або 60 мг/кг), зменшував аллодінію лише при дозах 30, 60 мг/кг. Мелатонін не зміг скасувати аллодінію при всіх тестованих дозах. Комбіноване введення мелатоніну та DM ефективно при термічній гіпералгезії, при механічному аллодінію. Отримані результати підтверджують, що комбінація мелатоніну з антагоністом рецептора NMDA є більш ефективною для лікування нейропатичного болю [12-17].

Можна передбачати у складі фармацевтичних композицій декстрометорфану процеси внутрішньомолекулярної взаємодії, утворення додаткових зв'язків при наявності активних функціональних груп. У процесі синтезу та напрацювання субстанції декстрометорфану утворюються побічні продукти реакцій, неприпустимі домішки, присутність яких впливає на якість субстанції. Важливе розширення кола інструментальних методів аналізу субстанції декстрометорфану, окрім тих методів, які рекомендовано Фармакопеями.

Декстрометорфан є оптичним ізомером левометорфану. Він не проявляє опіатних ефектів завдяки своїй оптичній активності. Зазвичай, декстрометорфан використовують для таблетованої лікарської форми, у формі гелю, мазі та суспензії.

При цьому, у якості додаткових компонентів можуть бути активні біологічні речовини, наприклад, використовують ацикловір. Під час проведення хроматографічних досліджень фармацевтичних композицій не коректно підібрані хроматографічні умови можуть призводити до деструкції ацикловіру, як додаткового компоненту компонентів.

Тому, актуальним завданням є підбір та адаптація хроматографічних умов при аналізі методом ВЕРХ, які дозволять захистити компоненти хімічної суміші та в подальшому ідентифікувати їх.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є підбір та адаптація хроматографічних умов, методик приготування розчинів при аналізі методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану з додатковим компонентом – ацикловіром, які дозволять захистити його хімічну структуру від деградації.

Завдання експериментального дослідження:

- розробити та адаптувати коректні умови хроматографування методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з додатковим компонентом – ацикловіром з метою визначення супровідних речовин та домішок та захисту структури ацикловіру від деградації;
- розробити методику хроматографування методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з додатковим компонентом – ацикловіром;
- 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 – Waters Xbridge C18, 250 мм x 4,6 мм, 5 мкм; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає розробці коректних умов хроматографування методою ВЕРХ фармацевтичної композиції

декстрометорфану з додатковим компонентом – ацикловіром, які дозволять захистити його хімічну структуру від деградації.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р.

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 – 25.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ФЕНАНТРЕНІЗОХІНОЛІНІВ

1.1. Особливості хімічної будови фенантренизохінолінів

За хімічною будовою декстрометорфан відноситься до класу гетероциклів з конденсованою полісистемою. За хімічною номенклатурою ІЮПАК має назву (+)-3-метокси-17-метил(9a,13a, 14a)-морфіан. Хімічна формула декстрометорфану зображена на (рис. 1.1.1).

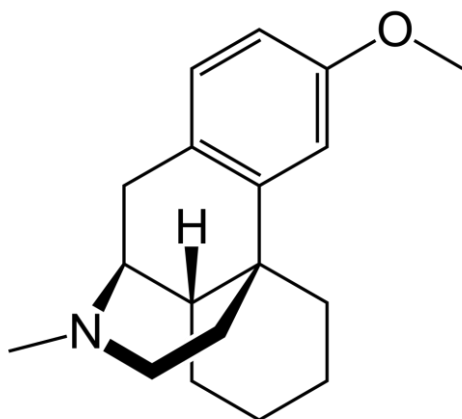


Рисунок 1.1.1. Хімічна формула декстрометорфану.

Кільце фенантренизохіноліну (основа – ізохінолін, бензоізохінолін) лежить в основі будови молекули декстрометорфану (рис. 1.1.2, 1.1.3).

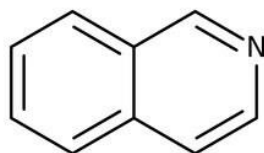


Рисунок 1.1.2. Хімічна формула ізохіноліну.

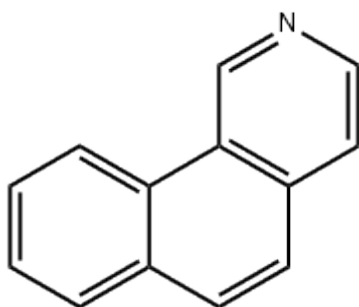


Рисунок 1.1.3. Хімічна формула бензоізохіноліну.

Морфін є похідним фенантрєну (рис.1.1.4). До синтетичних опіатів відносяться героїн, гідроморфон, гідрокодон і оксикодон. Кодеїн – метилморфін отримується метилуванням морфіну. Деякі аналоги морфіну є антагоністами опіодних рецепторів та можуть блокувати або усувати дію опіатів. Налоксон – це опіодний антагоніст, який синтезується шляхом заміни метильної групи на алілільну групу ($\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$).

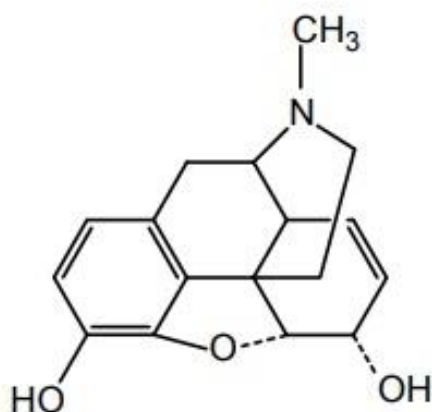


Рисунок 1.1.4. Хімічна формула морфіну.

Серед природних похідних фенантрєнізохіноліну є багато представників, які мають практичне застосування у медичній практиці (рис. 1.1.5): нарцеїн, носкапін, меконова кислота тощо.

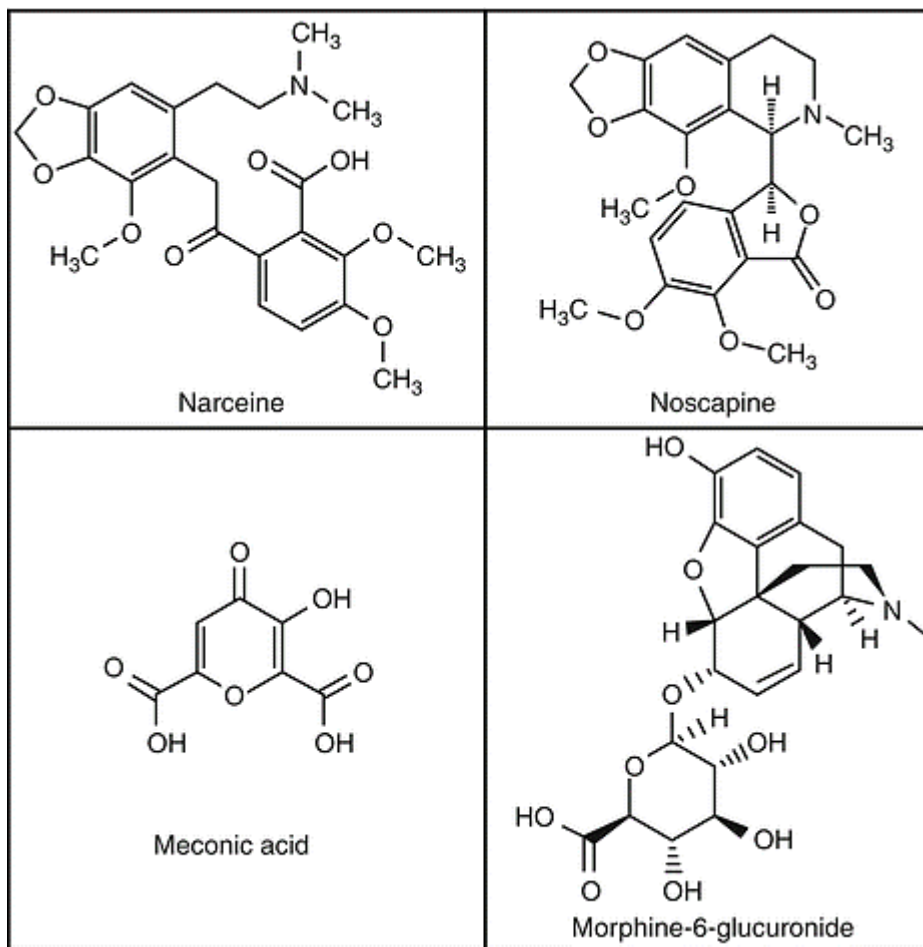


Рисунок 1.1.5. Похідні фенантренохіноліну.

