

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
фармацевтичний факультет
кафедра медичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ
ПАРАЦЕТАМОЛУ ЯК ОБ'ЄКТА СУДОВО-ФАРМАЦЕВТИЧНОГО
АНАЛІЗУ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи Фс18(5,0д)-08
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Олеся ЧЕРНИШОВА

Керівник: завідувачка кафедри медичної хімії,
д.фарм.н., професор Ліна ПЕРЕХОДА

Рецензент: завідувачка кафедри фармацевтичної
хімії, д.фарм.н., професор Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

АНОТАЦІЯ

Згідно умов чинного законодавства та міжнародних стандартів якості, для визначення якості лікарських засобів з парацетамолом підбрані методики газової хроматографії з мас-спектрометрією та рідинної хроматографії, для яких визначені валідаційні характеристики, розраховані вартість, економічність та екологічність. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 57 сторінках, проілюстрована 16 рисунками та 3 таблицями, містить 48 джерел літератури.

Ключові слова: фальсифікація, парацетамол, судовий аналіз, рідинна хроматографія, газова хроматографія з мас-спектрометрією.

ANNOTATION

In accordance with the current legislation and international quality standards, gas chromatography with mass spectrometry and liquid chromatography methods were selected to determine the quality of paracetamol medicines, for which validation characteristics were determined, cost, efficiency and environmental friendliness were calculated. The qualification work consists of an introduction, three chapters, general conclusions, a list of references, is presented on 57 pages of printed text, illustrated with 16 figures and 3 tables, and contains 48 references.

Key words: falsification, paracetamol, forensic analysis, liquid chromatography, gas chromatography with mass spectrometry.

ЗМІСТ

	стор.
ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. ФАЛЬСИФІКАЦІЯ ПАРАЦЕТАМОЛОВМІСНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ	8
1.1. Проблеми фальсифікації лікарських засобів і її наслідків для здоров'я населення	8
1.2. Парацетамол: фармакокінетика та фармакодинаміка	16
1.2.1. Метаболізм парацетамолу	17
1.2.2. Механізм дії та показання до застосування	20
1.2.3. Асортимент лікарських засобів з парацетамолом	21
Висновки до розділу I	32
РОЗДІЛ II. МЕТОДИ АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ	33
2.1. Фізико-хімічні властивості парацетамолу	33
2.2. Фармакопейні методи ідентифікації парацетамолу	33
2.3. Нефармакопейні методи ідентифікації	35
2.4. Методи кількісного визначення	36
Висновки до розділу II	44
РОЗДІЛ III. РОЗРОБКА МЕТОДИК АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ	45
3.1. Хроматографічні методики визначення парацетамолу	45
3.1.1. Методика визначення парацетамолу методом тонкошарової хроматографії	45
3.1.2. Методика визначення парацетамолу методом рідинної хроматографії	46
3.1.3. Методика визначення парацетамолу методом газової	

хроматографії з мас-спектрометрією	49
3.2. Розрахунок вартості матеріалів для проведення аналізу парацетамолу різними методами	51
3.3. Оцінка екологічності запропонованих методик визначення парацетамолу	54
Висновки до розділу III	56
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	58
ДОДАТКИ	64

ВСТУП

Актуальність теми. Парацетамол є одним з безрецептурних анальгетиків та жарознижувальних лікарських засобів, які найбільш часто використовуються. Невисока вартість і безрецептурний відпуск є основними факторами зловживання парацетамолом, самолікування та збільшення кількості його фальсифікацій. За останні 10 років на території України було відкрито більше ніж 500 судових справ стосовно отруєння, фальсифікації або хибних медичних призначень парацетамолу або його суміші з іншими речовинами (трамадол, дицикловерин та ін.), що призвели до погіршення стану хворого.

Тому, актуальним є підбір та розробка ефективних аналітичних методик, що можуть надати підтверджуючі дані, мінімізуючи знищення доказів, при проведенні судово-фармацевтичного аналізу матеріалів справ з парацетамолом. Окрім того, розроблені методики мають бути екологічними та недорого вартісними для держави.

Вибір оптимального методу визначення обумовлюється, перш за все, його можливістю оцінювати лікарську речовину з фізіологічно активної частини молекули. Запропоновано безліч методів визначення алпрозоламу, серед яких найбільшу зцікавленість представляють сучасні методи, але не всі підходжі для завдань судово-фармацевтичного аналізу. Зацікавленість викликали визначення парацетамолу хроматографічними методами, для яких актуальним є порівняння валідаційних характеристик, розрахунок вартості досліджень та визначена екологічність, які є основними характеристиками при виборі методики для проведення досліджень.

Мета дослідження. Метою дослідження є підбір оптимального методу визначення парацетамолу, придатного для завдань судово-фармацевтичного аналізу, виходячи з параметрів валідаційних характеристик, вартості та екологічності.

Завдання дослідження. Для досягнення вищезазначеної мети були поставлені наступні завдання:

- провести огляд літератури щодо захворювань, при яких призначають препарати парацетамол, їх механізм дії та фармакологічні ефекти;
- розглянути статистичні дані щодо використання парацетамолу, частоти фальсифікації засобів, а також судово-фармацевтичного аналізу матеріалів справ;
- розглянути фізико-хімічні властивості та сучасні можливі методи аналізу парацетамолу;
- підібрати оптимальні методики визначення парацетамолу для застосування в судово-фармацевтичному аналізі;
- розрахувати для запропонованих методик вартість реактивів, екологічність та порівняти валідаційні характеристики;
- порівняти отримані результати та зробити висновок про оптимальні методики аналізу парацетамолу в матеріалах судових справ.

Об'єкт дослідження – звіти науковців всього світу: валідації методик визначення парацетамолу в лікарських засобах методами тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та газової хроматографії з мас-спектрометрією.

Предмет дослідження. Провести порівняння методик за валідаційними параметрами, зазначених в звітах, вартість матеріалів розраховувати згідно каталогу Sigma Aldrich, екологічність методик визначити за допомогою програмного забезпечення «AGREE».

Методи дослідження – для проведення дослідження були взяті звіти науковців: валідації методик визначення парацетамолу в моно- та в багатокомпонентних лікарських засобах хроматографічними методами: тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та газової хроматографії з мас-спектрометрією. Вибір оптимальної методики

здійснювали за валідаційними характеристиками, вартістю матеріалів, яку розраховували згідно з каталогом «Sigma Aldrich» та екологічністю, що визначали за допомогою програмного забезпечення «AGREE».

Апробація результатів дослідження і публікації. Матеріали роботи були представлені на II Міжнародній науково-практичній дистанційній конференції «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (1 лютого 2022 року, НФаУ, м. Харкові) та на XXIX Міжнародній науково-практичній конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (19-21 квітня 2023 року, НФаУ, м. Харків). Результати конференцій висвітлені в тезах:

1. Судовий аналіз порошоків від простуди з парацетамолом / Д. В. Романькова, О. О. Чернишова, О. В. Бевз, Л. О. Перехода // *Сучасні аспекти створення лікарських засобів : матеріали II Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф.*, м. Харків, 1 лют. 2022 р. – Харків : НФаУ, 2022. – С. 191.

2. Судово-фармацевтичний аналіз парацетамолу в матеріалах справ / О. О. Чернишова, О.В. Бевз, І. В. Сич, Л. О. Перехода // *Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали XXIX міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів.*, м. Харків, 19-21 квітня 2023 р.), – Харків: НФаУ, 2023. – С.107-109.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 57 сторінках, проілюстрована 16 рисунками та 3 таблицями, містить 48 джерел літератури.

РОЗДІЛ І
ФАЛЬСИФІКАЦІЯ ПАРАЦЕТАМОЛОВМІСНИХ ЛІКАРСЬКИХ
ЗАСОБІВ
(огляд літератури)

1.1. Проблеми фальсифікації лікарських засобів і її наслідків для здоров'я населення

Високоякісні, безпечні та ефективні лікарські засоби є фундаментальними у зниженні глобальної захворюваності та смертності. Технологічні досягнення та доступ до Інтернету, з відповідним регулюванням, дозволили користувачам отримати доступ до безпечних, законних продуктів. На жаль, це збіглося зі зростанням незаконної торгівлі субстандартними та фальсифікованими лікарськими засобами.

Більшість літератури опублікованої впродовж останніх двох десятиліть використовує визначення, встановлені в 1992 році Всесвітньою організацією охорони здоров'я. Згідно з Всесвітньою організацією охорони здоров'я, «субстандартні ліки» — це справжні продукти, які не досягнули стандартів якості. Офіційна фармакопея використовується для отримання цих стандартів, які допомагають забезпечити безпеку, встановлення єдиних вимог до якості. Всесвітня організація охорони здоров'я визначає «фальсифіковані лікарські засоби» як продукти, навмисно спотворені щодо ідентифікації, складу та/або джерела. Оскільки загальноприйнятого визначення фальсифікованих лікарських засобів не існує, зазвичай використовуються інші синоніми, наприклад підробка.

Звіти показують, що 10% лікарських засобів у всьому світі можуть бути фальсифікованими; однак це важко визначити кількісно. Ця загроза не нова, наприклад, як випадки фальсифікації кори хінного дерева та хініну, про які повідомлялося ще в 1600-х роках і 1800-ті роки, відповідно. Наймасштабніші випадки включають фальсифікований діазепам, що містить галоперидол, у

Конго, що призвело до дистонічних реакцій у 930 осіб у 2014 році (включаючи 11 летальних випадків), фальсифікований бевацизумаб був вилучений у Сполучених Штатах у 2014 році та з'явився пізніше в Уганді протягом 2017 року, а також Агентство з регулювання лікарських засобів і медичних товарів Великобританії виявило понад 34 000 фальсифікованих продуктів COVID-19, вилучених у всьому світі у 2020 році [1].

Останнім часом відбулося значне та різке очевидне збільшення кількості виявлених фальсифікованих лікарських засобів. У 2013 році було виявлено 2193 випадки фальсифікованих ліків, тоді як у 2017 році Інститутом фармацевтичної безпеки було виявлено 3509 випадків. За оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я, до 169 000 маленьких дітей щороку помирають від пневмонії після лікування неякісними або фальсифікованими антибіотиками [2].

Всесвітньою організацією охорони здоров'я визначено, що контрафактна продукція може становити близько 50% ринку ліків у всьому світі; багато з цих продуктів походять із країн, що розвиваються. Згідно зі звітами, надісланими із 20 різних країн, більшість фальсифікованих ліків належать до однієї з трьох наступних категорій:

- 1 – лікарські засоби, що не містять активного інгредієнта: близько 30%;
- 2 – лікарські засоби, що містять неправильну кількість активного інгредієнта: близько 20%;
- 3 – лікарські засоби з неправильним вмістом: близько 20% [3].

Проблема фальсифікації медичної продукції дійсно становить серйозну загрозу життю людини, яке є одним з базових прав людини, закріплених у різних міжнародних документах з прав людини. Згідно зі звітом Всесвітньої організації охорони здоров'я, фальсифікація медичної продукції є глобальною проблемою, яка відбувається в усьому світі. Це викликано тим, що медичні продукти мають високу цінність та попит, а також відсутністю ефективної системи контролю та регулювання на рівні країн та міжнародної спільноти.

Злочинні групи займаються фальсифікацією медичної продукції, використовуючи ті самі методи та шляхи, що і при торгівлі іншими незаконними товарами. Вони використовують прогалини та розбіжності в національному законодавстві та системах кримінального правосуддя, щоб уникнути відповідальності. У багатьох країнах злочинні групи використовують нові технології та платформи, такі як даркнет-сайти, щоб продавати фальсифіковані медичні продукти та уникати виявлення правоохоронними органами.

Всесвітня організація охорони здоров'я визнає, що фальсифікована медична продукція найімовірніше знайдена там, де доступ до якісної, безпечної та ефективною медичної продукції обмежений, стандарти управління низькі або інструменти та технічні можливості для забезпечення належної практики у виробництві, контроль якості та розповсюдження обмежені. Хоча згубний вплив фальсифікованих медичних продуктів важко оцінити кількісно, немає сумніву, що такі продукти мають багатовимірний вплив, який включає наслідки для здоров'я, економічні та соціально-економічні наслідки. Вони ставлять під загрозу здоров'я, подовжують хворобу, вбивають, сприяють резистентності до антимікробних препаратів і поширенню стійких до ліків інфекцій, підривають довіру до медичних працівників і систем охорони здоров'я, створюють недовіру до ефективності медичних виробів, витрачають ресурси, вриваються в обмежені бюджети сімей і систем охорони здоров'я та забезпечують дохід злочинним мережам.

Цілком вірно буде зазначити, що регуляторні органи є ключовим елементом у забезпеченні безпеки та якості медичної продукції. Вони грають важливу роль у керуванні та нагляді за виробництвом, контролю якості, сертифікації та ліцензуванні виробників та інших суб'єктів, які займаються розподілом медичних продуктів.

Регуляторні органи зазвичай встановлюють правила та стандарти, які регулюють виробництво та розповсюдження медичних продуктів, а також встановлюють вимоги до моніторингу та звітності про побічні реакції від

використання медичної продукції. Вони також можуть проводити інспекції та перевірки належної практики виробництва та належної практики розповсюдження, щоб забезпечити дотримання стандартів безпеки та якості.

У багатьох країнах існують національні регуляторні органи, які відповідають за регулювання медичних продуктів та забезпечення їх якості та безпеки. Наприклад, в США цим завданням займається Агентство з продуктів харчування та медикаментів (FDA), в Європейському Союзі - Європейське агентство з лікарських засобів (EMA), в Україні - Державна служба України з лікарських засобів та контролю за наркотиками.

Важливо, щоб регуляторні органи діяли ефективно та мали належні ресурси для виконання своїх функцій, оскільки це забезпечує безпеку та якість медичної продукції та запобігає поширенню фальсифікатів.

Регуляторні органи відповідають за регулювання та контроль медичної продукції та сприяють зміцненню та захисту громадського здоров'я, забезпечуючи, щоб:

- медичні вироби мають необхідну якість, безпеку та ефективність;
- медичні працівники та споживачі мали необхідну інформацію, щоб вони могли використовувати продукти раціонально;
- медичні вироби належним чином виготовлялись, зберігались, розповсюджувались та відпускались;
- незаконне виробництво та торгівля були виявлені та застосовані відповідні санкції;
- просування та реклама були чесними, збалансованими та спрямованими на раціональне використання;
- доступу до медичної продукції не перешкоджала невиправдана регуляторна робота [4].

Серед загальної кількості зареєстрованих інцидентів із заподіянням шкоди здоров'ю через фальсифіковані ліки 27 (56,3%) відбулися в країнах, що розвиваються, і 21 (43,7%) у розвинених країнах, які класифіковано

відповідно до класифікації країн Світового банку та груп кредиторів.

Розподіл цих інцидентів між регіонами показано на рисунку 1.1.:

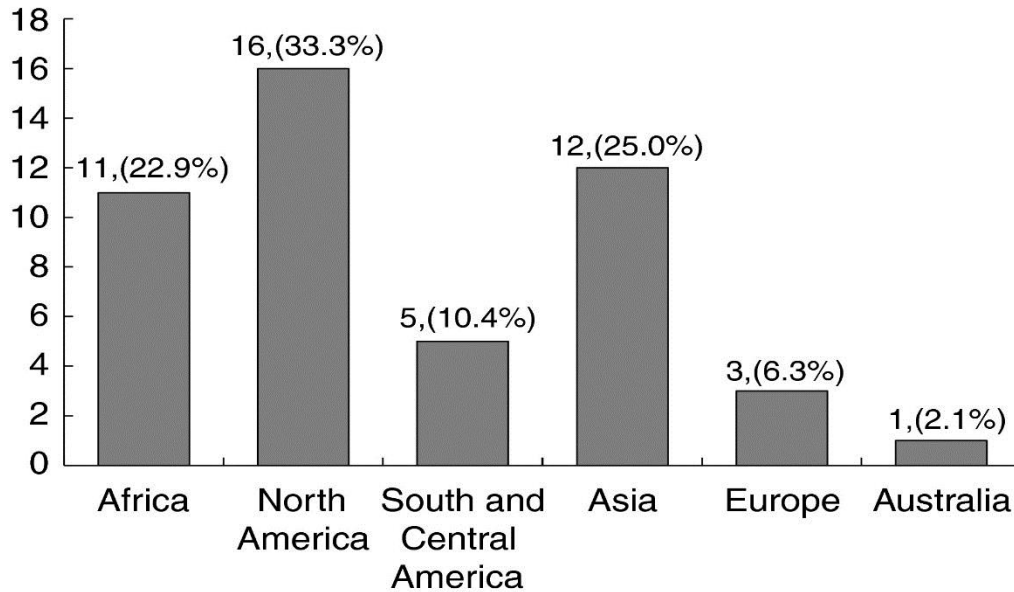


Рисунок 1.1. Розподіл інцидентів із заподіянням шкоди здоров'ю через фальсифіковані ліки між регіонами

Серед категорій фальсифікованих препаратів, що завдавали шкоди здоров'ю, найбільш поширеними в розвинених країнах були заспокійливі, снодійні, наркотики та ліки від сексуальної дисфункції. Однак пацієнти з слаборозвинених країн, в основному постраждали від фальсифікованих жарознижуючих, анальгетиків і протикашльових засобів, таких як парацетамоловий еліксир, сироп від кашлю або суміш для прорізування зубів, що містить дітиленгліколь. Загалом кількість випадків за терапевтичною категорією препарату показано на рисунку 1.2.

