

## ОСНОВНІ ПУБЛІКАЦІЇ

УДК 543.544.5.068.7;615.074

СИРОТЧУК О.А.<sup>1,2</sup>, ДІДУХ І.Р.<sup>1</sup>, ЗАЙЦЕВ В.М.<sup>2</sup>**ОСОБЛИВОСТІ РОЗДІЛЕННЯ ТРИМЕБУТИНУ ТА ПАРАБЕНІВ МЕТОДОМ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ З ВИКОРИСТАННЯМ НЕРУХОМИХ ФАЗ РІЗНОЇ СЕЛЕКТИВНОСТІ.**

В статті розглянуто поведінку сполук різної хімічної природи (тримебутин, метилпарабен, пропілпарабен, галова кислота, 4-гідроксибензойна кислота) в залежності від рН рухомої фази на колонках різної селективності (С18, фенільна, пентафторфенільна). Було показано, що фактор утримування тримебутину, значно зростає при збільшенні значення рН від 2,1 до 6,8. Для С18 колонки фактор утримування зростає від 0,6 до 19,0. Фактор утримування тримебутину збільшується найменше для пентафторфенільної колонки від 0,2 до 6,8. Отже, пентафторфенільна колонка менш чутлива до зміни рН, що робить такі колонки перспективними при розробці методик, як альтернативних до С18-фаз, за рахунок вищої робастності розроблених методик.

**Ключові слова:** тримебутин, парабени, рідинна хроматографія, фенільна колонка, пентафторфенільна колонка.

В статье рассмотрено поведение соединений разной химической природы (тримебутин, метилпарабен, пропилпарабен, галловая кислота, 4-гидроксибензойная кислота) в зависимости от рН подвижной фазы на колонках разной селективности (С18, фенильная, пентафторфенильная). Показано, что фактор удерживания тримебутина, существенно возрастает при увеличении значения рН от 2,1 до 6,8. Для С18 колонки фактор удерживания возрастает от 0,6 до 19,0. Фактор удерживания тримебутина в меньшей степени увеличивается для пентафторфенильной колонки от 0,2 до 6,8. Следовательно, пентафторфенильная колонка менее чувствительна к изменению рН, что делает такие колонки перспективными при разработке методик, как альтернативных к С18-фазе, за счет большей робастности разработанных методик.

**Ключевые слова:** тримебутин, парабены, жидкостная хроматография, фенильная колонка, пентафторфенильная колонка.

The article is about chromatographic behavior of the compounds of different chemical nature (trimebutine, methylparaben, propylparaben, gallic acid, 4-hydroxy benzoic acid) depending on pH of the mobile phases used on chromatographic columns of different selectivity (C18, phenyl, pentafluorophenyl). It has been shown that retention factor of trimebutine, increases dramatically if pH changes from 2.1 to 6.8. Retention factor increases from 0.6 to 19.0 for C18-column. Retention factor increases less (from 0.2 to 6.8) when pentafluorophenyl column is used. Hence, pentafluorophenyl column is less sensitive to pH changes. So, it makes methods developed using this column more robust.

**Keywords:** trimebutine, parabens, HPLC, phenyl-column, pentafluorophenyl-column

## 1. Вступ

У фармацевтичному аналізі найчастіше застосовують метод оберненофазної рідинної хроматографії з використанням неполярних нерухомих фаз. Розділення на таких фазах (наприклад, C18 або C8) відбувається за рахунок дисперсійних взаємодій та взаємодій з залишковими силанолами поверхні силікагелю [1]. За останні роки було здійснено значне вдосконалення якості часток силікагелю, що використовуються в високоефективній рідинній хроматографії. Використання ультрачистого, ультраінертного силікагелю має ряд визнаних переваг, включаючи високу відтворюваність, довговічність, ефективність, симетрію та форму піку (зокрема для органічних основ). Але оскільки ультраінертний силікагель не бере участь у розділенні, колонки наповнені такою нерухомою фазою мають приблизно однакову селективність. Методика, що розроблена на колонці з менш інертною підложкою, при відтворенні на колонці з інертною підложкою може не дати достатнього розділення речовин, особливо це стосується сполук з невеликими відмінностями в будові (домішок). З іншого боку, методика розроблена на C18 з інертною підложкою може не відтворитися на C18 з неінертною підложкою [2] внаслідок поганої форми піку за рахунок взаємодії з силанолами поверхні [3]. Сучасний хроматографіст має справу зі складними сумішами, розділення яких потребує додаткової селективності нерухомої фази, тому застосування нерухомих фаз з потенційною ортогональною селективністю є доречною. Такими нерухомими фазами може бути силікагель модифікований фенільними або пентафторфенільними групами, що здатні вступати з аналітами в  $\pi$ - $\pi$  взаємодію.

