

**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 «Кількісне визначення парацетамолу, фенілефрину, натрію бензоату та хлорфеніраміну малеату у суміші субстанцій методом ВЕРХ».

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)

Голінська Вікторія Олександрівна  
(прізвище та ініціали)

Керівник: проф., д.м.н. Ніженковська І.В.  
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: проф., д.фарм.н. Вельчинська О.В.  
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

**Київ – 2024-2025 р.р.**

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	10
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ АНАЛЬГЕТИКІВ ТА АНТИПРЕТИКІВ.....	10
1.1. Особливості хімічної будови .....	10
1.2. Біологічна активність .....	15
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КОМБІНАЦІЇ ПАРАЦЕТАМОЛ-ФЕНІЛЕФРИН- ХЛОРФЕНІРАМІНУ МАЛЕАТ-НАТРІЮ БЕНЗОАТ.....	17
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості .....	17
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	21
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY .....	40

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГПН – гостра печінкова недостатність

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

НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

РФ – рухома фаза

см<sup>-1</sup> – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЦОГ – циклооксигеназа

ЯМР  $^1\text{H}$  – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$  – градуси Цельсія

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

PG – простагландини

## ВСТУП

*Актуальність теми.* Анальгетики - це лікарські засоби, які знімають біль, зменшуючи запалення або впливають на процеси обробки мозком больового синдрому. Анальгетики класифікуються на інгібітори циклооксигенази (ЦОГ) та засоби центральної дії на основі місця їх дії. Препарати центральної дії більш гідрофобні, ніж інгібітори ЦОГ. Описана поверхнева активність декстпропаксифену, кодієндіону, оксикодону, антипірину, анальгіну, амідопірину [1-5]. Анальгетична дія п'яти наркотичних сполук корелює з їх поверхневою активністю [6-10].

У високих дозах аспірин, саліцилат натрію та нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) пригнічують незалежні від простагландинів (PG) процеси – активність ферментів, синтез протеогліканів хондроцитами, трансмембранні потоки іонів, реакції хіміоатрактантів. Ці ефекти зумовлені здатністю аспіриноподібних препаратів проникати в ліпідний бішар плазматичних мембран, де вони порушують нормальну передачу сигналів та білок-білкові взаємодії. НПЗП асоціюються з цвіттеріонними фосфоліпідами. Міжмолекулярна асоціація, що утворюється, є механізмом, за допомогою якого НПЗП послаблюють гідрофобні бар'єрні властивості відділів шлунково-кишкового тракту. Зв'язування НПЗП з екзогенними цвіттеріонними фосфоліпідами запобігало збільшенню поверхневої змочуваності шару гелю слизу, захистило від шкідливих побічних ефектів препаратів на шлунково-кишковий тракт. Одночасно підвищилася їх ліпідна проникність, жарознижуюча та протизапальна дія.

Більшість протизапальних анальгетиків отримують із трьох сполук: саліцилової кислоти, піразолону та фенацетину (ацетофенетидину). Хімічно вони не пов'язані між собою, мають здатність полегшувати легкий або помірний біль завдяки зменшенню запалення. Ацетилсаліцилова кислота або аспірин є найбільш широко використовуваним легким анальгетиком. Це

прототип протизапальних анальгетиків. Два інших основних типи включають ацетамінофен (фенацетин) і аспіриноподібні препарати або нестероїдні протизапальні препарати (НПЗЗ) включають ібупрофен, напроксен і фенпрофен. Похідні піразолону більше не використовуються в багатьох країнах через їх схильність викликати гостру інфекцію - агранулоцитоз [11-14].

Фармацевтична композиція, яка складається із фенілефрину, парацетамолу та хлорфеніраміну малеату, використовується для приготування лікарського засобу, який відноситься до анальгетиків та антипіретиків. Парацетамол (ацетамінофен) є одним із основних компонентів та активною діючою речовиною таких ліків. Це засіб першої лінії для лікування випадків болю та лихоманки та безпечно використовувати для дітей, а також для вагітних жінок.

У порівнянні з іншими анальгетиками парацетамол має вузький терапевтичний індекс. Токсичність виникає внаслідок помилок у дозуванні, випадкового проковтування та навмисного передозування. Парацетамол може спричинити серйозну гепатотоксичність при застосуванні 10 г. Повторне надтерапевтичне вживання може спричинити токсичність. Ефективний антидот парацетамолу це N-ацетилцистеїн або НАС. Парацетамол є основною причиною гострої печінкової недостатності (ГПН). Важкі випадки можуть вимагати трансплантації печінки або призвести до смерті.

Фенілефрин або (R)-3-[-1-гідрокси-2-(метиламіно)етил]фенол є синтетичним лікарським засобом та активною діючою речовиною у складі лікарських засобів. Відноситься до симпатоміметичних амінів, які діють шляхом прямого впливу на  $\alpha_1$ -адренергічні рецептори. Фенілефрин використовують для тимчасового полегшення закладеності носа, при алергії верхніх дихальних шляхів, при застуді як деконгестантний засіб. Його також застосовують для лікування гіпотензії (агоніст альфа-адренергічних

рецепторів) після наркозу, для полегшення симптомів геморою. Фенілефрин використовується як вазопресор для підвищення артеріального тиску, котра виникла внаслідок септичного шоку, в анестезіологічній або реаніматологічній практиках.

Хлорфенамін (хлорфенірамін), номенклатурна назва за IUPAC 3-(4-хлорфеніл)-N,N-диметил-3-піридин-2-іл-пропан-1-амін відноситься до похідних фенілалкіламіну, є синтетичним антигістамінним лікарським засобом I покоління. В Україні хлорфенамін застосовується виключно у складі комбінованих препаратів для симптоматичного лікування застуди, в той час, як в країнах Європи та США він використовується як монокомпонентний лікарський засіб.

Таким чином, субстанція для виготовлення фармацевтичної композиції у складі фенілефрину, парацетамолу та хлорфеніраміну малеату, а також допоміжних речовин, таких як натрію бензоат (E211), вимагає складної аналітичної процедури для підтвердження чистоти компонентів. Крім того, важливо коректно підібрані умови інструментального дослідження, оскільки всі компоненти суміші мають різну хімічну природу і можуть підлягати хімічній деградації під впливом різних чинників (розчинники, реагенти, температурний режим).

Під час синтезу кожної із субстанцій можливе утворення побічних продуктів синтезу, а під час очистки досліджуваних субстанцій часто залишаються специфічні і неспецифічні домішки.

Державна Фармакопея України регламентує аналіз окремих компонентів випробовуваної суміші – парацетамолу, фенілефрину та не регламентує аналіз хлорфеніраміну малеату. Хлорфенірамін малеат можна проаналізувати за відповідною монографією Європейської Фармакопеї. Супровідні речовини (специфіковані і неспецифіковані домішки) визначають методом рідинної хроматографії (РХ). Крім того, визначають чистоту

субстанцій на присутність енантіомерів, оскільки активним діючим речовинам притаманна ізомерія. Ізомери визначають методом рідинної хроматографії.

Таким чином, виходячи із наявності методик дослідження кожної окремої субстанції методом РХ в ДФУ та Європейській Фармакопеї, постає завдання розробити умови хроматографічного дослідження та модифікувати методики дослідження чистоти багатокомпонентної суміші субстанцій ефективним методом вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Це дозволить розширити коло інструментальних методів дослідження субстанції багатокомпонентних субстанцій та запропонувати нові методики дослідження.

Під час розробки або адаптування умов хроматографування суміші субстанцій парацетамолу, фенілефрину та хлорфеніраміну малеату важливі коректні умови дослідження, оскільки умови хроматографування методом ВЕРХ повинні забезпечити виявлення всіх 3-х компонентів у суміші та запобігти хімічній деградації компонентів субстанції.

Актуальним завданням експериментальної роботи є ідентифікація та кількісне визначення полікомпонентної субстанції хроматографічним методом (УФ-, ВЕРХ) з УФ-детектуванням при різних довжинах хвиль.

*Мета і завдання дослідження.* Метою експериментального дослідження є кількісне визначення суміші активних діючих речовин парацетамолу, фенілефрину та хлорфеніраміну малеату у складі субстанції за допомогою хроматографічного (ВЕРХ) методу з УФ-детектуванням при модифікації довжини хвилі шляхом адаптації методик дослідження та умов дослідження, які дозволять захистити структуру молекул від хімічної деградації.

*Завдання експериментального дослідження:*

- ідентифікувати активні діючі речовини - парацетамол, фенілефрин та хлорфеніраміну малеат та деякі допоміжні речовини у складі субстанції



- за допомогою хроматографічного (ВЕРХ) методу з УФ-детектуванням при модифікації довжини хвилі;
- провести кількісне визначення активних діючих речовин - парацетамол, фенілефрин та хлорфеніраміну малеат у складі субстанції за допомогою хроматографічного (ВЕРХ) методу з УФ-детектуванням при модифікації довжини хвилі;
  - адаптувати методики дослідження та умови дослідження, які дозволять захистити структуру молекул досліджуваних речовин від хімічної деградації;
  - провести інструментальні дослідження випробовуваних зразків у порівнянні зі стандартними та інтерпретувати отримані результати.