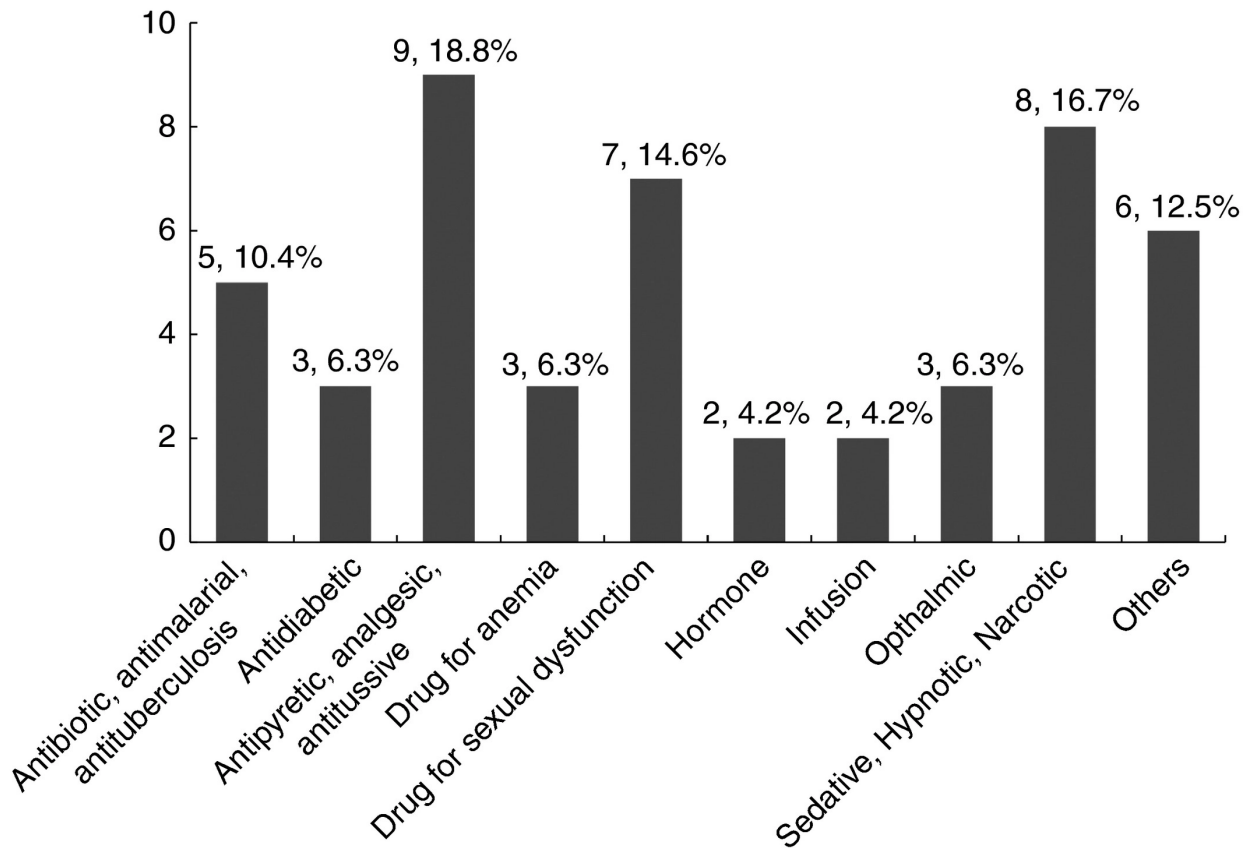


Рисунок 1.2. Розподіл інцидентів із заподіянням шкоди здоров'ю через фальсифіковані ліки за терапевтичними категоріями

Виявлені випадки стосуються багатьох видів фальсифікованих лікарських засобів. Деякі з них не містили жодного активного інгредієнта (вакцина проти менінгіту, яка не містить активного інгредієнта або містить лише солону воду), або включала активний інгредієнт у шкідливих кількостях (традиційні антидіабетичні засоби, що містять у шість разів більшу звичайну дозу глібенкламід). Інші включали зовсім інший активний інгредієнт або неправильний склад, або містили неприйнятно високий рівень домішок (парацетамол з ціанідом або золпідем і ацетамінофен з домішками металу) [5].

За оцінками, кожен десятий фармацевтичний продукт є неякісним або навіть фальсифікованим у країнах з низьким і середнім рівнем доходу. Протималярійні препарати є найбільш поширеними підробленими

препаратами, демонструючи близько 20 відсотків від загальної кількості підроблених продуктів і ліків, зареєстрованих у 2017 році [6].

Ця проблема не тільки має значні наслідки для здоров'я та економіки, але й безпосередньо загрожує глобальній безпеці охорони здоров'я та зусиллям щодо досягнення Цілі сталого розвитку Організації Об'єднаних Націй щодо досягнення загального доступу до безпечних та ефективних основних ліків. Незважаючи на це, повний масштаб проблеми неясний. Крім того, дослідницькі зусилля, спрямовані на вивчення цього питання, часто стикалися з низькою методологічною якістю та демонстрували високу кількість мінливості.

Потрібні суворіші методологічні стандарти для визначення масштабу цієї проблеми з метою підвищення обізнаності та, зрештою, її вирішення. Глобальні спільні дії необхідні для покращення управління та нагляду за фармацевтичними ланцюгами постачання та регуляторними органами в країнах з низьким і середнім рівнем доходу, щоб мінімізувати загрозу неякісних ліків [7].

Протидія виробництву та обігу фальсифікованих лікарських засобів має стати предметом постійної уваги з боку державних органів України, оскільки підробка ліків загрожує внутрішній безпеці країни [8].

Згідно зі статтею 321-1 Кримінального кодексу України, виготовлення, придбання, перевезення, пересилання, зберігання з метою збуту або збут завідомо фальсифікованих лікарських засобів караються позбавленням волі на строк від п'яти до восьми років [9].

Ті самі дії, вчинені повторно або за попередньою змовою групою осіб, або у великих розмірах, або якщо вони спричинили тривалий розлад здоров'я особи, а також виробництво фальсифікованих лікарських засобів караються позбавленням волі на строк від 8-ми до 10-ти років з позбавленням права обіймати певні посади чи займатися певною діяльністю на строк до 3-х років з конфіскацією майна [10].

Крім того, закон «Про внесення змін до статті 321-1 Кримінального кодексу України щодо посилення відповідальності за фальсифікацію лікарських засобів або обіг фальсифікованих лікарських засобів» № 284-ІХ, який Верховна Рада ухвалила 12 листопада 2019 року, посилює відповідальність службових осіб, діяльність яких безпосередньо пов'язана з обігом ліків. Так, розповсюдження завідомо фальсифікованих лікарських засобів службовою особою шляхом зловживання службовим становищем, медичним або фармацевтичним працівником або за допомогою інформаційних систем, зокрема інтернету, карається позбавленням волі на строк від 8-ми до 10-ти років з позбавленням права обіймати певні посади й із конфіскацією майна [11].

У 2013 р. було обліковано 27 злочинів, передбачених ст. 321¹ КК України, а до суду з обвинувальним актом направлено 17 проваджень. У подальшому статистика різко змінюється – за період з 2014 по 2018 р. обліковано 109 таких злочинів, тоді як до суду направлено лише 8, тобто 7,3%. Привертає увагу й різке збільшення з 18 до 38 (в 2,1 раза) кількості облікованих злочинів у 2018 р. порівняно з 2017 р. (рис. 1.3).



Рисунок 1.3. Кримінальні правопорушення, передбачені ст. 321¹ КК України (2013–2018 рр.)

Аналізуючи цю інформацію, слід перш за все виходити з того, що фальсифікація лікарських засобів та обіг фальсифікованих лікарських засобів належать до злочинів, які обліковуються на підставі виявлених правоохоронними та (або) контролюючими органами фактів вчинення конкретними особами виготовлення, придбання, перевезення, пересилання, зберігання з метою збуту або збуту завідомо фальсифікованих лікарських засобів. На відміну від, наприклад, квартирної крадіжки (у більшості випадків на момент обліку злочину особа, яка її вчинила, не встановлена) злочин, передбачений ст. 321-1 КК України, фіксується за наявності інформації хоча б про одну особу, яка його вчинила (працівник аптеки, який реалізовував фальсифікат, перевізник, фасувальник тощо). За таких умов вкрай низька частка проваджень, направлених до суду, може пояснюватися однією з наступних причин: 1) надзвичайно низький професійний рівень працівників правоохоронних та (або) контролюючих органів, що призводить до безпідставного обліку або неспроможності здійснити належне досудове розслідування); 2) використання безпідставних звинувачень у вчиненні цього злочину для «тиску на бізнес»; 3) досягнення неправових домовленостей щодо непритягнення до кримінальної відповідальності. Але це лише припущення. Фактом же залишається те, що, починаючи з 2014 р., діяльність правоохоронних та (або) контролюючих органів щодо забезпечення притягнення до кримінальної відповідальності осіб, винних у фальсифікації лікарських засобів та обігу фальсифікованих лікарських засобів, є вкрай неефективною [12].

1.2. Парацетамол: фармакокінетика та фармакодинаміка

Парацетамол (ацетамінофен) — ненаркотичний анальгетик-антипіретик, що володіє анальгезуючим, жарознижуючим і незначним протизапальним ефектом. Інгібує ЦОГ переважно в ЦНС, діючи на центри болі та терморегуляції [13]. Парацетамол являє собою порошок білого або

майже білого кольору, без запаху, повільно розчинний у воді Р, легко розчинний у 96% етанолі Р, дуже мало розчинний у метиленхлориді Р.

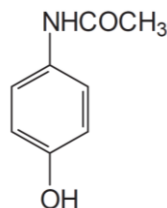


Рисунок 1.4. Хімічна формула парацетамолу

1.2.1. Метаболізм парацетамолу

Парацетамол синтезований у 1877 році в Університеті Джонса Хопкінса (робота вченого Harmon Northrop Morse) у реакції відновлення п-нітрофенолу оловом у крижаній оцтовій кислоті. Але лише 1887 року клінічний фармаколог Джозеф фон Мерінг випробував парацетамол на пацієнтах.

У 1893 році фон Мерінг опублікував статтю, де повідомлялося про результати клінічного застосування парацетамолу та фенацетину, іншого похідного аніліну. Фон Мерінг стверджував, що, на відміну від фенацетину, парацетамол має деяку здатність викликати метгемоглобінемію. Парацетамол потім був швидко відкинутий на користь фенацетину.

Продаж фенацетину почала Bayer як лідируюча на той час фармацевтична компанія. Впроваджений у медицину Генріхом Дрезером у 1899 році, фенацетин був популярний протягом багатьох десятиліть.

Півстоліття результати робіт Мерінга не викликали сумнівів, поки дві команди дослідників із США не проаналізували метаболізм ацетаніліду та парацетамолу. У 1947 році Девід Лестер і Леон Грінберг виявили переконливі докази, що парацетамол є одним з основних метаболітів ацетаніліду в крові людини і за результатами подальших досліджень вони повідомили, що великі дози парацетамолу, які отримували білі щури, не викликають метгемоглобінемії.

У трьох статтях, опублікованих у вересні 1948 в Журналі Фармакології та Експериментальної Терапії (англ. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*), Бернард Броді, Джуліус Аксельрод і Фредерік Флінн, використовуючи більш точні методи, підтвердили, що парацетамол є основним метаболітом ацетаніліду в крові людини і встановили, що він має настільки ж ефективний знеболюючий ефект, як і його попередник.

В 1949 встановлено, що фенацетин також метаболізується в парацетамол. Це призвело до «повторного відкриття» парацетамолу. Було висловлено припущення, що забруднення парацетамолу 4-амінофенолом (речовиною, з якого він був синтезований фон Мерінгом) могло стати причиною помилкових висновків [14].

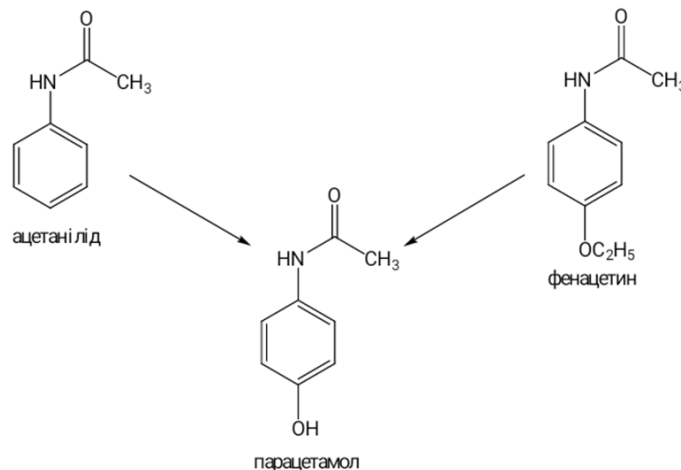


Рисунок 1.5. Хімічна будова анальгетиків – похідних аніліну.

Шляхи метаболізму парацетамолу в організмі включають утворення глюкуроніду, яке керується глюкуронозил-трансферазою, сульфатування, яке залежить від наявності фосфоаденилсульфату та запасів сірки в печінці, 3-гідроксилування з наступним кон'югуванням та O-метилування гідроксильної групи, які мають менш значущу роль, та окиснення до високореактивного метаболіту N-ацетил-p-бензохіноніміну.

Цей шлях біотрансформації має невелике значення при прийомі терапевтичних доз парацетамолу та стає значно важливішим при прийомі

великих доз препарату. Утворення N-ацетил-п-бензохіноніміну відбувається під дією цитохром Р450-залежної оксидазної системи.

Глутатіон печінки швидко знешкоджує цю високотоксичну речовину через перетворення її в цистеїновий або меркаптопуриновий кон'югат. Коли вміст глутатіону в печінці знижується нижче за критичний рівень (близько 30 % від нормального запасу), N-ацетил-п-бензохіноніміну ковалентно зв'язується з макромолекулами гепатоцитів, зумовлюючи некротизацію тканини. Речовини, що індуюють Р450-ферменти печінки (наприклад, фенобарбітал), здатні підвищити гепатотоксичність парацетамолу [16].

Метаболіти парацетамолу виводяться головним чином із сечею. При цьому 90 % введеної дози протягом 24 годин виводиться нирками, переважно у вигляді глюкуроніду (60–80%) і сульфату (20–30%). Менше 5 % виводиться у незміненому стані. Період напіввиведення становить 2,7 години, загальний кліренс - 18 л/годину [39].

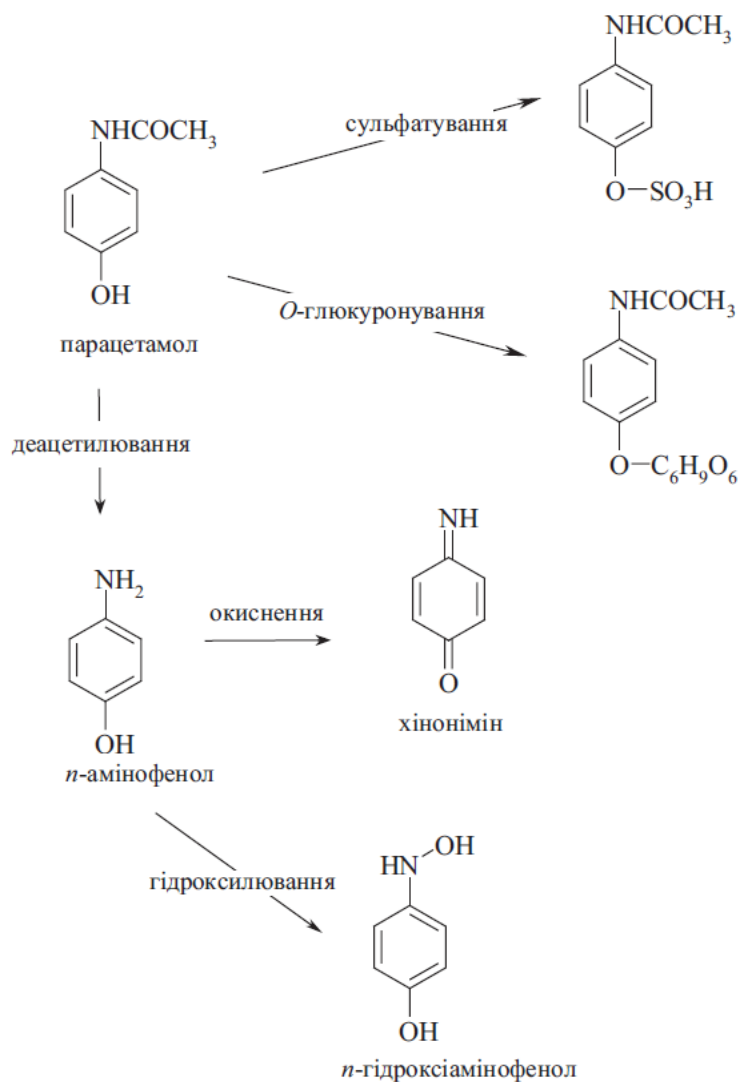


Рисунок 1.6. Схема метаболізму парацетамолу

1.2.2. Механізм дії та показання до застосування

Механізм дії полягає у блокуванні циклооксигенази I і II тільки у центральній нервовій системі, впливаючи на центри болю й терморегуляції. У збуджених тканинах клітинні пероксидази нейтралізують вплив парацетамолу на циклооксигеназу, що пояснює майже повну відсутність протизапального ефекту. Відсутність впливу на синтез простагландинів у периферичних тканинах обумовлює відсутність у нього негативного впливу на водно-сольовий обмін (затримка натрію й води) і слизову травного тракту.

Парацетамол забезпечує полегшення болю через 5–10 хвилин після введення. Пік знеболювального ефекту досягається протягом 1 години, а тривалість цього ефекту зазвичай, становить 4–6 годин.

Парацетамол знижує температуру тіла протягом 30 хвилин після введення, жарознижувальний ефект триває протягом щонайменше 6 годин [39].

Парацетамол використовується для лікування таких станів як:

- головний біль;
- зубний біль;
- м'язові болі;
- артрит;
- біль в спині і суглобах;
- періодичні болі у жінок;
- зняття больового синдрому і лихоманки при ГРВІ, грипі і застуді.

Препарат здатний знімати біль при легкому артриті, однак він не впливає на запалення і набряклість суглобів [17].