Взаємодія  $\pi$ - $\pi$  — це тип донорно-акцепторної взаємодії, що зумовлена взаємодією двох ненасичених  $\pi$ -електронних систем [4].  $\pi$ - $\pi$  взаємодія зазвичай включає перенос заряду електронів електронно багатого ( $\pi$ -основа) до електронно бідного ( $\pi$ -кислота) ароматичного кільця [5] або просто перекриття  $\pi$ -орбіталей двох молекул, що взаємодіють [6].

Фенільні фази є більш полярними в порівнянні ніж C18, і менш гідрофобними ніж C8; здатність до утворення водневих зв'язків є меншою можливо внаслідок взаємодії фенільного кільця з силанолами поверхні [6,7]. В тесті з нітробензолами фенільні колонки дають порядок виходу сполук, який узгоджується зі зростанням  $\pi$ -кислотності фенільного кільця у відповідності до збільшення кількості нітрогруп, C18 дає порядок виходу, який узгоджується з гідрофобністю сполук, а колонки з пентафторфенільною фазою дають середній порядок виходу між фенільними та алкільними привитими фазами [8].

Привиті пентафторфенілпропільні (PFP) групи порівняно з фенільними мають електронно бідне кільце за рахунок високої електронегативності атомів фтору. Ця фаза дозволяє розділяти речовини за допомогою таких взаємодій як диполь-диполь,  $\pi$ - $\pi$ , перенос заряду та іоно-обмінних взаємодій [9]. В пентафторфенільній нерухомій фазі електронегативні атоми фтору відтягують електронну густину з бензольного кільця, що змінює властивості  $\pi$ -системи. Пентафторфенільне кільце, на відміну від фенольного, - електронно бідне ( $\pi$ -кислота). PFP фаза краще утримує ароматичні, галогенвмісні, поліциклічні ароматичні вуглеводні, ніж фенільна фаза, за рахунок утворення донорно-акцепторного комплексу [9,10].

Додатково, зв'язок C-F є надзвичайно полярним, тому пентафторфенільна фаза може додатково утримувати аналіт за допомогою диполь-дипольних взаємодій або водневих зв'язків, що виникають між аналітом і електронегативними атомами фтору. Такі взаємодії збільшують утримування, що може бути важливим при визначенні полярних сполук. Отже, при наявності додаткових механізмів утримування, такі нерухомі фази як фенільна та пентафторфенільна можуть бути використані для розділення складних сумішей, як альтернативні до традиційних оберненофазних фаз C18 та C8.

Тримебутин, 2 - (диметиламіно)-2-фенілбутиловий ефір 3,4,5-триметоксибензойної кислоти, належить до класу спазмолітинів і використовується при синдромі подразненого

кишечника [11]. Він є антагоністом мускаринових та опіоїдних рецепторів [12]. Тримебутин міститься в багатьох лікарських засобах у формі таблеток, розчинів для ін'єкцій, пероральних рідин. В літературі є багато методів кількісного визначення тримебутину в лікарських формах і біологічному матеріалі, зокрема методами високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [13-20], спектрофотометрії [13] і вольтамперометрії [21]. В методиках з використанням методу ВЕРХ використовується спектрофотометричний детектор [13-15, 17-20] і мас-детектор [16]. Для досягнення розділення переважно використовують колонки з привитими до силікагелю С18-групами [13-20] з рухомими фазами, що містять алкілсульфонати в якості іон-парних агентів [13-15, 17, 18]. Використання алкілсульфонатів допомагає досягти бажаної якості хроматографічного піку, але спричиняє швидку зміну властивостей хроматографічної колонки, що може призвести до неповного розділення речовин.

