

УДК 615.12

DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2024-3-8>

Олена ВЕЛЬЧИНСЬКА

доктор фармацевтичних наук, професор кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, elena_www@ukr.net

ORCID: 0000-0001-7023-8493

Руслан МЕЛЕШКО

кандидат біологічних наук, асистент кафедри хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, gata8376@ukr.net

Ірина НІЖЕНКОВСЬКА

докторка медичних наук, професорка, завідувачка кафедрою хімії ліків та лікарської токсикології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, iryna.nizhenkovska@gmail.com

ORCID: 0000-0001-5065-3147

Тетяна ГОРАЙ

магістр фармації, випускниця фармацевтичного факультету, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, tgoray@ukr.net

ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ ВЕРХ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ СУМІШІ СУБСТАНЦІЙ ІЗ ВМІСТОМ АЦИКЛОВІРУ ТА ГІДРОКОРТИЗОНУ

Стаття присвячена дослідженню методом високоефективної хроматографії (ВЕРХ) суміші субстанцій із вмістом ацикловіру та гідрокортизону, в результаті якого були модифіковані умови хроматографування та ретельно досліджені неприпустимі домішки.

Мета роботи. Дослідити альтернативні умови хроматографування методом ВЕРХ суміші субстанцій гідрокортизону та ацикловіру, які могли б продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення домішок у їх складі; модифікувати методики дослідження для створення оптимальних умов захисту від хімічної деградації структури субстанцій гідрокортизону та ацикловіру – потенційних інгредієнтів фармацевтичної композиції.

Методологія. Ацикловір (АСВ) та гідрокортизон (НСТ) – біологічно активні речовини, які використовують у якості активних діючих та додаткових компонентів при створенні фармацевтичних композицій у вигляді мазей, таблеток, крему тощо. Під час синтезу субстанцій утворюються побічні продукти реакції, супровідні домішки та споріднені речовини, а також продукти молекулярної деградації, присутність більшості яких не регламентовано Державною Фармакопеею України (ДФУ), *European Pharmacopoeia* (Eur.Ph.) та Британською Фармакопеею, а аналіз виконується методом рідинної хроматографії. Ці речовини негативно впливають на якість субстанцій та, відповідно, лікарських засобів. Під час проведення хроматографічних досліджень фармацевтичних композицій з ацикловіром та гідрокортизоном важливими є коректно підібрані хроматографічні умови, оскільки застосування агресивних реагентів або порушення температурного режиму, присутність неприпустимих домішок у складі хімічних реагентів можуть призводити до деградації та хімічної деградації як субстанції, так й, фармацевтичної композиції.

Наукова новизна. Отримання нових даних щодо можливості використання модифікованих умов хроматографування методом ВЕРХ суміші субстанцій ацикловіру та гідрокортизону дозволять впровадити метод ВЕРХ у практику фармацевтичного аналізу цих хімічних речовин, оскільки, у розроблених умовах дослідження молекули ацикловіру та гідрокортизону не підлягають хімічній деградації.

Матеріали та методи. Зразки субстанцій ацикловіру та гідрокортизону, фармакопейні стандартні зразки ДФУ ацикловіру та гідрокортизону; ВЕРХ, хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5 з температурою 25°C; колонка – Waters Xbridge C18, 250x4,6x5 з температурою 25°C; потік – 1,0 мл/хв; об'єм інжекції – 10 мкл; час хроматографування – 40–60 хв; детектування УФ при 254 нм; для визначення неідентифікованих неприпустимих домішок методом ВЕРХ використовували реактиви: ацетонітріл (чистоти для ВЕРХ), воду (чистоти для ВЕРХ), дикалію гідрофосфат, ортофосфорну кислоту; комп'ютерний аналіз – програма OpenLab CDS.

Висновки. Досліджено вплив модифікованих умов хроматографування методом ВЕРХ у порівнянні із загальноприйнятими фармакопейними методиками дослідження супровідних домішок у складі субстанцій ацикловіру та гідрокортизону, які забезпечують захист їх структури від хімічної деградації шляхом створення оптимальних умов збереження хімічної структури. Пік гідрокортизону розташовується з R_t у інтервалі 24.398–24.570 хв, порівняно із стандартним значенням у інтервалі R_t 24.401–24.566 хв та виявлено неідентифіковані домішки: 1 ($R_t=12.533$ хв), 1 ($R_t=10.101$ хв), 2 ($R_t=13.266$ хв); пік ацикловіру розташовується з R_t у інтервалі 11.339–11.389 хв, порівняно із стандартним значенням R_t у інтервалі 11.294–11.310 хв.

Ключові слова: ацикловір, гідрокортизон, фармацевтичний аналіз, ВЕРХ, домішки, субстанція.

Olena Welchinska, Ruslan Meleshko, Iryna Nizhenkovska, Tetiana Gorai. USING THE HPLC METHOD TO STUDY A MIXTURE OF SUBSTANCES CONTAINING ACYCLOVIR AND HYDROCORTISONE

The article is devoted to the study of a mixture of substances containing acyclovir and hydrocortisone by the method of high-performance chromatography (HPLC), as a result of which the chromatography conditions were modified and unacceptable impurities were carefully investigated.

The purpose of the work. Investigate alternative conditions for chromatography using the HPLC method of a mixture of hydrocortisone and acyclovir substances, which could demonstrate a higher identification ability during the determination of impurities in their composition; to modify research methods to create optimal conditions for protection against chemical degradation of the structure of hydrocortisone and acyclovir substances – potential ingredients of the pharmaceutical composition.