1.3. Асортимент лікарських засобів з парацетамолом

Парацетамол був вперше запропонований до продажу в США в 1953 році компанією Стерлінг-Уінтроп (Sterling-Winthrop Co.), яка позиціонувала його як безпечніший для дітей та людей з виразками, ніж аспірин. У 1955 році в США компанією McNeil Laboratories почалися продажі парацетамолу під однією з найвідоміших у США торговою маркою «Тайленол», як безпечніші та жарознижувальні ліки для дітей (Tylenol Children's Elixir). У Великій Британії парацетамол надійшов у продаж у 1956 році, тоді він випускався відділенням Sterling Drug Inc. компанії Frederick Stearns & Co під маркою "Панадол".

Парацетамол відносно широко почали застосовувати після вилучення з обігу амідопірину та фенацетину. З того часу з'явилося безліч парацетамолвмісних комбінованих лікарських форм [14].

На сьогоднішній день фармацевтичний ринок України налічує 286 найменувань лікарських засобів, що містять парацетамол. Найбільшою групою за лікарськими формами є таблетки, вона налічує 115 найменувань (40%). Далі йдуть порошки для орального розчину, що становлять 30% усіх форм (87 найменувань), капсули – 5,5% (16 найменувань), розчини для інфузій – 4,5% (13 найменувань), гранули – 3,8% (11 найменувань), таблетки шипучі – 3,1% (9 найменувань), супозиторії – 2,8% (8 найменувань), сиропи та суспензії – по 2% (6 найменувань у кожному) [48].

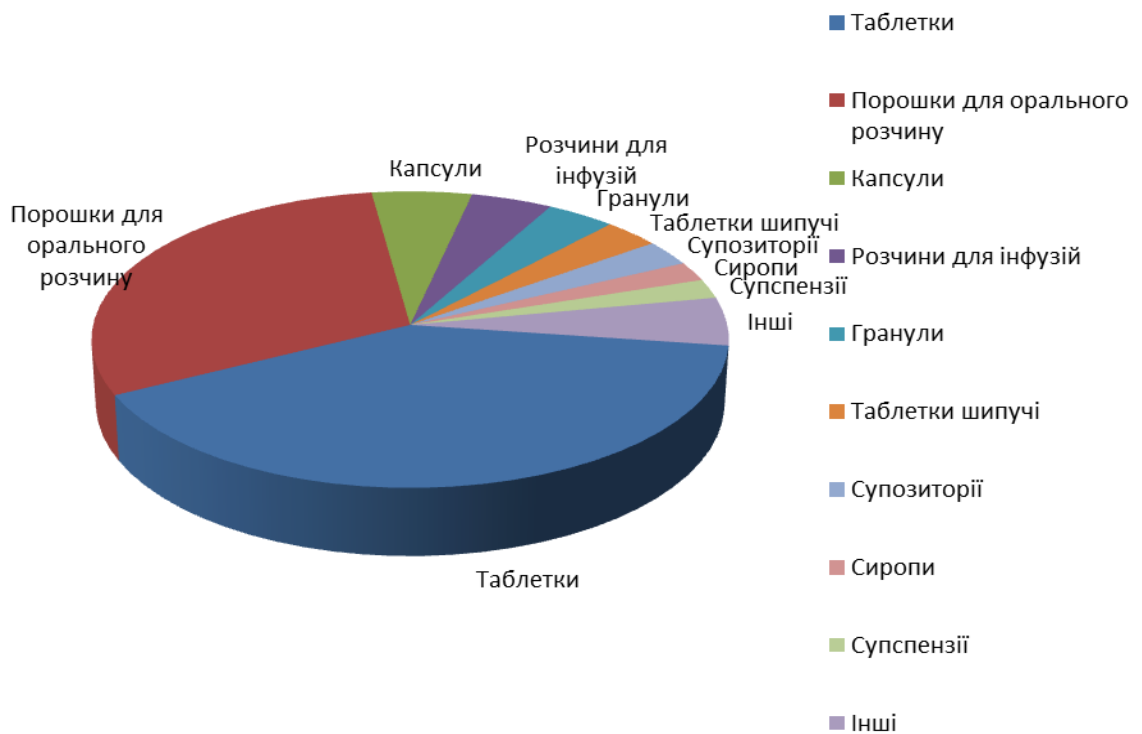










Рисунок 1.7. Розподіл найменувань парацетамолвмісних лікарських засобів за лікарськими формами

Таблиця 1.1.

Асортимент лікарських засобів з парацетамолом на ринку України

Монокомпонентні ЛЗ					
Форма випуску: таблетки					
Назва лікарського засобу, виробник	Склад	Зображення лікарського засобу	Назва лікарського засобу, виробник	Склад	Зображення лікарського засобу
Парацетамол-Дарниця, ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»	1 таблетка містить парацетамолу 500 мг		Піарон, ТОВ "КУСУМ ФАРМ"	1 таблетка містить парацетамолу 500 мг	
Панадол, ГлаксоСміт-Клайн Дангарван Лімітед	1 таблетка містить 500 мг парацетамолу		Парацетамол, АТ "Лубнифарм"	1 таблетка містить парацетамолу 325 мг	

Форма випуску: таблетки шипучі					
Ефералган, УПСА САС	1 таблетка шипуча містить парацетамолу 500 мг		Парацетамол Солюбл, Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я"	1 таблетка містить парацетамолу 500 мг	
Форма випуску: суспензії та сиропи					
Панадол бебі, Фармаклер	5 мл суспензії містять 120 мг парацетамолу		Парацетамол бебі, Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я"	5 мл препарату містять парацетамолу 120 мг	

<p>Піарон, ТОВ "КУСУМ ФАРМ"</p>	<p>5 мл суспензії містять парацетамолу 120 мг</p>		<p>Парацетамол для дітей, Публічне акціонерне товариство "Науково- виробничий центр "Борщагівськи й хіміко- фармацевтич ний завод"</p>	<p>5 мл сиропу містять 120 мг парацетамолу (у перераху- ванні на 100 % суху речовину)</p>	
<p>Форма випуску: розчини для інфузій</p>					
<p>Інфулган, ТОВ "Юрія-Фарм"</p>	<p>1 мл розчину містить парацетамолу 10 мг</p>		<p>Анапірон, Євролайф Хелткеар Пвт. Лтд.</p>	<p>100 мл розчину містять парацетамолу 1000 мг</p>	

Форма випуску: капсули					
<p>Парацетамол, Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я"</p>	<p>1 капсула містить парацетамолу 325 мг; 1 капсула містить парацетамолу 500 мг</p>		<p>Парафаст, Олів Хелскер</p>	<p>1 капсула м'яка містить парацетамолу 500 мг</p>	
Форма випуску: супозиторії					
<p>Ефералган, УПСА САС</p>	<p>1 супозиторій ректальний містить 80 мг парацетамолу</p>		<p>Парацетамол, ПАТ "Монфарм"</p>	<p>1 супозиторій містить парацетамолу 170 мг</p>	



Комбіновані ЛЗ					
Форма випуску: таблетки					
Комбіспазм, Евертоджен Лайф Саенсиз Лімітед	1 таблетка містить парацета-молу 500 мг, дицикло-міну гідро-хлориду 20 мг		Доларен, Наброс Фарма Пвт. Лтд.	1 таблетка містить диклофе-наку натрію 50 мг, парацета-молу 500 мг	
Комбігрип, Евертоджен Лайф Саенсиз Лімітед	1 таблетка містить парацета-молу 500 мг, кофеїну 30 мг, фенілефри-ну гідрохло-риду 10 мг, хлорфеніра- міну мале-ату 2 мг		Солпадеїн, ГлаксоСміт- Клайн Дангарван Лімітед	1 таблетка містить 500 мг парацета- молу, 30 мг кофеїну, 8 мг кодеїну фосфату гемігідра-ту	

<p>Цитрамон максі, ПрАТ "Фармацевти-чна фірма "Дарниця"</p>	<p>1 таблетка містить: парацетамолу 250 мг, кофеїну 65 мг, ацетил- саліцилової кислоти 250 мг</p>		<p>Грипаут, ФДС Лімітед</p>	<p>1 таблетка містить парацетамолу 500 мг, хлорфенірамін у малеату 2 мг, фенілефрину гідрохлориду 5 мг, кофеїну безводного 15 мг</p>	
<p>Форма випуску: таблетки шипучі</p>					
<p>Ефералган з вітаміном С, УПСА САС</p>	<p>1 таблетка шипуча містить парацетамолу 330 мг, аскорбінової кислоти 200 мг</p>		<p>Панадол Екстра, ГлаксоСміт- Клайн Дангарван Лімітед</p>	<p>1 таблетка містить 500 мг парацета- молу, 65 мг кофеїну</p>	

Форма випуску: порошок для орального розчину

<p>Терафлю Екстра, ДЕЛЬФАРМ ОРЛЕАН</p>	<p>1 пакет містить парацетамолу 650 мг, феніраміну малеату 20 мг, фенілефрину гідрохлориду 10 мг</p>		<p>Антифлу Кідс, Контракт Фармакал Корпорейшн</p>	<p>1 пакет містить ацетамінофену 160 мг, аскорбінової кислоти 50 мг, хлорфенірамін у малеату 1 мг</p>	
<p>Хелпекс Антиколд, Алпекс Фарма СА</p>	<p>1 саше по 4 г містить парацета-молу 500 мг, левоцетиризи ну дигідро- хлориду 1,25 мг, фенілефрину гідрохлориду 10 мг</p>		<p>Вікс Антигрип Комплекс, Рафтон Лабораторіз Лімітед</p>	<p>1 саше містить парацетамо-лу 500 мг, гвайфенези-ну 200 мг, фенілефрину гідрохлориду 10 мг</p>	

<p>Мілістан Гарячий чай, ІксЕль Лабораторіес Пвт. Лтд.</p>	<p>1 пакетик містить парацетамолу 500 мг, феніраміну малеату 25 мг, фенілефрину гідрохлориду 10 мг, кислоти аскорбінової 200 мг</p>		<p>Аміцитрон, Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ"</p>	<p>1 саше містить парацетамолу 500 мг, фенілефрину гідрохлориду 10 мг, феніраміну малеату 20 мг, кислоти аскорбінової 50 мг</p>	
<p>Форма випуску: капсули</p>					
<p>Таміпул, АТ "Гріндекс"</p>	<p>1 капсула містить парацетамолу 325 мг, ібупрофену 200 мг, кофеїну 30 мг</p>		<p>Гриппостад С, СТАДА Арцнайміттель АГ</p>	<p>1 капсула містить парацетамолу 200 мг; аскорбінової кислоти 150 мг; кофеїну 25 мг; хлорфенаміну малеату 2,5 мг</p>	

<p>Солпалгін, Товариство з обмеженою відповідальністю "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу"</p>	<p>1 капсула містить парацетамолу 500 мг, кофеїну 30 мг, кодеїну фосфату хемігідрату 8 мг</p>	 <p>СОЛПАЛГІН SOLPALGIN</p> <ul style="list-style-type: none"> головний біль мігрень біль у спині невралгія біль у горлі зубний біль біль, асоційований з гарячкою біль, пов'язаний з синуситами біль у м'язах, суглобах біль під час менструації <p>10 капсул</p>	<p>Грипомед, ПАТ "Хімфармзавод "Червона зірка"</p>	<p>1 капсула містить парацетамол – 200 мг, кофеїн – 25 мг, хлорфенірамін у малеат – 2,5 мг, кислота аскорбінова – 150 мг</p>	 <p>ГРИПОМЕД[®] Для симптоматичного лікування застудних захворювань.</p> <p>UA/6632/01/01</p> <p>20 капсул</p> <p>GRIPOMED</p> <p>ХІМФАРМЗАВОД "ЧЕРВОНА ЗІРКА"</p>
--	---	---	--	--	--

Висновки до розділу I

1. В даний час парацетамол використовується широко як самостійний лікарський засіб, а також у складі багатокомпонентних лікарських засобів, які спрямовані на полегшення різних видів болю та симптомів застуди. Це стало можливим завдяки його безпечному використанню у дітей, вагітних, лактуючих жінок, хворих на виразку шлунка та людей, для яких нестероїдні протизапальні засоби протипоказані.

2. Оскільки парацетамол застосовується в широкому спектрі лікарських засобів, його фальсифікація є серйозним проблемою. В Україні кількість виявлених фальсифікованих лікарських засобів, які містять парацетамол, є однією з найвищих в Європі. Тому є потреба у розробці доступних методик для визначення наявності парацетамолу в багатокомпонентних лікарських засобах.

РОЗДІЛ II

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПАРАЦЕТАМОЛУ

2.1. Фізико-хімічні властивості парацетамолу

Білий чи білий з кремовим або рожевим відтінком кристалічний порошок. Легкорозчинний у спирті, нерозчинний у воді.

Назва за IUPAC – N-(4-гідроксифеніл)ацетамід.

Молекулярна формула – $C_8H_9NO_2$.

Молярна маса становить 151,17 г/моль, температура плавлення – 168 °C (334 °F).

2.2. Фармакопейні методи ідентифікації парацетамолу

Парацетамол, згідно монографії державної фармакопеї України, ідентифікують за температурою плавлення, що має становити від 168°C до 172°C [23,25].

Субстанцію можна ідентифікувати за ділянкою інфрачервоного спектра від 4200 до 400 cm^{-1} . При цьому смуги поглинання мають повністю співпадати з ІЧ-спектром стандартного фармакопейного зразка [18-19].

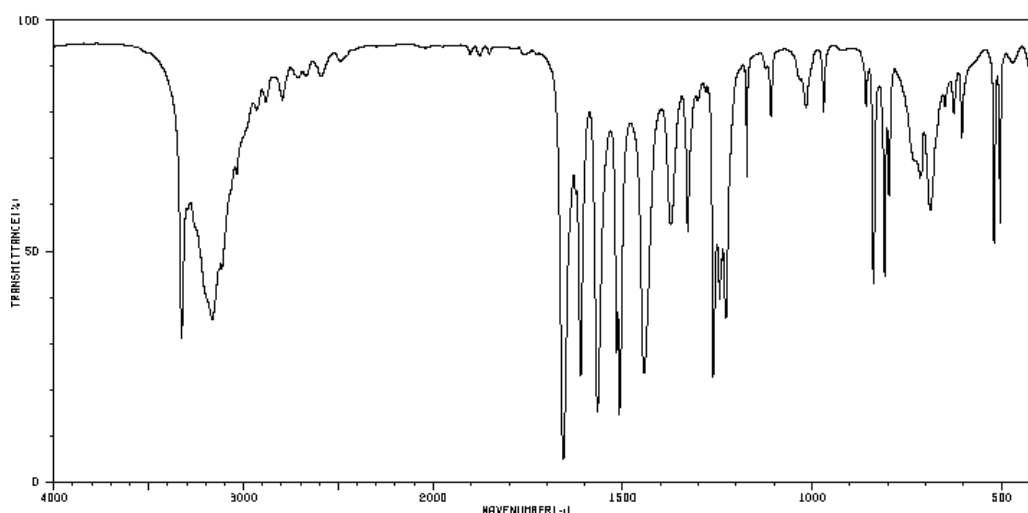


Рисунок 2.1. Референтний інфрачервоний спектр парацетамолу

УФ-спектр зразка, який містить 0,001% парацетамолу у розчині метанолу або етанолу, до якого додали хлористоводневу кислоту, повинен мати в певному діапазоні довжин хвиль (220-350 нм) точку з максимальним поглинанням, яка відбувається при довжині хвилі 247 нм. При цьому, питомий показник поглинання в цій точці повинен бути між 860 і 980 [20].