Рідини для перорального вживання вимагають присутності речовин з антимікробною дією, наприклад парабенів – естерів 4-гідроксибензойної кислоти. Парабени мають широкий спектр антимікробної дії, ефективні в широкому діапазоні рН, що обумовлює їхню популярність як консервантів в фармацевтичній продукції.

Розроблено багато методик кількісного визначення парабенів. Зокрема зустрічаються в літературних джерелах методики кількісного визначення метилпарабену та пропілпарабену з використанням спектрофотометричної [22], електрохімічної [23], флуориметричної [24] детекції. Для розділення переважно використовуються колонки з фазами С18 та С8 [22-28], а також СN-пропільна нерухома фаза [29, 30]. У праці [31] парабени визначають в режимі міцелярної хроматографії з використанням колонки С18.

При аналізі літературних даних не знайдено методики одночасного визначення тримебутину, метилпарабену та пропілпарабену. Тому метою даної роботи є дослідження хроматографічної поведінки та можливості розділення компонентів препарату спазмолітичної дії з застосуванням нерухомих фаз різної селективності (С18, фенільна, пентафторфенільна) для подальшої розробки методики.

## **2. Експериментальна частина**

### *2.1. Матеріали*

Для приготування модельного розчину використовувалися метил 4-гідроксибензоат, пропіл 4-гідроксибензоат (стандартні речовини Європейські фармакопеї), галова кислота (чистота 99.7 %, Merck), 4-гідроксибензойна кислота (чистота 99.0 %, Merck) і тримебутин (чистота 99.7 %, робочий стандарт). Для приготування розчинів і рухомих фаз використовувалися деіонізована вода (Milli-Q system, Millipore), ацетонітрил (HPLC grade, Sigma-Aldrich), натрію дигідроген фосфат (analytical grade, Merck), фосфорна кислота (хч, Альфарус), натрію гідроксид (хч, Альфарус).

### *2.2. Обладнання: хроматографічна система*

Робота виконана на високоефективному хроматографі HP 1100 (Agilent Technologies, Germany), обладнаному діодно-матричним детектором, чотирьох каналним насосом з дегазатором, термостатованим автосамплером та термостатом колонок. Можливості діодно-матричного детектора та програмного забезпечення Chemstation A.8.3 застосовувалися для встановлення оптимальної довжини хвилі детекції. В якості нерухомих фаз в дослідженні були використані колонки Luna C18(2) 250\*4.6 5  $\mu$ , Ascentis Phenyl 250\*4.6 5  $\mu$ , Curosil PFP 250\*4.6 5  $\mu$  (Phenomenex). рН рухомих фаз було перевірено рН-метром Merthrom 713.

## Колонки використані в експерименті

	Luna C18(2) 250*4,6 5 мкм	Ascentis Phenyl 250*4,6 5 мкм	Curosil PFP 250*4,6 5 мкм
	Октадецил	Фенілбутил	Пентафторфенілпропіл
Класифікація по USP	L1	L10	L43
Розмір пор, А	100	100	100
Вміст С, %	17.5	19.0	10.3
Площа поверхні (м <sup>2</sup> /г)	400	450	263
Покриття привитою фазою (ммоль/м <sup>2</sup> )	3.00	5.20	3.75

Хроматографічна система 1: Колонка Luna C18(2)250\*4.6 5  $\mu$ , рухома фаза: 0.05 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  у воді з ацетонітрилом, 50:50 (об./об.), рН рухомої фази змінювали в діапазоні 2.1 – 6.8, швидкість потоку: 1.5 мл/хв, температура колонки: 30°C, об'єм інжекції: 10 мкл.

Хроматографічна система 2: Колонка Ascentis phenyl 250\*4.6 5  $\mu$ , рухома фаза: 0.05 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  у воді з ацетонітрилом, 50:50 (об./об.), рН рухомої фази змінювали в діапазоні 2.1 – 6.8, швидкість потоку: 1.5 мл/хв, температура колонки: 30°C, об'єм інжекції: 10 мкл.

