



**EDUCATION AND SCIENCE  
IN UKRAINE IN THE PERIOD  
OF TODAY'S GLOBAL  
CHALLENGES**

**COLLECTIVE MONOGRAPH**



COLLECTIVE MONOGRAPH

**EDUCATION AND SCIENCE  
IN UKRAINE IN THE PERIOD  
OF TODAY'S GLOBAL  
CHALLENGES**

Compiled by  
VIKTOR SHPAK

Chairman of the Editorial Board  
STANISLAV TABACHNIKOV

GS Publishing Services  
Sherman Oaks  
2024

**НИЖЕНКОВСЬКА Ірина Володимирівна,**

доктор медичних наук, професор,  
Національний медичний університет  
імені О. О. Богомольця  
ORCID ID: 0000-0001-5065-3147

**ВЕЛЬЧИНСЬКА Олена Василівна,**  
доктор фармацевтичних наук, професор,  
Національний медичний університет  
імені О. О. Богомольця  
ORCID ID: 0000-0001-7023-8493

**МЕЛЕШКО Руслан Анатольович,**  
кандидат біологічних наук, асистент,  
Національний медичний університет  
імені О. О. Богомольця  
Україна

## ВПРОВАДЖЕННЯ У ПРАКТИКУ ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ МЕТОДУ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Фармацевтичний аналіз лікарських засобів виконується відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ), Європейської Фармакопеї та Британської Фармакопеї. Ідентифікацію та кількісне визначення активних інгредієнтів (АФІ) та ексципієнтів виконують, в тому числі, й, хроматографічними методами. Однак, стандартизований фармакопейний метод – рідинна хроматографія не завжди дозволяє виявити та визначити всі неприпустимі домішки у складі субстанцій, які утворюються в результаті хімічної деградації вихідних сполук<sup>1</sup>.

Тому, вкрай важливим є впровадження у фармацевтичний аналіз високотехнологічного інструментального методу вискоелективного рідинної хроматографії (ВЕРХ), який зміг би продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення домішок у їх складі досліджуваних субстанцій.

<sup>1</sup> Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-ге вид. Доповнення 5. Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2021. 424 с.; The British Pharmacopoeia 2020. London.2020: I-1298. URL: <https://www.webofpharma.com>

Алоферони відносяться до родини цитокіноподібних пептидів імунної системи комах, які здатні до специфічного корегування механізмів антивірусного та протипухлинного імунітету людини. За ДФУ та Європейською Фармакопеею аналіз субстанції алоферону не виконується. Нами досліджено субстанцію алоферону методом ВЕРХ з метою визначення чистоти субстанції та виявлення неприпустимих домішок. Для виконання експерименту необхідно було розробити умови хроматографування методом ВЕРХ та модифікувати методики дослідження.

*Методи дослідження.* Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – ODS Hypersil, 250x4,6x3; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS. Стандарт – фармакопейний стандартний зразок ДФУ алоферону.

Для фармацевтичного аналізу субстанції алоферону використовували наступні умови хроматографування:

- потік – 1,5 мл/хв
- детектування – УФ при 220 нм
- об'єм інжекції – 20 мкл
- температура колонки – 35 °С
- температура зразку – кімнатна
- рухома фаза – ацетонітрил Р – трифтороцтова кислота Р – 2М розчин амонію сульфату Р – вода Р (5 : 0,1 : 10 : 84,9, V/V/V)
- час хроматографування – 12 хв.

При проведенні хроматографічного аналізу зразків алоферону проводився *селективний відбір хроматографічних колонок* для досягнення найбільш якісного розділення піків та для найкращої форми піків. Застосовувалися С18, С8, СN колонки з довжиною 150 та 250 мм.

За результатами попередніх досліджень встановлено, що ***найкращі результати отримуються при застосуванні колонки ODS Hypersil (С18) з довжиною 250 мм та діаметром 4,6 мм.***

Також модифікувалися співвідношення компонентів рухомої фази для отримання найкращих результатів.

