ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

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

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
кандидат фармацевтических наук, доцент
Гегечкори Владимир Ираклиевич

Москва - 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 17
1.1 Современные методы регулирования и подходы к нормированию примесей в лекарственных средствах 17
1.2 Описание методов контроля качества лекарственных средств по показателю родственные примеси 23
1.3 Исследование состояния и перспектив развития отечественного и зарубежного рынка стандартных образцов примесей лекарственных средств 26
1.4 Описание физико-химических и фармакологических свойств лекарственных средств группы нестероидных противовоспалительных препаратов 32
1.5 Описание физико-химических и фармакологических свойств лекарственных средств группы β-адреноблокаторов 33
1.6 Определение подходов к получению материалов стандартных образцов примесей лекарственных средств 34
1.7 Определение подходов к аттестации стандартных образцов примесей лекарственных средств групп нестероидных противовоспалительных препаратов и β-адреноблокаторов 37
ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 39
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 41
2.1 Объекты исследования 41
2.2 Оборудование и реактивы 42
2.3 Лабораторный регламент получения материала примеси А кетопрофена 43
2.4 Лабораторный регламент получения материала примеси А пропранолола 49
2.5 Идентификация материала 51
2.5.1 Инфракрасная спектроскопия 51

2.5.2 Масс-спектрометрия 52
2.5.2.1 Масс-спектрометрия материала примеси А кетопрофена 52
2.5.2.2 Масс-спектрометрия материала примеси А пропранолола 54
2.5.3 Спектроскопия ядерного магнитного резонанса 56
2.6 Определение общих фармакопейных показателей качества 56
2.7 Определение посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 57
2.7.1 Описание методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена 57
2.7.2 Описание методики определения посторонних примесей в материале примеси А пропранолола 60
2.7.3 Валидация методик определения посторонних примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола 63
2.7.3.1 Специфичность 63
2.7.3.2 Линейность и аналитический диапазон 64
2.7.3.3 Предел количественного определения 65
2.7.3.4 Правильность и прецизионность 65
2.8 Методика определение остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии 67
2.8.1 Валидация методики 71
2.8.1.1 Специфичность 71
2.8.1.2 Предел количественного определения 71
2.8.1.3 Аналитическая область и линейность 72
2.8.1.4 Правильность и прецизионность 74
2.9 Аттестация массовой доли основного вещества методом массового баланса 75
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ 77

3.1 Результаты апробации лабораторного регламента получения материала примеси А кетопрофена 77
3.1.1 Очистка материала примеси А кетопрофена 78
3.2 Результаты апробации лабораторного регламента получения материала примеси А пропранолола 80
3.3 Идентификация материала 81
3.3.1 Идентификация материала примеси А кетопрофена методом инфракрасной спектроскопии 82
3.3.2 Идентификация материала примеси А пропранолола методом инфракрасной спектроскопии 84
3.3.3 Идентификация материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса 86
3.3.4 Идентификация материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом масс-спектрометрии 91
3.4 Общие фармакопейные показатели качества 95
3.5 Методика определение посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 96
3.5.1 Валидационные характеристики методики 96
3.5.2 Результаты определения посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 103
3.6 Методика определение остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии 105
3.6.1 Валидационные характеристики методики 105
3.6.2 Результаты определения остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии 113
3.7 Аттестация массовой доли основного вещества методом массового баланса 115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 119

ВЫВОДЫ 120
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 123
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ 124
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 127
ПРИЛОЖЕНИЕ А 142
ПРИЛОЖЕНИЕ Б 143
ПРИЛОЖЕНИЕ В 144
ПРИЛОЖЕНИЕ Г 145
ПРИЛОЖЕНИЕ Д 146
ПРИЛОЖЕНИЕ Е 147
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж 148
ПРИЛОЖЕНИЕ И 149
ПРИЛОЖЕНИЕ К 150
ПРИЛОЖЕНИЕ Л 151

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Обеспечение населения высококачественными, эффективными и безопасными лекарственными средствами (ЛС) прgедставляет 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), фармакопеях 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 (β-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 β-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. Отдельно, можно отметить работы, связанные с разработкой подходов к аттестации СО, например, работы Чепило Д.А. и Шаталиной 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 β-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 β-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 не сравнительных 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

Разработанные 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 β-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.

Данные 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 подтверждается 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-, 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

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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Современные методы регулирования и подходы к нормированию примесей в лекарственных средствах

Контроль примесей в ЛС является важнейшим аспектом обеспечения качества, эффективности и безопасности фармакотерапии. Любое постороннее вещество в АФС или ЛП может влиять на терапевтическую активность и вызывать нежелательные побочные эффекты, особенно при превышении допустимого содержания примеси [1, 49, 52, 56, 107, 108]. В связи с этим в ходе разработки и промышленного производства ЛС особое внимание уделяется идентификации и количественному содержанию примесей [20, 26, 36, 85].

Большинство регуляторных актов и фармакопей (ICH, USP, EP, Решение ЕЭК 151/138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей», ГФ РФ XV изд.) определяет примеси схожим образом: любой компонент ЛС, который не является действующим веществом и/или вспомогательным веществом. Таким образом, примесями считаются побочные продукты синтеза, продукты разложения (деградации), остаточные реагенты, катализаторы, растворители и другие посторонние компоненты, присутствующие в субстанции или лекарственной форме [3, 106, 50, 64, 65].

Классификация примесей по механизмам образования в ЛС представлена на рисунке 1.

Рисунок 1 — Классификация примесей по механизму образования в ЛС

Примеси могут попадать в ЛС из разных источников и на различных этапах производства: как побочные продукты синтеза АФС, продукты разложения (деградации) действующего вещества, остатки исходных реагентов, каталитических систем, технологических вспомогательных веществ, а также загрязнения из окружающей среды или материалов упаковки. Согласно принятой классификации, все примеси условно подразделяются на органические, неорганические и остаточные органические растворители [36, 57, 85].

1. Органические примеси – это углеродсодержащие соединения, возникающие преимущественно в результате химических реакций при синтезе и хранении. К этой категории относятся:

- Примеси, связанные с процессом получения АФС: непрореагировавшие исходные вещества, побочные продукты и промежуточные соединения, образующиеся при синтезе.
- Примеси деградации: продукты распада самого действующего вещества при воздействии факторов окружающей среды (температура, влага, свет) или при

взаимодействии с вспомогательными веществами и материалом упаковки. В частности, для лекарственных форм могут быть характерны продукты взаимодействия активного вещества со вспомогательными веществами лекарственной формы или с материалом тары [103, 60, 61, 92].

Органические примеси классифицируют на идентифицированные и неидентифицированные.

К первой группе относятся примеси, наличие которых ожидаемо исходя из процесса синтеза и технологии производства. Данные примеси, как правило, известны, охарактеризованы и включены в спецификации.

Неидентифицированные примеси в фармацевтических субстанциях представляют собой группу, включающую соединения с неустановленной химической структурой, для которых не охарактеризованы аналитические сигналы. Например, неизвестные пики в хроматографических профилях, неидентифицированные полосы в спектрах. Особую сложность представляют примеси, не обнаруживаемые стандартными аналитическими методами, но проявляющиеся при составлении массового баланса [64, 46].

2. Неорганические примеси – посторонние неорганические вещества, которые могут присутствовать в конечном продукте [64, 95]. К ним относятся:

- Остаточные реагенты и катализаторы. В процессе синтеза АФС часто применяют неорганические реактивы (кислоты, основания) и катализаторы (например, соли металлов, комплексные соединения).
- Тяжёлые и переходные металлы. Даже если металл не использовался напрямую, его примеси могут попасть из сырья, оборудования или других источников.
- Неорганические соли. Иногда в препарате могут присутствовать неорганические посторонние ионы, оставшиеся от применяемых реагентов либо образующиеся на стадиях нейтрализации.

3. ООР – летучие органические соединения, используемые на разных стадиях технологического процесса, которые могут не полностью удаляться при сушке. Наличие даже следовых количеств растворителей в ЛС потенциально опасно, поэтому допускаемые количества строго нормируются. В соответствии с рекомендациями ICH Q3C ООР классифицируют в соответствии с их токсичностью на 3 класса опасности [66]:

- Класс 1 – токсичные растворители (например, бензол, четыреххлористый углерод) с допустимым уровнем не более 2 ppm или вовсе недопустимые;
- Класс 2 – растворители, которые следует ограничивать из-за токсичности (ацетонитрил, дихлорметан и др.), для каждого установлен свой лимит в миллионных долях (ppm);
- Класс 3 – менее токсичные растворители (спирты, этилацетат и пр.), допустимые в концентрациях до 0,5 % или 5000 ppm.

Аналогичные требования внесены и в ГФ РФ XV изд. [3].

Первая попытка по гармонизации требований фармацевтического производства была предпринята в ЕС в 1980-е годы. На Международной конференции органов по регулированию обращения лекарственных средств ВОЗ в Париже в 1989 году был утвержден план международной гармонизации требований в области качества лекарственных средств. В результате, вскоре после этого, в 1990 году, в Брюсселе проведена первая Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для применения на людях (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH-1), в которой приняли участие делегации из ЕС, США и Японии (позднее к основному составу руководящего комитета присоединились Канада (Health Canada) и Швейцария (Swissmedic)). Позднее орган сменил название на Международный совет по гармонизации технических требований к фармацевтическим препаратам для использования

человеком (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) и был зарегистрирован как юридическое лицо (некоммерческая организация) в Швейцарии в 2015 году [38]. На первом заседании было решено разделить инициативы и руководства по следующим направлениям:

Q – качество (quality);

S – безопасность (safety);

E – эффективность (efficacy);

M – мультидисциплинарные руководства (multidisciplinary; утвердили позднее).

В результате работы данной организации было выпущено множество документов, связанных с примесями в ЛС. Основные из них перечислены в таблице 1 вместе с описанием области их применения [63 - 69].

Таблица 1 — Документы ICH, регулирующие примеси в ЛС

Документ	Область применения
ICH Q3A (R2)	Примеси в новых АФС
ICH Q3B (R2)	Примеси в новых ЛП
ICH M7 (R2)	ДНК-реактивные примеси
ICH Q6A	Требования, связанные со спецификациями для новых АФС и ЛП – химические вещества
ICH Q6B	Требования, связанные со спецификациями для биотехнологических и биологических ЛС

На территории ЕАЭС действует Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 4 октября 2022 г. № 138 "Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и

контроля содержания примесей". В ГФ РФ XV изд. приведены ОФС.1.1.0023 «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах», ОФС.1.1.0040 «Элементные примеси», ОФС.1.2.2.2.0031 «Примеси N-нитрозаминов» и некоторые другие [3, 5, 26].

Контроль примесей – комплекс мероприятий, охватывающий множество этапов при разработке и выпуске ЛС. На этапе фармацевтической разработки производитель обязан идентифицировать потенциальные примеси на основе сведений о синтезе АФС, разработанной технологии и стабильности вещества и готовой формы [55]. Проектируя процесс синтеза, технологи стремятся минимизировать образование побочных продуктов либо предусмотреть очистку от них. Тем не менее полностью избежать появления примесей практически невозможно, поэтому устанавливаются допуски (нормы) их содержания для включения в спецификацию на ЛС.

Согласно ICH, спецификация – это «перечень испытаний, ссылок на аналитические методики и соответствующие критерии приемлемости, представляющие собой численные пределы, диапазоны или другие критерии для описываемых испытаний».

При создании спецификации на ЛС разрабатываются обоснованные нормативы по каждому значимому виду примесей. Критерии приемлемости содержания примесей базируются на данных исследований стабильности, анализа серий опытного и промышленного производства, а также на токсикологической оценке примесей. Международные руководства ICH и документы Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) предлагают общие принципы установления допустимых пределов примесей. В частности, вводится понятие пороговых значений: порог обнаружения, идентификации и квалификации примеси. Также существуют особые, более строгие требования для потенциально генотоксичных примесей (например, нитрозамины) – для них вводится более низкий допустимый предел содержания [5, 26, 63 – 65, 76].

1.2 Описание методов контроля качества лекарственных средств по показателю родственные примеси

Постоянное совершенствование аналитических и технологических инструментов и методов, а также длительная непрерывная работа регуляторных органов и исследовательских групп позволяют значительно снизить пределы содержания примесей в ЛС и обеспечить более жесткий контроль при производстве ЛС [44, 45, 84, 85, 88, 89, 90].

При работе с новыми ЛС и их примесями риск для безопасности и эффективности присутствует всегда, поэтому ни одно новое химическое соединение не может считаться абсолютно безопасным без проведения всесторонних и подтверждающих это исследований [41, 43, 59]. Оценка всех аспектов влияния примеси часто начинается с анализа структурно похожих веществ, уже известных науке. Предположить потенциальное образование опасных примесей можно исходя из условий синтеза, используемых реактивов и термодинамики процесса [87, 100, 101, 104].

Количественное определение примесей в аналитических методиках требует различных подходов. Наиболее надежным и точным методом является использование СО целевой примеси, что позволяет обеспечить прямое сравнение аналитических сигналов. Однако, в условиях отсутствия соответствующего СО, альтернативной стратегией выступает использование в качестве референсного вещества АФС. При существенном различии факторов отклика АФС и целевой примеси, для обеспечения корректного количественного определения примеси по ее аналитическому сигналу относительно сигнала АФС, необходимо применение поправочного коэффициента [3, 15, 50, 101, 106].

Нормативное регулирование допустимого содержания примесей в ЛС реализуется через конкретные регламентирующие документы, прежде всего

официальные фармакопеи и их частные монографии и фармакопейные статьи. В монографиях на субстанции раздел "Примеси" устанавливает перечень идентифицированных примесей с индивидуальными количественными пределами (например, не более 0,1%), лимит для суммы неспецифицированных (неидентифицированных или отдельно не перечисленных) примесей (обычно в диапазоне 0,1–0,5%), а также общий предел содержания суммы всех примесей. Для высокоочищенных субстанций этот общий предел часто устанавливается на уровне 1–2%. Данная трехуровневая система контроля примесей является стандартом, детально прописанным, в частности, в ГФ РФ XV изд. и одновременно гармонизирована с требованиями других ведущих фармакопей на основе международных соглашений [3, 46, 50, 106].

Аналитические методы, применяемые для обнаружения, идентификации и количественного определения примесей, чрезвычайно разнообразны. Выбор метода зависит от природы примеси, требуемой чувствительности и доступного оборудования. Ниже рассмотрены наиболее распространенные подходы [37, 53, 84, 90]:

- Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) – основной инструмент контроля органических примесей в АФС и ЛП. Метод позволяет разделить смесь вещества и его примесей и выявить даже малые количества (до 0,05 % и ниже) при использовании чувствительных детекторов. Как правило, применяют обращено-фазовую ВЭЖХ с УФ-детектированием, поскольку многие лекарственные вещества и их примеси имеют хромофоры и поглощают ультрафиолетовый свет. Для не имеющих хромофоров примесей прибегают к рефрактометрическому детектированию или проводят дериватизацию [44, 96]. В экспериментальной практике разработка метода ВЭЖХ для примесей включает оптимизацию подвижной фазы, выбор детектора и его длины волны [99].

• Газовая хроматография – применяется преимущественно для контроля ООР и иных летучих органических веществ. Метод основан на разделении паров веществ при переносе их в инертном газе-носителе через капиллярную колонку. ГХ обязательна для определения растворителей класса 1 и 2, как предписывает, например, ГФ РФ XV изд. «Остаточные органические растворители». Детектирование проводят с помощью пламенно-ионизационного детектора (ПИД), который универсален и чувствителен к органическим соединениям.

• Тонкослойная хроматография (ТСХ) – более простой метод, ранее широко использовавшийся для контроля примесей. Тем не менее ТСХ на пластинах с сорбентом по-прежнему применяется для экспресс-анализа. ТСХ позволяет одновременно анализировать несколько образцов на наличие ожидаемых примесей путем сравнения пятен на хроматограмме. Обнаружение пятен проводят при УФ-освещении или проявляют специальными реактивами.

• Масс-спектрометрия (МС) – метод исследования вещества по массе заряженных частиц, на которые оно распадается. Для анализа примесей часто используют связку хроматографии с масс-спектрометрией (например, ВЭЖХ-МС или ГХ-МС), что дает возможность идентифицировать неизвестные примеси.

Современные методы анализа, применяемые в контроле примесей ЛС, систематизированы в таблице 2 [35, 51, 84].

Таблица 2 — Методы анализа, наиболее часто используемые в аналитическом контроле примесей

Разделительные методы	Спектральные методы
Хроматография, капиллярный электрофорез, твердофазная и жидкофазная экстракция, ускоренная экстракция растворителем.	Ультрафиолетовая спектрофотометрия, инфракрасная спектрофотометрия, рамановская спектроскопия, масс-спектрометрия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса

Эффективный контроль примесей в ЛС требует реализации последовательной стратегии, включающей первоначальную идентификацию всех потенциальных примесных компонентов, последующую разработку и валидацию комплекса аналитических методик для их селективного обнаружения и точного количественного определения, и завершающий этап - создание СО ключевых примесей для обеспечения метрологической прослеживаемости результатов анализа и соответствия нормативным требованиям [80].

1.3 Исследование состояния и перспектив развития отечественного и зарубежного рынка стандартных образцов примесей лекарственных средств

СО примесей ЛС - фундаментальный инструмент обеспечения достоверности количественного анализа примесей для целей соответствия ЛС спецификации.

Унификация терминологии в области СО имеет принципиальное значение для обеспечения глобального взаимопонимания [109]. Однако анализ ключевых нормативных документов выявляет определенные различия в подходах к определению и классификации СО [2, 3, 15, 44, 45, 50, 106]:

Европейская Фармакопея активно использует термин «Chemical Reference Substance» (CRS - химический стандартный образец Европейской фармакопеи). CRS определяются как вещества, предназначенные для использования в аналитических процедурах, описанных в монографиях ЕР, и характеризующиеся высокой степенью чистоты. Их свойства устанавливаются Европейским директоратом по качеству лекарственных средств (EDQM). Основное назначение – идентификация и количественное определение в соответствии с фармакопейными методами.

Фармакопея США применяет термин «Reference Standard». USP RS официально устанавливаются Фармакопейной конвенцией США и предназначены для

использования в тестах и анализах, описанных в монографиях USP. Они характеризуются установленными спецификациями. USP подчеркивает их роль в обеспечении соответствия фармакопейным требованиям.

Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания определяет СО как вещества независимо от природы происхождения, в сравнении с которыми осуществляется контроль качества испытуемых ЛС. В ОФС.1.1.0007 «Стандартные образцы» выделяются различные категории СО, включая Государственные стандартные образцы, нормативное регулирование которых осуществляется национальным органом по метрологии.

Федеральный закон РФ № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений» дает юридически значимое определение «стандартному образцу» как образцу вещества (материала) с установленными по результатам испытаний значениями одной и более величин, характеризующих состав или свойство этого вещества (материала). Ключевой акцент делается на метрологической функции СО как средства измерений, их включении в Государственный реестр и необходимости метрологической аттестации/утверждения типа. Это определение шире фармакопейного и охватывает все сферы измерений во всех отраслях экономики.

Международные стандарты ISO (ISO Guide 30, ISO 17034) используют общий термин «Reference Material» (RM – Стандартный материал). ISO Guide 30 определяет RM как «материал, достаточно однородный и стабильный в отношении определенных установленных свойств, который был установлен как пригодный для использования в измерении или в исследовании номинальных свойств» [14]. При этом выделяется особая категория – «Certified Reference Material» (CRM - Сертифицированный стандартный материал), который сопровождается документацией (сертификатом), предоставляющей значение установленного свойства, его неопределенность и прослеживаемость к точной реализации единицы измерения, в которой выражается значение свойства. Стандарты ISO делают акцент на метрологических принципах

(прослеживаемость, неопределенность, сертификация) и процессе производства RM в соответствии с ISO 17034.

Основные функции СО примесей заключаются в следующем [2, 3, 31, 50, 106]:

- Идентификация примеси – подтверждение соответствия обнаруженного сигнала конкретному веществу. Путем сравнения с СО можно однозначно установить, что данный сигнал принадлежит именно данной примеси (по времени удерживания, спектральным характеристикам и так далее).
- Калибровка при количественном анализе – установление зависимости сигнала от концентрации примеси. СО служат для построения калибровочных графиков (зависимость сигнала детектора от концентрации), позволяющих точно определить количество примеси в анализируемом образце.
- Валидация методик анализа – СО применяются на этапах валидации методик для оценки таких характеристик, как:

Специфичность: Доказательство, что методика измеряет именно целевую примесь без мешающего влияния матрицы или других примесей.

Точность (правильность и прецизионность): Оценка близости результатов к истинному значению (с использованием СО известной концентрации) и воспроизводимости результатов.

Линейность: Построение калибровочного графика и оценка его линейности в рабочем диапазоне.

Предел обнаружения (ПО) и Предел количественного определения (ПКО): Определение минимальных обнаруживаемой и надежно измеряемой концентраций примеси.

В данном контексте использование СО является неотъемлемой частью контроля качества ЛС в отношении показателя «родственные примеси». Это обусловлено тем, что СО обеспечивают метрологическую прослеживаемость и точность результатов измерений. Важно отметить, что применение СО не только

гарантирует сопоставимость результатов анализов между различными лабораториями, но и подтверждает соответствие полученных данных требованиям нормативной документации [29, 47].

Эволюция рынка СО в Российской Федерации характеризуется выраженной цикличностью. В 1980-х годах отечественное производство СО находилось на высоком уровне, соответствуя всем мировым стандартам. Однако в 1990-х годах произошел системный коллапс: объемы производства резко сократились. Последующий период, инициированный стратегиями «Фарма-2020» и усиленный санкционным давлением с 2022 года, характеризуется активной государственной политикой импортозамещения и поддержкой производителей СО.

В настоящее время рынок СО примесей ЛС в Российской Федерации находится в состоянии развития, поддерживается со стороны государства, но все еще значительно отстает по своей номенклатуре и темпам роста от рынка СО ЕС и США. Анализ мирового рынка СО примесей ЛС по широте ассортимента представлен на рисунке 2.