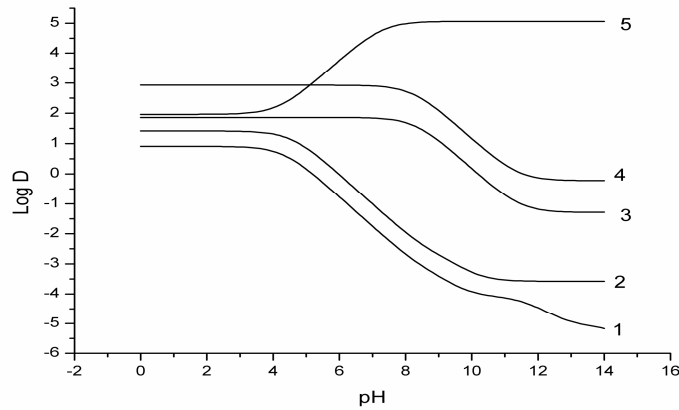
Хроматографічна система 3: Колонка Curosil PFP 250\*4.6 5  $\mu$ , рухома фаза: 0.05 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  у воді з ацетонітрилом, 50:50 (об./об.), рН рухомої фази змінювали в діапазоні 2.1 – 6.8, швидкість потоку: 1.5 мл/хв, температура колонки: 30°C, об'єм інжекції: 10 мкл.

### 2.3. Модельний розчин

Модельний розчин був приготований з 24 мг тримебутину, 4 мг метилпарабену, 2 мг пропілпарабену, 15 мг галової кислоти і 2 мг 4-гідроксибензойної кислоти в 100 мл суміші вода : ацетонітрил (60:40, об./об.).

## 3. Результати і обговорення

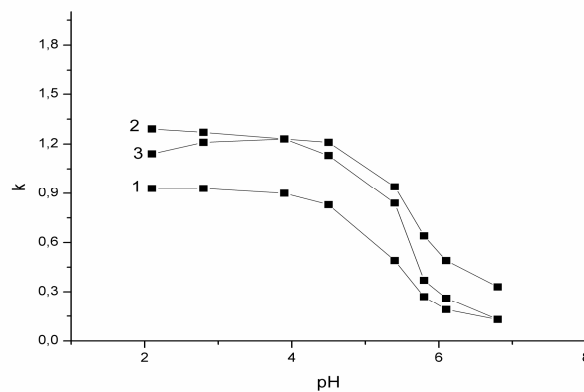
Об'єктом вказаного дослідження була модельна суміш, що містила речовини для яких розроблялася методика – тримебутин, метилпарабен, пропілпарабен та споріднені речовини – галову кислоту та 4-гідроксибензойну кислоту. За допомогою програми ACD labs було згенеровано Log D (співвідношення суми концентрацій іонізованих та неіонізованих форм певної речовини в кожній фазі системи вода – октанол) і побудовано графіки залежності цієї величини від рН для кожної з речовин (рис.1).



**Рис.1** Графік залежності log D від рН для сполук модельної суміші : 1 – галова кислота, 2 - 4-ОН-бензойна кислота, 3 – метилпарабен, 4 – пропілпарабен, 5 – тримебутин)

Також за допомогою ACD labs отримано значення рКа для цих сполук: галова кислота  $4,33 \pm 0,1$ , 4-ОН-бензойна кислота  $4,57 \pm 0,1$ , метилпарабен  $8,31 \pm 0,13$ , пропілпарабен  $8,05 \pm 0,15$ , тримебутин  $8,24 \pm 0,50$ .