1.2. Біологічна активність фенантренохінолінів

Морфін, гідрофільна похідна фенантренохіноліну, є прототипом опіоїду. Через свою гідрофільну природу він має сповільнений транспорт через гематоенцефалічний бар'єр.

Метаболізм морфіну до двох його основних метаболітів, М6Г і М3Г, відбувається головним чином у печінці. Метаболіт М6Г може спричинити аналгезію разом із побічними ефектами. М6Г становить 5% -15% метаболітів морфіну.

Метаболіт М3Г (50% із метаболітів морфіну) не має опіоїдного

агонізму, але викликає ефекти, які протидіють аналгетичній дії морфіну. Пероральний прийом морфіну призводить до утворення більш високих рівнів М3G і М6G, ніж при інших шляхах введення.

Хронічне введення морфіну призводить до високих циркулюючих рівнів метаболітів М3G і М6G. Пацієнти мають позитивний результат тесту на гідроморфон на токсикологічних скринінгах сечі.

Позапечінковий метаболізм морфіну відбувається в епітелії шлунку та кишківника. Глюкуроніди підлягають декон'югації до вихідної речовини. Метаболіти морфіну виводяться нирками. Накопичення М6G і М3G може бути токсичним.

Стерини — похідні циклопентанопергідрофенантрону, які утворюються на основі насиченого фенантрону, конденсованим із циклопентановим циклом.

Багато біологічно важливих сполук є похідними циклопентанопергідрофенантрону, включаючи статеві та адренкортикальні гормони, жовчні кислоти, вітамін D і стерини (рис.1.2.1).

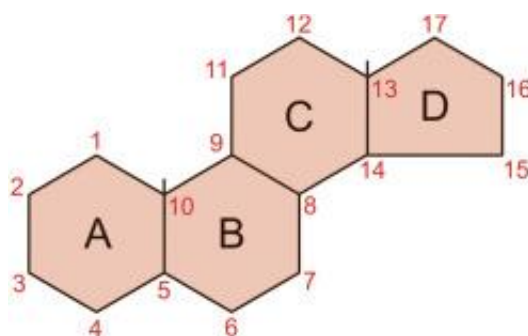


Рисунок 1.2.1. Формула стероїду.

Усі атоми Карбону циклопентанопергідрофенантрону розташовані в одній площині. Замісники можуть бути розташовані по обидва боки від площини – геометрична (цис-транс) ізомерія.

У циклопентанопергідрофенантеновому кільці є шість асиметричних Карбонових центрів. У природі зустрічаються лише ізомери в С5. У плоскій молекулі циклопентанопергідрофенантрону атом Гідрогену, бічні групи

розташовуються вище або нижче площини. Які розміщені вище – це β , а які розташовані нижче – це α .

Оксикодон є напівсинтетичним агоністом опіатів, отриманим з алкалоїду тебаїну. Оксикодон використовується для контролю помірною або сильного болю. Він доступний у вигляді таблеток із контрольованим вивільненням та у комбінації з аспірином або ацетамінофеном. Оксикодон — це контрольована речовина зі списку II, яка може призвести до зловживання, кримінального зловживання, подібна до морфіну.

Для класифікації опіоїдів використовуються три критерії. Внутрішня дії на рецептор: класифікують як часткові агоністи (бупренорфін), агоністи (морфін, кодеїн, метадон, фентаніл тощо), агоністи/антагоністи (буторфанол, налбуфін, пентазоцин і дезоцин) і антагоністи (налоксон, налтрексон, холецистокінін). Спорідненість з опіоїдними рецепторами: слабкі (кодеїн, пропоксифен) або сильні опіоїди. Походження: природні (морфін і кодеїн), напівсинтетичні, синтетичні сполуки. Опіум містить два різних типи алкалоїдів: фенантрен та бензилізохінолон. Похідними фенантрени є морфін, кодеїн і тебаїн. Алкалоїдами бензилізохінолону є папаверин і носкапін. Морфін складається з п'яти конденсованих циклів, має шість хіральних центрів на атомі Нітрогену та атомах Карбону 5, 6, 8, 9 і 13.

Модифікація функціональних груп дала початок створенню напівсинтетичним опіоїдам, діацетилморфіну, гідроморфону, оксиморфону, гідрокодону та оксикодону.

Синтетичні опіоїди створюють шляхом зменшення кількості злитих кілець на фенантреновій частині.

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

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ДЕКСТРОМЕТОРФАНУ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості декстрометорфану

Фенантренизохінолін та його похідні синтезують класичними та сучасними методами. До класичних методів синтезу фенантренив та поліциклічних гетероаренів з каталізом металами (рис. 2.1.1).

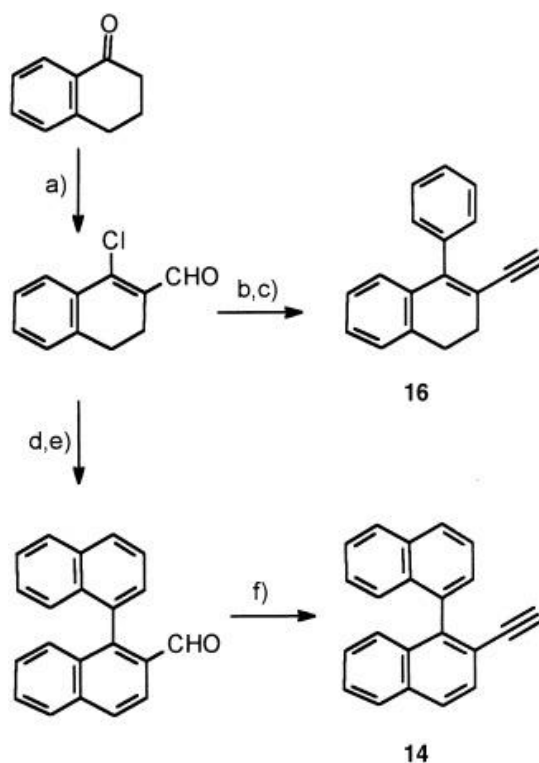


Рисунок 2.1.1. Синтез фенантренив та поліциклічних гетероаренів.
На рисунку 2.1.2 показано синтез фенантренових алкалоїдів.

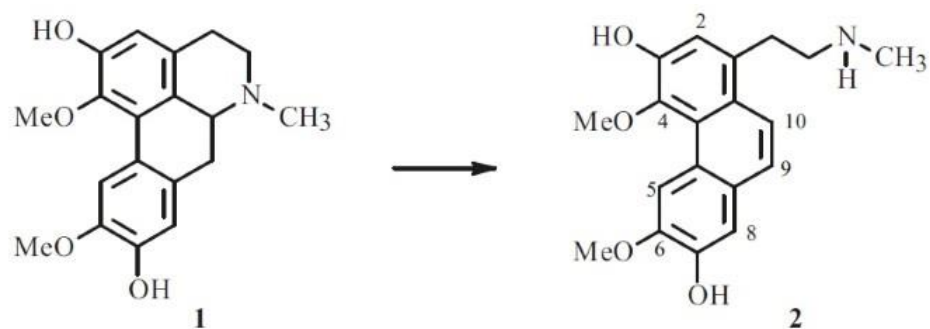


Рисунок 2.1.2. Синтез фенантренових алкалоїдів.

Асиметричний синтез хіральних нерацемічних ізохінолінових алкалоїдів демонструє широкий спектр структурної різноманітності, біологічної дії, фармацевтичної активності.

Застосовувалися діастереоселективні та енантіоселективні каталітичні методи. Використовують традиційні методи синтезу: Пікте–Шпенглера, Бішлера–Напіральського та Померанца–Фріча–Боббіта. Використовують методи, які засновані на замиканні нітрогеновмісного кільця ізохінолінового ядра. При цьому утворюються зв'язки між атоми C1–N2, N2–C3, C1–N2/N2–C3 і C1–N2/C4–C4a [18-21].

Також, використовують методи, які включають введення замісників при C1 ізохінолінового ядра, синтези із застосуванням різних біокаталітичних методів.