Для визначення домішок методом ВЕРХ використовували реактиви:

ацетонітрил (чистоти для ВЕРХ), вода (чистоти для ВЕРХ), трифтороцтова кислота (чистоти для ВЕРХ), амонію сульфат.

Після хроматографування досліджуваних зразків 1 та 2 субстанції алоферону отримано наступні результати (табл. 1, 2; рис. 1, 2)

Таблиця 1

### Результати хроматографування зразку 1 – субстанції алоферону

Джерело: дослідження авторів.

	Зразок 1									
	Imp 1		Imp 2		Imp 3		Imp 4		Аллоферон	
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area
	1,786	8,374	2,272	33,055	3,003	9,065	3,660	267,730	4,005	9584,547
	1,784	8,940	2,272	32,622	3,003	9,045	3,658	267,999	4,003	9593,609
	1,786	8,586	2,272	32,217	3,004	9,112	3,661	267,811	4,006	9590,673
<b>Середнє</b>	<b>1,785</b>	<b>8,633</b>	<b>2,272</b>	<b>32,631</b>	<b>3,003</b>	<b>9,074</b>	<b>3,660</b>	<b>267,847</b>	<b>4,005</b>	<b>9589,610</b>
	Зразок 1 (продовження)								Σ домішок	
	Imp 5		Imp 6		Imp 7		Imp 8			
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area		
	4,430	55,709	4,822	53,021	5,131	12,971	7,239	140,891		
	4,428	55,971	4,820	53,041	5,130	13,188	7,236	141,170		
	4,431	55,773	4,823	53,149	5,133	13,340	7,237	141,380		
<b>Середнє</b>	<b>4,430</b>	<b>55,818</b>	<b>4,822</b>	<b>53,070</b>	<b>5,131</b>	<b>13,166</b>	<b>7,237</b>	<b>141,147</b>	<b>10170,996</b>	

Джерело: дослідження авторів.

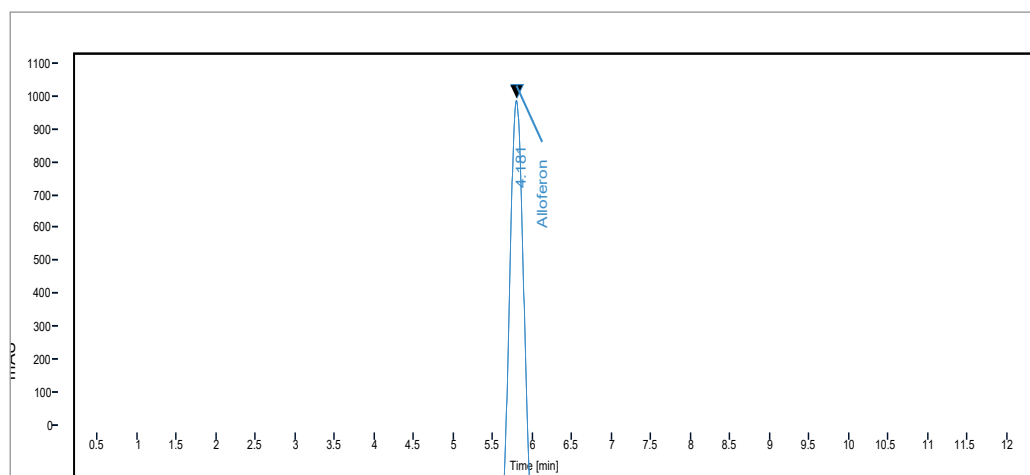


Рис. 1. Хроматограма зразку 1 – субстанції алоферону

Таблиця 2

## Результати хроматографування зразку 2 – субстанції алоферону

Джерело: дослідження авторів

	Зразок 2							
	Imp 1		Imp 2		Imp 3		Imp 4	
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area
	1,761	13,944	2,270	22,488	3,003	9,126	3,659	266,216
	1,766	12,807	2,270	22,197	3,003	9,252	3,658	266,202
	1,766	12,800	2,270	22,087	3,003	9,188	3,658	266,015
<b>Середнє</b>	<b>1,764</b>	<b>13,184</b>	<b>2,270</b>	<b>22,257</b>	<b>3,003</b>	<b>9,189</b>	<b>3,658</b>	<b>266,144</b>