Methodology. Acyclovir (ACV) and hydrocortisone (HCT) are biologically active substances that are used as active agents and additional components in the creation of pharmaceutical compositions in the form of ointments, tablets, creams, etc. During the synthesis of substances, by-products of the reaction, accompanying impurities and related substances, as well as molecular degradation products are formed, the presence of most of which is not regulated by the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU), European Pharmacopoeia (Eur.Ph.) and British Pharmacopoeia, and the analysis is performed by the method of liquid chromatography. These substances negatively affect the quality of substances and, accordingly, medicines. During chromatographic studies of pharmaceutical compositions with acyclovir and hydrocortisone, correctly selected chromatographic conditions are important, since the use of aggressive reagents or violation of the temperature regime, the presence of unacceptable impurities in the composition of chemical reagents can lead to the destruction and chemical degradation of both the substance and the pharmaceutical composition.

Scientific novelty. Obtaining new data on the possibility of using modified HPLC chromatography conditions for a mixture of acyclovir and hydrocortisone substances will allow the introduction of the HPLC method into the practice of pharmaceutical analysis of these chemicals, since in the developed research conditions, molecules of acyclovir and hydrocortisone are not subject to chemical degradation.

Materials and methods. Samples of acyclovir and hydrocortisone substances, pharmacopoeial standard samples of SPU of acyclovir and hydrocortisone; HPLC, Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector, INERTSIL ODS-3V column, 250x4.6x5 with a temperature of 25°C; column – Waters Xbridge C18, 250x4.6x5 with a temperature of 25°C; flow – 0.8 ml/min, 1.0 ml/min; injection volume – 10 µl; chromatography time – 56-60 min; UV detection at 254 nm; for the determination of extraneous impurities – accompanying substances by the HPLC method, reagents were used: acetonitrile (pure for HPLC), water (pure for HPLC), dipotassium hydrogen phosphate, orthophosphoric acid; computer analysis – OpenLab CDS program.

Conclusions. The effect of modified HPLC chromatography conditions was studied in comparison with the generally accepted pharmacopoeial methods of research of accompanying impurities in the composition of acyclovir and hydrocortisone substances, which provide protection of their structure from chemical degradation by creating optimal conditions for preserving the chemical structure. The peak of hydrocortisone is located with R_t in the interval 24.398-24.570 min, compared to the standard value in the interval R_t 24.401-24.566 min, and unidentified impurities were detected: 1 ($R_t=12.533$ min), 1 ($R_t=10.101$ min), 2 ($R_t=13.266$ min); the acyclovir peak is located with R_t in the interval 11.339-11.389 min, compared to the standard R_t value in the interval 11.294-11.310 min.

Key words: acyclovir, hydrocortisone, pharmaceutical analysis, HPLC, impurities, substance.

Постановка проблеми. Ураження шкіри і слизових оболонок, викликані вірусом простого (HSV-1, HSV-2 та VZV) та оперізуючого герпесу є патологією, що доволі часто зустрічається в дерматологічній практиці та клініці інфекційних захворювань [4, с. 1403; 8, с. 3431; 14, с. 783]. За клінічним досвідом монотерапія даної патології противірусними препаратами не завжди справляє швидкий і достатній лікувальний ефект, тому в сучасних дослідженнях розглядається можливість створення комбінованих лікарських засобів для місцевого застосування за участі противірусних і протизапальних фармакологічних агентів, якими є ацикловір та гідрокортизон.

Як окремі субстанції, ацикловір та гідрокортизон досліджуються фармакопейним методом – методом рідинної хроматографії, однак, при дослідженні суміші цих агентів вкрай важливими є умови хроматографування, оскільки взаємовплив хімічних агентів один на одного, застосування хімічно агресивних реагентів та розчинів або порушення температурного режиму та інші впливи

приводять до утворення неприпустимих домішок та можуть призводити до хімічної деградації досліджуваних субстанцій.

Раніше нами були проведені дослідження хімічної структури і складу синтезованих біологічно активних речовин хроматографічними і спектральними методами, в результаті чого біли виявлені продукти хімічної деградації вихідних сполук [1, с. 5–11; 2, с. 62–67]. Тому, розробка нових або модифікація відомих умов хроматографування досліджуваних хімічних речовин відіграє важливу роль у якості проведеного дослідження, а високотехнологічний метод ВЕРХ, порівняно із методом рідинної хроматографії, відкриває нові можливості для поглибленого дослідження неприпустимих домішок різного походження у складі субстанцій.

Аналіз останніх досліджень. ACV є особливо ефективним проти вірусів простого та оперізуючого герпесу. вітряної віспи, є аналогом пуринового нуклеозиду дезоксигуанозину. Він використовується для місцевого, перорального та внутрішньовенного введення [6, 305–320; 11, с. e00105–19]. ACV (2-аміно-1,9-дигідро-9-[[2-гідроксіетокси] метил]-

6Н-пурин-6-он) синтезують шляхом алкілювання гуаніну 1-бензоїлокси-2-хлорметоксиетаном, містить у молекулі 2-гідроксіетоксиметил ациклічний бічний ланцюг. АСВ використовують під час супресивної терапії для запобігання оральним і генітальним рецидивам захворювання [5, с. 210011; 7, с. 1062–1067; 12, с. 1547; 15, с. 1386]. НСТ використовують при лікуванні септичного шоку, як альтернативу дексаметазону для лікування тяжко хворих на COVID-19, у допоміжній терапії. В науковій літературі підкреслюють його потенціал щодо стабілізації гемодинаміки, пом'якшення запальної реакції та покращення результатів лікування пацієнтів. НСТ вибірково порушує метакогнітивні здібності, не створюючи суб'єктивного стану стресу [9, с. 370; 10, с. 1931–1940].

