



Визначення термодинамічних параметрів морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату та його домішок в умовах оберненофазової хроматографії

Б. О. Варинський*

Запорізький державний медичний університет, Україна

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

Дослідження термодинамічних параметрів утримання дає можливість оптимізувати процес розділення у хроматографії, а також з'ясувати характер взаємодії аналітів зі стаціонарною фазою.

Мета роботи – встановлення залежності коефіцієнта ємності від температури для 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону, морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату та розрахунок ентальпії перенесення цих речовин із рухомої фази у стаціонарну.

Матеріали та методи. Високоєфективна рідинно-хроматографічна система Agilent 1260 Infinity. Субстанції 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону, морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату. Колонка Zorbax SB-C18; 30 мм × 4,6 мм; 1,8 мкм. Температура колонки – 40 °С. Рухома фаза складалася з води (0,1 % HCOOH) та ацетонітрилу (0,1 % HCOOH) (95:5).

Результати. Визначили значення часу утримання для речовин при температурах від 30 °С до 70 °С і використовували для розрахунку коефіцієнтів ємності *k*. За методом найменших квадратів розрахували рівняння лінійної залежності $\ln k$ від $1/T$. За рівнянням Вант-Гоффа розрахували ентальпії перенесення речовин.

Висновки. Встановили стандартні ентальпії перенесення аналітів із рухомої фази у стаціонарну для 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону, морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату. Виявили: що сполуки, що дослідили, мають негативне значення ентальпії перенесення. Це показує переважний перехід речовин із мобільної фази в нерухому.

Ключові слова: ентальпія, високоєфективна рідинна хроматографія, активні фармацевтичні інгредієнти.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 3(34). С. 371–377

Determination of thermodynamic parameters of morpholinium 2-(5-(pyridinyl)-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetate and its impurities in conditions of reverse phase chromatography

B. O. Varynskyi

The study of thermodynamic retention parameters helps to optimize the separation process in chromatography, and it is also possible to determine the nature of the interaction of analytes with the stationary phase.

The aim of the work – study the dependence of the capacity factor on temperature for 5-(pyridinyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione, morpholinium 2-(5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetate and calculation of enthalpy of transfer of substances from mobile to stationary phase.

Materials and methods. High performance liquid chromatographic system Agilent 1260 Infinity. Substances 5-(pyridinyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione, morpholinium 2-(5-(pyridinyl)-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetate. Zorbax SB-C18 column; 30 mm × 4.6 mm; 1.8 μm. The column temperature was 40 °C. The mobile phase consisted of water (0.1% HCOOH) and acetonitrile (0.1% HCOOH) (95:5).

Results. The retention time values for substances at temperatures from 30 °C to 70 °C were determined and used to calculate the capacity factors *k*. The least squares method was used to calculate the equation of the linear dependence of $\ln k$ on $1/T$. The enthalpies of transfer of substances were calculated according to the Vant-Goff equation.

Conclusions. Standard enthalpies of transfer of analytes from mobile phase to stationary phase for 5-(pyridinyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione, morpholinium 2-(5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetate. We observe that the test compounds have a negative value of the enthalpy of transfer. This shows the predominant transition of substances from the mobile phase to the stationary one.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/216212>

UDC 544.3:547.792]:543.544.5.068.7

DOI: [10.14739/2409-2932.2020.3.216212](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216212)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2020; 13 (3), 371–377

Key words: enthalpy, high performance liquid chromatography, active pharmaceutical ingredients.

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

Received: 07.09.2020 // Revised: 28.09.2020 // Accepted: 30.09.2020

Key words: enthalpy, high performance liquid chromatography, active pharmaceutical ingredients.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2020; 13 (3), 371–377

Определение термодинамических величин морфолиний 2-(5-(пиридин-4-ил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетата и его примесей в условиях обращеннофазовой хроматографии

Б. А. Варинский

Исследование термодинамических параметров удерживания помогает оптимизировать процесс разделения в хроматографии, а также оценить характер взаимодействия аналитов со стационарной фазой.

Цель работы – установление зависимости коэффициента емкости от температуры для 5-(пиридинил)-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тион, морфолиний 2-(5-(пиридин-4-ил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетата и расчет энтальпии переноса указанных веществ из подвижной фазы в стационарную.

