

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 «Субстанція похідного ацетаніламід у та особливості
фармацевтичного аналізу незадекларованих АФІ у її складі»

Виконав: здобувач вищої освіти 3 курсу, групи Б1А
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)

Кукса Віктор Вікторович

(прізвище та ініціали)

Керівник: проф., д.фарм.н. Вельчинська О.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: доцент, к.фарм.н. Негода Т.С.

(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 АЦЕТАНІЛАМІДІВ.....	9
1.1. Особливості хімічної будови ацетаніламідів.....	9
1.2. Біологічна активність ацетаніламідів.....	13
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ.....	18
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості парацетамолу.....	18
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	29
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
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

Hal – галоген

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

NAPQI – N-ацетил-пара-бензохінонімін

ВСТУП

Актуальність теми. Кора верби — джерело саліцину (саліцилатів), а кора хінної — джерело хініну, відомого як протималарійний засіб. Були відкриті два альтернативних препарати, ацетанлід і фенацетин, які стали використовуватися у медицині як жарознижуючі.

Ацетанлід (N-фенілацетамід) є ароматичною сполукою, яка має фенільне кільце, приєднане до ацетамідогрупи ($-\text{NHCOCH}_3$). У 1886 р. цей лікарський засіб було введено у медичну практику. Ацетанлід застосовується як болезаспокійливий та жарознижуючий засіб. Було виявлено багато похідних ацетанліду. Вони мають антимікробну, знеболюючу, протизапальну, жарознижувальну, антиоксидантну, протисудомну, протиракову, гіпоглікемічну та протималарійну дії.

Ацетанлід відіграє важливу роль у синтезі хімічних речовин як проміжні продукти та прекурсори.

Ацетамінофен є активним інгредієнтом у комбінації, у більш ніж 100 безрецептурних продуктів та лікарських засобів, що відпускаються за рецептом. Перше клінічне застосування ацетамінофену датується 1893 роком у якості ефективного жарознижуючого засобу у порівнянні із фармакологічними ефектами антипірину та фенацетину.

Пізніше ацетамінофен був знову відкритий як основний метаболіт фенацетину та ацетанліду в організмі людини.

Його випускали у комбінації з аспірином і кофеїном. У зв'язку із занепокоєння щодо побічних ефектів на ШКТ аспірину та метгемоглобінемії ацетанліду, підвищилася популярність ацетамінофену як безпечного жарознижуючого анальгетика.

Однак, стало відомо про гепатотоксичність ацетамінофену. Крім гепатотоксичності, були виявлені інші небажані ефекти: токсичність легенева, ниркова та ендокринна токсичність.

Крім сильної жарознижувальної та знеболювальної дії, ацетамінофен

виявляє слабку протизапальну дію.

Дослідження показують, що ацетамінофен знижує рівень метаболітів простагландинів у сечі. Він не зменшує синтез простагландинів тромбоцитами або слизовою оболонкою шлунка.

Ацетамінофен є слабким інгібітором як циклооксигенази-1 (ЦОГ-1), ЦОГ-2, пригнічує ЦОГ-3 *in vitro* [1-5].

Парацетамол (ацетамінофен) має хімічну номенклатурну назву за ІЮПАК 4'-гідрокси-ацетанлід; *para*-ацетамінофенол; ацетофен; *para*-ацетиламідофенол; N-ацетил-*para*-амінофенол; *para*-ацетиламінофенол; пара-гідроксіяцетанлід; N-*para*-гідроксифенілацетамід.

Парацетамол використовується як безпечний і жарознижуючий лікарський засіб. Він відноситься до кращих альтернативних анальгетиків, якщо порівнювати з аспірином. Особливо це важливо для пацієнтів із порушеннями згортання крові, людей з виразковою хворобою в анамнезі, хто не переносить аспірин, для дітей. Парацетамол вперше був використаний у клінічній медицині в 1893 році. Традиційна пероральна доза парацетамолу для дорослих становить 500–1000 мг. Дозування можна повторювати кожні 4 години. Загальна добова доза не повинна перевищувати 4000 мг. Для дітей – це рекомендована доза 10–15 мг/кг маси тіла. Не рекомендується тривале застосування парацетамолу (більше 10 днів) [6-12].

Парацетамол є метаболітом фенацетину. Проведено дослідження канцерогенності фенацетину, доведено, що токсичність має парацетамол, як метаболіт фенацетину. Некроз печінки після введення парацетамолу вперше був зареєстрований у щурів. Ознаками некрозу є гідропічна вакуолізація, центрілобулярний некроз, інфільтрація макрофагами та регенеративна активність. Токсичні ефекти у собак і кішок, які отримували одноразову пероральну дозу парацетамолу, включали печінкову центрілобулярну патологію у собак, а коти, у яких не відбувається кон'югація екзогенних сполук у організмі, мали більш дифузні патологічні зміни печінки.

Гепатотоксичний ефект досліджували гістологічно. Спостерігалася важка хронічна гепатотоксичність із центрілобулярною гепатоцитомегалією, цирозом, некрозом гепатоцитів. Спостерігали макроскопічно та мікроскопічно деформовану печінку з обширним лобулярним колапсом, лімфоїдною агрегацією у портальних шляхах. Були описані ультраструктурні зміни в печінці щурів, які отримували парацетамол. Гістопатологічний огляд зрізів печінки мишей В6С3F1, які отримували парацетамол у дозі 3000, 6000 або 12 500 мг/кг вказав на важку форму ураження печінки з центрілобулярним некрозом [13-22]. Таким чином, Парацетамол є токсичною лікарською речовиною. Контроль якості цього лікарського засобу і субстанції повинен проводитися високотехнологічними інструментальними методами. Висока якість парацетамолу є важливою для захисту здоров'я та життя пацієнтів.

Парацетамол є високоактивною функціональною органічною сполукою. Молекула містять фармакофорні угруповання, функціональні групи – аміно групу, ареновий цикл, гідрокси групу, ацето-групу. Молекулі притаманна делокалізація електронної густини та її стабільність. Під час синтезу субстанції, неповного її очищення, міжмолекулярної взаємодії можливе утворення супровідних речовин, домішок, продуктів міжмолекулярних реакцій. Важливим завданням фармацевтичного аналізу парацетамолу є використання у її фармацевтичному аналізі сучасних інструментальних методів та розширення кола фізико-хімічних методів.

Актуальним завданням роботи є розробка хроматографічних умов при дослідженні субстанції парацетамолу методом ВЕРХ, методик пробопідготовки зразків при виконанні досліджень, які дозволять зробити коректні висновки щодо присутності у субстанції незадекларованих АФІ.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка умов хроматографування методом ВЕРХ та методик дослідження зразку субстанції парацетамолу з метою виявлення у субстанції незадекларованих АФІ.

Завдання експериментального дослідження:

- розробити умови хроматографування методом ВЕРХ субстанції парацетамолу;
- розробити методики хроматографування методом ВЕРХ субстанції парацетамолу;
- провести хроматографічні дослідження зразків субстанції парацетамолу у порівнянні зі стандартними зразками та інтерпретувати результати досліджень.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – ZORBAX Eclipse Plus C18 з розмірами 150x4,6x3,5; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у розробці умов та методик досліджень методом ВЕРХ субстанції парацетамолу з метою виявлення незадекларованих АФІ.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «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.

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 – 24.

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ АЦЕТАНІЛАМІДІВ

1.1. Особливості хімічної будови ацетаніламідів

Синтез ацетаніліду та фенацетину відкрили шлях до відкриття парацетамолу. Структурна спорідненість цих препаратів показана на рисунку 1.1.1.

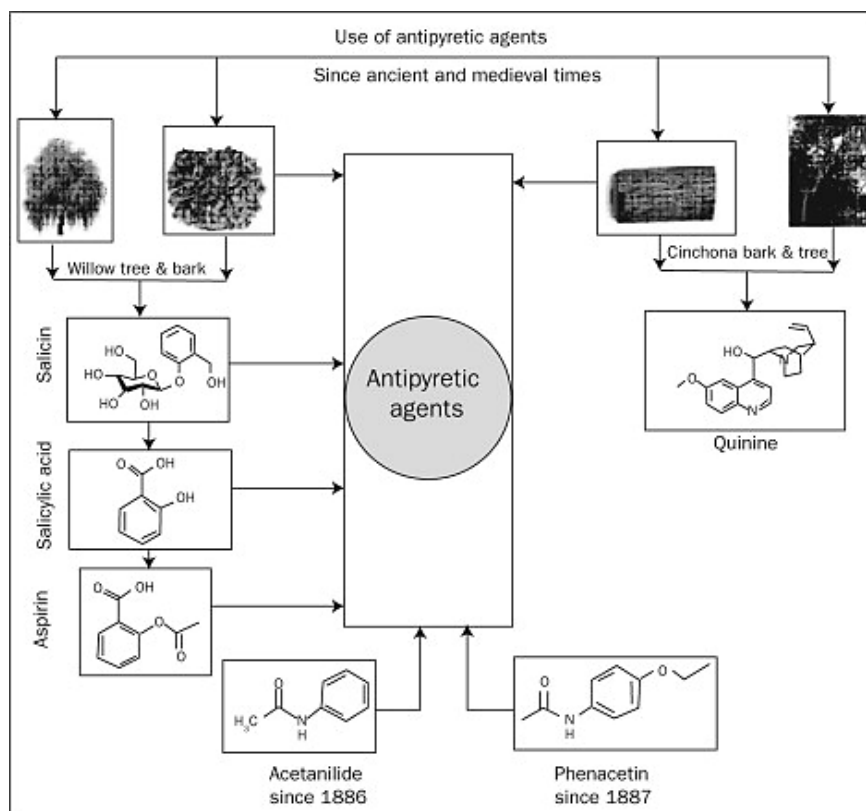


Рисунок 1.1.1. Хімічна спорідненість парацетамолу, ацетаніліду та фенацетину.

Парацетамол (ацетамінофен) має хімічну номенклатурну назву за ІЮПАК 4'-гідрокси-ацетанілід або *para*-ацетамінофенол. Має ароматичну структуру (рис. 1.1.2).