Державна Фармакопея України регламентує [3, с. 75–154] аналіз субстанцій ацикловіру та гідрокортизону методом рідинної хроматографії, але дослідження альтернативних умов хроматографування методом ВЕРХ, які могли б продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення домішок в цих субстанцій раніше не проводилося.

В представленій експериментальній роботі опробовано модифікації загальноприйнятих методик аналізу за допомогою хроматографування методом ВЕРХ субстанцій ацикловіру та гідрокортизону. Цінність використання ВЕРХ як високоселективного інструментального методу у дослідженні чистоти і цілісності субстанцій ацикловіру та гідрокортизону є високою, оскільки дозволяє підвищити ефективність та результативність їх аналізу.

Мета роботи. Дослідити альтернативні умови хроматографування методом ВЕРХ суміші субстанцій гідрокортизону та ацикловіру, які могли б продемонструвати вищу ідентифікаційну здатність під час визначення домішок у їх складі; модифікувати методики дослідження для створення оптимальних умов захисту від хімічної деградації структури субстанцій гідрокортизону та ацикловіру – потенційних інгредієнтів фармацевтичної композиції.

Матеріали та методи. Зразки субстанцій ацикловіру та гідрокортизону (розчини свіжоприготовлені), фармакопейні стандартні зразки ДФУ ацикловіру та гідрокортизону; ВЕРХ, хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5 з температурою 25°C; колонка – Waters Xbridge C18, 250x4,6x5 з температурою 25°C; комп'ютерний аналіз – програма OpenLab CDS.

Виклад основного матеріалу. ДФУ регламентує аналіз ацикловіру і гідрокортизону ацетату [3, с. 75–154]. Британська Фармакопея та Європейська Фармакопея регламентують аналіз ацикловіру (Ph Eur., monograph 0968), гідрокортизону та його солей – ацетату, тартрату, сукцинату та натрію фосфату (Ph.Eur., monographs 0334, 0335, 0768, 1784)

[13, с. 1254–1264].

Споріднені сполуки у складі субстанції ацикловіру за ДФУ досліджуються методом рідинної хроматографії (2.2.29). Субстанцію розчиняють у суміші диметилсульфоксид (ДМСО) – вода (20:80).

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

Експериментальне дослідження проводили на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором з колонкою – Waters Xbridge C18, 250 мм x 4,6 мм, 5 мкм при температурі колонки – 25°C. Потік 1,0 мл/хв. Об'єм інжекції 10 мкл. Час хроматографування 56 хв. Детектування УФ-спектрофотометричне при 254 нм.

Гradient (табл. 1):

Таблиця 1

Режим градієнтного елюювання

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

Використовували градієнт, як описано в ДФУ до 40 хвилини. Оскільки слідуєчий закол починався з концентрації буферу А 100%, а попередній закол закінчувався при концентрації буферу А 80% і буферу В 20%, для насичення колонки нами було продовжено метод до 55 хвилин (плавний перехід від 80 % до 100 % (40 хв-46 хв) та насичення колонки (46-55 хв).

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

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

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

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

Випробовуваний розчин: 25,0 мг субстанції розчиняють у 5,0 мл ДМСО Р, доводять об'єм розчину до 25,0 мл водою Р. Фільтрують (Whatman).

Розчин порівняння (1): розчиняють 5,0 мг ФСЗ

ацикловіру, проводять перевірку придатності системи (містить домішки А, В, J, К, N, О та Р) в 1,0 мл ДМСО, отриманий р-н доводять водою до об'єму 5,0 мл.

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

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

Розчин (4): розчиняють вміст флакона фарма-

копейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України ацикловіру для ідентифікації піка 1 (містить домішки С та І) у 200,0 мкл ДМСО, отриманий розчин розводять водою до об'єму 1,0 мл. Розчин готують безпосередньо перед використанням.

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

При дослідженні розчинів стандартних зразків ДФУ ацикловіру, розчинів порівняння та розчинів випробовуваних зразків отримано наступні результати (табл. 2-5, рис. 1-4).

Таким чином, випробовувані зразки субстанції

Таблиця 2

Розчини стандартних зразків ацикловіру 1 і 2

| | Стандарт 2 (1) | | Стандарт 2 (2) | |
|----------------------|----------------|-------------|----------------|-------------|
| | Ацикловір | | | |
| | <i>RT</i> | <i>Area</i> | <i>RT</i> | <i>Area</i> |
| | 11.310 | 406.732 | 11.307 | 407.292 |
| | 11.294 | 406.518 | 11.302 | 408.627 |
| | 11.301 | 406.752 | | |
| Середнє | 11.302 | 406.667 | 11.305 | 407.960 |
| SD | 0,008 | 0,130 | 0,004 | 0,944 |
| RSD ($\leq 2.0\%$) | 0,07% | 0,03% | 0,03% | 0,23% |

Таблиця 3

Розчин для ідентифікації (4)

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

Таблиця 4

Розчин для ідентифікації (5)