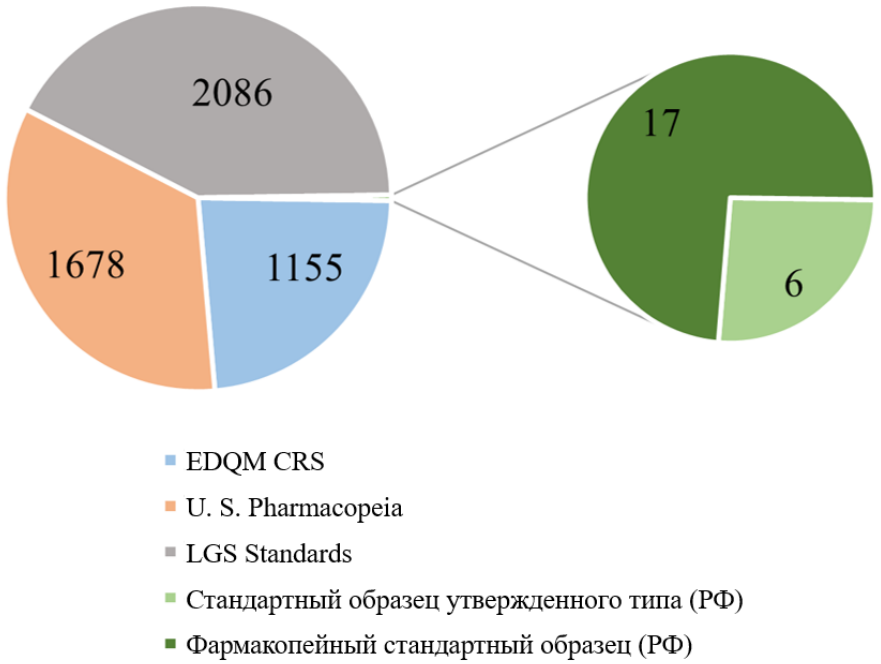


Рисунок 2 — Предложение СО примесей ЛС на мировом рынке

Анализ рынка СО примесей ЛС показывает, что основная доля данной продукции производится и поставляется из стран ЕС, США и Великобритании, метрологическими и фармакопейными институтами данных стран. Количество СО примесей, производимых на территории Российской Федерации, мало и не позволяет обеспечить потребность отечественной фармацевтической промышленности.

В связи с этим является актуальным развитие национальной системы производства и стандартизации СО примесей ЛС для снижения зависимости от импорта и минимизации логистических рисков.

В условиях отсутствия широкой номенклатуры СО примесей ЛС является актуальным разработка классификации примесей ЛС для оценки приоритетности разработки соответствующего СО. Для оценки приоритетности разработки СО примесей ЛС были выбраны следующие классификационные признаки:

1. Наличие ЛС в перечне жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП);
2. Включение в клинические рекомендации лечения распространённых заболеваний;
3. Количество зарегистрированных ЛП для данного международного непатентованного наименования (МНН);
4. Наличие частной фармакопейной статьи в ГФ РФ XV изд.;
5. Использование СО примеси при контроле качества ЛС в соответствии с требованиями фармакопейной статьи.

Характеристика примесей ЛС кетопрофен и пропранолола по данным признакам приведена в таблице 3.

Таблица 3 — Характеристика ЛС кетопрофена и пропранолола

Классификационный признак	Кетопрофен	Пропранолол
Наличие ЛС в перечне ЖНВЛП [24]	+	+

Продолжение таблицы 3

Включение в клинические рекомендации лечения распространённых заболеваний	+ [8, 11, 12, 13]	+ [7, 9, 10, 25, 27]
Количество зарегистрированных ЛП для данного МНН [4]	97	10
Наличие частной фармакопейной статьи в ГФ РФ XV изд. [3]	+ ФС.2.1.0107 «Кетопрофен»	+ ФС.2.1.0170 «Пропранолола гидрохлорид»
Использование СО примеси при контроле качества ЛС в соответствии с требованиями фармакопейной статьи	+	+

На осноании представленных данных обосновывается высокая актуальность разработки СО примеси А для кетопрофена и пропранолола. Оба ЛС обладают исключительной значимостью в современной клинической практике, что подтверждается их широким применением при лечении социально-значимых заболеваний. Кетопрофен является ключевым средством терапии болевого синдрома и воспалительных процессов различного генеза, включая остеоартрит, ревматоидный артрит, посттравматические состояния и послеоперационную реабилитацию. Пропранолол занимает центральное место в лечении сердечно-сосудистых патологий, таких как артериальная гипертензия, стабильная ишемическая болезнь сердца, наджелудочковые тахиаритмии и профилактика мигрени.

Критически важным фактором является включение обоих действующих веществ в перечень ЖНВЛП. Этот статус подчеркивает их незаменимость в системе здравоохранения и предъявляет повышенные требования к контролю качества, включая контроль примесей. Дополнительным свидетельством востребованности служит значительное количество зарегистрированных ЛП: для кетопрофена их насчитывается 97, что указывает на интенсивное производство и широкое рыночное

присутствие, в то время как для пропранолола зарегистрировано 10 препаратов, что также подтверждает его клиническую значимость.

Контроль качества данных ЛС в соответствии с требованиями ГФ РФ XV изд. невозможен без применения СО данных примесей, так как они выполняют функции связанные с проверкой пригодности аналитических систем и оценкой содержания примеси в ЛС.

1.4 Описание физико-химических и фармакологических свойств лекарственных средств группы нестероидных противовоспалительных препаратов

НПВС остаются одной из наиболее клинически значимых групп препаратов. Согласно последним исследованиям, их механизм действия связан не только с ингибированием циклооксигеназ (ЦОГ-1 и ЦОГ-2), но и с модуляцией других воспалительных путей, включая активацию NF-κB и влияние на апоптоз иммунных клеток [6].

В связи с этим НПВС занимают центральное место в фармакотерапии широкого спектра заболеваний благодаря их тройному действию: противовоспалительному, анальгезирующему и жаропонижающему. Согласно современным клиническим рекомендациям, НПВС применяются при следующих основных группах заболеваний: ревматические и воспалительные заболевания суставов (ревматоидный артрит, остеоартроз, подагрический и псориатический артрит и др.), острые и хронические болевые синдромы (послеоперационные боли, травмы, головные и зубные боли, дисменорея и др.), неврологические заболевания (радикулопатии, невралгии и тд.), лихорадочные состояния и другие [6, 30].

Современные данные подчеркивают важность физико-химических свойств НПВС для их фармакокинетики и терапевтической эффективности. Большинство

НПВС являются слабыми кислотами (pKa 3-5), что обеспечивает их концентрацию в воспаленных тканях [82].

По данным исследований, кетопрофен обладает высокой липофильностью (logP 3,1 ± 0,2), обеспечивающей тканевую проницаемость, кислотными свойствами (pKa 4,45 ± 0,05), способствующими его накоплению в очагах воспаления, хиральностью (*S*-энантиомер в 2-3 раза активнее *R*-формы в отношении ЦОГ-2) [78].

Современные фармакокинетические исследования также демонстрируют его высокую биодоступность при пероральном приеме (до 90%), связывание с белками плазмы (98-99%), преимущественно с альбумином. Tmax кетопрофена составляет 0,5-2 часа в зависимости от лекарственной формы, объем распределения – 0,1-0,2 л/кг, что указывает на сосудистое распределение. [78, 81].

Исследования последних лет также выявили новые аспекты действия кетопрофена: подавление активации NLRP3-инфламмасомы, ингибирование матриксных металлопротеиназ, антиоксидантные свойства за счет нейтрализации активных форм кислорода [39].

Эти свойства делают кетопрофен перспективным для лечения не только воспалительных заболеваний, но и нейродегенеративных патологий, что подтверждается клиническими исследованиями 2023 года [6, 30].

1.5 Описание физико-химических и фармакологических свойств лекарственных средств группы β-адреноблокаторов

β-АБ представляют собой важнейший класс ЛС, широко применяемых в кардиологической практике. По данным современных исследований, эти препараты остаются золотым стандартом лечения артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС) и сердечных аритмий. Их терапевтический эффект обусловлен

конкурентным блокированием β-АБ, что приводит к снижению влияния катехоламинов на сердечно-сосудистую систему [21].

Физико-химические свойства β-АБ определяют их фармакокинетические особенности и клиническое применение. Большинство представителей этого класса являются гидрофильными или липофильными слабыми основаниями с pKa 9-10. Эти свойства влияют на степень всасывания из желудочно-кишечного тракта (от 50% до 95%), биодоступность (от 10% до 100%), способность проникать через гематоэнцефалический барьер, метаболизм при первом прохождении через печень [34].

В свою очередь пропранолол, будучи первым представителем класса β-АБ, сохраняет свою клиническую значимость. Его характерные физико-химические свойства, такие как высокая липофильность (logP = 3,2±0,1), основные свойства (pKa = 9,5±0,2), хорошая растворимость в липидах и ограниченная в воде [34, 83], во многом определили его фармакокинетический профиль и послужили эталоном для разработки последующих препаратов класса.

Основной механизм действия пропранолола связан с неселективным блокированием β1- и β2-адренорецепторов. Благодаря этому достигается терапевтический эффект, заключающийся в снижении частоты и силы сердечных сокращений, уменьшении сердечного выброса, подавлении ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, снижении потребности миокарда в кислороде [34, 83].

1.6 Определение подходов к получению материалов стандартных образцов примесей лекарственных средств

В соответствии с ГФ РФ XV изд. СО примеси должен иметь известную структуру, стабильность при хранении, а его массовая доля основного вещества

должна составлять не менее 95%, в противном случае необходимо учитывать значение фактического содержания в материале СО. СО так же может представлять собой смесь основного веществ и примеси или смесь примесей, если примесь не может быть получена в достаточном количестве [3].

Сырье АФС, необходимое для аттестации СО АФС, чаще всего является частью производственной партии и характеризуется высокой коммерческой доступностью, низкой стоимостью и широким предложением на рынке, что позволяет выбрать наиболее пригодный для создания СО материал.

В отличие от СО АФС ситуация с СО примесей иная: исходный материал для аттестации в качестве СО обычно недоступен, что предполагает получение материала другими способами:

1. Разработка методики органического синтеза для прямого получения материала примеси. Данный подход наиболее применим в том случае, если примесь связана с процессом получения АФС, например, является побочным продуктом на одной из стадий синтеза [40, 47, 58, 71, 105].

2. Разработка методики обогащения ЛС примесью с целью получения смеси примеси и ЛС или последующего выделения примеси в чистом виде. Такой метод может применяться для примесей деградации, в том случае если реакция деградации достаточно стабильна [19, 80].

Очистка материала примеси до требуемой чистоты может включать в методы перекристаллизации или хроматографии [73]. Коммерческая доступность материалов, полученных таким образом ниже, чем у материала АФС, а их стоимость выше, чем стоимость АФС.

Однако, каждый случай индивидуален и выбор способа получения материала для аттестации в качестве СО требует всестороннего анализа.

Выбор оптимального метода получения СО примесей ЛС требует тщательной оценки характеристик производственного процесса. Ключевыми критериями

являются доступность сырья, экономическая эффективность, минимизация числа стадий синтеза и возможность достижения высокой чистоты целевого продукта.

Применительно к примеси А кетопрофена известны два основных пути образования, определяющих стратегии ее выделения.

Во-первых, данное соединение является известным синтетическим интермедиатом в классическом процессе получения кетопрофена. [18, 62, 86].

Во-вторых, альтернативным путем образования является окислительная деградация самого кетопрофена. Существует экспериментальное подтверждение возможности образования 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она в кетопрофене при окислении [42, 79].

Эти два пути предполагают два потенциально осуществимых подхода к получению примеси А кетопрофена в качестве СО:

- Прямой органический синтез
- Целенаправленная деградация АФС кетопрофена с последующим выделением примеси.

Однако, методы, основанные на окислительной деградации, имеют существенные недостатки для целей получения чистых материалов. Как отмечено в литературе, подобные процессы принципиально неселективны и трудно контролируемы, что обычно приводит к образованию сложных смесей побочных продуктов [54].

Учитывая ограничения подхода, основанного на деградации, органический синтез представляется стратегически предпочтительным путем получения материала примеси А кетопрофена. Данный метод обеспечивает лучший контроль над процессом, минимизирует образование побочных продуктов, позволяет достигать высокой чистоты и в большей степени соответствует базовым требованиям к простоте и экономической эффективности при производстве СО.

Анализ литературных данных показал, что образование примеси А пропранолола – (*RS*)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола – не происходит в условиях деградации под воздействием широкого спектра стресс-факторов: повышенной температуры, влажности, окисления, кислотного и щелочного гидролиза. Полученные данные исключают возможность образования данной примеси как продукта разложения основного вещества и указывают на нецелесообразность использования подходов целенаправленной деградации АФС для получения материала СО.

Установленный механизм формирования примеси А пропранолола связан со стадией синтеза пропранолола, а именно — конденсацией 1-нафтола с эпихлоргидрином [93].

Нарушение регламентированных параметров данного процесса способствует образованию нецелевого интермедиата — глицидилового эфира, последующий гидролиз которого приводит к накоплению (*RS*)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола в конечном продукте. Следовательно, примесь А является примесью, связанной с получением.

Выявленная природа происхождения определяет стратегическую целесообразность выбора органического синтеза в качестве основного метода получения материала СО [77].

1.7 Определение подходов к аттестации стандартных образцов примесей лекарственных средств групп нестероидных противовоспалительных препаратов и β-адреноблокаторов

Требования к аттестации СО широко представлены в национальных нормативных документах РФ.

ГФ РФ XV изд. регламентирует требования и подходы к аттестации фармакопейных стандартных образцов (ФСО), которые включают в себя определение подлинности, оценку чистоты и количественное определение [3].

В то же время в РФ аттестацию стандартных образцов утвержденного типа регламентируют Федеральный закон РФ № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений» и государственные стандарты, в частности, ГОСТ ISO Guide 35-2015 «Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации)». Данные документы устанавливают требования к процедуре и статистическим методам установления неопределенности, прослеживаемости и стабильности аттестуемой величины СО, которые могут использоваться во всех отраслях экономики [2, 15, 74, 75].

Подходы к установлению аттестуемой величины СО в соответствии с законодательством в области метрологии не предполагают разделение типов СО на СО примесей и СО АФС, поэтому основные принципы аттестации для них одинаковы.

Процесс аттестации СО требует детального планирования на ранних этапах. На предварительном этапе является целесообразным определение основных физико-химических характеристик, которые включают в себя молекулярную массу, структурную и эмпирическую формулу вещества.

Верификация структуры вещества достигается с помощью современных аналитических методов, таких как спектроскопия ЯМР, масс-спектрометрия, ИК-спектроскопия и элементный анализ [14, 31]. Оценка чистоты материала кандидата включает определение:

- Содержания воды
- ООР
- Потери массы при высушивании
- Примесей (органических и неорганических, включая сульфатную золу, тяжелые металлы и др.).

Определение массовой доли основного вещества чаще всего можно провести методом материального баланса, однако возможно использование и других методов, таких как титриметрия, кулонометрия и другие [28, 29, 33, 98].

Критически важными аспектами аттестации СО являются [16, 40, 48]:

- Исследование стабильности: определение условий и срока хранения, при которых аттестованная характеристика СО остается неизменной. Изучается влияние внешних условий и внутренних физико-химических процессов, способных изменить свойство материала.
- Оценка однородности: демонстрация постоянства аттестованной характеристики как между различными экземплярами СО, так и в пределах одного экземпляра.
- Учет погрешности и неопределенности: Погрешность аттестованного значения отражает его отклонение от истинной величины характеристики образца. Неопределенность аттестованного значения количественно характеризует разброс результатов и выражается как стандартное отклонение с заданным коэффициентом охвата или как границы интервала значений.

ВЫВОДЫ К ГЛАВЕ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ литературы подтверждает высокую актуальность и важность проблемы контроля примесей в фармацевтической отрасли, напрямую связанной с обеспечением качества, безопасности и эффективности лекарственной терапии.
2. Использование СО служит ключевым инструментом валидации аналитических методов и установления спецификаций в фармакопейных монографиях, обеспечивая необходимую точность, прослеживаемость и воспроизводимость результатов измерений.

3. Показана значительная зависимость российской фармацевтической отрасли от импорта СО примесей ЛС, что создает логистические и регуляторные риски, несмотря на государственные усилия по импортозамещению и возрождению национальной системы стандартизации

4. Показана принципиальная сложность и высокая стоимость получения материала СО примесей по сравнению с СО АФС, что требует разработки специализированных стратегий и тщательного анализа путей образования конкретной примеси для выбора оптимального метода.

5. Предложены классификационные признаки для определения приоритетности разработки СО примесей. Показана высокая приоритетность разработки СО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола. Исследованы пути образования данных примесей, а также предложены стратегии получения материалов СО.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Объекты исследования

Объектами данного диссертационного исследования служили два вещества – примесь А кетопрофена и примесь А пропранолола по классификации ГФ РФ XV изд. Структурные формулы ЛС кетопрофена и пропранолола, а также данных примесей с номерным отнесением атомов углерода представлены на рисунке 3.

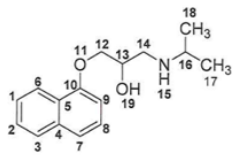
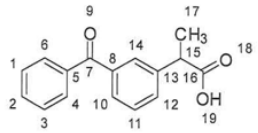
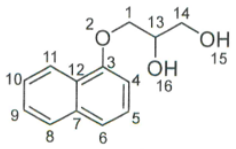
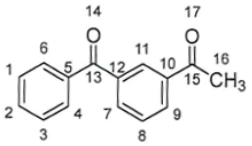
Пропранолол 	Кетопрофен 
Примесь А пропранолола 	Примесь А кетопрофена 

Рисунок 3 — Структурные формулы объектов исследования

Основная информация о объектах исследования представлена в таблице 4.

Таблица 4 — Основная информация о объектах исследования

	Примесь А кетопрофена	Примесь А пропранолола
Химическое наименование	1-(3-бензоилфенил)этан-1-он	(*RS*)-3-(Нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол
Молекулярная масса	224,25	218,25
CAS	66067-44-5	36112-95-5

2.2 Оборудование и реактивы

В данном исследовании применялись следующие материалы:

1. Реактивы:

1-Нафтол (≥98%, Sigma-Aldrich, Германия)

Гидрохлорид пиперидина (≥98%, Alfa Aesar, США)

Калия бромид (чистота для ИК-спектроскопии, Acros Organics, Бельгия)

Гексан (для ВЭЖХ, Fisher Scientific, США)

Метанол (хроматографической чистоты, ≥99,9%, Sigma-Aldrich, США)

Этилацетат (≥99,5%, Sigma-Aldrich, Германия)

Пентан (для анализа, ≥98%)

Ацетонитрил (≥99,9%, Honeywell, США)

Перекись водорода (30%, «чда», Merck, Германия)

Соляная кислота (конц. 36-38%, "хч", Sigma-Aldrich)

Натрия гидроксид (чистый, для растворов)

Дигидрофосфат калия (≥99,0%, Panreac Applichem, Испания)

Фосфорная кислота (≥99,0%, Sigma-Aldrich, Германия)

Диметилацетамид (≥99,90%, GC grade, Biochem, Франция)

Силикагель 60 (230–400 mesh, Merck, Германия)

Дейтерированный хлороформ ($CDCl_3$, 99,8% D, Sigma-Aldrich)

2. Расходные материалы:

Фильтр PTFE 0,20 мкм (политетрафторэтилен, Millipore™)

Фильтр RC 0,20 мкм (Regenerated Cellulose, Sartorius™)

Фильтр PVDF 0,45 мкм (поливинилиденфторид, Millipore™ Durapore®)

Фильтр Supor® PES (Polyethersulfone, Pall Corporation)

3. Оборудование:

Ультразвуковая ванна (Elmasonic S 30 H, Elma Schmidbauer)

Жидкостный хроматограф (Agilent Infinity 1290 LC, США)

ИК-Фурье спектрометр (Nicolet iS5, Thermo Fisher, Великобритания)

ЯМР-спектрометр (Bruker AVANCE III 400 MHz, США)

Масс-детектор (Agilent 6470, США)

Масс-детектор (Triple Quad 6500+, SCIEX, Канада)

Система водоподготовки (Milli-Q® Integral, Merck Millipore, Германия)

Муфельная печь (SNOL 8.2/1100, Литва)

Титратор Карла Фишера (Titrando 916, Metrohm, Швейцария)

Газовый хроматограф (Agilent 8860 GC с ПИД-детектором, США)

2.3 Лабораторный регламент получения материала примеси А кетопрофена

Материал примеси А кетопрофена был получен по следующей схеме реакций, представленной на рисунке 4.

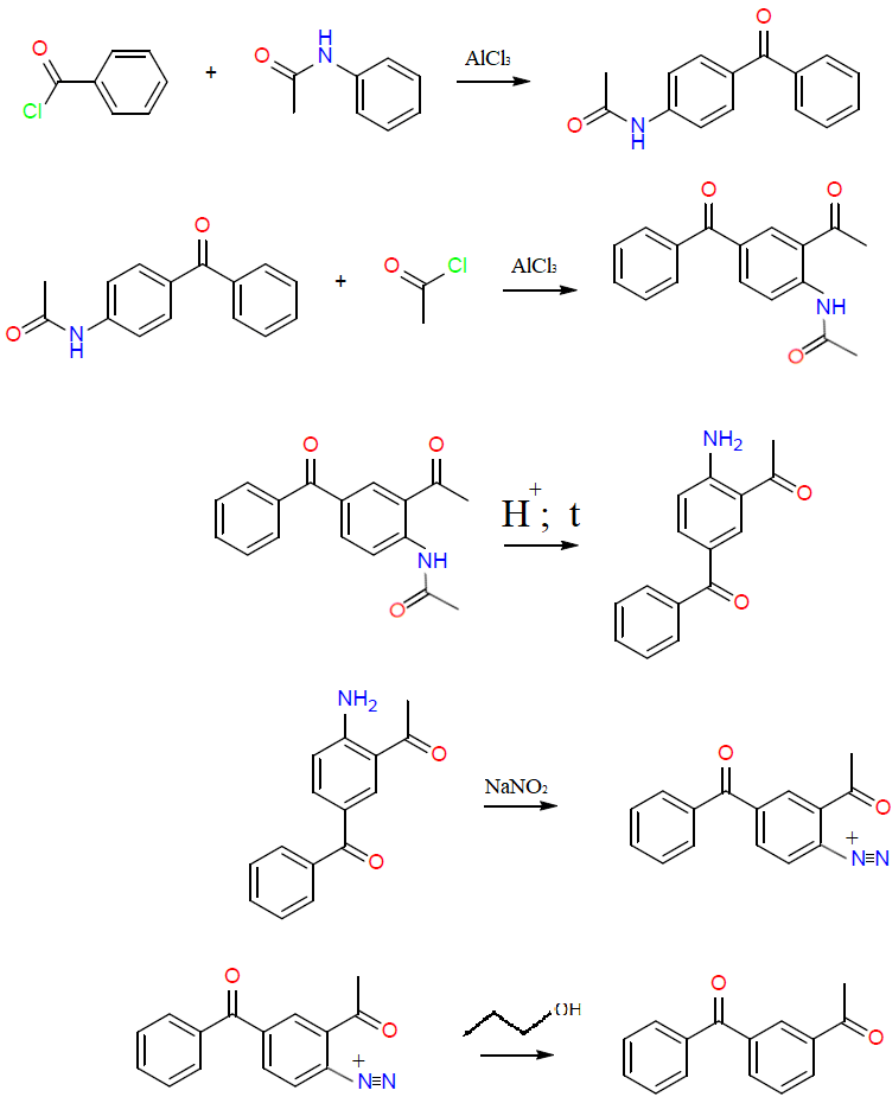


Рисунок 4 — Схема получения примеси А кетопрофена

Процесс получения примеси А кетопрофена представлен ниже, а общая технологическая схема процесса представлена в приложении А. Сокращения использованные при оформлении схемы: стадия вспомогательных работ (ВР), стадия основного процесса (ТП), контроль (КХ).

