

*На правах рукописи*



Шульга Николай Андреевич

**Разработка способов получения примесей некоторых лекарственных средств и  
их аттестация в качестве стандартных образцов**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

кандидат фармацевтических наук, доцент

**Гегечкори Владимир Ираклиевич**

**Официальные оппоненты:**

**Абдуллина Светлана Геннадиевна** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Институт фармации, профессор

**Сергеева Мария Сергеевна** – кандидат фармацевтических наук, федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», отдел качества и технологии лекарственных средств, лаборатория стандартизации и контроля качества лекарственных средств, ведущий научный сотрудник

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «19» ноября 2025 г. в 12.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1 и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г

Учёный секретарь

диссертационного совета ДСУ 208.002.02

доктор фармацевтических наук, профессор  **Демина Наталья Борисовна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Обеспечение населения высококачественными, эффективными и безопасными лекарственными средствами (ЛС) представляет собой стратегическую задачу национальной системы здравоохранения, закрепленную как в Конституции Российской Федерации (ст. 41), так и в Федеральном законе №61 «Об обращении лекарственных средств». В условиях быстрого развития фармацевтического рынка особую значимость приобретает разработка комплексных подходов к контролю качества ЛС.

Современные исследования свидетельствуют, что даже следовые количества примесных соединений – продуктов синтеза, деградации или контаминации способны не только снижать терапевтическую эффективность препаратов, но и напрямую влиять на безопасность ЛС, повышая риски для пациентов. В этой связи внедрение высокочувствительных и селективных методов анализа примесей в сочетании с использованием аттестованных стандартных образцов (СО) становится неотъемлемым элементом обеспечения эффективности и безопасности ЛС.

Мировой опыт регулирования, представленный в документах международного совета по гармонизации (ICH), фармакопеех Европейского Союза (EP) и Соединенных Штатов Америки (USP) демонстрирует, что СО примесей выполняют ключевую функцию в контроле качества ЛС, валидации аналитических методик и проверке пригодности аналитических систем. СО примесей обеспечивают метрологическую прослеживаемость и воспроизводимость результатов. В настоящее время, в Российской Федерации большинство СО примесей импортируются из стран ЕС и США, что создает системные риски, обусловленные валютной волатильностью, логистическими ограничениями (включая санкционные режимы) и отсутствием оперативного доступа к новым соединениям.

Разрешение указанных проблем требует развития отечественной научно-технологической базы для синтеза, очистки, идентификации и аттестации СО примесей, что соответствует целям стратегии развития фармацевтической промышленности РФ до 2030 года. Отсутствие универсальных методов получения материала примеси для аттестации в качестве СО, а также недостаточная изученность механизмов образования примесей и способов их выделения является ограничивающим фактором данного направления развития. Важной задачей является разработка стандартизованного подхода к расширению национального перечня СО примесей для удовлетворения потребности отечественной фармацевтической промышленности, а также нужд регуляторных органов РФ.

Таким образом, преодоление технологических и методологических пробелов в области работы с примесями ЛС, включая развитие собственной системы производства, стандартизации

и признания СО примесей, является условием для обеспечения безопасности и эффективности лекарственного обеспечения в РФ.

Пропранолол, как представитель бета-адреноблокаторов ( $\beta$ -АБ), остается одним из ключевых препаратов для лечения сердечно-сосудистых патологий. Кетопрофен, входящий в группу нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), занимает важное место в фармакотерапии благодаря своей широкой терапевтической значимости. Однако массовое производство дженериков данных ЛС сопряжено с рисками накопления примесей и, следовательно, рисками для здоровья широких групп пациентов. При этом большая часть СО для анализа ЛС пропранолола и кетопрофена импортируются, что увеличивает себестоимость контроля качества и создает риски дефицита при санкционном давлении. Высокая социальная значимость, объемы рыночного оборота и зависимость от зарубежных СО делают разработку отечественных СО для данных препаратов стратегическим направлением, соответствующим задачам импортозамещения и повышения безопасности ЛС в РФ.

Высокие объемы потребления НПВС и  $\beta$ -АБ в РФ, их массовое применение при социально-значимых заболеваниях и критическая зависимость от импорта СО делают разработку отечественных СО примесей для этих групп стратегическим приоритетом.

### **Степень разработанности темы исследования**

Проблема примесей ЛС в отечественной и зарубежной научной литературе занимает важное место. Работы доктора фармацевтических наук, профессора Раменской Г.В. и кандидата фармацевтических наук Хорольского М.Д. исследуют тему стандартизации генотоксичных примесей в ЛС. Кандидатская диссертация Ким Н.О. направлена на разработку способов стандартизации элементных примесей (ртути) в ЛС. Основные научные направления в области стандартизации и разработки СО были заложены исследованиями доктора фармацевтических наук, профессора, академика РАМН Арзамасцева А.П. и доктора фармацевтических наук, профессора Садчиковой Н.П. Отдельно, можно отметить недавние работы, связанные с разработкой подходов к аттестации СО, например, работы Чепило Д.А. и Шатилиной А.А. посвященные аттестации СО ЛС группы ингибиторов АПФ и ЛС биологического происхождения.

Также в 2023 году была опубликована Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания, в которой были опубликованы ОФС.1.1.0023 «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах» и ОФС.1.1.0007 «Стандартные образцы», уточняющие требования к контролю родственных примесей в активных фармацевтических субстанциях (АФС) и лекарственных препаратах (ЛП), а также требования к СО.

### **Цель и задачи исследования**

Цель исследования – разработать подходы к получению и стандартизации материалов примесей ЛС из группы НПВС и  $\beta$ -АБ.

Задачи исследования:

1. Провести анализ современного состояния и перспектив совершенствования методов контроля родственных примесей. Разработать принципы классификации примесей ЛС для оценки приоритетности в разработке соответствующих СО.
2. Разработать лабораторный регламент получения и очистки материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола в целях аттестации в качестве СО.
3. Разработать методики идентификации материала примесей А кетопрофена и материала примеси А пропранолола с учетом требований нормативной документации в области аттестации СО.
4. Разработать и валидировать методики определения органических примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола.
5. Разработать и валидировать методики определения остаточных органических растворителей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола.
6. Охарактеризовать качество исследуемых СО примесей по общим показателям фармакопейного анализа и установить нормы для включения в нормативную документацию.
7. Разработать методику аттестации массовой доли основного вещества материала примеси А пропранолола с учетом требований нормативной документации в области аттестации СО.
8. Разработать нормативную документацию на СО примесей для осуществления государственной регистрации.

### **Научная новизна**

Впервые в России предложен комплексный подход к разработке и аттестации СО примесей ЛС из группы НПВС и  $\beta$ -АБ, включающий рациональный способ получения материала примеси и ее аттестации в качестве СО.

Предложен новый метод получения СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола, установлена структура полученных соединений с использованием несравнительных физико-химических методов анализа, таких как ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия.

Предложены и установлены нормы контролируемых показателей качества для включения в спецификацию на СО.

## **Теоретическая и практическая значимость работы**

Предложенные в работе методологические подходы к синтезу, идентификации и аттестации СО примесей кетопрофена и пропранолола обладают высокой степенью универсальности и могут быть адаптированы для других представителей ЛС группы НПВС и  $\beta$ -АБ. Полученные данные расширяют знания о возможных путях образования примесей в ЛС данной группы, методах их получения и аттестации.

В результате проведенных работ утверждены комплекты нормативной документации на СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола.

Полученные материалы могут быть использованы в контроле качества данных ЛС.

