



Розробка методики визначення та дослідження піперидині 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату у молоці корів через 12 годин після введення

Б. О. Варинський^{1,A-E}, Є. О. Карпун^{1,B,E}, В. В. Парченко^{1,A,C,E,F}, О. І. Панасенко^{1,A,F},
Б. П. Киричко^{2,A,F}, І. В. Гиренко^{2,B}

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²Полтавська державна аграрна академія, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;
F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – розробити ВЕРХ-МС методику визначення піперидині 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату у молоці та дослідити наявність залишкових кількостей піперидині 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату у молоці корів через 12 годин після ін'єкції.

Матеріали та методи. Рідинно-хроматографічна система Agilent 1260 Infinity (дегазатор, бінарний насос, автосамплер, термостат колонки, діодно-матричний детектор, одноквадрупольний мас-спектрометр Agilent 6120).

Результати. Розробили методику визначення піперидині 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату у молоці корів і визначили залишковий вміст 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату в молоці корови через 12 годин після ін'єкції.

Висновки. Запропонували умови прободготовки зразків молока для визначення піперидині 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату.

Встановили, що найбільш сприятливим осаджувачем білків є 0,5 % метанова кислота. Визначили вміст лікарської речовини у зразку молока корів через 12 годин після ін'єкції 1 % розчину.

Разработка методики определения и исследование пиперидиний 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата в молоке коров через 12 часов после введения

Б. А. Варинский, Е. А. Карпун, В. В. Парченко, А. И. Панасенко,
Б. П. Киричко, И. В. Гиренко

Цель работы – разработать ВЭЖХ-МС методику определения пиперидиний 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата и исследовать наличие остаточных количеств пиперидиний 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата в молоке коров через 12 часов после инъекции.

Материалы и методы. Жидкостно-хроматографическая система Agilent 1260 Infinity (дегазатор, бинарный насос, автосамплер, термостат колонки, диодно-матричный детектор, одноквадрупольный масс-спектрометр Agilent 6120).

Результаты. Разработана методика определения пиперидиний 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата в молоке коров и определено остаточное количество 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата в молоке коровы через 12 часов после инъекции.

Выводы. Предложены условия прободготовки образцов молока для определения пиперидиний 2-((5-(фуран-2-ил)-4-фенил-4H-1,2,4-триазол-3-ил)тио)ацетата.

Установлено, что наиболее благоприятным осадителем белков является 0,5 % метановая кислота. Определено содержание лекарственного вещества в образце молока коров через 12 часов после инъекции 1 % раствора.

Ключевые слова: жидкостная хромато-масс-спектрометрия, 1,2,4-триазол, Трифузол-нео, молоко коровы.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2019. – Т. 12, № 2(30). – С. 153–159

ВІДОМОСТІ ПРО СТАТТЮ



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/171265>

УДК: 543.5.544.5.068.7;547.792'822]: 637.12
DOI: 10.14739/2409-2932.2019.2.171265

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2019. – Т. 12, № 2(30). – С. 153–159

Ключові слова: рідинна хромато-мас-спектрометрія, 1,2,4-тріазол, Трифузол-нео, молоко корови.

*E-mail: varinsky@zsmu.zp.ua

Надійшла до редакції: 25.03.2019 // Після доопрацювання: 20.04.2019 // Прийнято до друку: 26.04.2019

Development of determination method and study of piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate in milk of cows in 12 hours after administration

B. O. Varynskyi, Ye. O. Karpun, V. V. Parchenko, O. I. Panasenko, B. P. Kyrychko, I. V. Hyrenko

The purpose of our work was developing the HPLC-MS method for determining piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate and researching the presence of residual amounts of piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate in cow's milk in 12 hours after injection.

Materials and methods. Agilent 1260 Infinity Liquid Chromatography System (degasser, binary pump, autosampler, column thermostat, diode array detector, single quadrupole mass spectrometer Agilent 6120).

Results. The method of determination of piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate in cow's milk was developed and the residual amounts of piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate in cow's milk in 12 hours after injection was determined.

Conclusions. The conditions for sample preparation of milk samples for the determination of piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate have been proposed. It was found that 0.5 % methanoic acid is the most favorable protein precipitation agent. The content of the medicinal substance in the cow's milk sample was measured in 12 hours after the injection of the 1 % solution.