Природні продукти тетрагідроізохіноліну (ТНІQ) – це одне з найбільших сімейств алкалоїдів. Вони виявляють широкий спектр структурної модифікації та біологічної активності.

Хімічний синтез цих алкалоїдів та їх аналогів – простих натуральних продуктів ТНІQ та складних алкалоїдів trisТНІQ (ектеїнасцидини) був ретельно досліджений завдяки їх складним структурним особливостям і функціям. Описано загальну структуру та біосинтез кожної родини ТНІQ. Останні хімічні синтези базуються на використанні нового синтетичного дизайну, сучасної хімічної методології (рис. 2.1.3).

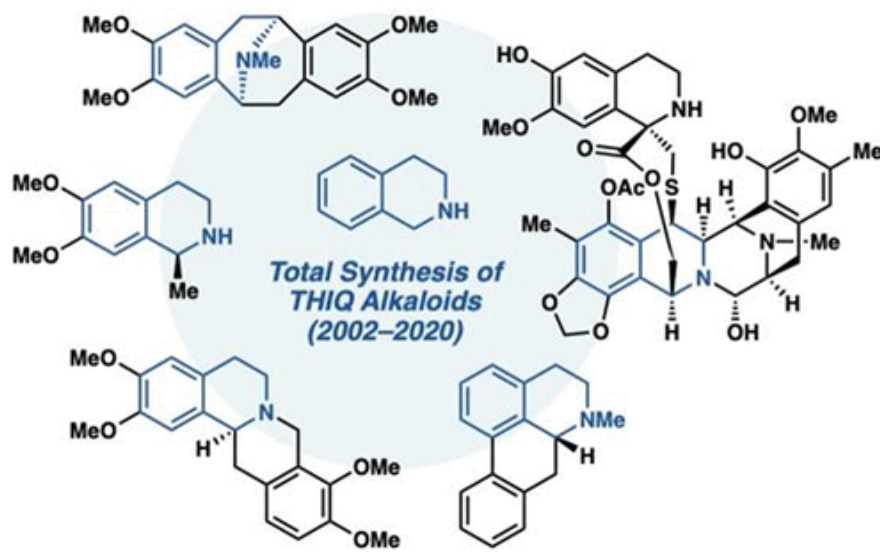


Рисунок 2.1.3. Синтез ТНІQ алкалоїдів.

Оскільки синтетичні стратегії відрізняються від біоміметичних підходів, вони забезпечують високоефективний шлях до комплексних алкалоїдів ТНІQ порівняно з попередніми синтезами. Описано хімічний синтез ряду алкалоїдів ТНІQ – салсолідін та естеїнасцидін, які відрізняються новими синтетичними підходами (рис. 2.1.4).

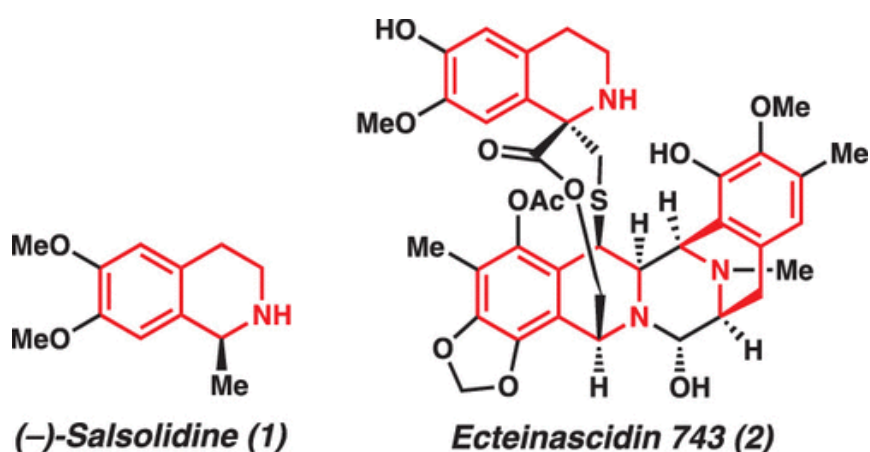


Рисунок 2.1.4. Структури ТНІQ алкалоїдів – салсолідін та естеїнасцидін.

Більшість алкалоїдів THIQ походять із родин кактусів *Cactaceae*, *Chenopodiaceae* та *Fabaceae*. Ці кактуси містять алкалоїди β-фенілетиламіну, прості тетрагідроізохіноліни із стереогенним центром у C1 з різними моделями окислення на ареновому кільці (рис. 2.1.5).

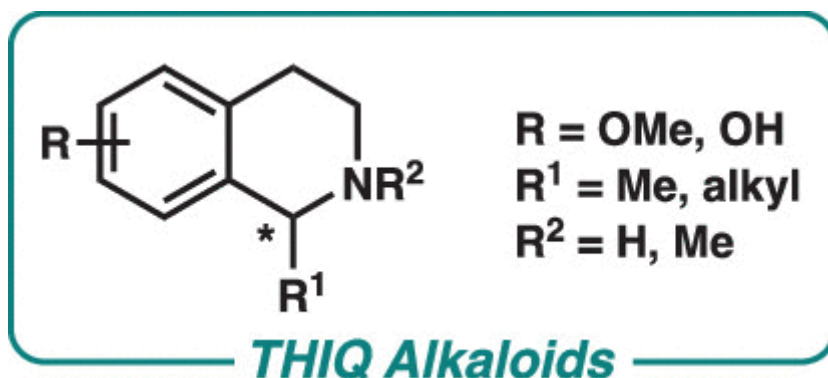


Рисунок 2.1.5. Структури THIQ алкалоїдів.

Біосинтез цих THIQ досягається шляхом конденсації відповідного β-фенілетиламіну з еквівалентом формальдегіду або ацетальдегіду. Така реакція забезпечує утворення тетрагідроізохінолінового фрагменту як єдиного енантіомеру. Вони містять функціональні групи, багатих на електрони на ареновому кільці для участі електрофільному ароматичному заміщенні. Це ключова стратегія створення гетероциклу як основного каркасу у молекулах природних THIQ.

Біосинтез алкалоїдів еритрину відбувається з норретикуліну як основного джерела.

Відбувається окислювальне з'єднання фенолу з утворенням проміжної сполуки, подальшим перегрупуванням, розкриттям кільця тетрагідроізохінолінового кільця. Утворюється дибензозоніну.

Було використано ¹³C-мічення, щоб вивчити наявність проміжної сполуки алільного катіону. Далі відбувається закриття кільця для доступу до скелета природного продукту. Однак специфічні ферменти не повністю з'ясовані [22-24].

На рисунку 2.1.6 представлена схема синтезу фенантренизохінолінових сполук – норретікулін, норісосалутарідін, ерітралін тощо.

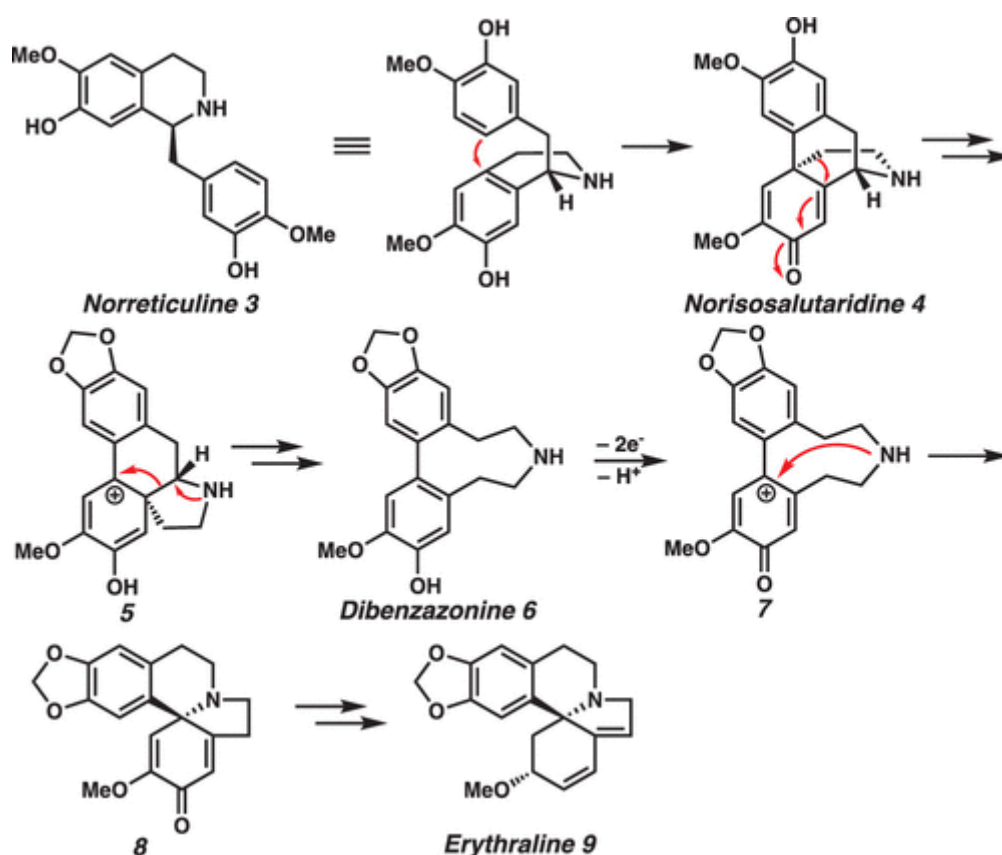


Рисунок 2.1.6. Схема синтезу фенантренизохінолінових сполук – норретікулін, норісосалутарідін, ерітралін тощо