## **Методология и методы исследования**

Настоящее исследование выполнено с учетом современных нормативных требований в области разработки и аттестации СО примесей ЛС, а именно Государственной фармакопеи Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV изд.) ОФС.1.1.0007 «Стандартные образцы», ОФС.1.1.0023 «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах», Фармакопеи Евразийского экономического союза (ФЕАЭС) 2.3.11.0. «Стандартные образцы», Федерального закона от 26.06.2008 № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений», ГОСТ ISO Guide 35 - 2015 «Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации)», а также РМГ 93-2009 ГСИ «Оценивание метрологических характеристик стандартных образцов».

Исследование выполнено с применением современных и высокочувствительных методов исследования. Материалы примесей получены с использованием доступных реагентов, современных подходов в области очистки и синтеза высокочистых соединений. Химическая структура полученных материалов подтверждена с использованием первичных не сравнительных методов. Расчет аттестованного значения массовой доли основного вещества в СО проводился с помощью общепринятого метода баланса масс и включал в себя определение органических, неорганических, летучих примесей и воды, а также надлежащую статистическую обработку данных.

## **Личный вклад автора**

Автором был проведен обзор отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, сформулированы цели и задачи работы, разработаны и выполнены лабораторные регламенты получения материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола. Автором были получены и расшифрованы результаты ИК-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии и масс-

спектрометрии, полученные спектральные данные были охарактеризованы и отнесены к структурам молекулы в целях идентификации полученных материалов. Проведен полный комплекс работ по разработке, валидации и проведению исследований материалов в целях аттестации СО. Автором лично были проведены исследования содержания органических примесей, остаточных органических растворителей, сульфатной золы и воды в материалах примесей. Осуществлена статистическая обработка полученных результатов исследования, на основе которой автором был сформирован комплект нормативной документации на СО, выводы исследования и основные положения, выносимые на защиту. Автором подготовлены текст диссертации, а также научных статей и тезисов, опубликованных по теме исследования.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Результаты разработки лабораторного регламента получения материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола в целях аттестации в качестве СО.
2. Результаты идентификации полученного материала примесей спектральными методами – ЯМР-спектроскопии, ИК-спектрометрии, масс-спектрометрии и обоснование применения данных методов для целей аттестации материала в качестве СО.
3. Результаты определения содержания органических примесей и ООР в материалах СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и газовой хроматографии (ГХ).
4. Результаты общих фармакопейных исследований (внешний вид, сульфатная зола, растворимость, содержание воды, тяжелые металлы) для включения в нормативную документацию на СО и утверждение норм по данным показателям.
5. Методика аттестация массовой доли основного вещества в материале СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом массового баланса.
6. Обоснование установленных норм показателей контроля качества СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола для включения в нормативную документацию.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационная работа соответствует пунктам 2 и 3 паспорта научной специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия: п. 2. «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств»; п. 3. «Разработка новых, совершенствование, унификация и валидация существующих методов контроля качества лекарственных средств на этапах их разработки, производства и потребления».

## **Степень достоверности и апробация результатов исследования**

Полученные результаты исследования обладают высокой достоверностью благодаря большому объему полученных первичных данных, а также использованию специфичных и чувствительных инструментальных методов исследования, таких как ВЭЖХ, ГЖХ, ИК-спектроскопия, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия, а также надлежащих статистических методов обработки данных. Достоверность полученных результатов обеспечивается проведением полного цикла валидации методик определения органических примесей и ООР в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. ОФС «Валидация аналитических методик».

Результаты диссертации были доложены и обсуждены на научных конференциях:

1) Создание стандартных образцов утверждённого типа для примесей активных фармацевтических субстанций / V Международная научная конференция «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, Россия, 2022);

2) Standardization of triphenylmethanol for certification as a reference standard of potassium losartan impurity / Международная студенческая конференция имени Игнаца Филиппа Земмельвейса (Будапешт, Венгрия, 2023).

Апробация диссертации проведена на заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), протокол заседания кафедры № 10 от «21» мая 2025 г.

### **Публикации по теме диссертации**

По результатам исследования автором опубликовано 7 работ, в том числе 5 научных статей в изданиях, индексируемых в международных базах данных Scopus, Chemical Abstracts, 2 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 – зарубежной конференции).

### **Внедрение результатов в практику**

Полученные результаты и рекомендации успешно внедрены в:

1. Учебный процесс Института фармации им А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) при изучении дисциплин «Общая фармацевтическая химия», «Органическая химия», читаемых студентам по направлению подготовки 33.05.01 Фармация.

2. Рабочий процесс ООО «Национальный центр стандартных образцов» (ООО «НЦСО») в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов утвержденного типа.

3. Рабочий процесс Управления по инспектированию производства лекарственных средств и экспертизе ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации (ФБУ «ГИЛСиНП» Минпромторга России) в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов утвержденного типа.

4. Рабочий процесс общества с ограниченной ответственностью «Рефлабфарм» в части синтеза примесей активной фармацевтической субстанции кетопрофена и пропранолола, и использования СО примеси А кетопрофена ГСО № 12058–2022 и примеси А пропранолола ГСО № 11935–2022.

### Структура и объем диссертации

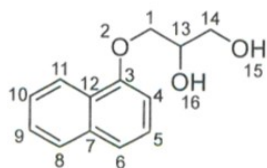
Работа изложена на 151 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, раздела материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы и приложений. Список литературы содержит 109 источников, в том числе 33 отечественных и 76 зарубежных. Текст иллюстрирован 32 рисунками и 60 таблицами.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Объектами данного диссертационного исследования являлись два вещества – примесь А кетопрофена 1-(3-бензоилфенил)этан-1-он и примесь А пропранолола (*RS*)-3-(Нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол. Приоритетность выбора указанных соединений для разработки СО обусловлена необходимостью использования СО данных примесей при контроле качества субстанций в соответствии с ГФ РФ XV изд., а также высокой терапевтической значимостью соответствующих ЛС. Структурные формулы исследуемых примесей представлены на рисунке 1.

(*RS*)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол



1-(3-бензоилфенил)этан-1-он

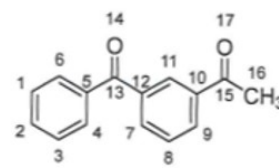


Рисунок 1 – Структурные формулы объектов исследования

Для получения материалов данных примесей в целях аттестации СО были разработаны и апробированы лабораторные регламенты их получения.

Идентификация материалов данных примесей проводилась методами ИК-спектromетрии, спектromетрии ядерного магнитного резонанса  $H^1$  и  $C^{13}$ , масс-спектromетрии.

Комплект данных по идентификации и аттестации массовой доли основного вещества получен с использованием следующего оборудования: ИК-спектromетра Nicolet iS5 (Thermo Fisher, Великобритания), ЯМР-спектromетр Bruker AVANCE III 400MHz (Bruker, Германия), жидкостной хроматограф Agilent 1290 Infinity II, масс-детектор Agilent 6470 (Agilent, США), масс-детектор Triple Quad 6500+ (SCIEX, Канада), газовый хроматограф Agilent 8860 (Agilent, США), титратор по Карлу Фишеру Titrando 916 (Metrohm, Швейцария).

Полученные материалы были исследованы по общим фармакопейным показателям качества, а именно – сульфатная зола, определение воды, описание и растворимость. Все указанные испытания были проведены в соответствии с общими фармакопейными статьями ГФ РФ XV изд. Для показателей сульфатная зола и определение воды исследования проводили в 6 повторениях.

Весь объем работ по разработке лабораторных регламентов, разработке и валидации аналитических методик и проведению исследований был выполнен в научно-исследовательской лаборатории кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института Фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

### **Получение и очистка материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола**

Разработанный лабораторный регламент получения примеси А кетопрофена включал в себя стадии вспомогательных работ (ВР) химический контроль (КХ) и стадии основного процесса (ТП).