ВР1 Приготовление растворов.

ВР1.1 Приготовление 8% раствора хлористоводородной кислоты. В мерную колбу вместимостью 500 мл добавляют 300 мл воды очищенной, постепенно

прибавляют 111 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и перемешивают, доводят объем раствора до метки водой.

ВР1.2 Приготовление смеси петролейного эфира:этилацетата (1:1). В химический стакан приливают 260 мл этилацетата, 260 мл петролейного эфира и перемешивают.

ВР1.3 Приготовление смеси петролейного эфира:этилацетата (5:3). В химический стакан приливают 312,5 мл этилацетата, 187,5 мл петролейного эфира и перемешивают.

ВР1.4 Приготовление раствора натрия нитрита. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 17 г натрия нитрита, растворяют в воде и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

ВР1.5 Приготовление насыщенного раствора натрия карбоната. В химический стакан вместимостью 1000 мл помещают 400 мл воды, помещают стакан на магнитную мешалку с подогревом и нагревают до 50 ℃. В горячую воду при перемешивании порциями добавляют 300 г натрия карбоната додекогидрата, после растворения выключают нагрев и ждут выпадения осадка. Осадок отфильтровывают через бумажный фильтр «синяя лента», доводят объем раствора водой в мерной колбе вместимостью 500 мл.

ВР2. Подготовка реагентов.

ВР2.1 Взвешивание исходных реагентов. В отдельные бюксы взвешивают 15,8 г ацетанилида, 16,4 г бензоилхлорида, 17,1 алюминия хлорида безводного, 24,4 г алюминия хлорида безводного.

ТП3 Синтез 4-ацетамидобензофенона

ТП3.1 Реакция Фриделя-Крафтса ацетанилида и бензоилхлорида. В сухую 3-горлую колбу объемом 500 мл, оснащённую мешалкой, термометром и обратным холодильником, помещают 15,8 г ацетанилида и 16,4 г бензоилхлорида, прибавляют 400 мл безводного хлороформа. При охлаждении смеси до 0 °С порционно добавляют

17,1 г безводного хлорида алюминия. Затем реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 8 часов.

КХ3.2 Контроль полноты реакции ТСХ. На пластинку ТСХ (силикагель 60) наносят 5 мкл реакционной смеси (ТП3.1) элюируют смесью петролейный эфир:этилацетат (1:1), детектируют УФ 254 нм. Должно обнаруживаться одно пятно продукта реакции.

ТП3.3 Завершение реакции и очитка. Реакцию завершают вливанием реакционной смеси в 400 мл 8% раствора хлористоводородной кислоты, охлажденного до 0 °С. Органический слой отделяют, водную фазу экстрагируют 400 мл хлороформа. Объединенные органические слои промывают водой, сушат над безводным натрия сульфатом и упаривают при пониженном давлении. Остаток подвергают рекристаллизации из 250 мл смеси петролейного эфира и этилацетата (1:1). Выход продукта 4-ацетамидобензофенона – 24,4 г светло-желтых кристаллов.

ТП4 Синтез 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона.

ТП4.1 Ацилирование 4-ацетамидобензофенона ацетилхлоридом. К 24,4 г 4-ацетамидобензофенона в 100 мл этилацетата при интенсивном перемешивании порционно добавляют 24,4 г алюминия хлорида. Затем, в течении 20 минут, приливают 10 мл ацетилхлорида, поддерживая температуру не выше 25 °С. После добавления смесь перемешивают при комнатной температуре 7 часов.

ТП4.2 Завершение реакции и очистка. Реакцию останавливают добавлением 100 мл охлажденной до 0 °С хлористоводородной кислоты. Органический слой отделяют, водную фазу экстрагируют 100 мл хлороформа. Объединенные органические слои промывают водой, сушиат над безводным натрия сульфатом и упаривают при пониженном давлении. Продукт очищают рекристаллизацией из 500 мл смеси петролейного эфира и этилацетата (5:3). Выход продукта - 22,0 г 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона.

ТП5 Синтез 2-ацетил-4-бензоиланилина.

ТП5.1 Кислотный гидролиз 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона. 22,0 г 2-ацетамидо-5-бензоилацетофенона растворяют в 50 мл этанола и прибавляют 20 мл концентрированной хлористоводородной кислоты (36 %). Смесь кипятят с обратным холодильником 2 часа.

ТП5.2 Завершение реакции и очистка. После охлаждения реакционную массу по каплям добавляют к 500 мл охлажденного до 0 °С насыщенного раствора натрия карбоната, выделившийся осадок отфильтровывают. Твёрдый продукт промывают водой, сушат и перекристаллизовывают из 250 мл смеси петролейного эфира и этилацетата (1:1). Выход продукта – 18,3 г 2-ацетил-4-бензоиланилина.

ТП6 Синтез 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она.

ТП6.1 Реакция диазотирования 2-ацетил-4-бензоиланилина с заменой диазогруппы на водород. 18,3 г полученного 4-бензоил-2-ацетиланилина растворяют в смеси 50 мл ледяной уксусной кислоты и 10 мл концентрированной серной кислоты при охлаждении до 0 °С. Затем при энергичном перемешивании и поддержании температуры -5 – 0 °С постепенно добавляют 50 мл раствора натрия нитрита. Спустя 2 часа перемешивания при -5 – 0 °С, к смеси быстро приливали 50 мл пропанола-1, нагревали до 70 °С и выдерживали при этой температуре 2 ч.

ТП6.2 Завершение реакции и очистка. После нагревания смесь охлаждают до комнатной температуры и экстрагируют 200 мл этилацетата. Органический экстракт промывают водой, сушат над безводным натрия сульфатом и упаривают. Выход продукта 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она – 15,3 г.

ТП7 Очистка 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она.

ВР7.1 Приготовление подвижной фазы.

Подвижная фаза А. В мерную колбу вместимостью 2000 мл помещают 1600 мл воды для хроматографии и 2 мл муравьиной кислоты, перемешивают и доводят объем раствора до метки тем же растворителем. Фильтруют полученный раствор через PVDF фильтр с диметром пор 0,45 мкм.

Подвижная фаза Б. В мерную колбу вместимостью 2000 мл помещают 1600 мл ацетонитрила и 2 мл муравьиной кислоты, перемешивают и доводят объем раствора до метки тем же растворителем. Фильтруют полученный раствор через PVDF фильтр с диметром пор 0,45 мкм.

ВР7.2 Приготовление растворителя. Смешивают метанол и воду для хроматографии в объемном отношении 170:30.

ВР7.3 Приготовление раствора 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она. 1,2 г 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, растворяют в 15 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком и доводят объем раствор растворителем до метки. Фильтруют полученный раствор через PVDF фильтр с диметром пор 0,45 мкм.

ТП7.4 Очистка методом препаративной хроматографии.

Подробные условия препаративной хроматографии 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она представлены в таблице 5.

Таблица 5 — Условия проведения процедуры очистки 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она

Жидкостной хроматограф высокого давления	Agilent 1200 Prep System
Хроматографическая колонка	Eclipse Plus C18, 5 мкм, 30.0 x 150 (диаметр x длина, мм)
Температура колонки	40 °C
Скорость потока подвижной фазы	68 мл/мин
Режим элюирования	Градиентный
Объем пробы	5 мл
Детектор	УФ, 233 нм
Время хроматографирования	20 минут
Окно сбора целевой фракции	8,6-11 минут

Очистка проводится в градиентном режиме элюирования, в диапазоне объемного соотношения подвижной фазы Б от 32% до 52 % с последующим ступенчатым повышением объемного отношения подвижной фазы Б до 65%.

Программа градиентного элюирования представлена в таблице 6.

Таблица 6 — Программа градиентного элюирования методики очистки материала примеси А кетопрофена

Время, мин	Подвижная фаза Б, %
0 – 13	32 – 52
13	65
20	65

ТП8 Объединение и упаривание фракций. Собранные фракции объединяют и упаривают на ротационном вакуумном испарителе. Полученный материал высушивают при пониженном давлении при температуре 50 °С в течении 5 часов.

2.4 Лабораторный регламент получения материала примеси А пропранолола

Материал примеси А пропранолола был получен по следующей схеме реакций, представленной на рисунке 5.

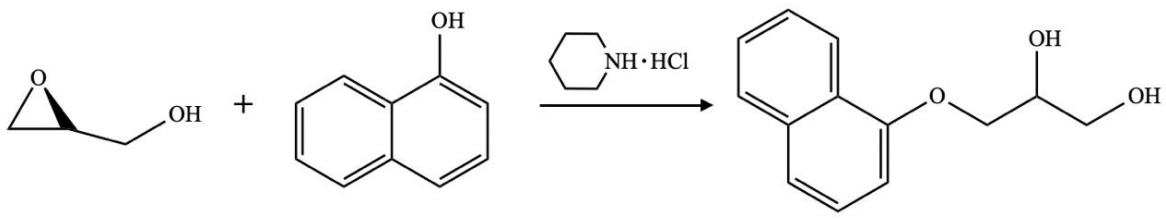


Рисунок 5 — Схема получения примеси А пропранолола

Процесс получения примеси А пропранолола представлен ниже, а общая технологическая схема процесса представлена в приложении Б.

ВР1 Приготовление растворов.

ВР1.1 Приготовление раствора натрия гидрокарбоната 5%. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5 г натрия гидрокарбоната, растворяют в 70 мл воды и доводят объем раствора до метки тем же растворителем.

ВР1.2 Приготовление смеси гексан:этилацетат (1:2). Смешивают гексан и этилацетат в объемном отношении 2250 и 4500 мл.

ВР2 Взвешивание реактивов. В сухую двухгорлую колбу отввешивают 5,76 г 1-нафтола, 3,02 г *(S)*-глицидола и 0,024 г хлорида пиперидиния.

ТП3 Синтез *(RS)*-3-(Нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола.

ТП3.1 Реакция 1-нафтола с *(S)*-глицидолом. Колбу оборудуют обратным холодильником. Реакционную смесь нагревают на масляной бане до 75 °С и выдерживали при этой температуре 5 часов при постоянном перемешивании и контроле температуры.

ТП3.2 Контроль полноты реакции ТСХ. На пластинку ТСХ (силикагель 60) наносят 5 мкл реакционной смеси (ТП3.1) элюируют смесью гексан:этилацетат (1:2), детектируют УФ 254 нм. Должно обнаруживаться пятно продукта реакции.

ТП3.3 Очистка и упаривание. По завершении реакции охлаждают реакционную массу и растворяют в 50 мл этилацетата. Органический слой дважды промывают 50 мл 5 % раствором натрия гидрокарбоната. Органический слой отделяют, высушивают над безводным натрия сульфатом и упаривают на роторном испарителе.

ТП4 Очистка колоночной хроматографией.

ТП4.1 Очистка колоночной хроматографией. Для очистки используют колонну с силикагелем (150 г, диаметр – 3 см, высота – 40 см). Элюент – смесь гексан–

этилацетат (1:2). После упаривания реакционную массу растворяют в 20 мл элюента. Наносят на колонку 4 мл раствора и элюируют при потоке элюента 15 мл в минуту.

КХ4.2 Контроль фракций ТСХ. Собирают фракции элюирования по 10 мл в пробирку во временном диапазоне от 41 до 51 минуты. Наносят 20 мкл элюата на пластинку ТСХ элюируют смесью гексан:этилацетат (1:2), детектируют УФ 254 нм. Должно обнаруживаться только одно пятно целевого продукта.

ТП5 Объединение и упаривание фракций. Полученные фракции с КХ4.2 объединяют и упаривают на роторном испарителе при пониженном давлении.

ТП6. Сушка. Полученный материал сушат под вакуумом при 50 °С в течении 5 ч.

2.5 Идентификация материала

2.5.1 Инфракрасная спектроскопия

ИК-спектроскопию для материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола проводили в соответствии с ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.1.0002 «Спектрометрия в средней инфракрасной области».

ИК-спектры зарегистрированы в диске калия бромида (1 мг образца в 300 мг калия бромида) в области от 4000 до 400 $см^{-1}$.

Идентифицированные полосы поглощения расшифрованы и описаны по признакам длины волны поглощения, ширины и интенсивности полосы. На основании этих признаков отнесены к структурным элементам молекулы в соответствии со справочными данными.

2.5.2 Масс-спектрометрия

2.5.2.1 Масс-спектрометрия материала примеси А кетопрофена

Идентификацию материала проводили методом ВЭЖХ/МС (ГФ РФ XIV изд, ОФС.1.2.1.1.0008.15 «Масс-спектрометрия»).

Масс-спектры примеси А кетопрофена были получены с использованием масс-детектора Agilent 6470 (Agilent, США) в режиме химической ионизации при атмосферном давлении.

Подробные условия проведения масс-спектрометрического анализа представлены в таблице 7. Программа градиентного элюирования представлена в таблице 8.

Таблица 7 — Условия масс-спектрометрического анализа материала примеси А кетопрофена

Жидкостной хроматограф высокого давления	Agilent Infinity II 1290
Хроматографическая колонка	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 Column, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm, (Agilent, США)
Детектор	Agilent 6470
Температура колонки	40 °C
Скорость потока подвижной фазы	0.3 мл/мин
Температура в автосемплере	15 °C
Режим элюирования	Градиентный
Объем пробы	2 мкл
Условия детектирования	
Тип ионизации	APCI
Температура интерфейса	350 °C
Режим сканирования	Полный ионный ток, сканирование ионов продуктов (*m/z* = 225 ($APCI^+$)
Диапазон сканирования	100 – 1000 *m/z*

Продолжение таблицы 7

Скорость сканирования	0,1 с
Полярность сканирования	положительная

Таблица 8 — Программа градиентного элюирования масс-спектрометрического анализа материала примеси А кетопрофена

Время, мин	Подвижная фаза Б, %
0	10
1	10
10	95
13	95
14	10
17	10

Приготовление растворов:

Подвижная фаза А. Воду для хроматографии дегазируют ультразвуком.

Подвижная фаза Б. Ацетонитрил фильтруют через мембранный фильтр PTFE 0,2 мкм (при необходимости) и дегазируют ультразвуком.

Растворитель пробы. Смешивают ацетонитрил (при необходимости фильтруют через мембранный фильтр PTFE) и воду для хроматографии в объемном соотношении 50:50.

Холостая проба: Растворитель пробы фильтруют через мембранный фильтр RC 0,2 мкм.

Около 0,005 г (точная навеска) испытуемого образца помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе пробы (допускается использование ультразвуковой ванны не более 1 мин, не допуская нагревания раствора), доводят объем раствора тем же растворителем пробы до метки и перемешивают полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр RC.

Регистрировали масс-спектры первого и второго порядка.

2.5.2.2 Масс-спектрометрия материала примеси А пропранолола

Масс-спектры примеси А пропранолола – с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1290 Infinity II (Agilent, США) с масс-детектором Triple Quad 6500+ в режиме химической ионизации при атмосферном давлении (APCI).

Подробные условия проведения масс-спектрометрического анализа представлены в таблице 9. Программа градиентного элюирования представлена в таблице 10.

Таблица 9 — Условия масс-спектрометрического анализа материала примеси А пропранолола

Жидкостной хроматограф высокого давления	Agilent Infinity II 1290
Хроматографическая колонка	ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 Column, 2.1 x 50 mm, 1.8 μm, (Agilent, США)
Детектор	Triple Quad 6500+
Температура колонки	40 °C
Скорость потока подвижной фазы	0.3 мл/мин
Температура в автосемплере	10 °C
Режим элюирования	Градиентный
Объем пробы	3 мкл
Условия детектирования	
Тип ионизации	APCI
Температура интерфейса	250 °C
Режим сканирования	Полный ионный ток, сканирование ионов продуктов (*m/z* = 219 ($APCI^+$)
Диапазон сканирования	100 – 1000 *m/z*
Скорость сканирования	0,1 с
Полярность сканирования	положительная

Таблица 10 — Программа градиентного элюирования масс-спектрометрического анализа материала примеси А пропранолола

Время, мин	Подвижная фаза Б, %
0	20
1	20
7	70
9	70
10	20
13	20

Приготовление растворов:

Подвижная фаза А. В мерную колбу вместимостью 1000 мл, содержащую небольшое количество воды для хроматографии, добавляют 1,0 мл муравьиной кислоты, доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают и дегазируют ультразвуком.

Подвижная фаза Б. Ацетонитрил фильтруют через мембранный фильтр PTFE (в случае необходимости) и дегазируют ультразвуком.

Растворитель пробы. Смешивают воду для хроматографии и ацетонитрил, предварительно отфильтрованный через мембранный фильтр (в случае необходимости), в объемном соотношении 75:25.

Холостая проба. Растворитель пробы фильтруют через мембранный фильтр RC.

Испытуемый раствор. Около 0,005 г (точная навеска) испытуемого образца помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе пробы (допускается использовать ультразвуковую баню не более 1 мин, не допуская нагревания раствора), доводят объем раствора растворителем пробы до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр RC.

Регистрировали масс-спектры первого и второго порядка.

2.5.3 Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

ЯМР-спектроскопия для материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола проводили в соответствии с ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.1.0007 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса».

ЯМР H^1 и C^{13} спектральные данные регистрировали с использованием ЯМР-спектрометра Bruker AVANCE III 400MHz на рабочей частоте 400 МГц и 100 МГц соответственно.

Растворы полученных материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола готовили в дейтерированном хлороформе.

Обработку полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения TopSpin.

2.6 Определение общих фармакопейных показателей качества

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.

2.7 Определение посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Определение посторонних примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола проводили методом ВЭЖХ с УФ детектированием в соответствии с ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.2.0005 «Высокоэффективная жидкостная хроматография».

2.7.1 Описание методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена

Приготовление растворов:

Подвижная фаза А. 2,72 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 950 мл воды для хроматографии, доводят pH раствора до значения 3,5 ± 0,05 фосфорной кислоты раствором 2 М (потенциометрически), доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр 0,2 мкм PES, дегазируют ультразвуком.

Подвижная фаза Б. Ацетонитрил фильтруют (в случае необходимости) через мембранный фильтр 0,2 мкм PTFE, дегазируют ультразвуком.

Растворитель пробы. Смешивают раствор А и раствор Б в объемном соотношении 50:50.

Холостая проба. Растворитель пробы фильтруют через мембранный фильтр или центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин в стеклянных центрифужных пробирках с завинчивающимися крышками.

Испытуемый раствор (200 мкг/мл). Около 0,02 г (точная навеска) испытуемого образца помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе пробы (допускается использовать ультразвуковую баню не более 1 мин, не допуская нагревания раствора), доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

Раствор готовят не менее чем в шести повторениях.

Для каждого испытуемого раствора готовят раствор сравнения.

Раствор сравнения (0,2 мкг/мл). 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают.

Контрольный раствор (0,1 мкг/мл). 5,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают.

Срок годности растворов – 20 ч при хранении в защищенном от света месте при температуре не выше 15 °С.

Условия хроматографирования представлены в таблице 11.

Таблица 11 — Условия хроматографирования методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена

Жидкостной хроматограф высокого давления	Agilent Infinity II 1290
Хроматографическая колонка	Zorbax Eclipse Plus C18, 4.6 мм × 150 мм, 3.5 мкм
Детектор	УФ 233 нм
Температура колонки	35 °С
Скорость потока подвижной фазы	0,9 мл/мин
Температура в автосемплере	15 °С
Режим элюирования	Градиентный
Объем пробы	10 мкл

Время удерживания пика основного вещества – около 20 минут. Программа градиентного элюирования представлена в таблице 12.

Таблица 12 — Программа градиентного элюирования методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена

Время, мин	Подвижная фаза Б, %
0	25
2	25
25	50
40	75
45	75
47	25
60	25

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

1) На хроматограмме испытуемого раствора разрешение между любыми пиками – не менее 1,5;

2) На хроматограмме раствора сравнения:

относительное стандартное отклонение значений времен удерживания основного вещества – не более 2%; площади пика – не более 5% ($n \geq 5$);

фактор асимметрии (As), рассчитанный по пику основного вещества – не менее 0,8 и не более 1,5;

3) На хроматограмме контрольного раствора:

отношение сигнал/шум (S/N), рассчитанное по пику основного вещества – не менее 10.

Рассчитывают содержание посторонних примесей методом внутренней нормализации ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.2.0001 «Хроматография»

2.7.2 Описание методики определения посторонних примесей в материале примеси А пропранолола

Приготовление растворов:

Подвижная фаза А. 3,40 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 950 мл воды для хроматографии, доводят pH раствора до значения 3,4 ± 0,05 фосфорной кислотой разведённой 10% (потенциометрически), доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр PES, дегазируют ультразвуком.

Подвижная фаза Б. Ацетонитрил фильтруют (в случае необходимости) через мембранный фильтр PTFE, дегазируют ультразвуком.

Растворитель пробы. Смешивают воду для хроматографии и ацетонитрил, предварительно отфильтрованный через мембранный фильтр (в случае необходимости), в объемном соотношении 75:25.

Холостая проба. Растворитель пробы фильтруют через мембранный фильтр или центрифугируют при 4000 об/мин в течение 10 мин в стеклянных центрифужных пробирках с завинчивающимися крышками.

Испытуемый раствор пропранолола примеси А (100 мкг/мл). Около 0,05 г (точная навеска) испытуемого образца помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе пробы (допускается использовать ультразвуковую баню не более 1 мин, не допуская нагревания раствора), доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр или центрифугируют при 4000 об/мин в течение 1 мин в стеклянных центрифужных пробирках с завинчивающимися крышками (исходный испытуемый раствор).

1,0 мл исходного испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают.

Раствор готовят не менее чем в шести повторениях.

Для каждого испытуемого раствора готовят раствор сравнения.

Раствор сравнения (0,1 мкг/мл). 1,0 мл испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают. 1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают.

Контрольный раствор (0,05 мкг/мл). 5,0 мл раствора сравнения помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора растворителем пробы до метки, перемешивают.

Срок годности растворов - 12 ч при хранении в защищенном от света месте при температуре не выше 20 °С.

Условия хроматографирования представлены в таблице 13.

Таблица 13 — Условия хроматографирования методики определения посторонних примесей в материале примеси А пропранолола

Жидкостной хроматограф высокого давления	Agilent Infinity II 1290
Хроматографическая колонка	Agilent Poroshell 120 EC-C18 , 4,6 × 150 мм, 3,5 мкм
Детектор	УФ 230 нм
Температура колонки	45 °С
Скорость потока подвижной фазы	1,0 мл/мин
Температура в автосемплере	15 °С
Режим элюирования	Градиентный
Объем пробы	10 мкл

Время удерживания пика основного вещества – около 9 минут. Программа градиентного элюирования представлена в таблице 14.