Новий спосіб одержання гідроброміду декстрометорфану.

Метод має наступні три характеристики: нікель Рені як відновник замінюється борогідридод калію, рацемічна сполука ізохінолін октагідрид розкладається R-ібупрофеном як агентом розкладання, трихлорид алюмінію використовується для заміни фосфорної кислоти для циклізації.

Метод має переваги – низька вартість, помірні умови реакції, легкість (рис. 2.1.7).

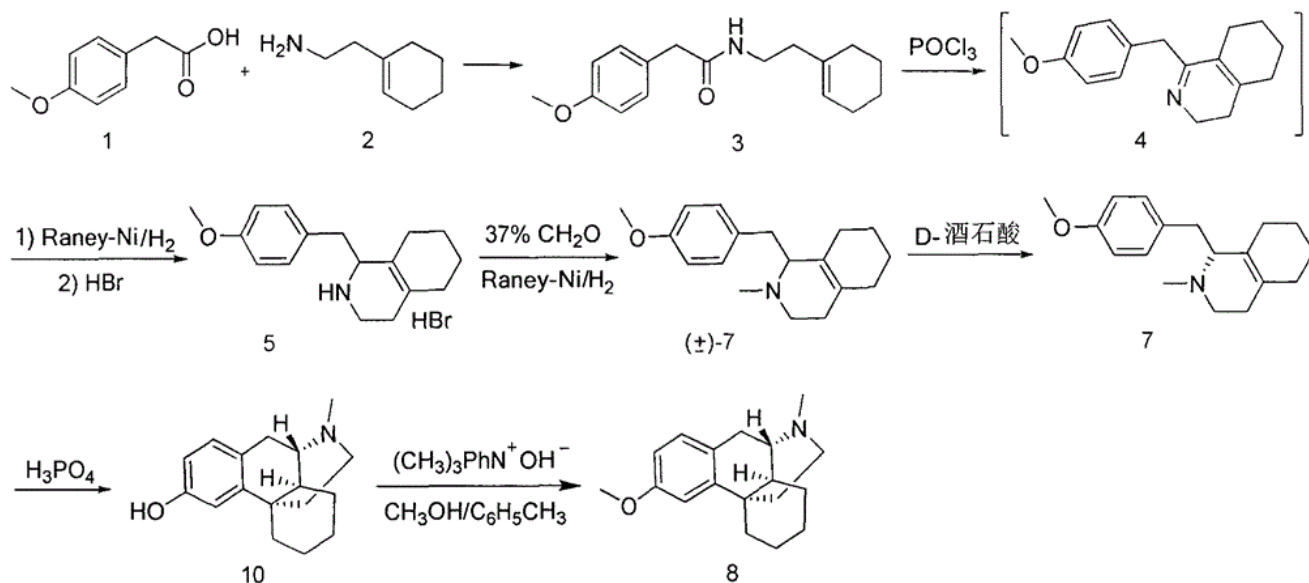


Рисунок 2.1.7. Схема синтезу гідроброміду декстрометорфану.

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

Це – реакція циклізації Бішлера-Напіральського. Потім проводиться гідрування при нормальному тиску при Реней-Ні каталізі. Дія бромоводню при підкисленні дає наступний продукт (сполука 5), яка реакцією з розчином формальдегіду, гідруванням за участі каталізатора Реней-Ні, утворює рацемічний N-метилат (±)-7, (±)-7. Він розщеплюється при дії D-тартрату. Утворюється сполука 7, яка під впливом 130-140 °C та у 75% розчині фосфорної кислоти та реакцією з гідроксиду триметилфеніламонію утворює кінцевий продукт – декстрометорфан HBr (у розчині толуену).

Рекомендоване використання каталітичне гідрування Реней-Ні. Цей каталізатор застосовують під час синтезу двічі. Також, важливе використання розчину фосфорної кислоти при циклізації сполуки 7. Вплив високотемпературної сильної кислоти має певні вимоги до блоку перетворення. Дані умови синтезу призначені для вдосконалення існуючих методів, спрощення методик синтезу та швидкого досягнення мети синтезу.

Циклізація Бішлера-Напіральського проходить на другій стадії синтезу сполуки під дією фосфору оксихлориду. Після відновлення, підкислення бромоводнем утворюється, що є цікавим, рацемічна суміш сполуки 5.

Як відновник, краще використовувати Борогідрид калію. На 3-й стадії реакції відбувається розщеплення продукту під дією R-ібупрофену ВР/ЕР (рис. 2.1.8).

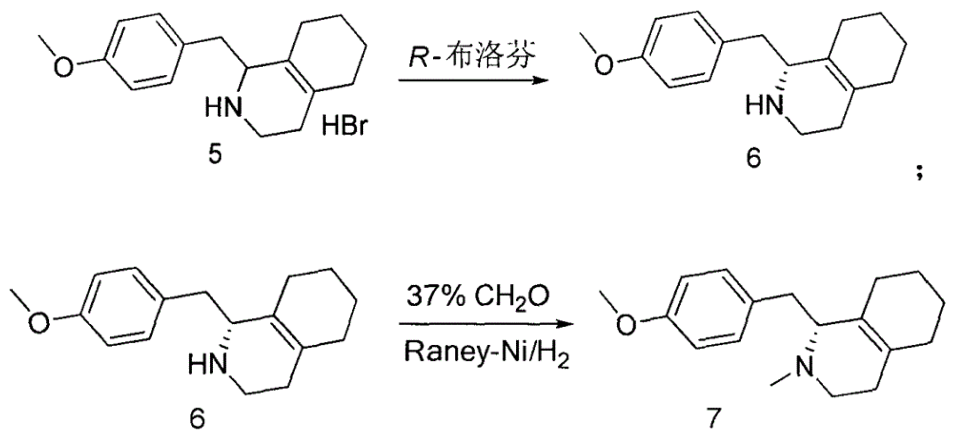


Рисунок 2.1.8. Стадії синтезу гідроброміду декстрометорфану.

Циклізація відбувається на 5-й стадії синтезу під дією кислоти Льюїса. Утворюється сполука 8, яка утворює моногідрат декстрометорфану гідроброміду після підкислення бромоводнем (рис. 2.1.9).

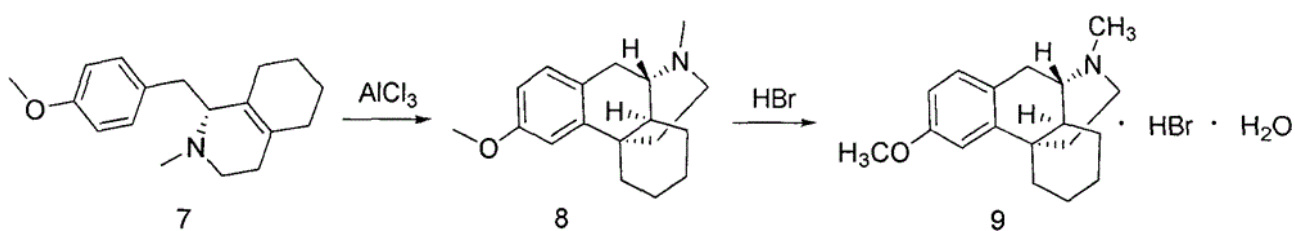


Рисунок 2.1.9. Кінцева стадія синтезу гідроброміду декстрометорфану.