Материалы и методы. Высокоэффективная жидкостно-хроматографическая система Agilent 1260 Infinity. Субстанции 5-(пиридинил)-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тион, морфолиний 2-(5-(пиридинил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетата. Колонка Zorbax SB-C18; 30 мм × 4,6 мм; 1,8 мкм. Температура колонки – 40 °С. Подвижная фаза состояла из воды (0,1 % HCOOH) и ацетонитрила (0,1 % HCOOH) (95: 5).

Результаты. Определили значение времени удержания для веществ при температурах от 30 °С до 70 °С и использовали для расчета коэффициентов емкости k . По методу наименьших квадратов рассчитали уравнение линейной зависимости $\ln k$ от $1/T$. По уравнению Вант–Гоффа рассчитаны энтальпии переноса веществ.

Выводы. Установлены стандартные энтальпии переноса аналитов из подвижной фазы в стационарную для 5-(пиридинил)-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тиона, морфолиний 2-(5-(пиридинил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетата. Отмечено, что исследуемые соединения имеют отрицательные значения энтальпии переноса. Это показывает преимущественный переход веществ из подвижной фазы в неподвижную.

Ключевые слова: энтальпия, высокоэффективная жидкостная хроматография, активные фармацевтические ингредиенты.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2020. Т. 13, № 3(34). С. 371–377

Похідні 3-тіо-1,2,4-тріазолу викликають чимале зацікавлення дослідників, які займаються пошуком нових біологічно активних речовин, що характеризуються різними видами біологічної активності. Наш інтерес стосується активного фармацевтичного інгредієнта (АФІ) нового ветеринарного лікарського засобу Авесстим [1], що має протизапальну, антиоксидантну, детоксикаційну, імуномодельовальну і гепатопротекторну дію.

Розроблення методик визначення АФІ має велике значення, адже вони необхідні для підтвердження якості готових лікарських засобів і субстанції, виявлення фальсифікованих препаратів і продукції, яка зберігалася в неналежних умовах. Методики використовують для дослідження адсорбції, метаболізму та екскреції, а також для визначення залишкових кількостей АФІ в сільськогосподарській продукції.

Передовими методами аналізу, що використовуються для цього, є хроматографічні та хромато-мас-спектрометричні методи, як-от високоефективна рідинна хроматографія з діодно-матричною та мас-спектрометричною детекцією. Раніше запропонували високоефективну рідинно-хроматографічну методику для визначення залишкових кількостей названого активного фармацевтичного інгредієнта в яйцях птиці [2].

Для оптимізації хроматографічних умов досліджують вплив різних факторів на утримання речовин. Температура – один з інструментів керування хроматографічними процесами. Вона впливає на селективність хроматографічної системи, а також надає багато інших переваг [3].

Дослідження термодинамічних параметрів утримання допомагає оптимізувати процес розділення у хроматографії, а також дає змогу з'ясувати характер взаємодії аналітів зі стационарною фазою. Такі розрахунки допомагають характеризувати та порівнювати колонки. Позитивна адсорбція зазвичай характеризується зменшенням ентальпії, тому підвищення температури зменшує утримання аналітів на сорбентах [4,5].

Мета роботи

Встановлення залежності коефіцієнта ємності від температури для піридин-4-гідразиду, 5-(піридинил)-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тіону, морфолиний 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату і розрахунок ентальпії перенесення цих речовин із рухомої фази у стаціонарну.

Матеріали і методи дослідження

Хроматографічне обладнання. Високоефективна рідинно-хроматографічна система Agilent 1260 Infinity, що складалася з дегазатора (Agilent Technologies, Japan), бінарного насоса (Agilent Technologies, Germany), автосамплера (Agilent Technologies, Germany), термостата колонки (Agilent Technologies, Germany), діодно-матричного детектора (Agilent Technologies, Germany). Програмне забезпечення – OpenLAB CDS.

Хроматографічні умови. Колонка Zorbax SB-C18; 30 мм × 4,6 мм; 1,8 мкм. Температура колонки – 40 °С. Рухома фаза складалася з води (0,1 % HCOOH) та аце-