Таблица 14 — Программа градиентного элюирования методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена

Время, мин	Подвижная фаза Б, %
0	25
2	25
37	60
42	60
44	25
55	25

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

1) На хроматограмме испытуемого раствора разрешение между любыми пиками – не менее 1,5;

2) На хроматограмме раствора сравнения:

относительное стандартное отклонение значений времен удерживания основного вещества – не более 2%; площади пика – не более 5% ($n \geq 5$);

фактор асимметрии (As), рассчитанный по пику основного вещества – не менее 0,8 и не более 1,5;

3) На хроматограмме контрольного раствора:

отношение сигнал/шум (S/N), рассчитанное по пику основного вещества – не менее 10.

Рассчитывают содержание посторонних примесей методом внутренней нормализации ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.2.0001 «Хроматография».

2.7.3 Валидация методик определения посторонних примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

2.7.3.1 Специфичность

Специфичность методики – способность методики оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.

Для оценки специфичности методики был применен метод деградации материалов примесей с целью накопления в них потенциальных примесей.

Условия деградации включали в себя температурную деградацию, кислотный и щелочной гидролиз, окислительные условия. Подробные условия деградации описаны в таблице 15.

Таблица 15 — Условия деградации материала для оценки специфичности методик определения посторонних примесей

Метод деградации	Условия	Время
Термическая (80°C)	1 мг материала	24 ч
Окисление	1 мг материала в 1 мл 3% H_2O_2	24 ч
Кислотный гидролиз	1 мг материала в 1 мл 0.1 М HCl	1 ч
Щелочной гидролиз	1 мг материала в 1 мл 10 мл 0.1 М NaOH	1 ч

Так как материалы примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола нерастворимы в воде, хранению подвергали полученные суспензии. По окончанию эксперимента деградации растворы упаривали в вакуумном сушильном шкафу. Пробы кислотного и щелочного гидролиза перед упариванием нейтрализовали

добавлением 1 мл 0.1 М раствора натрия гидроксида или 0.1 М раствора соляной кислоты соответственно.

Далее полученные остатки растворяли в растворителях, указанных в соответствующих методиках до получения концентрации 0,2 мг/мл.

2.7.3.2 Линейность и аналитический диапазон

Испытуемый раствор кетопрофена примеси А (200 мкг/мл) готовят так как указано в методике п.2.7.1.

Испытуемый раствор пропранолола примеси А (100 мкг/мл) готовят так как указано в методике п.2.7.2.

Методика приготовления калибровочных растворов представлена в таблице 16.

Таблица 16 — Методика приготовления калибровочных растворов

Моделируемая концентрация примеси в субстанции, %	Объем испытуемого раствора, мл	Объем колбы, мл	Концентрация калибровочного раствора, Кетопрофен примесь А, мкг/мл	Концентрация калибровочного раствора, Пропранолол примесь А, мкг/мл
0,05 (ПКО)	0,05	100	0,1	0,05
0,50	0,5	100	1	0,5
1,00	1,0	100	2	1
1,50	1,5	100	3	1,5
2,00	2,0	100	4	2
2,40	2,4	100	4,8	2,4

В результате анализа полученных хроматограмм строят калибровочный график в координатах моделируемая концентрация примеси в субстанции, %/площадь пика. Рассчитывают значения коэффициента наклона и свободного члена. Рассчитывают коэффициент корреляции r.

2.7.3.3 Предел количественного определения

Для оценки использовали контрольный раствор в соответствии с методикой. Концентрация материала примеси в контрольном растворе в соответствии с методикой составила 0,1 мкг/мл для примеси А кетопрофена составляет и 0,05 мкг/мл для примеси А пропранолола, что соответствует содержанию 0,05 % неидентифицированной примеси в материале.

2.7.3.4 Правильность и прецизионность

Готовили серию калибровочных растворов соответствующих уровней согласно таблице 16 раздела 2.7.3.2 Линейность и аналитический диапазон. Данные растворы являлись матричными и к ним добавляли соответствующее количество испытуемого раствора. Объем добавки указан в таблицах 17 - 19.

Таблица 17 — Объем добавки испытуемого раствора к матричному раствору на уровне ПКО

Номер добавки	Объем матричного раствора, мл	Объем добавки, мл	Финальная концентрация, Кетопрофен примесь А, мкг/мл	Финальная концентрация, Пропранолол примесь А, мкг/мл
1	100	0,05	0,200	0,100
2		0,1	0,300	0,150
3		0,15	0,399	0,200

Таблица 18 — Объем добавки испытуемого раствора к матричному раствору на уровне 100 %

Номер добавки	Объем матричного раствора, мл	Объем добавки, мл	Финальная концентрация, Кетопрофен примесь А, мкг/мл	Финальная концентрация, Пропранолол примесь А, мкг/мл
1	100	0,05	4,098	2,049
2		0,1	4,196	2,098
3		0,15	4,294	2,147

Таблица 19 — Объем добавки испытуемого раствора к матричному раствору на уровне 120 %

Номер добавки	Объем матричного раствора, мл	Объем добавки, мл	Финальная концентрация, Кетопрофен примесь А, мкг/мл	Финальная концентрация, Пропранолол примесь А, мкг/мл
1	100	0,05	4,898	2,449
2		0,1	4,995	2,498
3		0,15	5,092	2,546

Хроматографируют полученные растворы в условиях, описанных в соответствующих методиках.

Рассчитывают концентрации растворов и степень обнаружения используя для расчета установленную в разделе 2.7.3.2 Линейность и аналитический диапазон калибровочную зависимость.

2.8 Методика определение остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии

Приготовление растворов:

Приготовление холостой пробы. В герметичную емкость из затемненного стекла объемом 20 мл вносят 5 мл очищенного диметилсульфоксида. Сосуд плотно закрывают специальной крышкой с обкаткой.

Методика получения стандартного раствора.

В мерную колбу вместимостью 50 мл добавляют 5 мл диметилсульфоксида, точные навески гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата (около 0,13 г).

Объем доводят до метки тем же растворителем, тщательно перемешивают (первичный стандартный раствор).

Из полученного раствора отбирают 1 мл, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки диметилсульфоксидом. 5 мл этого раствора помещают в темные стеклянные флаконы по 20 мл, герметично укупоривают.

Подготовка контрольного раствора.

1 мл стандартного раствора переносят в мерную колбу на 10 мл диметилсульфоксидом до метки. 5 мл полученной смеси переносят в темный стеклянный флакон на 20 мл и герметично закрывают.

Подготовка анализируемого образца:

В затемненную стеклянную пробирку объемом 20 мл вносят точную навеску материала (около 50 мг) исследуемого вещества. Добавляют 5 мл

диметилсульфоксида, после чего герметично закрывают крышкой с обкаткой. Для обеспечения достоверности результатов готовят минимум три параллельных пробы.

Условия хранения:

Все приготовленные растворы сохраняют стабильность в течение 24 часов при комнатной температуре в защищенном от света месте.

Параметры хроматографической системы представлены в таблице 20.

Таблица 20 — Параметры хроматографической системы

Оборудование:
Газовый хроматограф Agilent 8890 с пламенно-ионизационным детектором. Автоматизированная система пробоподготовки для анализа паровой фазы (Headspace)
Хроматографические условия:
Капиллярная колонка с фазами 6% цианопропилфенил/94% диметилполисилоксан
Геометрические параметры: длина 60 м, внутренний диаметр 0,32 мм, толщина слоя 1,8 мкм
Газ-носитель: гелий с постоянной линейной скоростью 30 см/с
Температурные режимы:
Инжектор: 180°C
Детектор: 250°C
Градиентный нагрев колонки: начальная температура 40°C (6 мин), затем нагрев 10°C/мин до 160°C, далее 35°C/мин до 230°C с выдержкой 2 мин
Параметры газовых потоков:
Охлаждение септы: 3 мл/мин
Коэффициент деления потока: 1:10
Дополнительные газы: гелий (30 мл/мин), водород (40 мл/мин), воздух (400 мл/мин)
Настройки Headspace:
Температура термостата: 80°C
Температура дозирующего устройства: 85°C
Время термостатирования: 30 мин
Скорость перемешивания: 320 об/мин
Объем вводимой пробы: 1 мл
Скорость инжекции: 500 мкл/с (30 мл/мин)

Порядок хроматографирования проб представлен в таблице 21.

Таблица 21 — Порядок хроматографирования проб при определении ООР

№ п/п	Наименование раствора	Количество вводов	Примечание
-	Колонку кондиционируют до установления стабильной базовой линии	-	-
1	Холостая проба	Не менее 2	Для кондиционирования хроматографической системы
2	Контрольный раствор	1	Для проверки пригодности хроматографической системы
3	Стандартный раствор 1	Не менее 5	Для проверки пригодности системы и определения ООР
4	Стандартный раствор 2	Не менее 2	Для определения ООР в образце
5	Холостая проба	Не менее 1	Для контроля массопереноса

Пригодность хроматографической системы:

1) на хроматограмме стандартного раствора:

Разрешение между пиками гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата – не менее 2;

относительное стандартное отклонение значений времен удерживания пиков гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата – не более 2%; площадей пиков гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата – не более 10% ($n \geq 5$);

Эффективность хроматографической колонки (N), определяемая по пику гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата должна составлять минимум 10000 теоретических тарелок;

Коэффициент асимметрии (As) пика гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата не должен превышать 1,5;

Для контрольного раствора:

Соотношение сигнал/шум (S/N) для пика гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата должно быть не менее 10.

Расчет содержания ООР:

Содержание гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата в испытуемом образце в процентах вычисляют по формуле:

$$X_{\text{а}} = \frac{(S_{\text{а}} \times a_o \times P_{\text{а}})}{(S_0 \times a \times 500)}$$

Где

S_0 – площадь пика гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата на хроматограмме испытуемого раствора;

a_0 – масса навески гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата (в граммах);

P – массовая доля основного вещества в гексане, метаноле, пентане, ацетонитриле, этилацетате (%);

S_0 – средняя площадь пика гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата на хроматограмме стандартного раствора;

а – масса навески анализируемого образца (в граммах).

Проводят не менее 6 измерений.

2.8.1 Валидация методики

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.

2.8.1.1 Специфичность

Для оценки специфичности методики должно быть доказано, что при использовании методики сопутствующие компоненты пробы не виляют на результаты анализа.

Для этого хроматографируют стандартный раствор и раствор холостой пробы. На хроматограмме холостой пробы сигналы в области ООР стандартного раствора должны отсутствовать.

Для оценки специфичности приводят данные о разрешении между пиками ООР на хроматограмме стандартного раствора.

2.8.1.2 Предел количественного определения

Предел количественного определения определяли путем анализа модельных растворов, содержащих точное количество ООР на пределе чувствительности метода. Для оценки предела количественного определения был приготовлен модельный раствор. На хроматограмме модельного раствора соотношение сигнал/шум для пиков

гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата должно составлять не менее 10.

Концентрация ООР в модельном растворе составляет 5,0 мкг/мл для гексана, этилацетат, пентана, и 1,0 мкг/мл для метанола что соответствует содержанию 0,05 % и 0,01 % примеси в материале.

2.8.1.3 Аналитическая область и линейность

Линейность и аналитическую область методики устанавливают на основании измерений, соответствующих линейной модели в диапазоне от ПКО до 120 % содержания нормируемой примеси.

Для подтверждения линейности методики были приготовлены модельные растворы с точной концентрацией каждого органического растворителя.

Приготовление растворов:

Исходный стандартный раствор. 10 мг (точная навеска) каждого остаточного органического растворителя помещают в мерную колбу, вместимостью 10 мл, доводят объем раствора диметилсульфоксидом до метки и обрабатывают ультразвуком.

Рабочий стандартный раствор. 1 мл исходного стандартного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора диметилсульфоксидом до метки и перемешивают.

Исходный стандартный раствор (ПКО). 25 мг (точная навеска) гексана, ацетонитрила, этилацетата, пентана и 5 мг метанола помещают в мерную колбу, вместимостью 25 мл, доводят объем раствора диметилсульфоксидом до метки и обрабатывают ультразвуком.

Рабочий стандартный раствор (ПКО). 1 мл исходного стандартного раствора (ПКО) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объем раствора диметилсульфоксидом до метки.

Концентрации модельных растворов представлены в таблице 22 и 23.

Таблица 22 — Концентрация модельных растворов для оценки линейности и аналитической области

Калибровочный уровень, %	ООР	Объем рабочего стандартного раствора, мкл	Объем диметилсульфоксида, мкл	Концентрация (мкг/мл)
0,6	Метанол	3000	2000	60
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			
0,5	Метанол	2500	2500	50
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			
0,3	Метанол	1500	3500	30
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			
0,2	Метанол	1000	4000	20
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			
0,1	Метанол	500	4500	10
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			

Таблица 23 — Концентрация модельных растворов для оценки линейности и аналитической области на уровне ПКО

Калибровочный уровень, %	Примесь	Объем рабочего стандартного раствора (ПКО), мкл	Объем диметилсульфоксида, мкл	Концентрация (мкг/мл)
0,01 (ПКО)	Метанол	250	4750	1
0,05 (ПКО)	Ацетонитрил			5
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			

По результатам анализа модельных растворов строят калибровочную кривую в координатах содержание примеси/площадь пика. Приводят значение коэффициента наклона и свободного члена. Рассчитывают коэффициент корреляции r.

2.8.1.4 Правильность и прецизионность

Для оценки правильности и прецизионности в течении двух дней были приготовлены и проанализированы модельные растворы 3 уровней концентрации в 3 повторениях. Рабочий стандартный раствор и рабочий стандартный раствор (ПКО) приготовлен как указано в 2.8.1.3 Аналитическая область и линейность.

Расчет концентрации каждой примеси в модельных растворах проводят по калибровочной кривой, полученной в исследовании линейности.

Концентрации модельных растворов представлены в таблице 24 и 25.

Таблица 24 — Концентрация модельных растворов для оценки правильности и прецизионности методики

Калибровочный уровень, %	ООР	Объем рабочего стандартного раствора, мкл	Объем диметилсульфоксида, мкл	Концентрация, мкг/мл
0,6	Метанол	3000	2000	60
	Ацетонитрил			
0,6	Гексан	3000	2000	60
	Этилацетат			
	Пентан			
0,5	Метанол	2500	2500	50
	Ацетонитрил			
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			

Таблица 25 — Концентрация модельных растворов для оценки правильности и прецизионности методики на уровне ПКО

0,01 (ПКО)	Метанол	250	4750	1
0,05 (ПКО)	Ацетонитрил			5
	Гексан			
	Этилацетат			
	Пентан			

Методика признается правильной, если степень обнаружения примеси находится в диапазоне +/- 2 %. Прецизионность методики доказывается по величине относительного стандартного отклонения результатов анализа.

2.9 Аттестация массовой доли основного вещества методом массового баланса

Для аттестации массовой доли основного вещества в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола был использован метод баланса масс, при котором количественное содержание основного вещества в материале

устанавливается путем вычитания содержания суммы посторонних примесей, ООР, сульфатной золы и воды. В том случае, если какой-либо из перечисленных показателей составляет менее 0,05%, то такой показатель принимается незначимым и не учитывается в расчетах.

В общем случае формула для расчета массовой доли основного вещества выглядит так:

$$X, \% = 100 - x_{\text{РП}} - x_{\text{ООР}} - x_{\text{СЗ}} - x_{\text{В}}$$

Где,

$x_{РП}$ – сумма посторонних примесей, %

$x_{ООР}$ – сумма ООР, %

$x_{СЗ}$ – сульфатная зола, %

$x_{В}$ – вода, %

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Результаты апробации лабораторного регламента получения материала примеси А кетопрофена

Для получения материала данной примеси в целях аттестации СО был предложен и апробирован лабораторный регламент органического синтеза и очистки с использованием коммерчески доступного сырья.

Схема синтеза 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она выбрана на основе литературных данных о синтезе кетопрофена и его производных. Примесь А представляет собой интермедиат синтеза кетопрофена.

В результате выполнения разработанного лабораторного регламента получения материала примеси А кетопрофена был составлен материальный баланс данного процесса, представленный в приложении А. Для технологических стадий синтеза рассчитан выход продукта. Информация о выходе продукта при получении примеси А кетопрофена представлена в таблице 26.

Таблица 26 — Выход продуктов реакции в лабораторном регламенте получения примеси А кетопрофена

Номер стадии	Исходный компонент, (наименование / масса, г)	Продукт, (наименование / масса, г)	Выход, %
ТП3	Ацетанилид / 16,4	4-ацетамидобензофенон / 23,5	87,3
ТП4	4-ацетамидобензофенон / 23,5	2-ацетамидо-5-бензоилацетофенон / 22,0	79,6

Продолжение таблицы 26

ТП5	2-ацетамидо-5-бензоилацетофенон / 22,0	2-ацетил-4-бензоиланилин / 18,3	98
ТП6	2-ацетил-4-бензоиланилин / 18,3	1-(3-бензоилфенил)этан-1-он / 15,3	89

3.1.1 Очистка материала примеси А кетопрофена

Препаративная стадия очистки примеси А кетопрофена позволила повысить чистоту материала примеси с 90,45% (ТП7) до 99,86 % (ТП8). Хроматограмма препаративной стадии очистки материала примеси А кетопрофена представлены на рисунке 6 (синяя линия – программный градиент; зеленая линия – задержка элюции градиента, зелена зона – окно сбора фракции целевого компонента). Хроматограммы испытуемого раствора при определении чистоты материала до и после очистки представлены на рисунках 7–8.

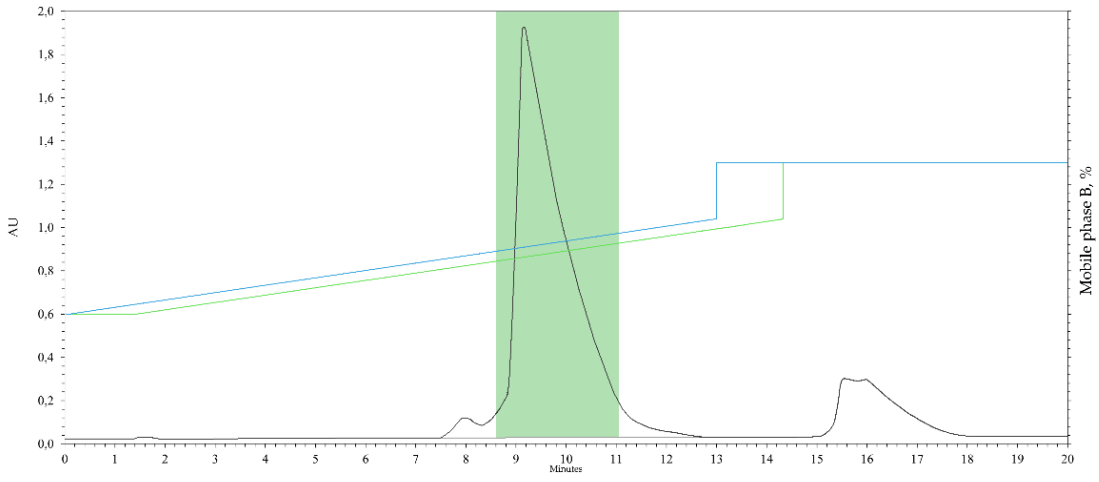


Рисунок 6 — Препаративная стадия очистки материала примеси А кетопрофена

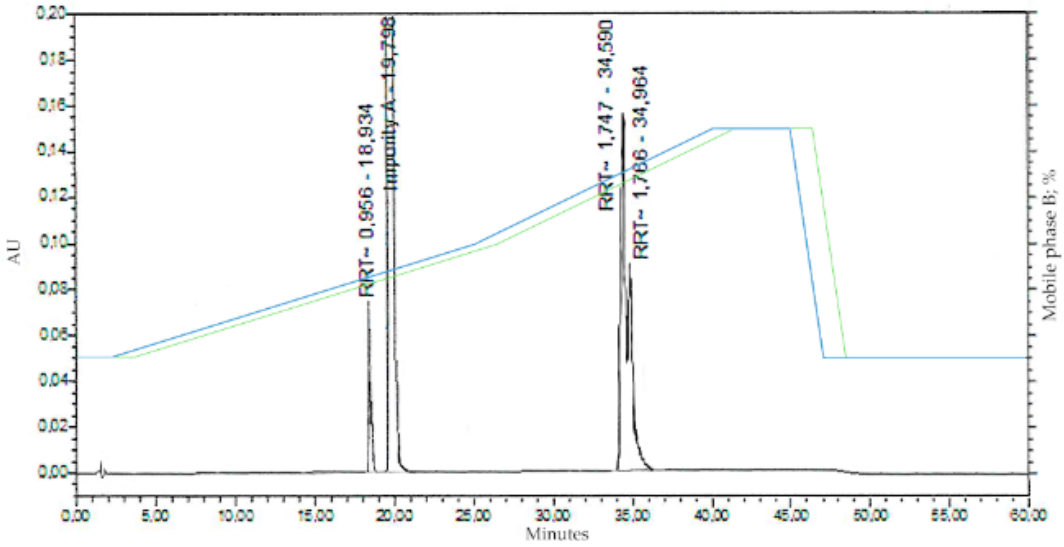


Рисунок 7 — Хроматограмма испытуемого раствора материала примеси А кетопрофена при определении органических примесей до стадии препаративной хроматографии

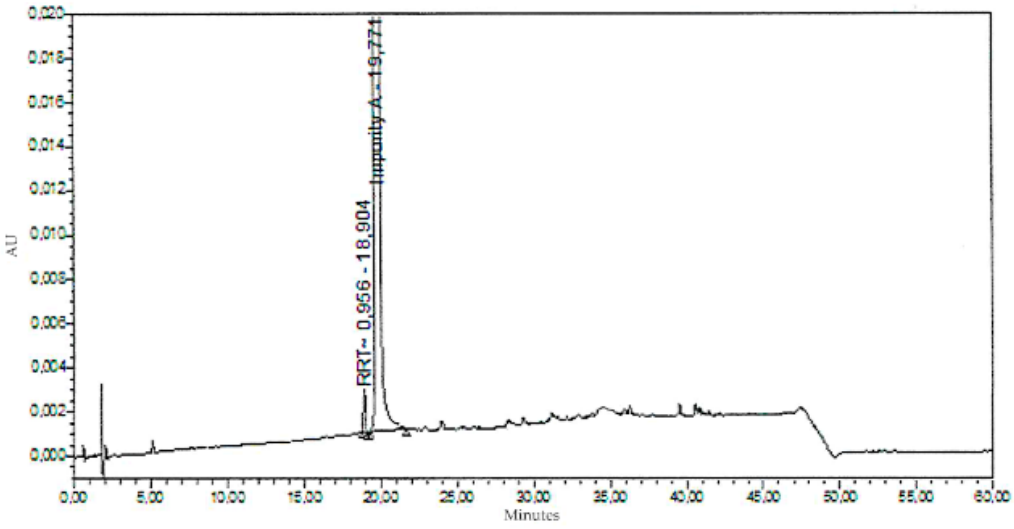


Рисунок 8 — Хроматограмма испытуемого раствора материала примеси А кетопрофена при определении органических примесей после стадии препаративной хроматографии

В результате применения разработанного лабораторного регламента получения материала, было получено 10,65 г материала примеси А кетопрофена для дальнейшей стандартизации.