Декстрометорфан ((+)-3метокси-17-метил(9а,13а, 14а)-морфінан). Може містити домішку ацикловіру у якості додаткового компоненту. Під час проведення хроматографічних досліджень субстанції не коректно підібрані

хроматографічні умови можуть призводити до деструкції ацикловіру, як додаткового компоненту компонентів.

Якщо розглядати Ацикловір як лікарську речовину – субстанцію для проведення фармацевтичного аналізу, то це – кристалічний порошок білого або майже білого кольору. М.м. 225,2. Його хімічна номенклатурна назва за ІЮПАК – 2-аміно-9-[(2-гідроксиетокси)-1,9-дигідро-6Н-пурин-6-он (рис.2.1.10).

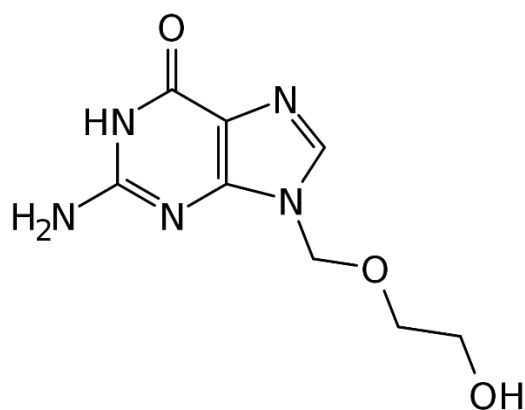


Рисунок 2.1.10. Хімічна формула ацикловіру.

Ацикловір субстанція мало розчинний у вода *P* та дуже мало розчинний у утанолі (96%) *P*. Субстанція не розчинна у гептані *P*. Розчинна у розведених розчинах неорганічних сполук – розчинах мінеральних кислот та гідроксидів лужних металів.

За ДФУ ацикловір ідентифікується методом абсорбційної ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), відповідністю спектру ФСЗ ацикловіру [25].

Ідентифікацію супровідних домішок субстанції ацикловіру проводять методом РХ (2.2.29). Використовують систему розчинників: ДМСО *P* – вода *P* (20 : 8). Готують два види фосфатних буферних розчина: з рН 2.5 та рН 3.1.

Рухома фаза А складається із ацетонітрилу *P* – фосфатного буферного розчину з рН 3.1 (1 : 99).

Рухома фаза В складається із ацетонітрилу *P* – фосфатного буферного розчину з рН 2.5 (50 : 50).

ІЧ-спектр ацикловіру (рис. 2.1.11). ІЧ-спектр ацикловіру (субстанції) містить нехарактеристичні помірні смуги деформаційних коливань δ_{NH} при 1565 см^{-1} , інтенсивні характеристичні смуги валентних коливань $\nu_{C=O}$ при 1708 см^{-1} . Подвійні $-C=C-$ зв'язки у циклічних системах підтверджуються характеристичними смугами $\nu_{C=C}$ при 3104 см^{-1} , а їх деформаційні коливання $\delta_{C=C}$ при $453-546\text{ см}^{-1}$. Зазвичай, валентні коливання $-C-C-$ зв'язків ароматичного ядра утворюють смуги при $1585-1600\text{ см}^{-1}$ та $1400-1500\text{ см}^{-1}$. На ІЧ-спектрі досліджуваної субстанції бачимо ці сигнали при $1434-1473\text{ см}^{-1}$ та $1400-1500\text{ см}^{-1}$. Ця область спектру містить сигнали від коливань різних функціональних груп, тому сигнали $-C-C$ зв'язків ароматичних циклів в цій області ідентифікувати складно. Коливання ν_{CH} ароматичних сполук знаходяться в області при 2931 см^{-1} . В ІЧ-спектрі спостерігаються інтенсивні смуги непласких деформаційних коливань $C-H$ в області $650-900\text{ см}^{-1}$.

Валентні коливання первинної аміно-групи та гідрокси-групи потрапляють у область 3376 см^{-1} . Сигнал уширений, інтенсивний.

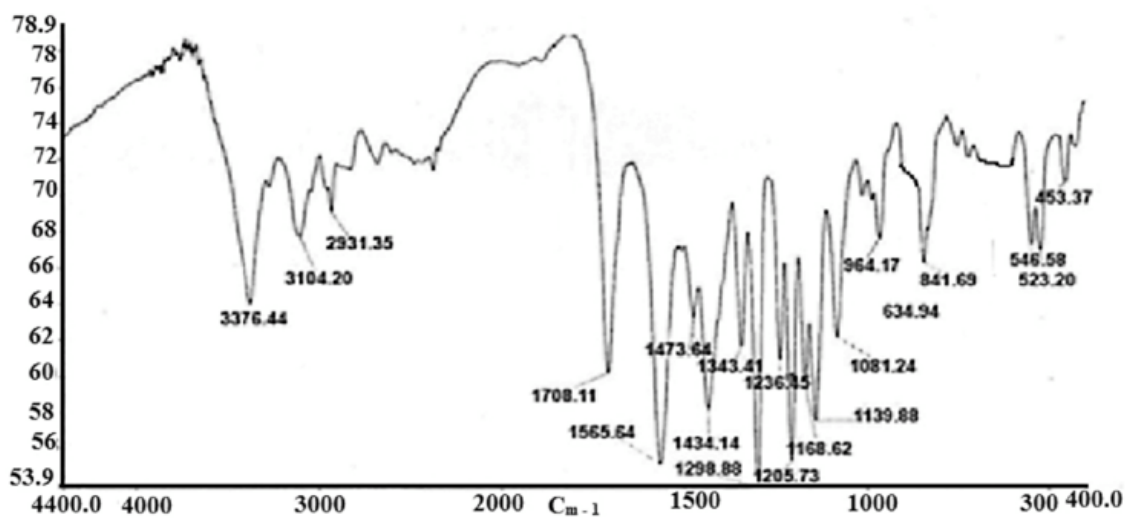


Рисунок 2.1.11. ІЧ-спектр ацикловіру.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України регламентує [25] аналіз ацикловіру субстанції. Однак, його не досліджували у складі субстанції декстрометорфану. В даній роботі така процедура виконується та описується вперше.

Ацикловір це синтетичний прототип речовини, який активується вірусною тимидинкіназою. Ацикловір є противірусним препаратом. Має селективну активність. Може діяти як антиметаболіт.

Ацикловір використовується для лікування інфекцій, викликаних вірусами.

Субстанція ацикловіру має різну розчинність у органічних та неорганічних розчинниках, у полярних та неполярних розчинах.

Температура плавлення субстанції 257°C.

Чистота. 98.5-101.0% (підтвердження методом ВЕРХ), структура (підтвердження методом ПМР).

Ідентифікація проводиться за методом ІЧ-абсорбційної спектрофотометрії, хроматографічним методом. Порівняння проводиться із стандартом ацикловіру CRS.

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

Детектування виконується УФ-спектрофотометрично при 254 нм.

Серед регламентованих ДФУ специфікованих та неспецифікованих домішок субстанції ацикловіру 15 речовин: А, В, С, F, G, J, I, K, L, M, N, O, P, Q, R.

При чому, проводять порівняння розташування піків всіх домішок А, В, F, G, J, K, N, O, P розташування піків домішок С та I.

ДФУ встановлюються ліміти та поправковий коефіцієнти на домішки:

- поправковий коефіцієнт на домішку I: 1.5
- ліміт для домішку В – 0.7%

- ліміт для домішок O, Q – 0.3%
- ліміт для домішок K, R- 0.2%
- ліміт для домішок A, G, J, K, N, P – 0.2%

ліміт для домішок C, F, I – 0.1%.

Для неідентифікованих домішок ліміт 0.05%, разом – 1.5%.

Домішки N, O – невідомої структури сполуки.

Контроль специфікованих домішок виконується методом РХ.

Нами проведено хроматографічне дослідження за допомогою методу ВЕРХ субстанції декстрометорфану із вмістом ацикловіру з метою розробки умов хроматографування та відповідних методик за умов одночасної присутності цих двох речовин у складі однієї субстанції, 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 (детектування – УФ при 254 нм), з колонкою – Waters Xbridge C18, 250 мм x 4,6 мм, 5 мкм.