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

Таблиця 5

Розчини випробовуваних зразків субстанції ацикловіру

| | Зразок 1 | | Зразок 2 | |
|----------------------|-----------|-------------|-----------|-------------|
| | Ацикловір | | | |
| | <i>RT</i> | <i>Area</i> | <i>RT</i> | <i>Area</i> |
| | 11.361 | 35999.784 | 11.299 | 35832.685 |
| | 11.386 | 35992.141 | 11.295 | 35742.489 |
| | 11.339 | 35993.076 | 11.283 | 35673,345 |
| Середнє | 11.362 | 35995.000 | 11.297 | 35787,587 |
| SD | 0,024 | 4,169 | 0,003 | 79,901 |
| RSD ($\leq 2.0\%$) | 0,21% | 0,01% | 0,03% | 0,22% |

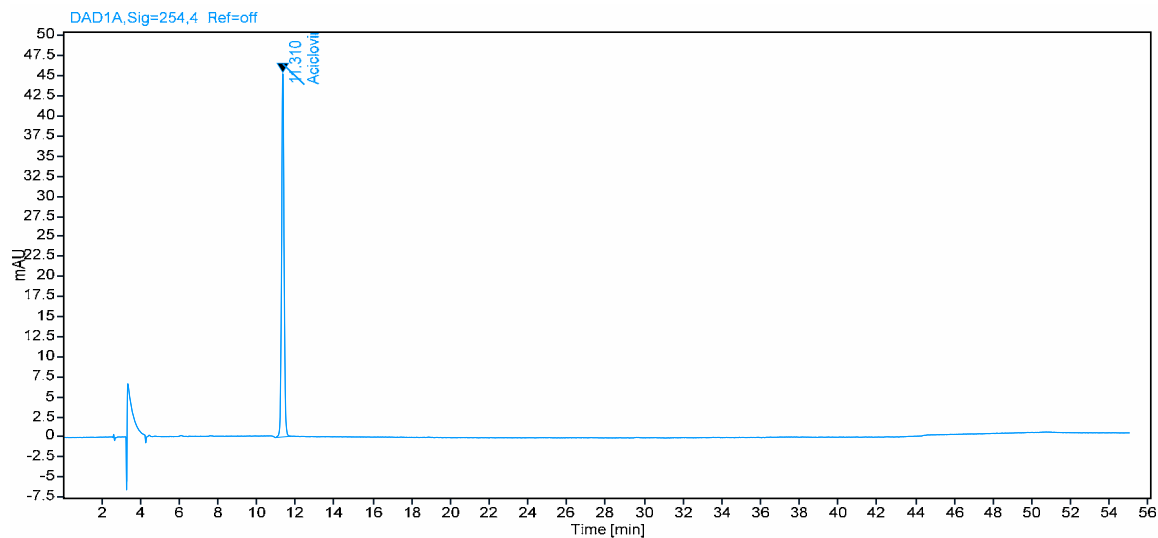


Рис. 1. Хроматограма стандартного зразку (2)

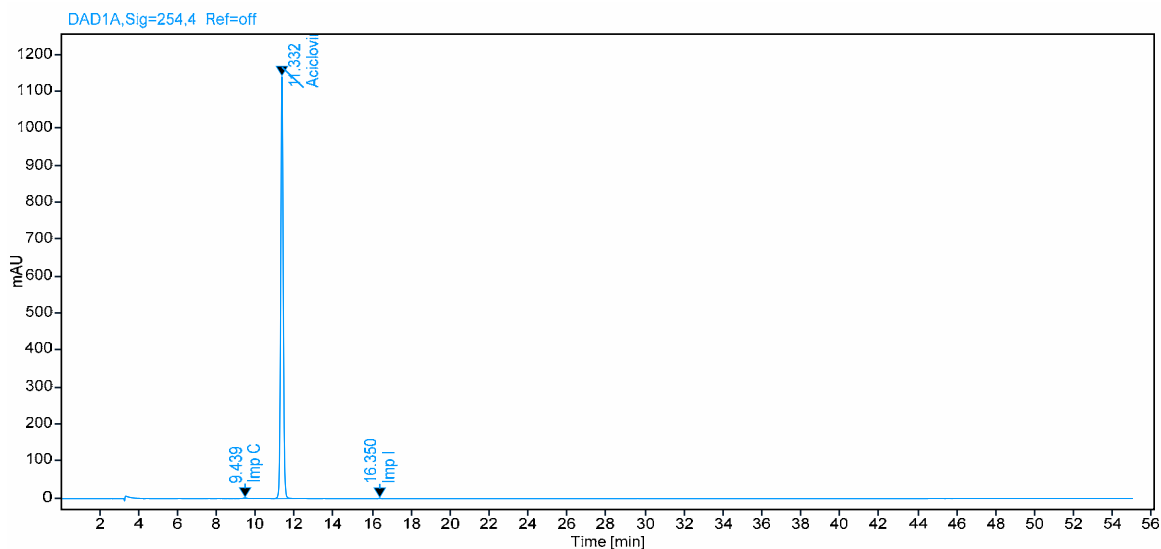


Рис. 2. Хроматограма стандартного зразку (4)