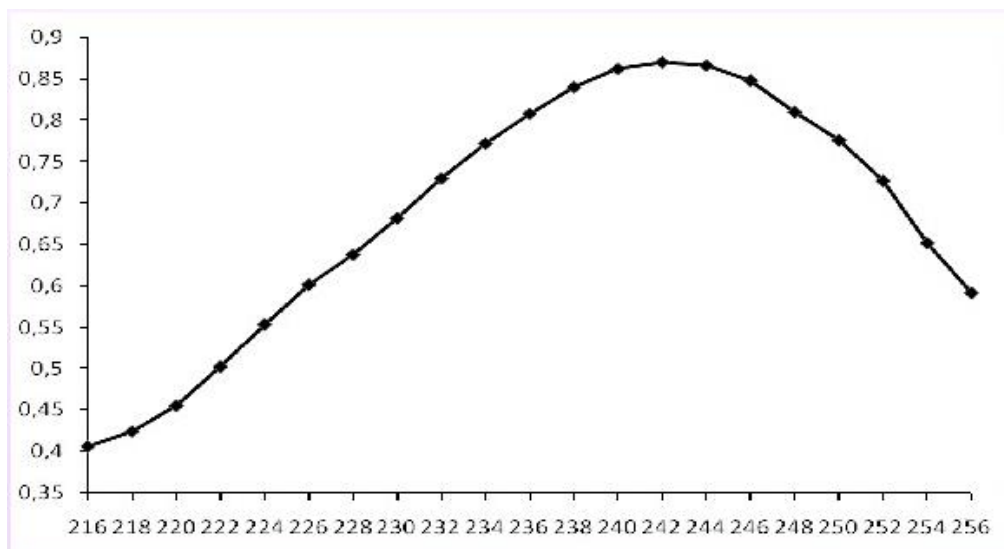
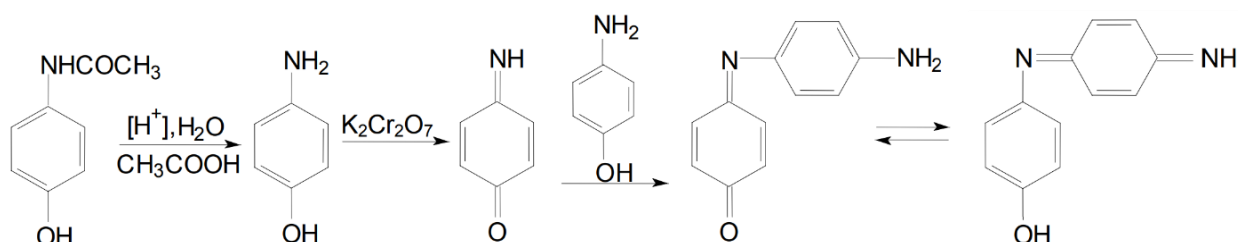


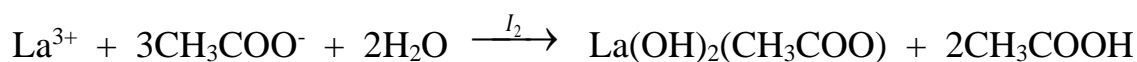
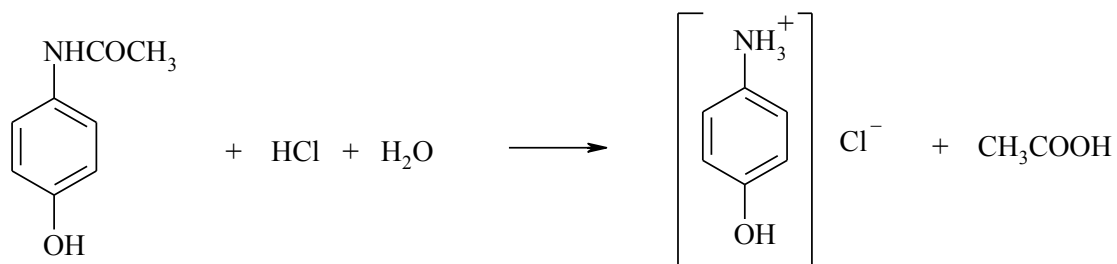
Рисунок 2.2. УФ-спектр парацетамолу

В результаті гідролізу парацетамолу під дією концентрованої хлористоводневої кислоти утворюється п-амінофенол, що після взаємодії з калію дихроматом окиснюється до індофенолу фіолетового кольору, який не переходить у червоний [18]:



Характерною для парацетамолу є реакція на ацетил після перетворення в оцтову кислоту кислотним гідролізом в присутності кислоти фосфорної. З розчином лантану (III) нітрату в присутності йоду і розчину амоніаку при

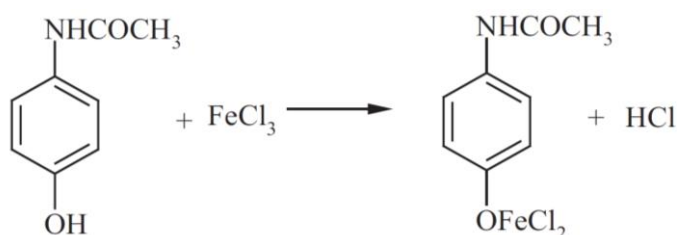
нагріванні на відкритому полум'ї утворює синє забарвлення або осад синього кольору [21]:



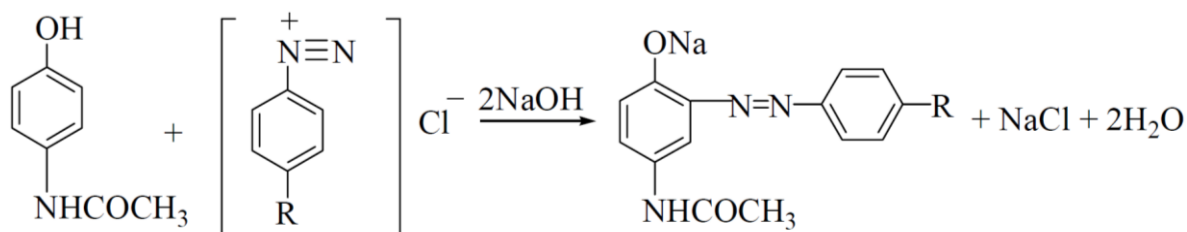
Ідентифікацію парацетамолу проводять методом рідинної хроматографії згідно Фармакопеї США. Пік випробуваного зразка має збігатись з піком ФСЗ. Визначення проводять при температурі 35°C з довжиною хвилі детектування 230 нм [40].

2.3. Нефармакопейні методи ідентифікації

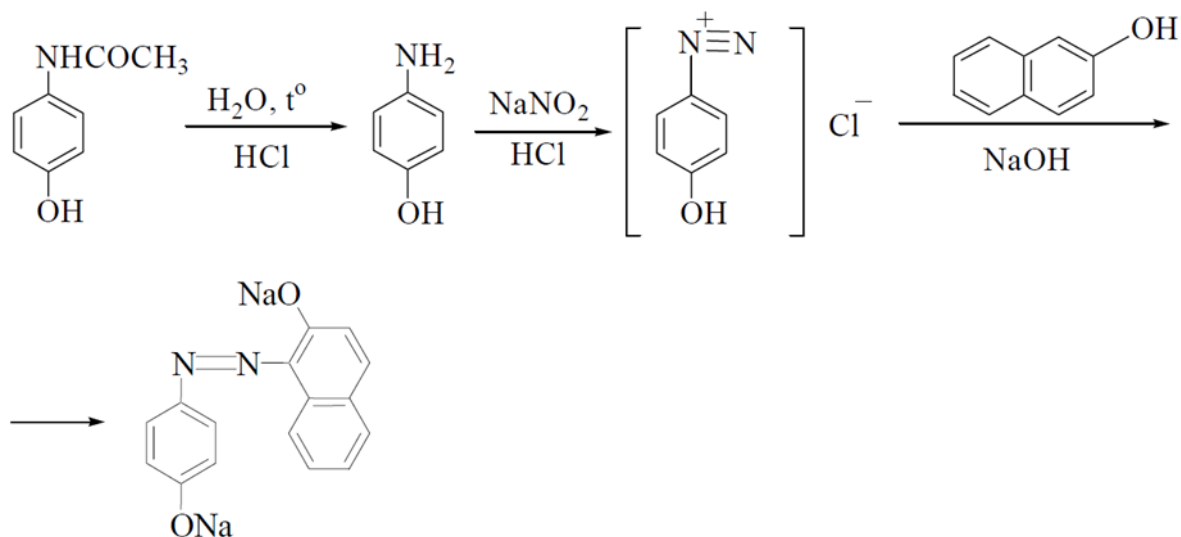
Парацетамол є похідним пара-амінофенолу, тому можна проводити реакцію на фенольний гідроксил з розчином феруму (III) хлориду. В результаті взаємодії утворюється синьо-фіолетове забарвлення [22]:



Також наявність у молекулі фенольного гідроксилу зумовлює реакцію парацетамолу із солями діазонію. В результаті якої утворюється азобарвник червоного кольору [23]:



Реакція утворення азобарвника може протікати за рахунок наявності в будові ароматичної аміно-групи, яку після кислотного гідролізу переводять у первинну ароматичну аміногрупу, яка здатна вступати в реакцію утворення солі діазонію з послідуючим азосполученням з лужним розчином β -нафтолу. Продукт реакції має червоне забарвлення [24]:



2.4. Методи кількісного визначення

Для визначення парацетамолу було розроблено кілька аналітичних методів. Ці методи включають титриметричні методи, методи рідинної хроматографії, методи вискоефективної тонкошарової хроматографії, методи рідинної хроматографії, методи УФ-видимої спектрофотометрії, амперометричний метод, флуориметричний метод, метод хемілюмінесценції та вольтаметричний метод [27].

Титриметрія є методом кількісного визначення речовин за допомогою вимірювання об'єму стандартного розчину з точною концентрацією (титранту), необхідного для повної реакції з досліджуваною речовиною. Титриметрія парацетамолу є точним та надійним методом аналізу, який може бути використаний для визначення концентрації парацетамолу у зразках. Проте, перед титруванням необхідно забезпечити правильну підготовку зразка речовини та титранту, а також вибрати правильний розчинник та

виключити наявність інших речовин, які можуть впливати на точність титрування.

Кількісне визначення парацетамолу за допомогою рідинної хроматографії вважається специфічним методом. У багатьох звітах описуються та підтверджуються різні методології на основі РХ для кількісного визначення парацетамолу в різних матрицях зразків [33], деякі з одночасним кількісним визначенням метаболітів [34-36].

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ) може бути використана для визначення лікарських засобів і з метою контролю протягом усього процесу виробництва ліків, а також для контролю якості готового продукту. Він має переваги в тому, що він точний, чутливий, швидкий, вибірковий і відтворюваний [27]. Принцип рідинної хроматографії полягає в розділенні компонентів сумішей, засновуючись на відмінності в рівноважному розподілі їх між двома фазами, що не змішуються, одна з яких нерухома, а інша рухома. Суміші нерівно розподіляються між двома фазами завдяки своїй полярності, розміру або іншим властивостям. Відмітною особливістю ВЕРХ є використання високого тиску і дрібнозернистих сорбентів. Це дозволяє розділяти складні суміші речовин швидко і повно.

Тонкошарова хроматографія – це метод, при якому розділ компонентів суміші відбувається при переміщенні рухомої фази через тонкий шар сорбенту, нанесений на пластинку. Найбільш широко метод ТШХ застосовується для поділу та ідентифікації складних за складом лікарських засобів, обмежено для кількісного аналізу. Компоненти, що розділяються, утворюють на поверхні сорбенту круглі або еліпсоподібні плями або смуги (хроматографічні зони), положення яких на хроматограмі характеризується величиною R_f .

Техніка газової хроматографії є селективною, чутливою та надійною, тому вважається «золотим стандартом» для визначення парацетамолу в субстанції та лікарських формах [37]. Розроблено методики визначення, в одному як газ-носії використовували азот, в іншому – гелій. Мас-спектри

вважалися ідентифікованими, коли мас-спектри досліджуваної речовини збігалися з бібліотечним з коефіцієнтом подібності понад 90 % [38].

У лікарських формах (таблетки, розчинні таблетки) парацетамол визначають спектрофотометричним методом у максимумі поглинання (при 257 нм) з використанням як розчинник 0,1 М розчин натрію гідроксиду [25].

Інший метод спектрофотометричного аналізу, заснований на реакції кислотного гідролізу парацетамолу з утворенням п-амінофенолу. Гідролізований продукт парацетамолу діазотують натрію нітритом у кислому середовищі при кімнатній температурі, а отриману таким чином сіль діазонію з'єднують з 1,3-динітробензолом і 2,4-динітрофенілгідразином, щоб отримати кольоровий азобарвник у лужному середовищі, який є джерелом визначення. Пізніше проводять вимірювання показника поглинання утвореного кольорового азобарвника при 429-430 нм [30].

Ще один метод заснований на реакції парацетамолу з 2-метокси-5-нітрофенілдіазонію хлориду хлорцинкової солі у водно-етанольному середовищі з рН близько 10,0. Ця реакція приводить до утворення стійкого жовтого комплексу, який має поглинання при довжині хвилі, що знаходиться в межах від 400 до 450 нм [32].

Фотоколориметричний метод визначення полягає в тому, що реакція взаємодії парацетамолу з амонію молібдатом у сильнокислому середовищі призводить до утворення молібденової сині. Молібденова синя має спектральні характеристики, зокрема поглинання світла, яке може бути виміряно за довжини хвилі 670 нм. Ця хвиля знаходиться у червоному діапазоні світлового спектра [32].

Перспективним, проте недостатньо вивченим є метод хемілюмінесценції. Він не вимагає складного апаратного оснащення та особливих умов виконання експерименту, мало тривалий, здебільшого вибірковий, чутливий та достатньо точний. Так, у праці [29] досліджена можливість визначення парацетамолу в лікарських сумішах кінетичним методом інгібування хемілюмінесценції з використанням аналітичної

системи $H_2L - H_2O_2 - Hb$ (гемоглобін). Відносна помилка визначення не перевищує $\pm 1,28\%$. Нижня межа визначених концентрацій становить $7,5 \cdot 10^{-8}$ г/мл [31].

Багато останніх досліджень було присвячено визначенню парацетамолу електрохімічними методами, заснованими на реакції його окиснення. Це окиснення відбувається за допомогою процесу двопротонного та двоелектронного обміну з утворенням N-ацетил-p-бензохіноніміну [28].

Для цього методу використовується хімічно модифікований електрод. Хімічно модифікований електрод – це електрод із провідного або напівпровідникового матеріалу, який покритий обраною мономолекулярною, мультимолекулярною, іонною або полімерною плівкою хімічного модифікатора. Цей електрод з'єднаний із перетворювачем, який перетворює його взаємодію з аналітом у вимірюваний електрохімічний сигнал. Однією з переваг є те, що вони вимагають використання мінімальної кількості реагентів для аналізу. Іншою перевагою є зменшення перешкод, що забезпечує кращу вибірковість аналізу [28].

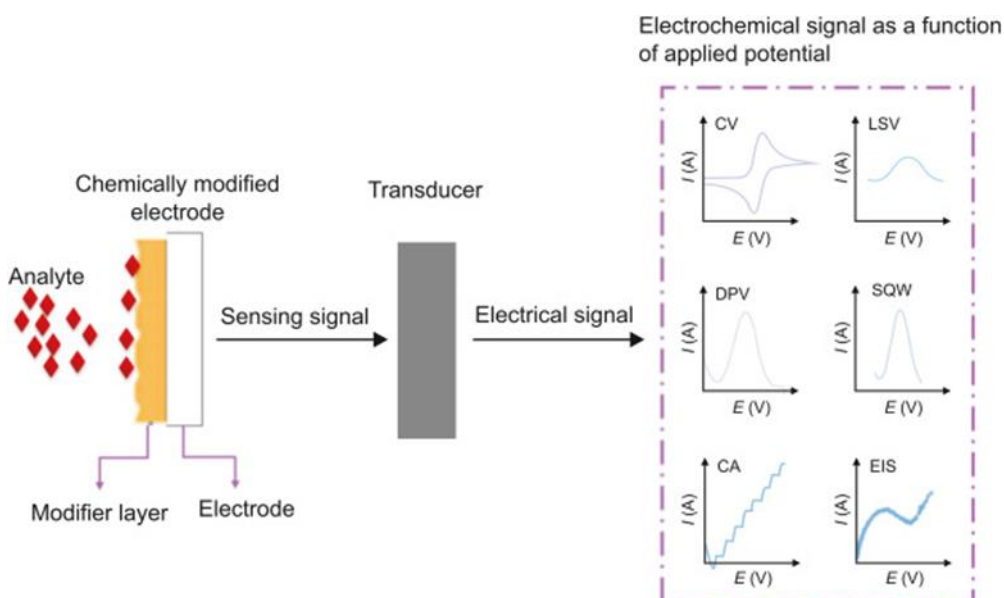
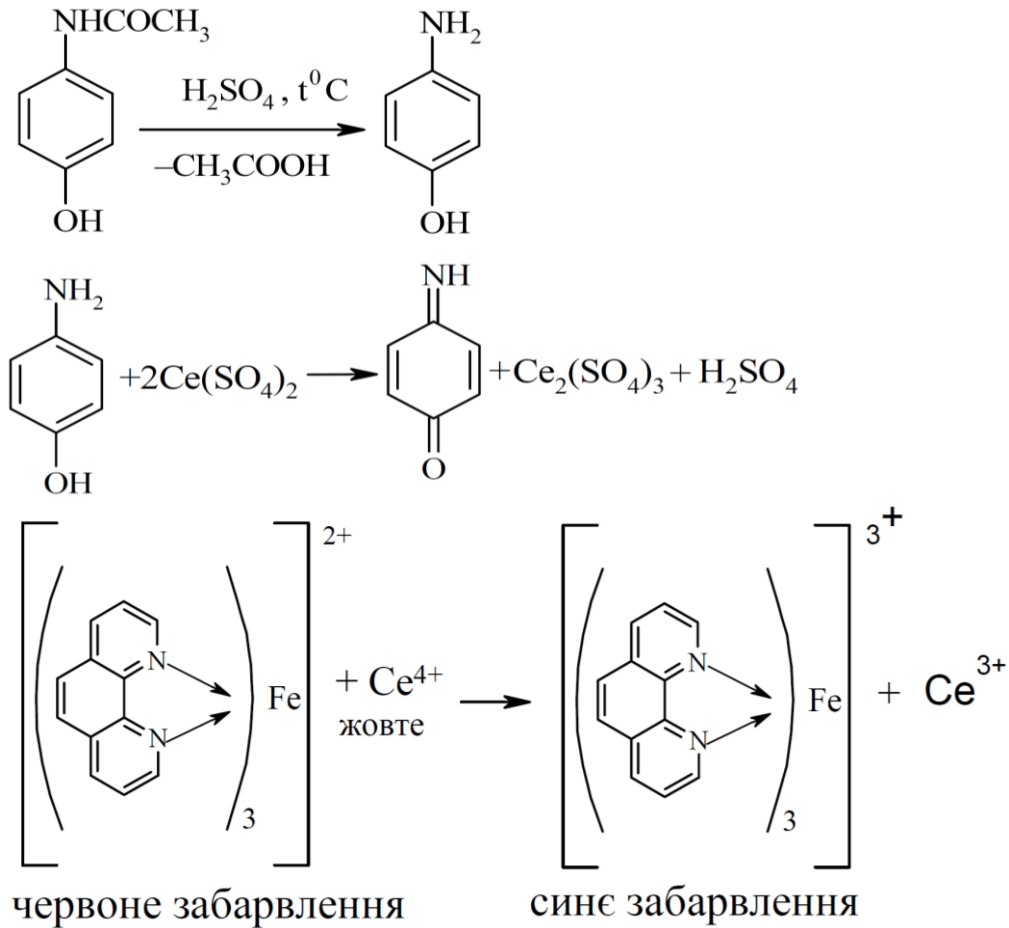


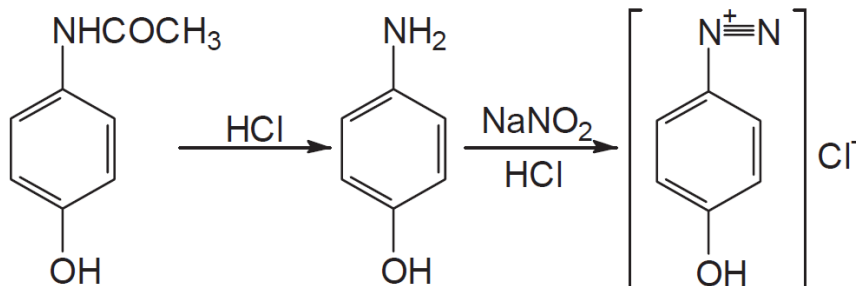
Рисунок 2.3. Принцип роботи хімічно модифікованого електроду

Цериметрія після гідролізу (ДФУ). Попередній гідроліз субстанції проводять кислотою сірчаною розведеною. Утворений в результаті

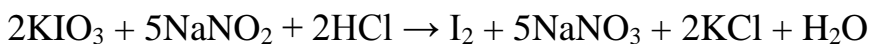
гідролізу п-амінофенол титрують розчином церію (IV) сульфату до появи зеленувато-жовтого забарвлення. Індикатором виступає фероїн. Паралельно проводять контрольний дослід [18,19,25].