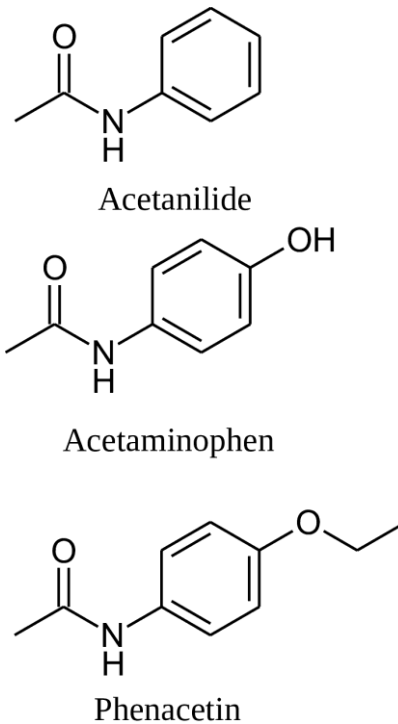


Рисунок 1.1.2. Хімічна структура парацетамолу, ацетаніліду та фенацетину.

На рисунку 1.1.3 представлені однакові фрагменти у молекулах фенацетину, парацетамолу та ацетаніліду, а також ті фрагменти молекул, які відрізняються. Однак, видно, що структурний каркас молекул цих сполук є однаковим.

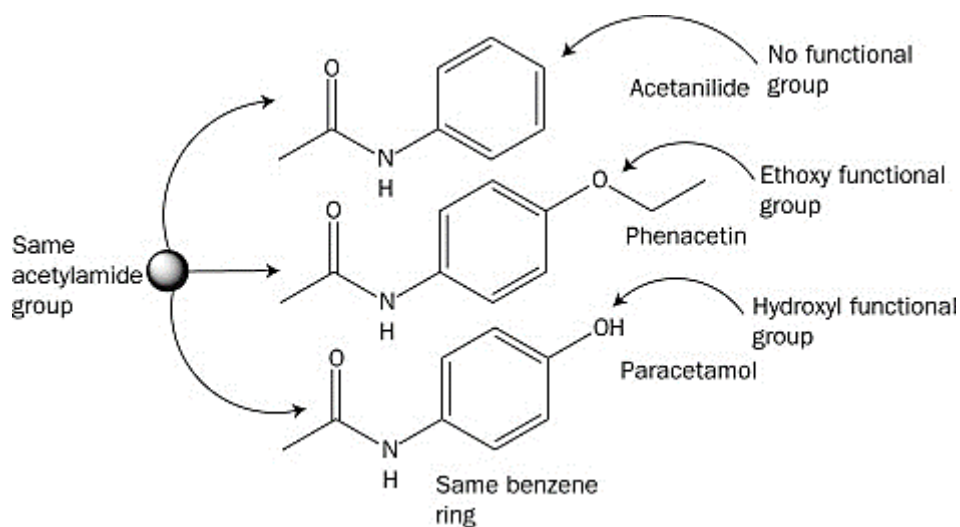


Рисунок 1.1.3. Однаковий структурний каркас у молекулах парацетамолу, ацетаніліду та фенацетину.

Ацетанлід та фенацетин були ефективними для зниження температури, але вони мали високу частоту токсичних побічних ефектів. Ацетанлід є більш токсичним, викликав ціаноз в результаті метгемоглобінемії.

Синтезували парацетамол шляхом відновлення п-нітрофенолу за допомогою олова та льодяної оцтової кислоти.

Один із основних метаболітів ацетанліду був ідентифікований у сечі як парацетамол. Ці результати метаболічного парацетамолу були виявлені в сечі пацієнта, який приймав фенацетин.

Вчені дійшли висновку, що парацетамол, на відміну від фенацетину, викликає метгемоглобінемію.

Публікації Броді та Аксельрода про ацетанлід переконали наукове співтовариство, що парацетамол – це основний метаболіт ацетанліду, що відповідальний за жарознижувальну та знеболювальну дію ацетанліду.

Однак, анілін – ще один метаболіт ацетанліду відповідає за утворення метгемоглобіну. Дослідження з фенацетидином підтвердили, що фенацетидин є про-ліками. Він діє через парацетамол (рис. 1.1.4).

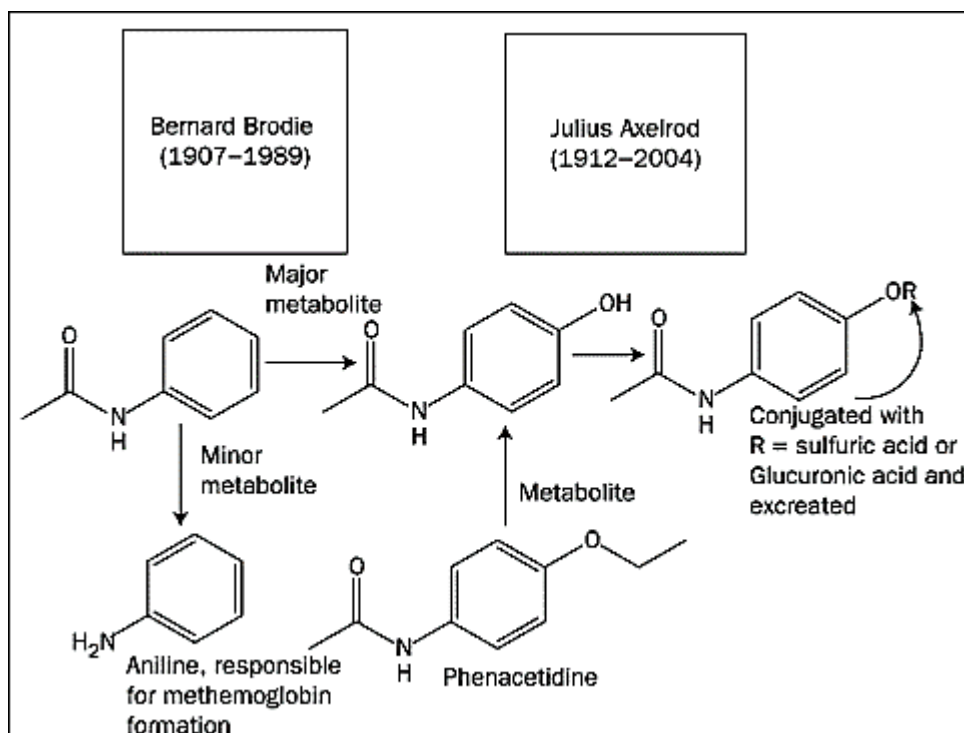


Рисунок 1.1.4. Резюме по парацетамолу (Броді, Аксельрод).

Особливо важливою є хімічна реакційна здатність аміногрупи, пов'язана з *para*-положенням ацетанілідного фрагмента (п-аміноацетаніліду). *para*-аміноацетанілід використовують в синтезі азосполук, піролу, імідазолу, тіазолу, різних гетероциклів біологічного значення (рис. 1.1.5).

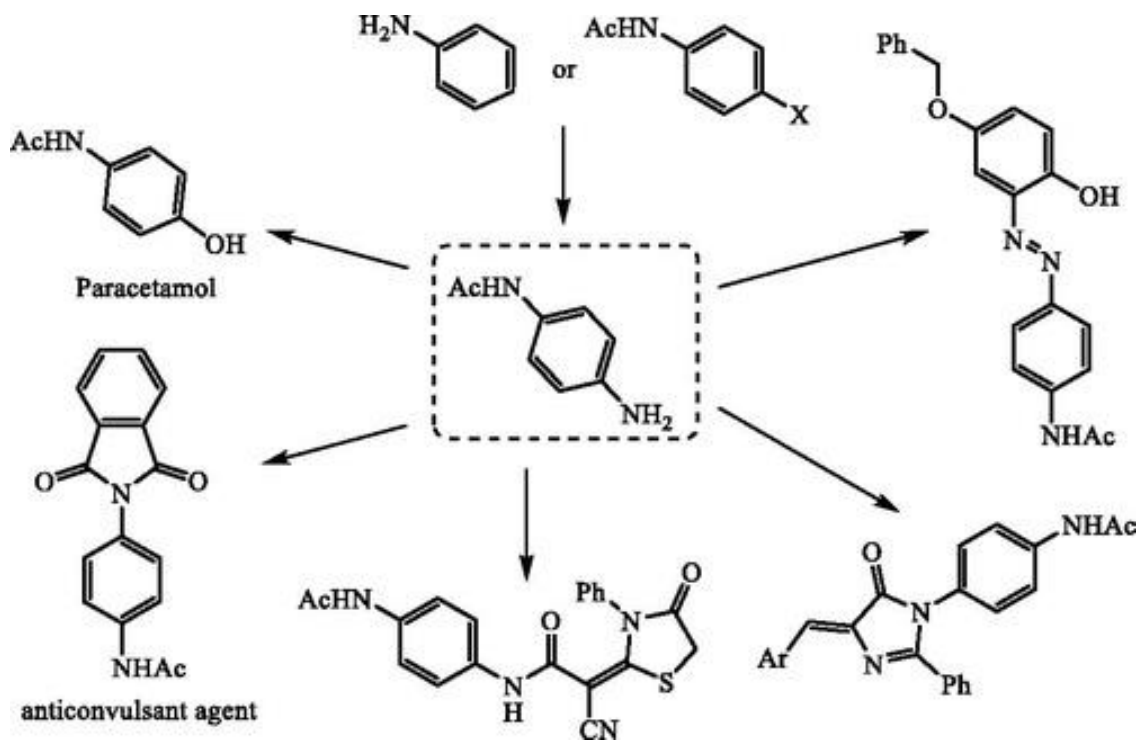


Рисунок 1.1.5. Використанні пара-аміноацетаніліду.

Знеболювальні властивості парацетамолу були відкриті випадково, коли ацетанілід додали до рецепту пацієнта. Оскільки ацетанілід токсичний у помірних дозах, змінили його структуру, з метою пошуку менш токсичної сполуки.

При цьому сполука повинна зберігати знеболюючі властивості. Однією з цих сполук є N-ацетил-пара-амінофенол. Він відомий як ацетамінофен або парацетамол. Використовують його у комбінації із кодеїном (рис. 1.1.6).