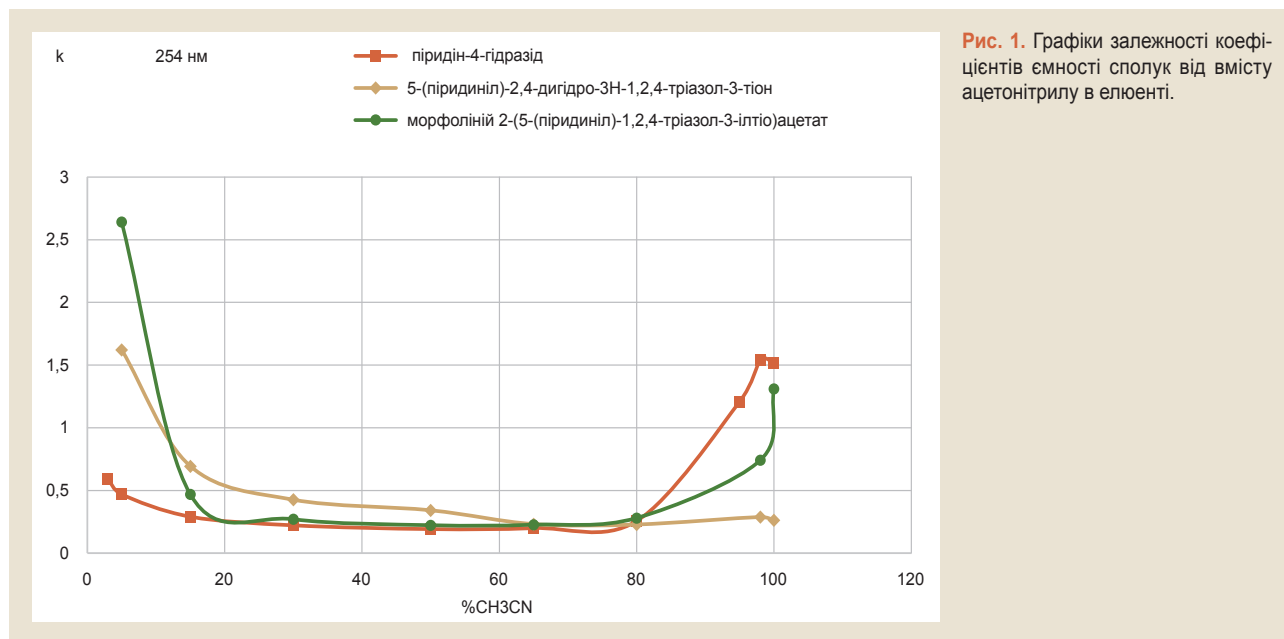


Рис. 1. Графіки залежності коефіцієнтів ємності сполук від вмісту ацетонітрилу в елюєнті.

тонітрилу (0,1 % HCOOH) (95:5). Швидкість потоку – 0,4 мкл/мл. Довжина хвилі діодно-матричного детектора – 244 нм. Об'єм, що інжектують, – 5 мкл.

Реактиви. 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіон, морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат синтезували на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії ЗДМУ, структура підтверджена під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора О. І. Панаценка [1].

Піридин-4-гідрозид кваліфікації «хч» придбали в компанії «Укроргсинтез».

Пристрій Direct Q 3UV (Millipore, Molsheim, France) використовували для виготовлення води високої чистоти (18 MΩ, 25 °C). Ацетонітрил кваліфікації HPLC Super Gradient (Avantor Performance Materials Poland S.A., Poland), метанова кислота кваліфікації «For analysis» (98 %) (AppliChem GmbH, Germany).

Виготовлення розчинів. Виготовили розчини морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату з концентрацією 0,1 % у воді. Розчин 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону готували з концентрацією 0,1 % в диметилсульфоксиді.

Визначення залежності утримання від температури. Хроматографували розчини кожної речовини при різних температурах від 30 °C до 70 °C із кроком у 5 °C.

Результати

Раніше дослідили залежність хроматографічного утримання від вмісту ацетонітрилу для піридин-4-гідрозиду, 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону, морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату при 40 °C [6–8]. Побудували графіки залежності коефіцієнта ємності від відсоткового вмісту ацетонітрилу із використанням цих даних (рис. 1).

Максимальне розділення між речовинами при найбільшому утриманні спостерігали при 5 % ацетонітрилу (рис. 2).

Для визначення термодинамічних параметрів перенесення аналітів із рухомої фази у стаціонарну спочатку необхідно визначити коефіцієнт ємності:

$$k = \frac{(t_r - t_0)}{t_0} = \frac{v_s}{v_m}, \quad (1)$$

де t_r – час утримання, t_0 – «мертвий» час утримання (час виходу компонента, що не утримується на колонці, або час перебування несорбованої речовини у хроматографі), v_s/v_m – відношення кількості речовини (моль) аналіту у стаціонарній фазі до кількості речовини (моль) аналіту в мобільній фазі.