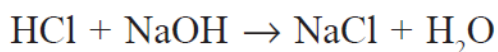
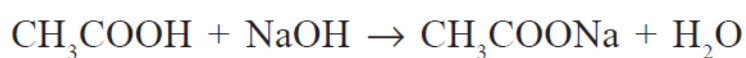
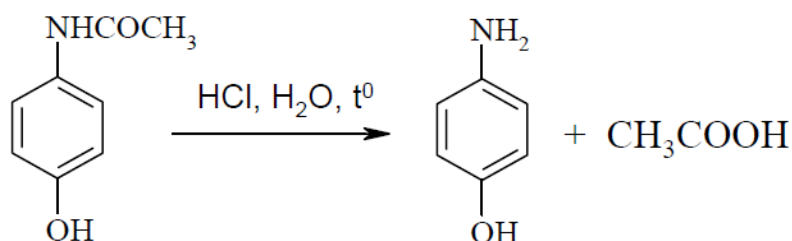
Нітритометрія після гідролізу. Попередній гідроліз субстанції проводять кислотою хлористоводневою. Пряме титрування проводять розчином натрію нітриту.



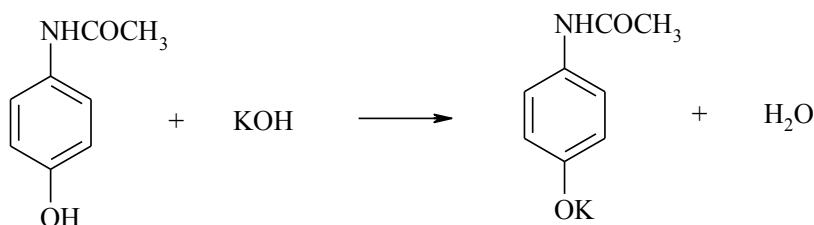
Точку еквівалентності визначають за посинінням йодкромального паперу від надлишкової краплі титранту [19,21]:



Пряме алкаліметричне титрування після гідролізу. Попередній гідроліз субстанції проводять кислотою хлористоводневою. Титрують розчином натрію гідроксиду до утворення забарвлення. Кінець титрування встановлюють з допомогою індикатора фенолфталеїну [19-20].



Алкаліметрія в неводному середовищі. Розчинником служить безводний ацетон, титрантом — гідроксид калію в ізо-пропіловому спирті. Кінець титрування встановлюють потенціометричним методом в електрохімічному осередку зі скляним електродом порівняння і сурм'яним індикаторним електродом [26].



Згідно з державною фармакопеею США кількісне визначення субстанції парацетамолу проводять методом рідинної хроматографії. При аналізі використовують рідинний хроматограф з УФ-детектором та хроматографічною колонкою розміром 4,6 мм × 10 см з розміром часток 3,5 мкм. В якості рухомої фази використовують 1,7 г/л одноосновного фосфату калію і 1,8 г/л безводного двоосновного фосфату натрію та метанол. Швидкість потоку рухомої фази – 1 мл/хв.. Температура термостату колонки – 35°C. Довжина хвили детектування – 230 нм. Об'єм інжекції – 25 мкл. Розчин зразка: 0,02 мг/мл ацетамінофену з основного розчину зразка в

розчині А. Розчин А –1,7 г/л одноосновного фосфату калію та 1,8 г/л безводного двоосновного фосфату натрію [40].

Для визначення парацетамолу у формі таблеток методом рідинної хроматографії використовують хроматограф з УФ-детектором та хроматографічну колонку розміром 3,0 мм × 10 см з розміром часток 3,5 мкм. В якості рухомої фази використана 1% (об./об.) крижана оцтова кислота у воді, зі швидкістю потоку 0,5 мл/хв. Термостат колонки налаштовують на температуру 40 °С. Для детектування використовують довжину хвилі 243 нм, а об'єм інжекції становить 10 мкл. Зразок має містити номінально 0,01 мг/мл ацетамінофену у розчиннику з основного розчину зразка, який пройшов через відповідний фільтр. Розчинник складається з метанолу та води у співвідношенні 10:90 об./об. [41].

Для розділення парацетамолу та визначення в комбінованому препараті з аспірином та кофеїном хроматографічне визначення проводять на хроматографічній колонці розміром 4,6 мм × 10 см з розміром часток 5 мкм. Рухомою фазою слугує суміш метанолу, крижаної оцтової кислоти та води у співвідношенні 28:3:69 зі швидкістю потоку 2 мл/хв. Температуру термостату колонки установлюють на рівні $45 \pm 1^\circ\text{C}$, а довжину хвилі детектування - 275 нм. Об'єм інжекції зразка становить 10 мкл, а розчин зразка розводять метанолом і крижаною оцтовою кислотою у співвідношенні 95:5 об/об. [42].

В ході аналізу комбінованої оральної суспензії з метою визначення парацетамолу використовують хроматографічну колонку розміром 4,6 мм × 25 см з розміром часток 5 мкм. Рухома фаза, яку використовують, є сумішшю ацетонітрилу і води (70:30), попередньо підготовлена шляхом фільтрування та дегазування. Швидкість потоку рухомої фази становить 1 мл/хв., а температура термостату колонки налаштована на 30°C. Детекція проводиться за допомогою УФ-детектора з довжиною хвилі 275 нм, а об'єм ін'екції зразка складає 5 мкл. Розчин зразка: відцентрифугований розчин ацетамінофену 65 мкг/мл з пероральної суспензії та рухомої фази [43].

Для визначення парацетамолу в мікстурі з трамадолу гідрохлоридом дослідження проводять з використанням газового хроматографа Agilent Technologies з автоматичним інжектором і мас-селективним детектором. Об'єм інжекції становить 1 мкл, а швидкість мас-спектрального сканування – 2,86 сканувань на секунду. Газовий хроматограф працює в режимі без розділення з газом-носієм – гелієм марки 5, швидкість потоку якого становить 0,7 мл/хв., і тиск у колонці 10 фунтів на квадратний дюйм. Мас-спектрометр працює в режимі електронного удару з напругою іонізації 70 еВ і температурою джерела 230°C. Температуру інжектора газового хроматографа підтримують на рівні 250°C, а лінію переносу - 280°C. Хроматографічне розділення проводять на колонці розміром 30 м × 0,25 мм, покритою 0,25 мкм 100%-вим диметилполісилоксаном [38].

Аналіз проводять на хроматографічній колонці HP-5 (Agilent Technologies, США) довжиною 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм, товщиною шару стаціонарної рідкої фази 0,25 мкм. В якості неполярної стаціонарної рідкої фази використовують (5%-феніл)-метилполісилоксан. Азот використовують як газ-носіє, а водень і повітря - як допоміжні гази. Зразок вводять в хроматографічну колонку автоматично за допомогою автоінжектора АОС-20і з використанням мікрошприца Shimadzu АОС об'ємом 10 мкл [47].

Валідовані методики

За методикою визначення 4-амінофенолу у супозиторіях 80 мг/доза методом високоефективної рідинної хроматографії використовують хроматографічну колонку Nucleosil C18 розміром 250×4,6mm, заповнену октадецилсилільним сорбентом з розміром часток 10 мкм. Рухома фаза – 0,01М розчин натрію 1-бутансульфонату у суміші мурашина кислота-метанол-вода очищена Р (0,4:15:85, об/об/об). Швидкість потоку рухомої фази – 1,5мл/хв.. Температура термостату колонки – 25°C. Довжина хвилі детектування – 272nm. Об'єм інжекції – 20 мкл. Межа виявлення - 0,5 мкг/мл.

Повна прогнозована невизначеність кінцевої аналітичної операції складає 15,89% [44].

У визначенні парацетамолу у таблетках з кофеїном та хлорфеніраміну малеатом використовують колонку зі зворотною фазою Phenomenex C18 (Luna 5 μ , 250 \times 4,6 мм) з ізократичною сумішшю метанолу та 0,05 М двоосновного фосфатного буфера рН 4,0 у співвідношенні (30:70; об/об) як рухомою фазу. Температуру колонки підтримують при температурі 30 °С. Швидкість потоку становить 1,0 мл/хв, детектування проводять за допомогою УФ-детектора при довжині хвилі 215 нм. Найменша кількість парацетамолу, яку можна було виявити, становила $1,415 \times 10^{-4}$ мкг/мл. Найменша кількість парацетамолу, яку можна було визначити кількісно, становила $4,289 \times 10^{-4}$ мкг/мл [45].

У ході аналізу парацетамолу в таблетках з дицикломіну гідрохлоридом та мефенамінової кислотою розділення проводять на колонці Brownlee C18 (250 \times 4,6 мм, 5 мкм) з використанням ацетонітрилу та 20 мМ калію дигідрофосфату у співвідношенні 70:30 (об/об), відрегульованого до рН 4, з використанням ортофосфорної кислоти як рухомої фази. Швидкість потоку - 1 мл/хв.. Детектування проводять при довжині хвилі 220 нм. Об'єм інжекції зразка – 20 мкл. Розділення завершують протягом 12 хв. Межа визначення – 0,033 мкг/мл. Межа кількісного визначення – 0,1 мкг/мл [46].

Висновки до розділу II

1. Досліджено фізико-хімічні властивості парацетамолу.
2. Проведено аналіз літературних джерел щодо сучасних методів ідентифікації та кількісного визначення парацетамолу у субстанції та готових монокомпонентних та багатокомпонентних препаратах, включаючи фізичні та фізико-хімічні методи.

РОЗДІЛ ІІІ

ПІДБІР МЕТОДИК АНАЛІЗУ ПАРАЦЕТАМОЛУ

3.1. Хроматографічні методики визначення парацетамолу

3.1.1. Методика визначення парацетамолу методом тонкошарової хроматографії

Для проведення аналізу методом тонкошарової хроматографії використовували силікагелеві ТШХ-пластинці з флуоресцентним індикатором 254 нм і товщиною шару 0,2 мм, алюмінієві пластинки розміром 20 × 20 см Fluka (Buchs, Швейцарія). Десять мікролітрів розчинів досліджуваних речовин наносили на ТШХ-пластинки з силікагелем 60F254 розміром 20 × 20 за допомогою піпетки об'ємом 10 мкл. Пластину поміщали в камеру хроматографа, попередньо насичену протягом 25 хвилин рухомою фазою дихлорметан: метанол : оцтова кислота безводна (7,5:1:0,5 об/об/об). Пластину проявляли у звичайному вертикальному резервуарі для проявлення при температурі навколишнього середовища понад 16 см. Плями виявляли під УФ-лампю (254 нм) і сканували препарат денситометрично (в режимі летючої плями) при 254 нм.

Точно виміряні об'єми вихідного розчину і робочого стандартного розчину (для методу ТШХ), еквівалентні 0,5-5 мг і 0,16-1,6 мг, переносили в дві окремі серії мірних колб на 5 мл і доводили об'єм розчинів до мітки метанолом. Десять мікролітрів кожного розчину наносили піпеткою об'ємом 10 мкл на пластини для ТШХ. Плями наносили на відстані 2 см від одної та 1,5 см від нижнього краю пластини. Калібрувальний графік для кожного препарату отримували шляхом побудови залежності площі під піком від концентрації препарату.

3.1.2. Методика визначення парацетамолу методом рідинної хроматографії

Прилад для рідинної хроматографії - Hewlett-Packard серії 1100, оснащений четвертинним насосом, діодним детектором і ручним інжектором на 20 мкл (Waldbronn, Німеччина). Колонка була Thermo Hypersil ODS (200 × 4,6 мм, розмір частинок 5 мкм) (Bellefonte, PA, США).

Для денситометричної оцінки пластин використовували денситометр Shimadzu з двохвильовою лампою CS9301 (Токіо, Японія) з наступними налаштуваннями: фоторежим: відбиття, смуга: авто, режим встановлення нуля: при старті, режим сканування: лінійний, різниця: вимкнено, лямбда: одинарна, трасування: вимкнено. Ми також використовували ультрафіолетову лампу з короткою довжиною хвилі (254 нм) (ENF-260/FE, Westbury, NY, США).

Хроматографічне розділення проводили на хроматографі Thermo Hypersil ODS (200 × 4,6 мм 5 мкм), відрегульованому до 35 °С. Рухома фаза складалася з метанолу:0,01 М гексансульфонат натрію : мурашина кислота (67,5:212,5:1 об/об/об), яку прокачували зі швидкістю потоку 2 мл/хв. Рухому фазу фільтрували через фільтр Millipore 0,45 мкм, білий нейлон HNWP 47 мм. Об'єм ін'єкції становив 20 мкл. Елюювання контролювали при довжині хвилі 277 нм. Час виконання становив 8 хв.

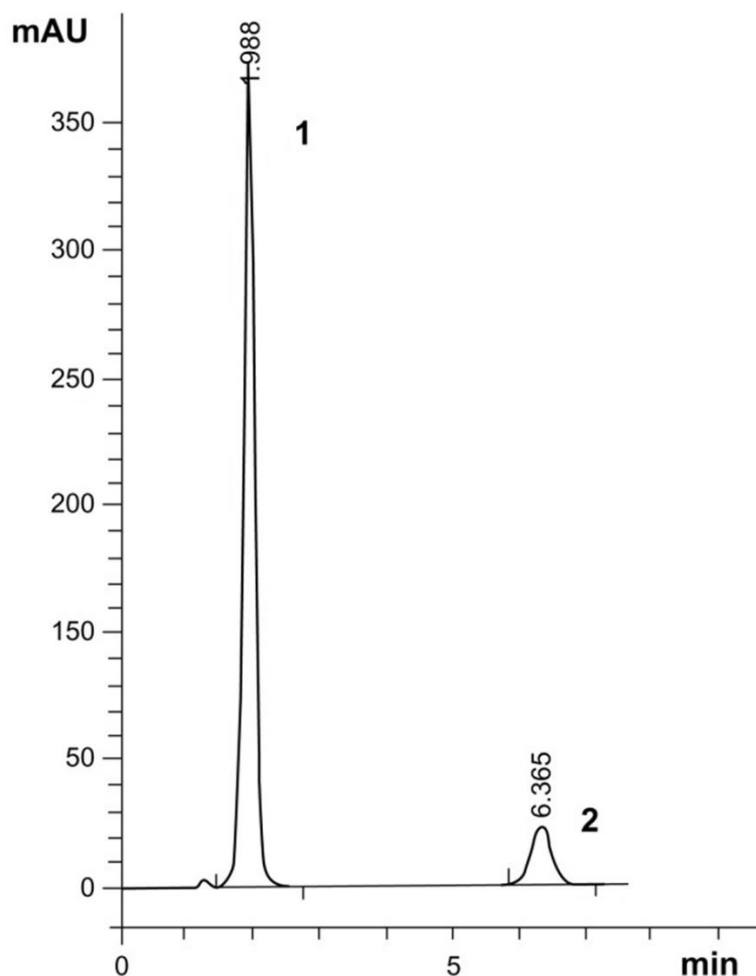


Рисунок 3.1. Рідинна хроматографія комбінованого лікарського засобу парацетамолу (250 мкг/мл)

Оптимізовано умови хроматографування. Вивчали колонки, температуру колонки, склад рухомої фази та швидкість потоку. Було використано кілька колонок, таких як Inertsil C8 ($4,6 \times 250$ мм, 5 мкм), Thermo Hypersil BDS ($4,6 \times 150$ мм, 5 мкм), Zorbax Sb-C18 ($4,6 \times 250$ мм, 5 мкм) і Thermo Hypersil ODS ($4,6 \times 200$ мм, 5 мкм). Перші дві колонки не забезпечили адекватного розділення всіх сполук. Однак, коли використовували Zorbax Sb-C18, спостерігався тривалий час утримування РАМВ. При використанні Thermo Hypersil ODS були отримані чіткі, симетричні піки з гарною роздільною здатністю і мінімальним часом елюювання та шумом. Ми використовували оберненофазну колонку C18, яка підходить для неполярних і помірно полярних аналітів, включаючи кислоти і

нейтральні сполуки. Вона також виявилася стабільною при низьких значеннях рН. Було досліджено температуру колонки в діапазоні від 25 °С до 35 °С. Зниження температури з 25 °С до 30 °С призвело до збільшення часу утримування всіх сполук, що дозволило збільшити час роботи. Температура 35 °С була обрана, оскільки вона скорочує час утримування всіх сполук і зменшує час роботи. Спочатку використовували рухому фазу, що складається з метанолу:0,01 М гексансульфонат натрію:мурашина кислота (37,5:212,5:1 об/об/об). Зміна частки метанолу не впливала на роздільну здатність усіх піків, проте спостерігався значний вплив на час утримування ПАМБ. Збільшення частки метанолу з 20% до 80% зменшувало час утримування ПАМБ і скорочувало час роботи. Зменшення частки метанолу з 20% до 80% призводило до збільшення часу утримування ПАМБ і подовження часу пробігу. 0,01 М гексансульфонат натрію був обраний як компроміс між часом аналізу і формою піку, оскільки менші кількості показували спотворення форми піку, а більші кількості - збільшення часу утримування. Таким чином, задовільне розділення з мінімальним часом елюювання було отримано при використанні рухомої фази, що складається з метанолу:0,01 М гексансульфонату натрію:мурашина кислота (67,5:212,5:1 об/об/об). рН рухомої фази становив 2,5, що було необхідним для кращої взаємодії між сполуками та рухомою фазою. Коригування рН не було потрібне, що є додатковою перевагою запропонованого методу. Досліджували швидкості потоку від 1-2 мл/хв. Швидкість потоку 1 і 1,5 мл/хв призводила до збільшення часу утримування і, отже, часу аналізу. Однак 2 мл/хв скорочували час виконання без впливу на роздільну здатність. Детекцію за площею піку проводили при 277 нм, яка виявилася оптимальною для виявлення парацетамолу в присутності інших компонентів.