*Методи дослідження.* Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – Symmetry300 C18; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

*Новизна та значення одержаних результатів.* Новизна експериментального дослідження полягає у кількісному визначенні субстанцій діючих речовин, які ідентифіковано у складі суміші – парацетамол, фенілефрин та хлорфеніраміну малеат хроматографічними методами в умовах, які дозволять зберегти структуру компонентів від хімічної деградації.

*Апробація результатів дослідження.* Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції

*Публікації:* За матеріалами дослідження подані до публікації тези доповіді на V Науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА» в онлайн форматі 28-29 січня 2025 р., м. Київ, Україна.

*Структура роботи:* загальну кількість сторінок – 40, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 25.

## ОСНОВНА ЧАСТИНА

### РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ АНАЛЬГЕТИКІВ ТА АНТИПРЕТИКІВ

#### 1.1. Особливості хімічної будови

Аспірин, похідне саліцилової кислоти, є м'яким ненаркотичним анальгетиком (знеболювальним) для полегшення головного болю, болю в м'язах і суглобах. Аспірин ефективно знижує температуру, запалення та набряк. Його використовують для лікування ревматоїдного артриту, ревматичної лихоманки та інфекції.

Аспірин зазвичай діє на симптоми захворювання і не змінює тривалість захворювання. Через здатність аспірину пригнічувати вироблення агрегатів тромбоцитів (призводить до припинення кровопостачання ділянок серця або мозку), він використовувався як антикоагулянт при лікуванні нестабільної стенокардії, інсульту або інфаркту [11-19].

Аспірин використовується для профілактики певних захворювань. Щоденний прийом низьких доз аспірину (75–300 мг) був пов'язаний зі знизеним ризиком серцевого нападу або інсульту. Дослідження показали, що тривале застосування низьких доз аспірину потенційно знижує ризик раку товстої кишки і пов'язане зі зниженням ризику смерті від кількох типів раку: форми раку товстої кишки та легенів, рак стравоходу. Тривале вживання низьких доз аспірину призведе до ускладнень - збільшення кровотечі, та не призведе до зниження ризику захворювання, особливо у випадку серцево-судинних захворювань. Багато пацієнтів регулярно приймають аспірин без рекомендації лікаря, що збільшує ймовірність заподіяння шкоди людям.

Аспірин пригнічує вироблення простагландинів, хімічних речовин організму, необхідних для згортання крові, чутливих до болю нервових закінчень. Вживання аспірину викликає у людей алергічну реакцію та

проблеми з шлунково-кишковим трактом. Вживання аспірину впливає на розвиток у дітей (у дітей віком від 2 до 16 років) синдрому Рейє, гострого розладу печінки та центральної нервової системи після вірусних інфекцій (грип та вітряна віспа), віковий розвиток дегенерації жовтої плями (захворювання, що засліплює) у деяких осіб, які регулярно вживають аспірин. Як майже всіх ліків, аспірину слід уникати під час вагітності.

Ацетамінофен використовується для лікування легкого болю - головний біль і біль у суглобах і м'язах, для зниження температури. Ацетамінофен є основним метаболітом ацетаніліду та фенацетину. Ацетамінофен полегшує біль, підвищуючи больовий поріг організму, знижує жар завдяки впливу на центр регулювання температури в мозку. Він пригнічує синтез простагландинів у центральній нервовій системі, але не має протизапальної дії у периферичних нервах.

Ацетамінофен рідше викликає шлунково-кишкові побічні ефекти, ніж аспірин. Його передозування може спричинити смертельне пошкодження печінки. При тривалому застосуванні більш безпечним вважається аспірин. Ацетамінофен вважається гормональним руйнівником. Пренатальний вплив препарату пов'язаний з гіперкінетичними та поведінковими розладами у дітей. Виявлено, що використання ацетамінофену впливає на зміни у сприйнятті ризику та прийняття рішень, а також підвищенням ризикованої поведінки [18-19].

Ібупрофен – це нестероїдний протизапальний препарат, який використовується для лікування болю, лихоманки та запалення. Ібупрофен пригнічує синтез простагландинів, хімічних речовин організму, які сенсibiliзують нервові закінчення. Він може подразнювати шлунково-кишковий тракт. Ібупрофен не рекомендується для використання дітьми віком до 12 років, його не слід використовувати під час вагітності, окрім як під наглядом лікаря (рис. 1.1.1) [20-23].

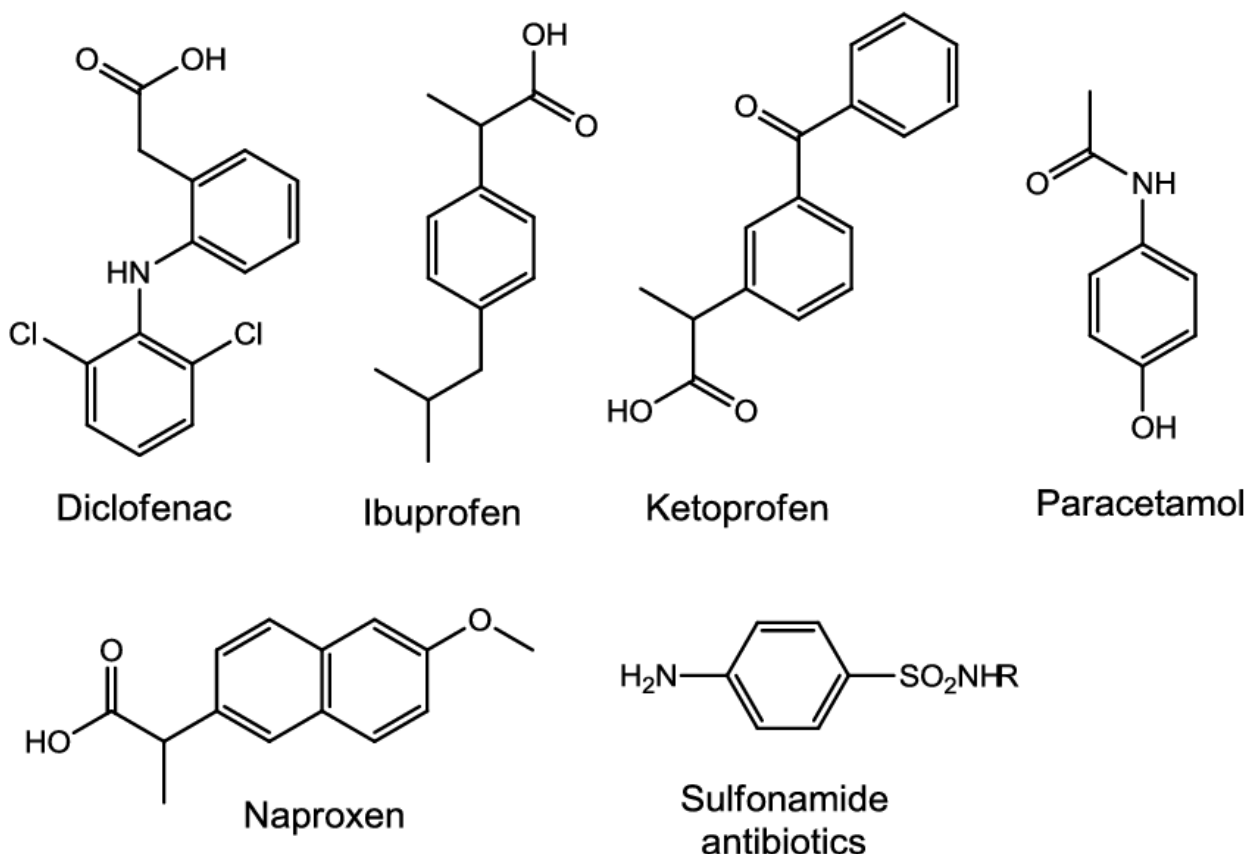


Рисунок 1.1.1. Хімічні формули анальгетиків та антипіретиків.

Парацетамол, опіоїд, НПЗП. Не спостерігалось клінічно важливої різниці між комбінованим лікуванням парацетамолом, опіоїдом та НПЗП порівняно з використанням тільки НПЗП щодо зменшення болю. Застосування НПЗП було пов'язано з важливою перевагою порівняно з комбінованим лікуванням, оскільки виникали побічні ефекти (від дуже низького до помірного, n=60).

НПЗП, парацетамол. Дослідження показали важливу перевагу НПЗП порівняно з парацетамолом щодо болю. Парацетамол мав клінічно важливу перевагу порівняно з НПЗП (від низької до дуже низької якості, n=96).

НПЗП, плацебо. Встановлено, що НПЗП мають клінічно важливу користь. Існували докази впливу НПЗП порівняно з плацебо на біль, скутість. Деякі вимірювання болю, скутості показали перевагу НПЗП порівняно з плацебо. Інші показники тих результатів не виявили клінічно важливих відмінностей

(діапазон n=3320-5394; помірний до дуже низької якості). НПЗЗ асоціювалися з клінічно значущим підвищенням частоти серйозних шлунково-кишкових випадків порівняно з плацебо (дуже низька якість; 9 досліджень; n=5072). Не було виявлено клінічно важливої різниці щодо смертності, побічних явищ із боку серця та судин, побічні явища (діапазон n=2895–10288; дуже низька якість).

Трициклічні антидепресанти проти плацебо. Порівнювали трициклічні антидепресанти з плацебо. Показали, що трициклічні антидепресанти мають клінічну перевагу у вигляді побічних ефектів (дуже низька якість; n=36).