Умови хроматографування:

- потік – 1,0 мл/хв;
- об'єм інжекції – 10 мкл;
- температура колонки – 25°C.

Методика приготування буферних розчинів:

Фосфатний буферний розчин з рН 3,1:

розчиняють 3,48 г дикалій гідроортофосфату в 1000мл води та доводять рН розчину до 3,1 за допомогою ортофосфорної кислоти.

Фосфатний буферний розчин з рН 2,5:

розчиняють 3,48 г дикалій гідроортофосфату в 1000мл води та доводять рН розчину до 2,5 за допомогою ортофосфорної кислоти.

Час хроматографування 56 хв.

Методика приготування розчинів рухомих фаз А, В:

Рухома фаза А – 1 об'єм ацетонітрилу для ВЕРХ і 99 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН 3,1.

Рухома фаза В – 50 об'ємів ацетонітрилу для ВЕРХ і 50 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН 2,5.

Гradient представлено у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1. Gradientи: рухома фаза А, рухома фаза В.

Час (хвилини)	Рухома фаза А (% v/v)	Рухома фаза В (% v/v)
0,0	100	0
5,0	100	0
27,0	80	20
40,0	80	20
46,0	100	0
55,0	100	0

Методика приготування випробувальних розчинів:

Розчин (1) (випробовуваний розчин): точну наважку зразку, еквівалентну 25 мг ацикловіру, поміщають у мірну колбу об'ємом 25 мл, додають 10 мл диметисульфоксиду, струшують протягом 2 хвилин, потім додають 10 мл суміші розчинників та розтоплюють зразок при температурі 60 °С протягом 10 хвилин з періодичним струшуванням та обробляють ультразвуком протягом 5 хвилин, дають охолонути при кімнатній температурі та доводять об'єм розчину до позначки сумішню розчинників. Фільтрують через фільтрувальний папір Whatman та аналізують.

Розчин (2): розводять 1 об'єм розчину (1) до 100 об'ємів сумішшю розчинників і фільтрують, далі розводять 1 об'єм отриманого розчину до 5 об'ємів сумішшю розчинників.

Розчин (3): розчиняють 5 мг фармакопейного стандартного зразка Державної фармакопеї України ацикловіру для перевірки придатності системи (містить домішки А, В, J, К, N, О та Р) в 1 мл диметилсульфоксиду, отриманий розчин розводять водою до об'єму 5,0 мл.

Розчин (4): розчиняють вміст флакона фармакопейного стандартного зразка Державної фармакопеї України. ацикловіру для ідентифікації піка 1 (містить домішки С та І) у 200 мкл диметилсульфоксиду, отриманий розчин розводять водою до об'єму 1,0 мл. Розчин готують безпосередньо перед використанням.

Розчин (5): розчиняють вміст флакона фармакопейного стандартного зразка Державної фармакопеї України. ацикловіру для ідентифікації піка 2 (містить домішки F та G) в 1,0 мл розчину (3).

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS.

Для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ використовували реактиви:

- ацетонітрил (чистоти для ВЕРХ),
- воду (чистоти для ВЕРХ),
- дикалію гідрофосфат,
- фосфорну кислоту.

Отримані результати.

При дослідженні стандартних зразків ДФУ, розчинів для ідентифікації та розчинів досліджуваних зразків отримано наступні результати (табл. 3.2-3.5).

Таблиця 3.2. Розчини для ідентифікації (4).

Розчин для ідентифікації (4)			
	<i>Imp C</i>	<i>Ацикловір</i>	R
	<i>RT</i>	<i>RT</i>	
	9,439	11,332	7,2

Розчини для ідентифікації (4):

Ацикловір

- значення R_t знаходиться при 11.332 хв;
- $R = 7.2$.

Домішка C

- значення R_t знаходиться при 9.439 хв;
- $R = 7.2$.

Таблиця 3.3. Розчини для ідентифікації (5).

Розчин для ідентифікації (5)						
	<i>Imp F</i>	<i>Imp A</i>	R	<i>Imp K</i>	<i>Imp G</i>	R
	<i>RT</i>	<i>RT</i>		<i>RT</i>	<i>RT</i>	
	22.314	24.133	8,6	29.577	31.147	7,2

Розчини для ідентифікації (4):

Домішка F

- значення R_t знаходиться при 22.314 хв;
- $R = 8.6$.

Домішка A

- значення R_t знаходиться при 24.133 хв;
- $R = 8.6$.

Домішка K

- значення R_t знаходиться при 29.577 хв;
- $R = 7.2$.

Домішка G

- значення R_t знаходиться при 31.147 хв;
- $R = 7.2$.

Таблиця 3.4. Розчини стандартних речовин.

	Стандарт 2 (1)		Стандарт 2 (2)	
	Ацикловір			
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	11,310	406,732	11,307	407,292
	11,294	406,518	11,302	408,627
	11,301	406,752		
Середнє	11,302	406,667	11,305	407,960
SD	0,008	0,130	0,004	0,944
RSD($\leq 2.0\%$)	0,07%	0,03%	0,03%	0,23%

Розчини стандартні:

Ацикловір, стандарт 2 (1):

- значення R_t знаходиться в інтервалі 11,294-11,310 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 11,302 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 406,518-406,752;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 406.667;
- SD R_t 0.008;
- SD Ar 0.130;
- RSD R_t ($< 2.0\%$) 0.07%;
- RSD Ar ($< 2.0\%$) 0.03%.

Ацикловір, стандарт 2 (2):

- значення R_t знаходиться в інтервалі 11,302-11,307 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 11,305 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 407,292-408,627;

- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 406.960;
- SD Rt 0.004;
- SD Ar 0.944;
- RSD Rt (<2.0%) 0.03%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.23%.

Таблиця 3.5. Розчини зразків.

	Зразок 1		Зразок 2	
	Ацикловір		Ацикловір	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	11,361	35999,784	11,299	35832,685
	11,386	35992,141	11,295	35742,489
	11,339	35993,076	11,283	35673,345
Середнє	11,362	35995,000	11,297	35787,587
SD	0,024	4,169	0,003	79,901
RSD(≤2.0%)	0,21%	0,01%	0,03%	0,22%

Розчини зразків:

Ацикловір, зразок 1:

- значення Rt знаходиться в інтервалі 11,339-11,389 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 11,362 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 35992,141-35999,784;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 35995.000;
- SD Rt 0.024;
- SD Ar 4.169;
- RSD Rt (<2.0%) 0.21%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.01%.

Ацикловір, зразок 2:

- значення Rt знаходиться в інтервалі 11,283-11,299 хв;

- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 11,297 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 35673,345-35832,685;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 35787.587;
- SD R_t 0.003;
- SD Ar 79.901;
- RSD R_t (<2.0%) 0.03%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.22%.

Таким чином, супровідні домішки ацикловіру не виявлені.

Хроматограми представлено на рисунках 3.1-3.4.

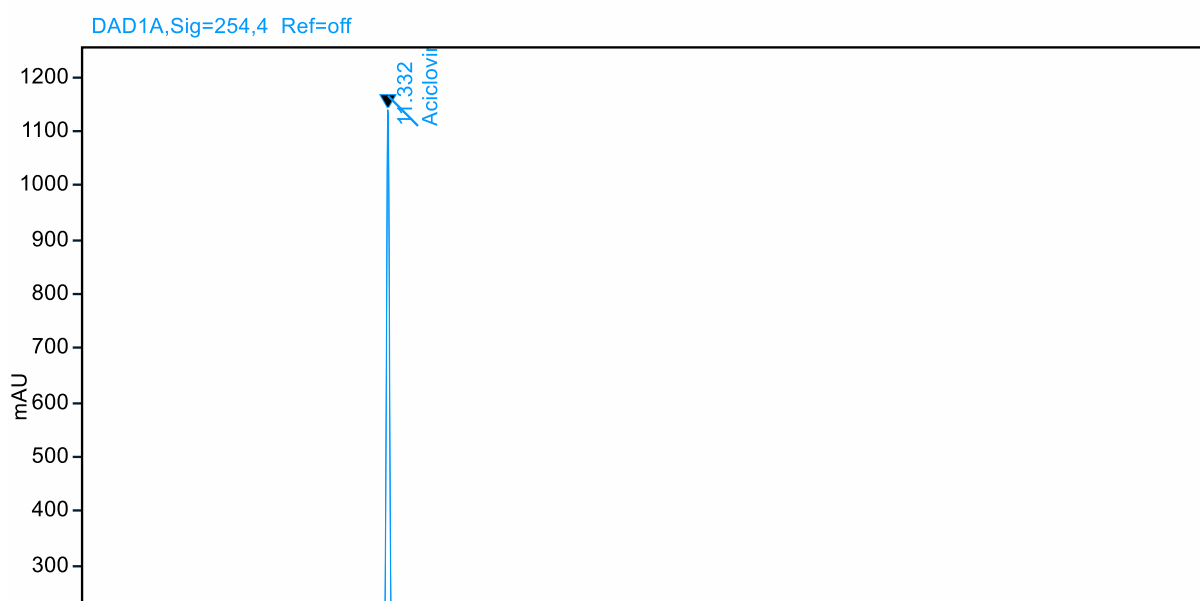


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного зразку (4) ацикловіру ($R_t=11,332$ хв), ідентифікованої домішки С ($R_t=9,439$ хв), ідентифікованої домішки І ($R_t=16,350$ хв).