3.1.3. Методика визначення парацетамолу методом газової хроматографії з мас-спектрометрією

Аналіз методом газової хроматографії проводили з використанням хроматографічної колонки HP-5 (Agilent Technologies, США): довжина 30 м, внутрішній діаметр 0,25 мм, товщина плівки НЖФ - 0,25 мкм.

Неполярна нерухома рідка фаза - (5%-феніл)-метилполісилоксан.

Як газ-носії використовували азот, як допоміжні гази - водень і повітря.

Введення проби в хроматографічну колонку здійснювали автоматично автоінжектором АОС-20і за допомогою мікрошприца Shimadzu АОС об'ємом 10 мкл.

Обробка хроматографічної інформації здійснювалася за допомогою програмного забезпечення "LabSolution".

Аналіз із застосуванням ГХ-МС проводили на газовому хромато-масспектрометрі Shimadzu GCMS-QP2020. Детектор - квадрупольний мас-спектрометр, що працює в режимі іонізації електронним ударом 70 еВ.

В аналізі використовували капілярну кварцову колонку HP-5MS (Agilent Technologies, США) довжиною 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм. Як газ-носії використовували гелій. Введення проби здійснювали вручну мікрошприцом "Shimadzu" об'ємом 10 мкл. Ідентифікація піків здійснювалася за допомогою бази даних NIST 17.0, Wiley (11th Edition), SWGDRUG 3.7.

Мас-спектри вважали ідентифікованими в разі збігу мас-спектрів досліджуваної речовини з бібліотечним з коефіцієнтом подібності, що перевищує 90%.

Результати проведення ГХ-МС. Дослідження проводили на газовому хроматографі з маселективним детектором Shimadzu GCMS-QP2020 на капілярній неполярній колонці HP-5. Введення проби (1 мкл) здійснювалося вручну з розподілом потоку 50:1. Мас-детектор працював у режимі

сканування спектрів електронного удару при 70 еВ в інтервалі від 50 до 550 а.о.м.

При розробці методики варіювали швидкість потоку газу-носія, температурні режими інжектора, хроматографічної колонки та різні методи екстракції (хлороформ, етиловий спирт і вода). Проводили аналіз з використанням швидкості потоку газу-носія від 0,7 до 2,0 мл/хв. Оптимальна швидкість потоку становила 1 мл/хв. За меншої швидкості газу-носія було отримано розширені хроматографічні зони досліджуваних речовин, за швидкості потоку понад 1 мл/хв. спостерігався неефективний поділ аналітів із баластними речовинами біоматриці. У процесі визначення оптимальної температури інжектора було апробовано такі значення: 200 °С, 210 °С, 220 °С, 230 °С, 240 °С, 250 °С, 260 °С, 270 °С. При використанні температурного діапазону 200-240 °С спостерігали розширені піки незадовільної форми, а при температурі вище 250 °С відбувалося часткове розкладання речовин у оп випарнику, що призвело до появи на хроматограмі додаткових піків, що заважають.

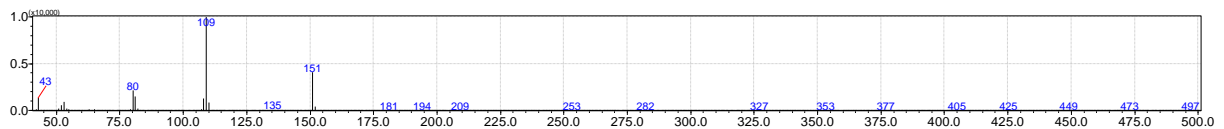


Рисунок 3.2. Мас-спектр парацетамолу

Характеристичні іони в мас-спектрі парацетамолу: 109, 151, 43, 80, 108, 81, 53, 52 m/z (дані наведено в порядку зменшення m/z).

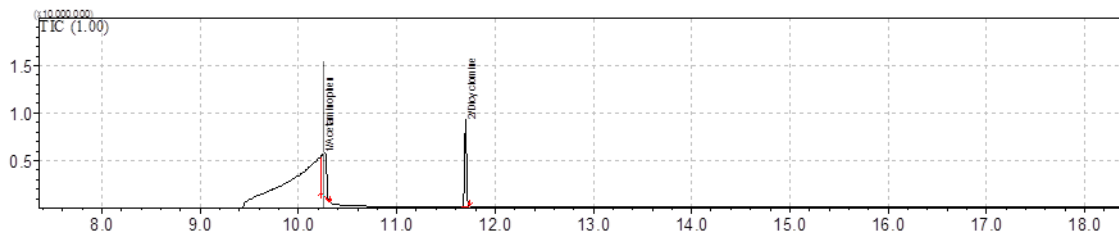


Рисунок 3.3. Хроматограма комбінованого лікарського засобу з парацетамолом

Зведені дані усіх запропонованих методик наведені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1.

Критичні характеристики запропонованих методик

Параметр	Метод		
	Тонкошарова хроматографія	Рідинна хроматографія	Газова хроматографія з мас-спектрометрією
Час проведення аналізу, хв	95	8-10	9
Межа виявлення, мкг/мл	1.000	0.300	2.000
Межа кількісного визначення, мкг/мл	3.400	0.600	6.670
Відносне стандартне відхилення, %	0.873	0.586	0.650

3.2. Розрахунок вартості матеріалів для проведення аналізу парацетамолу різними методами

Ще одним критерієм обґрунтування вибору методу аналізу є вартість, адже при впровадженні цього методу в лабораторії, він буде застосовуватись в усіх зразках з підозрою на вмісті в матеріалах справ парацетамолу. Тому, реактиви мають бути доступними та вартість одного аналізу якомога дешевшою.

Вартість необхідних реактивів для аналітичних досліджень проводилась на основі офіційного каталогу компанії Sigma-Aldrich. Процедура розрахунку вартості представлена в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Розрахунок вартості матеріалу для проведення аналізу

Матеріал	Вартість, євро	Кількість матеріалу на 1 аналіз	Вартість матеріалу, необхідного для проведення 1 аналізу, євро
ТШХ			
Основні матеріали			
Дихлорметан безводний, ≥99.8%, 1л	168.00	15 мл	2.52
Метанол, ≥99.9%, 1л	45.30	7 мл	0.32
Оцтова кислота льодяна, 2.5 л	147.00	1 мл	0.06
ТШХ-пластинка, 20*20, силікагель на алюмінієвій основі з флюоресцентним індикатором, 25 шт	232.00	1 шт	9.28
Допоміжні матеріали			
латексні рукавички з пудрою №100	12.56	1	0.13
шапочка медична одноразова неткана №100	2.50	1	0.03
бахіли медичні стерильні №50	3.50	1	0.07
Вартість матеріалів			12.41
Рідинна хроматографія			
Основні матеріали			
Метанол, ≥99.9%, 1л	45.30	68.5 мл	3.10
Гексансульфонат натрію, 25 г	986.00	0.01 г	0.39
Мурашина кислота, ≥98%, 1л	48.00	1	0.05
Мембранний фільтр 0,45 мікронів, 100 шт	250.0	1	2.50
Віали, об'ємом 2 мл, 100 шт	23.50	1	0.23
Допоміжні матеріали			
латексні рукавички з пудрою №100	12.56	1	0.13
шапочка медична одноразова неткана №100	2.50	1	0.03
бахіли медичні стерильні №50	3.50	1	0.07
Вартість матеріалів			6.50

Продовж. таблиці 3.2

Матеріал	Вартість, євро	Кількість матеріалу на 1 аналіз	Вартість матеріалу, необхідного для проведення 1 аналізу, євро
Газова хроматографія з мас-спектрометрією			
Основні матеріали			
Метанол, $\geq 99.9\%$, 1л	45.30	2 мл	0.09
Допоміжні матеріали			
латексні рукавички з пудрою №100	12.56	1	0.13
шапочка медична одноразова неткана №100	2.50	1	0.03
бахіли медичні стерильні №50	3.50	1	0.07
Вартість матеріалів			0.32

Окрім вартості матеріалів до кошторису аналізу входять витрати за «електрику» – це витрати, які безпосередньо витрачаються в технологічному процесі при проведенні аналітичних досліджень. Вираховуються згідно технічних характеристик обладнання (енергоспоживання на кВт·год), період проведення аналітичного дослідження та національний тариф на електроенергію для побутових та малих непобутових споживачів 0,12 євро/кВт·год з податок на додану вартість. Встановлено, що кількість витрат за статтею «електроенергія» при проведенні аналітичного дослідження методом рідинної хроматографії становить 0,05 євро, газової хроматографії з мас-спектрометрією – 0,21 євро.

Також враховувати необхідно оплату праці аналітика, амортизацію основних засобів, також утилізація відходів реагентів, згідно екологічних стандартів ISO. Відповідно до комерційних пропозицій ТОВ «Харків-Еко», вартість послуг, пов'язаних з відходами органічних розчинників, становить 0,55 євро за 1 л. Встановлено, що кількість витрат на утилізацію відходів після проведення аналізу тонкошарової хроматографії – 0,15 євро, рідинної хроматографії становила 0,1 євро, методом газової хроматографії з мас-

спектрометрією – 0,0003 євро. Слід зазначити, що «амортизація основних засобів» є значними витратами у вартості аналітичних досліджень різними методами. Це можна пояснити високою вартістю обладнання. Виходячи з результатів, метод газової хроматографії з мас-спектрометрією мав нижчу вартість за метод рідинної хроматографії.

3.3. Оцінка екологічності запропонованих методик визначення парацетамолу

Незважаючи на чисельні підходи для визначення більш екологічної природи аналітичних процедур, лише «методологія AGREE» використовує всі 12 принципів зеленої аналітичної хімії. Відповідно, екологічність поточного підходу була оцінена за допомогою програми «AGREE». На рис. 3.4-3.6 наведено графічні зображення звітів AGREE та оцінки AGREE для кожного принципу зеленої хімії. Загальна шкала AGREE для запропонованих аналітичних методик тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та газової хроматографії з мас-спектрометрією була розрахована як 0,68, 0,65 та 0,75 відповідно, що вказує на те, що запропоновані аналітичні методи для аналізу парацетамолу є зелені, але метод газової хроматографії з мас-спектрометрією є найбільш зеленішим.

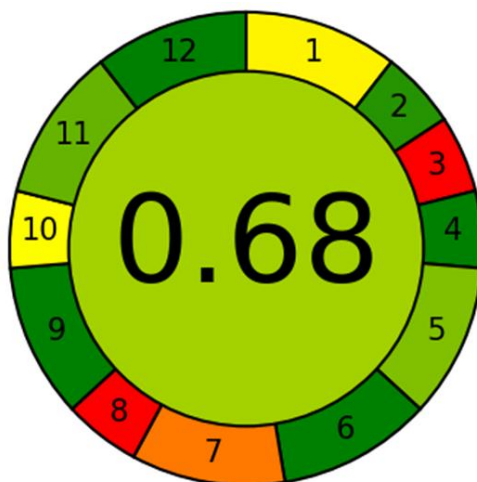


Рисунок 3.4. Екологічність методи тонкошарової хроматографії

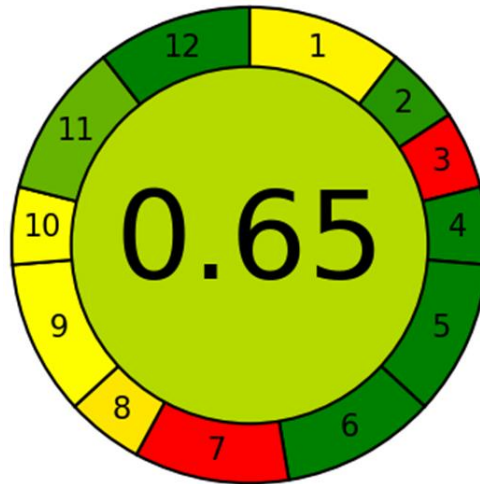


Рисунок 3.5. Екологічність методики рідинної хроматографії

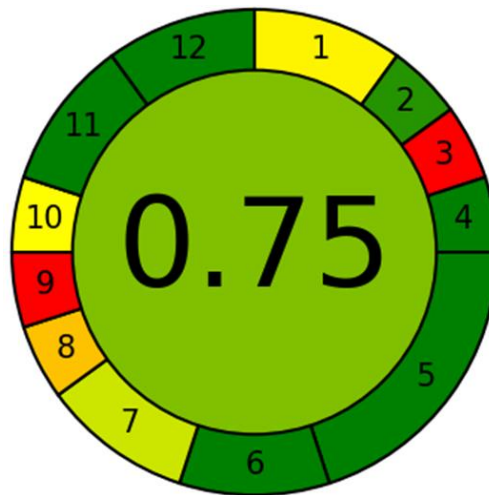


Рисунок 3.6. Екологічність методики газової хроматографії з мас-спектрометрією

Беручи до уваги усі досліджені характеристики методів, можна зробити висновок, що методика газової хроматографії з мас-спектрометрією і за вартістю, і за швидкістю, селективністю та точністю отриманих результатів, а також за екологічністю може використовуватись для визначення парацетамолу в судово-фармацевтичному аналізі.

Але і методики тонкошарової хроматографії та рідинної хроматографії можуть бути використані, так як дані досліджень підтверджують їх точність, специфічність відносно парацетамолу, вони відповідають критеріям за принципом зеленої хімії, та відповідно, яким обладнанням оснащена

лабораторія, той доступний метод з розглянутих в роботі може бути застосований. Всі методи є фармакопейними, валідованими та відповідають вимогам, що висуваються до методик Міністерством юстиції України та Міністерством охорони здоров'я, тому після верифікації в лабораторії можуть бути використані для проведення визначення парацетамолу в матеріалах судово-фармацевтичних справ, а отримані результати визначення - представлені в суді та органам виконавчої влади.

Висновки до розділу III

1. Розглянуто криміналістичні справи, які були пов'язані з фальсифікацією парацетамоловмісних засобів через широке поширення в усьому світі, що означає, що будь-яка судово-фармацевтична лабораторія може зіткнутись з цим матеріалом судової справи.

2. Для завдань судового аналізу запропоновано хроматографічні методики дослідження парацетамолу в матеріалах справ.

3. Для методів тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та газової хроматографії з мас-спектрометрією порівняні валідаційні характеристики, серед яких точність, специфічність, а також лінійність, межа виявлення та межа кількісного визначення. Порівняні витрати на проведення одного аналізу та прорахована екологічність кожного методу, що продемонструвала зеленість всіх методик.

4. Відповідно до оснащення лабораторії, і методи тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та можуть бути використані, так як є фармакопейними, валідованими та газової хроматографії з мас-спектрометрією відповідають вимогам, що висуваються до методик Міністерством юстиції України та Міністерством охорони здоров'я, тому після верифікації в лабораторії можуть бути використані для судово-фармацевтичному аналізу, а отримані результати визначення - представлені в суді та органам виконавчої влади.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. В ході роботи розглянуті показання до застосування, фармакодинаміка та фармакокінетика парацетамолу, також випадки фальсифікації лікарських засобів з парацетамолом та судові справи.

2. В даний час парацетамол використовується широко як самостійний лікарський засіб, а також у складі багатокомпонентних лікарських засобів, які спрямовані на полегшення різних видів болю та симптомів застуди. Це стало можливим завдяки його безпечному використанню у дітей, вагітних, лактуючих жінок, хворих на виразку шлунка та людей, для яких нестероїдні протизапальні засоби протипоказані.

3. Оскільки парацетамол застосовується в широкому спектрі лікарських засобів, його фальсифікація є серйозним проблемою. В Україні кількість виявлених фальсифікованих лікарських засобів, які містять парацетамол, є однією з найвищих в Європі.

4. Розглянуті хроматографічні методи для судово-фармацевтичного аналізу парацетамолу в матеріалах справ. Для кожного запропонованого методу визначені критичні точки, серед яких валідаційні характеристики, вартість та екологічність.

5. Згідно отриманих результатів доведено раціональність та запропоновано використання методу газової хроматографії з мас-спектрометрією для визначення парацетамолу в матеріалах судово-фармацевтичних справ, який є експресним, екологічним та економічним. Але, при відсутності в оснащенні лабораторії газового хромато-масспектрометра, після верифікації також можуть бути використані методи тонкошарової хроматографії або рідинної хроматографії. Так як усі методики є фармакопейними, валідованими, підходять для аналізу парацетамолу в матеріалах справ, та відповідають вимогам, що висуваються Міністерством юстиції України та Міністерством охорони здоров'я.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ahmed J., Modica de Mohac L., Mackey T. K., Raimi-Abraham B. T. A critical review on the availability of substandard and falsified medicines online: Incidence, challenges and perspectives. *J Med Access*. 2022. Vol. 15, № 6. P. 1-18. DOI: 10.1177/23992026221074548.
2. Sounding out falsified medicines from genuine medicines using Broadband Acoustic Resonance Dissolution Spectroscopy (BARDS) / A. Alfarsi et al. *Sci Rep*. 2021. Vol. 16, № 11 (1). P. 12643. DOI: 10.1038/s41598-021-90323-2.
3. Substandard and Counterfeit Medicines / WHO Media Centre. Geneva, 2003. P. 1-4. URL: <https://www.globalforumljd.org/sites/default/files/documents/virtualLibrary/> (Date of access: 01.11.2022).
4. Combating falsified medical product-related crime : a guide to good legislative practices. URL: https://www.unodc.org/documents/treaties/publications/1900741_Guide_Falsified_Medical_Products_ebook.pdf (Date of access: 01.11.2022).
5. The health consequences of falsified medicines- A study of the published literature / M. S. Rahman et al. *Trop Med Int Health*. 2018. Vol. 23, № 12. P. 1294-1303. DOI: 10.1111/tmi.13161.
6. WHO global surveillance and monitoring system for substandard and falsified medical products / WHO. Geneva, 2017. 64 p.
7. Prevalence and estimated economic burden of substandard and falsified medicines in low-and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis / S. Ozawa et al. *JAMA Netw Open*. 2018. Vol. 1. P. 181662–e181662.
8. Президент України. Володимир Зеленський. Володимир Зеленський підписав закон щодо посилення кримінальної відповідальності за фальсифікацію лікарських засобів. URL: <https://president.gov.ua/news/volodimir-zelenskij-pidpisav-zakon-shodo-posilennya-kriminal-58537> (Date of access: 01.11.2022).