Парацетамол + опіоїд проти плацебо.

Дослідження показали відсутність клінічно важливої різниці між парацетамолом плюс опіоїд і плацебо з точки зору болю (дуже низька якість; n=277). Парацетамол плюс опіоїд мав побічні ефекти (низька якість; 2 дослідження; n=317).

Практика поліфармакології ґрунтується на введенні у дослідження двох або більше препаратів разом: одночасний прийом двох або більше препаратів, спільне формування двох або більше агентів в одній таблетці, розробка гібридних молекулярних утворень, які здатні модулювати кілька мішеней. Це є шляхи мультилікарської терапії.

Одночасне застосування більш, ніж одного препарату для хіміотерапії вимагає від пацієнта високої комплаєнсу. Сучасна форма поліфармакології популярна у формі гібридних молекул. Цей підхід називають багатолігандним. Синтез гібридних молекул шляхом поєднання різних біологічно значущих фрагментів перебуває у стадії постійної ескалації. Необхідно зазначити біологічний потенціал гібридних молекул, які виявляють протигрибкову, протитуберкульозну, протималярійну, протизапальну та протиракову дію (рис. 1.1.2).

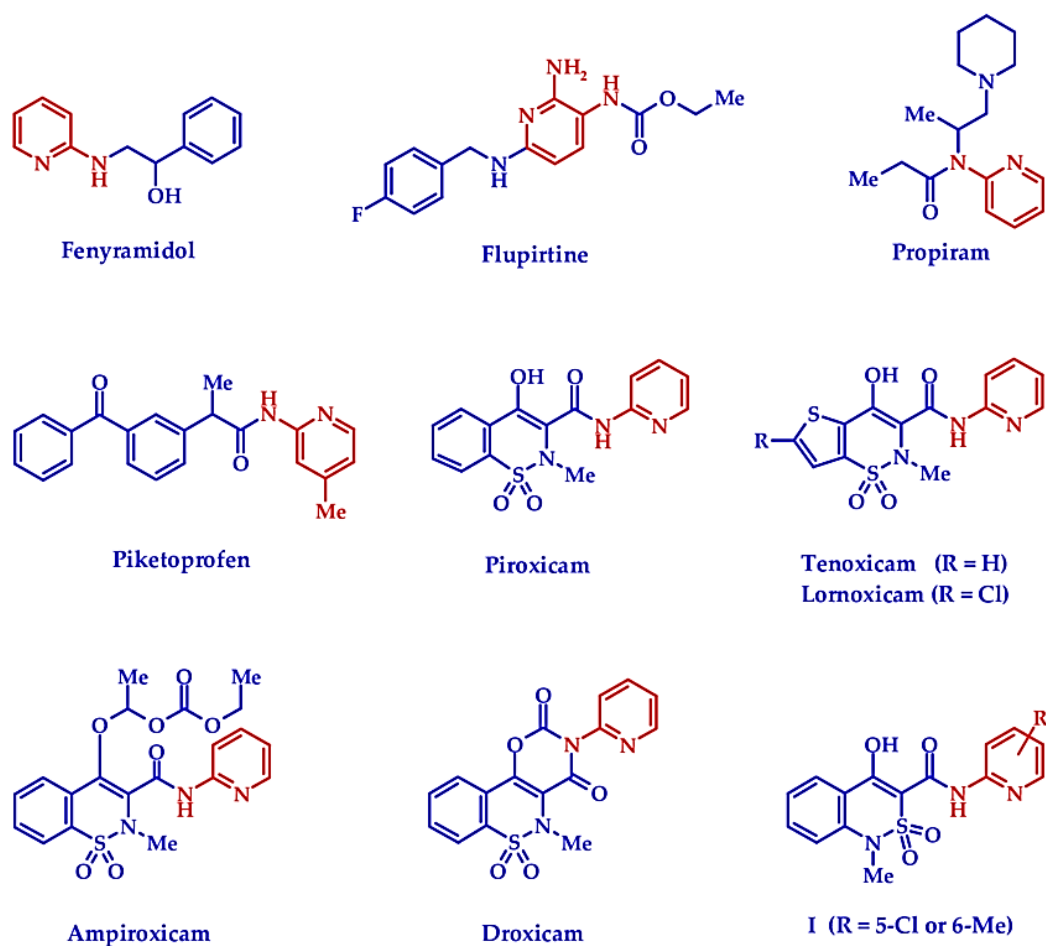


Рисунок 1.1.2. Хімічні формули НПЗП.

Кожен тип фармакологічної одиниці поділяється на два підрозділи: гібриди, синтезовані з фармакофорів природних продуктів та лише синтетично отримані фармакофорні групи (рис. 1.1.3).

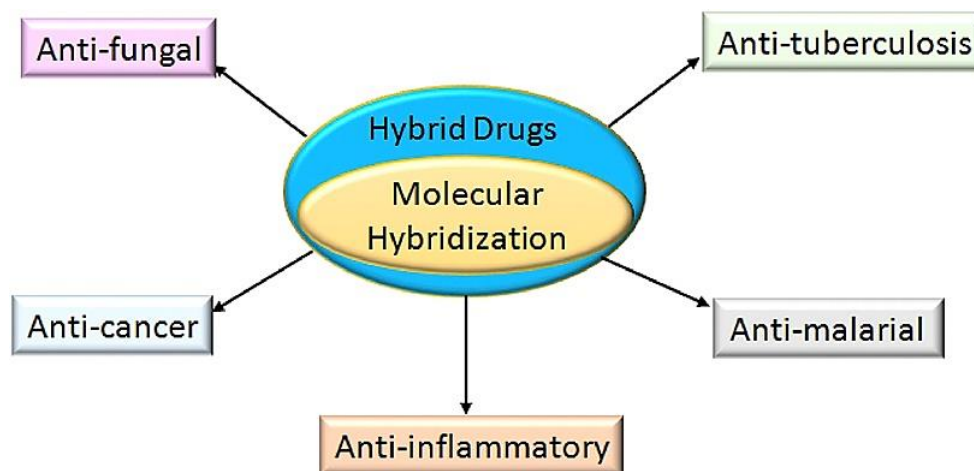


Рисунок 1.1.3. Гібридні ліки.

## 1.2. Біологічна активність

Синтез, анальгетичні, протизапальні та антимікробні дослідження 2,4-дихлор-5-фторфенілвмісних тіазолотриазолів (рис. 1.2.1).

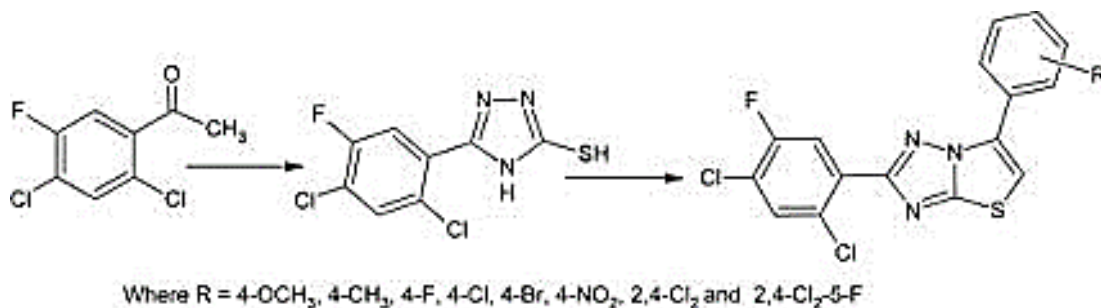


Рисунок 1.2.1. Синтез 2,4-дихлор-5-фторфенілвмісних тіазолотриазолів.

Деякі похідні піразолону (дипірон і фенілбутазон) мають анальгетичну та протизапальну дію. Але побічні ефекти обмежують клінічне застосування цих препаратів. Похідні піридазину структурно пов'язані з похідними піразолону та піридазину. Багато похідних 3(2H)-піридазину використовують як анальгетики та протизапальні засоби без шлунково-кишкових побічних ефектів (рис. 1.2.2).

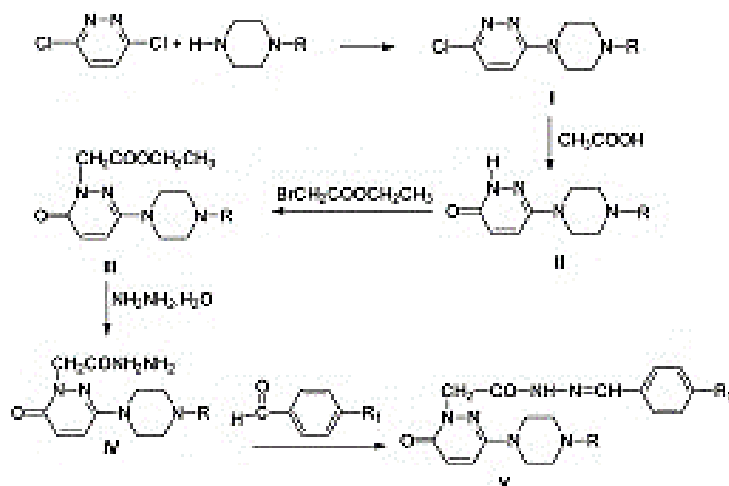


Рисунок 1.2.2. Синтез похідних піридазину.