3.2 Результаты апробации лабораторного регламента получения материала примеси А пропранолола

При разработке способа получения примеси А пропранолола учитывались данные о механизме её образования. Как было указано в литературном обзоре, данный диоловый побочный продукт не образуется при принудительном разложении пропранолола, то есть не является продуктом деградации. Вероятным путём образования является отклонение в технологии синтеза: раскрытие эпоксидного кольца эпихлоргидрина с чрезмерным гидролизом до диола. На основе этой гипотезы выбран синтетический подход: взаимодействие 1-нафтола с (*S*)-глицидолом.

В результате выполнения разработанного лабораторного регламента получения примеси А пропранолола был составлен материальный баланс процесса, представленный в приложении Б. Для технологических стадий синтеза рассчитан выход продукта. Информация о выходе продукта при получении примеси А пропранолола представлена в таблице 27.

Таблица 27 — Выход продуктов реакции в лабораторном регламенте получения примеси А кетопрофена

Номер стадии	Исходный компонент, (наименование/ масса, г)	Продукт, г	Выход, %
ТП3	1-нафтол / 5,76	(*RS*)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол / 7,12	81,6

В результате применения разработанного лабораторного регламента получения материала, было получено 7,12 г материала примеси А пропранолола для дальнейшей стандартизации.

3.3 Идентификация материала

Аттестация СО в соответствии с законодательством в области метрологии требует применения первичных методов идентификации материала, которые позволяют однозначно установить структуру полученного материала. Для идентификации материала полученных примесей были выбраны первичные, несравнительные методы анализа, а именно ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, ЯМР спектроскопия. Критерии приемлемости результатов исследования по результатам проведения данных исследований приведены в таблице 28.

Таблица 28 —Критерии приемлемости результатов идентификации материала

Метод исследования	Критерий приемлемости
ИК-спектроскопия	Совпадение основных характеристических полос поглощения со справочными данными о спектральных свойствах функциональных групп.
ЯМР-спектроскопия	Соответствие химических сдвигов, мультиплетности и интегральных интенсивностей сигналов теоретически рассчитанным для данного вещества.
Масс-спектрометрия	Совпадение молекулярного иона (M^+ или $[M+H]^+$) и ключевых фрагментных пиков с теоретически рассчитанной.

3.3.1 Идентификация материала примеси А кетопрофена методом инфракрасной спектроскопии

Для расшифровки ИК-спектра примеси А кетопрофена, представленном на рисунке 9 были охарактеризованы полосы поглощений материала в диапазоне от 400 до 4000 см$^{-1}$. Сигналы охарактеризованы по положению и интенсивности, на основании полученных данных, а также литературных и справочных сведений полосы были отнесены к ключевым функциональным группам.

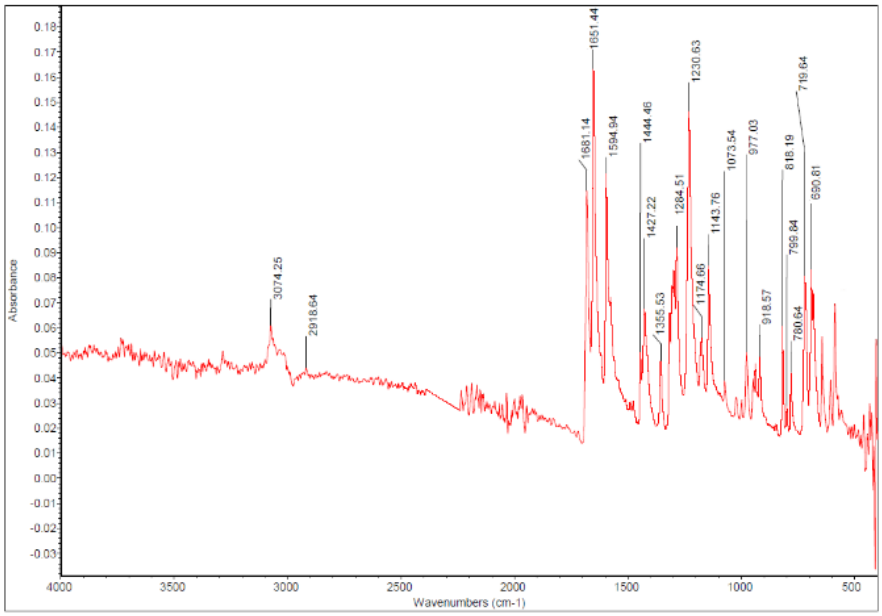


Рисунок 9 — ИК-спектр полученного материала примеси А кетопрофена

Полосы в области 3073 относятся к валентным колебаниям С-Н ароматических колец, в области 2918 см$^{-1}$ полосы поглощения обусловлены валентными колебаниями С-Н связей алкановых групп. В области 1684 и 1655 см-1 наблюдаются две полосы валентных колебаний С=О связей двух карбонильных групп, причем ацетильная полоса предположительно проявляется в более высокочастотной (коротковолновой)

области. Деформационные колебания С-С связей ароматических фрагментов наблюдаются в области 1595 см-1. В области 1427 см-1 наблюдается полоса антисимметричных деформационных колебаний метиленовой группы; соответствующие симметричные колебания проявляются в виде полосы при 1356 см-1. Валентные антисимметричные и симметричные колебания связей групп С-С(=О)-С проявляются в интервалах 1304-1233 см-1 и 1175-1144 см-1 соответственно. Внеплоскостные деформационные колебания С-Н связей проявляются в виде полос средней интенсивности в области 820 см-1. Наличие полос поглощения связей ароматического кольца в области 723 - 691 см-1 обусловлена наличием деформационных колебаний С-С связей.

Частоты основных полос поглощения материала примеси А кетопрофена с отнесением к функциональным группам представлены в таблице 29.

Таблица 29 — Частоты основных полос поглощения материала примеси А кетопрофена с отнесением к функциональным группам

Максимум поглощения, нм	Форма колебаний	Отнесение
3074-2818	ν С-Н	-CH3, -CHAr
1681	ν С=О	С=О
1651	ν С=О	С=О
1595	σ С-С	-С-CAr
1427	σ_{as}C-H	-CH3
1356	σ_{s}C-H	
1304-1233	ν_{as}C-CO-C	-С-CO-С
1175-1144	ν_{s} C-CO-C	
820	ω С-Н	-С-HAr
723 - 691	σ С-С	-С-CAr
Примечание: ν – валентные колебания, σ – деформационные, ω - внеплоскостные деформационные колебания $_{as}$ – антисимметричные, $_{s}$ – симметричные		

Таким образом, положение основных полос поглощения полученного ИК-спектра не противоречит химической структуре примеси А кетопрофена (1-(3-бензоилфенил)этан-1-она).

3.3.2 Идентификация материала примеси А пропранолола методом инфракрасной спектроскопии

Для расшифровки ИК-спектра примеси А пропранолола, представленном на рисунке 10 были охарактеризованы полосы поглощений материала в диапазоне от 400 до 4000 $см^{-1}$. Сигналы охарактеризованы по положению и интенсивности, на основании полученных данных, а также литературных и справочных сведений полосы были отнесены к ключевым функциональным группам.

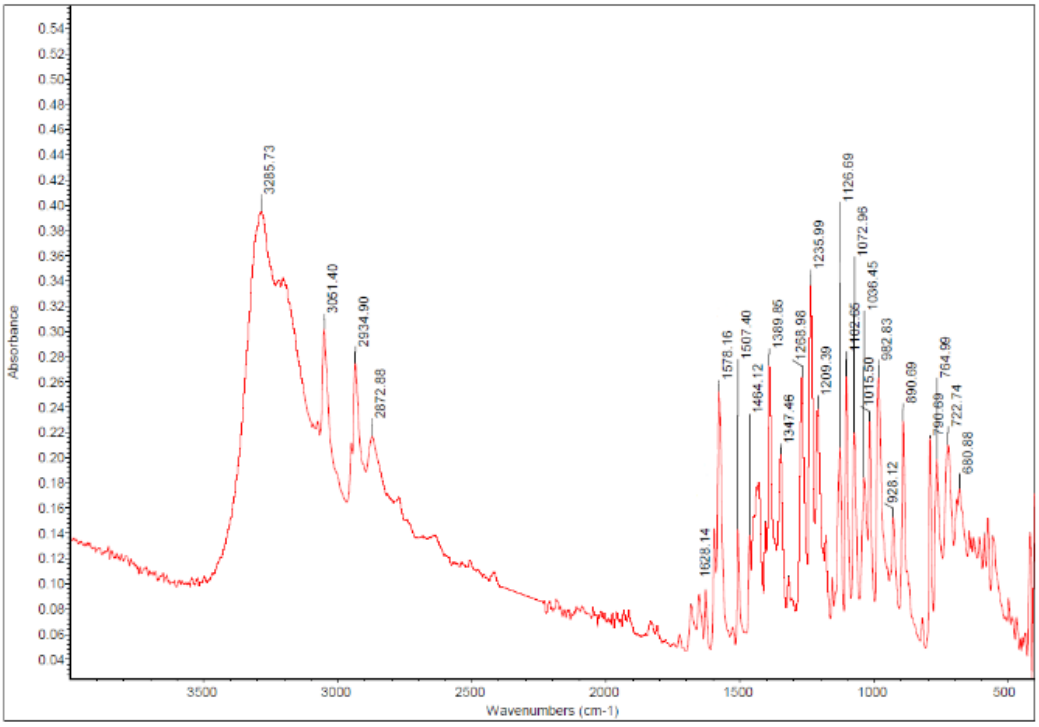


Рисунок 10 — ИК-спектр полученного материала примеси А пропранолола

Широкая полоса в области 3293 см⁻¹ относится к валентным колебаниям связей О-Н гидроксильных групп. Полосы в области 3051 относятся к валентным колебаниям С-Н ароматических колец, в области 2935 и 2873 $см^{-1}$ полосы поглощения обусловлены валентными колебаниями С-Н связей алкановых групп. Наличие полос поглощения в области 1630 и 1582 см⁻¹ свидетельствует о наличии валентных колебаний С=С связей нафталинового фрагмента. Деформационные колебания CH_2 связей метиленовых групп наблюдаются в области 1508–1466 см⁻¹. Деформационные колебания гидроксильных групп наблюдаются в области 1393–1350 см⁻¹. Валентные асимметричные и симметричные колебания связей С-О наблюдаются в областях 1271–1213 см⁻¹ и 1126–1105 см⁻¹ соответственно. Деформационные внеплоскостные колебания С-Н связей нафталинового фрагмента наблюдаются в области 893–768 см⁻¹. Внеплоскостные колебания гидроксильных групп наблюдаются в области 893 см⁻¹.

Частоты основных полос поглощения материала примеси А кетопрофена с отнесением к функциональным группам представлены в таблице 30.

Таблица 30 — Частоты основных полос поглощения материала примеси А пропранолола с отнесением к функциональным группам

Максимум поглощения, нм	Форма колебаний	Отнесение
3285	ν C-OH	-C-OH
3051–2872	ν C-H	$-CH_{аром}$, $-CH_2$, -CH
1628, 1578	ν C-C	$C-C_{аром}$
1507-1464	σ $C-H_2$	$-CH_2$
1389-1347	σ O-H	-OH
1268-1209	νas C-O	-C-OH
1127-1036	νs C-O	-C-O-C
890	ω OH	-OH
791-765	ω C-C	$-C-H_{аром}$
Примечание: ν – валентные колебания, σ – деформационные, ω - внеплоскостные деформационные колебания $_{as}$ – антисимметричные, $_{s}$ – симметричные		

Таким образом, положение основных полос поглощения, полученного ИК-спектра не противоречит химической структуре примеси А пропранолола ((*RS*)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола).

3.3.3 Идентификация материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса

Полученные ЯМР-спектры оценивали по положению, интегральной интенсивности и мультиплетности. На основе полученных данных производили отнесение сигналов к структуре соединений.

В спектре ЯМР1Н образцов материала примеси А пропранолола наблюдается сигнал двух протонов гидроксильных групп ОН15 и ОН16 в виде синглета, которому соответствует химический сдвиг в области 3,37 м.д. Сигнал двух протонов метиленовой группы при С14 наблюдается в виде двух дублетов дублетов в области 3,82 и 3,89 м.д. с константами спин-спинового взаимодействия (КССВ) J=11,5 6,0 Гц и J=11,5; 3,5 Гц, соответственно. В области 4,06 – 4,16 м.д. наблюдается сигнал двух протонов метиленовой группы при С1 в виде сложного мультиплета. Мультиплет, наблюдаемый в области 4,17 – 4,28 м.д. относится к протону при С13. Сигнал протона при С4 наблюдается в виде дублета в области 6,74 м.д. с КССВ J=7,6Гц. Триплет, наблюдаемый в области 7,32 м.д относится к сигналу протона при С5 с КССВ J=7,9Гц. Ароматические протоны при С6, С9, С10 наблюдаются в виде мультиплета в области 7,39 – 7,51 м.д. Сигнал протона при С11 наблюдается в области 8,16 – 8,27 в виде мультиплета.

Спектр ЯМР H^1 материала примеси А пропранолола представлен на рисунке 11.

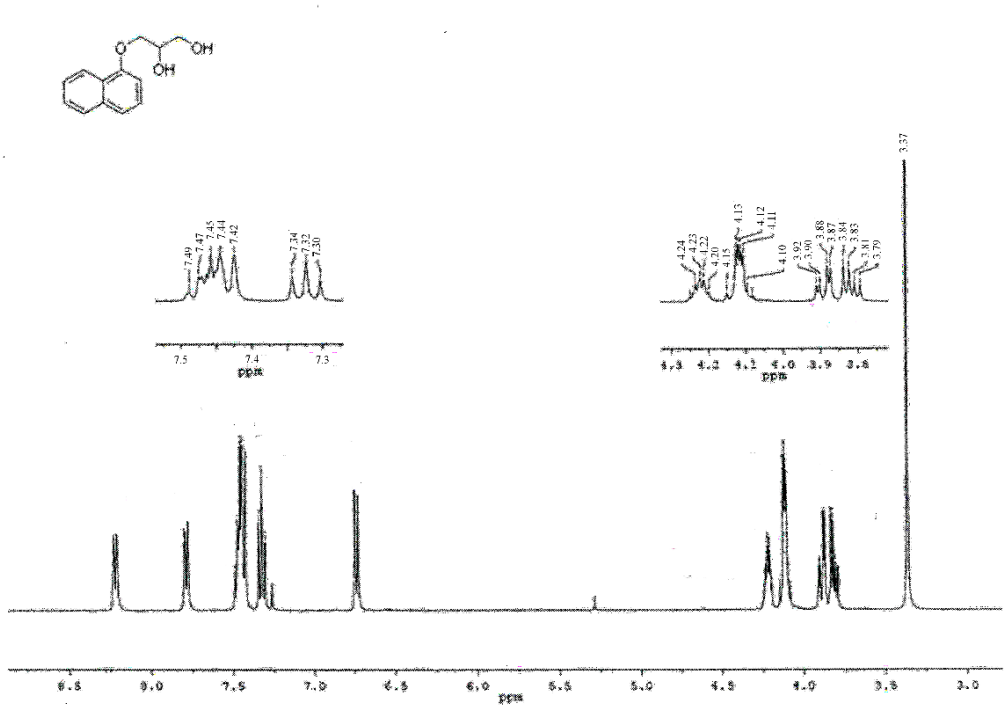


Рисунок 11 — Спектр ЯМР H^1 материала примеси А пропранолола

Отнесение и описание спектра ЯМР H^1 материала примеси А пропранолола представлены в таблице 31.

Таблица 31 — Отнесение и описание спектра ЯМР H^1 материала примеси А пропранолола

ЯМР H^1				
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

Продолжение таблицы 31

8,16-8,27	м	-	1	11
Примечание: синглет (с), дублет (д), дублет дублетов (дд), триплет (т), квадруплет (кв), мультиплет (м)				

В спектре ЯМР 1Н образцов материала примеси А кетопрофена наблюдается сигнал протонов метильной группы С16 в области 2,61 м.д. в виде синглета с относительной интегральной интенсивностью, равной трем протонам. Сигналы ароматических протонов при С1, С2, С3 и С8 наблюдаются в виде группы из триплета и квартета при 7,46 м.д. и 7,57 м.д. с относительными интегральными интенсивностями по 2 протона, соответственно. Дублет, наблюдаемый в области 7,76 м.д. с КССВ J = 7,3 Гц и интегральной интенсивностью равной двум протонам, относится к протонам при С4 и С6. Два протона при С7 и С9 наблюдаются в виде двух дублетов с КССВ =7,7 Гц при 7,94 м. д. и КССВ =7,8 Гц при 8,14 м. д. Синглет, наблюдаемый в области 8,33 м.д., относится к протону при С11.

Спектр ЯМР H^1 материала примеси А кетопрофена представлен на рисунке 12.

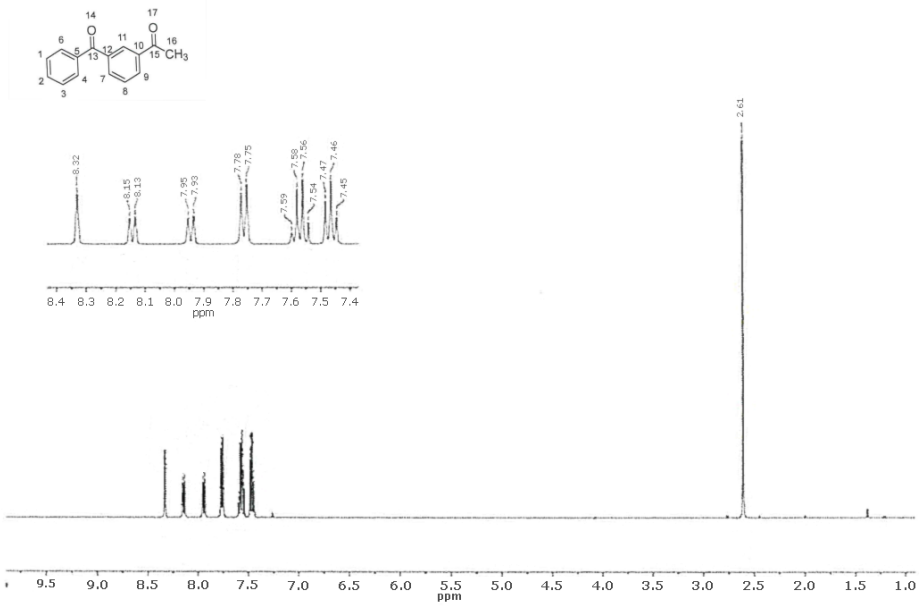


Рисунок 12 — Спектр ЯМР H^1 материала примеси А кетопрофена

Отнесение и описание спектра ЯМР H^1 материала примеси А пропранолола представлены в таблице 32.

Таблица 32 — Отнесение и описание спектра ЯМР H^1 материала примеси А кетопрофена

ЯМР H^1				
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
Примечание: синглет (с), дублет (д), дублет дублетов (дд), триплет (т), квадруплет (кв), мультиплет (м)				

В спектре ЯМР ^{13}C количество сигналов соответствует количеству магнитно-неэквивалентных атомов углерода в молекулах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола.

Спектры ЯМР 13С для образцов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола представлены на рисунках 13 и 14 соответственно.

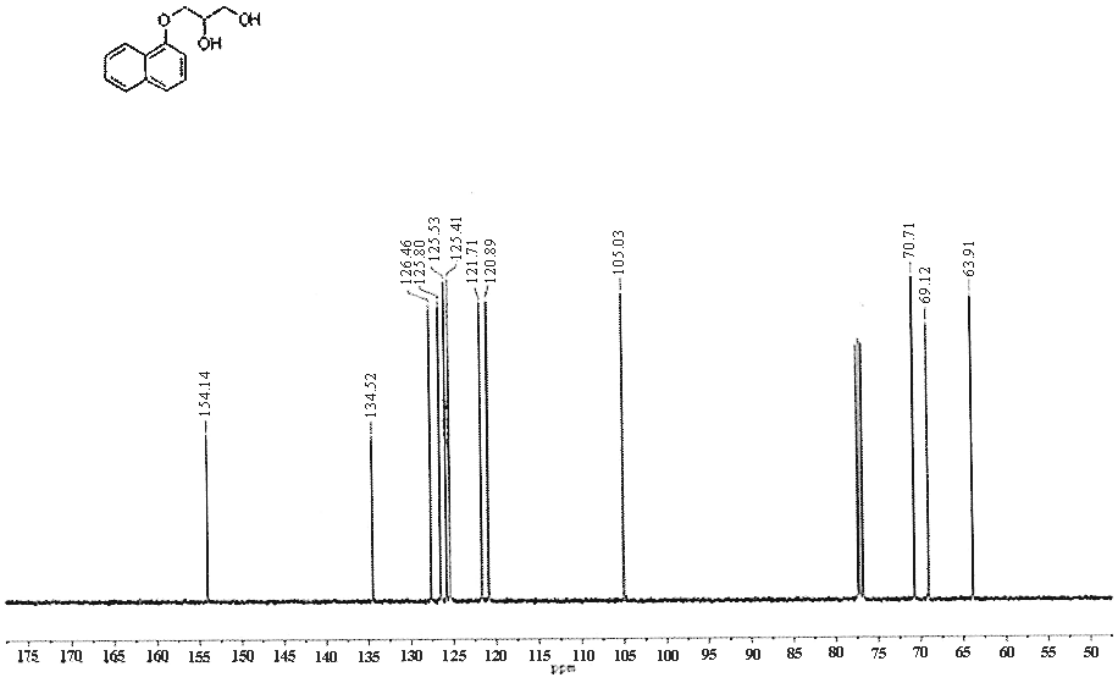


Рисунок 13 — Спектр ЯМР C^{13} материала примеси А кетопрофена

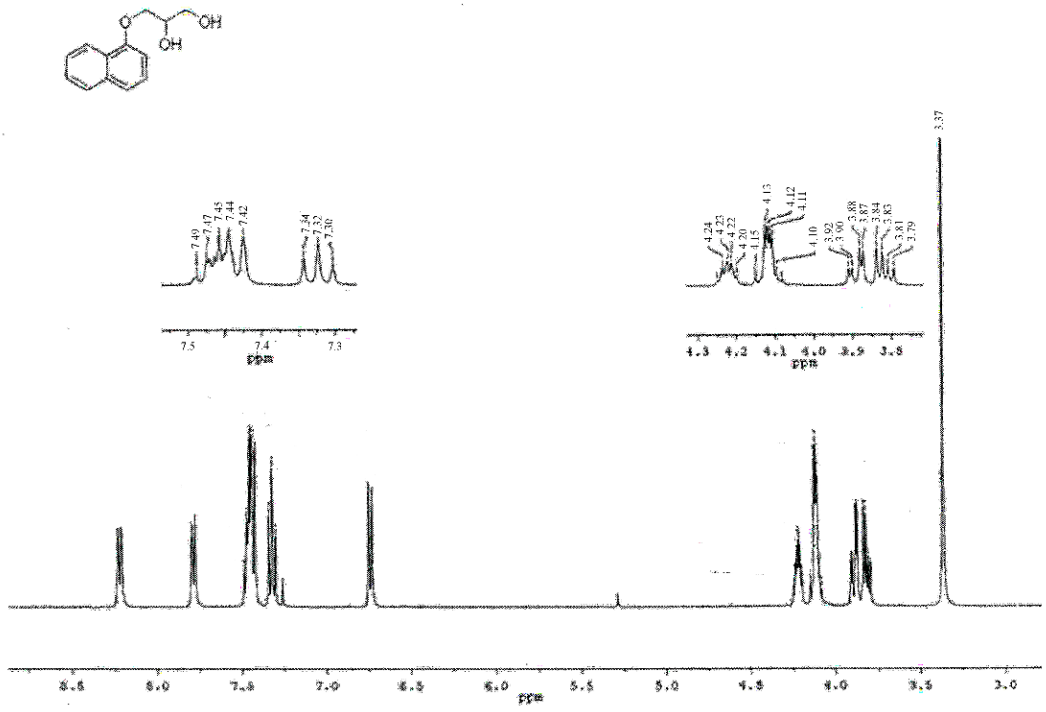


Рисунок 14 — Спектр ЯМР C^{13} материала примеси А пропранолола

Отнесение и описание сигналов представлено в таблицах 33 и 34.