Key words: liquid chromatography-mass spectrometry, 1,2,4-triazole, Trifuzol-neo, cow's milk.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2019; 12 (2), 153–159

Гетероциклічна система 1,2,4-тріазолу та, відповідно, похідні цього гетероциклу протягом багатьох років залишаються об'єктом уваги науковців різних галузей. Джерела фахової літератури свідчать, що ці речовини дуже популярні як перспективні біологічно активні сполуки, мають антикорозійні, фотосенсибілізаційні властивості, деякі з них можуть бути перспективними регуляторами росту рослин тощо.

В останні роки серед ветеринарних фахівців набуває популярності новий вітчизняний ветеринарний препарат «Трифузол-нео», діюча речовина якого належить до водорозчинних похідних 1,2,4-тріазолу. Протягом 5 років опубліковано чимало статей у різних виданнях щодо дослідження властивостей цієї субстанції та ін'єкційної лікарської форми препарату. Відомо, що піперидиній 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат, активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) препарату «Трифузол-нео», – майже нетоксична сполука, яка характеризується імуномодельовальною, антиоксидантною, гепатопротекторною, панкреопротекторною та противірусною активністю. Нині є інформація щодо залишкових кількостей цієї речовини в деяких продуктах тваринного походження (курячі яйця та м'ясо, а також м'ясо свиней). За результатами дослідження видано науково обґрунтовані рекомендації щодо застосування препарату «Трифузол-нео» для профілактики та лікування хвороб продуктивних тварин.

Відомо багато методик визначення лікарських речовин у молоці за допомогою високоефективної рідинної хроматографії [1–10].

Раніше розробили методики визначення піперидиній 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату в м'ясі птиці [11]. Використали рідинну екстракцію (сумішшю метанової кислоти та ацетонітрилу) з очищенням надалі твердофазною екстракцією.

Також запропонували методику визначення АФІ в яйцях птиці [12]. Застосували мас-спектрометричний детектор з іонізацією в електроспреї в SIM режимі. Екстракцію АФІ проведено диметилсульфоксидом. Ви-

користували високоефективну рідинну хроматографію з діодно-матричною детекцією для визначення АФІ в 1 % розчині для ін'єкцій [13].

Мета роботи

Розробити ВЕРХ МС методику та дослідити наявність залишкових кількостей піперидиній 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату в молоці корів через 12 годин після ін'єкції.

Матеріали і методи дослідження

Обладнання. Рідинно-хроматографічна система Agilent 1260 Infinity (дегазатор, бінарний насос, автосамплер, термостат колонки, діодно-матричний детектор, одноквадрупольний мас-спектрометр Agilent 6120 з іонізацією в електроспреї (ESI), OpenLAB CDS Software. Колонка Zorbax SB-C18; 30 мм × 4,6 мм; 1,8 мкм.

Хроматографічні умови. Температура колонки дорівнювала 40 °С. Рухома фаза складалась із 0,1 % HCOOH (в H₂O) та 0,1 % HCOOH (в CH₃CN) (70:30), швидкість потоку – 400 мкл/хв, ізократичний режим елюювання, об'єм інжекції – 10 мкл.

Мас-спектрометричні умови. Напруга на фрагменторі становила 149 В. Швидкість газу осушувача – 10 л/хв, тиск на небулайзері – 46 psig, температура газу осушувача – 247 °С.

Реактиви. Ацетонітрил «HPLC Super gradient» (Avantor performance materials inc, Poland), мурашина кислота для аналізу 98 % (AppliChem GmbH, Darmstadt), вода високоочищена (18 MΩat 25 °С), яка була отримана за допомогою DirectQ 3UV Millipore (Molsheim, France). Речовину піперидиній 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат синтезовано на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів і токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету.

Приготування розчину робочого стандартного зразка. Майже 50 мг (точна наважка) робочого стандартного

зразка АФІ вносять у мірну колбу місткістю 1000,0 мл, розчиняють у 100 мл води високоочищеної, доводять об'єм розчину до позначки водою високоочищеною, ретельно перемішують.