Синтезовані похідні виявляють кращу анальгетичну активність, якщо несуть вуглецевий ланцюг між атомом азоту лактаму та амінним компонентом

бічного ланцюгу. Це призвело до розробки нових структурно споріднених похідних із скаффолдом 6-(заміщення арилпіперазиніл)-3(2H)-піридазину. Анальгетичну та протизапальну активність досліджували для зсполук із застосуванням тесту на звивання, викликаного фенілбензохіноном (тест РВQ), тесту на набряк стопи, викликаного карагенаном (тест СРЕ). Усі сполуки перевіряли на подразнюючу та ульцерогенну дію на слизову оболонку шлунка (рис. 1.2.3).

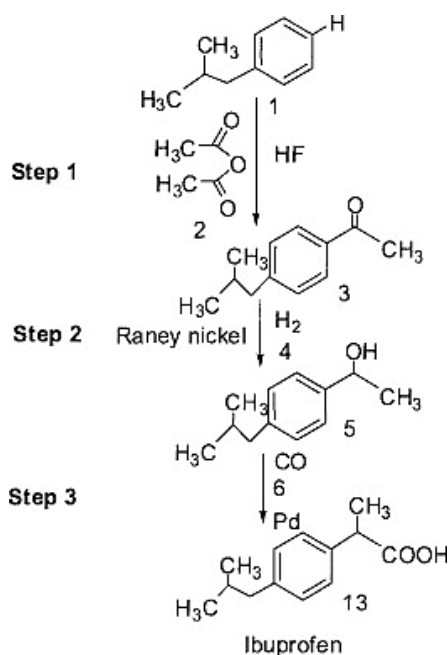


Рисунок 1.2.3. Синтез ібупрофену.

Парацетамол – це препарат вибору для зниження температури. У лікування лихоманки переваги парацетамолу не доведено. При застосуванні парацетамол може полегшити закладеність носа, нежить. З іншими симптомами застуди – біль у горлі, нездужання, чхання, кашель парацетамол не допоможе. Парацетамол не дав результатів при лікуванні лихоманки денге. Він призвів до потенційного пошкодження печінки. Ефективність парацетамолу у дітей при лихоманці не описана. Парацетамол не запобігає фебрильним судомам. Результати досліджень показали, що парацетамол менш ефективний, ніж ібупрофен. Загострення астми спостерігалось з однаковою частотою для цих препаратів. Не рекомендоване одночасне застосування парацетамолу та ібупрофену дітям віком до 5 років.



## РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КОМБІНАЦІЇ ПАРАЦЕТАМОЛ-ФЕНІЛЕФРИН-ХЛОРФЕНІРАМІНУ МАЛЕАТ-НАТРІЮ БЕНЗОАТ

### 2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

На виробництві парацетамол синтезують із вихідної сполуки – фенолу. Фенол вступає у реакцію нітрування з утворенням суміші: це орто- і пара-продукти нітротолуолу. Орто-ізомер відганяють із реакційної суміші перегонкою з водяною парою. Пара-нітро групу відновлюють до аміно-групи. Проводять ацетилювання з утворенням парацетамолу (рис.2.1.1).

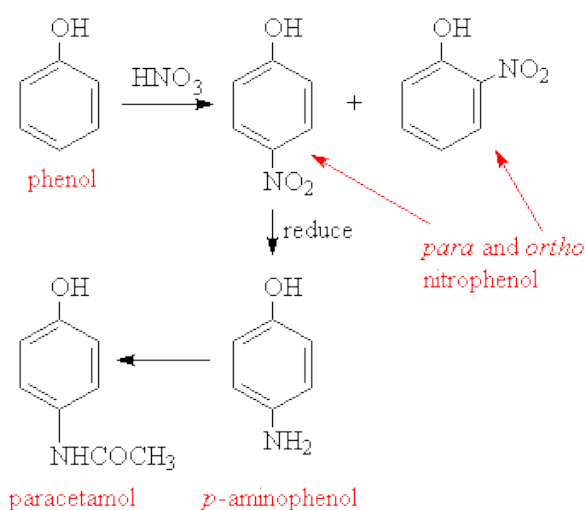
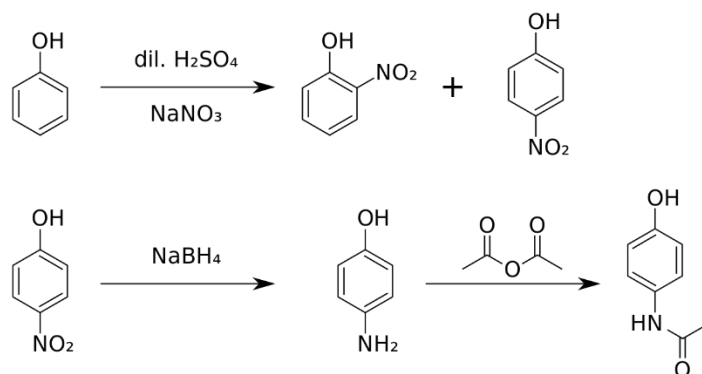


Рисунок 2.1.1. Схема виробництва парацетамолу.

Лабораторний метод синтезу. Синтезують із фенолу, який з сульфатною та нітратною кислотами утворює два продукти нітрування. Для відновлення використовують натрійборгідрид. Відновлюють продукти до аміно похідних. Ацетилюють за допомогою ацетатного ангідриду (рис. 2.1.2).





незаміщеною аміно групою (рис. 2.1.5).

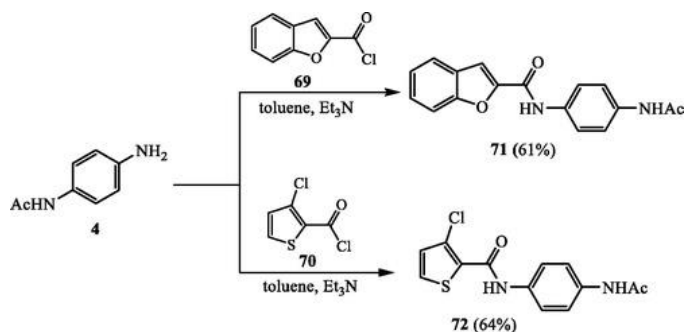


Рисунок 2.1.5. Реакції конденсації з гетероциклами.

Реакція Ріттера. Виконується регіоселективна електрохімічна реакція при C(sp<sup>2</sup>)-Н фенолу. Цей метод відноситься до екологічно безпечних та прямих синтезів парацетамолу. Реакцію проводять в умовах відсутності екзогенних окислювачів і каталізаторів. Метод може бути застосований до різноманітних фенолів та є альтернативним методом синтезу парацетамолу (рис. 2.1.6).

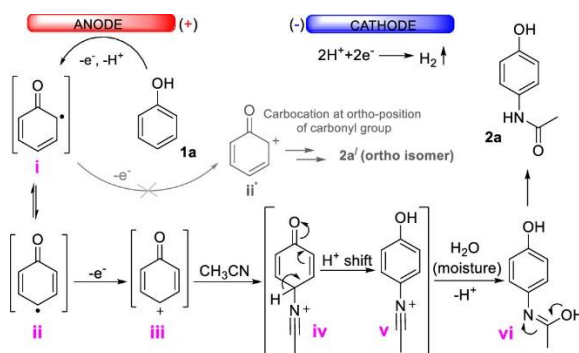


Рисунок 2.1.6. Парацетамол. Регіоселективний синтез.

Випадає осад оцтового ангідриду, який перекристалізують та отримують очищені кристали ацетаніліду (рис.2.1.7).

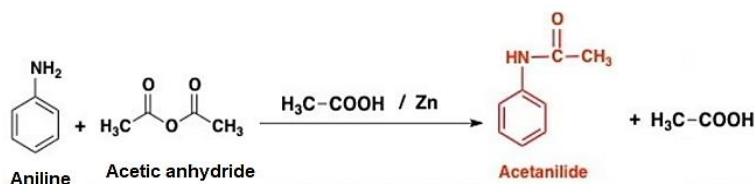


Рисунок 2.1.7. Реакція синтезу ацетаніліду.

Описується асиметричне гідрування гідрохлориду 3-бензилокси-2-(N-бензил-N-метил)-аміноацетофенону воднем у присутності каталізатору [Rh(COD)Cl]<sub>2</sub>/(2R,4R)-4-(дициклогексилфосфіно)-2-(дифенілфосфінометил)-N-метиламінопіролідін. Після фільтрування та концентрування реакційної суміші захисна група бензильного Нітрогену відщеплюється. Окрім L-енантіомеру, D-енантіомер отримують у пропорції 7,5% як домішку. Для реакції необхідно використовувати каталізатор у співвідношенні 1:2000. Описано енантіоселективний синтез з 3-гідроксибензальдегіду з використанням процедури асиметричного дигідроксилування Шарплеса.

Для отримання оптимальних результатів аналізу ВЕРХ фенілефрину вимірюють поглинання на довжині хвилі, яка відповідає максимуму поглинання сполуки. УФ-спектр може допомогти у виборі відповідної довжини хвилі для аналізу. Якщо проводити виявлення нижче 230 нм, то краще використовувати ацетонітрил і воду як рухомі фази (з низькою УФ-прозорістю), з фосфорною кислотою або її солями, сульфатною кислотою та TFA - буферами (рис.2.1.8).