Стадии основного процесса включали в себя:

ТП.3 Реакция Фриделя-Крафтса ацетанилида и бензоилхлорида – ацилирование ацетанилида, бензоилхлоридом в присутствии  $AlCl_3$  с образованием 4-ацетамидобензофенона;

ТП.4 Ацилирование 4-ацетамидобензофенона ацетилхлоридом в присутствии  $AlCl_3$ , с образованием 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона;

ТП.5 Синтез 2-ацетил-4-бензоиланилина – кислотный гидролиз 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона в хлористоводородной кислоте, с образованием 2-ацетил-4-бензоиланилина;

ТП.6 Синтез 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она – Реакция диазотирования 2-ацетил-4-бензоиланилина нитритом натрия в среде ледяной уксусной кислоты и концентрированной

серной кислоты с последующей заменой диазогруппы на водород в среде пропанола-1 с образованием 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она (примесь А кетопрофена).

ТП.7 Очистка включала в себя препаративную хроматографию – Agilent 1200 Prep System (Agilent Technologies, США), неподвижная фаза – Eclipse Plus C18, 5 мкм, колонка – 30.0 x 150 (диаметр x длина, мм).

Материал примеси А кетопрофена был получен по следующей схеме реакций, представленной на рисунке 2.

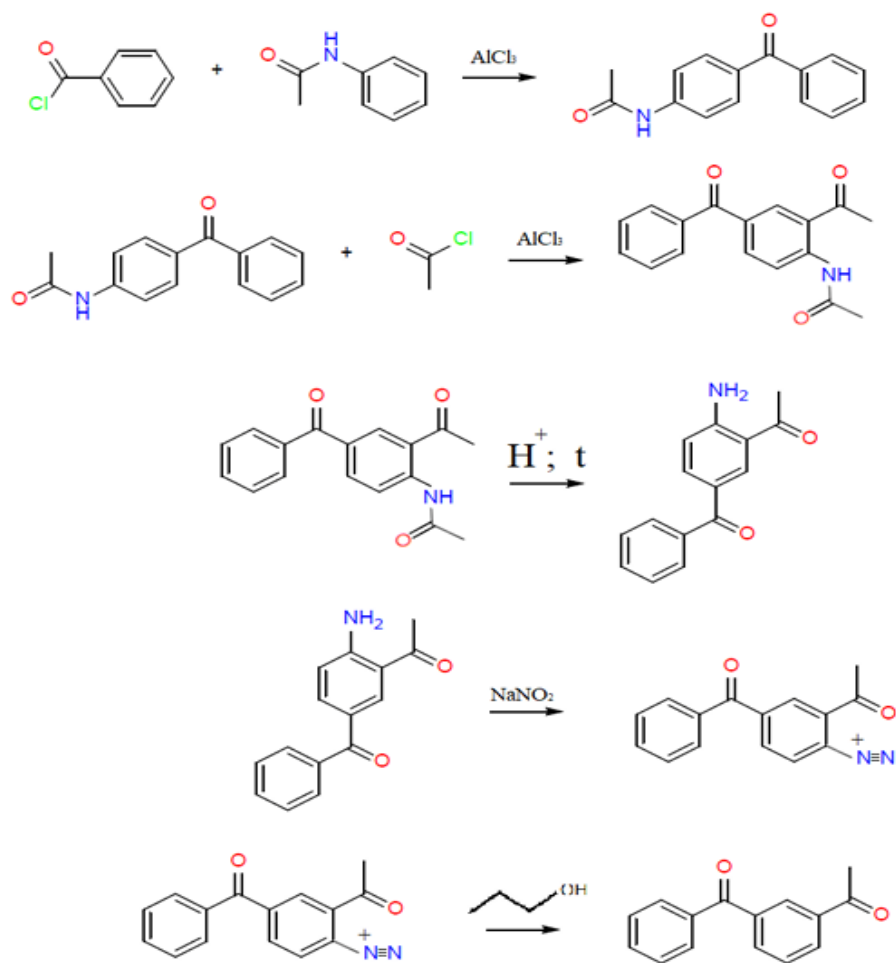


Рисунок 2 – Схема получения примеси А кетопрофена

Лабораторный регламент получения материала примеси А пропранолола включал следующие стадии синтеза и очистки:

ТП.3.1 Реакция 1-нафтола с (*S*)-глицидолом в присутствии пиперидина гидрохлорида при 75 °С в течение 5 часов;

ТП.3.2. Прогресс реакции контролировали с помощью ТСХ (гексан/этилацетат, 1:2);

ТП.4 Очистка колоночной хроматографией на силикагеле (колонна: загрузка – 150 г, диаметр – 3 см, высота – 40 см, сорбент – силикагель, 230 – 400 mesh).

Схема реакции (ТП.3) представлена на рисунке 3.

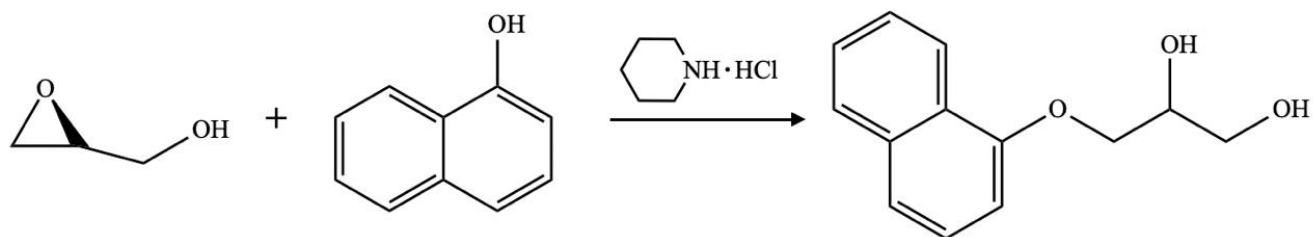


Рисунок 3 – Схема получения примеси А пропранолола

В результате выполнения разработанных методик синтеза материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола был составлен материальный баланс данных лабораторных регламентов.

В результате применения разработанных лабораторных регламентов получения материалов примесей, было получено 10,65 г материала примеси А кетопрофена и 7,12 г материала примеси А пропранолола для дальнейшей стандартизации.

Препаративная стадия очистки примеси А кетопрофена позволила повысить чистоту материала примеси с 90,45% до 99,86 % (рассчитаны с применением разработанной методики аналитической ВЭЖХ-УФ, метод внутренней нормализации). Хроматограмма препаративной стадии очистки материала примеси А кетопрофена представлена на рисунке 4.