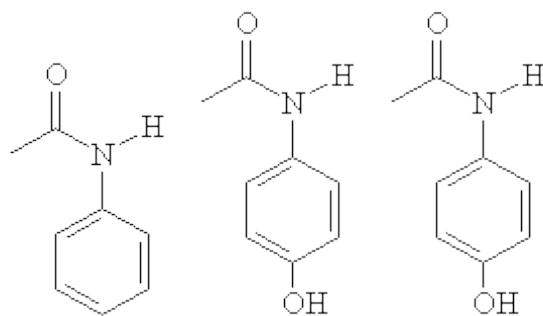


Рисунок 1.1.6. Подібність структури Ацетаніліду, Парацетамолу та Аніліну.

Парацетамол є препаратом вибору, якщо необхідно знизити температуру. Було недостатньо досліджень щодо його жарознижуючих властивостей, особливо у дорослих.

Переваги парацетамолу у лікуванні лихоманки в загальній практиці не доведено. При застосуванні під час застуди парацетамол може полегшити закладеність носа, нежить. Інші симптоми застуди – біль у горлі, нездужання, чхання, кашель парацетамол може не подлати. У пацієнтів у реанімації парацетамол знижував температуру тіла лише на 0,2–0,3 °С.

Отримано суперечливі результати щодо застосування парацетамолу при сепсисі. Повідомлялося про вищу смертність, нижчу смертність і відсутність змін у смертності.

Парацетамол не приніс жодної користі при лікуванні лихоманки денге. Він призвів до більш високого ступеню підвищення рівня печінкових ферментів: потенційного пошкодження печінки. Немає жодної інформації щодо регулярного призначення жарознижуючих препаратів, та парацетамолу госпіталізованим пацієнтам із лихоманкою та інфекцією.

Ефективність парацетамолу у дітей з лихоманкою не описана. Парацетамол не можна застосовувати тільки з метою зниження температури тіла. Це можна розглядати для дітей з лихоманкою.

Парацетамол не запобігає фебрильним судомам, він не повинен використовуватися з цією метою. Зниження температури тіла на 0,2 °С у дітей після стандартної дози парацетамолу викликає сумніви.

Мета-аналізи показали, що парацетамол менш ефективний, ніж ібупрофен. Загострення астми відбувається з однаковою частотою для обох препаратів. Одночасне застосування парацетамолу та ібупрофену дітям віком до 5 років не рекомендується.

Парацетамол використовується для полегшення легкого та помірного болю: головний біль, біль у м'язах, незначний біль при артриті, зубний біль, а також біль, спричинений застудою, грипом, розтягненнями та дисменореєю. Рекомендується застосування парацетамолу при гострому легкому або помірному болю. Доказів для лікування хронічного болю парацетамолом недостатньо.

1.2. Біологічна активність ацетаніламідів

Шлунково-кишкові побічні ефекти (нудота, біль у животі) є поширеними. Їх частота така ж, як і ібупрофену. Препарат може викликати рідкісні та смертельні шкірні реакції – синдром Стівенса-Джонсона, токсичний епідермальний некроліз.

Повторні тести та аналіз фармаконагляду вказують на ризик цих захворювань. реакції.

У клінічних дослідженнях остеоартриту при прийомі парацетамолу повідомлялося про побічні ефекти, подібні до тих, хто отримував плацебо.

Аномальні показники функції печінки (деяке запалення, пошкодження печінки) були в чотири рази більші у тих пацієнтів, які приймали парацетамол. Однак, клінічне значення цього ефекту невизначено.

Після 13 тижнів терапії парацетамолом для лікування болю в колінах у 20% учасників спостерігалось зниження рівня гемоглобіну. Це вказувало на шлунково-кишкову кровотечу. Цей показник був подібним до групи ібупрофену.

Через відсутність контрольованих досліджень більшість інформації про безпеку парацетамолу надходить із обсерваційних джерел.

Це вказує на постійну картину збільшення смертності. Також, спостерігаються серцево-судинні (інсульт, інфаркт міокарда), шлунково-кишкові (виразки, кровотечі), ниркові побічні ефекти при збільшенні дози парацетамолу.

Застосування парацетамолу пов'язане з вищим ризиком пептичної виразки. Ті, хто регулярно приймає парацетамол у дозах більше 2–3 г на день, мають вищий ризик (у 4 рази) шлунково-кишкових кровотеч, інших кровотеч. Мета-аналіз показує, що парацетамол може збільшити ризик порушення функції нирок, раку нирок на 28%.

Парацетамол небезпечний для печінки при передозуванні. Навіть без передозування може розвинутися гостра печінкова недостатність, що потребує трансплантації печінки. Це відбувається частіше, ніж у користувачів нестероїдних протизапальних препаратів.

Парацетамол незначно підвищує артеріальний тиск і частоту серцевих скорочень. Більшість досліджень свідчать про те, що при тривалому застосуванні цей лікарський засіб може збільшити ризик розвитку гіпертензії. Це рідтверджено в проспективному рандомізованому дослідженні. Ризик стає вищий із вищою дозою.

Зв'язок між вживанням парацетамолу та астмою у дітей не встановлено повністю. Останні дослідження показують, що такий зв'язок відсутній. Частота загострень астми у дітей після парацетамолу така ж, як і після іншого препарату, наприклад, болезаспокійливого ібупрофену.

Передозування парацетамолу спричинене прийомом понад рекомендованої максимальної добової дози для дорослих (3,0-4,0 грами). Це може спричинити потенційно смертельне пошкодження печінки. Разова доза не повинна перевищувати 1000 мг.

У той час як більшість випадків передозування у пов'язано зі суїцидом, є випадкові передозування – вживання більш ніж одного продукту, що містить парацетамол.

Токсичність парацетамолу є головною причиною гострої печінкової недостатності. Передозування парацетамолу призводить до більшої кількості звернень до токсикологічних центрів, ніж передозування іншої фармакологічної речовини. За даними FDA: «56 000 звернень до відділення невідкладної допомоги, 26 000 госпіталізацій і 458 смертей» пов'язані з передозуванням ацетамінофену протягом

Передозування пов'язане з рекреаційним використанням високих доз опіоїдів, оскільки ці опіоїди найчастіше поєднуються з парацетамолом. Ризик передозування може підвищуватися через вживання алкоголю.

Передозування парацетамолу без лікування призводить до тривалої болісної хвороби.

Ознаки та симптоми отруєння парацетамолом можуть спочатку бути відсутніми, проявлятися неспецифічними симптомами.

Перші симптоми передозування: з нудотою, блювотою, пітливістю та болем, починається гостра печінкова недостатність. При цьому, немає сонливості та втрати свідомості.

Парацетамол метаболізується у печінці. Головним чином – це шлях глюкуронізації та сульфатування, а потім метаболіти виводяться із сечею. Лише 2-5% препарату виводиться в незміненому вигляді з сечею.

На глюкуронізацію UGT1A1 і UGT1A6 припадає 50–70% метаболізму. 25–35% парацетамолу перетворюються на сульфат ферментами сульфатування SULT1A1, SULT1A3 і SULT1E1.

Незначний метаболічний шлях (до 15%) окислення ферментами цитохрому P450 (CYP2E1) утворює токсичний метаболіт – NAPQI (N-ацетил-п-бензохінонімін).

NAPQI відповідає за печінкову токсичність парацетамолу.

При звичайних дозах парацетамолу NAPQI детоксикується шляхом кон'югації з глутатіоном.

Нетоксичний кон'югат APAP-GSH поглинається жовчю, розкладається

до меркаптурових і цистеїнових кон'югатів, які виводяться з сечею.

При передозуванні глутатіон виснажується великою кількістю утвореного NAPQI. Метаболіт NAPQI зв'язується з білками мітохондрій клітин печінки, викликає окислювальний стрес і токсичність.

Ще одним важливим напрямком метаболізму є деацетилювання 1–2 % парацетамолу з утворенням *p*-амінофенолу. *p*-амінофенол перетворюється в мозку гідролазою амідів жирних кислот в AM404. Ця сполука може бути частково відповідальною за знеболювальну дію парацетамолу (рис. 1.1.7)