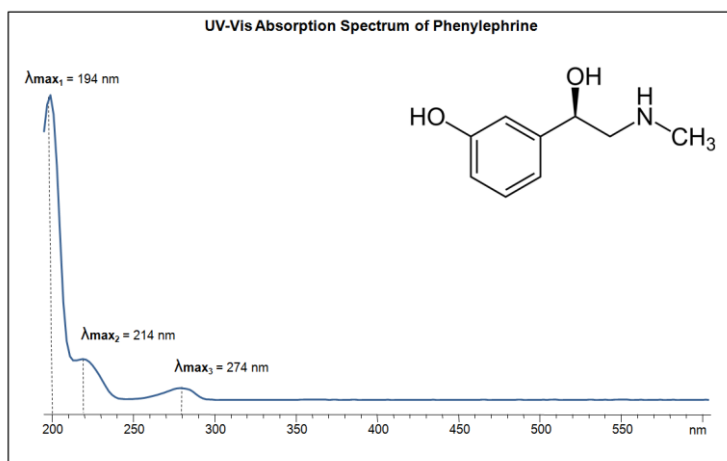


Рисунок 2.1.8. УФ-спектр Фенілефрину.

### РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України [24] та Європейська Фармакопея [25] не регламентують аналіз суміші парацетамолу, фенілефрину та хлорфеніраміну малеату. ДФУ регламентує аналіз окремих компонентів випробовуваної суміші – парацетамолу, фенілефрину та не регламентує аналіз хлорфеніраміну малеату. Аналіз хлорфеніраміну малеату виконують за відповідною монографією Європейської Фармакопеї. Специфіковані і неспецифіковані домішки у складі субстанцій парацетамолу, фенілефрину та хлорфеніраміну малеату визначають методом рідинної хроматографії (РХ).

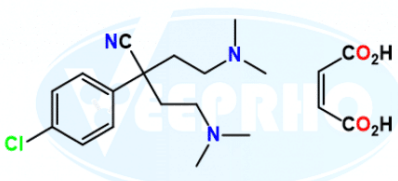
В даній роботі процедура дослідження методом ВЕРХ субстанції із трьох компонентів - парацетамолу, фенілефрину та хлорфеніраміну малеату виконується та описується вперше.

*Хлорфеніраміну малеат (Євр.Фарм.).* Чистота. 98.5-101.0%, білого або майже білого кольору кристалічний порошок. Ідентифікацію виконують за температурою плавлення (2.2.14) – 130-135°C, методом ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), визначення показнику оптичного обертання, ТШХ. Супровідні домішки виявляють методом РХ (2.2.29).

*Рухома фаза за Євр. Фарм.* ацетонітрил Р – амонію дигідрофосфат Р (20:80), значення рН 3.0 – за допомогою фосфатної кислоти. Регламентовано специфіковані домішки: малеїнова кислота, домішки А, В, С, D.

Детектування спектрофотометричне при 225 нм.

Серед регламентованих Eur. Ph. специфіковані домішки

	Домішка А
---	-----------

	Домішка В - малеат
	Домішка С
	Домішка D

Рисунок 3.1. Специфіковані домішки *Хлорфеніраміну малеату* (Євр.Фарм.).

**Кількісне визначення:** розчиняють субстанцію (0,25 г) у суміші р-ну 0,1 М кислоти хлористоводневої *P*, етанолу (96%) *P*. Титрування потенціометричне 0,1 М р-ном натрію гідроксиду.

**Розрахунок:** 1 мл 0,1 М р-ну натрію гідроксиду еквівалентний 35,53 мг *Хлорфеніраміну малеату*.

*Парацетамол (ДФУ).* Чистота. 99.0-101.0%, білого або майже білого кольору кристалічний порошок. Ідентифікацію виконують за температурою плавлення (2.2.14) – 168-172°C, методом ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), визначення показнику питомого обертання. Супровідні домішки виявляють

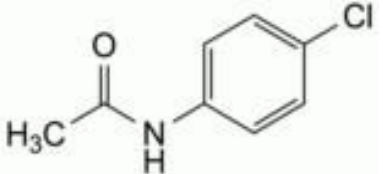
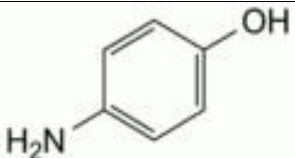
методом РХ (2.2.29).

Рухома фаза за ДФУ: динатрію гідрофосфат *P* – натрію гідрофосфат *P* - метанол *P* з тетрабутиламонію гідроксидом *P* (375:375:258). Регламентовано специфіковані домішки: малеїнова кислота, домішки А, В, С, D, H, J, E, G, I, F - 4-нітрофенол, К – 4-амінофенол.

Детектування спектрофотометричне при 245 нм.

Еur.Ph. 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	IUPAC назва	Формула
<i>J</i> домішка	<i>N</i> -(4-хлорофеніл)ацетамід або хлороацетанлід	
<i>K</i> домішка	4-амінофенол	

**Кількісне визначення:** розчиняють субстанцію (0,3 г) у суміші р-ну кислоти сульфатної *P*, води *P*, додають льод, хлористоводневу кислоту розведену *P*, фероїн *P*. Титрування 0,1 М р-ном церію сульфату до зеленуватого забарвлення.

**Розрахунок:** 1 мл 0,1 М р-ну церію сульфату відповідає 7,56 мг Парацетамолу.

Фенілефрину гідрохлорид (ДФУ). Чистота. 98.5-101.0%, білого або майже білого кольору кристалічний порошок. Ідентифікацію виконують за температурою плавлення (2.2.14) – 171-176°C, методом ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), визначення показнику оптичного обертання. Супровідні домішки виявляють методом РХ (2.2.29).

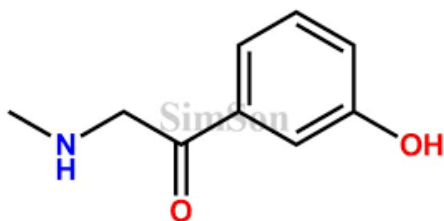
Буферний розчин рН 2.8: готують із натрію октансульфо кислоти моногідрату Р у воді Р, доводять значення рН до 2.8 фосфатною кислотою розведеною Р.

Суміш розчинників: рухома фаза А – рухома фаза В (20:80).

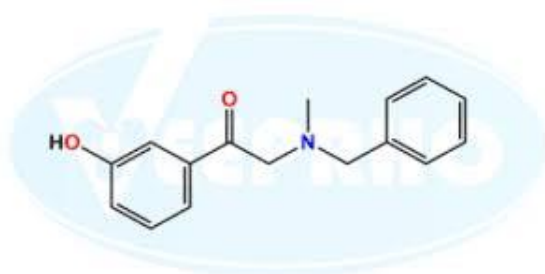
Рухома фаза А: ацетонітрил РІ – буферний розчин рН 2.8 (10:90).

Рухома фаза В: буферний розчин рН 2.8 – ацетонітрил РІ (10:90).

Регламентовано специфіковані домішки: С, Е (рис. 3.2):



Домішка С



Домішка Е

Рисунок 3.2. Специфіковані домішки С, Е Фенілефрину (ДФУ).



Детектування спектрофотометричне при 215 нм.

**Кількісне визначення:** розчиняють субстанцію (0,15 г) у суміші р-ну кислоти хлористоводневої та етанолу (96%) Р. Титрування 0,1 М р-ном натрію гідроксиду етанольним потенціометрично (2.2.20).

**Розрахунок:** об'єм титранту, 1 мл 0,1 М р-ну натрію гідроксиду етанольного відповідає 20,37 мг Фенілефрину.

Нами виконано хроматографічне дослідження методом ВЕРХ субстанції, яка містить одночасно три основних компонента - парацетамол, фенілефрин та хлорфеніраміну малеат з використанням базових умов хроматографування і методик дослідження для кожного компонента окремо, які описано в Європейській Фармакопеї та ДФУ з використанням методу дослідження методом РХ.

#### Матеріали та методи.

Хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – Symmetry300 C18, 250x4,6x5. Детектування – УФ при двох довжинах хвиль 305 нм та 214 нм.

Умови проведення хроматографування:

- потік – 0,6 мл/хв
- об'єм інжекції – 25 мкл
- температура колонки – 40°С
- рухома фаза А: 1,1 г натрію октансульфонат на 1000 мл води Р, рН розчину доводять до 3,0 за допомогою фосфорної кислоти
- рухома фаза В – метанол.

Розроблено градієнти (табл. 3.2).

Таблиця 3.2. Градієнти:

Час	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
-----	----------------------------	----------------------------

0,0	60	40
2,0	60	40
7,0	34	66
13,0	34	66
16,0	20	80
17,0	60	40
22,0	60	40

Час хроматографування – 22 хв.

Використовували розчини субстанції з кінцевою концентрацією парацетамолу 1,25 мг/мл, фенілефрину, 0,30 мг/мл , натрію бензоату 0,30 мг/мл та хлорфеніраміну малеату 0,05 мг/мл.