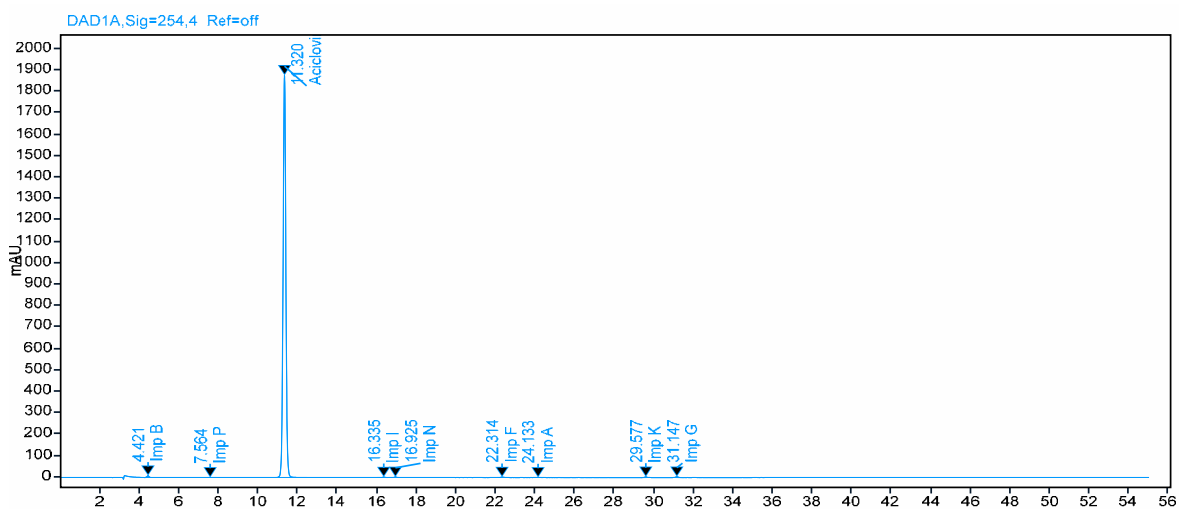


Рис. 3. Хроматограма стандартного зразку (5)

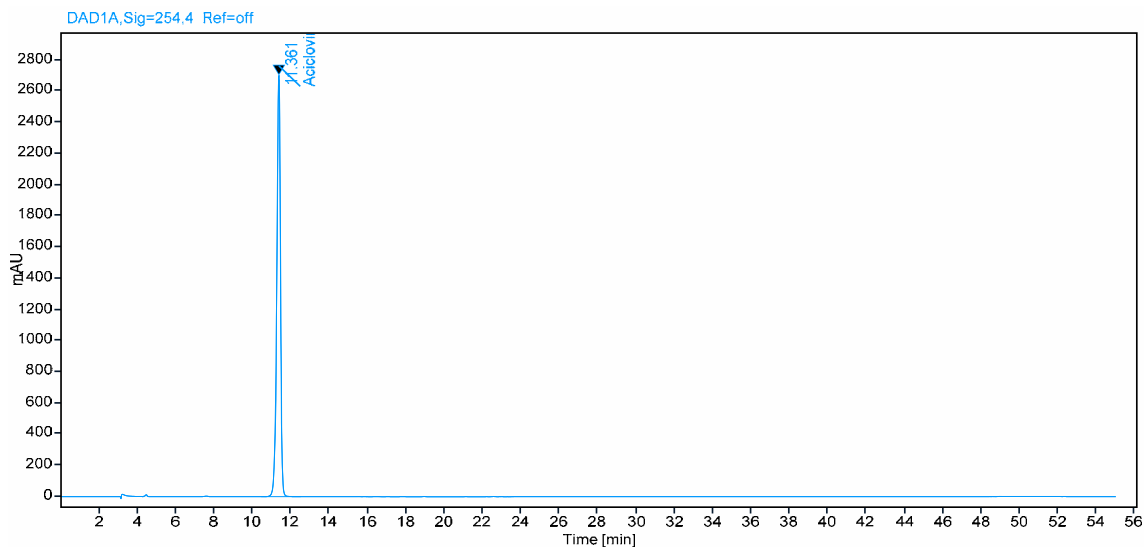


Рис. 4. Хроматограма випробовуваного зразку ацикловіру

ацикловіру не містять супровідні домішки.

Державна Фармакопея України регламентує [3, с. 75–154] аналіз гідрокортизону ацетату субстанції. Серед регламентованих ДФУ специфікованих та неспецифікованих домішок субстанції гідрокортизону ацетату допускається присутність 6 специфікованих домішок: А, В, С, D, E, G.

Для проведення досліджень використовували хроматограф Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором; колонка – INERTSIL ODS-3V, 250x4,6x5, температура колонки – 25°C. Поток 0,8 мл/хв. Об'єм інжекції – 10 мкл. Час хроматографування – 60 хв. Детектування УФ-спектрофотометричне при 254 нм. Рухома фаза А – ацетонітрил для ВЕРХ, рухома фаза В – вода для ВЕРХ.

Градiєнт (табл. 6):

Модифіковано склад суміші розчинників: ацетонітрил для ВЕРХ – вода для ВЕРХ (80:20 v/v) (за ДФУ суміш розчинників: оцтова кислота Р – вода Р – метанол Р (1:10:90 v/v/v)).

Розчин для визначення піку гідрокортизону: 2,0 мг фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України гідрокортизону (містить домішки D, E, G, H, I та N) за допомогою 1 мл суміші розчинників.

Стандартний розчин гідрокортизону: Точну наважку 20,0 мг фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України гідрокортизону поміщають у мірну колбу об'ємом 10 мл, додають 8,0 мл суміші розчинників, обробляють ультразвуком протягом 10 хв до розчинення та доводять об'єм розчину до позначки сумішшю розчинників.

Стандартний зразок (а): точні наважки фармакопейних стандартних зразків Державної Фармакопеї України 4,0 мг преднізолону (домішка А), 2,0 мг кортизону (домішка В), 8,0 мг гідрокортизону ацетату (домішка С) та 6,0 мг речовини S Рейхштейна (домішка F) в колбі на 100 мл розчиняють у 40,0 мл ацетонітрилу, обробляють ультразвуком, доводять об'єм розчину до позначки водою. Розводять 1,0 мл отриманого р-ну до 10,0 мл стандартним р-ном гідрокортизону.