Підготовка проб молока. Зразки молока взяли через 12 годин після останнього введення 20 мл 1 % ін'єкційного розчину АФІ. Зразки заморожували негайно після взяття та зберігали при температурі $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Після розморожування проби молока перемішують шляхом перевертання ємності з пробями не менше ніж тричі. Проби нагрівають до температури $20 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, обережно перемішують. У поліпропіленовий флакон (віалу) місткістю 15 мл поміщають 10 г (точна наважка) молока. Потім додають 50 мкл мурашиної кислоти, закривають кришкою та інтенсивно перемішують на струшувачі протягом 3 хв. Залишають на 15 хв у горизонтальному положенні. Далі віалу зі зразком розміщують у центрифугу, попередньо охолоджену до температури $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, і центрифугують при швидкості обертання 6000 об/хв протягом 20 хв. Отриману надосадову рідину фільтрують через нейлоновий фільтр (13 мм, 0,2 мкм), переносять у віалу для ВЕРХ аналізу.

Побудова калібрувальної кривої. Для побудови градувального графіка готують серію градувальних зразків – 6 проб із масовими концентраціями АФІ в діапазоні від 0,5 мкг/г до 0,01 мкг/г шляхом розбавлення водою високоочищеною основного градувального розчину АФІ. У 6 пробірок додавали по 10 мл молока, потім у кожен пробірку додавали розчин із відповідною концентрацією. Пробопідготовку здійснювали як описано в розділі **Підготовка проб молока**.

Визначення чутливості. Виконували дослідження калібрувального зразка з концентрацією 0,01 мкг/г. За допомогою програмного комплексу OpenLAB CDS Software отримали звіт із відповідним значенням відношення сигнал/шум. Потім розраховали, яка концентрація відповідає 10-кратному значенню сигнал/шум (LOQ).

Результати та їх обговорення

Хромато-мас-спектрометричні умови визначення активного фармацевтичного інгредієнта «Трифузол-нео» досліджені раніше [12,14,15].

Пробопідготовку здійснювали осадженням білків. Перевірили 3 різні системи для осадження білків:

1) 50 мкл HCOOH на 10 г молока, 2) 50 мкл HCOOH та 3 г NaCl на 10 г молока, 3) 10 мл CH_3CN на 10 г молока (рис. 1). Найбільшу площу піку спостерігали для третього осаджувача, але в цьому випадку на хроматограмі спостерігали компоненти, які заважали визначенню. Тому пробопідготовку здійснили за допомогою метанової кислоти без натрію хлориду.

Селективність методики підтверджено за допомогою дослідження зразків «бланк матриці» молока згідно з вимогами керівництв [16,17]. Зразки обробили за обраними умовами пробопідготовки (рис. 2). На хроматограмі в межах відповідних до піку АФІ немає компонентів, що заважають.

Калібрувальний графік побудували, використовуючи 6 розчинів (рис. 3, 4). Рівняння калібрувального графіка розраховано методом найменших квадратів.

Значення площ піків наведено в таблиці 1.

Мінімальна концентрація стандарту калібрувального графіка – 0,01 мкг/г. Хроматограма цього розчину наведена на рис. 5.

Хроматограма розчину із максимальним значенням концентрації стандарту калібрувальної кривої (0,5 мкг/г) наведена на рис. 6.

Значення часу утримання піку відповідного АФІ було в межах $3,56 \pm 0,15$ хв.

Розрахунок чутливості методики

Отримали значення сигнал/шум для розчину з 0,01 мкг/г (0,000001 %) (хроматограма наведена на рис. 3): $S/N = 6,9$.

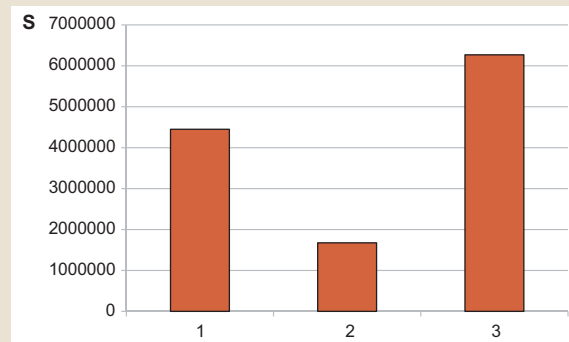


Рис. 1. Гістограма площі піку для різних методик осадження білків.