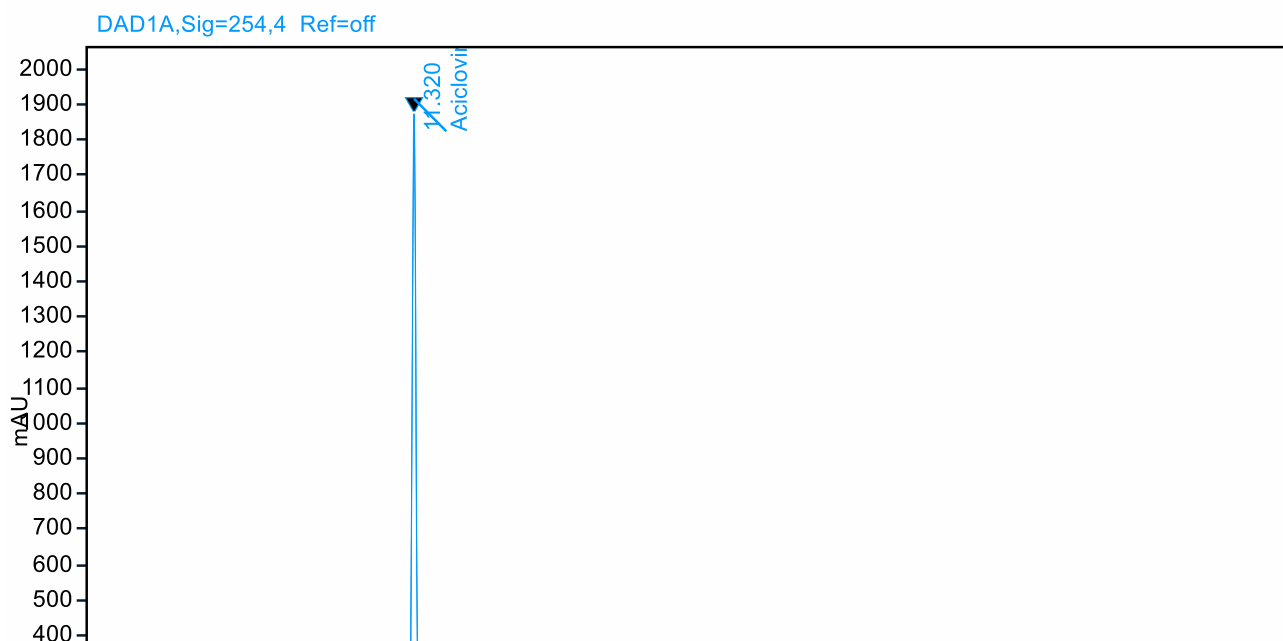


Рисунок 3.2. Хроматограма стандартного зразку (5) ацикловіру ($R_t=11,320$ хв), ідентифікованої домішки В ($R_t=4,421$ хв), ідентифікованої домішки Р ($R_t=7,564$ хв), ідентифікованої домішки І ($R_t=16,335$ хв), ідентифікованої домішки N ($R_t=16,925$ хв), ідентифікованої домішки F ($R_t=22,314$ хв), ідентифікованої домішки А ($R_t=24,133$ хв), ідентифікованої домішки К ($R_t=29,577$ хв), ідентифікованої домішки G ($R_t=31,147$ хв).

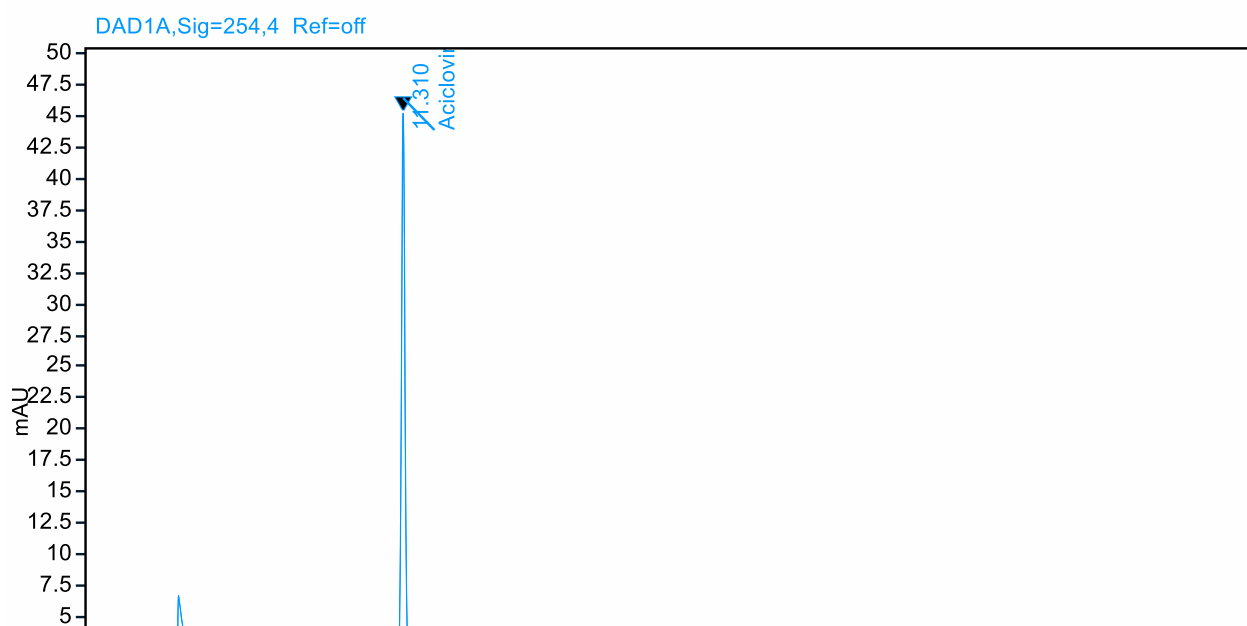


Рисунок 3.3. Хроматограма стандартного зразку (2) ацикловіру ($R_t=11,310$ хв), неідентифікована домішка у інтервалі 3-4 хв.