9. Кримінальний кодекс України. Стаття 321-1 ККУ від 05.04.2001 № 2341-III. Фальсифікація лікарських засобів або обіг фальсифікованих лікарських засобів. URL: https://kodeksy.com.ua/kriminal_nij_kodeks_ukraini/321-1.htm (Date of access: 01.11.2022).

10. Зозуля О. Фальсифікація лікарських засобів: проблемні аспекти й шляхи їх вирішення. URL: <https://yur-gazeta.com/publications/practice/medichne-pravo-farmaceutika/falsifikaciya-likarskih-zasobiv-problemni-aspekti-y-shlyahi-yih-virishennya.html> (Date of access: 01.11.2022).

11. Про внесення змін до статті 321-1 Кримінального кодексу України щодо посилення відповідальності за фальсифікацію лікарських засобів або обіг фальсифікованих лікарських засобів : Закон України від 12 листопада 2019 року № 284-IX. URL: <https://www.president.gov.ua/news/volodimir-zelenskij-pidpisav-zakon-shodo-posilennya-kriminal-58537> (дата звернення: 01.11.2022).

12. Гуторова Н. Фальсифікація лікарських засобів – як в Україні суворість кримінально-правової норми поєднується з фактичною безкарністю фальсифікаторів? URL: <https://www.apteka.ua/article/486071> (дата звернення: 01.11.2022).

13. Компендіум. Лікарські препарати. URL: <https://compendium.com.ua/uk/akt/80/2903/paracetamol/> (дата звернення: 01.11.2022).

14. Acetaminophen. URL: <https://www.newworldencyclopedia.org/entry/Acetaminophen> (Date of access: 01.11.2022).

15. Парацетамол, комбінации без психолептиков. URL: <https://tabletki.ua/uk/atc/N02BE51/filter/page=1/> (дата звернення: 01.11.2022).

16. Аналітична токсикологія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / С. В. Баюрка та ін. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 384 с.

17. Парацетамол. URL: <https://www.apteka24.ua/uk/mnn/paracetamol/> (дата звернення: 01.11.2022).

18. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2001. Допов. 1. 520 с.
19. Фармацевтична хімія : підруч. для студентів вищ. фармац. навч. закл. і фармац. ф-тів вищ. мед. навч. закл. III-IV рівнів акредитації / за заг. ред. П. О. Безуглого. Вінниця : НОВА КНИГА, 2018. 560 с.
20. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / П. О. Безуглий та ін. ; за заг. ред. В.А. Георгіянц. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2013. 552 с.
21. Аналітична хімія : навч. посіб. для фармац. вузів та ф-тів III—IV рівня акредитації / В. В. Болотов та ін. Харків : Вид-во НФаУ ; Оригінал, 2004. 480 с.
22. Медична хімія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / І. С. Гриценко та ін. ; за заг. ред. І.С. Гриценка. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 552 с.
23. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2001. 556 с.
24. Худоярова О. С. Фармацевтична хімія : навч. посіб. для студентів хімічних спеціальностей вищих педагогічних навчальних закладів. Вінниця : ТОВ «Нілан – ЛТД», 2018. 194 с.
25. European Pharmacopoeia. 9th ed URL: <https://www.edqm.eu/en/news/shutdown-european-pharmacopoeia-9th-edition> (Date of access: 01.11.2022).
26. Moffat A. C., Osselton M. D., Widdop B., Watts J. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons. London : Pharmaceutical Press, Electronic version, 2005. 2736 p.
27. Nief Rahman Ahmad, Farha Khalaf Omar. HPLC method for determination of paracetamol in pharmaceutical formulations and environmental

water samples. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2018. Vol. 7, № 15. URL: [https://www.researchgate.net/profile/Farha-Khalaf-Omar/publication/331407550_\(Date_of_access:01.11.2022\)](https://www.researchgate.net/profile/Farha-Khalaf-Omar/publication/331407550_(Date_of_access:01.11.2022)).

28. Chemically modified carbon-based electrodes for the determination of paracetamol in drugs and biological samples / W. Boumya et al. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2020. URL: <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2020.11.003> (Date of access: 01.11.2022).

29. Chen Hua, Zhang Zhujun, Fu Zhifeng. *Anal. Chem.* 2002. Vol. 30, № 11. P. 1344-1347.

30. Pasha C. Determination of paracetamol in pharmaceutical samples by spectrophotometric method. *Eclética Química*. 2020. Vol. 45, № 3. P. 37-46.

31. Блажеєвський М. Є., Бондаренко Н. Ю. Кількісне визначення парацетамолу в лікарських формах методом хемілюмінесценції. *Фармацевтичний журнал*. 2004. № 5. С. 68-73.

32. Васюк С. О., Алтунін М. Л., Петренко В. В. Спектрофотометричне визначення парацетамолу в лікарських формах. *Медицина хімія*. 2004. Т. 6, № 1. С. 77-80.

33. Comparison of the quantification of acetaminophen in plasma, cerebrospinal fluid and dried blood spots using high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry / R. R. Taylor et al. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2013. Vol. 83. P. 1–9.

34. Chen X., Huang J., Kong Z., Zhong D. Sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of paracetamol and guaifenesin in human plasma. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2005. Vol. 817. P. 263–269.

35. Simultaneous determination of acetaminophen and dihydrocodeine in human plasma by UPLC–MS/MS: its pharmacokinetic application / X. Qiu et al. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2015. Vol. 992. P. 91–95.

36. Quantitative analysis of acetaminophen and its primary metabolites in small plasma volumes by liquid chromatography-tandem mass spectrometry / T. Gicquel et al. *J. Anal. Toxicol.* 2013. Vol. 37. P. 110–116.

37. Biscevic-Tokic J., Tokic N., Ibrahimasic E. Chromatography as Method for Analytical Confirmation of Paracetamol in Postmortem Material Together with Psychoactive Substances. *Acta Inform Med.* 2015. Vol. 23, № 5. P. 322-5. DOI: 10.5455/aim.2015.23.322-325.

38. Development of a method for the study of dicycloverine hydrochloride as an object of forensic examination / O. Bevz et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022. № 4 (38). P. 28-35.

39. Парацетамол. Інструкція для медичного застосування URL: [https://likicontrol.com.ua/інструкція/?\[32575\]](https://likicontrol.com.ua/інструкція/?[32575]) (дата звернення: 28.04.2023).

40. Acetaminophen. United States Pharmacopeia. 2023. URL: <https://www.uspnf.com/notices/acetaminophen-nitr-20220128> (Date of access: 01.11.2022).

41. Acetaminophen Tablets. United States Pharmacopeia. 2023. URL: https://www.uspnf.com/sites/default/files/usp_pdf/EN/USPNF/acetaminophen.pdf (Date of access: 01.11.2022).

42. Acetaminophen, Aspirin, and Caffeine Tablets. United States Pharmacopeia. 2023. URL: http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m240.html (Date of access: 01.11.2022).

43. Tramadol Hydrochloride and Acetaminophen Compounded Oral Suspension. United States Pharmacopeia. 2023. URL: https://file.wuxuwang.com/yaopinbz/USP41-NF36/USP41-NF36_2101.pdf (Date of access: 01.11.2022).

44. Салій О. О., Кузьміна Г. І., Фуклева Л. Ф., Манацюк В. В.. Дослідження валідаційних характеристик методик кількісного визначення парацетамолу та його основної домішки в ректальних супозиторіях. *Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Сер. Технічні науки.* 2020. № 3 (146). С. 139-154.

45. Validated RP-HPLC method for simultaneous determination and quantification of chlorpheniramine maleate, paracetamol and caffeine in tablet formulation. / A. Acheampong et al. *SpringerPlus*. 2016. № 5. P. 625.

46. Development and validation of a liquid chromatographic method for estimation of dicyclomine hydrochloride, mefenamic Acid and paracetamol in tablets / D. A. Shah et al. *Indian J Pharm Sci*. 2014. Vol. 76, № 6. P. 529-34.

47. Tarek Belal, Tamer Awad. Determination of Paracetamol and Tramadol Hydrochloride in Pharmaceutical Mixture Using HPLC and GC–MS. *Journal of Chromatographic Science*. 2009. Vol. 47. P. 849-853

48. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/>_(дата звернення: 28.04.2023).

ДОДАТКИ



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ
ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА
АНАЛІТИЧНОЇ ХІМІЇ
ТА АНАЛІТИЧНОЇ
ТОКСИКОЛОГІЇ

СЕРТИФІКАТ

№385

Цим засвідчується, що

Чернишова О.О.

брав(ла) участь у роботі II Міжнародної
науково-практичної дистанційної конференції

**«СУЧАСНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»,**

присвяченої 80-річчю від дня народження професора В.В. Болотова

Тривалість - 8 годин (0,27 кредитів ECTS)

1 лютого 2022 р., м. Харків, Україна

Ректор НФаУ,
д. фарм. н., проф.

Проректор з НПР,
д. фарм. н., проф.

Завідувач кафедри аналітичної
хімії та аналітичної токсикології,
д. фарм. н., проф.



Алла КОТВИЦЬКА

Інна ВЛАДИМИРОВА

Сергій КОЛІСНИК

СУДОВИЙ АНАЛІЗ ПОРОШКІВ ВІД ПРОСТУДИ З ПАРАЦЕТАМОЛОМ

Романькова Д.В., Чернишова О.О., Бевз О.В., Перехода Л.О.

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Українаbevz.helen@gmail.com

Фальсифікація й поширення фальсифікованих лікарських засобів належить до найбільш тяжких злочинів проти громадського здоров'я. Але найжахливіші наслідки — це шкода для життя і здоров'я людей, яку важко переоцінити. Під час пандемії COVID-19 для симптоматичного лікування захворювання широко використовуються комбіновані препарати з парацетамолом, зокрема порошки від застуди у формі саше. Використання цієї лікарської форми збільшило кількість випадків фальсифікації парацетамолвмісних лікарських засобів через високий попит.

Тому для забезпечення якості та виявлення фальсифікованої фармацевтичної продукції актуальною є розробка методик визначення парацетамолу в комбінованих лікарських препаратах. Нами запропоновано для визначення парацетамолу обрати методи тонкошарової хроматографії та абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці, які не вимагають тривалої пробопідготовки, великої кількості реактивів і доступні лабораторіям різного рівня. Методики досліджували на розчинах плацебо, модельній суміші та препаратах-генериках «Хелпекс® Антиколд нео», «Аміцитрон» та «Антигрипін», до складу яких входять парацетамол (500 мг), фенілефрину гідрохлорид (10 мг) та левоцетиризину дигідрохлорид (1,25 мг).

Ідентифікацію компонентів протизастудних порошків проводили методом тонкошарової хроматографії на пластинках Сорбфіл у системі розчинників хлороформ-спирт етиловий 96 %-розчин аміаку концентрований (90:10:1). Готували етанольні розчини зразків, які наносили на лінію старту та елюювали висхідним способом. Зони речовин виявляли обприскуванням хроматограми 0,1 М розчином йоду. На хроматограмі проявляються коричневі плями компонентів за формою, інтенсивністю забарвлення та величиною R_f , відповідні плямам речовин-свідків (парацетамолу, фенілефрину гідрохлориду та левоцетиризину дигідрохлориду), що доводить можливості ідентифікації відразу всіх активних компонентів об'єктів дослідження в сумісній присутності.

З метою проведення спектрофотометричного визначення, зразок, еквівалентний 50 мг парацетамолу розчиняли в 10 мл спирту етилового при нагріванні, після охолодження розводили 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти для отримання необхідної концентрації ($3,0 \cdot 10^{-4}\%$ до $1,1 \cdot 10^{-3}\%$ для проведення вивчення підпорядкування закону світлопоглинання). Максимальне поглинання парацетамолу за даних умов спостерігається при довжині хвилі 245 нм. У результаті досліджень було доведено, що інші складові лікарських засобів не впливають на визначення парацетамолу в об'єктах дослідження. Запропоновані методики визначення парацетамолу в присутності інших складових протизастудних порошків, можуть бути використані для фармацевтичного і судового аналізу парацетамолвмісних комбінованих лікарських засобів від застуди для забезпечення належної якості та виявлення фальсифікації.



МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



СЕРТИФІКАТ УЧАСНИКА

Цим засвідчується, що

**Чернишова О.О., Бевз О.В., Сич І.В.
Науковий керівник: Перехода Л.О.**

брав(ла) участь у роботі

XXIX Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

В.о. ректора
Національного фармацевтичного
університету



Алла КОТВИЦЬКА



19-21 квітня 2023 р, м. Харків

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ
НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

МАТЕРІАЛИ
XXIX МІЖНАРОДНОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ТА СТУДЕНТІВ

19-21 квітня 2023 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2023

XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

фармацевтичних інгредієнтів в досліджуваній лікарській формі нами були запропоновані фізико-хімічні та хімічні методи. Для кількісного визначення ібупрофену пропонується метод алкаліметрії, парацетамолу – метод визначення амінного азоту у сполуках, що містять первинну ароматичну аміногрупу (метод нітриметрії), для кофеїну – метод йодометрії.

Результати дослідження. Ібупрофен рекомендовано ідентифікувати за характером спектру поглинання в УФ області спектру, а також реакцію з розчином натрію гідрокарбонату. Для ідентифікації парацетамолу можна рекомендувати реакцію утворення індофенолового барвника після кислотного гідролізу. Кофеїн рекомендовано визначати реакцією на ксантини.

Методом алкаліметрії можна провести кількісне визначення ібупрофену у присутності фенолфталеїну як індикатору. Для урахування впливу інших інгредієнтів на результат кількісного визначення рекомендовано паралельно проводити контрольний дослід. Кількісний вміст парацетамолу може бути визначений методом нітриметрії з використання внутрішніх індикаторів. Для визначення кількісного вмісту кофеїну запропонований метод йодометрії у присутності індикатору – розчину крохмалю.

Висновки. Запропоновані методики можуть бути рекомендовані для дослідження багатокомпонентної лікарських форм в контроль-аналітичних лабораторіях та аптеках. Запропоновані методики дозволяють проводити контролю якості активних фармацевтичних інгредієнтів у сумісній присутності.

СУДОВО-ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПАРАЦЕТАМОЛУ В МАТЕРІАЛАХ СПРАВ

Чернишова О.О.¹, Бевз О.В.¹, Сич І.В.²

Науковий керівник: Перехода Л.О.¹

¹Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

²Національний науковий центр «Інститут судових експертиз

ім. засл. проф. М.С. Бокаріуса», Харків, Україна

chernyshovaolesia16@gmail.com

Вступ. Парацетамол є одним з безрецептурних анальгетиків та жарознижувальних лікарських засобів, які найбільш часто використовуються. Невисока вартість і безрецептурний відпуск є основними факторами зловживання парацетамолом, самолікування та збільшення кількості його фальсифікацій. За останні 10 років на території України було відкрито більше ніж 500 судових справ стосовно отруєння, фальсифікації або хибних медичних призначень парацетамолу або його суміші з іншими речовинами (трамадол, дицикловерин та ін.), що призвели до погіршення стану хворого. Тому, підбір оптимальних методик для визначення парацетамолу в матеріалах судово-фармацевтичних справ є актуальним питанням.

Мета дослідження. Метою дослідження є підбір оптимального методу визначення парацетамолу, придатного для завдань судово-фармацевтичного аналізу.

Матеріали та методи. Для проведення дослідження були взяті звіти науковців: валідації методик визначення парацетамолу в моно- та в багатокомпонентних лікарських засобах хроматографічними методами: тонкошарової хроматографії, рідинної хроматографії та газової хроматографії з мас-спектрометрією. Вибір оптимальної методики здійснювали за валідаційними характеристиками, вартістю матеріалів, яку розраховували згідно з каталогом «Sigma Aldrich» та екологічністю, що визначали за допомогою програмного забезпечення «AGREE».

Секція 3

«СТАНДАРТИЗАЦІЯ ЛІКІВ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ АНАЛІЗ»

Для проведення тонкошарової хроматографії використовують силікагелеві ТШХ-пластинки з флуоресцентним індикатором при 254 нм і товщиною шару 0,2 мм на алюмінієвій пластинці розміром 20 × 20 см Fluka. 10 мкл метанольних розчинів (0,2 мг/мл) досліджуваної речовини та зразку порівняння наносять на ТШХ-пластинку. В якості рухомої фази використовують суміш дихлорметан : метанол : оцтова кислота льодяна (7,5:1:0,5 об/об/об), якою попередньо насичують камеру протягом 25 хвилин. Пластину проявляють у звичайному вертикальному резервуарі для проявлення в УФ-світлі (254 нм). Сумарний час аналізу становить приблизно 95 хв.