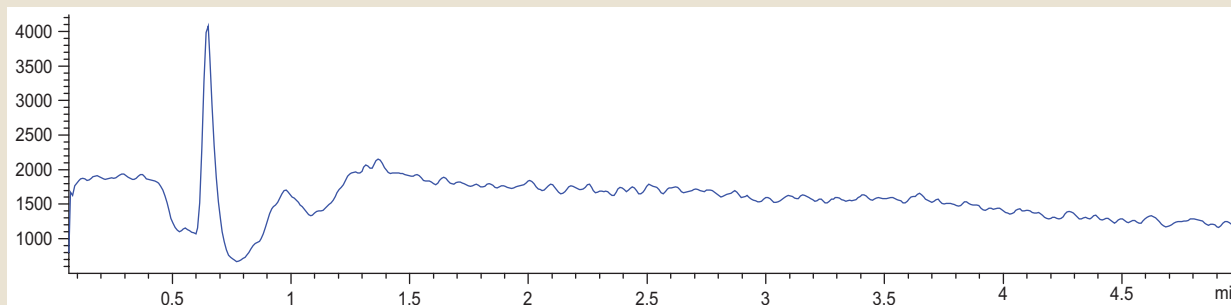


Рис. 2. Хроматограма зразка молока без АФІ («бланк матриці»).

Таблиця 1. Значення площ піків для побудови калібрувальної кривої

мкг/г	%	Площа піка	Середня площа піка
0,01	0,000001	57411,8	45225,9
0,05	0,000005	230880	217743
0,08	0,000008	309411	288035
0,15	0,000015	470955	484783
0,3	0,00003	986791	898446
0,5	0,00005	1469770	1394730

Таблиця 2. Відтворюваність результатів при повторному інжектванні зразка

№	Площа піків	Вміст АФІ в зразку, мкг/г	Метрологічні характеристики
1	468371	0,1345	$\bar{X} = 0,1289$ $S = 0,004971$ $RSD\% = 3,855\%$ $\Delta\bar{X} = 0,005216$ $\epsilon = 0,04045$
2	453758	0,1297	
3	439709	0,1250	
4	441107	0,1254	
5	470154	0,1351	
6	436422	0,1239	

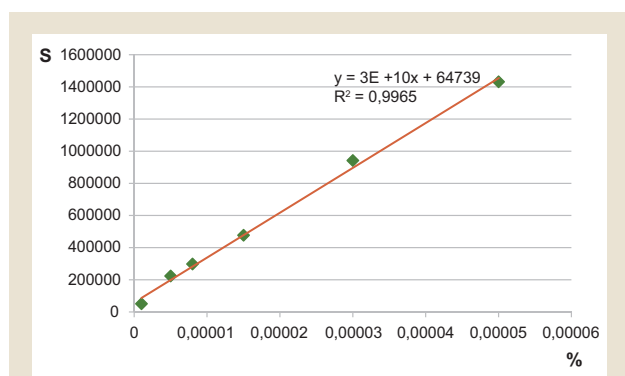


Рис. 3. Калібрувальна крива для визначення вмісту АФІ (у відсотках) у молоці.

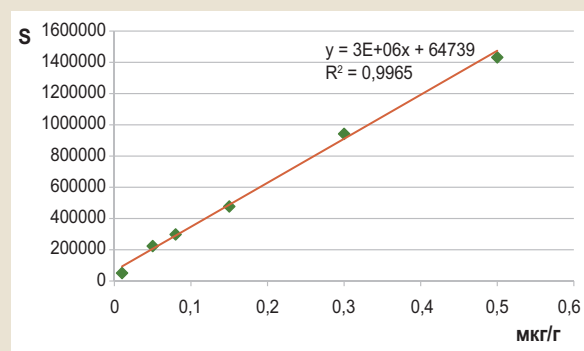


Рис. 4. Калібрувальна крива для визначення вмісту АФІ (в мкг/г) у молоці.

Тому межа кількісного визначення (LOQ) дорівнювала 0,014 мкг/г (0,0000014 %).

Визначення вмісту АФІ в зразку молока корови, яка отримувала ін'єкційний розчин

Хроматограма, що отримана із досліджуваного зразка молока, наведена на рис. 7.