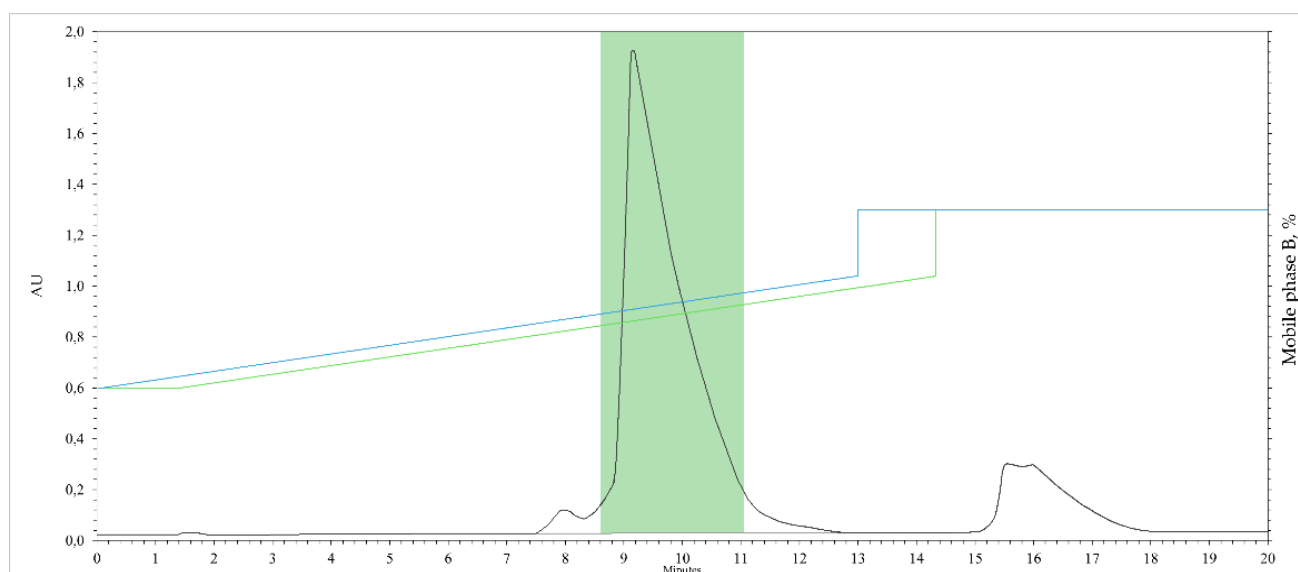


Рисунок 4 – Препаративная стадия очистки материала примеси А кетопрофена. Синяя линия – программный градиент; зеленая линия – задержка элюции градиента, зеленая зона – окно сбора фракции целевого компонента

### ИК-спектроскопия

ИК-спектры были зарегистрированы в диске калия бромида (1 мг образца в 300 мг калия бромида) в области от 4000 до 400 см<sup>-1</sup>. При расшифровке ИК спектра примеси А кетопрофена и

примеси А пропранолола были описаны характерные полосы поглощения, соответствующие ключевым функциональным группам. Отнесение полос поглощения представлено в таблице 1 и 2 соответственно.

Таблица 1 – Данные ИК-спектromетрии материала примеси А кетопрофена

Максимум поглощения, нм	Форма колебаний	Отнесение
3074	$\nu$ C-H	-CHAr
2918	$\nu$ C-H	-CH <sub>3</sub>
1681	$\nu$ C=O	C=O
1651	$\nu$ C=O	C=O
1595	$\sigma$ C-C	-C-CAr
1427	$\sigma_{as}$ C-H	-CH <sub>3</sub>
1356	$\sigma_s$ C-H	
1304-1233	$\nu_{as}$ C-CO-C	-C-CO-C
1175-1144	$\nu_s$ C-CO-C	
820	$\omega$ C-H	-C-HAr
723 - 691	$\sigma$ C-C	-C-CAr

Примечание:  $\nu$  – валентные колебания,  $\sigma$  – деформационные,  $\omega$  – внеплоскостные деформационные колебания  $_{as}$  – антисимметричные,  $_s$  – симметричные

Таблица 2 – Данные ИК-спектromетрии материала примеси А пропранолола

Максимум поглощения, нм	Форма колебаний	Отнесение
3285	$\nu$ C-OH	-C-OH
3051	$\nu$ C-H	-CHAr,
2935 - 2872	$\nu$ C-H	-CH <sub>2</sub> , -CH
1628, 1578	$\nu$ C-C	C-CAr
1507-1464	$\sigma$ C-H <sub>2</sub>	-CH <sub>2</sub>
1389-1347	$\sigma$ O-H	-OH
1268-1209	$\nu_{as}$ C-O	-C-OH
1127-1036	$\nu_s$ C-O	-C-O-C
890	$\omega$ OH	-OH
791-765	$\omega$ C-C	-C-HAr

Примечание:  $\nu$  – валентные колебания,  $\sigma$  – деформационные,  $\omega$  – внеплоскостные деформационные колебания  $_{as}$  – антисимметричные,  $_s$  – симметричные

Данные ИК-спектromетрии подтверждают структуру примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола по ожидаемым характеристикам полос поглощения.

### Спектроскопия ЯМР по ядрам $C^{13}$ и $H^1$

ЯМР  $H^1$  и  $C^{13}$  спектральные данные регистрировали на рабочей частоте 400 МГц и 100 МГц соответственно. Обработку полученных данных осуществлялась с помощью программного обеспечения TopSpin.

Полученные ЯМР-спектры оценивали по положению, интегральной интенсивности и мультиплетности. На основе полученных данных производили отнесение сигналов к структуре соединений. Описание спектральных данных представлено в таблице 3 и 4.

Таблица 3 – Описание спектральных данных ЯМР Н<sup>1</sup> и С<sup>13</sup> материала примеси А кетопрофена

ЯМР Н <sup>1</sup>				
Химический сдвиг, м.д.	Мультиплетность	КССВ J, Гц	Интенсивность	Отнесение
2,61	с	-	3	16
7,46	т	7,7	2	1, 2, 3, 8
7,57	кв	7,5	2	
7,76	д	7,3	2	4, 6
7,94	д	7,7	1	7, 9
8,14	д	7,8	1	
8,33	с	-	1	11
ЯМР С <sup>13</sup>				
Химический сдвиг, м.д.	Отнесение	Химический сдвиг, м.д.	Отнесение	
26,6	16	132,8	7	
128,4	1,3	134,1	11	
128,6	2,8	136,9	5, 10, 12	
129,5		137,1		
129,9	4,6	138,0		
131,6	9	195,7	13, 15	
		197,1		
Примечание – синглет (с), дублет (д), дублет дублетов (дд), триплет (т), квадруплет (кв), константа спин-спинового взаимодействия (КССВ)				

Таблица 4 – Описание спектральных данных ЯМР Н<sup>1</sup> и С<sup>13</sup> материала примеси А пропранолола

ЯМР Н <sup>1</sup>				
Химический сдвиг, м.д.	Мультиплетность*	КССВ* J, Гц	Интенсивность	Отнесение
3,37	с	-	2	15, 16
3,82	дд	11,5; 6,0	1	14
3,89	дд	11,5; 3,5	1	
4,06-4,16	м	-	2	1
4,17-4,28	м	-	1	13
6,74	д	7,6	1	4
7,32	т	7,9	1	5
7,39-7,51	м	-	3	6, 9, 10
7,79	д	9,0	1	8
8,16-8,27	м	-	1	11
ЯМР С <sup>13</sup>				
Химический сдвиг, м.д.	Отнесение	Химический сдвиг, м.д.	Отнесение	
63,9	14	125,5	5, 9, 10, 12	
69,1	1	125,8		
70,7	13	126,5		
105,0	4	127,6		
120,9	6, 11	134,5	7	
121,7		154,1	3	
125,4	8			
*Примечание – синглет (с), дублет (д), дублет дублетов (дд), триплет (т), мультиплет (м), константа спин-спинового взаимодействия (КССВ)				

## Масс-спектрометрия

Идентификацию соединений проводили по полученным значениям  $m/z$  пиков молекулярного иона, а также по расшифровке масс-спектров второго порядка с предложением вероятной схемы фрагментации дочерних ионов.

На масс-спектре материала примеси А кетопрофена обнаружен основной пик с  $m/z$   $[C_{15}H_{13}O_2]^+ = 225$ , соответствующий рассчитанному значению для протонированной формы кетопрофена примеси А. На масс-спектрах второго порядка обнаружены пики фрагментов с  $m/z$   $[M+H]^+ = 147$  ( $C_9H_7O_2^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 119$  ( $C_8H_7O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 105$  ( $C_7H_5O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 91$  ( $C_7H_7^+$ ) и  $m/z$   $[M+H]^+ = 77$  ( $C_6H_5^+$ ).