Метилпарабен, пропілпарабен є відповідно метиловим та пропіловим естерами 4-гідроксибензойної кислоти. Гідрофобність цих сполук збільшується в порядку: 4-гідроксибензойна кислота — метилпарабен — пропілпарабен, а отже і прогнозований порядок елюювання цих сполук за оберненофазним механізмом матиме таку саму послідовність. На рис. 2 показано зміну фактора утримування для 4-гідроксибензойної кислоти в залежності від рН. Ця кислота є слабкою з рКа = 4,57, це означає, що в умовах експерименту ступінь іонізації змінюється: при найнижчих рН кислота перебуває в молекулярній формулі, а при найвищих рН експерименту в формі іона. Як видно на рисунку 1, зі збільшенням рН фактор утримування зменшується для кислоти на всіх колонках, очевидно, внаслідок зменшення гідрофобності сполуки. При рН = 2,1 4-гідроксибензойна кислота утримується найкраще на фенільній фазі, можливо, завдяки  $\pi$ - $\pi$  взаємодії між електронно багатим фенільним кільцем та фенольним кільцем кислоти, електронно бідним внаслідок впливу електронегативної —COOH групи. При рН=7,0 групи —COOH та —OH молекули депротонуються та набувають негативного заряду. За рахунок цього збільшується електронна густина на фенільному кільці і взаємодія з електронно багатим фенольним кільцем нерухомої фази має стати слабкішою. Тут спостерігається найкраще утримування для пентафторфенільної нерухомої фази, завдяки додатковим диполь-дипольним взаємодіям з електронегативними атомами фтору.



**Рис.2** Залежність фактору утримування k від рН для 4-гідроксибензойної кислоти на 1 – Luna C18(2) 250\*4.6 5 mkm, 2 – Ascentis Phenyl 250\*4.6 5mkm, 3 – Curosil PFP 250\*4.6 5 mkm

В умовах експерименту молекули метилпарабену та пропілпарабену перебувають в молекулярній формі і  $\log D$  в умовах експерименту незначною мірою починає змінюватися при в області рН 6-7. Залежність утримування метилпарабену та пропілпарабену від рН практично однакова на всіх трьох колонках: фактор утримування практично не залежить від рН (рис.3,4). Зауважимо, що утримування для згаданих сполук на пентафторфенільній колонці незначним чином зростає зі збільшенням рН, завдяки тому, що —ОН групи молекули депротонуються та набувають негативного заряду, що зумовлює збільшення електронної густини в фенільному кільці. Пентафторфенільне кільце, як електронно бідне, сильніше взаємодіє з фенольним кільцем, де більша електронна густина. Метилпарабен найменше утримується на С18 колонці, хоча вона є найбільш гідрофобною зі згаданих колонок (рис.3). Це свідчить про те, що є додаткові механізми утримування для фенільної та пентафторфенільної нерухомої фази, зокрема  $\pi$ - $\pi$  взаємодія за рахунок перекривання орбіталей. Гідрофобність молекули пропілпарабену вища (рис.1) і картина є такою: найбільше молекула утримується на С18 колонці, а найменше на пентафторфенільній, що узгоджується з порядком зростання гідрофобності згаданих колонок.

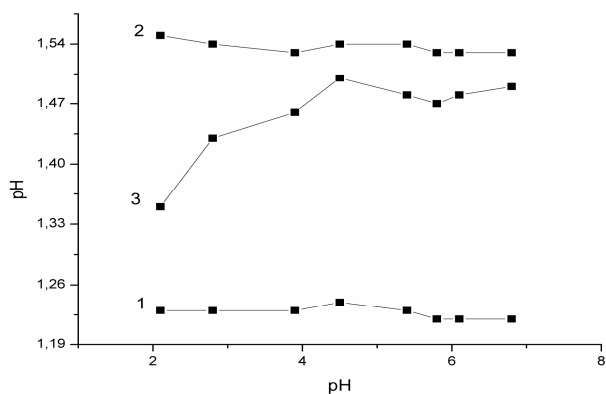


Рис.3 Залежність фактору утримування  $k'$  від рН для метилпарабену на 1 – Luna C18(2) 250\*4.6 5  $\mu$ m, 2 – Ascentis Phenyl 250\*4.6 5 $\mu$ m, 3 – Curosil PFP 250\*4.6 5  $\mu$ m