Вміст АФІ у зразку молока корови розраховали на підставі рівняння калібрувального графіка. Відтворюваність результатів при повторному інжектванні зразка наведена в таблиці 2.

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$RSD\% = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

$$\Delta\bar{X} = t \times \frac{S}{\sqrt{n}}, \text{ } t\text{-коефіцієнт Стьюдента}$$

$$\epsilon = \frac{\Delta\bar{X}}{\bar{X}} \times 100$$

Вміст АФІ в молоці дорівнював 0,00001289 % або 0,1289 мкг/г.

Висновки

1. Запропонували умови пробопідготовки зразків молока для визначення піперидиний 2-((5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату, які оптимально підходять до рідинно-хроматографічної системи.

2. Встановили, що найбільш сприятливим осаджувачем білків є 0,5 % метанова кислота.

3. Визначили вміст АФІ у зразку молока корів через 12 годин після ін'єкції 1 % розчину.

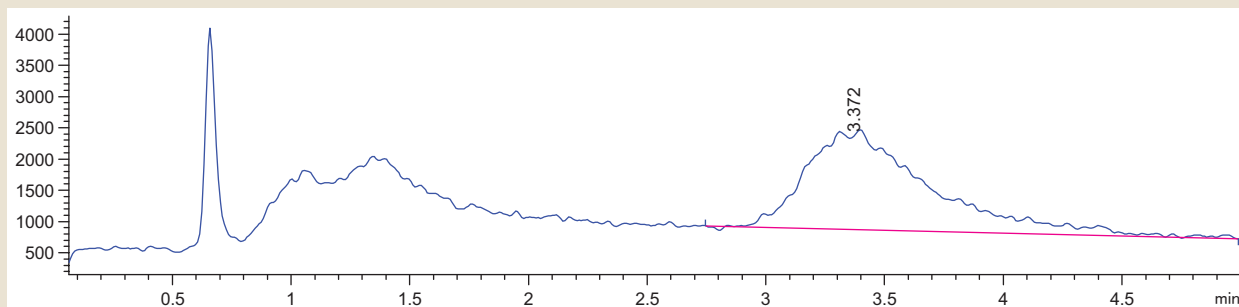


Рис. 5. Хроматограма із мінімальною концентрацією калібрувальної кривої.

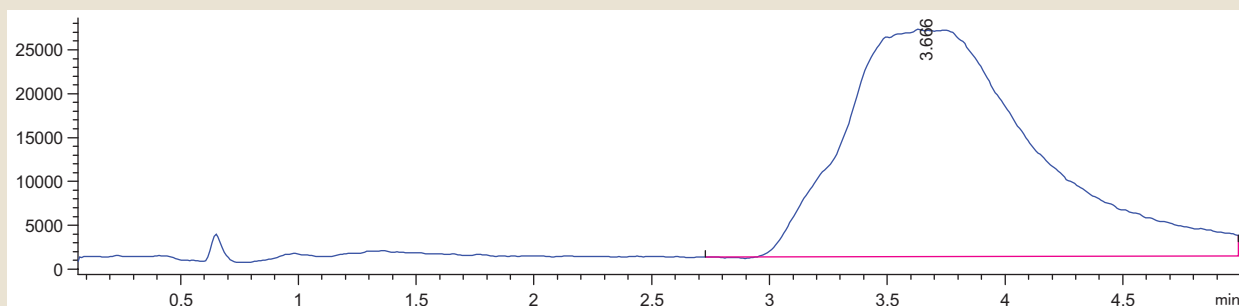


Рис. 6. Хроматограма із максимальною концентрацією калібрувальної кривої.