Таблица 33 — Отнесение и описание спектра ЯМР C^{13} материала примеси А пропранолола

ЯМР C^{13}			
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		

Таблица 34 — Отнесение и описание спектра ЯМР C^{13} материала примеси А кетопрофена

ЯМР C^{13}			
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	

3.3.4 Идентификация материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом масс-спектрометрии

Масс-спектры первого и второго порядка полученных соединений были проанализированы на предмет соответствия критериям идентификации. Были обнаружены протонированные формы соединений, а также осколочные фрагменты соединений на масс-спектрах второго порядка.

Идентификацию соединений проводили по полученным значениям *m/z* пиков молекулярного иона, а также по расшифровке масс-спектров 2-ого порядка с предложением вероятной схемы фрагментации дочерних ионов.

Вероятная схема фрагментации для протонированной формы кетопрофена примеси А *m/z* $[C_{15}H_{13}O_2]+ = 225$ и пропранолола примеси А *m/z* $[C_{13}H_{15}O_3 + H]^+ = 219$ представлена на рисунках 16 и 18 соответственно.

На масс-спектре материала примеси А кетопрофена, представленном на рисунке 15, обнаружен основной пик с *m/z* $[C_{15}H_{13}O_2]^+ = 225$, соответствующий рассчитанному значению для протонированной формы Кетопрофена примеси А *m/z* $[M+H]^+$. На тандемном масс-спектре обнаружены пики: 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* $[M+H]^+ = 77$ ($C_6H_5^+$).

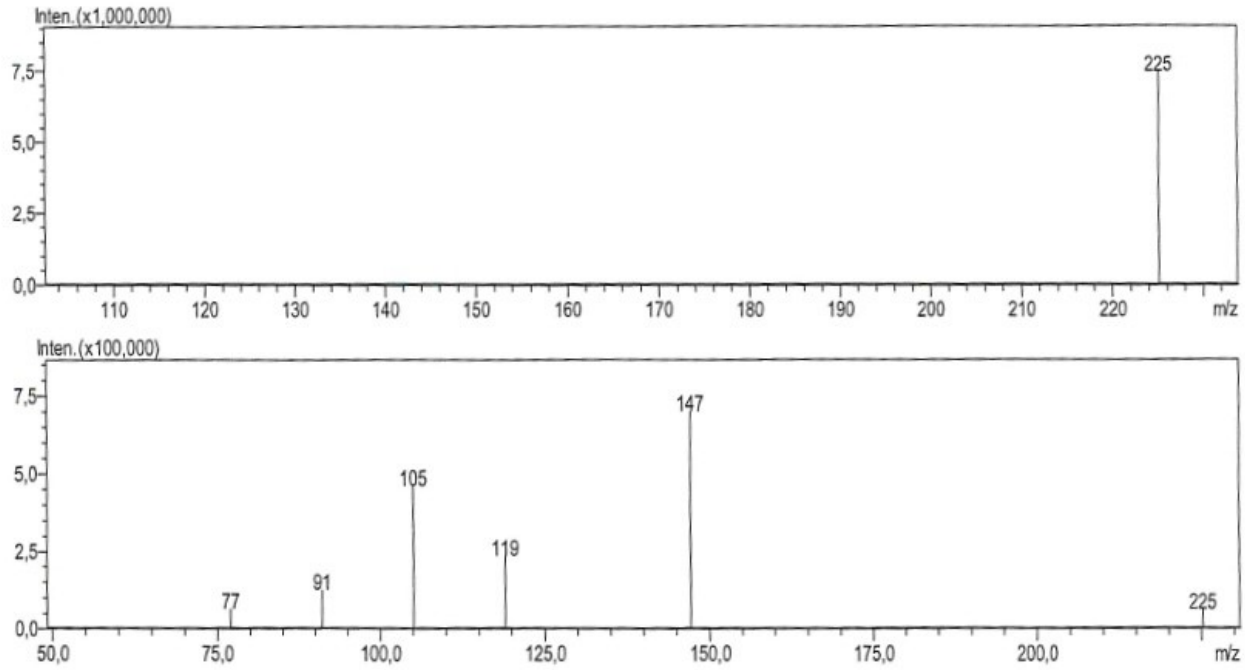


Рисунок 15 — Масс-спектр материала примеси А кетопрофена

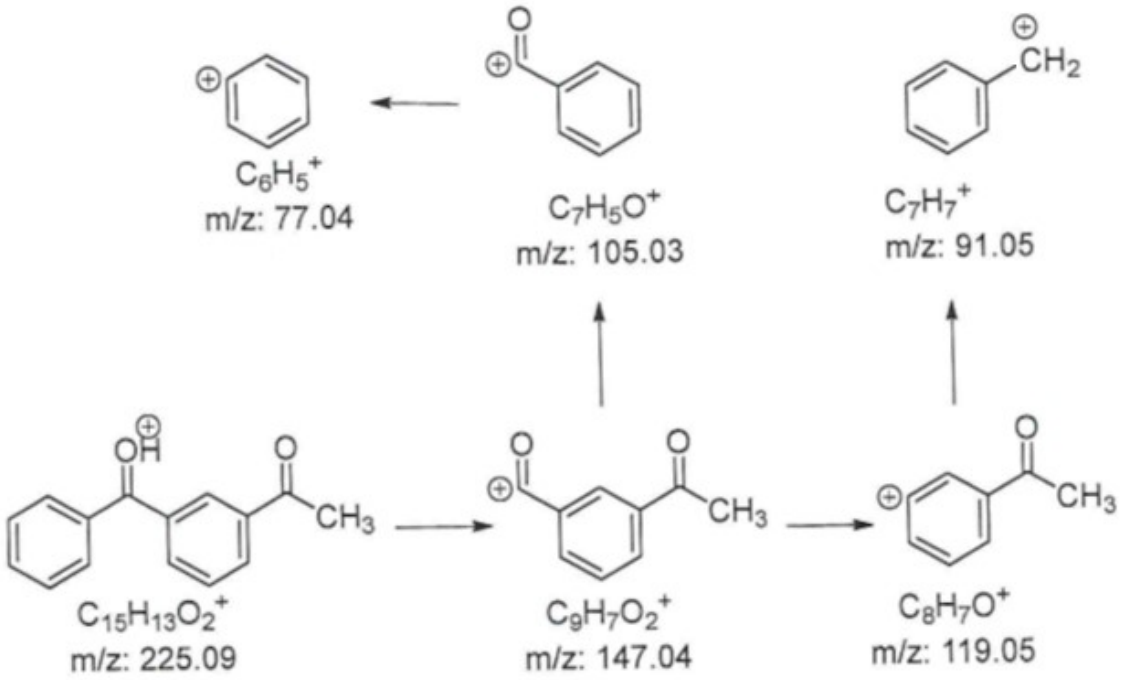


Рисунок 16 — Вероятная схема фрагментации для протонированной формы кетопрофена примеси А *m/z* $[C_{15}H_{13}O_2]^+ = 225$

На масс-спектре материала примеси А пропранолола, представленном на рисунке 17, обнаружен основной пик протонированной формы примеси А пропранолола $[M+H]^+$ $[C_{13}H_{15}O_3 + H]^+ = 219$ соответствует молекулярной массе соединения. В тандемном масс-спектре 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 ($C_3H_5O^+$).

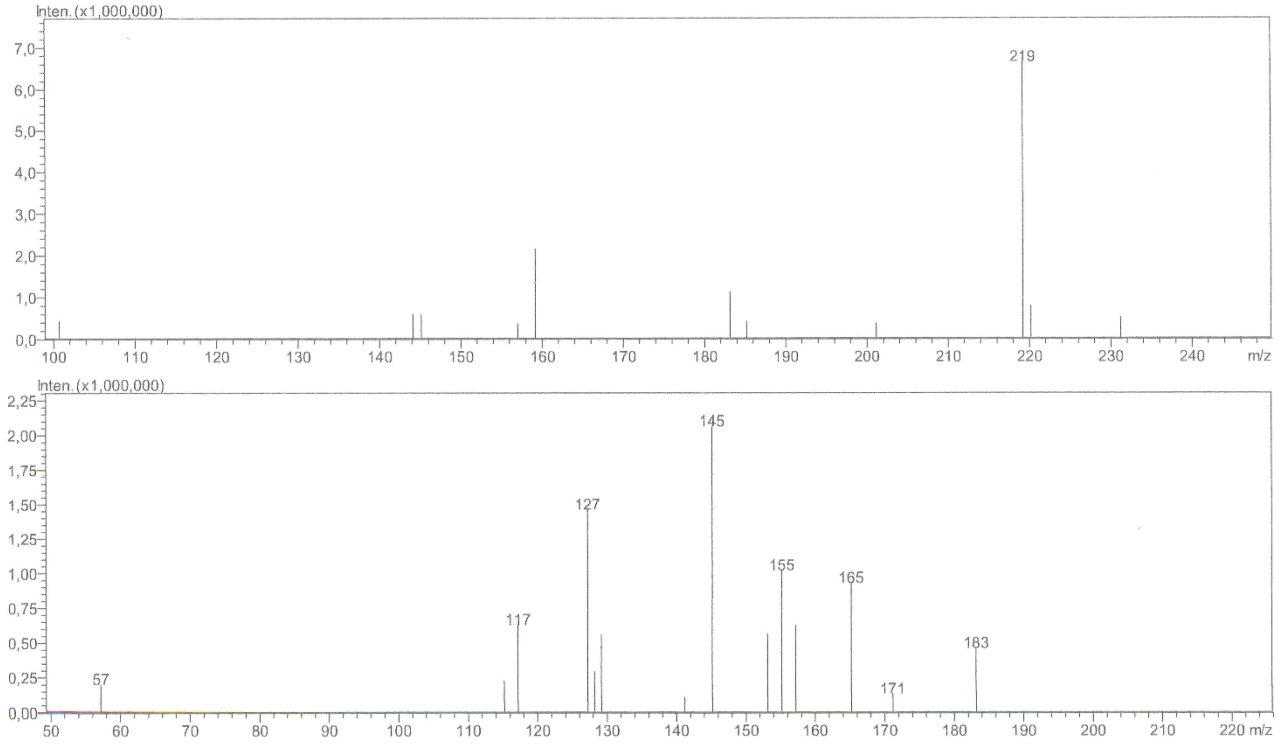


Рисунок 17 — Масс-спектр материала примеси А пропранолола

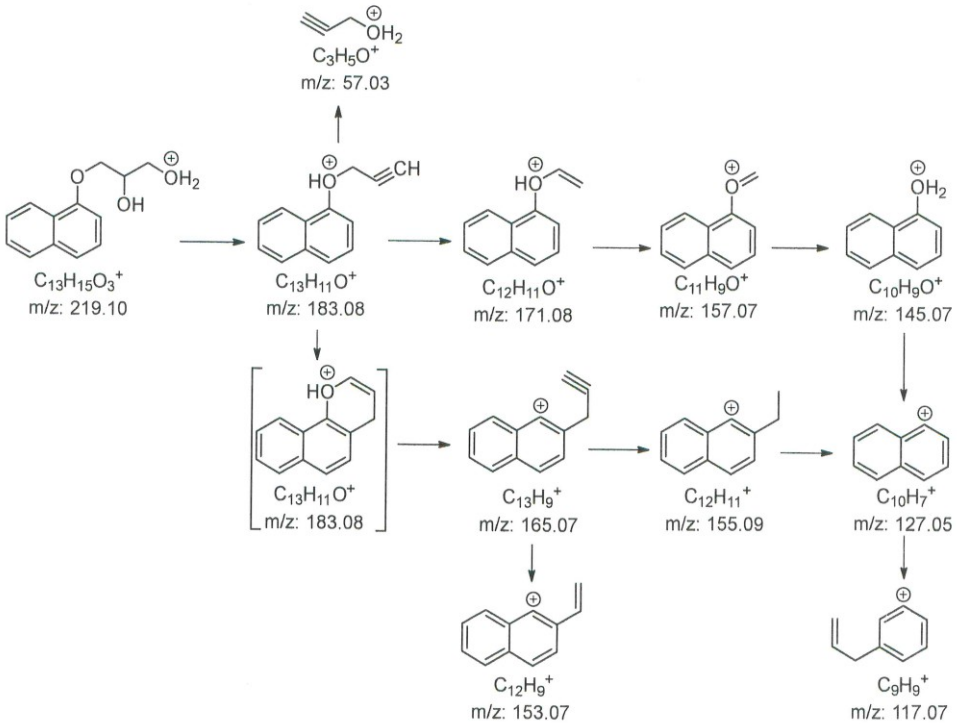


Рисунок 18 — Вероятная схема фрагментации для протонированной формы пропранолола примеси А *m/z* $[C_{13}H_{15}O_3^+ H]^+ = 219$

Таким образом, идентификация материала была проведена с использованием методов ИК-спектроскопии, ЯМР H^1 и C^{13} -спектроскопии и масс-спектрометрии. Совместное использование этих трех независимых методов позволяют однозначно и точно установить структуру и подлинность полученных соединений.

3.4 Общие фармакопейные показатели качества

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 35 и 36.

Таблица 35 — Общие фармакопейные испытания примеси А пропранолола

Наименование показателя	Метод	Результат
Описание	ГФ РФ XV изд.	Белый кристаллический порошок
Растворимость	ГФ РФ XV изд.	Практически не растворим в воде, растворим в диметилсульфоксиде, хлороформе, метаноле, этилацетате
Сульфатная зола	ГФ РФ XV изд.	0,201 %
Вода	ГФ РФ XV изд.	0,043 %

Таблица 36 — Общие фармакопейные испытания примеси А кетопрофена

Наименование показателя	Метод	Результат
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 %

3.5 Методика определение посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Разработанные 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.

3.5.1 Валидационные характеристики методики

В результате проведенной валидации была подтверждена специфичность методики.

Были проанализированы полученные хроматограммы, определены пики относящиеся к продуктам деградации (ПД) материала примеси А кетопрофена и

примеси А пропранолола. Определена чистота пика основного вещества, для исключения интерференции пика основного вещества с продуктами деградации материала.

Данные о продуктах деградации и чистоте пика основного вещества представлены в таблице 37 и 38 для примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола соответственно.

Таблица 37 — Продукты деградации примеси А кетопрофена и чистота пика основного вещества при исследовании специфичности

Условия	Время удерживания ПД, мин	Чистота пика основного вещества, %
Температурная деградация	ПД1 – 13,43 ПД2 – 25,78	100
Окисление	ПД1 – 5,02	100
Кислотный гидролиз	ПД1 – 12,89	100
Щелочной гидролиз	-	100
Время удерживания основного вещества	Кетопрофен примесь А – 19,72	

Таблица 38 — Продукты деградации примеси А пропранолола и чистота пика основного вещества при исследовании специфичности

Условия	Время удерживания ПД, мин	Чистота пика основного вещества, %
Температурная деградация	ПД1 – 34,15	100
Окисление	ПД1 – 6,35	100
Кислотный гидролиз	ПД1 – 34,28	100
Щелочной гидролиз	ПД1 – 34,45	100
Время удерживания основного вещества	Пропранолола примесь А – 9,35	

По результатам валидации специфичности видно, что потенциальные примеси материалов примесей А кетопрофена и примеси А пропранолола не интерферируют с пиком основного вещества, следовательно могут быть детектированы в условиях проведения анализа.

ПКО определяли путем анализа контрольного раствора, содержащего точное количество материала примеси на пределе чувствительности метода. Для оценки предела количественного определения был приготовлен контрольный раствор в соответствии с методикой. На хроматограмме контрольного раствора соотношение сигнал/шум для пика основного вещества должно составлять не менее 10.

При оценке предела количественного определения были проанализированы данные полученные для растворов примеси А пропранолола и примеси А кетопрофена на уровне ПКО определения примеси – 0,05%.

В таблице 39 представлены данные по отношению сигнал/шум для уровня ПКО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола.

Таблица 39 — Сигнал/шум для уровня ПКО примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Показатель	Примесь А кетопрофена	Примеси А пропранолола
Отношение сигнал/шум	26,2	17,8

Отношение сигнал/шум для пика основного вещества модельных растворов не превышало 10. ПКО для разработанных методик установлен на уровне 0,05 %

Для подтверждения линейности методики в области от ПКО до 120% содержания нормируемых неидентифицированных примесей была доказана линейность методики по отношению к основному веществу. Готовили серию разведений материалов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола для

получения серии разведений основного вещества в диапазоне моделируемой концентрации примеси от 2,0 до 0,05 %.

Линейность методик оценивалась по построенным калибровочным кривым для основного вещества примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола. Калибровочные кривые представлены на рисунках 19 и 20. данные о коэффициенте корреляции представлены в таблице 40.

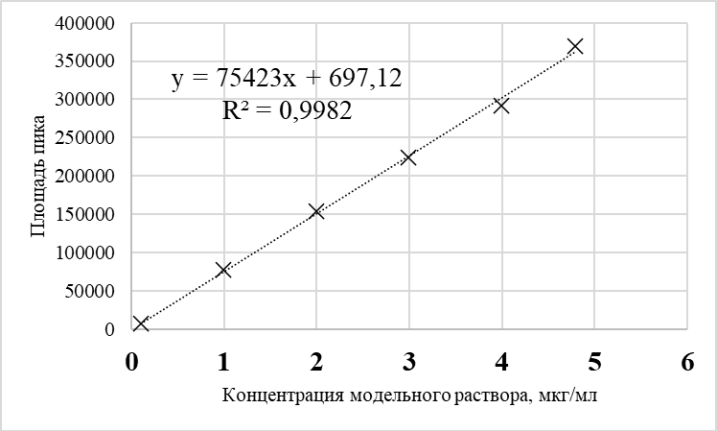


Рисунок 19 — Калибровочный график для оценки линейности основного вещества в условиях методики определения посторонних примесей в материале примеси А кетопрофена

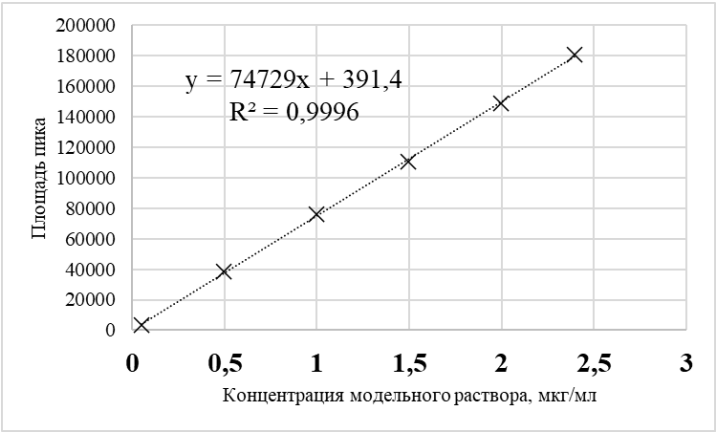


Рисунок 20 — Калибровочный график для оценки линейности основного вещества в условиях методики определения посторонних примесей в материале примеси А пропранолола

Таблица 40 — Характеристики калибровочной кривой

Показатель	Примесь А кетопрофена	Примеси А пропранолола
Коэффициент наклона	75423	74729
Свободный член	697,12	391,4
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9982	0,9996
Коэффициент корреляции (r)	0,9991	0,9998

Для оценки правильности методики определения неидентифицированных посторонних примесей в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола в условиях отсутствия СО был выбран метод добавок. Правильность в данном случае подтверждена для основного вещества на уровне концентраций соответствующим уровню 120%, 100% и ПКО от нормируемого содержания примесей на уровне 2 %.

Правильность методики была оценена с использованием метода добавок. Были рассчитаны концентрации приготовленных матричных растворов и растворов, содержащих стандартную добавку основного вещества.

Данные о рассчитанных концентрациях и степени обнаружения для уровня ПКО представлены в таблице 41.

Таблица 41 — Данные о рассчитанных концентрациях и степени обнаружения для уровня ПКО

ПКО						
Матричный раствор, мкг/мл	Добавка, мкг/мл	Объем добавки, мл	Введено, мкг/мл	Площадь пика, mAU·s	Найдено, мкг/мл	Степень обнаружения, %
Кетопрофен примесь А						
0,1	200	0,05	0,1999	15443,18	0,1955	97,80
0,1	200	0,1	0,2997	24281,42	0,3127	104,34
0,1	200	0,15	0,3994	29661,13	0,3840	96,15

Продолжение таблицы 41

Пропранолол примесь А						
0,05	100	0,05	0,1000	7984,57	0,1016	101,66
0,05	100	0,1	0,1499	11355,55	0,1467	97,91
0,05	100	0,15	0,1997	15946,81	0,2082	104,23

Данные о рассчитанных концентрациях и степени обнаружения для уровня 100 % представлены в таблице 42.