Відношення об'ємів рухомої фази до стаціонарної фази позначили як β :

$$\beta = \frac{V_M}{V_S}, \quad (2)$$

Рівняння константи рівноваги перенесення речовини з мобільної фази в нерухому:

$$K = \frac{[A]_s}{[A]_m} = \frac{v_s}{v_m} \times \frac{V_M}{V_S} = k \times \beta, \quad (3)$$

Рівняння Вант-Гоффа відоме із фахової літератури [3]:

$$\ln K = - \frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R}, \quad (4)$$

$$\ln (k \times \beta) = - \frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R}, \quad (5)$$

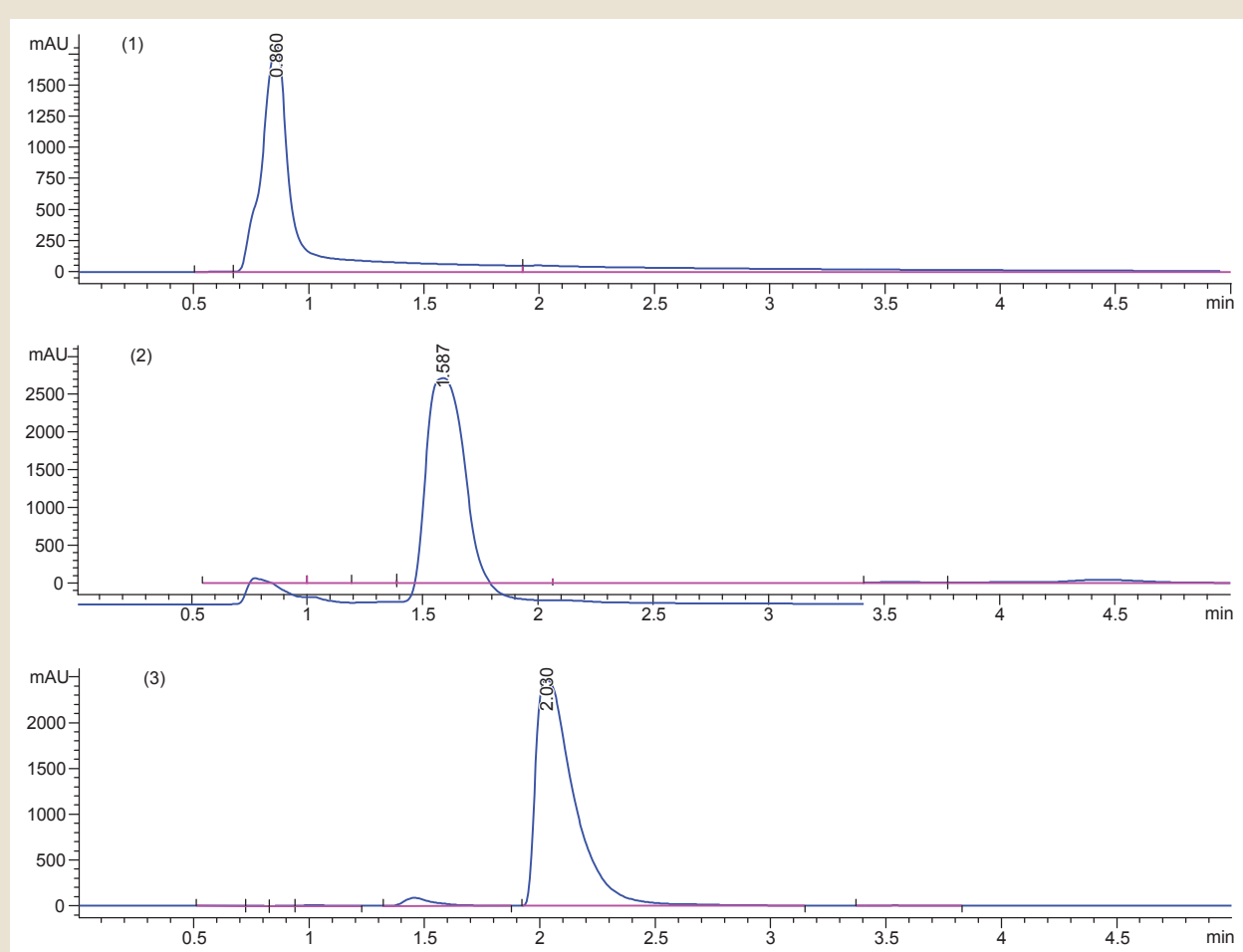


Рис. 2. Хроматограми піридин-4-гідразиду (1), 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону (2), морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату (3).