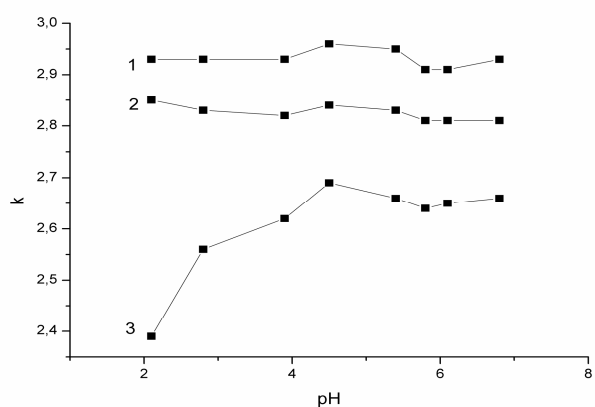


Рис.4 Залежність фактору утримування  $k'$  від рН для пропілпарабену на 1 – Luna C18(2) 250\*4.6 5  $\mu$ m, 2 – Ascentis Phenyl 250\*4.6 5 $\mu$ m, 3 – Curosil PFP 250\*4.6 5  $\mu$ m

Тримебутин є похідною галової кислоти, але на відміну від галової кислоти його молекула містить третинний азот, який може активно взаємодіяти з силанолами поверхні, погіршуючи характеристики аналітичного сигналу. Галова кислота при низьких рН утримується краще на фенільній та пентафторфенільній колонках, а при високих рН не

утримується практично на жодній із досліджуваних колонках за рахунок збільшення гідрофільності молекули (рис.5). Для тримебутину відбувається значне зростання фактору утримування при високих рН. Це відбувається внаслідок переходу іонізованих атомів нітрогену молекул тримебутину в молекулярну форму, а отже і зростання гідрофобності його молекули. З іншої сторони поверхня силікагелю при підвищенні рН заряджається негативно і взаємодіє з позитивно зарядженим атомом нітрогену в молекулі тримебутину. Ці два фактори призводять до значного зростання утримування тримебутину на октадецильній нерухомій фазі. Менше фактор утримування зростає для фенільної та найменше для пентафторфенільної нерухомої фази (рис.6). Найменша взаємодія тримебутину з поверхнею пентафторфенільної та фенільної нерухомої фази пояснюється меншою гідрофобністю цих фаз, а також тим, що фенільні та пентафторфенільні групи здатні вступати у взаємодію з силанолами, екрануючи взаємодію силанолів з атомом нітрогену молекули тримебутину.

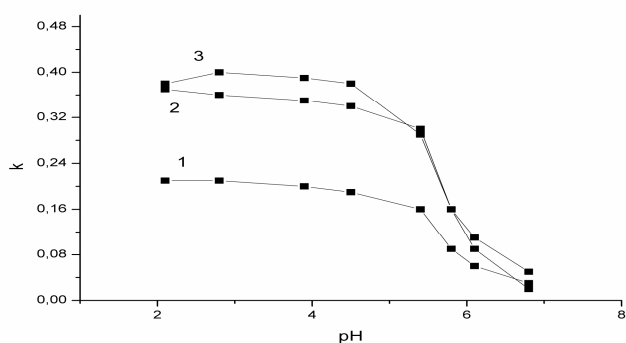


Рис.5 Залежність фактору утримування k від рН для галової кислоти на 1 – Luna C18(2) 250\*4.6 5 mkm, 2 – Ascentis Phenyl 250\*4.6 5mkm, 3 – Curosil PFP 250\*4.6 5 mkm

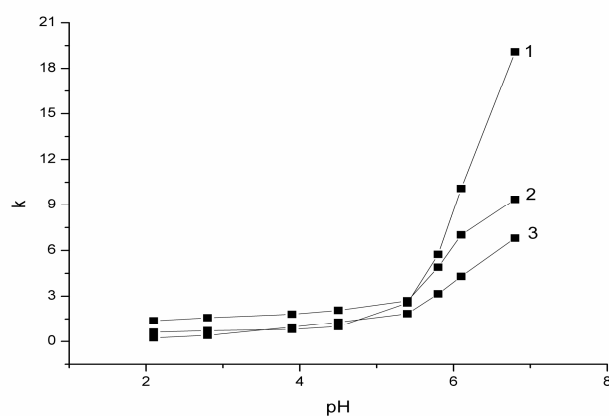


Рис.6 Залежність фактору утримування k від рН для тримебутину на 1 – Luna C18(2) 250\*4.6 5 mkm, 2 – Ascentis Phenyl 250\*4.6 5mkm, 3 – Curosil PFP 250\*4.6 5 mkm