Приготування випробувального розчину – розчиняють в 100 мл рухомій фазі 1,0 г субстанції, що містить в своєму складі парацетамол, фенілефрін, натрію бензоат та хлорфеніраміну малеат (концентрація діючих речовин в 1,0 г субстанції - 500 мг парацетамолу, 100 мг фенілефрину, 100 мг натрію бензоату та 50 мг хлорфеніраміну малеату)

**Стандарти - фармакопейні стандартні зразки Державної Фармакопеї України** з концентрацією парацетамолу 0,50 мг/мл, фенілефрину 0,10 мг/мл, натрію бензоату 0,10 мг/мл та хлорфеніраміну малеату 0,05 мг/мл в рухомій фазі.

Придатність хроматографічної системи. Хроматографічна система вважається придатною тоді, якщо виконуються наступні умови:

- відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків парацетамолу, фенілефрину, натрію бензоату та хлорфеніраміну малеату при 5 заколах стандартного зразка становить не більше 2,0%
- ефективність хроматографічної колонки для зазначених компонентів повинна бути не менше 2000 теоретичних тарілок

- коефіцієнт симетрії основного піку речовин (тейлінг) не має бути більшим 2,0

Комп'ютерний аналіз - програма OpenLab CDS.

**Використовували реактиви:**

кислоту ортофосфатну (88% м/м, чистоти AR),

метанол (чистоти для ВЕРХ),

воду (чистоти для ВЕРХ),

фосфорну кислоту (чистоти для ВЕРХ),

натрію октансульфонат (чистоти для ВЕРХ).

**Результати та обговорення.**

Хроматограми стандартних зразків записано при 305 нм та 214 нм (рис. 3.3, 3.4; табл. 3.3, 3.4):



Рисунок 3.3. Стандартний зразок (305 нм).

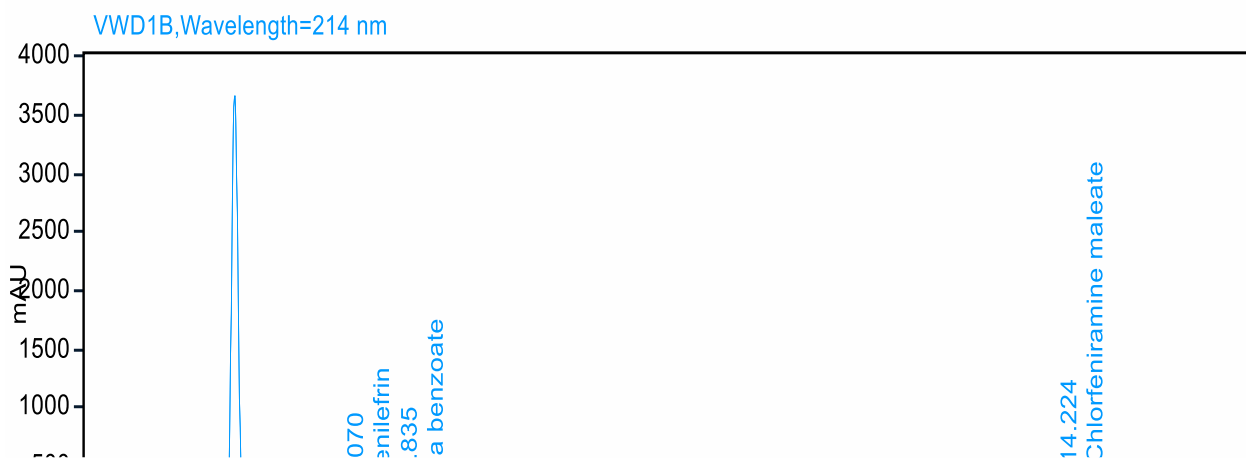


Рисунок 3.4. Стандартний зразок (214 нм).

Записано хроматограми випробовуваних зразків (рис. 3.5, 3.6):



Рисунок 3.5. Випробовуваний зразок (305 нм): парацетамол ( $R_t=2,162$  хв).

При детектуванні при 305 нм спостерігався пік парацетамолу, сигнали інших компонентів суміші не спостерігалися.

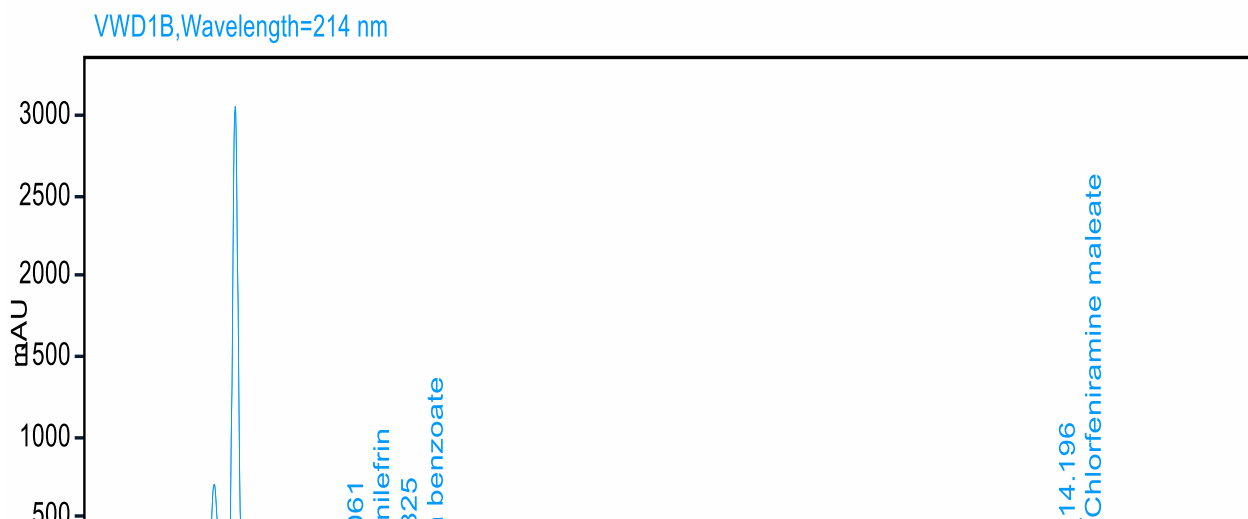


Рисунок 3.6. Випробовуваний зразок (214 нм): парацетамол ( $R_t=2,162$  хв), фенілефрин ( $R_t=4,061$  хв), натрію бензоат ( $R_t=4,825$  хв), хлорфеніраміну малеат ( $R_t=14,196$  хв).

При детектуванні при 214 нм спостерігалися піки парацетамолу, фенілефрину, хлорфеніраміну малеату, а також допоміжної речовини – натрію бензоату.

Таким чином дослідження альтернативних умов хроматографування методом ВЕРХ випробовуваної суміші раніше не проводилися, а отримані результати продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення компонентів субстанції при УФ-детектуванні 214 нм.

Таблиці 3.3, 3.4. Стандартні та випробовувані зразки:

<b>Стандарт (305 нм)</b>				
	<b>Парацетамол</b>			
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>T</i> ( $\leq 2.0$ )	<i>N</i> ( $\geq 2000$ )
	2,151	1851,849	1,1	3492
	2,151	1853,140	1,1	3507
	2,151	1869,770	1,0	3502
	2,152	1864,986	1,1	3498
	2,152	1866,038	1,1	3484
<b>Середнє</b>	<b>2,151</b>	<b>1861,157</b>	<b>1,1</b>	<b>3496</b>
<b>SD</b>	<b>0,001</b>	<b>8,118</b>		
<b>RSD(<math>\leq 2\%</math>)</b>	<b>0,03%</b>	<b>0,44%</b>		

<b>Стандарт (214 нм)</b>												
	<b>Фенілефрину гідрохлорид</b>				<b>На бензоат</b>				<b>Хлорфеніраміну малеат</b>			
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>T</i> ( $\leq 2.0$ )	<i>N</i> ( $\geq 2000$ )	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>T</i> ( $\leq 2.0$ )	<i>N</i> ( $\geq 2000$ )	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>T</i> ( $\leq 2.0$ )	<i>N</i> ( $\geq 2000$ )
	4,070	1455,805	1,1	4342	4,835	1394,315	1,1	11043	14,224	1763,020	1,0	13
	4,077	1456,723	1,1	4389	4,823	1395,672	1,1	11008	14,150	1764,198	1,0	13
	4,061	1455,652	1,2	4331	4,806	1395,686	1,1	10905	14,103	1759,263	1,0	13
	4,070	1459,255	1,2	4333	4,817	1395,264	1,1	10933	14,176	1756,758	1,1	13
	4,062	1458,462	1,2	4338	4,811	1396,134	1,1	10924	14,196	1756,874	1,0	13
<b>Середнє</b>	<b>4,068</b>	<b>1457,179</b>	<b>1,1</b>	<b>4347</b>	<b>4,818</b>	<b>1395,414</b>	<b>1,1</b>	<b>10963</b>	<b>14,170</b>	<b>1760,023</b>	<b>1,0</b>	<b>13</b>
<b>SD</b>	<b>0,007</b>	<b>1,611</b>			<b>0,011</b>	<b>0,687</b>			<b>0,046</b>	<b>3,448</b>		
<b>RSD(<math>\leq 2\%</math>)</b>	<b>0,16%</b>	<b>0,11%</b>			<b>0,23%</b>	<b>0,05%</b>			<b>0,33%</b>	<b>0,20%</b>		

<b>Зразок (305 нм)</b>		
	<b>Парацетамол</b>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	2,152	741,794
	2,152	741,582
	2,151	740,279
<b>Середнє</b>	<b>2,152</b>	<b>741,218</b>

<b>Зразок (214 нм)</b>			
	<b>Фенілефрину гідрохлорид</b>	<b>На бензоат</b>	<b>Хлорфеніраміну малеат</b>

	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	4,061	548,253	4,825	487,128	14,196	1754,722
	4,066	548,844	4,817	486,832	14,193	1760,289
	4,063	548,258	4,821	485,760	14,207	1756,095
<b>Середнє</b>	<b>4,063</b>	<b>548,452</b>	<b>4,821</b>	<b>486,573</b>	<b>14,199</b>	<b>1757,035</b>

*В таблицях:*

*T* - тейлінг (форма піку, часто буває менше 2),

*N* – кількість теоретичних тарілок (чим більше теоретичних тарілок, тим вища ефективність розділення компонентів у колонці),

*RSD* - відносне стандартне відхилення, згідно Фармакопеї, має бути менше 2),

*SD* –стандартне відхилення, використовується для визначення *RSD*)

Проведено аналіз субстанції, що містить у своєму складі парацетамол, фенілефрін, натрію бензоат та хлорфеніраміну малеат. Дослідження проводили при двох довжинах хвилі 305 нм для парацетамолу та 214 нм для фенілефрину, натрію бензоату та хлорфеніраміну малеату.