Виходячи із рівняння (5), отримали рівняння (6):

$$\ln k = -\frac{\Delta H^0}{RT} + \frac{\Delta S^0}{R} - \ln \beta, \quad (6)$$

Це рівняння привели до лінійної форми:

$$y = mx + b, \quad (7)$$

де $y = \ln k$, $x = 1/T$, $m = -\Delta H^0/R$, $b = \Delta S^0/R - \ln \beta$.

Далі дослідили залежність коефіцієнта ємності від температури для кожної речовини. На підставі цього визначили ентальпію перенесення речовин із рухомої фази в нерухому.

Вплив температури на хроматографічне утримання морфоліній 2-((4-(2-метоксифеніл)-5-(піридиніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату наведено на рис. 3а і 3б. При взаємодії з метановою кислотою елюента сіль утворює кислотну форму активного фармацевтичного інгредієнта, тому фактично хроматограми, що наведені на рис. 3а і 3б, відповідають кислоті.

Значення «мертвого» часу утримання визначали за часом утримання компонента KNO_3 , який не утримується. Його значення дорівнювало 0,6 хв.

Середні значення часу утримання для речовин при температурах від 30 °C до 70 °C використовували для розрахунку коефіцієнтів ємності k .

За методом найменших квадратів у програмі Microsoft Excel розраховали рівняння лінійної залежності $\ln k$ від $1/T$ (табл. 1).

Для розрахунку стандартної ентальпії переносу аналіту з рухомої фази у стаціонарну використали кутовий коефіцієнт m рівняння лінійної залежності (табл. 2):

$$\Delta H^0 = -m \times R, \quad (7)$$

Обчислення для 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону:

$$\Delta H = -1379,1 \times 8,31 = -11,46 \text{ кДж/моль}$$

Для морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату:

$$\Delta H = -1942,1 \times 8,31 = -16,14 \text{ кДж/моль}$$

Для піридин-4-гідразиду:

$$\Delta H = -725,71 \times 8,31 = -6,031 \text{ кДж/моль}$$

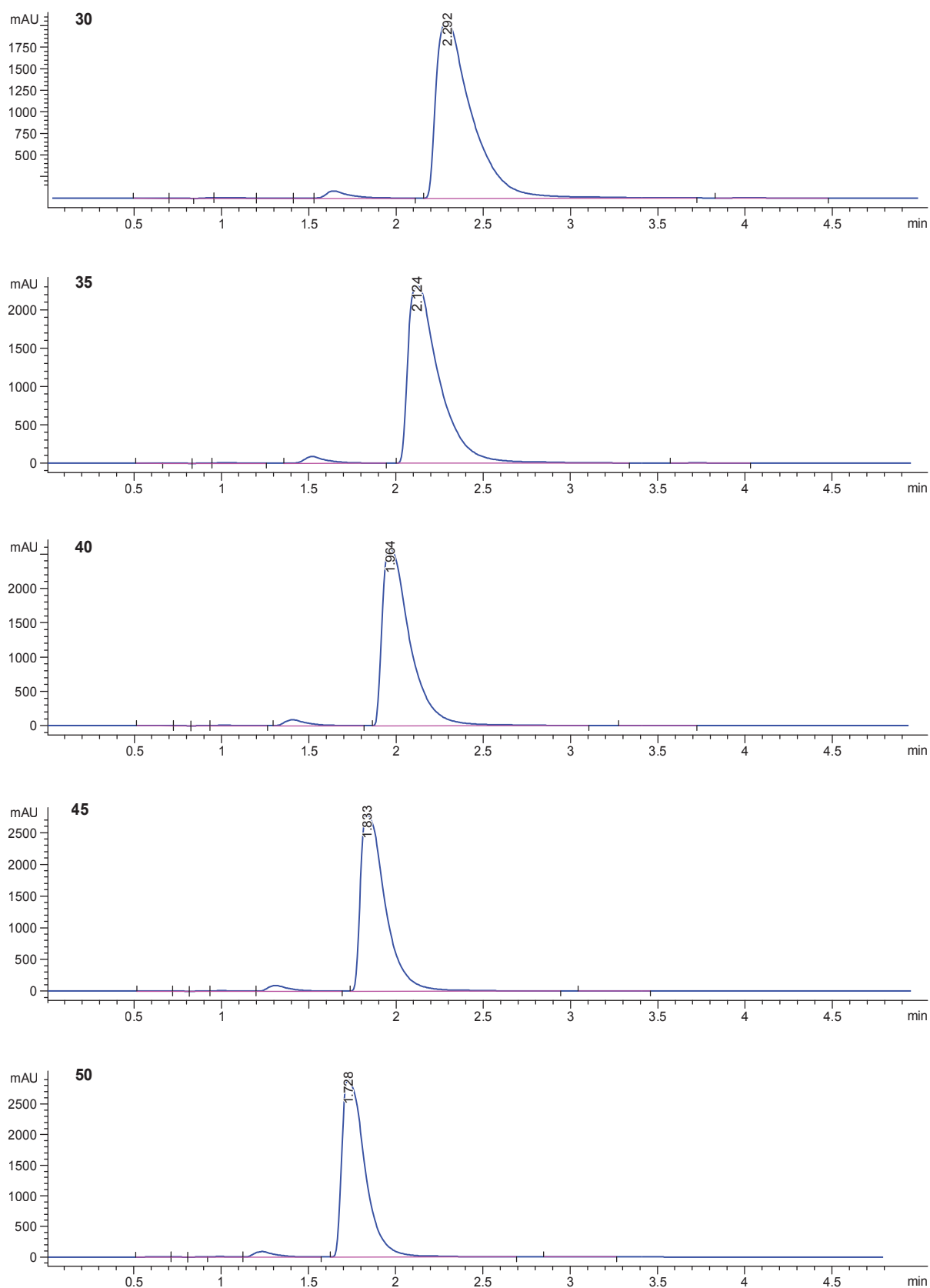


Рис. 3а. Хроматограми морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо) ацетату при різних значеннях температури (30–50 °С).