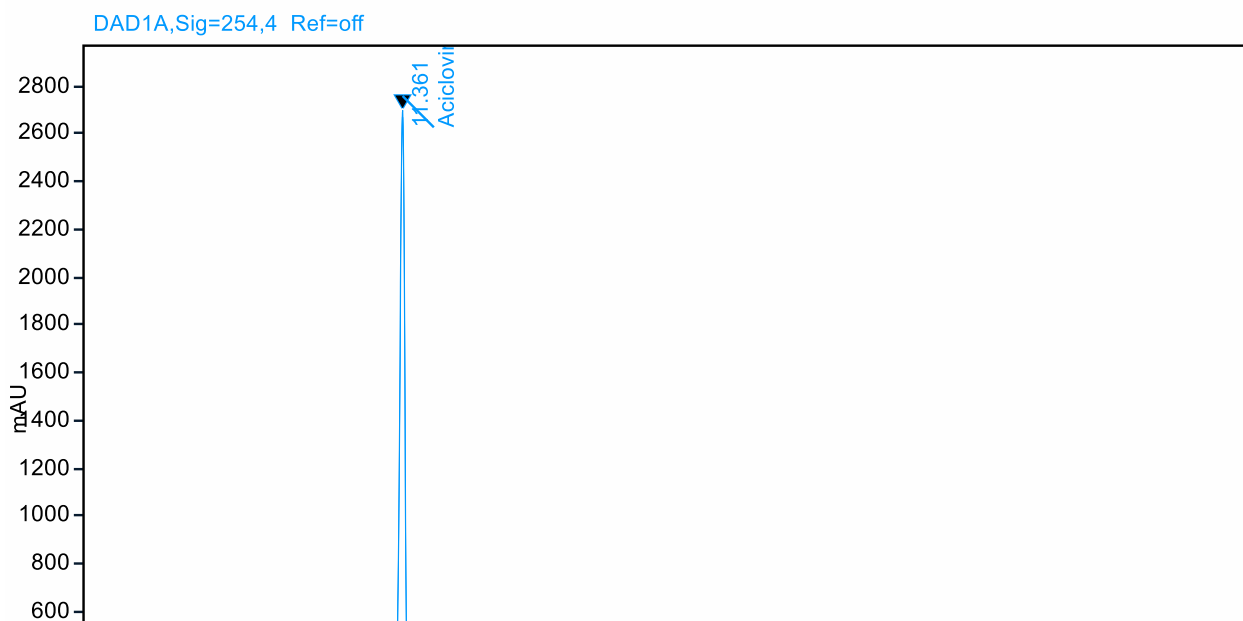


Рисунок 3.4. Хроматограма випробувального зразку ацикловіру (Rt=11,361 хв).

Ацикловір (зміни, що відбулися у хроматографічній картині):

Стандартний зразок 2(1)	Випробувальний зразок 1
значення Rt знаходиться в інтервалі 11,294-11,310 хв ;	значення Rt знаходиться в інтервалі 11,339-11,389 хв ;
середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 11,302 хв ;	середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 11,362 хв ;
площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 406,518-406,752 ;	площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 35992,141-35999,784 ;
середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 406.667 ;	середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 35995.000 ;
SD Rt 0.008;	SD Rt 0.024;
SD Ar 0.130;	SD Ar 4.169;
RSD Rt (<2.0%) 0.07%;	RSD Rt (<2.0%) 0.21%;
RSD Ar (<2.0%) 0.03%.	RSD Ar (<2.0%) 0.01%.

Сумарний вміст супутніх домішок не повинен перевищувати 1.5%. Ідентифікації підлягають супутні домішки, якщо концентрація домішок перевищує 0,1%.

Супровідні домішки досліджують хроматографічними методами та спектральними методами.

Концентрацію розчинів, кількість речовини при дослідженні зазначають у монографії на лікарську субстанцію. Результат випробування на домішки оцінюють у порівнянні з еталонними розчинами, згідно до вимог ДФУ.

При виконанні нашого дослідження були виявлені неспецифіковані та неідентифіковані домішки, що вплинуло на розташування піків на хроматограмах.

Таким чином, на хроматограмі стандарту значення R_t змістилося з інтервалу 11,294-11,310 хв до значень R_t до 11,339-11,389 хв.

На хроматограмі стандарту середнє значення R_t стандартів змістилося зі значення R_t 11,302 хв. до 11,362 хв.

На хроматограмі стандарту значення площина піка на хроматограмі змістилася з 406,518-406,752 до 35992,141-35999,784.

На хроматограмі стандарту середнє значення площини піку змістилося з 406.667 до 35995.000.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено та адаптовано умови хроматографічного дослідження методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з додатковим компонентом – ацикловіром з метою визначення супровідних речовин та домішок та захисту структури ацикловіру від деградації.
2. Розроблено методики для виконання хроматографування методом ВЕРХ, методики приготування випробувальних розчинів фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з додатковим компонентом – ацикловіром: *Фосфатний буферний розчин з рН 3,1*: розчиняють 3,48 г дикалій гідроортофосфату в 1000мл води та доводять рН розчину до 3,1 за допомогою ортофосфорної кислоти; *Фосфатний буферний розчин з рН 2,5*: розчиняють 3,48 г дикалій гідроортофосфату в 1000мл води та доводять рН розчину до 2,5 за допомогою ортофосфорної кислоти; *Рухома фаза А* – 1 об'єм ацетонітрилу для ВЕРХ і 99 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН 3,1; *Рухома фаза В* – 50 об'ємів ацетонітрилу для ВЕРХ і 50 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН 2,5.
3. Проведене хроматографічне дослідження методом ВЕРХ фармацевтичної композиції декстрометорфану субстанції з додатковим компонентом – ацикловіром, в результаті чого, виявлено, що хроматографічні умови та методики дослідження розроблено коректно, а пік ацикловіру розташовується з R_t у інтервалі 11,339-11,389 хв, порівняно із стандартним значенням R_t у інтервалі 11,294-11,310 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-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
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.

7. 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.
8. The Effect of Intrathecal Injection of Dextromethorphan on the Experimental Neuropathic Pain Model. Fahmi A, Aji YK, Aprianto DR, Widodo A, Asadullah A, Roufi N, Indriastuti DN, Subianto H, Turchan A. *Anesth Pain Med*. 2021 Jun 29;11(3):e114318. doi: 10.5812/aapm.114318. eCollection 2021 Jun. PMID: 34540637.
9. 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.
10. Expanding Role of NMDA Receptor Antagonists in the Management of Pain.
11. Kreuzwiser D, Tawfic QA. *CNS Drugs*. 2019 Apr;33(4):347-374. doi: 10.1007/s40263-019-00618-2. PMID: 30826987 Review.
12. 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.
13. 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.

14. 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
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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>

19. 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>
20. 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>
21. 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>
22. 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>
23. 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>
24. 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>

25. 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. 75-78.

SUMMARY

Gorai Tetyana
**DEVELOPMENT OF THE HPLC TECHNIQUE FOR STUDYING OF THE
PURITY OF THE DEXTROMETHORPHAN HYDROBROMIDE SUBSTANCE FOR
THE PRESENCE OF ACYCLOVIR IMPURITY**

The department of medicinal chemistry and toxicology

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

Keywords: acyclovir, dextromethorphan, HPLC, pharmaceutical analysis.

Introduction. Dextromethorphan is an antitussive. According to the chemical nomenclature, IUPAK is called (+)-3-methoxy-17-methyl(9a, 13a, 14a)-morphinan. The basis of the dextromethorphan molecule is the tetracyclic condensed aromatic system of phenanthreneisoquinoline, which contains benzene, cyclohexane and heterocycle rings. This medicine is used to relieve cough without sputum caused by certain respiratory tract infections, but it is not safe or effective for children. To reduce the risk of serious side effects, follow the dosage instructions. Dextromethorphan (DM) is a non-competitive N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor antagonist. The method of experimental research is the selection and adaptation of chromatographic conditions, the method of preparing solutions for HPLC analysis of the pharmaceutical composition of dextromethorphan with an additional component - acyclovir, which allows protecting its chemical structure from degradation.

Materials and methods. Research object are acyclovir, dextromethorphan substances, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of acyclovir, dextromethorphan. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector), column Waters Xbridge C18, 250x4,6x5; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The conditions of chromatographic research using the HPLC method of the pharmaceutical composition of dextromethorphan substance with an additional component - acyclovir were developed and adapted in order to determine accompanying substances and impurities and protect the structure of acyclovir from degradation. Techniques for performing HPLC chromatography, methods for preparing test solutions of the pharmaceutical composition of dextromethorphan substance with an additional component - acyclovir have been developed: Phosphate buffer solution with a pH of 3.1: dissolve 3.48 g of dipotassium hydroorthophosphate in 1000 ml of water and bring the pH of the solution to 3.1 using orthophosphoric acid.

Conclusions. A chromatographic study by the HPLC method of the pharmaceutical composition of the dextromethorphan substance with an additional component - acyclovir was carried out, as a result of which it was found that the chromatographic conditions and methods of the study were developed correctly, and the peak of acyclovir is located with R_t in the interval 11.339-11.389 min, compared to the standard value of R_t in the interval 11.294-11.310 min.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Вельчинська О.В., Мелешко Р.А., Горай Т.В. ДОСЛІДЖЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ДЕКСТРОМЕТОРФАНУ НА ПРИСУТНІСТЬ ДОМІШОК ГІДРОКОРТИЗОНУ ТА АЦИКЛОВІРУ МЕТОДОМ ВЕРХ. Тези доповіді на конференцію «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., стор. 409.



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.