*В результаті проведених досліджень встановлено, що надана на дослідження субстанція містить в своєму складі парацетамол з концентрацією 497,8 мг в 1,0 г субстанції, фенілефрин з концентрацією 112,9 мг в 1,0 г субстанції, натрію бензоат з концентрацією 104,6 мг в 1,0 г субстанції та хлорфеніраміну малеат з концентрацією 49,9 мг в 1,0 г субстанції, ідентифікація та кількісне визначення проводилося за двома довжинами хвиль.*

**Розрахунок:**

$$X = \frac{S_{test} \times (m_{st} \times X_{st})}{S_{st}}$$

де:

$S_{test}$  – площа піка теста

$m_{st}$  – наважка стандарту, мг

$X_{st}$  – вміст діючої речовини в стандарті (для розрахунку беремо 99,9, це чистота стандарту)

$S_{st}$  – площа піка стандарту

*Таким чином дослідження альтернативних умов хроматографування методом ВЕРХ випробовуваної суміші раніше не проводилися, а отримані результати продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення компонентів субстанції методом ВЕРХ при УФ-детектуванні 214 нм.*

Парацетамол Фенілефрин гідрохлорид, Хлорфеніраміну малеат (ДФУ, Eur.Ph.) Метод РХ	Субстанція з активними діючими речовинами: Парацетамол Фенілефрин, Хлорфеніраміну малеат та допоміжними речовинами Метод ВЕРХ
<b>УФ-детектування:</b> Парацетамол 245 нм Фенілефрин гідрохлорид 215 нм Хлорфеніраміну малеат 225 нм	<b>УФ-детектування (суміш):</b> <b>305 нм</b> Парацетамол <b>214 нм</b> Парацетамол, Фенілефрин гідрохлорид, Хлорфеніраміну малеат, Натрію бензоат

Умови хроматографування	
РХ	ВЕРХ
<p><b>Хлорфеніраміну малеат</b></p> <p><i>Рухома фаза за Євр. Фарм. ацетонітрил Р – амонію дигідрофосфат Р (20:80), значення рН 3.0 – за допомогою фосфатної кислоти.</i></p> <p><b>Парацетамол</b></p> <p><i>Рухома фаза за ДФУ: динатрію гідрофосфат Р – натрію гідрофосфат Р - метанол Р з тетрабутиламмонію гідроксидом Р (375:375:258).</i></p> <p><b>Фенілефрин гідрохлорид</b></p> <p><i>Буферний розчин рН 2.8: готують із натрію октансульфо кислоти моногідрату Р у воді Р, доводять значення рН до 2.8 фосфатною кислотою розведеною Р.</i></p> <p><i>Суміш розчинників: рухома фаза А – рухома фаза В (20:80).</i></p> <p><i>Рухома фаза А: ацетонітрил Р1 – буферний розчин рН 2.8 (10:90).</i></p> <p><i>Рухома фаза В: буферний розчин рН 2.8 – ацетонітрил Р1 (10:90).</i></p>	<p><b>Суміш субстанцій:</b></p> <p><i>рухома фаза А: 1,1 г натрію октансульфонат на 1000 мл води Р, рН розчину доводять до 3,0 за допомогою фосфорної кислоти</i></p> <p><i>рухома фаза В – метанол</i></p>
Кількісне визначення	



### **Титриметрично**

#### **Хлорфеніраміну малеат.**

розчиняють субстанцію (0,25 г) у суміші р-ну 0,1 М кислоти хлористоводневої Р, етанолу (96%) Р. Титрування потенціометричне 0,1 М р-ном натрію гідроксиду. **Розрахунок: 1 мл 0,1 М р-ну натрію гідроксиду еквівалентний 35,53 мг Хлорфеніраміну малеату.**

#### **Парацетамол**

розчиняють субстанцію (0,3 г) у суміші р-ну кислоти сульфатної Р, води Р, додають льод, хлористоводневу кислоту розведену Р, фероїн Р. Титрування 0,1 М р-ном церію сульфату до зеленуватого забарвлення.

**Розрахунок: 1 мл 0,1 М р-ну церію сульфату відповідає 7,56 мг**

**Парацетамолу.**

#### **Фенілефрин г/х**

розчиняють субстанцію (0,15 г) у суміші р-ну кислоти хлористоводневої та етанолу

### **Спектрофотометрично**

**за двома довжинами хвиль 305 нм, 214 нм.**

парацетамол з концентрацією 497,8 мг в 1,0 г субстанції, фенілефрин з концентрацією 112,9 мг в 1,0 г субстанції, натрію бензоат з концентрацією 104,6 мг в 1,0 г субстанції та хлорфеніраміну малеат з концентрацією 49,9 мг в 1,0 г субстанції

<p>(96%) P. Титрування 0,1 М р-ном натрію гідроксиду етанольним потенціометрично (2.2.20).  <b>Розрахунок: об'єм титранту, 1 мл 0,1 М р-ну натрію гідроксиду етанольного відповідає 20,37 мг Фенілефрину.</b></p>	
<p><b>Фенілефрин г/х</b></p> <p>Буферний розчин рН 2.8: готують із натрію октансульфо кислоти моногідрату P у воді P, доводять значення рН до 2.8 фосфатною кислотою розведеною P.</p>	<p>Буферний розчин –</p>

## ВИСНОВКИ

1. Досліджено альтернативні умови хроматографування методом ВЕРХ випробовуваної суміші субстанцій – діючих активних речовин Парацетамол, Фенілефрин, Хлорфеніраміну малеат, які продемонстрували вищу ідентифікаційну здатність під час визначення компонентів субстанції методом ВЕРХ при УФ-детектуванні 214 нм.
2. УФ-детектування випробовуваної суміші проводили при двох довжинах хвиль: 305 нм (ідентифікація Парацетамолу), 214 нм (ідентифікація Парацетамолу, Фенілефрину, Хлорфеніраміну малеату, а також допоміжної речовини - Натрію бензоату).
3. Запропоновано модифікації умов хроматографування: *рухома фаза А*: 1,1 г натрію октансульфонат на 1000 мл води Р, рН розчину доводять до 3,0 за допомогою фосфорної кислоти, *рухома фаза В* – метанол; УФ-детектування при 305 та 214 нм, відсутність буферного розчину.
4. Кількісне визначення проводилося спектрофотометрично за двома довжинами хвиль 305 нм, 214 нм, знайдено, що суміш містить: парацетамол з концентрацією 497,8 мг в 1,0 г субстанції, фенілефрин з концентрацією 112,9 мг в 1,0 г субстанції, натрію бензоат з концентрацією 104,6 мг в 1,0 г субстанції та хлорфеніраміну малеат з концентрацією 49,9 мг в 1,0 г субстанції

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Silva MLS, Garcia MBQ, Lima JLFC, Barrado E (2006) Flow system with electrochemical detection for determination of paracetamol in pharmaceutical formulations. *Port Electrochim Acta* 24:261–271.
2. Ozcan L, Sahin Y (2007) Determination of paracetamol based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode. *Sens Actuat B* 127:362–369.
3. Shahrokhian S, Asadian E (2010) Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid, acetaminophen and isoniazid using thionine immobilized multi-walled carbon nanotube modified carbon paste electrode. *Electrochim Acta* 55:3621–3627.
4. Mazloum-Ardakani M, Beitollahi H, Kazem Amini M, Mirkhalaf F, Abdollahi-Alibeik M (2010) New strategy for simultaneous and selective voltammetric determination of norepinephrine, acetaminophen and folic acid using ZrO<sub>2</sub> nanoparticles-modified carbon paste electrode. *Sens and Actuat B* 151:243–249.
5. *Multi-Target Drug Design Using Chem-Bioinformatic Approaches*, Roy, K., Ed., New York: Humana Press, 2019, p. 51. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8733-7>.
6. Chandran, U., Mehendale, N., Patil, S., Chaguturu, R., and Patwardhan, B., *Network Pharmacology*, in *Innovative Approaches in Drug Discovery. Ethnopharmacology, Systems Biology and Holistic Targeting*, Amsterdam: Academic Press, 2017, p. 127. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801814-9.00005-2>.
7. Makhoba, X.H., Viegas, C.Jr., Mosa, R.A., Viegas, F.P.D., and Poe, O.J. Potential Impact of the Multi-Target Drug Approach in the Treatment of