Стандартний зразок (б): розводять 1,0 мл стандартного р-ну гідрокортизону до 100 мл сумішшю розчинників. 1,0 мл отриманого р-ну розводять до 10,0 мл сумішшю розчинників.

Чистий розчин плацебо: зважують 5,0 г чистого плацебо та поміщають у пробірку для центрифугування, додають 25,0 мл суміші розчинників та нагрівають до 50 °C до повного диспергування. Об-

Таблиця 6

Режим градiєнтного елювання

| Час (хвилини) | Рухома фаза А (% v/v) | Рухома фаза В (% v/v) |
|---------------|-----------------------|-----------------------|
| 0,01 | 74 | 26 |
| 18,00 | 74 | 26 |
| 32,00 | 55 | 45 |
| 48,00 | 30 | 70 |
| 55,00 | 74 | 26 |
| 60,00 | 74 | 26 |

робляють ультразвуком протягом 10 хв. Дають суміші охолонути до кімнатної температури. Центрифугують та використовують відцентрифугований розчин. Фільтрують через мембранний фільтр із розміром пор 0,45 мкм і використовують фільтрат.

Використовували градієнтний метод для отримання розділення та ідентифікації більшої кількості домішок. Згідно ДФУ ідентифікують домішки : А, В, С, D, E, G.

Також, згідно статті ДФУ, інші домішки, якщо вони наявні у достатній кількості, можуть визначатися тим або іншим випробуванням монографії. Їх вміст нормується загальноприйнятими критері-

ями для інших/неспецифікованих домішок. Таким чином, проведено більш повний аналіз із визначенням більшої кількості домішок. При дослідженні розчинів ФСЗ та випробовуваних зразків субстанцій гідрокортизону 1, 2 отримано наступні результати (табл. 7, 8; рис. 5–7).

Таким чином, у складі досліджуваних субстанцій гідрокортизону окрім специфікованих домішок А, С, виявлено неідентифіковані домішки 1, 2 та домішка І.

Висновки:

1. Досліджено вплив запропонованих змін в загальноприйнятих фармакопейних методиках до-

Таблиця 7

Розчини стандартних зразків гідрокортизону

| | Стандарт В (1) | | Стандарт В (2) | |
|----------------------|----------------|--------|----------------|--------|
| | Гідрокортизон | | | |
| | RT | Area | RT | Area |
| | 24.566 | 59.837 | 23.097 | 62.047 |
| | 24.559 | 61.500 | 23.196 | 63.333 |
| | 24.401 | 59.467 | | |
| Середнє | 24.509 | 60.268 | 23.147 | 62.690 |
| SD | 0,093 | 1,083 | 0,070 | 0,909 |
| RSD ($\leq 2.0\%$) | 0,38% | 1,80% | 0,30% | 1,45% |

Таблиця 8

Розчини випробовуваних зразків субстанцій гідрокортизону

| | Зразок 1 | | | | | |
|---------|----------|--------|---------------|-----------|--------|--------|
| | Imp 1 | | Imp I | | Imp 2 | |
| | RT | Area | RT | Area | RT | Area |
| | 10.101 | 37.330 | 12.533 | 59.458 | 13.266 | 67.426 |
| | 10.056 | 36.364 | 12.437 | 60.664 | 13.170 | 68.667 |
| | 10.073 | 36.956 | 12.453 | 61.179 | 13.168 | 67.796 |
| Середнє | 10.077 | 36.883 | 12.474 | 60.434 | 13.201 | 67.963 |
| | Imp A | | Гідрокортизон | | Imp C | |
| | RT | Area | RT | Area | RT | Area |
| | 23.127 | 63.970 | 24.570 | 53843.357 | 34.254 | 68.640 |
| | 22.893 | 64.577 | 24.398 | 54130.106 | 34.212 | 66.906 |
| | 23.000 | 64.229 | 24.469 | 53924.535 | 34.225 | 68.273 |
| Середнє | 23.007 | 64.259 | 24.479 | 53965.999 | 34.230 | 67.940 |
| | Зразок 2 | | | | | |
| | Imp 1 | | Imp I | | Imp 2 | |
| | RT | Area | RT | Area | RT | Area |
| | 10.079 | 36.463 | 12.462 | 61.756 | 13.174 | 67.766 |
| | 10.101 | 34.879 | 12.492 | 62.464 | 13.203 | 66.982 |
| | 10.113 | 34.368 | 12.508 | 61.614 | 13.232 | 64.952 |
| Середнє | 10.098 | 35.237 | 12.487 | 61.943 | 13.203 | 66.567 |
| | Imp A | | Гідрокортизон | | Imp C | |
| | RT | Area | RT | Area | RT | Area |
| | 23.014 | 62.670 | 24.475 | 53933.554 | 34.213 | 67.971 |
| | 23.056 | 63.283 | 24.530 | 54098.502 | 34.246 | 68.911 |
| | 23.122 | 62.281 | 24.583 | 53843.498 | 34.287 | 68.915 |
| Середнє | 23.064 | 62.745 | 24.479 | 53958.518 | 34.230 | 68.599 |