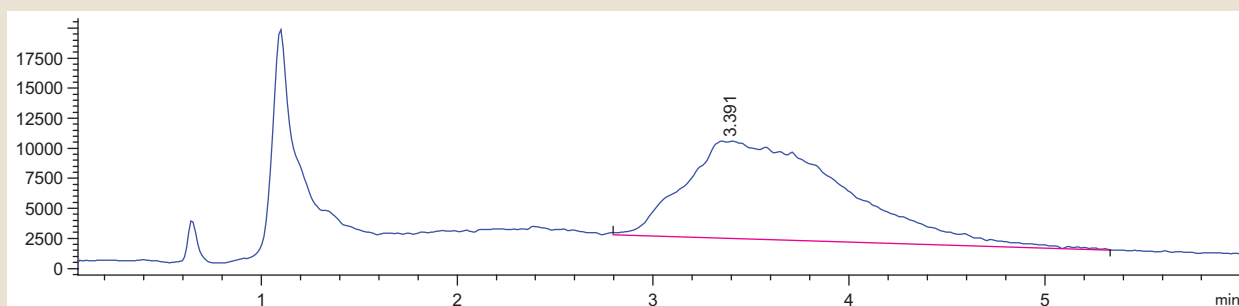


Рис. 7. Хроматограма екстрагованого зразка молока, який досліджували.

Перспективи подальших досліджень. Наступні дослідження можуть бути присвячені використанню розробленої методики для визначення АФІ через 24 години, 48 годин після введення препарату.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Варинський Б. О., канд. фарм. наук, доцент каф. фізіології хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Карпун Є. О., асистент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Парченко В. В., д-р фарм. наук, професор каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Киричко Б. П., д-р вет. наук, професор, зав. каф. хірургії та акушерства, Полтавська державна аграрна академія, Україна.
Гиренко І. В., аспірант каф. хірургії та акушерства, Полтавська державна аграрна академія, Україна.

Сведения об авторах:

Варинский Б. А., канд. фарм. наук, доцент каф. физколлоидной химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Карпун Е. А., ассистент каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Парченко В. В., д-р фарм. наук, профессор каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Панасенко А. И., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Киричко Б. П., д-р вет. наук, профессор, зав. каф. хирургии и акушерства, Полтавская государственная аграрная академия, Украина.

Гиренко И. В., аспирант каф. хирургии и акушерства, Полтавская государственная аграрная академия, Украина.

Information about authors:

Varynskyi B. O., PhD, Associate Professor of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.
 Karpun Ye. O., Teaching Assistant of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Parchenko V. V., Dr.hab., Associate Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Panasenko O. I., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kyrychko B. P., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Surgery and Obstetrics, Poltava State Agrarian Academy, Ukraine.

Hyrenko I. V., Postgraduate Student of the Department of Surgery and Obstetrics, Poltava State Agrarian Academy, Ukraine.

Список літератури

[1] Determination of clavulanic acid residue in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / G. Yang, X. Huang, C. Guo, et al. *Chinese Journal Of Chromatography*. 2013. Vol. 30. Issue 6. P. 568–571. doi: 10.3724/sp.j.1123.2012.02003

[2] Determination of benzimidazole residues and their metabolites in raw milk using high performance liquid chromatography-diode array detection / M. Denžić Lugomer, D. Pavliček, N. Bilandžić, D. Majnarić. *Mljekarstvo*. 2017. Vol. 31. Issue 3. P. 231–238. doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0308

[3] Determination of phenolic and salicylanilide anthelmintics in liquid milk by high performance liquid chromatography / W. Wang, X. Huang, H. Wang, et al. *Chinese Journal Of Chromatography*. 2013. Vol. 31. Issue 10. P. 1028. doi: 10.3724/sp.j.1123.2013.03006

[4] Development and validation of an ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of 10 cephalosporins and desacetylcefapirin in milk / X. Hou, Y. Wu, Y. Lv, et al. *Journal Of Chromatography B*. 2013. Vol. 931. P. 6–11. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.05.006

[5] Determination of ten aminoglycoside residues in milk and dairy products using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry / Q. Gong, L. Ding, S. Zhu, et al. *Chinese Journal Of Chromatography*. 2013. Vol. 30. Issue 11. P. 1143–1147. doi: 10.3724/sp.j.1123.2012.06024

[6] Validation of HPLC Multi-residue Method for Determination of Fluoroquinolones, Tetracycline, Sulphonamides and Chloramphenicol Residues in Bovine Milk / P. Moudgil, J. Bedi, R. Aulakh, et al. *Food Analytical Methods*. 2018. Vol. 12. Issue 2. P. 338–346. doi: 10.1007/s12161-018-1365-0

[7] Determination of three tetracyclines in bovine milk using magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC / N. Al-Afy, H. Sereshti, A. Hijazi, et al. *Journal Of Chromatography B*. 2015. Vol. 1092. P. 480–488. doi: 10.1016/j.jchromb.2018.06.049