- Some Complex Diseases. *Drug Des. Devel. Ther.*, 2020, vol. 14, p. 3235. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S257494>
8. Méndez-Lucio, O., Jesús Naveja, J., Vite-Caritino, H., Prieto-Martínez, F.D., and Medina-Franco, J.L., One drug for multiple targets: A computational perspective. *J. Mex. Chem. Soc.*, 2016, vol. 60, no. 3, p. 168.
  9. Ravikumar, B. and Aittokallio, T. Improving the efficacy-safety balance of polypharmacology in multi-target drug discovery. *Exp. Opin. Drug Discov.*, 2018, vol. 13, no. 2, p. 179. <https://doi.org/10.1080/17460441.2018.1413089>
  10. Bolognesi, M.L. Harnessing Polypharmacology with Medicinal Chemistry. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2019, vol. 10, no. 3, p. 273. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.9b00039>
  11. Ivasiv, V., Albertini, C., Gonçalves, A.E., Rossi, M., and Bolognesi, M.L. Molecular Hybridization as a Tool for Designing Multitarget Drug Candidates for Complex Diseases. *Curr. Top. Med. Chem.*, 2019, vol. 19, no. 19, p. 1694. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190619115735>
  12. Prasher, P., Sharma, M., Aljabali, A.A.A., Gupta, G., Negi, P., Kapoor, D.N., Singh, I., Zacconi, F.C., de Jesus Andreoli Pinto, T., da Silva, M.W., Bakshi, H.A., Chellappan, D.K., Tambuwala, M.M., and Dua, K. Hybrid molecules based on 1,3,5-triazine as potential therapeutics: A focused review. *Drug Dev. Res.*, 2020, vol. 81, no. 7, p. 837. <https://doi.org/10.1002/ddr.21704>
  13. Alarcón-Espósito, J., Mallea, M., and RodríguezLavado, J. From Hybrids to New Scaffolds: The Latest Medicinal Chemistry Goals in Multi-target Directed Ligands for Alzheimer's Disease. *Curr. Neuropharmacol.*, 2021, vol. 19, no. 6, p.832. <https://doi.org/10.2174/1570159X18666200914155951>

14. González, J.F., Alcántara, A.R., Doadrio, A.L., and Sánchez-Montero, J.M. Developments with multi-target drugs for Alzheimer's disease: an overview of the current discovery approaches *Exp. Opin. Drug Discov.*, 2019, vol. 14, no. 9, p. 879. <https://doi.org/10.1080/17460441.2019.1623201>
15. Auti, P.S., George, G., and Paul, A.T. Recent advances in the pharmacological diversification of quinazoline/quinazolinone hybrids. *RSC Adv.*, 2020, vol. 10, no. 68, p. 41353. <https://doi.org/10.1039/d0ra06642g>
16. Shaveta, Mishra, S., and Singh, P. Hybrid molecules: The privileged scaffolds for various pharmaceuticals. *Eur. J. Med. Chem.*, 2016, vol. 124, p. 500. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.039>
17. Anusionwu, C.G., Aderibigbe, B.A., and Mbianda, X.Y. Hybrid Molecules Development: A Versatile Landscape for the Control of Antifungal Drug Resistance: A Review. *Mini Rev. Med. Chem.*, 2019, vol. 19, no. 6, p. 450. <https://doi.org/10.2174/1389557519666181210162003>
18. Starnowska-Sokół, J., Piotrowska, A., Bogacka, J., Makuch, W., Mika, J., Witkowska, E., Godlewska, M., Osiejuk, J., Gątarz, S., Misicka, A., and Przewłocka, B. Novel hybrid compounds, opioid agonist+melanocortin 4 receptor antagonist, as efficient analgesics in mouse chronic constriction injury model of neuropathic pain. *Neuropharmacology.*, 2020, vol. 178, paper no. 108232. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108232>
19. Piotrowska, A., Starnowska-Sokół, J., Makuch, W., Mika, J., Witkowska, E., Tymecka, D., Ignaczak, A., Wilenska, B., and Przewłocka, B. Novel bifunctional hybrid compounds designed to enhance the effects of opioids and antagonize the pronociceptive effects of nonopioid peptides as potent analgesics in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 2021, vol. 162, no. 2, p. 432. <https://doi.org/10.1097/j.pain.0000000000002045>

20. Wtorek, K., Adamska-Bartłomiejczyk, A., Piekielna-Ciesielska, J., Ferrari, F., Ruzza, C., Kluczyk, A., Piasecka-Zelga, J., Calo', G., and Janecka, A. Synthesis and Pharmacological Evaluation of Hybrids Targeting Opioid and Neurokinin Receptors. *Molecules*, 2019, vol. 24, no. 24, p. 4460. <https://doi.org/10.3390/molecules24244460>
21. Dumitrascuta, M., Bermudez, M., Trovato, O., De Neve, J., Ballet, S., Wolber, G., and Spetea, M. Antinociceptive Efficacy of the  $\mu$ -Opioid/Nociceptin Peptide-Based Hybrid KGNOP1 in Inflammatory Pain without Rewarding Effects in Mice: An Experimental Assessment and Molecular Docking. *Molecules*, 2021, vol. 26, no. 11, p. 3267. <https://doi.org/10.3390/molecules26113267>
22. WanYin Fang, L. Ravindar, K.P. Rakesh, H.M. Manukumar, C.S. Shanthara et al. Synthetic approaches and pharmaceutical applications of chloro-containing molecules for drug discovery: A critical review. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 173, 1 July 2019, Pages 117-153
23. Mehtap Gökçe, Semra Utku, Esra Küpeli. Synthesis and analgesic and anti-inflammatory activities 6-substituted-3(2*H*)-pyridazinone-2-acetyl-2-(*p*-substituted/nonsubstituted benzal)hydrazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 44, Issue 9, September 2009, Pages 3760-3764. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.04.048>
24. 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.525-649.
25. *European Pharmacopoeia*. Council of Europe, Strasbourg, 10-th ed., 2019. V.1: 2308-2309

## SUMMARY

**Holinska Viktoria**

### **QUANTITATIVE DETERMINATION OF PARACETAMOL, PHENYLEPHRINE, SODIUM BENZOATE AND CHLORPHENIRAMINE MALEATE IN A MIXTURE OF SUBSTANCES BY HPLC**

**The department of medicinal chemistry and toxicology**

**Scientific supervisor: professor, doctor of med. sciences Nizhenkovska I.V.**

**Keywords:** paracetamol, phenylephrine, sodium benzoate, chlorpheniramine maleate, HPLC, impurities, scaffold.

**Introduction.** Substance for the manufacture of a pharmaceutical composition consisting of phenylephrine, paracetamol and chlorpheniramine maleate, as well as auxiliary substances such as sodium benzoate (E211), requires a complex analytical procedure to confirm the purity of the components. The State Pharmacopoeia of Ukraine regulates the analysis of individual components of the test mixture - paracetamol, phenylephrine, and does not regulate the analysis of chlorpheniramine maleate. Chlorpheniramine maleate can be analyzed according to the appropriate monograph of the European Pharmacopoeia. Accompanying substances (specified and unspecified impurities) are determined by liquid chromatography (LC).

**Materials and methods.** Objects of research is a mixture of substances of paracetamol, phenylephrine, sodium benzoate, chlorpheniramine maleate and its standard samples. Research subject: development of conditions for HPLC study of pharmaceutical analysis of a mixture of substances of paracetamol, phenylephrine, sodium benzoate, chlorpheniramine maleate. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II with UV-detection at 305 and 214 nm, a Symmetry300 column, 250x4.6x5. The temperature of the column is 40°C. Chromatography time 22 min. Conditions: flow - 0.6 ml/min, injection volume - 25 µl); OpenLab CDS program.

**Results.** Alternative conditions for HPLC chromatography of the tested mixture of substances - the active active substances Paracetamol, Phenylephrine, Chlorpheniramine maleate - were studied, which demonstrated a higher identification ability when determining the components of the substance by HPLC with UV detection at 214 nm. UV detection of the tested mixture was carried out at two wavelengths: 305 nm (identification of Paracetamol), 214 nm (identification of Paracetamol, Phenylephrine, Chlorpheniramine Maleate, as well as auxiliary substance - Sodium Benzoate).

**Conclusions.** It is proposed to modify the chromatography conditions: mobile phase A: 1.1 g of sodium octanesulfonate per 1000 ml of water P, the pH of the solution is adjusted to 3.0 with the help of phosphoric acid, mobile phase B is methanol; UV detection at 305 and 214 nm, no buffer solution. The quantitative determination was carried out spectrophotometrically at two wavelengths of 305 nm, 214 nm, it was found that the mixture contains: paracetamol with a concentration of 497.8 mg in 1.0 g of substance, phenylephrine with a concentration of 112.9 mg in 1.0 g of substance, sodium benzoate with a concentration of 104.6 mg in 1.0 g of the substance and chlorpheniramine maleate with a concentration of 49.9 mg in 1.0 g of the substance.