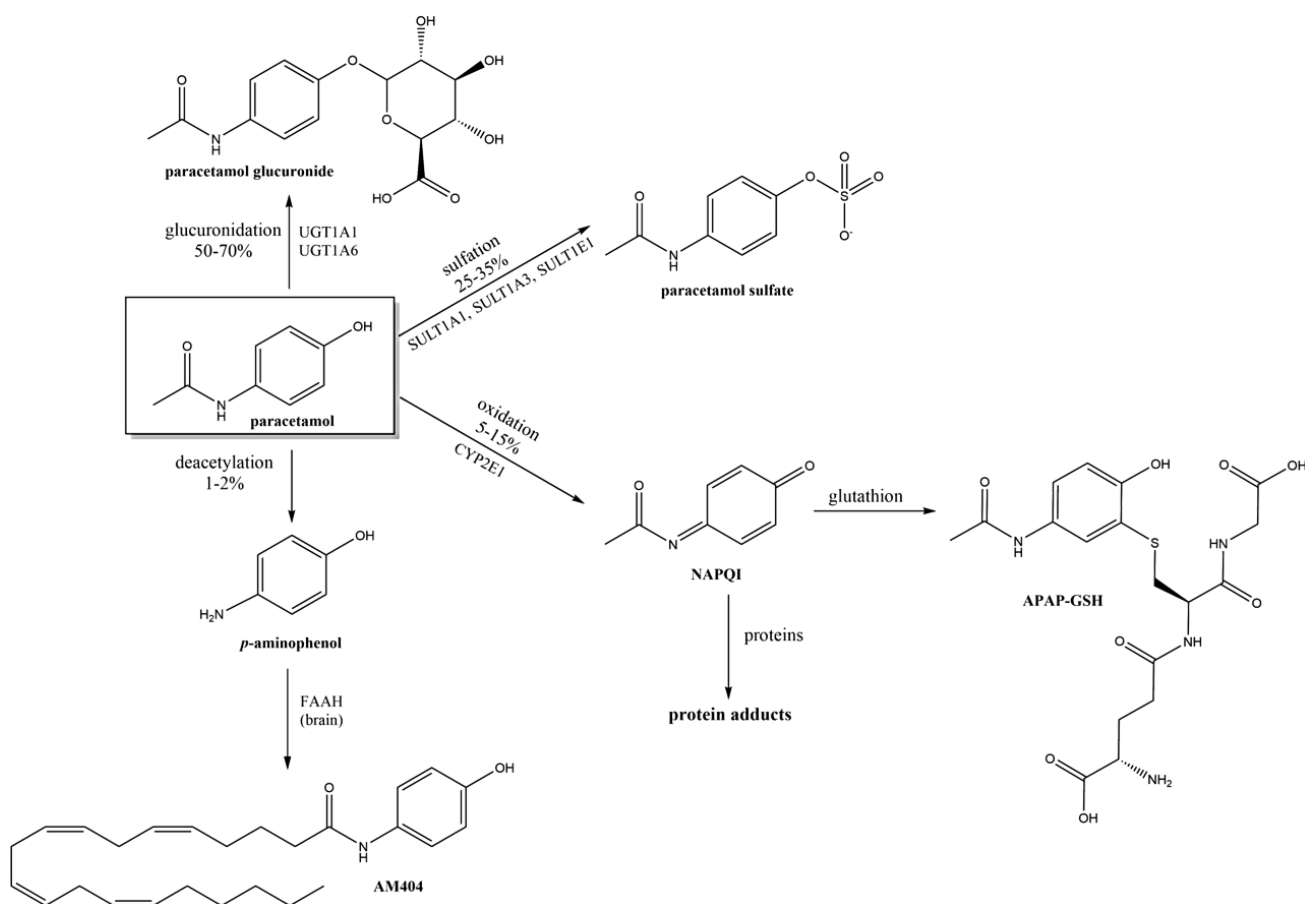


Рисунок 1.1.7. Шляхи метаболізму Парацетамолу.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості парацетамолу

Вихідна сполука ацетанлід перетворюється на суміш парацетамолу та аніліну. Парацетамол має безпечні властивості, але анілін є токсичною речовиною. Структура парацетамолу дуже схожа на аспірин. З цієї причини їх розпізнає один фермент. Фермент відповідає за біосинтез простагландинів, які беруть участь у розширенні кровоносних судин, що викликає біль. Зменшення кількості простагландину допомагає запобігти головним та іншим болям.

Парацетамол є одним із найпоширеніших лікарських засобів.

Вихідним матеріалом для виробництва парацетамолу є фенол, який вступає у реакцію нітрування з утворенням суміші орто- і пара-нітротолуолу. О-ізомер видаляють перегонкою з водяною парою. пара-нітрогрупу відновлюють до пара-аміногрупи. Потім проводять ацетилювання з утворенням парацетамолу (рис.2.1.1).

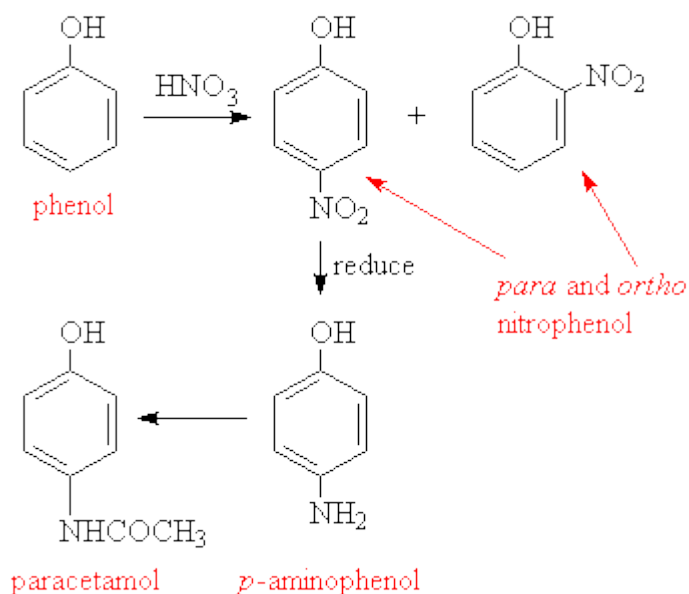


Рисунок 2.1.1. Схема виробництва парацетамолу.

В лабораторії парацетамол синтезують із фенолу, який перетворюють реакцією з сульфатною кислотою та нітратною кислотою концентрованими у два продукти нітрування. Використовуючи натрійборгідрид відновлюють продукти до аміно похідних. Потім ацетилюють за допомогою ацетатного ангідриду (рис. 2.1.2).

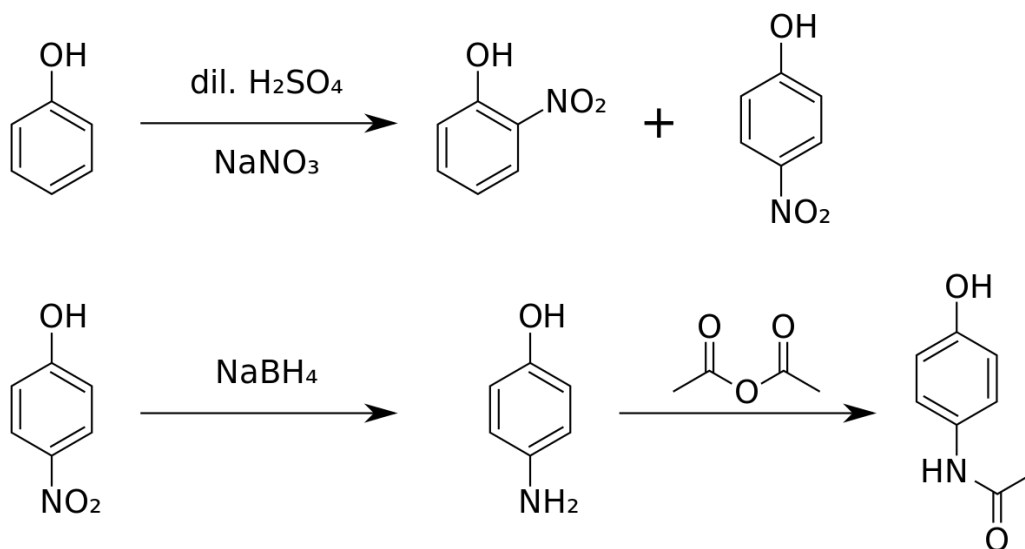


Рисунок 2.1.2. Схема синтезу парацетамолу.

Парацетамол є сильнодіючим препаратом, тому він потенційно більш небезпечний, ніж інші безрецептурні ліки (аспірин). Передозування парацетамолу спричиняє печінкову недостатність. Описано випадки, коли після спроби суїциду за допомогою парацетамолу, пацієнти приходили до нормального стану, однак, все одно помирали через кілька днів від пошкодження печінки.

Причиною цього отруєння є процес виведення парацетамолу з організму. Він метаболізується до хіноніміну (рис. 2.1.3).

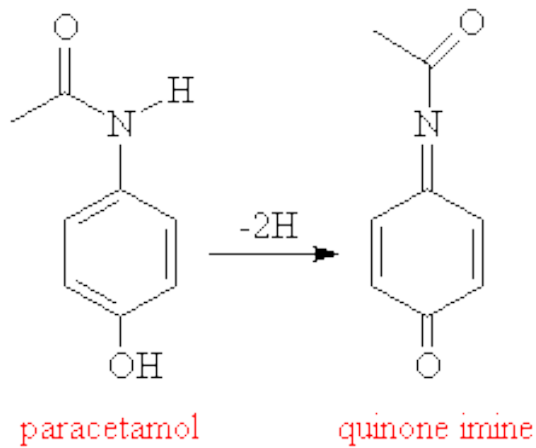


Рисунок 2.1.3. Схема утворення хіноніміну.

Хінонімін є надзвичайно токсичною сполукою. Виводиться із печінки шляхом реакції з трипептидом, глутатіоном. Якщо глутатіону недостатньо, токсичний хінон не виводиться, реагує з клітинними білками та нуклеїновими кислотами в печінці, отруєє організм людини (рис. 2.1.4).

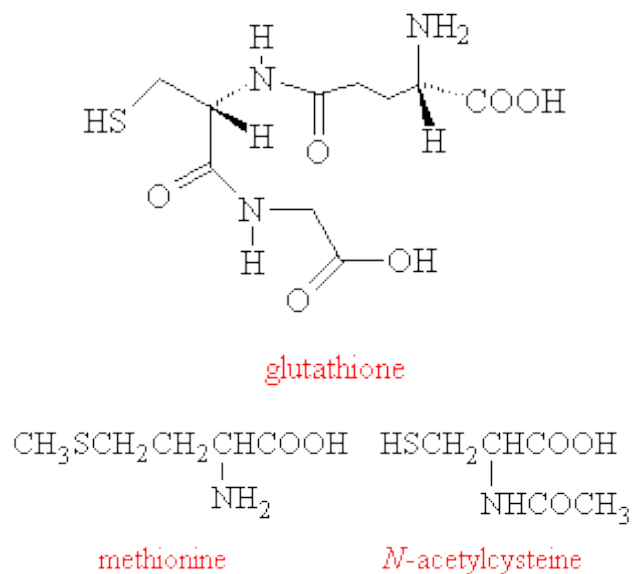


Рисунок 2.1.4. Метаболізм хіноніміну.

Сполуки метіонін і N-ацетилцистеїн можуть підвищити рівень життєво важливого глутатіону в печінці. Їх можна використовувати як протиотруту при отруєнні парацетамолом. Насьогодні розроблена нова лікарська форма парацетамолу, яка містить метіонін. Тобто цей лікарський засіб містить власну протиотруту.

Молекула парацетамолу є хімічно активною, оскільки містить ароматичну систему та функціональні групи. Однією із реакцій можна назвати реакцію конденсації з гетероциклами моноциклічними та біциклічними. Перетворення відбуваються за незаміщеною аміно групою (рис. 2.1.5).