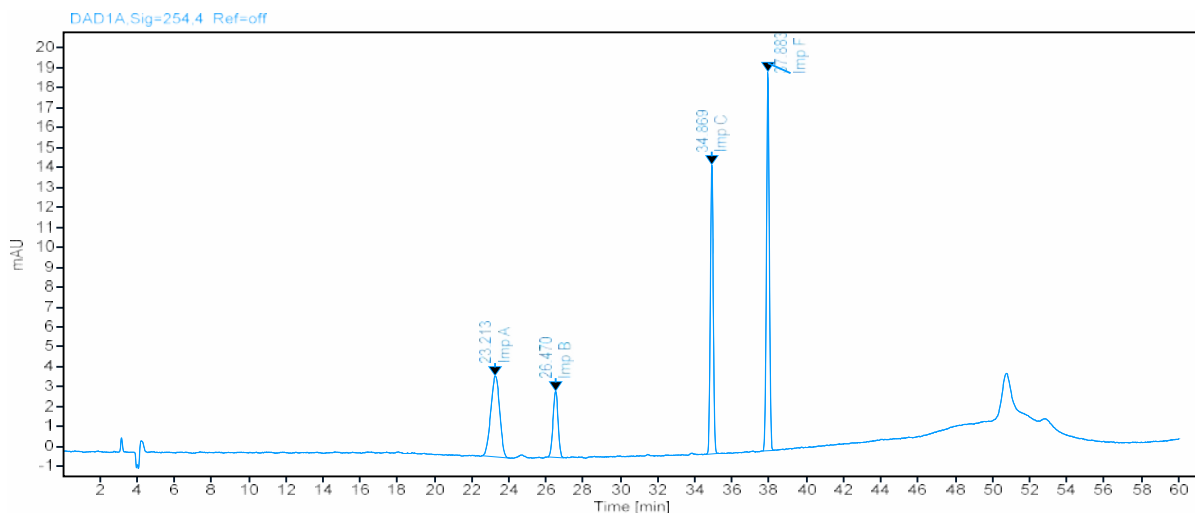


Рис. 5. Хроматограма стандартного зразку (а)

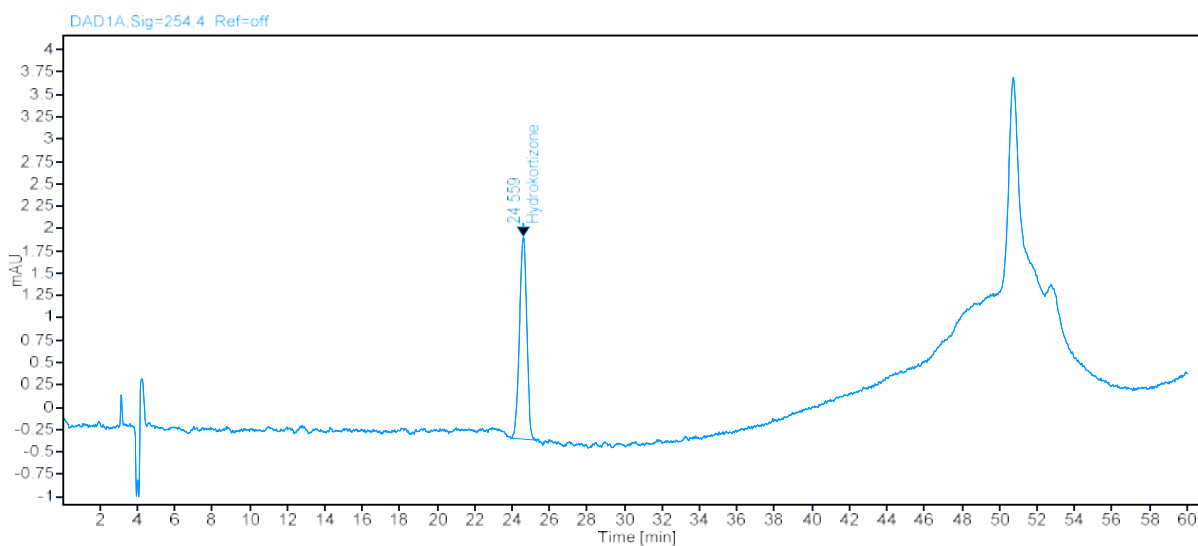


Рис. 6. Хроматограма стандартного зразку (б)