Таблица 42 — Данные о рассчитанных концентрациях и проценте открываемости для уровня 100%

100%						
Матричный раствор, мкг/мл	Добавка, мкг/мл	Объем добавки, мл	Введено, мкг/мл	Площадь пика, mAU·s	Найдено, мкг/мл	Степень обнаружения, %
Кетопрофен примесь А						
4	200	0,05	4,098	321855,88	4,2581	103,91
4	200	0,1	4,196	313415,26	4,1462	98,82
4	200	0,15	4,294	324795,27	4,2971	100,08
Пропранолол примесь А						
2	100	0,05	2,049	155411,29	2,0744	101,24
2	100	0,1	2,098	161097,53	2,1505	102,51
2	100	0,15	2,147	162691,11	2,1718	101,17

Данные о рассчитанных концентрациях и проценте открываемости для уровня 120% представлены в таблице 43.

Таблица 43 — Данные о рассчитанных концентрациях и проценте открываемости для уровня 120%

120%						
Матричный раствор, мкг/мл	Добавка, мкг/мл	Объем добавки, мл	Введено, мкг/мл	Площадь пика, mAU·s	Найдено, мкг/мл	Степень обнаружения, %
Кетопрофен примесь А						
4,8	200	0,05	4,898	380556,13	5,0364	102,83
4,8	200	0,1	4,995	373842,38	4,9474	99,05
4,8	200	0,15	5,092	392156,30	5,1902	101,92
Пропранолол примесь А						
2,4	100	0,05	2,449	192313,95	2,5682	104,88
2,4	100	0,1	2,498	192222,26	2,5670	102,78
2,4	100	0,15	2,546	185724,94	2,4801	97,40

Степень обнаружения для трех уровней концентрации находился в диапазоне ± 5% от истинного значения. Прецизионность методики была подтверждена по величине относительного стандартного отклонения между вводами, оно составило не более 2% для растворов пропранолола примеси А и кетопрофена примеси А на уровне ПКО, 100% и 120% содержания примеси.

Данные о прецизионности методики представлены в таблице 44.

Таблица 44 — Относительное стандартное отклонение между вводами

	Кетопрофен примесь А (RSD, % n=6)	Пропранолол примесь А (RSD, % n=6)
ПКО	1,27	1,46
100 %	0,84	0,64
120 %	0,98	0,23

3.5.2 Результаты определения посторонних примесей методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

По результатам поведения анализа по разработанным методикам определения органических примесей было установлено содержание органических примесей в исследуемом материале. Расчет содержания примесей проводился методом внутренней нормализации, регламентируемым ГФ РФ XV изд. Хроматограммы испытуемых растворов примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола, представлены на рисунках 21 и 22.

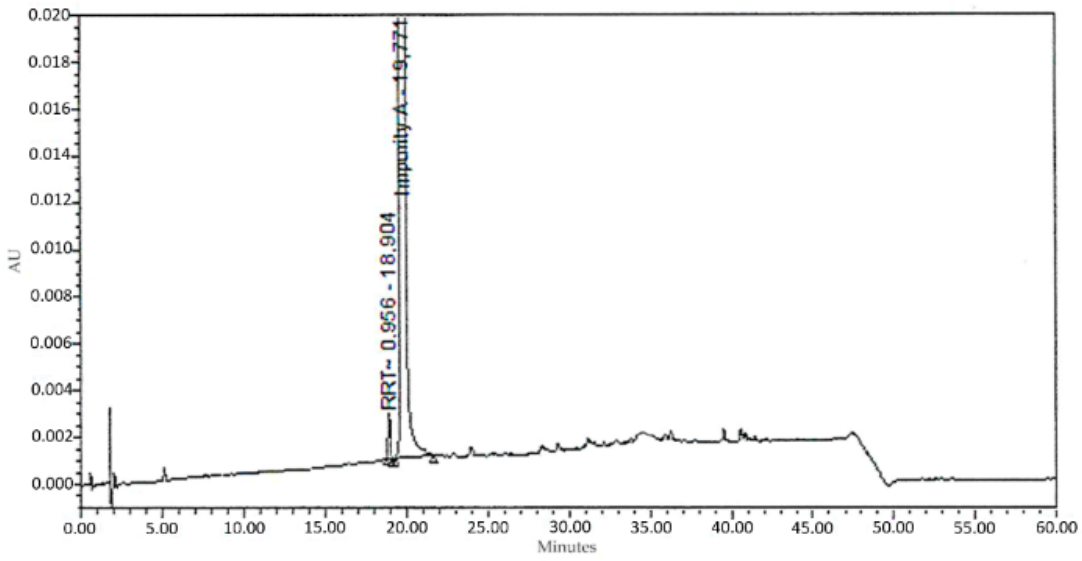


Рисунок 21 — Хроматограмма испытуемого раствора примеси А кетопрофена

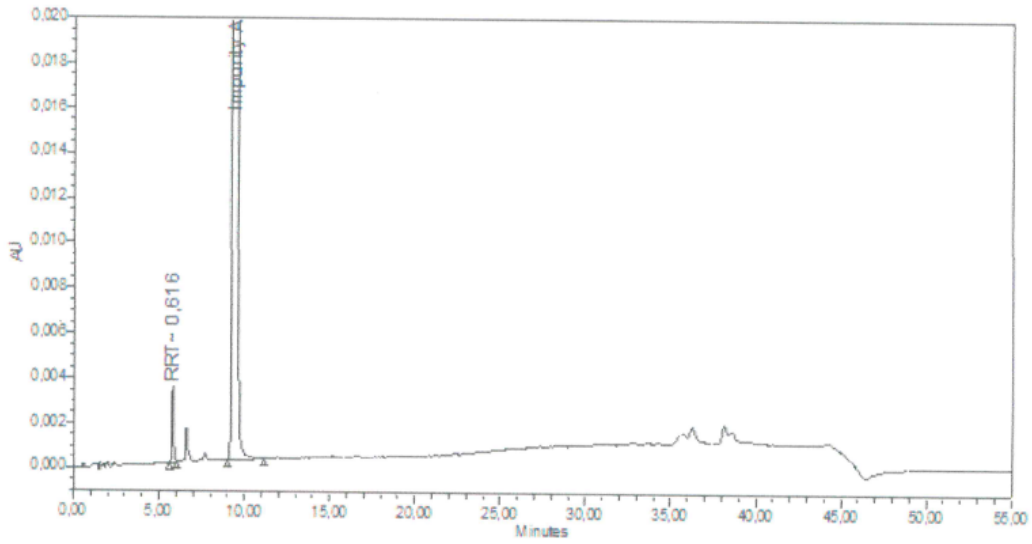


Рисунок 22 — Хроматограмма испытуемого раствора примеси А пропранолола

На хроматограмме испытуемого раствора примеси А кетопрофена была обнаружена примесь с нескорректированным относительным временем удерживания (RRT) 0,956. Результаты проведенного анализа представлены в таблице 45. Содержание данной примеси в материале составило 0,1394 %.

Таблица 45 — Результаты определения родственных примесей в материале примеси А кетопрофена

Обозначение пика	Время удерживания, мин	Площадь пика	Площадь пика, %
RRT 0,956	18,904	16648	0,1394
Примесь А кетопрофена	19,771	11926584	99,8606

На хроматограмме испытуемого раствора примеси А пропранолола была обнаружена примесь с RRT 0,616. Результаты проведенного анализа представлены в таблице 46. Содержание данной примеси в материале составило 0,6182 %.

Таблица 46 — Результаты определения родственных примесей в материале примеси А пропранолола

Обозначение пика	Время удерживания, мин	Площадь пика	Площадь пика, %
RRT 0,616	5,725	43601	0,618
Примесь А пропранолола	9,297	7009836	99,382

3.6 Методика определение остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии

Была разработана методика для определения содержания ООР в материалах примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола методом газовой хроматографии. Разработка и валидация метода была проведена в соответствии с ГФ РФ XV изд. ОФС.1.2.1.2.0004 «Газовая хроматография», ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик».

Для нормирования в материалах примесей А кетопрофена и пропранолола были выбраны растворители, присутствие которых в материале может быть обусловлено способом их получения. К таким растворителям относятся: гексан, метанол, пентан, ацетонитрил, этилацетат.

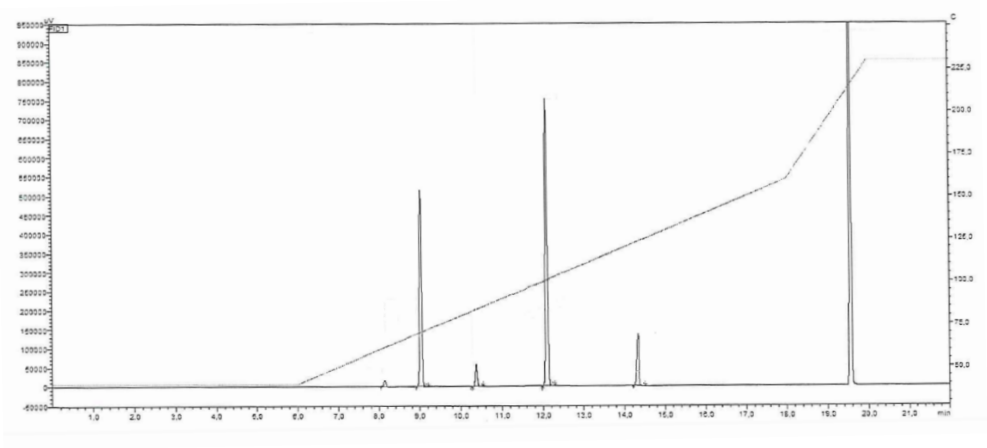
3.6.1 Валидационные характеристики методики

При исследовании специфичности методики определения ООР были исследованы хроматограммы стандартного раствора, содержащего точные количества нормируемых примесей, и холостой пробы.

В таблице 47 указаны времена удерживания и площади пиков на хроматограмме модельного раствора, представленной на рисунке 23.

Таблица 47 — Специфичность методики определения ООР методом ГХ

Наименование	Время удерживания	Площадь пика
Холостая проба диметилсульфоксид	19,564	3663975
Раствор стандартного образца		
Метанол	8,157	43902
Пентан	9,070	1564007
Ацетонитрил	10,394	130060
Гексан	12,126	2469485
Этилацетат	14,357	395118



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

Рисунок 23 — Хроматограмма стандартного раствора ООР

Было установлено, что методика является специфичной, поскольку на хроматограмме среды растворителя (диметилсульфоксида) отсутствуют пики, совпадающие по временам удерживания с временами выхода органических растворителей.

Для оценки ПКО по результатам анализа модельных растворов были определены отношения сигнал/шум на хроматограмме контрольного раствора для пиков гексана, метанола, пентана, ацетонитрила, этилацетата.

Отношение сигнал/шум для каждого органического растворителя было больше 10. Данные об отношении сигнал/шум представлены в таблице 48.

Таблица 48 — Отношения сигнал/шум ООР на хроматограмме контрольного раствора

ООР	Введено, мкг/мл	Площадь пика	Отношение «сигнал/шум»
Метанол	1	844	18,07
Пентан	5	158312	3388,28
Ацетонитрил	5	12505	267,67
Гексан	5	237452	5082,42
Этилацетат	5	37992	813,19

Линейность методики оценивалась по построенным калибровочным кривым для каждого остаточного органического растворителя. Калибровочные кривые представлены на рисунках 24 - 28. Данные о коэффициенте корреляции представлены в таблицах 49 - 53.

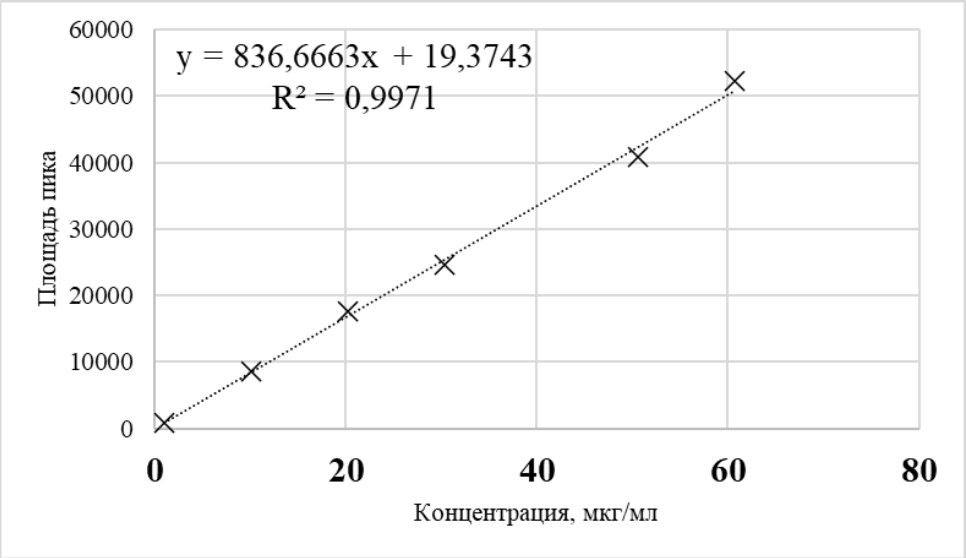


Рисунок 24 — Калибровочный график для оценки линейности методики определения метанола в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

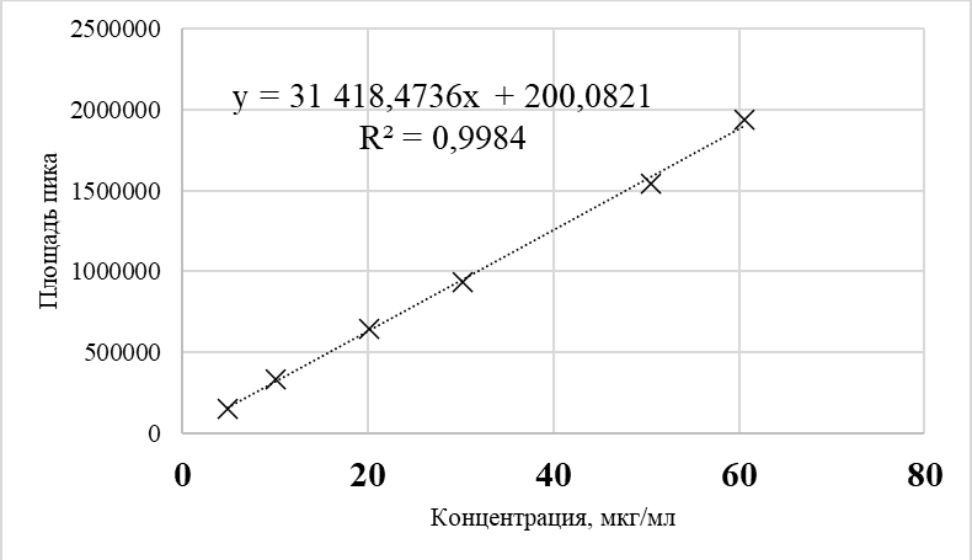


Рисунок 25 — Калибровочный график для оценки линейности методики определения пентана в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

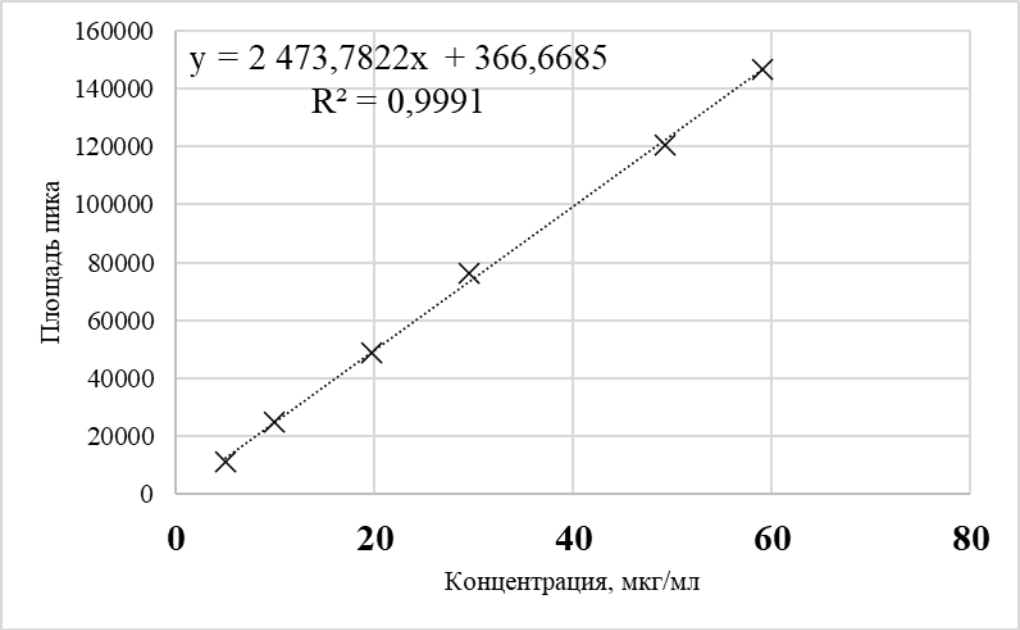


Рисунок 26 — Калибровочный график для оценки линейности методики определения ацетонитрила в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

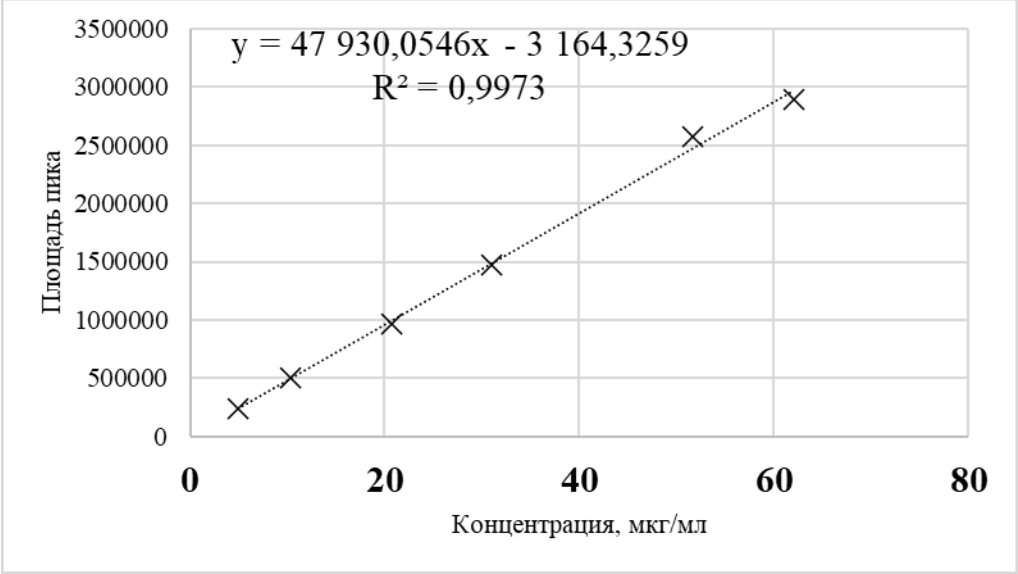


Рисунок 27 — Калибровочный график для оценки линейности методики определения гексана в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

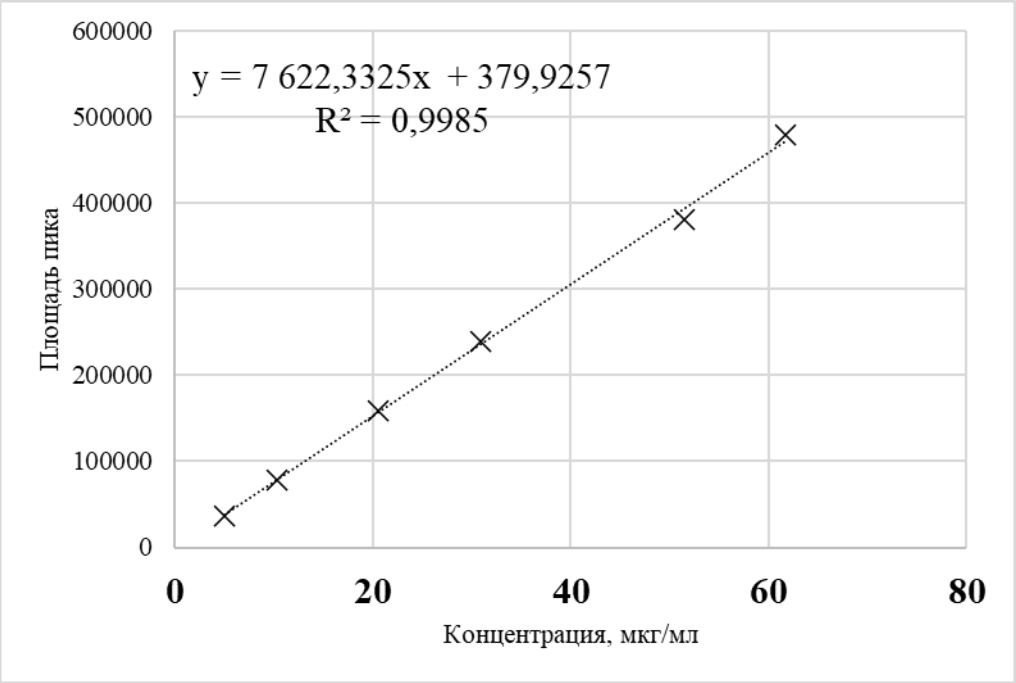


Рисунок 28 — Калибровочный график для оценки линейности методики определения этилацетата в материале примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Таблица 49 — Характеристики калибровочной кривой метанола

Показатель	Значение
Коэффициент наклона	836,6663
Свободный член	19,3743
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9971
Коэффициент корреляции (r)	0,9985

Таблица 50 — Характеристики калибровочной кривой пентана

Показатель	Значение
Коэффициент наклона	31418,4736
Свободный член	200,0821
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9984
Коэффициент корреляции (r)	0,9992

Таблица 51 — Характеристики калибровочной кривой ацетонитрила

Показатель	Значение
Коэффициент наклона	2473,78
Свободный член	366,668
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9991
Коэффициент корреляции (r)	0,9995

Таблица 52 — Характеристики калибровочной кривой гексана

Показатель	Значение
Коэффициент наклона	47930,0546
Свободный член	-3164,3259
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9973
Коэффициент корреляции (r)	0,9986

Таблица 53 — Характеристики калибровочной кривой этилацетата

Показатель	Значение
Коэффициент наклона	7622,3325
Свободный член	379,9257
Коэффициент детерминации (R^2)	0,9985
Коэффициент корреляции (r)	0,9992

Таким образом была подтверждена линейность методики в установленных диапазонах. Аналитическая область установлена в соответствии с областью линейности.

Правильность и прецизионность методики оценивались на основании значений рассчитанных концентраций для модельных растворов, которые находились

в пределах ± 2% от фактических значений. Данные о степени обнаружения ООР в модельных растворах представлены в таблице 54.