[8] Sagirli O., Demirci S., Önal A. A very simple high-performance liquid chromatographic method with fluorescence detection for the determination of gemifloxacin in human breast milk. *Luminescence*. 2015. Vol. 30. Issue 8. P. 1326–1329. doi: 10.1002/bio.2901

[9] Rapid method for quantification of nine sulfonamides in bovine milk using HPLC/MS/MS and without using SPE / C. Nebot, P. Regal, J. Miranda, et al. *Food Chemistry*. 2013. Vol. 141. Issue 3. P. 2294–2299. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.099

[10] Mesoporous graphitic carbon nitride as an efficient sorbent for extraction of sulfonamides prior to HPLC analysis / J. Wenqi, W. Li, W. Zhu, et al. *Microchimica Acta*. 2019. Vol. 186. Issue 5. P. 279. doi: 10.1007/s00604-019-3394-9

[11] Quantitative analysis of piperidin-1-ium {[5-(2-furyl)-4-phenyl-4h-1,2,4-triazol-3-yl]thio}acetate, substance of the veterinary drug "tryfuzol", in poultry meat by LC–DAD–MS / Б. О. Варинський, Є. Г. Книш, В. В. Парченко та ін. *Актуальні питання фармації та медицини: наука і практика*. 2015. №2. С. 25–31. doi: 10.14739/2409-2932.2015.2.45242

[12] Development and validation of a LC-ESI-MS method for detection of piperidin-1-ium {[5-(2-furyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thio}acetate residues in poultry eggs / Б. О. Варинський, Є. Г. Книш, В. В. Парченко та

ін. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*. 2016. Vol. 40. Issue 3. P. 29–40. doi: 10.1501/eczfak_0000000586

[13] Varynskyi B. O., Parchenko V. V., Kaplaushenko A. G. Development and validation of HPLC-DAD method of determination piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate in 1% solution. *Запорожський медичний журнал*. 2017. Т. 19. №6(105). С. 827–832. doi: 10.14739/2310-1210.2017.6.115313

[14] Варинський Б. О. Оптимізація умов детектування ряду 1,2,4-тріазол-3-іл-тіоацетатних кислот та їх солей методом ВЕРХ-ЕСІ-МС. *Одеський медичний журнал*. 2015. №4. С. 17–21.

[15] Вивчення закономірностей утримування потенційних лікарських субстанцій ряду 1,2,4-тріазол-3-ілтіоацетатних кислот та їх солей методом ВЕРХ / ДМД-МС / Б. О. Варинський, Є. Г. Книш, В. В. Парченко та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2015. Т. 13. Вип. 4. С. 68–72.

[16] Guideline on bioanalytical method validation. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). London, 2009. 22 p.

[17] Валидація біоаналитического метода : методические рекомендации / МОЗ України. ДП «Державний експертний центр». Київ, 2013. 35 с.

References

[1] Yang, G., Huang, X., Guo, C., Fang, Q., & He, L. (2013). Determination of clavulanic acid residue in milk by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal Of Chromatography*, 30(6), 568–571. doi: 10.3724/sp.j.1123.2012.02003

[2] Denžić Lugomer, M., Pavliček, D., Bilandžić, N., & Majnarić, D. (2017). Determination of benzimidazole residues and their metabolites in raw milk using high performance liquid chromatography-diode array detection. *Mljekarstvo*, 31(3), 231–238. doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0308

[3] Wang, W., Huang, X., Wang, H., Yan, C., & Kong, X. (2013). Determination of phenolic and salicylanilide anthelmintics in liquid milk by high performance liquid chromatography. *Chinese Journal Of Chromatography*, 31(10), 1028. doi: 10.3724/sp.j.1123.2013.03006

[4] Hou, X., Wu, Y., Lv, Y., Xu, X., Zhao, J., & Yang, T. (2013). Development and validation of an ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of 10 cephalosporins and desacetylcefapirin in milk. *Journal Of Chromatography B*, 931, 6–11. doi: 10.1016/j.jchromb.2013.05.006

[5] Gong, Q., Ding, L., Zhu, S., Jiao, Y., Cheng, J., Fu, S., & Wang, L. (2013). Determination of ten aminoglycoside residues in milk and dairy products using high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Chinese Journal Of Chromatography*, 30(11), 1143–1147. doi: 10.3724/sp.j.1123.2012.06024