Вероятная схема фрагментации полученных материалов примеси А кетопрофена представлена на рисунке 5.

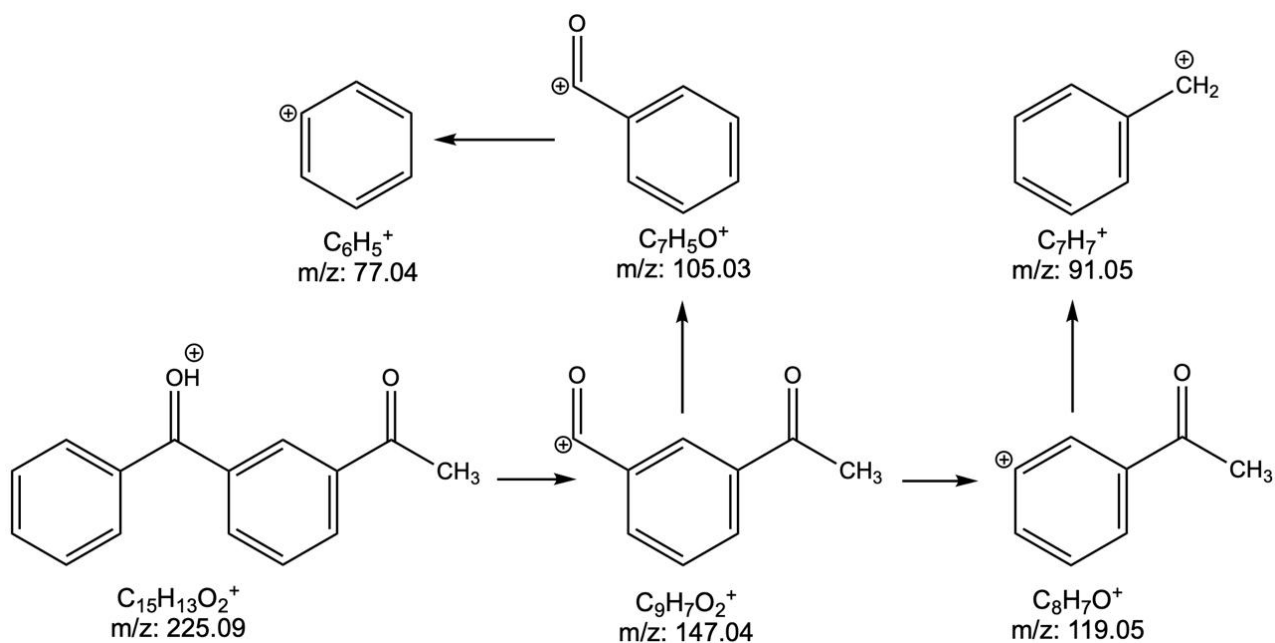


Рисунок 5 – Фрагментация примеси А кетопрофена

На масс-спектре материала примеси А пропранолола обнаружен основной пик с  $m/z$   $[M+H]^+ [C_{13}H_{15}O_3 + H]^+ = 219$ , соответствующий рассчитанному значению для протонированной формы пропранолола примеси А. На масс-спектрах второго порядка обнаружены пики фрагментов с  $m/z$   $[M+H]^+ = 183$  ( $C_{13}H_{11}O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 171$  ( $C_{12}H_{11}O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 165$  ( $C_{13}H_9^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 157$  ( $C_{11}H_9O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 155$  ( $C_{12}H_{11}^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 159$  ( $C_{12}H_9^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 145$  ( $C_{10}H_9O^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 127$  ( $C_{10}H_7^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 117$  ( $C_9H_9^+$ ),  $m/z$   $[M+H]^+ = 57$  ( $C_3H_5O^+$ ).

Вероятная схема фрагментации полученного материала примеси А пропранолола представлен на рисунке 6.

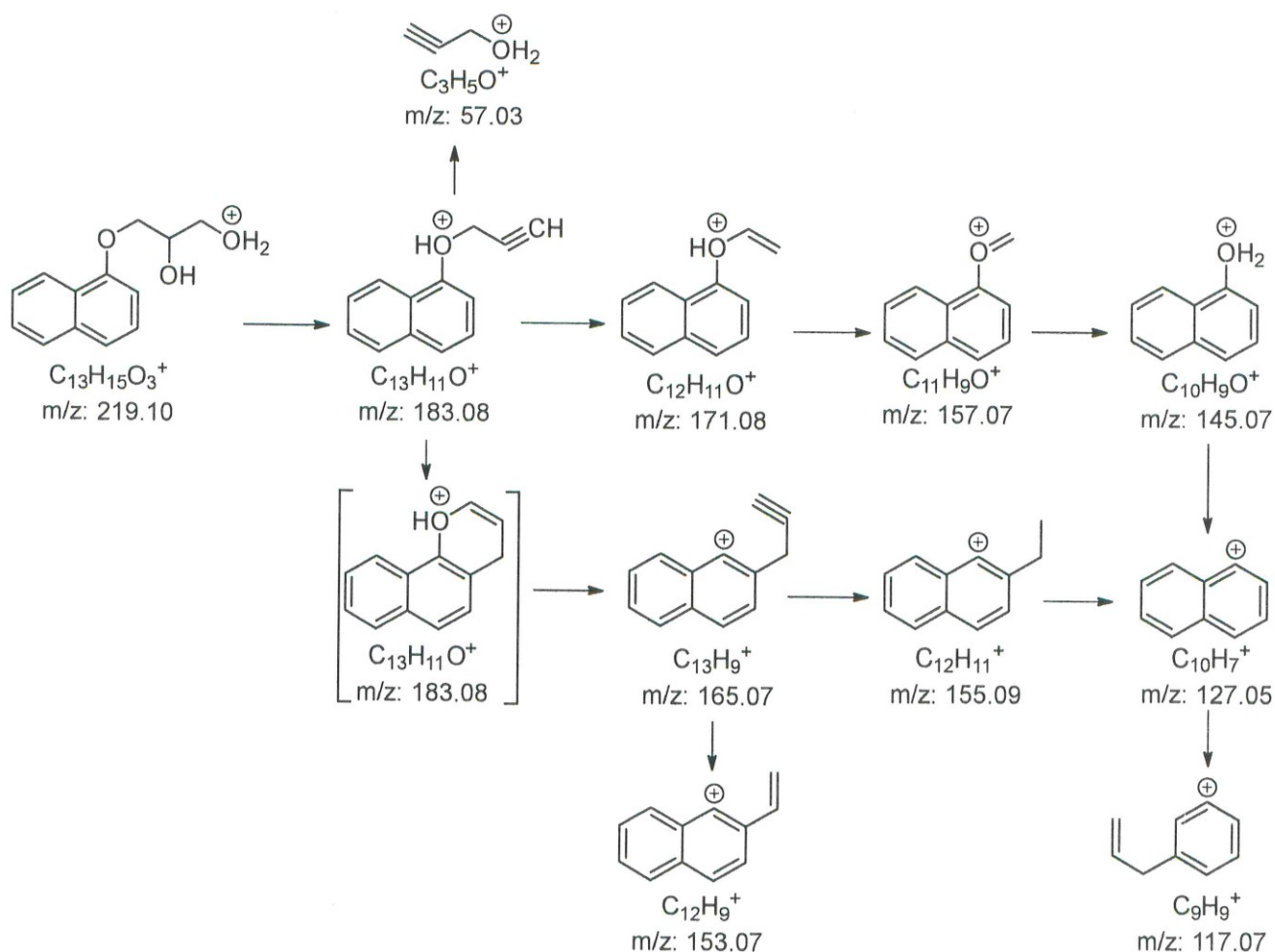


Рисунок 6 – Фрагментация примеси А пропранолола

Масс-спектрометрический анализ подтверждает структуру примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола по ожидаемой величине  $m/z$  для моноизотопного пика протонированной формы и ожидаемым пикам на спектрах второго порядка.