Хроматографічне розділення методом рідинної хроматографії проводять на хроматографі Thermo Hypersil ODS (200 × 4,6 мм 5 мкм), відрегульованому до 35 °С з використанням колонки Zorbax Sb-C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм). Рухома фаза складається з суміші метанол:0,01 М гексансульфонат натрію : мурашина кислота (67,5:212,5:1 об/об/об), яку прокачують зі швидкістю потоку 2 мл/хв. Рухому фазу фільтрують попередньо через фільтр Millipore 0,45 мкм, білий нейлон HNWP 47 мм. Об'єм ін'єкції випробовуваного метанольного розчину становить 20 мкл. Детектують при довжині хвилі 277 нм. Час аналізу становить 8 хв.

Аналіз із застосуванням газової хроматографії з мас-спектрометрією проводять на газовому хромато-масспектрометрі Shimadzu GCMS-QP2020. Детектор – квадрупольний мас-спектрометр, який працює в режимі іонізації електронним ударом 70 eV.

В аналізі використовується капілярна кварцова колонка HP-5MS (Agilent Technologies, США) завдовжки 30 м, внутрішнім діаметром 0,25 мм. Як газ-носії використовується гелій. Введення проби проводиться вручну мікрошприцем Shimadzu об'ємом 10 мкл. Ідентифікація піків здійснюється за допомогою баз даних NIST 17.0, Wiley (11th Edition), SWGDRUG 3.7. Час аналізу становить 9 хв.

Результати дослідження. Всі методики, які досліджувались, мали мінімальну кількість операцій, відповідали вимогам чинного законодавства та були потенційно-підходящими для завдань судово-фармацевтичного аналізу.

Відносне стандартне відхилення для визначення парацетамолу методом тонкошарової хроматографії становить 0.873 %, межа виявлення 1.000 мкг/мл, межа кількісного визначення – 3.400 мкг/мл.

Результати досліджень методом рідинної хроматографії демонструють межу виявлення парацетамолу на рівні 0.300 мкг/мл, межа кількісного визначення – 0.600 мкг/мл. Відносне стандартне відхилення газової хроматографії – 0.586 %.

Межа кількісного визначення парацетамолу, визначуваного методом газової хроматографії з мас-спектрометрією та межі виявлення становлять 2.000 мкг/мл та 6.670 мкг/мл відповідно з відносним стандартним відхиленням 0.650 %.

Порівнюючи вартість матеріалів, необхідних для проведення одного аналізу, найекономічнішим є метод газової хроматографії з мас-спектрометрією, затрати на 1 аналіз якої складають 0.32 євро, при тому, що вартість матеріалів для проведення аналізу методом рідинної хроматографії становлять 6.50 євро, а методом тонкошарової хроматографії – 12.41 євро.

Щодо екологічності методик, метод газової хроматографії з мас-спектрометрією має показник зеленості 0.75 з 1, що робить його найекологічнішим у порівнянні з методом тонкошарової хроматографії з показником 0,68 та рідинної хроматографії – 0.65 за рахунок використання в останніх великої кількості реактивів, які після аналізу потребують утилізації.

Висновки. Згідно отриманих результатів нами доведено раціональність та запропоновано використання методу газової хроматографії з мас-спектрометрією для

XXIX Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених та студентів
«АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ СТВОРЕННЯ НОВИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ»

визначення парацетамолу в матеріалах судово-фармацевтичних справ, який є експресним, екологічним та економічним. Але, при відсутності в оснащенні лабораторії, де проводиться судово-фармацевтичний аналіз, газового хромато-маспектрометра, після верифікації також можуть бути використані методи тонкошарової хроматографії та рідинної хроматографії. Ці методи також є фармакопейними, валідованими, підходять для аналізу парацетамолу в матеріалах справ в комбінації з іншими речовинами, та відповідають вимогам, що висуваються Міністерством юстиції України та Міністерством охорони здоров'я. Отримані цими методами результати визначення парацетамолу також можуть бути представлені в суді та органам виконавчої влади.

МЕТОДИКИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ МІНОКСИДИЛУ В КОСМЕТИЧНИХ ТА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ

Шаповаленко Д.Д.¹, Мала О.Д.¹, Криванич О.В.²

Наукові керівники: Бевз О.В.¹, Сич І.А.¹

¹Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

² ДВНЗ "Ужгородський національний університет", Ужгород, Україна

dashka.sh143@gmail.com

Вступ. Міноксидил є похідним піперидино-піримідину з хімічною структурою: 2,6-діаміно-4-піперидинопіримідин-1-оксид (C₉H₁₅N₅O). Міноксидил вперше був представлений як пероральний препарат для лікування важкої та непокірної гіпертензії в 1970-х роках. Водночас лікарі спостерігали відростання волосся та генералізований гіпертрихоз у пацієнтів з облісінням, що призвело до розробки місцевої форми міноксидилу для лікування андрогенної алопеції спочатку у чоловіків, а потім і у жінок. Так на фармацевтичному ринку з'явилися 2% та 5% розчини міноксидилу для зовнішнього застосування. На сьогодні в Україні зареєстровано 6 лікарських засобів у формі спреїв та розчинів нашкірних під торговими назвами: «Пілфуд Босналек» (2% та 5%), «Міноксидил Інтелі» (2% та 5%) та «Генеролон» (2% та 5%). Всі інші засоби міноксидилу у формі сироваток, шампунів, спреїв, лосьйонів в концентраціях від 2% до 15% діючої речовини є косметичними засобами від випадіння волосся та відновлення росту волосся на голові, зростання вії та бороди, що робить ці засоби доступними населенню та поширеними. Але, зі зміною законодавства на косметичні засоби, введенням в дію Постанови Кабінету міністрів України № 65 від 20 січня 2021 року «Про затвердження Технічного регламенту на косметичну продукцію», з 03 серпня 2022 року всі косметичні засоби мають перевірятись на якісний та кількісний вміст компонентів, а також від цієї дати неможливо зареєструвати засоби міноксидилу, як косметичні, через те, що ця діюча речовина уведена до списку речовин, заборонених до використання в косметичній продукції, а отже потребуватиме реєстрації як лікарський засіб. Тому актуальним на сьогодні є розробка / підбір методик контролю якості міноксидилу.

Мета дослідження. Метою дослідження стали добір методик ідентифікації та кількісного визначення міноксидилу в лікарських та косметичних засобах.

Матеріали та методи. Для проведення дослідження використовували методики провідних Фармакопей світу, звіти науковців, патенти. Добір методик проводили за валідаційними параметрами, вартості матеріалів, які розраховували згідно з каталогом Sigma

Національний фармацевтичний університет

Факультет фармацевтичний
Кафедра медичної хімії
Ступінь вищої освіти магістр
Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація
Освітня програма Фармація

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА
« 22 » серпня 2022 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ

Олесі ЧЕРНИШОВОЇ

1. Тема кваліфікаційної роботи: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово-фармацевтичного аналізу»
керівник кваліфікаційної роботи: Ліна ПЕРЕХОДА, д.фарм.н., професор
затверджений наказом НФаУ від «06» березня 2023 року № 59
2. Строк подання здобувачем вищої освіти кваліфікаційної роботи: квітень 2023 р.
3. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: матеріали судових справ з парацетамолвмісними засобами, сучасні методи аналізу парацетамолу, фармакологічні властивості та показання до застосування засобів парацетамолу та їх асортимент
4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести огляд літератури щодо захворювань, при яких призначають препарати парацетамол, їх механізм дії та фармакологічні ефекти; розглянути статистичні дані щодо використання парацетамолу, частоти фальсифікації засобів, а також судово-фармацевтичного аналізу матеріалів справ; розглянути фізико-хімічні властивості та сучасні можливі методи аналізу парацетамолу; підібрати оптимальні методики визначення парацетамолу для застосування в судово-фармацевтичному аналізі; розрахувати для запропонованих методик вартість реактивів, екологічність та порівняти валідаційні характеристики; порівняти отримані результати та зробити висновок про оптимальні методики аналізу парацетамолу в матеріалах судових справ
5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): таблиць – 3 , рисунків – 16 .

6. Консультанти розділів кваліфікаційної роботи

Розділ	Ім'я, ПРІЗВИЩЕ, посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
1	Ліна ПЕРЕХОДА, професор, д.фарм.н., завідувачка кафедри медичної хімії	22 серпня 2022 року	22 серпня 2022 року
2	Ліна ПЕРЕХОДА, професор, д.фарм.н., завідувачка кафедри медичної хімії	15 жовтня 2022 року	15 жовтня 2022 року
3	Ліна ПЕРЕХОДА, професор, д.фарм.н., завідувачка кафедри медичної хімії	20 грудня 2022 року	20 грудня 2022 року

7. Дата видачі завдання: « 22 » серпня 2022 року

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів кваліфікаційної роботи	Примітка
1.	Парацетамол: асортимент лікарських засобів та випадки фальсифікації	вересень 2022	виконано
2.	Фармакокінетика та фармакодинаміка парацетамолу	жовтень 2022	виконано
3.	Фармацевтичний аналіз парацетамолу	листопад 2022	виконано
4.	Вибір об'єкта дослідження і підбір методів для проведення дослідження	грудень 2022	виконано
5.	Проведення експериментальної частини роботи	січень-лютий 2023	виконано
6.	Обробка і узагальнення отриманих результатів	березень 2023	виконано
7.	Оформлення роботи та подання до Екзаменаційної комісії	квітень 2023	виконано

Здобувач вищої освіти _____

Олеся ЧЕРНИШОВА

Керівник кваліфікаційної роботи _____

Ліна ПЕРЕХОДА

ВИТЯГ З НАКАЗУ № 59
по Національному фармацевтичному університету

від 06 березня 2023 року

Затвердити тему, керівника та рецензента кваліфікаційної роботи здобувачу вищої освіти денної форми навчання фармацевтичного факультету НФаУ 2023 року випуску:

№ з/п	Прізвище, ім'я по батькові здобувача вищої освіти	Тема кваліфікаційної роботи (українською мовою)	Тема кваліфікаційної роботи (англійською мовою)	Керівник кваліфікаційної роботи	Рецензент кваліфікаційної роботи
1.	Чернишова Олеся Олексіївна	Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово-фармацевтичного аналізу	Selection of optimal methods for the determination of paracetamol as an object of forensic pharmaceutical analysis	проф. Перехода Л. О.	проф. Георгіянц В. А.

ПІДСТАВА: службова записка завідувача кафедри про затвердження теми кваліфікаційної роботи, керівника та рецензента.

Вірно: пров. фахівець деканату



Н. В. Фоменко

ВИСНОВОК

Комісії з академічної доброчесності про проведену експертизу щодо академічного плагіату у кваліфікаційній роботі

здобувача вищої освіти

№ 112809 від «1 » травня 2023 р.

Проаналізувавши випускню кваліфікаційну роботу за магістерським рівнем здобувача вищої освіти денної форми навчання Чернишової Олеси Олексіївни, 5 курсу, 8 групи, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація, на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово фармацевтичного аналізу / Selection of optimal methods for the determination of paracetamol as an object of forensic pharmaceutical analysis», Комісія з академічної доброчесності дійшла висновку, що робота, представлена до Екзаменаційної комісії для захисту, виконана самостійно і не містить елементів академічного плагіату (копіляції).

**Голова комісії,
професор**



Інна ВЛАДИМИРОВА

2%

20%

ВІДГУК

**наукового керівника на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти
магістр, спеціальності 226 Фармація, промислова фармація**

Олесі ЧЕРНИШОВОЇ

**на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як
об'єкта судово-фармацевтичного аналізу».**

Актуальність теми. Фальсифікація й поширення фальсифікованих лікарських засобів належить до найбільш тяжких злочинів проти громадського здоров'я. Масовий попит використання парацетамолу збільшило кількість випадків фальсифікації. Тому для забезпечення якості та виявлення фальсифікованої фармацевтичної продукції актуальною є підбір методик визначення парацетамолу для завдань судово-фармацевтичного аналізу.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість.

Результати запропонованих хроматографічних методик визначення парацетамолу мають теоретичне, експериментальне та статистичне підтвердження можливості використання для проведення фармацевтичного та судового аналізів визначення парацетамолу.

Оцінка роботи. Кваліфікаційну роботу виконано на сучасному рівні. Об'єм експериментальних досліджень та аналіз отриманих даних дозволили Олесі ЧЕРНИШОВІЙ вирішити всі поставлені перед нею задачі. Робота викладена послідовно, грамотно, висновки сформульовані коректно і цілком логічно витікають зі змісту роботи.

Загальний висновок та рекомендації про допуск до захисту.

Кваліфікаційна робота Олесі ЧЕРНИШОВОЇ може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії НФаУ.

Науковий керівник _____

Ліна ПЕРЕХОДА

«07» квітня 2023 р.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну роботу ступеня вищої освіти магістр, спеціальності
226 Фармація, промислова фармація

Олесі ЧЕРНИШОВОЇ

на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як
об'єкта судово-фармацевтичного аналізу».

Актуальність теми. Фальсифікація лікарських засобів або обіг фальсифікованих лікарських засобів одна з небезпечних проблем охорони здоров'я, що нерідко призводить до негативних наслідків для здоров'я споживачів. Пандемія COVID-19 та масові призначення парацетамолвмісних комбінованих порошків для симптоматичного лікування призвели до збільшення випадків фальсифікації даних препаратів. Тому швидке визначення активних компонентів та попередження розповсюдження фальсифікації є актуальним завданням для забезпечення населення якісними лікарськими засобами.

Теоретичний рівень роботи. Кваліфікаційна робота виконана на високому теоретичному рівні з застосуванням сучасних теоретичних підходів до аналізу актуальної наукової літератури, законодавчої бази та сучасних методів аналізу для проведення експериментальних досліджень для об'єкту дослідження.

Пропозиції автора по темі дослідження. Автором здійснено огляд літератури і запропоновано хроматографічні методики визначення парацетамолу для проведення ідентифікації та кількісного визначення активного фармацевтичного інгредієнту під час проведення судово-фармацевтичного аналізу.

Практична цінність висновків, рекомендацій та їх обґрунтованість. Результати запропонованих методик визначення парацетамолу не викликають сумнівів, мають теоретичне, експериментальне та статистичне

підтвердження можливості використання у фармацевтичному та судовому аналізах.

Недоліки роботи. Принципових зауважень щодо змісту роботи немає, присутні певні орфографічні помилки, які не впливають на зміст та загальне враження від кваліфікаційної роботи.

Загальний висновок і оцінка роботи. Кваліфікаційна робота Олесі ЧЕРНИШОВОЇ за актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень відповідає вимогам Положення про порядок підготовки та захисту кваліфікаційних робіт у Національному фармацевтичному університеті та може бути рекомендована до захисту в Екзаменаційній комісії.

Рецензент _____

проф. Вікторія ГЕОРГІЯНЦ

«14» квітня 2023 р.

ВИТЯГ

**з протоколу засідання кафедри медичної хімії
№ 10 від 21 квітня 2023 р.**

ПРИСУТНІ:

проф. Ліна ПЕРЕХОДА, проф. Андрій ФЕДОСОВ, доц. Вадим ЗУБКОВ,
доц. Ірина СИЧ, доц. Віталій ЯРЕМЕНКО, доц. Ілля ПОДОЛЬСЬКИЙ,
доц. Наталія КОБЗАР, доц. Марина РАХІМОВА, доц. Маргарита
СУЛЕЙМАН, ас. Олена БЕВЗ, ас. Ольга ВІСЛОУС

ПОРЯДОК ДЕННИЙ:

Звіт про стан виконання кваліфікаційної роботи здобувача вищої освіти фармацевтичного факультету, Фс18(5,0д)-08 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Олесі ЧЕРНИШОВОЇ на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово-фармацевтичного аналізу»

СЛУХАЛИ: доповідь здобувачки вищої освіти фармацевтичного факультету, Фс18(5,0д)-08 групи, спеціальності «226 Фармація, промислова фармація», освітньої програми «Фармація» Олесі ЧЕРНИШОВОЇ на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово-фармацевтичного аналізу», керівник - завідувачка кафедри медичної хімії, д.фарм.н., професор Ліна ПЕРЕХОДА.

УХВАЛИЛИ: рекомендувати кваліфікаційну роботу Олесі ЧЕРНИШОВОЇ до офіційного захисту в Екзаменаційній комісії.

**Завідувачка кафедри медичної хімії,
професор**

Ліна ПЕРЕХОДА

**Секретар кафедри медичної хімії,
доцент**

Марина РАХІМОВА

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ПОДАННЯ ГОЛОВІ ЕКЗАМЕНАЦІЙНОЇ КОМІСІЇ ЩОДО ЗАХИСТУ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Направляється здобувач вищої освіти Олеся ЧЕРНИШОВА до захисту кваліфікаційної роботи за галуззю знань 22 Охорона здоров'я спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація освітньою програмою Фармація на тему: «Підбір оптимальних методів визначення парацетамолу як об'єкта судово-фармацевтичного аналізу»

Кваліфікаційна робота і рецензія додаються.

Декан факультету _____ / Микола ГОЛІК /

Висновок керівника кваліфікаційної роботи

Здобувач вищої освіти Олеся ЧЕРНИШОВА у повному обсязі виконав кваліфікаційну роботу. За актуальністю, методичним рівнем, теоретичним та практичним значенням, об'ємом виконаних досліджень кваліфікаційна робота відповідає вимогам і допускається до захисту в Екзаменаційній комісії.

Керівник кваліфікаційної роботи

Ліна ПЕРЕХОДА

«07» квітня 2023 р.

Висновок кафедри про кваліфікаційну роботу

Кваліфікаційну роботу розглянуто. Здобувач вищої освіти Олеся ЧЕРНИШОВА допускається до захисту даної кваліфікаційної роботи в Екзаменаційній комісії.

Завідувачка кафедри
медичної хімії

Ліна ПЕРЕХОДА

«21» квітня 2023 року

Кваліфікаційну роботу захищено
у Екзаменаційній комісії

« 16 » червня 2023 р.

З оцінкою _____

Голова Екзаменаційної комісії,

доктор фармацевтичних наук, професор

_____ /Лена ДАВТЯН/