[6] Moudgil, P., Bedi, J., Aulakh, R., Gill, J., & Kumar, A. (2018). Validation of HPLC Multi-residue Method for Determination of Fluoroquinolones, Tetracycline, Sulphonamides and Chloramphenicol Residues in Bovine Milk. *Food Analytical Methods*, 12(2), 338–346. doi: 10.1007/s12161-018-1365-0

[7] Al-Afy, N., Sereshti, H., Hijazi, A., & RashidiNodeh, H. (2018). Determination of three tetracyclines in bovine milk using magnetic solid phase extraction in tandem with dispersive liquid-liquid microextraction coupled with HPLC. *Journal Of Chromatography B*, 1092, 480–488. doi: 10.1016/j.jchromb.2018.06.049

[8] Sagirli, O., Demirci, S., & Önal, A. (2015). A very simple high-performance liquid chromatographic method with fluorescence detection for the determination of gemifloxacin in human breast milk. *Luminescence*, 30(8), 1326–1329. doi: 10.1002/bio.2901

[9] Nebot, C., Regal, P., Miranda, J., Fente, C., & Cepeda, A. (2013). Rapid method for quantification of nine sulfonamides in bovine milk using HPLC/MS/MS and without using SPE. *Food Chemistry*, 141(3), 2294–2299. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.099

[10] Zhang, J., Li, W., Zhu, W., Yang, Y., Qin, P., Zhou, Q., et al. (2019). Mesoporous graphitic carbon nitride as an efficient sorbent for extraction of sulfonamides prior to HPLC analysis. *Mikrochim Acta*, 186(5), 279. doi: 10.1007/s00604-019-3394-9

[11] Varynskyi, B., Knysch, Y., Parchenko, V., Panasenko, O., & Kaplaushenko, A. (2015). Quantitative analysis of piperidin-1-ium {[5-(2-furyl)-4-phenyl-4h-1,2,4-triazol-3-yl]thio}acetate, substance of the veterinary drug "tryfuzol", in poultry meat by LC–DAD–MS. *Current issues in pharmacy*

- and medicine: science and practice, 2, 25–31. doi: 10.14739/2409-2932.2015.2.45242
- [12] Varynskyi, B., Knysh, Y., Parchenko, V., Panasenko, O., & Kaplaushenko, A. (2016). Development and validation of a LC-ESI-MS method for detection of piperidin-1-ium [[5-(2-furyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thio]acetate residues in poultry eggs. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(3), 29–40. doi: 10.1501/eczfak_0000000586
- [13] Varynskyi, B. O., Parchenko, V. V., & Kaplaushenko, A. G. (2017). Development and validation of HPLC-DAD method of determination piperidinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate in 1 % solution. *Zaporozhye medical journal*, 19, 6(105), 827–832. doi: 10.14739/2310-1210.2017.6.115313
- [14] Varynskyi, B. O. (2015). Optymizatsiia umov detektuvannia riadu 1,2,4-triazol-3-il-tioatsetatnykh kyslot ta yikh solei metodom VERH-ESI-MS [Optimization of the detection conditions 1,2,4-triazol-3-yl-thioacetate acids series and their salts by HPLC-ESI-MS. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, 4, 17–21. [in Ukrainian].
- [15] Varynskyi, B. O., Knysh, Ye. G., Parchenko, V. V., Panasenko, O. I., & Kaplaushenko, A. G. (2015). Vychennia zakonornosti utrymuvannia potentsiinykh likarskykh substansii riadu 1,2,4-triazol-3-iltioatsetatnykh kyslot ta yikh solei metodom VERH /DMD-MS/ [The study of retention regularities for the potential drug substances of 1,2,4-triazol-3-ylthioacetic acids and their salts series by the method of HPLC/DAD-MS]. *Zhurnal orhanichnoi ta farmatsevtichnoi khimii*, 13(4), C. 68–72. [in Ukrainian].
- [16] (2009) *Guideline on bioanalytical method validation*. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). London.
- [17] MOZ Ukraine (2013) *Validaciya bioanaliticheskogo metoda*. [Validation of the bioanalytical method]. Kyiv. [in Russian].