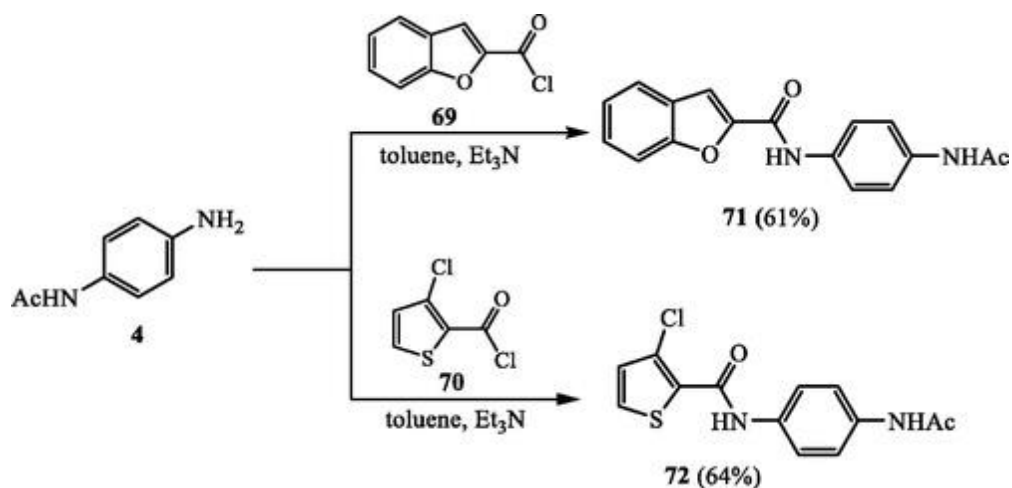


Рисунок 2.1.5. Реакції конденсації парацетамолу з гетероциклами.

Синтез парацетамолу базується на багатоетапних протоколах, які передбачають використання стехіометричної кількості окислювачів та відновників, корозійних агентів.

Виконується регіоселективна електрохімічна реакція типу Ріттера при C(sp²)-N незахищеного фенолу. Це один із екологічно безпечних та прямих синтезів парацетамолу.

Реакція протікає в умовах відсутності екзогенних окислювачів і каталізаторів. Протокол є масштабованим. Він може бути застосований до різноманітних фенолів, пропонує стійку альтернативу для синтезу

парацетамолу (рис. 2.1.6).

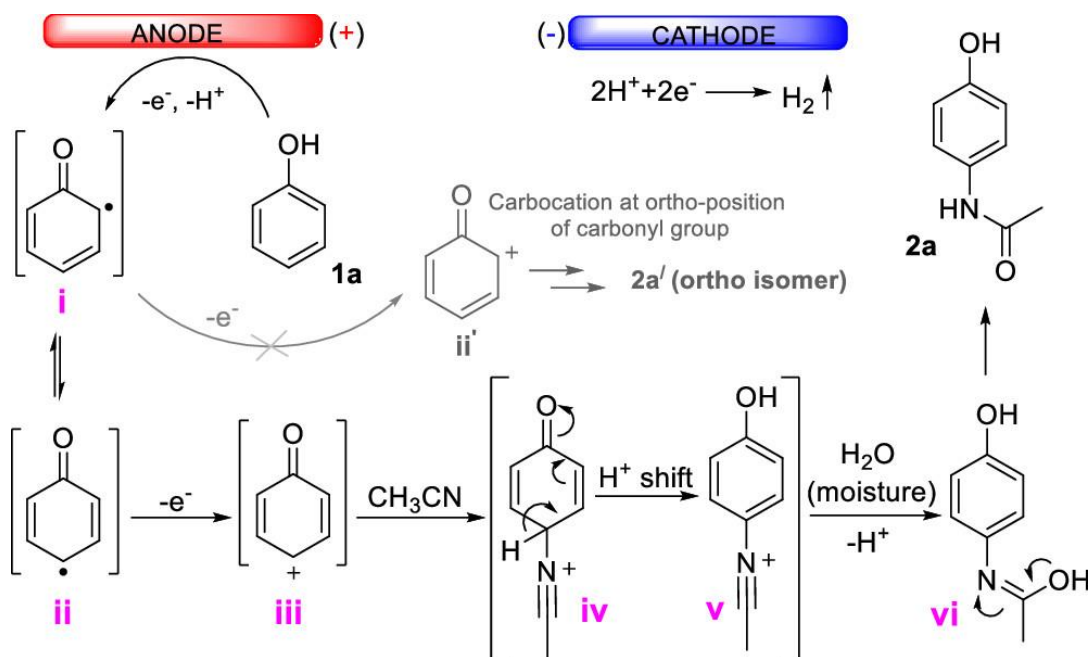


Рисунок 2.1.6. Регіоселективна реакція синтезу парацетамолу.

Ацетанлід отримують з аніліну. Він реагує з оцтовим ангідридом або льодяною оцтовою кислотою в присутності цинкового пилу.

Суміш аніліну, льодяної кислоти оцтової кислоти, оцтового ангідриду та цинкового пилу кип'яють із зворотним холодильником (безводні умови). Суміш виливають у крижану воду, отримують осад оцтового ангідриду. Неочищений осад оцтового ангідриду перекристалізують та отримують чисті кристали ацетанліду (рис.2.1.7).

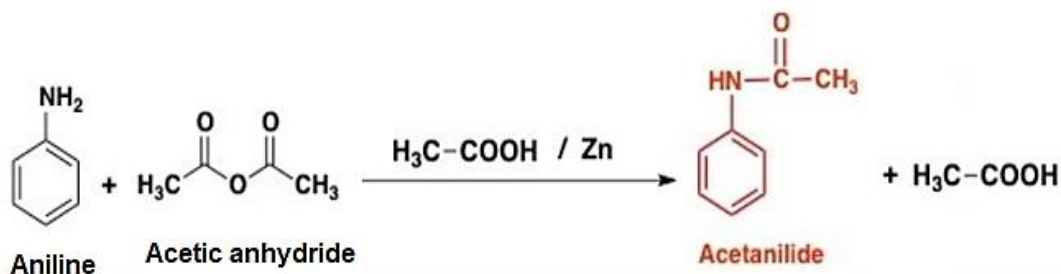


Рисунок 2.1.7. Реакція синтезу парацетамолу із аніліну.

Цинк використовується для запобігання окисленню аніліну під час проходження хімічної реакції.

Ацетанлід має медичне значення, використовується як жарознижувальний засіб. Ацетанлід можна одержати шляхом ацетилювання аніліну оцтовим ангідридом у присутності концентрованої хлороводневої кислоти. Анілін розчиняють у хлороводневій кислоті, додають оцтовий ангідрид, перемішують. Виливають суміш ацетату натрію у воду. Утворений ацетанлід відділяють, перекристалізують із етанолу.

Необхідні матеріали, посуд та реагенти для синтезу:

- Анілін
- Крижана оцтова кислота
- Оцтовий ангідрид
- Цинковий пил
- Дистильована вода
- Круглодонна колба
- Стакан
- Піпетка
- Дефлегматор
- Воронка
- Мішалка
- Пальник Бунзена
- Фільтрувальний папір
- Електронні ваги

На рисунку 2.1.8 представлено схему приладу для лабораторного синтезу ацетанліду.

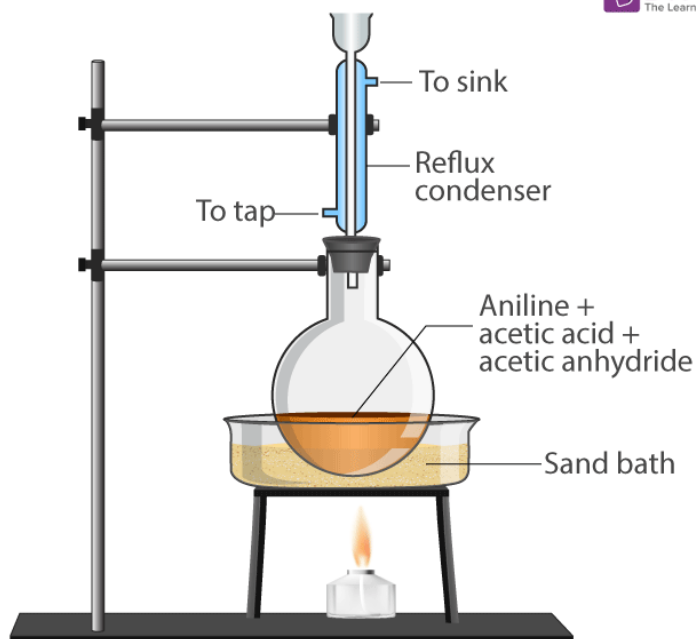


Fig 1 Preparation of acetanilide

Рисунок 2.1.8. Схема приладу для синтезу ацетаніліду.

Процедуру виконують наступним чином: перед початком експерименту промити прилади дистильованою водою; у круглодонну колбу додати 10 мл аніліну, 20 мл оцтового ангідриду, суміш льодяної оцтової кислоти та цинковий пил; закріпити зворотний холодильник на круглодонній колбі; нагрівати суміш приблизно 15-20 хвилин на масляній бані; перелити гарячу суміш у склянку з крижаною водою; інтенсивно перемішати суміш для гідролізу надлишок оцтового ангідриду; після випадання ацетаніліду в осад збирають та відфільтрують за допомогою воронки Бюхнера; осад, що утворився є неочищеним зразком ацетаніліду; для очищення ацетаніліду проводять його кристалізацію.

Процедура кристалізації: сирій зразок переносять у склянку з 20 мл води, обережно нагрівають; при забарвленні розчину додають невелику кількість активованого вугілля; гарячий розчин фільтрують через лійку; охолоджують суміш протягом 30 хв; для виділення білих блискучих кристалів ацетаніліду виконують фільтрування, промивають кристали водою, сушать

осад; визначають фізичні показники.

Токсичність ацетамінофену. Передозування ацетамінофену призводить до більшої кількості звернень до лікарні, ніж при передозуванні іншою фармакологічною речовиною.

35% випадків важкої печінкової недостатності викликані отруєнням ацетамінофеном. Тяжкі випадки можуть вимагати трансплантації органів.

N-ацетилцистеїн є ефективним антидотом. Найбільш ефективно його введення протягом 10 годин після прийому лікарського засобу (рис).