	Зразок 2 (продовження)							
	Imp 5		Imp 6		Imp 7		Imp 8	
	RT	Area	RT	Area	RT	Area	RT	Area
	4,429	55,495	4,821	53,100	5,129	13,308	7,233	139,498
	4,427	55,419	4,819	53,224	5,127	13,323	7,231	139,700
	4,427	55,467	4,819	53,464	5,126	13,343	7,230	140,022
<b>Середнє</b>	<b>4,428</b>	<b>55,460</b>	<b>4,820</b>	<b>53,263</b>	<b>5,127</b>	<b>13,325</b>	<b>7,231</b>	<b>139,740</b>

Джерело: дослідження авторів.

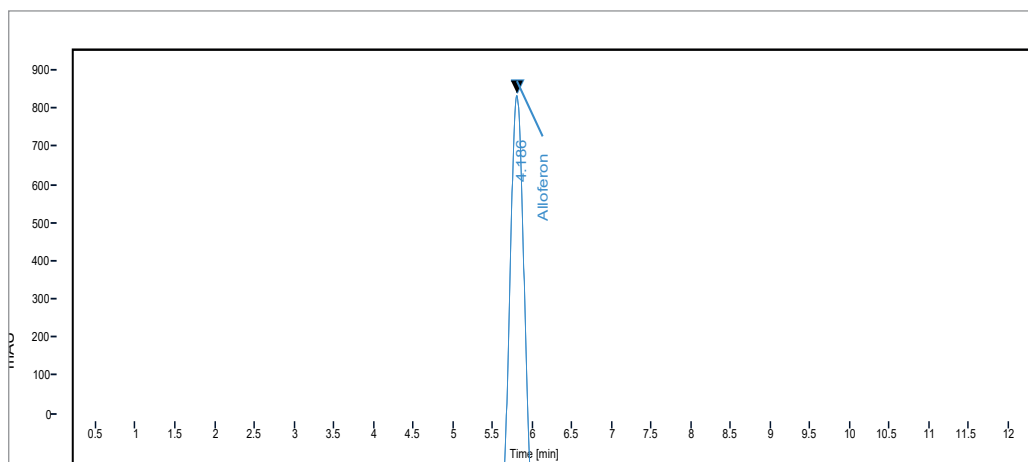


Рис. 1. Хроматограма зразку 2 – субстанції алоферону

За результатами проведених досліджень встановлено, що в зразку субстанції алоферону № 1 міститься 97,7 % алоферону у порівнянні з стандартним зразком, а у субстанції алоферону № 2 – 97,4 % алоферону у порівнянні з стандартним зразком.

Встановлено, що в наданій субстанції №1 виявлено неідентифіковані супровідні домішки, сумарний вміст яких **становить 2,3 % (при допустимій нормі 4 %)** та не міститься ні одної домішки, кількість якої перевищувало 2 %. В наданій на дослідження субстанції №2 виявлено неідентифіковані супровідні домішки, сумарний вміст яких **становить 2,6 % (при допустимій нормі 4 %)** та не міститься ні одної домішки, кількість якої перевищувало 2 %.

Таким чином, нами було адаптовано та модифіковано умови хроматографічного дослідження методом ВЕРХ алоферону субстанцій з використанням колонки ODS Hypersil (C18) 250 ммх 4,6 мм, запропонована рухома фаза – ацетонітрил *P* – трифтороцтова кислота *P* – 2М розчин амонію сульфату *P* – вода *P* (5:0,1:10:84,9, V/V/V). Виявлена присутність неідентифікованих домішок, які можуть утворюватися в результаті неповного синтезу пептидів.