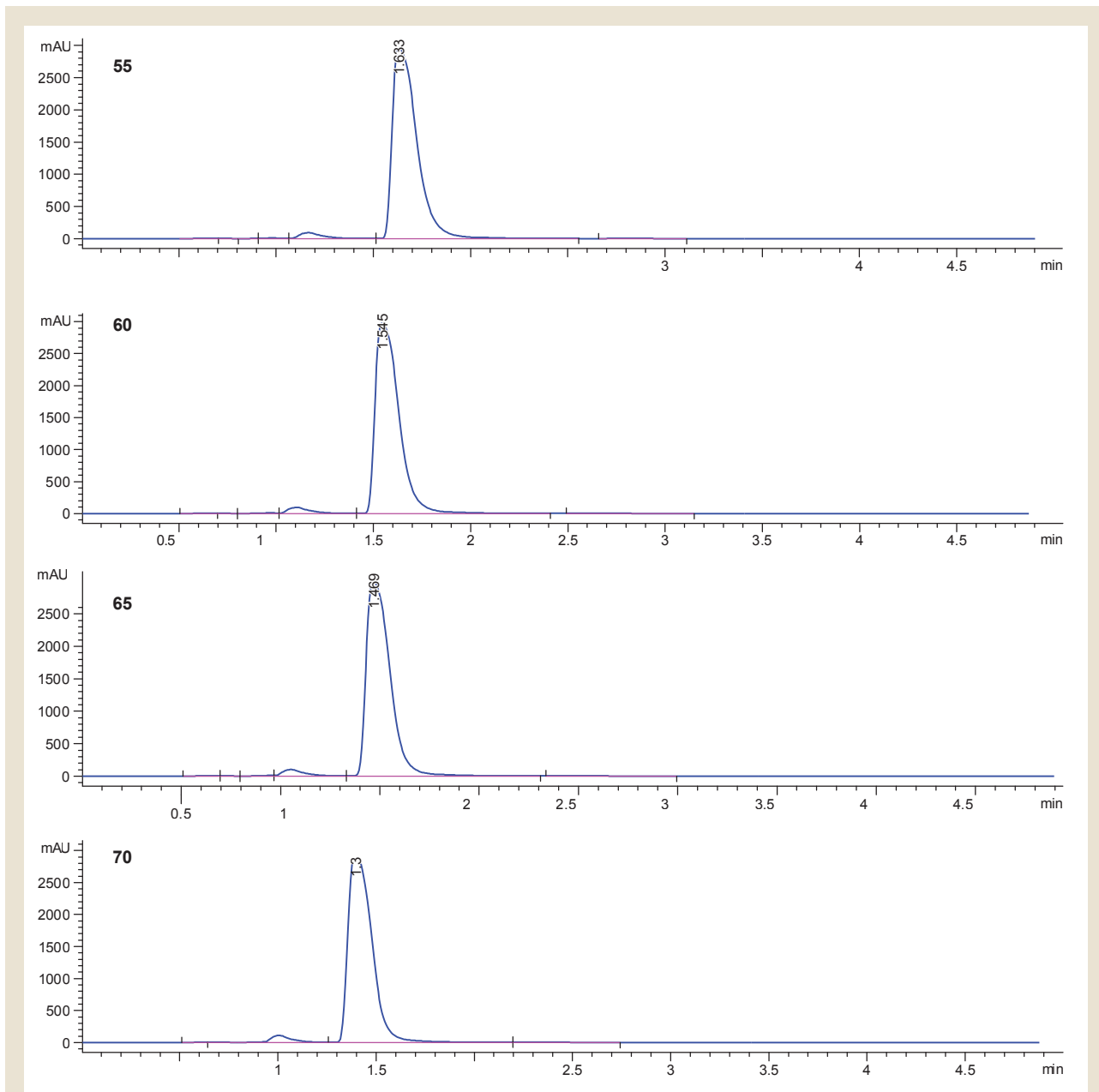


Рис. 36. Хроматограми морфоліній 2-(5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтію) ацетату при різних значеннях температури (55–70 °С).

Таблиця 1. Рівняння лінійної залежності lnk від 1/T, де $y = 1/T$, $x = \ln k$

№ з/п	Речовина	Рівняння	R^2	Стандартна похибка регресії, S
1	5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіон	$y = 1379,11x - 3,94$	0,9971	0,01035
2	морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтію) ацетат	$y = 1942,0x - 5,370$	0,9997	0,004834
3	піридин-4-гідрозид	$y = 725,71x - 3,162$	0,9935	0,008249

Таблиця 2. Стандарти ентальпії перенесення аналітів із рухомої фази у стаціонарну

№ з/п	Речовина	ΔH° , кДж/моль
1	5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіон	-11,46
2	морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтію) ацетат	-16,14
3	піридин-4-гідрозид	-6,031

Обговорення

Виявили, що ентальпії перенесення для всіх речовин (табл. 2) є негативними, що означає вивільнення теплоти під час адсорбції на оберненофазовому сорбенті при такому складі елюента. Отже, переважає перехід із рухомої фази у стаціонарну. Це відповідає тому, що ці речовини добре утримуються на оберненофазовому сорбенті.

Висновки

1. Встановили стандартні ентальпії перенесення аналітів із рухомої фази у стаціонарну для піридин-4-гідразиду, 5-(піридиніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-тріазол-3-тіону, морфоліній 2-(5-(піридиніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату на колонці Zorbax SB-C18; 30 мм × 4,6 мм; 1,8 мкм при 5 % вмісту ацетонітрилу в рухомій фазі.

2. Сполуки, що дослідили, мають негативне значення ентальпії перенесення. Це показує переважний перехід речовин із мобільної фази в нерухому.

Подяка

Автор вдячний Запорізькому державному медичному університету й особисто ректору Запорізького державного медичного університету Юрію Михайловичу Колеснику за можливість виконання досліджень у лабораторії рідинної хромато-мас-спектрометрії.

Фінансування

Дослідження виконане в рамках бюджетної науково-дослідної теми МОЗ України № 0120U101650.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: author has no conflict of interest to declare.

Відомості про автора:

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

Information about author:

Varynskyi B. O., PhD, Associate Professor of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Сведения об авторе:

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

Список літератури

- [1] Панасенко О. І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості аміно- і тіопохідних 1,2,4-тріазолу : дис... д-ра фармац. наук: 15.00.02 / Запоріж. держ. мед. ун-т. Запоріжжя, 2005. 412 с.
- [2] Разработка и валидация методики определения активного ингредиента препарата «Авестим» в яйцах птицы / Б. А. Варинский, В. В. Парченко, Е. Г. Кныш и др. *Азербайджанский фармацевтический и фармакотерапевтический журнал*. 2017. № 2. С. 10-17.
- [3] Elevated Temperatures in Liquid Chromatography. Part I: Benefits and Practical Considerations / D. S. Jensen, T. Teutenberg, J. Clark, M. R. Linford. *Lc Gc Europe*. 2013. Vol. 26, Iss. 2. P. 78-85.