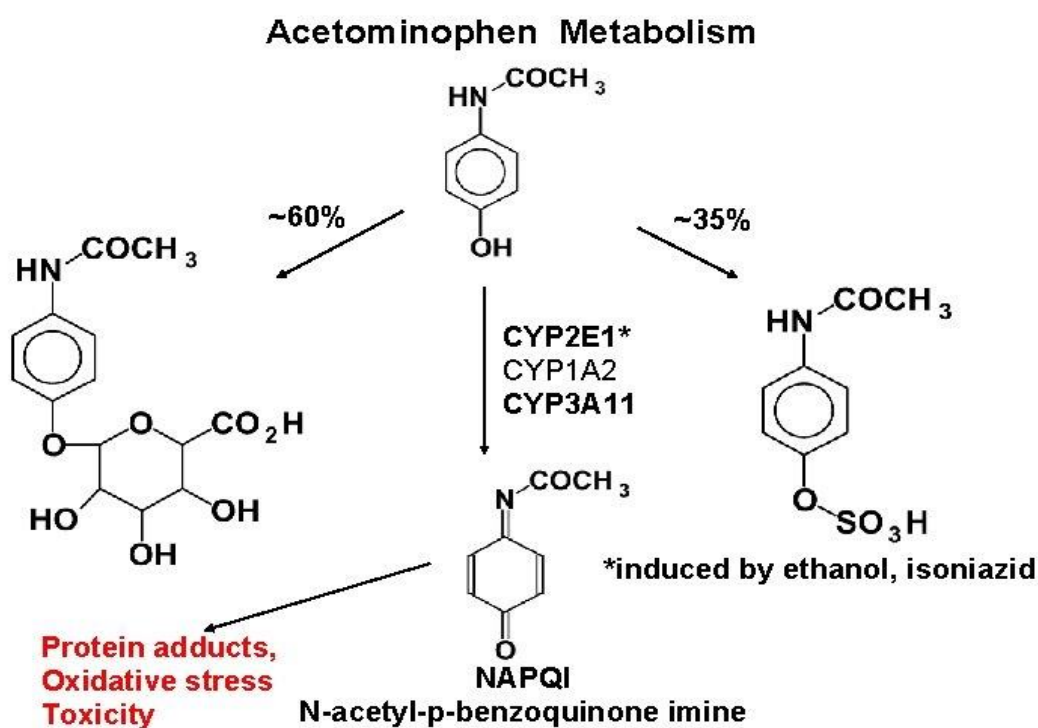


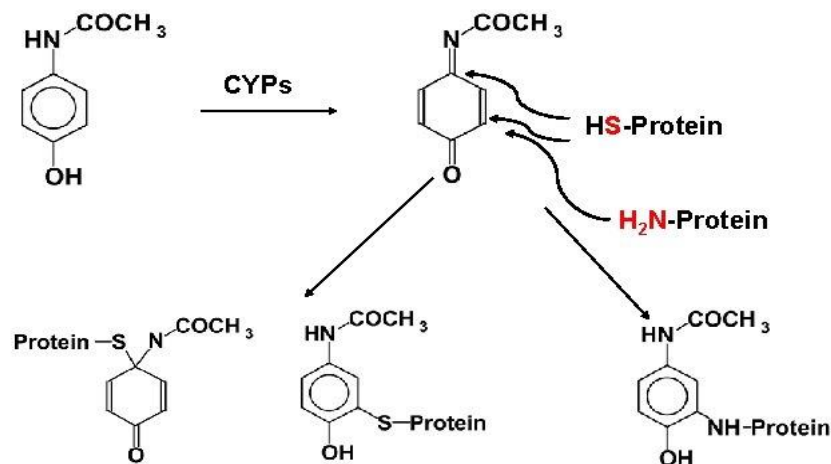
Рисунок 2.1.9. Схема метаболізму ацетамінофену.

Ацетомінофен. Метаболізм ~60% ~35% CYP 2 E 1(індукований етанолом), CYP 1 A 2, CYP 3 A 11, білкові аддукти, NAPQI.

Окислювальний стрес N-ацетил-пара-бензохінонімін, з утворенням якого пов'язують токсичність лікарського засобу.

На рисунку 2.1.10 представлено схему утворення протеїнових аддуктів ацетамінофену.

Acetaminophen Protein Adducts



S.D. Nelson, *Drug Metab. Rev.* 27: 147-177 (1995)
K.D. Welch et al., *Chem Res Toxicol* 18:924-33 (2005)

Рисунок 2.1.10. Протеїнові аддукти ацетамінофену.

Механізм токсичності ацетамінофену.

N-ацетилцистеїн є ефективним засобом для блокування виснаження GSH, порятунку від токсичності, яка вражає печінку. CAR і PXR модулюють токсичність ацетамінофену. Миші з нульовим CAR стійкі до токсичності ацетамінофену (печінковий GSH знижений).

Після впливу ацетамінофену CAR-гуманізовані миші демонструють аналогічну відповідь на токсичність.

Активація PXR індукує CYP 3 A11, помітно посилює токсичність ацетамінофену. Коактиватор транскрипції CAR КО блокує токсичність (рис.2.1.11).

NAPQI toxicity linked to PXR activation

G. Guo et al. 2004, Toxicol Sci 82(2):374-80

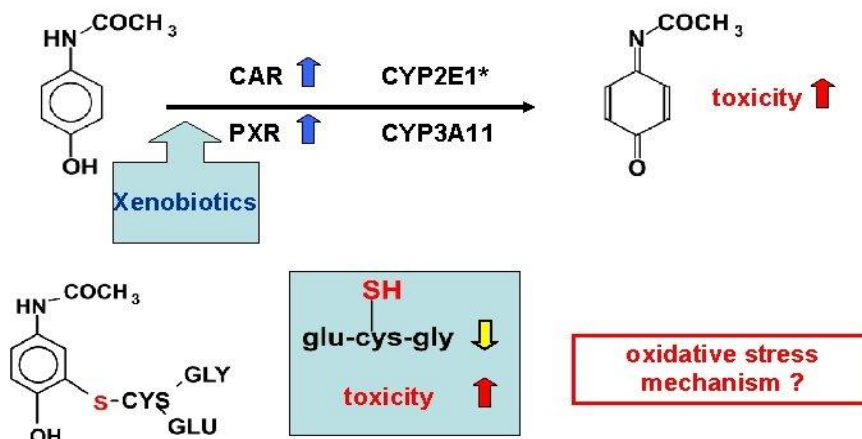


Рисунок 2.1.11. NAPQI токсичність.

Описано три різні експерименти, які дозволяють синтезувати парацетамол. Методи базуються не тільки на класичній реакції нуклеофільного ацильного заміщення. Використовуються інноваційні методології, які розширюють розуміння реакційної здатності одночасно кількох органічних функціональних груп: пряме амідування карбонових кислот під мікрохвильовим нагріванням, реакція трансамідування з каталізом солями заліза. Методи обчислювальної хімії використовуються разом із спектроскопією для характеристики ацетамінофену. Використовують розрахунки електронної структури для отримання інфрачервоних і комбінаційних спектрів ацетамінофену. Візуалізація молекулярних рухів, пов'язаних із частотами поглинання, покращує розуміння спектроскопічних методів аналізу цих лікарських засобів.

Парацетамол N-(4-гідроксифеніл)ацетамід. Має основні властивості за рахунок присутності у циклічній системі аміно групи (рис. 2.1.12).

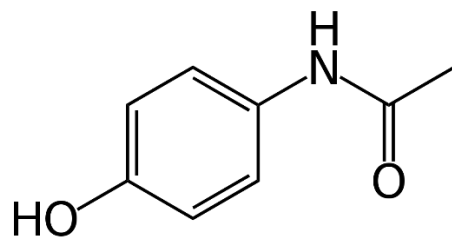


Рисунок 2.1.12. Структура Парацетамолу.

Якщо розглядати Парацетамол як лікарську речовину – субстанцію для проведення фармацевтичного аналізу, то ДФУ [23], Європейська Фармакопея [24] регламентують аналіз Парацетамолу субстанції.

Парацетамол – це кристалічний порошок білого або майже білого кольору. М.м. 151,165 (безводна речовина).

Парацетамол. Чистота 99,0-101,0% (суха речовина). Субстанція помірно розчинна у воді *P*, легко розчинна у етанолі (96%) *P*, дуже мало розчинна у метилен хлориді *P*.

За ДФУ Парацетамол ідентифікують методом абсорбційної ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), відповідністю спектру ФСЗ парацетамолу, визначенням итогого показника поглинання, температури плавлення у інтервалі 168-172 °С.

Рухома фаза: 17.9 г/л динатрію гідрофосфату *P* – розчин 78 г/л натрію дигідрофосфату *P* –метанол *P* (4.6 г/л розчину 400 г/л тетрабутиламонію гідроксиду *P*) (375 : 375 :250, V/V/V).

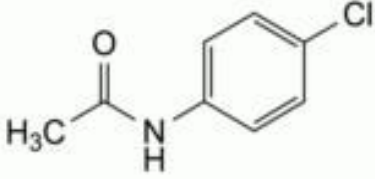
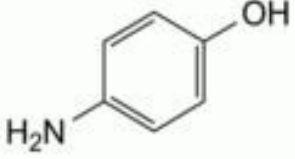
Ідентифікацію супровідних домішок субстанції проводять методом РХ (2.2.29).

УФ-детектування при 245 нм.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Eur.Ph. [24] регламентує аналіз якості субстанції Парацетамолу згідно до монографії (04/2022:0049). Обов'язковим є визначення специфікованих домішок *J*, *K* в субстанції. Вони визначаються за допомогою методу РХ (табл. 3.1)

Таблиця 3.1. Структурні формули, систематичні назви за ІЮПАК специфікованих домішок *J*, *K* (субстанція парацетамолу).

Символ	ІЮПАК назва	Формула
<i>J</i> домішка	<i>N</i> -(4-хлорофеніл)ацетамід або хлороацетанлід	
<i>K</i> домішка	4-амінофенол	

У субстанції парацетамолу визначають неспецифіковані домішки, які є неприпустимими: *A*, *B*, *C*, *D*, *E*, *F*, *G*, *H*, *I*, *L*, *M*, *N*, *O*. Загальний вміст їх не повинен перевищувати встановлений Фармакопесю рівень.