### Разработка и валидация методики определения содержания органических примесей в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

По результатам поведения анализа по разработанным методикам определения органических примесей было установлено содержание органических примесей в исследуемых материалах. Хроматограммы испытуемых растворов материала примеси А кетопрофена и материала примеси А пропранолола представлены на рисунках 7 и 8. Определение количественного содержания органических примесей проводилось методом нормализации.

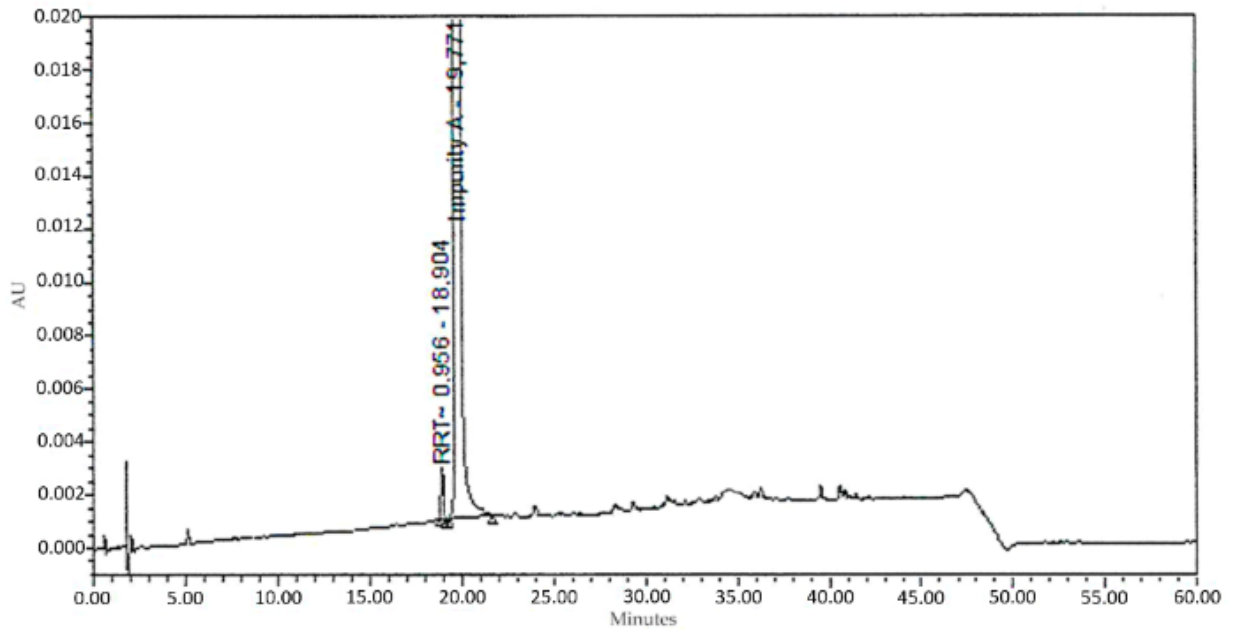


Рисунок 7 – Хроматограмма испытуемого раствора примеси А кетопрофена

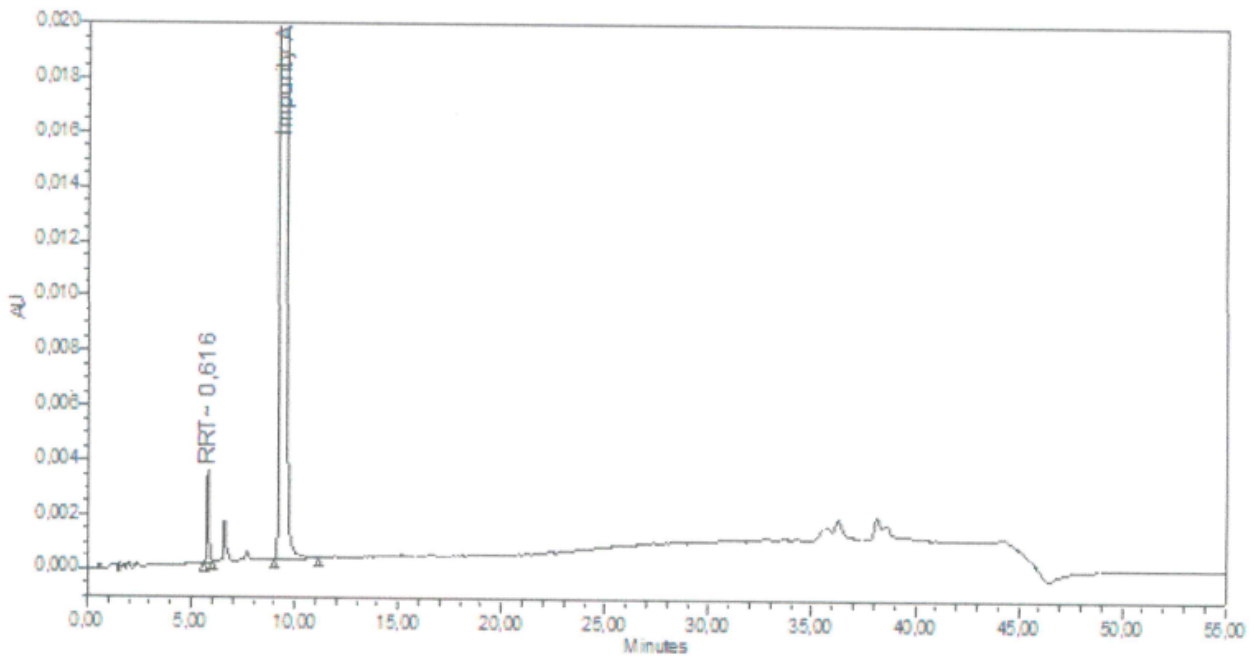


Рисунок 8 – Хроматограмма испытуемого раствора примеси А пропранолола

В материале примеси А кетопрофена была обнаружена примесь с нескорректированным относительным временем удерживания (RRT) 0,956. Содержание данной примеси в материале составило 0,1394 %.

В материале примеси А пропранолола была обнаружена примесь с RRT 0,616. Содержание данной примеси в материале составило 0,6182 %. Результаты проведенного анализа представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты определения родственных примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Обозначение пика	Время удерживания, мин	Площадь пика	Площадь пика, %
Материал примеси А кетопрофена			
RRT 0,956	18,904	16648	0,1394
Примесь А кетопрофена	19,771	11926584	99,861
Материал примеси А пропранолола			
RRT 0,616	5,725	43601	0,618
Примесь А пропранолола	9,297	7009836	99,382

Методики определения органических примесей были валидированы в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. ОФС1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Оценены следующие валидационные характеристики: специфичность, предел количественного определения, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность. Рассчитанные валидационные характеристики методик представлены в таблице 6.