#### 4. Висновки

Таким чином, на модельних сумішах досліджено зміну факторів утримування тримебутину, парабенів та їх домішок на різних колонках в залежності від рН рухомої фази. Показано, що найменше фактори утримування змінюється на PFP-колонці. При цьому сполуки добре розділяються. Це свідчить про перспективність її використання для розробки методик аналізу лікарських засобів, що містять тримебутин і консерванти. Також додаткові механізми утримування можуть стати в нагоді хроматографісту, що працює з багатокомпонентними сумішами, де присутні сполуки різної полярності.

Методики розділення сумішей, що містять молекулами з активними групами, при використанні PFP-колонки повинні відзначитися більшою робастністю порівняно з методиками, в яких використовуються неполярні нерухомі фази.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. **P. C. Sadek, P. W. Carr** Study of solute retention in reversed-phase high-performance liquid chromatography on hydrocarbonaceous and tree fluorinated bonded phases // *Journal of Chromatography* – 1984. – 288. – P.25-41.
2. **Куликов А.Ю., Верушкин А.Г., Шкляев С.А.** Высокоэффективная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе. Сообщение 1. Колонка L1 или силикагель с привитыми октадецильными группами. К вопросу о взаимозаменяемости колонок. // *Фармаком* – 2001. – №1. – С.47-56.
3. **G.B. Cox** The influence of silica structure on reversed-phase retention // *Journal of Chromatography A* – 1993. – 656. – P.353-367.
4. **L. Nondek** Liquid chromatography on chemically bonded electron donors and acceptors // *J. Chromatography* – 1986 – V. 373. –P.61-80.**R. Foster** Organic Charge-Transfer Complexes // *Academic Press* – London, 1969. – 378 P.
5. **D.H. Marchand, K. Croes, J.W. Dolan, L.R. Snyder, R.A. Henry, K.M.R. Kallury, S. Waite, P.W. Carr** Column selectivity in reversed-phase liquid chromatography VIII. Phenylalkyl and fluoro-substituted columns – *Journal of Chromatography A* –2005 – 1062 – P.65–78
6. **L.R. Snyder, J.W. Dolan, P.W. Carr** The hydrophobic-subtraction model of reversed-phase column selectivity // *Journal of Chromatography A* – 2004. – 1060. P.77–116.
7. **M.R. Euerby, P. Petersson, W. Campbell, W. Roe** Chromatographic classification and comparison of commercially available reversed-phase liquid chromatographic columns containing phenyl moieties using principal component analysis // *Journal of Chromatography A* – 2007 – 1154 – P.138–151.
8. **N.D. Danielson, L.G. Beaver, J. Wangsa** Fluoropolymers and fluorocarbon bonded phases as column packings for liquid chromatography//*Journal of Chromatography* – 1991. – 544.– P.187-199 .
9. **G. Felix, C. Bertrand** HPLC on pentafluorophenethyl silica gel // *Journal of High Resolution Chromatography* – 1987. – V.10. – P. 411–412.
10. **K. Parfitt** Martindale. The Complete Drug Reference, 32<sup>nd</sup> ed. // *Pharmaceutical Press* – London, 1999. – 1639 P.
11. **H. Kaneto, M. Takahashi, J. Watanabe** The opioid receptor selectivity for TB in isolated tissues experiments and receptor binding studies // *Journal of Pharmacobiodynamics* – 1990. – 13. – P.448-53.
12. **A. El-Gindy, S. Emara, G. M Hadad** Spectrophotometric and liquid chromatographic determination of TB maleate in the presence of its degradation products // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2003. – 33. – P.231–241.
13. **Zh. Kai-hua, T. Yan, M. Ya-zhu** Content determination of TB maleate tablets by three HPLC methods // *Anhui Medical and Pharmaceutical Journal* – 2007. – 08. – P.48-54.
14. **E. Joo, W. Chang, I. Oh, S. Shin, H. Na, Y. Lee** High-performance liquid chromatographic determination of TB and its major metabolite, N-monodesmethyl TB, in rat and human plasma // *Journal of Chromatography B* – 1999. – 723. – P. 239–246.
15. **H. Wang, H. Zhou, S. Horimoto, J. Jiang, T. Mayumi, P. Hu** Quantitative determination of TB maleate and its three metabolites in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *Journal of Chromatography B* – 2002. – 779. – p.173–187
16. **L. Zhi-hua, S. Min** RP-HPLC Determination of Related Impurities in TB Maleate and Assay of Components in Its Preparation // *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis* – 2001. – 01.