Метою даної роботи є розробка та адаптація методик визначення специфікованих та неспецифікованих домішок у складі субстанції *N*-(4-гідроксифеніл)-ацетаміду методом ВЕРХ, які можуть бути незадекларованими АФІ. Необхідно оптимізувати процедуру визначення чистоти досліджуваної субстанції. Оскільки якість субстанції впливає на токсичні ефекти лікарської речовини - активної діючої речовини *N*-(4-гідроксифеніл)-ацетамід.

Контроль специфікованих та неспецифікованих домішок виконується методом РХ (2.2.29). Нормування домішок: Домішка J – 0/001%; Домішка K (4-амінофенол) – 0/005%; Домішка F (4-нітрофенол) – 0/05%; Сума: 0.01%.

Нами проведено хроматографічне дослідження за допомогою методу ВЕРХ субстанції Оксаліплатину з метою розробки та опрацювання умов хроматографування та методик проведення процедур.

Матеріали та методи.

Інструментальні дослідження проводили на приладі – хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором. Використовували колонку ZORBAX Eclipse Plus C18, 150x4,6x3,5, її температура – 25°C.

Запропоновані умови хроматографування:

Буферний розчин (води для хроматографування *P* 1000 мл, кислота ортофосфатна – 0,66 мл, значення рН 6,3 доводили розчином КОН)

Розчинник (буферний розчин-ацетонітрил, 80 : 20 (V/V%))

- об'єм інжекції – 10 мкл
- потік – 0,42 мл/хв
- градієнт: A - ацетонітрил
 B – буферний розчин (табл. 3.2)

Таблиця 3.2. Градієнти.

Час	0	12	38	70	71	81
A (%)	10	10	30	30	10	10
B (%)	90	90	70	70	90	90

Детектування – УФ-спектрофотометричне при 245 нм

Методика приготування випробувального розчину:

Тестовий розчин: субстанцію розчиняли у рухомій фазі, концентрація 2,5 мг/мл.

Стандартний розчин: фармакопейний зразок ДФУ субстанції парацетамолу розчиняли у рухомій фазі, концентрація 0,0025 мг/мл

Для комп'ютерного аналізу отриманих результатів використовували програму OpenLab CDS.

При проведенні хроматографування використовували наступні реактиви:

- ацетонітрил (чистоти для ВЕРХ),
- вода (чистоти для ВЕРХ),
- кислота ортофосфатна 88% м/м(чистоти для ВЕРХ).

Отримані результати.

Знайдено, що досліджуваних зразках стандарту субстанції Парацетамолу ($R_t=9.282$ хв) міститься домішка К ($R_t= 5.691$ хв (Eur.Ph. – 5.4) (табл. 3.3, рис.3.1).

Таблиця 3.3. Розчини стандартних речовин.

	Стандарт (а)		Стандарт (b)		Imp.К
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>
					5,691
	9,282	59,837	9,244	62,047	5,798
					5,699
	9,245	61,500	9,239	63,333	
	9,201	59,467			
Середнє	9,254	59,268	9,821	62,690	5,752
SD	0,093	1,083	0,070	0,909	
RSD(≤2.0%)	0,38%	1,80%	0,30%	1,45%	

Стандартні розчини:

Парацетамол (а):

- значення R_t знаходиться в інтервалі 9,201-9,282 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 9,254 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 59,467-61,500;

- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 59.268;
- SD Rt 0.093;
- SD Ar 1.083;
- RSD Rt (<2.0%) 0.38%;
- RSD Ar (<2.0%) 1.80%;
- RSD Ar (<2.0%) 1.45%.

Парацетамол, стандарт (b):

- значення Rt знаходиться в інтервалі 9,239-9,244 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 9,821 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%.

Домішка К:

- значення Rt знаходиться в інтервалі 5,691-5,798 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 5,752 хв (рис. 3.1).

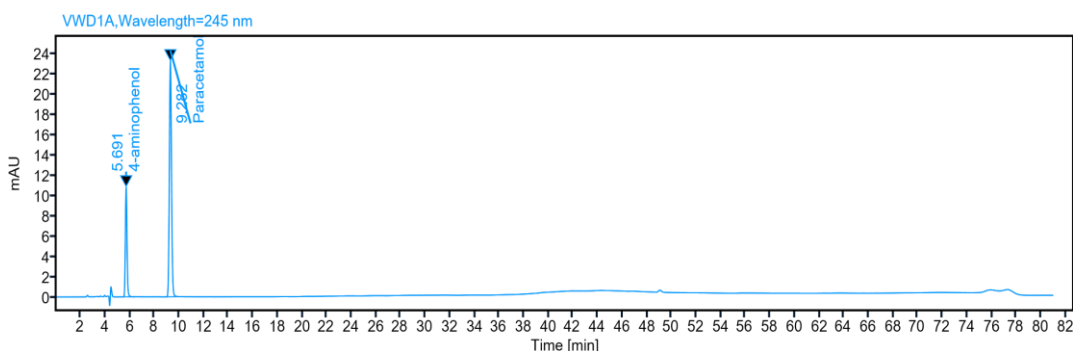


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного зразку: *N*-(4-гідроксифеніл)-ацетамід (Rt=9.282), домішка *К* (Rt=5.691 хв (за Eur.Ph. Rt=5.4)).

Досліджено розчини зразку Парацетамолу(табл. 3.4, рис. 3.2).

Таблиця 3.4. Розчини досліджуваного зразку.

	Зразок 1		Imp1		Imp2	Imp3	Ibuprofen
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>RT</i>	<i>RT</i>
	9,274	50,837	17,144	61,047	20,375	30,729	55,935
	9,201	60,500	17,149	62,333	20,377	30,320	55,845
	9,267	58,467			20,248	30,699	55,911
Середнє	9,257	58,214	17,145	62,221	20,368	30,580	55,922

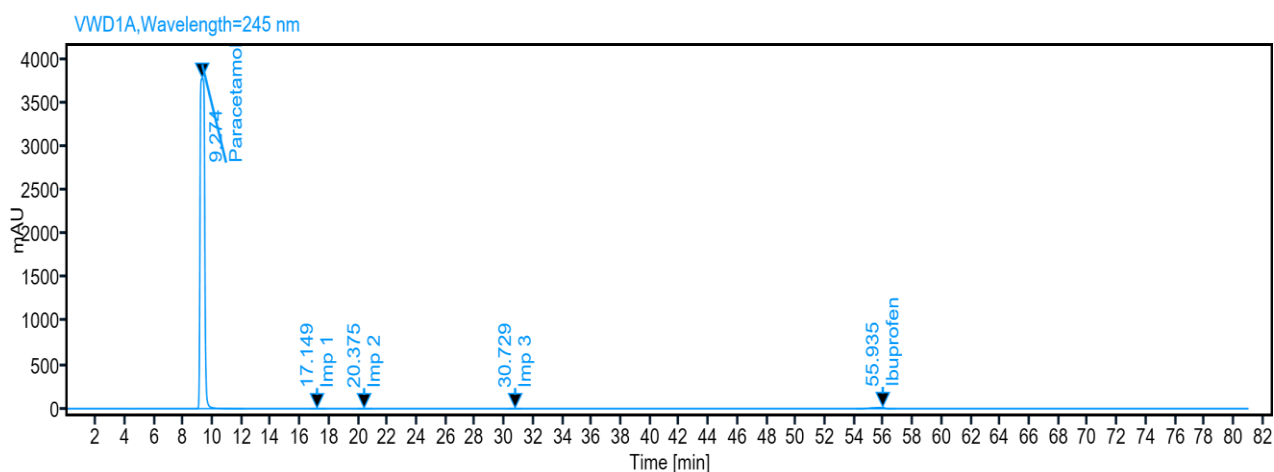


Рисунок 3.2. Хроматограма досліджуваного зразку: парацетамол ($R_t= 9.274$ хв), неспецифіковані домішки: $R_t=17.149$ хв (imp 1), 20.375 хв (imp 2), 30.729 хв (imp 3), 55.935 хв (ibuprofen).

Досліджувані розчини:

Парацетамол:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 9,201-9,274 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 9,257 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 50,837-60,500;

- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 58.214;

Домішка 1 -D:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 17,144-17,149 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 17,145 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 61,047-62,333;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 62,221;

Домішка 2-E:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 20,248-20,377 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 20,368 хв;

Домішка 3-H:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 30,320-30,729 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 30,580 хв;

Ібупрофен:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 55,845-55,935 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 55,922 хв;

В результаті хроматографічних досліджень методом ВЕРХ знайдено: субстанція містить неспецифіковані домішки *D* ($R=17.149$ хв (imp 1)), *E* ($R=20.375$ хв (imp 2)), *H* ($R=30.729$ хв (imp 3)). Крім того, знайдена домішка Ібупрофену ($R=55.935$ хв (ibuprofen)). Сума виявлених домішок не перевищують встановлений рівень та відповідає вимогам монографії Eur.Ph.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено умови хроматографічного дослідження та методики приготування зразків за методом ВЕРХ субстанції Парацетамолу з метою визначення у її складі незадекларованих АФІ, а саме, запропоновано модифікації: *буферний розчин* (суміш із 1000 мл води для хроматографії Р, 0,66 мл к-ти ортофосфатної, рН 6,3 досягається р-ном КОН); *розчинник* (суміш із буферного розчину-ацетонітрилу, 80:20 (V/V%)).
2. За допомогою ВЕРХ методу знайдено у складі досліджуваного зразку неприпустимі домішки: неспецифіковані при R=17.149 хв (imp 1), R=20.375 хв (imp 2), (R=30.729 хв (imp 3), R=55.935 хв (ibuprofen)).
3. Виявлено, що у запропонованих умовах хроматографування за методом ВЕРХ піки Парацетамолу стандарту (ДФУ) та зразку мають зсув: значення Rt досліджуваного зразку Парацетамолу знаходяться в інтервалі 9,201-9,274 хв, порівняно із значеннями Rt стандарту – у інтервалі 9,201-9,282 хв, що можна пояснити впливом присутніх у субстанції домішок.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Bapna, M.; Chauhan, L. S. Microwave Assisted Synthesis and in Silico Molecular Modeling Studies Some New Derivatives of (Z)-N-(4-(4-(Substituted-Benzylidene)-5-Oxo-2-Phenyl-4,5-Dihydro-Imidazol-1-yl)Phenyl)Acetamide as Lead Compounds. *Der. Pharma. Chem.* 2014, 6, 1–9.
2. Ehab Abdel-Latif, Heba M. Metwally, Eman M. Keshk, Abdel-Galil M. Khalil & Ali Saeed. An overview on the synthesis and chemical properties of *p*-aminoacetanilide and its derivatives. *Synthetic Communications*, Volume 49, 2019 - Issue 16.
3. Dotsenko, V. V.; Frolov, K. A.; Krivokolysko, S. G. Mannich Reaction in the Synthesis of N,S-Containing Heterocycles. One-Pot Method for Preparing Pyrimido[4,3-*b*]-[1,3,5]Thiadiazines by Reaction of Aldehydes, Cyanothioacetamide, Formaldehyde, and Primary Amines. *Chem. Heterocycl. Comp.* 2012, 48, 642–649. DOI: 10.1007/s10593-012-1038-7.
4. Zeynep Güngör & Hava Ozay. Use of cationic p[2-(acryloyloxy)ethyl] trimethylammonium chloride in hydrogel synthesis and adsorption of methyl orange with jeffamine based crosslinker. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Volume 45, 2023 - Issue 1.
5. Zeynep Güngör & Hava Ozay. Synthesis of new type temperature and pH sensitive hydrogels using drug-based p-(methacryloyloxy)acetanilide monomer and their usage as controlled drug carrier material. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, Volume 59, 2022 - Issue 4.
6. Hendi, A.; Hassan, M. U.; Elsherif, M.; Alqattan, B.; Park, S.; Yetisen, A. K.; Butt, H. Healthcare Applications of pH-Sensitive Hydrogel-Based Devices: A Review. *Int. J. Nanomed.* 2020, 15, 3887–3901. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S245743>.