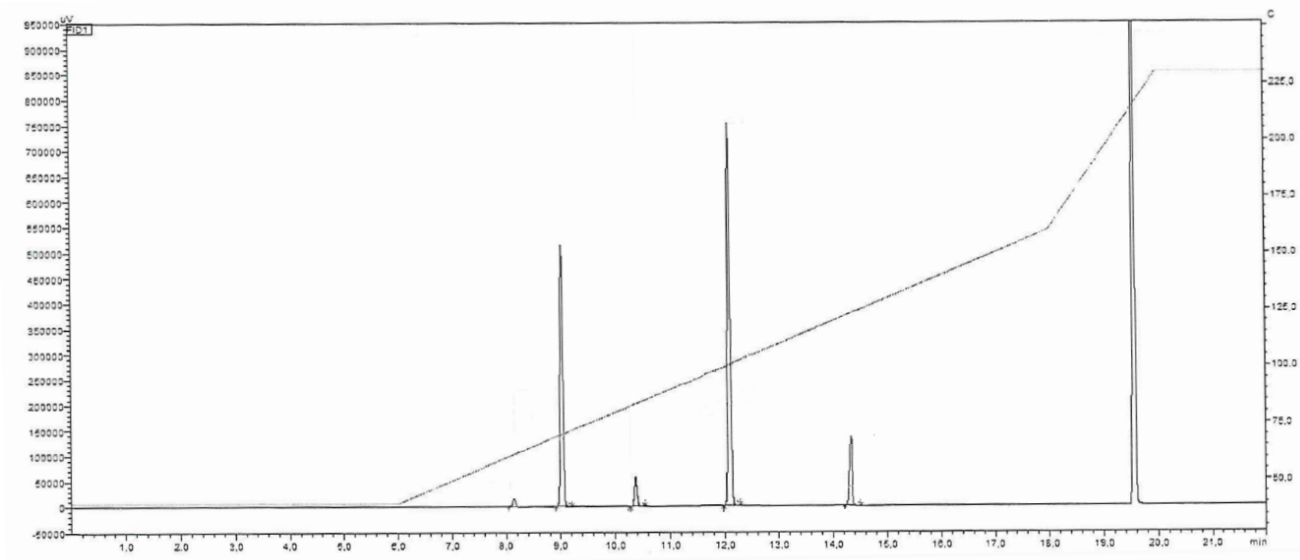
Таблица 6 – Валидационные характеристики методики определения органических примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Примесь А кетопрофена		Примесь А пропранолола	
Характеристика	Установленное значение	Характеристика	Установленное значение
Аналитический диапазон	От ПКО до 2,4 %	Аналитический диапазон	От ПКО до 2,4 %
Коэффициент корреляции R <sup>2</sup>	0,9982	Коэффициент корреляции R <sup>2</sup>	0,9996
ПКО	0,05 %	ПКО	0,05 %

По результатам определения органических примесей в материалах примесей были установлены следующие нормы. Для примеси А кетопрофена – сумма примесей – не более 0,5 %. Для примеси А пропранолола сумма примесей – не более 1,0 %.

#### **Разработка и валидация методики определения содержания ООР в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола**

Была разработана методика определения остаточных органических растворителей в материалах примесей методом газовой хроматографии. Для нормирования по данному показателю были выбраны следующие растворители: гексан, пентан, этилацетат, ацетонитрил, метанол, так как данные растворители применяли на стадии синтеза и очистки материалов. Методика является универсальной для определения ООР в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола. На рисунке 9 представлена типичная хроматограмма стандартного раствора.



Примечание: порядок выхода – метанол, пентан, ацетонитрил, гексан, этилацетат

Рисунок 9 – Хроматограмма стандартного раствора при проведении методики определения ООР

Методика была валидирована в соответствии ГФ РФ XV изд. ОФС1.1.0012 «Валидация аналитических методик». Оценены следующие валидационные характеристики: специфичность, предел количественного определения, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность.

В результате анализа было установлено, что в материале примеси А кетопрофена содержание ООР составило 0,075 %, в том числе 0,061 % ацетонитрила и 0,014 % метанола. В материале примеси А пропранолола суммарное содержание ООР составило 0,057 %, в том числе 0,057 % этилацетата.

По результатам проведенного анализа были установлены нормы показателей качества. Для СО примеси А кетопрофена: Суммарное содержание ООР – не более 0,1%. Для СО примеси А пропранолола – суммарное содержание ООР – не более 0,1%.

### **Общие фармакопейные испытания и утверждение норм по соответствующим показателям**

Для материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола были проведены общие фармакопейные испытания, которые включали в себя описание внешнего вида, определение содержания воды, определение растворимости и сульфатной золы. Данные испытания позволили установить нормы для контроля качества партий СО. Результаты аналитического контроля и установленные нормы полученных материалов представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Общие фармакопейные испытания примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Наименование показателя	Метод	Результат
<b>Кетопрофена примесь А</b>		
Описание	ГФ РФ XV изд.	Белый кристаллический порошок
Растворимость	ГФ РФ XV изд.	Практически нерастворим в воде, растворим в диметилсульфоксиде, хлороформе, метаноле, этилацетате
Сульфатная зола	ГФ РФ XV изд.	0,201 %
Вода	ГФ РФ XV изд.	0,043 %
<b>Пропранолола примесь А</b>		
Описание	ГФ РФ XV изд.	Кристаллический порошок светло-желтого цвета
Растворимость	ГФ РФ XV изд.	Практически нерастворим в воде, Растворим в метаноле, хлороформе
Сульфатная зола	ГФ РФ XV изд.	0,099 %
Вода	ГФ РФ XV изд.	0,039 %

#### **Аттестация массовой доли основного вещества методом массового баланса**

Принцип массового баланса для аттестации массовой доли основного вещества был выбран как универсальный метод, регламентируемый многими нормативными документами, в том числе ГФ РФ XV изд. ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы».

Согласно этому принципу, сумма содержания основного вещества, органических примесей, воды, органических растворителей и минеральных примесей (сульфатной золы) составляют 100% в материале СО.

В общем виде формулу для расчета содержания можно представить следующим уравнением:

$$X (\%) = 100 - X_{рп} - X_{оор} - X_{сз} - X_{в}$$

Где, X – аттестованная характеристика СО (массовая доля основного вещества), %;  $X_{рп}$  – содержание органических примесей, %;  $X_{оор}$  – содержание остаточных органических растворителей, %;  $X_{сз}$  – содержание сульфатной золы, %;  $X_{в}$  – содержание воды, %.

Кроме того, общепринятым подходом является использование в расчетной формуле тех характеристик, которые вносят менее 0,05 %, вклада в результаты расчетов.

Таким образом, для аттестации массовой доли основного вещества в материалах примесей А кетопрофена и примеси А пропранолола, был использован метод массового баланса в следующем виде –  $X (\%) = 100 - X_{рп} - X_{оор} - X_{сз}$ , Так как содержание воды в материалах примесей составило менее 0,05% при расчете массовой доли основного вещества оно не учитывалось

В результате расчета для примеси А кетопрофена была установлена массовая доля основного вещества на уровне 99,687 %, для примеси А пропранолола – на уровне 99,124 %.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Проведенное исследование направлено на решение актуальной задачи развития отечественной фармацевтической промышленности – создание СО примесей ЛС НПВС и  $\beta$ -АБ. Работа вносит значимый вклад в обеспечение независимости России от импорта СО, что критически важно для устойчивости контроля качества ЛС в условиях внешних ограничений.

Разработан комплексный подход к синтезу, очистке и аттестации примесей А кетопрофена и пропранолола. Впервые в России предложены методики получения высокоочищенных материалов примесей с использованием доступных реагентов и препаративной хроматографии. Структура соединений подтверждена методами ИК- и ЯМР-спектromетрии, масс-спектротметрии, что обеспечивает достоверность идентификации. Установлены нормы показателей качества, включая содержание органических примесей, ООР, воды и сульфатной золы.