- [4] Elevated Temperatures in Liquid Chromatography. Part II: Basic Thermodynamics of Elevated-Temperature LC, Including the van 't Hoff Relationship / D. S. Jensen, T. Teutenberg, J. Clark, M. R. Linford. *Lc Gc North America*. 2012. Vol. 30, Iss. 11. P. 992-998.
- [5] Elevated Temperatures in Liquid Chromatography, Part III: A Closer Look at the van 't Hoff Equation / D. S. Jensen, T. Teutenberg, J. Clark, M. R. Linford. *LCGC North America*. 2012. Vol. 30, Iss. 12. P. 1052-1057.
- [6] Варинський Б. О. Дослідження характеристик утримування ряду гідразидів карбонових кислот і гідразинкарботіоамідів, вихідних речовин при синтезі субстанцій для виготовлення лікарських засобів методом ВЕРХ-УФ-ЕСІ-МС. *Проблеми військової охорони здоров'я*. 2015. Вип. 43. С. 320-330.
- [7] Варинський Б. О. Вивчення методом ВЕРХ-ДМД-МС закономірностей утримування ряду 1,2,4-тріазол-3-тіонів – налівпродуктів в синтезі активних фармацевтичних інгредієнтів. *Фармаком*. 2016. № 1. С. 32-40.
- [8] 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. Кныш, В. В. Парченко та ін. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2015. Т. 13, № 4. С. 68-75.

References

- [1] Panasenko, O. I. (2005). Syntez, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biolohichni vlastyvyosti amino- i tiopokhidnykh 1,2,4-triazolu (Dis. dokt. farm. nauk) [Synthesis, transformation, physicochemical and biological properties of amino- and thioderivatives of 1,2,4-triazole (Doctoral dissertation)]. Zaporizhzhia State Medical University. [in Ukrainian].
- [2] Varinskii, B. A., Parchenko, V. V., Knysh, Ye. G., Panasenko, A. I., & Kaplaushenko, A. G. (2017). Razrabotka i validatsiya metodiki opredeleniya aktivnogo ingredienta preparata "Avestim" v yaitsakh ptitsy [Development and validation of a method for determining the active ingredient of the drug "Avestim" in poultry eggs]. *Azerbaidzhanskii farmatsevticheskii i farmakoterapevticheskii zhurnal*, (2), 10-17. [in Russian].
- [3] Jensen, D. S., Teutenberg, T., Clark, J., & Linford, M. R. (2013). Elevated Temperatures in Liquid Chromatography, Part I: Benefits and Practical Considerations. *Lc Gc Europe*, 26(2), 78-85.
- [4] Jensen, D. S., Teutenberg, T., Clark, J., & Linford, M. R. (2012). Elevated Temperatures in Liquid Chromatography, Part II: Basic Thermodynamics of Elevated-Temperature LC, Including the van 't Hoff Relationship. *Lc Gc North America*, 30(11), 992-998.
- [5] Jensen, D. S., Teutenberg, T., Clark, J., & Linford, M. R. (2012). Elevated Temperatures in Liquid Chromatography, Part III: A Closer Look at the van 't Hoff Equation. *Lc Gc North America*, 30(12), 1052-1057.
- [6] Varynskyi, B. O. (2015). Doslidzhennia charakterystyk utrymuvannia riadu hidrazydiv karbonovykh kyslot i hidrazynokarbotioamidiv, vykhidnykh rechovyn pry syntezi substansii dlia vyhotovlennia likarskykh zasobiv metodom VERH-UF-ESI-MS. [Investigation of the retention characteristics of a number of hydrazides of carboxylic acids and hydrazinocarbothioamides, starting materials in the synthesis of substances for the manufacture of drugs by HPLC-UV-ESI-MS]. *Problemy viiskovo-medychnoi akademii*. 43, 320-330. [in Ukrainian].
- [7] Varynskyi, B. O. (2016). Vyvchennia metodom VERH-DMD-MS zakonimirostey utrymuvannia riadu 1,2,4-triazol-3-tioniv – napivproduktiv v syntezi aktyvnykh farmatsevtichnykh ingrediientiv [Study by HPLC-DMD-MS of retention patterns of a number 1,2,4-triazole-3-thions – intermediates in the synthesis of active pharmaceutical ingredients]. *Farmakom*. (1), 32-40. [in Ukrainian].
- [8] Varynskyi, B. O., Knysh, Ye. G., Parchenko, V. V., Panasenko, O. I., & Kaplaushenko, A. G. (2015). Vyvchennia zakonimirostey utrymuvannia potentsiinykh likarskykh substansii riadu 1,2,4-tryazol-3-iltioatsetatnykh kyslot ta yih 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]. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*, 13(4), 68-75. [in Ukrainian].