7. Hamcerencu, M.; Desbrieres, J.; Popa, M.; Riess, G. Thermo-Sensitive Gellan Maleate/N-Isopropylacrylamide Hydrogels: Initial “In Vitro” and “In Vivo” Evaluation as Ocular Inserts. *Polym. Bull.* 2020, 77, 741–755. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02772-5>.
8. Podual, K.; Doyle Iii, F. J.; Peppas, N. A. Preparation and Dynamic Response of Cationic Copolymer Hydrogels Containing Glucose Oxidase. *Polymer* 2000, 41, 3975–3983. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00620-5](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00620-5).
9. Gao, X.; Cao, Y.; Song, X.; Zhang, Z.; Xiao, C.; He, C.; Chen, X. pH- and Thermo-Responsive Poly(N-Isopropylacrylamide-Co-Acrylic Acid Derivative) Copolymers and Hydrogels with LCST Dependent on pH and Alkyl Side Groups. *J. Mater. Chem. B.* 2013, 1, 5578–5587. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3tb20901f>.
10. Ozay, O.; Ilgin, P.; Ozay, H.; Gungor, Z.; Yilmaz, B.; Kivanç, M. R. The Preparation of Various Shapes and Porosities of Hydroxyethyl Starch/p (HEMA-co-NVP) IPN Hydrogels as Programmable Carrier for Drug Delivery. *J. Macromol. Sci, Part A. Pure Appl. Chem* 2020, 57, 379–387. DOI: <https://doi.org/10.1080/10601325.2019.1700803>.
11. European Pharmacopoeia Commission. European pharmacopoeia (7.0) Appendix: 4.1.3. Buffer solutions. 7.0, US Pharmacopeia 32 NF27. 2009, pp 489–494.
12. Urošević, M. Z.; Nikolić, L. B.; Ilić-Stojanović, S.; Zdravković, A.; Nikolić, V. D. Synthesis and Characterization of Poly (N-Isopropylmethacrylamide-co-N-Isopropylacrylamide) Copolymers. *Hem. Ind.* 2020, 74, 103–117. DOI: <https://doi.org/10.2298/HEMIND190717007U>.
13. Saidi, M.; Dabbaghi, A.; Rahmani, S. Swelling and Drug Delivery Kinetics of Click-Synthesized Hydrogels Based on Various Combinations of PEG and Star-Shaped PCL: Influence of Network Parameters on Swelling and Release

- Behavior. *Polym. Bull.* 2020, *77*, 3989–4010.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00289-019-02948-z>.
14. Suhail, M.; Wu, P. C.; Minhas, M. U. Using Carbomer-Based Hydrogels for Control the Release Rate of Diclofenac Sodium: Preparation and In Vitro Evaluation. *Pharmaceuticals* 2020, *13*, 399.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ph13110399>.
15. Žuržul, N.; Ilseng, A.; Prot, V. E.; Sveinsson, H. M.; Skallerud, B. H.; Stokke, B. T. Donnan Contribution and Specific Ion Effects in Swelling of Cationic Hydrogels Are Additive: Combined High-Resolution Experiments and Finite Element Modeling. *Gels* 2020, *6*, 31.
DOI: <https://doi.org/10.3390/gels6030031>.
16. Tang, L.; Wang, L.; Yang, X.; Feng, Y.; Li, Y.; Feng, W. Poly (N-Isopropylacrylamide)-Based Smart Hydrogels: Design, Properties and Applications. *Prog. Polym. Sci.* 2021, *115*, 100702.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2020.100702>.
17. Fabián Garzón-Posse, Yovanny Quevedo-Acosta and Diego Gamba-Sánchez. Paracetamol Synthesis for Active Learning of Amide Functional Groups in Undergraduate Chemistry Laboratories. *Chem. Educ.* 2022, *99*, 6, 2385–2391. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.2c00080>
18. Kaitlyn Pasquarella, Kayla Jardine, Kelly Hill, Emma Jones, Ralph Elia, Greglynn Gibbs, Matthew Sonntag, and Lorena Tribe. Synthesis and Characterization of Acetaminophen: An Experimental and Theoretical Laboratory for the Undergraduate Curriculum. *J. Chem. Educ.* 2022, *99*, 2, 910–916. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c01512>
19. Yiwen Xu, Qiang Li, Runyou Ye, Buyi Xu, Xiangge Zhou. Electrochemical Oxidative C–H Amination through a Ritter-Type Reaction. *The Journal of Organic Chemistry* **2023**, *88* (13), 9518–9522. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c00609>

20. Rakesh Kumar, Irshad Maajid Taily, Prabal Banerjee. Electrochemical sulfinylation of phenols with sulfides: a metal- and oxidant-free cross-coupling for the synthesis of aromatic sulfoxides. *Chemical Communications* **2023**, 59 (3), 310-313. <https://doi.org/10.1039/D2CC05207E>
21. Payel Ghosh, Alakananda Hajra. Electrochemically Enabled Dehydrogenative Phosphorothiolation of 2 H -Indazoles under Electrolyte-Free Conditions. *Advanced Synthesis & Catalysis* **2022**, 364 (23) , 4157-4165. <https://doi.org/10.1002/adsc.202200932>
22. Sofia Strelakova, Alexander Kononov, Yulia Budnikova. Amino acids in electrochemical metal-free benzylic C H amidation. *Tetrahedron Letters* **2022**, 102 , 153917. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2022.153917>
23. 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., стор. 525-527.
24. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg, 10-th ed., 2019. V.1: 3481-3483.
-

SUMMARY

Kuksa Viktor
**ACETANILAMIDE DERIVATIVE SUBSTANCE AND PECULIARITIES OF
PHARMACEUTICAL ANALYSIS OF UNDECLARED APIs IN ITS COPOSITION**

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: professor, doctor of pharm.sciences Welchinska Olena.

Keywords: Oxaliplatin, antitumour activity, HPLC, admixture.

Introduction. Paracetamol (acetaminophen) has the chemical nomenclature name of IUPAK 4'-hydroxy-acetanilide; para-acetaminophenol; acetophen; para-acetylamidophenol; N-acetyl-para-aminophenol; para-acetylaminophenol; para-hydroxyacetanilide; N-para-hydroxyphenylacetamide. Paracetamol is used as an analgesic and antipyretic drug. It is one of the best alternative analgesics compared to aspirin. This is especially important for patients with blood coagulation disorders, people with a history of peptic ulcer disease, who cannot tolerate aspirin, and for children. During the synthesis of a substance, its incomplete purification, intermolecular interaction, the formation of accompanying substances, impurities, products of intermolecular reactions is possible. An important task of the pharmaceutical analysis of paracetamol is the use of modern instrumental methods and the expansion of the range of physicochemical methods in its pharmaceutical analysis. The actual task of the work is the development of chromatographic conditions for the study of the substance of paracetamol by HPLC, methods of sample preparation during research, which will make it possible to draw correct conclusions about the presence of undeclared APIs in the substance.

Materials and methods. Research object are Paracetamol substance, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of Paracetamol. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector), column ZORBAX Eclipse Plus C18, 150x4,6x3,5; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The conditions of chromatographic research and methods of preparation of samples using the HPLC method of the Paracetamol substance were developed in order to determine the undeclared APIs in its composition, namely, modifications were proposed: buffer solution (1000 ml water P, 0.66 ml orthophosphate acid, pH 6.3 potassium hydroxide); solvent (buffer solution and acetonitrile in a ratio of 80:20 (v/v%)).

Conclusions. Using the HPLC method, unacceptable impurities were found in the composition of the studied sample: unacceptable impurities D (R=17.149 min (imp 1)), E (R=20.375 min (imp 2)), H (R=30.729 min (imp 3)), and also an admixture of Ibuprofen (R=55.935 min (imp ibuprofen)). It was found that under the proposed conditions of chromatography using the HPLC method, the peaks of the Paracetamol standard (DFU) and the sample have a shift: the Rt values of the studied Paracetamol sample are in the range of 9.201-9.274 min, compared to the Rt values of the standard - in the range of 9.201-9.282 min, which can be explained by the influence of impurities present in the substance.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

Welchinska O., *Kuksa V.*, Darienko O.
METHODS OF PREDICTING THE
BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW
URACILS USING THE SWISS
TARGET PROGRAM. 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. 376.



FIP Symposium, Digital Event
«Pharmacists support to medication
management for people living with
HIV», 01.12.2023, The Netherland
(Online educational activity).
Certificate.