17. **Y. Hashimoto, M. Tanaka, H. Kishimoto, H. Shiozawa, K. Hasegawa, K. Matsuyama, T. Uchida** Preparation, characterization and taste-masking properties of polyvinylacetal-diethylaminoacetate microspheres containing TB // *Journal of Pharmacy and Pharmacology* – 2002. – 54. – p.1323–1328.
18. **W. Rui-li, Zh. Li-feng, Zh. Shu-qiu** Determination of TB maleate and its related substance in sustained-release pellets by HPLC // *Journal of Shanxi Medical University* – 2006. – 07. – p.32-47.
19. **J. Sanjiu, L. Jinfang, Q. Shuang, Zh. Lihua** Determination of TB maleate tables by HPLC // *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy* – 2002. – 05. – P.64-73.
20. **N. Adhoum, L. Monser** Determination of TB in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a glassy carbon electrode // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2005. – 38. – P.619–623.
21. **S. Ho Kang, H. Kim** Simultaneous determination of MP, PP and thimerosal by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1997. – 15. – P.1359-1364.
22. **Q. Zhang, M. Lian, L. Liu, H. Cui** High-performance liquid chromatographic assay of parabens in wash-off cosmetic products and foods using chemiluminescence detection // *Analytica Chimica Acta* – 2005. – 537. – P.31-39.
23. **R Hájková, P. Solich** Simultaneous determination of MP, PP, sodium diclofenac and its degradation product in a topical emulgel by reversed-phase liquid chromatography // *Analytica Chimica Acta* – 2002. – 467. – P.91-96.
24. **D. M. Kreuz, A. L. Howard, D. Ip** Determination of indinavir, potassium sorbate, MP, and PP in aqueous pediatric suspensions // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1999. – 19. – P.725-735.
25. **R Hájková, P. Solich** Simultaneous determination of MP, PP, hydrocortisone acetate and its degradation products in a topical cream by RP-HPLC // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2003. – 32. – P.921-927.
26. **M. Shahid Ali, R. Singh Chaudhary, M. A. Takiuddin** Simultaneous Determination of Metronidazole Benzoate MP, and PP by High-Performance Liquid Chromatography // *Drug Development and Industrial Pharmacy* – 1999. – 25. – P.1143-1147.
27. **M. Xenou Kokolets, S. Kafkala, M. Tsiaganis** A novel gradient HPLC method for simultaneous determination of ranitidine, MP and PP in oral liquid pharmaceutical formulation // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2005. – 38. – P.763-767.
28. **E. Sottofattori, M. Anzaldi, A. Balbi, G. Tonello** Simultaneous HPLC determination of multiple components in a commercial cosmetic cream, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 1998. – 18. – P.213–217.
29. **M. Ma, T. Lee, E. Kwong** Interaction of MP Preservative with Selected Sugars and Sugar Alcohols // *Journal of Pharmaceutical Sciences* – 2002 – V.91. – 7. – P.1715–1723.
30. **Lidia P. Loginova, Artem U. Kulikov, Elena Y. Yakovleva, Alexander P. Boichenko** MCL determination of preservatives in cranberry foodstuffs, *J. Chromatographia*. – 2008 – V. 67 – 7-8. – P.615-620.

<sup>1</sup>Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів та медичної продукції  
м. Київ

<sup>2</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка  
м. Київ

Надійшло до редакції  
10.04.2013