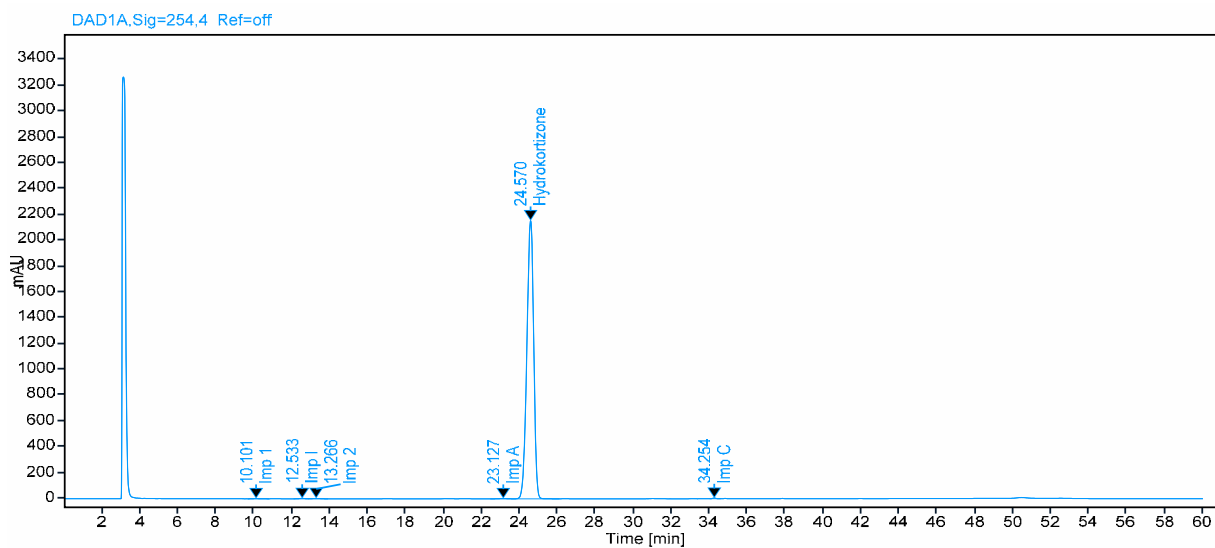


Рис. 7. Хроматограма випробовуваного зразку гідрокортизону

слідження супровідних домішок методом ВЕРХ в пробі підготовці на результати аналізу субстанцій ацикловіру та гідрокортизону, які забезпечили захист їх структури від хімічної деградації шляхом створення оптимальних умов збереження хімічної структури.

Модифіковано методики приготування випробовуваних розчинів гідрокортизону та плацебо, а саме: суміш розчинників – ацетонітрил для ВЕРХ: вода для ВЕРХ (80:20, v/v); ацикловіру, а саме: рухома фаза А – 1 об'єм ацетонітрилу для ВЕРХ і 99 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН

3.1; рухома фаза В – 50 об'ємів ацетонітрилу для ВЕРХ і 50 об'ємів фосфатного буферного розчину з рН 2.5.

Пік гідрокортизону розташовується з Rt у інтервалі 24.398-24.570 хв, порівняно із стандартним значенням у інтервалі Rt 24.401-24.566 хв та виявлено неідентифіковані домішки: 1 (Rt=12.533 хв), 1 (Rt=10.101 хв), 2 (Rt=13.266 хв); пік ацикловіру розташовується з Rt у інтервалі 11.339-11.389 хв, порівняно із стандартним значенням Rt у інтервалі 11.294-11.310 хв.

Література:

1. Губський Ю. І., Вельчинська О. В. Синтез та дослідження біологічної активності нових N-заміщених [(фосфінотіадиазоліл)аміно] сукцинімідів. Медична хімія. 2008. 10(4), С. 5–11.
2. Губський Ю. І., Вельчинська О. В., Драпайло А. Б., Кобко О. С., Чумак Н. Є., Вільчинська В. В. Пошук фізіологічно активних гетероциклічних речовин як потенційних складових нових лікарських засобів. Експериментальна і клінічна медицина. 2009. 4, С. 62–67.
3. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2. С. 75–78, 152–154.
4. Begines B., Ortiz T., Pérez-Aranda M., Martínez G., Merinero M., Argüelles-Arias F., Alcludia A. Polymeric nanoparticles for drug delivery: Recent developments and future prospects. *Nanomaterials*. 2020. N 10. P. 1403. doi: 10.3390/nano10071403.
5. Bermek O., Williams R.S. The three-component helicase/primase complex of herpes simplex virus-1. *Open. Biol.* 2021. N 11. P. 210011. doi: 10.1098/rsob.210011.
6. Gonçalves B. C., Lopes Barbosa M. G., Silva Olak A. P., BelebechaTerezo N., Nishi L., Watanabe M. A., Marinello P., Zendrini Rechenchoski D., Dejato Rocha S. P., Faccin-Galhardi L. C. Antiviral therapies: Advances and perspectives. *Fundam. Clin. Pharmacol.* 2021. N 35. P. 305–320. doi: 10.1111/fcp.12609.
7. Holland E. J., Fingeret M., Mah F. S. Use of topical steroids in conjunctivitis: A review of the evidence. *Cornea*. 2019. N 38. P. 1062–1067. doi: 10.1097/ICO.0000000000001982.
8. Majewska A., Mlynarczyk-Bonikowska B. 40 Years after the Registration of Acyclovir: Do We Need New Anti-Herpetic Drugs. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23. N 7. P. 3431.
9. Mahase E. Covid-19: Hydrocortisone can be used as alternative to dexamethasone, review finds. *BMJ*. P. 2020. 370. m2422. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m3472>.
10. Pierre-François Dequin, Ferhat Meziani, Jean Pierre Quenot, Toufik Kamel et al. Hydrocortisone in Severe Community-Acquired Pneumonia. *The New England Journal of Medicine*. 2023. Vol.388. N 21. P. 1931–1941.
11. Piret J., Boivin G. Immunomodulatory strategies in herpes simplex virus encephalitis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020. N 33. e00105-19. doi: 10.1128/CMR.00105-19.
12. Shiraki K., Yasumoto S., Toyama N., Fukuda H. Amenamevir, a helicase-primase inhibitor, for the optimal treatment of herpes zoster. *Viruses*. 2021. N 13. P. 1547. doi: 10.3390/v13081547.
13. The British Pharmacopoeia. London: The Stationary Office. 2020. Vol.1. P. 1254–1264. www.webofpharma.com
14. Tortella G., Rubilar O., Fincheira P., Pieretti J.C., Duran P., Lourenço I.M., Seabra A.B. Bactericidal and virucidal activities of biogenic metal-based nanoparticles: Advances and perspectives. *Antibiotics*. 2021. N 10. P. 783. doi: 10.3390/antibiotics10070783.
15. Van de Sand L., Bormann M., Schmitz Y., Heilingloh C.S., Witzke O., Krawczyk A. Antiviral active compounds derived from natural sources against herpes simplex viruses. *Viruses*. 2021. N 13. P. 1386. doi: 10.3390/v13071386.