Результаты работы способствуют снижению себестоимости контроля качества ЛС, минимизации рисков дефицита СО и повышению безопасности терапии социально значимых заболеваний.

## **ВЫВОДЫ**

1. Систематизированы современные отечественные и зарубежные подходы к стандартизации родственных примесей. Определены научно обоснованные принципы их классификации для определения приоритетных направлений в разработке стандартных образцов. Обоснована целесообразность создания стандартных образцов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола как ключевых объектов для контроля качества данных активных фармацевтических субстанций и готовых лекарственных форм.

2. Разработаны и экспериментально апробированы лабораторные регламенты синтеза и очистки материалов примесей кетопрофена и пропранолола. Для каждого процесса описаны технологические схемы, составлены материальные балансы, а также сформулированы обоснованные требования к качеству применяемых реагентов и растворителей, обеспечивающие воспроизводимость и аналитическую достоверность получаемых веществ.

3. Разработан комплекс методик идентификации материалов примесей с использованием общих фармакопейных испытаний, а также первичных инструментальных методов анализа, включая инфракрасную спектроскопию, ядерный магнитный резонанс и масс-спектротметрию, в целях аттестации стандартных образцов и контроле при серийном производстве. Проведена интерпретация спектральных данных, подтверждающая структуру

исследуемых соединений, и установлены воспроизводимые критерии оценки их подлинности для включения в нормативно-техническую документацию при утверждении типа.

4. Разработаны и валидированы методики количественного определения органических примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Валидация проведена по основным аналитическим характеристикам: специфичность, линейность, диапазон аналитического определения, предел количественного определения, правильность и прецизионность.

5. Разработаны и валидированы методики количественного определения остаточных органических растворителей — метанола, пентана, ацетонитрила, гексана и этилацетата — в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола с применением метода газовой хроматографии. Методики валидированы по основным аналитическим характеристикам, включая специфичность, линейность, аналитический диапазон, предел количественного определения, правильность и прецизионность.

6. Проведены общие фармакопейные испытания модельных материалов примеси А пропранолола и примеси А кетопрофена по показателям: внешний вид, растворимость, содержание сульфатной золы и воды. На основании полученных результатов установлены предельные значения для включения в нормативно-техническую документацию при серийном производстве стандартных образцов, а также сформулированы критерии для исходных материалов синтеза к процедуре аттестации.

7. Доказана применимость метода массового баланса для аттестации массовой доли основного вещества в материалах стандартных образцов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола. Согласно результатам, массовая доля основного вещества составила 99,687 % для примеси А кетопрофена и 99,124 % для примеси А пропранолола, что подтверждает их высокую степень чистоты и соответствие требованиям, предъявляемым к веществам, предназначенным для использования в качестве стандартных образцов как при контроле качества лекарственных средств.

8. Установлены показатели качества стандартных образцов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола по следующим характеристикам: внешний вид, подлинность, растворимость, содержание органических примесей, воды, сульфатной золы, остаточных органических растворителей и массовая доля основного вещества. В целях государственной регистрации стандартных образцов утверждённого типа сформирован полный комплект нормативно-технической документации, включающий программу испытаний для утверждения типа, программу испытаний серийного выпуска, описание типа, акт испытаний, методику приготовления материала, научно-технический отчёт, паспорт и макет этикетки. Полученные результаты подтверждают научную обоснованность и практическую применимость

разработанных стандартных образцов в системе метрологического и фармацевтического контроля.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

Результаты исследования целесообразно применять при разработке и аттестации СО примесей для других представителей групп НПВС и  $\beta$ -АБ. Методики синтеза, очистки и валидации, апробированные для кетопрофена и пропранолола, могут быть адаптированы для создания отечественных СО примесей других ЛС данных групп.

Изученные механизмы формирования примесей в ЛС кетопрофена и пропранолола, могут быть использованы для оптимизации процессов производства и контроля качества ЛС данных групп.

### **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Разработанные подходы к получению, очистке и аттестации СО примесей могут быть адаптированы для других примесных соединений ЛС групп  $\beta$ -АБ и НПВС, а также для примесных соединений других групп ЛС. Перспективным направлением развития в этой области является разработка способов получения и аттестации многокомпонентных СО примесей ЛС, что позволит повысить эффективность контроля качества, безопасность, а также снизить цены на ЛС, за счет снижения издержек производителя при контроле качества ЛС. Основным направлением дальнейших работ по данной теме является создание независимой и эффективной национальной системы обеспечения фармацевтической промышленности стандартными образцами.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Development of Ketoprofen Impurity A (1-(3-Benzoylphenyl)ethanone) as a Certified Reference Material for Pharmaceutical Quality Control / **N. A. Shulga**, V. I. Gegechkori, N. V. Gorpichenko, V. V. Smirnov, S. P. Dementyev, G. V. Ramenskaya // **Pharmaceuticals**. – 2025. – Vol. 18. – № 59. [**Scopus**]
2. Разработка и стандартизация стандартного образца примеси пропранолола – (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол (Примесь А) для контроля качества лекарственных средств / **Н. А. Шульга**, В. И. Гегечкори, М.О. Белявский, С. Корди // **Химико-фармацевтический журнал** – 2025. – Т.59 – №3. С. 50-55 [**Scopus, Chemical Abstracts**]
3. Применение метода флуориметрии для определения примесей в субстанции панкреатина в целях создания стандартного образца / В. И. Гегечкори, А. А. Шатилина, **Н. А. Шульга**, В. Н. Кузина, Л. Б. Васькова, В. А. Зенин // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2022. – Т.56. – №11. – С. 59- 63. [**Scopus, Chemical Abstracts**]

4. Современные методы контроля и регулирования примесей в лекарственных средствах / **Н. А. Шульга**, А. Г. Меркушова, В. И. Гегечкори, Д. В. Чугаев, Г. В. Раменская // **Фармация.** – 2024. – Т.73. – №6. – С. 16 – 25. [Chemical Abstracts]

5. Оценка стабильности стандартного образца примеси А пропранолола методом ускоренного старения / **Н. А. Шульга**, В. И. Гегечкори, А. С. Филатова, Г. В. Раменская // Естественные и технические науки. – 2025. – 9 Т.202. – №3. – С. 153-155. [Chemical Abstracts]

6. **Shulga, N. A.** Standardization of triphenylmethanol for certification as a reference standard of potassium losartan impurity/N. A. Shulga, V. I. Gegeckori. — Текст: непосредственный // Semmelweis International Students' Conference; — Будапешт: 2023. — С. 40

7. **Шульга, Н. А.** Создание стандартных образцов утверждённого типа для примесей активных фармацевтических субстанций / В. И. Гегечкори, Н. А. Шульга, А. М. Князев, Н. Н. Чадова, В. Н. Шестаков. — Текст: непосредственный // Тезисы V Международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях»; — Екатеринбург: 2022. — С. 45–46

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ЛС - Лекарственное средство

СО – Стандартный образец

ICH – Международный совет по гармонизации

EP – Европейская фармакопея

USP – Фармакопея Соединенных Штатов Америки

β-АБ – бета-адреноблокаторы

НПВС – нестероидные противовоспалительные средства

ООР – остаточные органические растворители

ИК-спектроскопия – спектроскопия в инфракрасной области спектра

ЯМР-спектроскопия – спектроскопия ядерного магнитного резонанса

ГФ РФ XV изд. Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания

ФЕАЭС – Фармакопеи Евразийского экономического союза

ВЭЖХ – Высокоэффективная жидкостная хроматография

ГХ – Газовая хроматография

RRT – нескорректированное относительное время удерживания