Таблица 54 — Степень обнаружения ООР в модельных растворах

ООР	Введено, мкг/мл	Площадь пика	Найдено, мкг/мл	Степень обнаружения, %
120 % (60, мкг/мл)				
Метанол	61,50	51184,501	61,15	99,44
Ацетонитрил	57,84	1836654,931	58,45	101,06
Пентан	61,86	151565,962	61,12	98,80
Гексан	62,64	2958994,121	61,80	98,66
Этилацетат	61,74	473324,451	62,05	100,50
100 % (50, мкг/мл)				
Метанол	51,25	42448,751	50,71	98,95
Ацетонитрил	48,20	1536715,376	48,90	101,46
Пентан	51,55	126975,118	51,18	99,28
Гексан	52,20	2529512,434	52,84	101,23
Этилацетат	51,45	385741,992	50,56	98,26
ПКО				
Метанол	1,00	861,989	1,01	100,51
Ацетонитрил	5,15	163432,062	5,20	100,84
Пентан	5,13	12820,613	5,03	98,14
Гексан	4,88	234826,052	4,97	101,75
Этилацетат	4,84	37205,354	4,83	99,90

Прецизионность методики оценена по величине относительного стандартного отклонения внутри и между днями. Данные о прецизионности представлены в таблице 55.

Таблица 55 — Относительное стандартное отклонение между вводами внутри дня и между днями

	RSD (внутри дня); % n=6, (RSD (между днями), % n=9)		
ООР	ПКО	100 %	120 %
Метанол	1,79; (1,92)	0,18; (0,65)	0,74; (0,90)
Пентан	1,04; (1,43)	0,14; (0,86)	0,58; (0,78)
Ацетонитрил	1,47; (1,65)	1,03; (1,23)	1,04; (1,87)
Гексан	0,41; (1,32)	1,74; (1,79)	0,26; (0,67)
Этилацетат	0,55; (0,58)	0,08; (0,97)	0,13; (0,45)

Таким образом, относительного стандартное отклонение между вводами внутри дня и между днями не превышало 2%.

3.6.2 Результаты определения остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии

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.

Хроматограммы испытуемых растворов представлены на рисунках 29 и 30 для материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола соответственно.

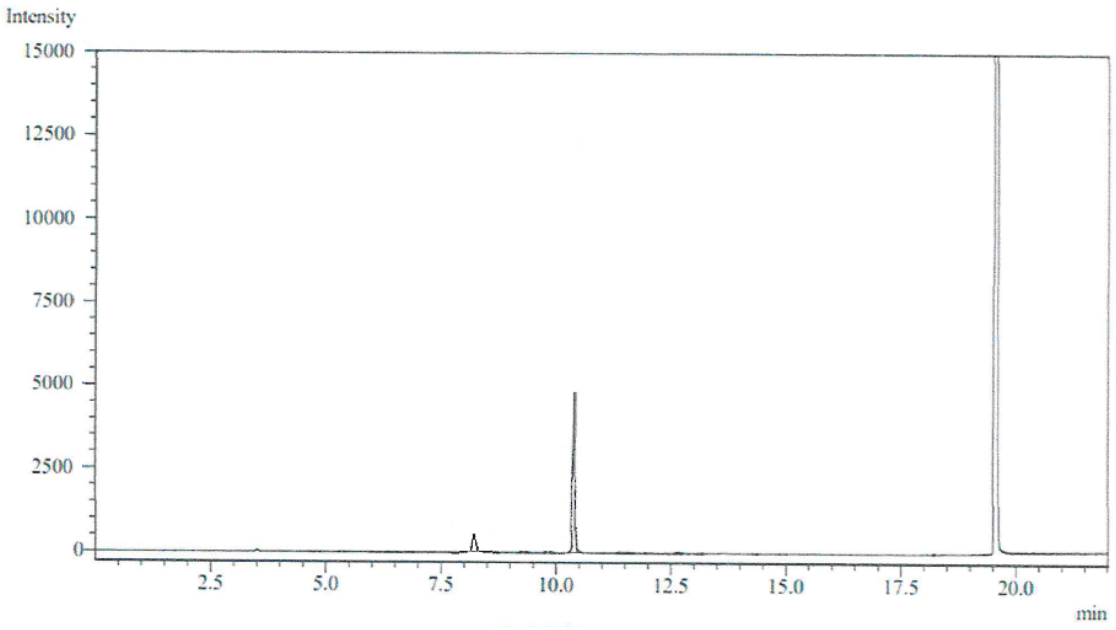


Рисунок 29 — Хроматограмма ООР материала примеси А кетопрофена

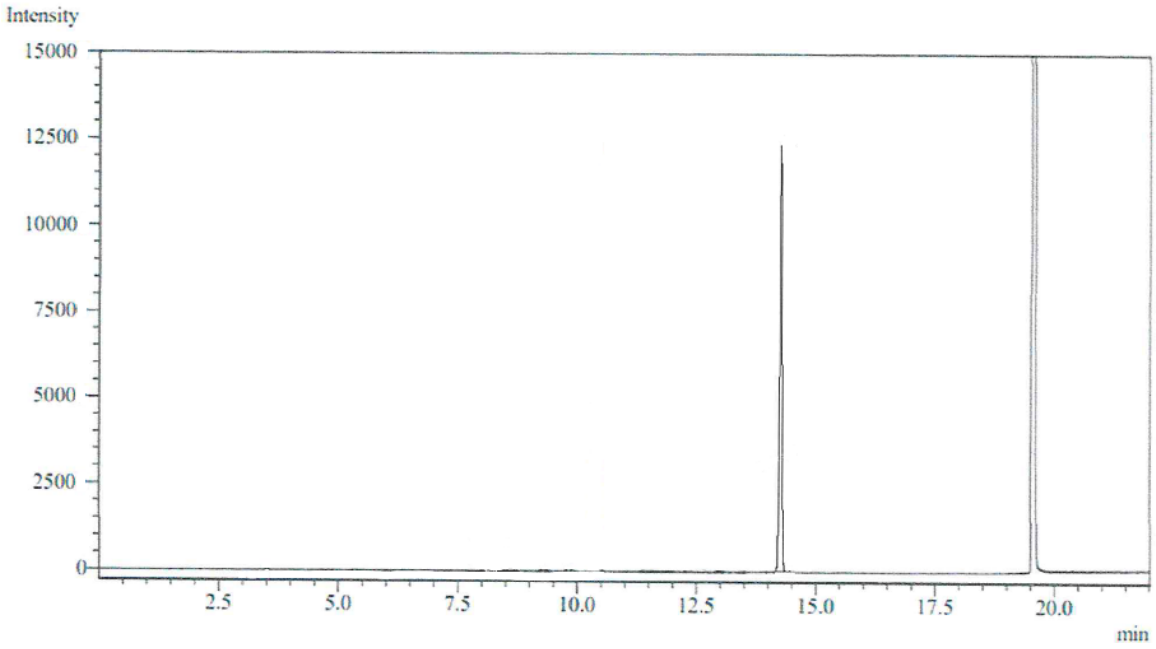


Рисунок 30 — Хроматограмма ООР материала примеси А пропранолола

3.7 Аттестация массовой доли основного вещества методом массового баланса

В результате проведенного исследования материалы примесей показали высокую чистоту и стабильность относительно, показателей содержания воды, органических примесей, ООР и минеральных примесей. Были полученные необходимые данные для аттестации массовой доли основного вещества с использованием принципа массового баланса.

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

Так как содержание воды в материалах примесей составило менее 0,05% при расчете массовой доли основного вещества оно не учитывалось.

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:

$$X\ (\%) = 100 - Хрп - Хоор - Хсз,$$

Расчет массовой доли основного вещества для материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола представлен в таблице 56.

Таблица 56 — Расчет массовой доли основного вещества для материала примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола

Показатель	Примесь А кетопрофена	Примесь А пропранолола
Органические примеси	0,139%	0,618%
ООР	0,075%	0,057%
Сульфатная зола	0,099%	0,201%

Продолжение таблицы 56

Вода	<0,05%	<0,05%
Массовая доля основного вещества	99,687%	99,124%

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 %.

По результатам исследования установлены нормы спецификации на материалы примеси А кетопрофена и примеси А пропранолола, представленные в таблицах 57 и 58. Разработанные лабораторные регламенты, а также методики контроля качества были использованы для получения и проведения аттестации стандартных образцов утвержденного типа примеси А кетопрофена ГСО № 12058-2022 (приложение Д) и примеси А пропранолола ГСО № 11935-2022 (приложение Е).

Таблица 57 — Спецификация материала примеси А кетопрофена

Показатель	Метод	Норма
Описание	Визуальный	Порошок от белого до светло желтого цвета
Подлинность	ИК-спектроскопия	Совпадение основных характеристических полос поглощения
	Масс-спектрометрия	Совпадение молекулярного иона (M^+ или $[M+H]^+$) и ключевых фрагментных пиков

Продолжение таблицы 57

	ЯМР-спектроскопия	Соответствие химических сдвигов, мультиплетности и интегральных интенсивностей сигналов.
Растворимость	ОФС «Растворимость»	Практически не растворим в воде, растворим в диметилсульфоксиде, хлороформе, метаноле, этилацетате
Органические примеси	ВЭЖХ	Сумма примесей – не более 0,5 %
Вода	Метод К. Фишера	Не более 0,05%
Сульфатная зола	ОФС «Сульфатная зола»	Не более 0,1%
Остаточные органические растворители	Газовая хроматография	Суммарное содержание ООР – не более 0,1%
Массовая доля основного вещества	Массовый баланс	Не менее 99,0%

Таблица 58 — Спецификация материала примеси А пропранолола

Показатель	Метод	Норма
Описание	Визуальный	Порошок от белого до светло желтого цвета
Подлинность	ИК-спектроскопия	Совпадение основных характеристических полос поглощения

Продолжение таблицы 58

	Масс-спектрометрия	Совпадение молекулярного иона (M^+ или $[M+H]^+$) и ключевых фрагментных пиков
	ЯМР-спектроскопия	Соответствие химических сдвигов, мультиплетности и интегральных интенсивностей сигналов.
Растворимость	ОФС «Растворимость»	Практически нерастворим в воде, Растворим в метаноле, хлороформе
Органические примеси	ВЭЖХ	Сумма примесей – не более 1,0%
Вода	Метод К. Фишера	Не более 0,05%
Сульфатная зола	ОФС «Сульфатная зола»	Не более 0,5%
Остаточные органические растворители	Газовая хроматография	Суммарное содержание ООР – не более 0,1%
Массовая доля основного вещества	Массовый баланс	Не менее 98,0 %

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование направлено на решение актуальной задачи развития отечественной фармацевтической промышленности - создание СО примесей ЛС НПВС и β-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-спектроскопии, масс-спектрометрии, что обеспечивает достоверность идентификации. Установлены нормы показателей качества, включая содержание органических примесей, ООР, воды и сульфатной золы. По результатам

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-спектрометрию, 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 β-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 β-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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФС - Активная фармацевтическая субстанция

ВР – стадия вспомогательных работ

ВЭЖХ - Высокоэффективная жидкостная хроматография

ГФ РФ XV изд. - Государственная фармакопея Российской Федерации XV издания

ГХ - Газовая хроматография

ЖНВЛП - Жизненно необходимые и важнейшие лекарственные препараты

ИК-спектроскопия - Спектроскопия в инфракрасной области спектра

КХ – контроль

ЛС - Лекарственное средство

МНН - Международное непатентованное наименование

МС - Масс-спектрометрия

НПВС - Нестероидные противовоспалительные средства

ООР - Остаточные органические растворители

ОФС - Общая фармакопейная статья

с, д, дд, т, кв - Типы мультиплетов: синглет, дублет, дублет дублетов, триплет, квадруплет

СО - Стандартный образец

ТП - стадия основного процесса

ТСХ - Тонкослойная хроматография

ФЕАЭС - Фармакопея Евразийского экономического союза

ЯМР-спектроскопия - Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

as, s - Антисимметричные и симметричные колебания

CRM - Certified Reference Material — сертифицированный стандартный материал

CRS - Chemical Reference Substance — химический стандартный образец Европейской фармакопеи

EP - European Pharmacopoeia — Европейская фармакопея

ICH - International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use

КССВ - Константа спин-спинового взаимодействия

RM - Reference Material – Стандартный материал

RRT - Relative Retention Time — нескорректированное относительное время удерживания

RS - Reference Standard — стандарт сравнения

USP - United States Pharmacopeia — Фармакопея США

β-АБ - Бета-адреноблокаторы

ν, σ, ω - Типы колебаний в спектроскопии: валентные, деформационные, внеплоскостные

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генералова, Ю.Э. Исследование физико-химических свойств и стандартизация нового антистеатозного лекарственного средства на основе 4,4’-(пропандиамидо)дибензоата натрия : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Генералова Юлия Эдуардовна ; ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации. – Санкт-Петербург, 2021. – 150 с.

2. ГОСТ ISO Guide 30-2019. Стандартные образцы. Некоторые термины и определения : межгосударственный стандарт : утвержден и введен в действие приказом Федер. агентства по техн. регулированию и метрологии от 9 октября 2019 г. N 944-ст : взамен ГОСТ 32934-2014: дата введения 2020-08-01. // Кодекс : электрон. фонд правовой и норматив.-техн. информ. URL: https://docs.cntd.ru/document/1200168632 (дата обращения: 01.04.2025)

3. Государственная Фармакопея Российской Федерации XV Издание [Электронный ресурс] // Режим доступа: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/ (дата обращения: 01.11.2024).

4. Государственный реестр лекарственных средств : [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/ (дата обращения: 16.06.2025).

5. Евразийская экономическая комиссия. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 4 октября 2022 г. №138 «Об утверждении Требований к проведению исследований (испытаний) лекарственных средств в части оценки и контроля содержания примесей» // Евразийская экономическая комиссия : офиц. сайт. – URL: https://eec.eaeunion.org/comission/department/deptexreg/formirovanie-obshchikh-rynkov/akty-v-sfere-ls.php (дата обращения: 01.04.2025).

6. Кетопрофен: применение и лекарственные формы / А.В. Беляцкая, И.И. Краснюк (мл.), И.И. Краснюк [и др.] // Разработка и регистрация лекарственных средств. - 2017. - № 2 (19). - С. 102–107.

7. Клинические рекомендации. Желудочковые нарушения ритма. Желудочковые тахикардии и внезапная сердечная смерть. Российское кардиологическое общество, Всероссийское научное общество специалистов по клинической электрофизиологии, аритмологии и электростимуляции, Всероссийская общественная организация "Ассоциация детских кардиологов России" и Общества холтеровского мониторирования и неинвазивной электрокардиологии. 2020. - Режим доступа: https://org.gnicpm.ru/wp-content/uploads/2024/01/kr569.pdf (Дата Обращения: 25.03.2025).

8. Клинические рекомендации. Коксартроз. Ассоциация ревматологов России, Ассоциация травматологов-ортопедов России и Общероссийская общественная организация Ассоциация реабилитологов России. 2024. — Режим доступа: https://diseases.medelement.com/disease/коксартроз-кр-рф-2024/18459 (Дата обращения: 31.03.2025).

9. Клинические рекомендации. Мигрень. Всероссийское общество неврологов, Общероссийская общественная организация "Союз реабилитологов России" и Межрегиональная общественная организация "Российское общество по изучению головной боли". 2024. — Режим доступа: https://headache.ru/upload/medialibrary/a9c/mzn5e5mo57eyoxrkddhn6dp5i6d6euws.pdf (Дата обращения: 15.03.2025).

10. Клинические рекомендации. Наджелудочковые тахикардии. Российское кардиологическое общество. 2020. - Режим доступа: https://scardio.ru/content/Guidelines/2020/Clinic_rekom_NT.pdf (Дата обращения: 29.03.2025).

11. Клинические рекомендации. Перелом верхней челюсти. ООО «Общество специалистов в области челюстно-лицевой хирургии». 2024. — Режим доступа: https://diseases.medelement.com/disease/перелом-верхней-челюсти-кр-рф-2024/18527 (Дата обращения: 15.03.2025).

12. Клинические рекомендации. Ревматоидный артрит. Ассоциация ревматологов России. 2024. — Режим доступа: https://webmed.irkutsk.ru/doc/pdf/kr250.pdf (Дата обращения: 01.04.2025).

13. Клинические рекомендации. Травма носа. Национальная медицинская ассоциация оториноларингологов. 2024. — Режим доступа: https://diseases.medelement.com/disease/травма-носа-кр-рф-2024/18328 (Дата обращения: 20.03.2025).

14. Методика идентификации материала стандартного образца состава азитромицина с использованием спектральных методов / В. И. Гегечкори, Н. А. Шульга, О. Ю. Щепочкина [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. – 2021. – № 3. - С. 21-33

15. Об обеспечении единства измерений: Федеральный закон от 26.06.2008 №102–ФЗ (ред. От 26.06.2008) [Электронный ресурс]. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_77904/ (дата обращения: 04.12.2024).

16. Об оценке стабильности стандартных образцов / П.В. Мигаль, Е.П. Собина, П.М. Аронов [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. - 2023. - Т. 19. - № 3. - С. 65–75.

17. Оценка стабильности стандартного образца примеси А пропранолола методом ускоренного старения / Н.А. Шульга, В.И. Гегечкори, А.С. Филатова [и др.] // Естественные и технические науки. – 2025. – Т. 202. – № 3. – С. 153-155.

18. Патент № CN106748718B КНР, C07C51/285; C07C221/00; C07C231/12; C07C231/12. Preparation Process of Ketoprofen : № CN201611114323.9A : заявл.

07.12.2016 : опубл. 31.05.2017 / C. Feng, G. Yin, B. Yan // Patents.Google : официальный сайт. – URL: https://patents.google.com/patent/CN106748718B/en

19. Патент № WO 2009/111998 A2 Соединенные Штаты Америки, C07D215/18; A61P11/06; A61P37/00; A61P37/00; C07D405/10. Specific impurities of montelukast : № 12922267 : заявл. 07.02.2024 / A. Halama, O. Bouskova, P. Gibala, J. Jirman // Patents.Google : официальный сайт. – URL: https://patents.google.com/patent/WO2009111998A3/en

20. Применение метода флуориметрии для определения примесей в субстанции панкреатина в целях создания стандартного образца / В.И. Гегечкори, А.А. Шатилина, Н.А. Шульга [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2022. – Т. 56. – № 11. – С. 59-63.

21. Пропранолол - пятилетний опыт лечения сосудистых гиперплазий / Н.П. Котлукова, В.В. Рогинский, М.Ю. Тимофеева [и др.] // Рос вестн перинатол и педиат. - 2016. - №3. - С. 212-213.

22. 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, С. Корди, М.О. Белявский // Химико-фармацевтический журнал – 2025. – Т. 59 – № 3. С. 50-55

23. Реестр фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Российской Федерации (ФСО ГФ РФ) [Электронный ресурс] // Режим доступа: https://www.regmed.ru/produkt-n-service/fso/fso-registry/fso-of-biological-origin/ (дата обращения: 14.04.2025).

24. Российская Федерация. Правительство Российской Федерации. Об утверждении перечня жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, а также перечней лекарственных препаратов для медицинского применения и минимального ассортимента лекарственных препаратов, необходимых для оказания медицинской помощи : Распоряжение Правительства Российской Федерации от 12 октября 2019 г.

№ 2406-р (ред. от 15.01.2025) // Правительство Российской Федерации : офиц. сайт. – URL: http://government.ru/docs/all/124156/ (дата обращения: 20.01.2025).

25. "Российское кардиологическое общество, Клинические рекомендации: Артериальная гипертензия у взрослых. Коды по МКБ 10: 110/111/112/113/115.Возрастная группа: взрослые. 2020 г. [Электронный ресурс] // Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_346170/8efd5f17af55cb35a770f73937590c642437b7eb/ (дата обращения: 01.09.2022)."

26. Современные методы контроля и регулирования примесей в лекарственных средствах / Н.А. Шульга, А.Г. Меркушова, В.И. Гегечкори [и др.] // Фармация. – 2024. – Т. 73. – № 6. – С. 16 – 25.

27. Стабильная ишемическая болезнь сердца. Клинические рекомендации 2024 // Российский кардиологический журнал. - 2024. - Т. 29 . №9. - С. 1-64. - Текст : непосредственный.

28. Чепило, Д.А. Разработка стандартных образцов для контроля качества антигипертензивных лекарственных средств – ингибиторов АПФ : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Чепило Дмитрий Андреевич ; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 24 с.

29. Чепило, Д.А. Разработка стандартных образцов для контроля качества антигипертензивных лекарственных средств – ингибиторов АПФ : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Чепило Дмитрий Андреевич ; ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). – Москва, 2022. – 141 с.

30. Чичасова, Н.В. Место кетопрофена в клинической практике / Н.В. Чичасова, Г.Р. Имаметдинова // Consilium Medicum. - 2015. - Т. 17. - № 9. - С. 133–138.

31. Шатилина, А.А. Создание стандартных образцов для контроля качества лекарственных средств из группы пищеварительных ферментов : специальность 3.4.2. «Фармацевтическая химия, фармакогнозия» : диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук / Шатилина Анастасия Андреевна ; ФГАОУ ВО ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет). 2024. – 123 с.

32. 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.

33. Эпштейн, Н.А. Об аттестации стандартных образцов в фармации: метод баланса масс / Н.А. Эпштейн // Химико-фармацевтический журнал. - 2017. - Т. 51. - № 10. - С. 48–57.

34. A Review on Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Drug Interactions of Adrenergic β-blockers with Clinically Relevant Drugs-An Overview / N.M.P. Maideen, B. Rajkapoor, S. Muthusamy [et al.] // Current Drug Metabolism. - 2021. - Vol. 22, - №. 9. - P. 672-682.

35. Abdin, A. Y. Chemical Impurities: An Epistemological Riddle with Serious Side Effects / A. Y. Abdin, P. Yeboah, C. Jacob // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2020. – Vol. 17. – Chemical Impurities. – № 3. – P. 1030.

36. Ahuja, S.S. Assuring quality of drugs by monitoring impurities / S.S. Ahuja // Advanced Drug Delivery Reviews. – 2007. – Vol. 59. № 1. P. 3-11.

37. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods / S. L. Ferreira, R.E. Bruns, H.S. Ferreira [et al.] //Analytica chimica acta. – 2007. – Vol. 597. – №. 2. – P. 179-186.

38. Brennan, Z. ICH Makes Organizational Changes // Regulatory Affairs Professionals Society. – 26 October 2015. – URL: https://www.raps.org/news-and-articles/news-articles/2015/10/ich-makes-organizational-changes (дата обращения: 01.04.2025).

39. Ciprandi, G. Ketoprofen and ketoprofen lysine salt in managing children with mild-moderate acute pain: evidence emerging from comparative trials / G. Ciprandi, F. Scaglione // Panminerva Medica. - 2025. - Vol. 67, - №. 1. - P. 46-51.

40. Critical review on establishment and availability of impurity and degradation product reference standards, challenges faced by the users, recent developments, and trends / D. K. Singh, A. Sahu, S. Kumar [et al.] // TrAC Trends in Analytical Chemistry. — 2018. — Vol. 101. — P. 85–107.

41. Defining patient centric pharmaceutical drug product design / S. Stegemann, R.L. Ternik, G. Onder [et al.] //The AAPS journal. – 2016. – Vol. 18. – P. 1047-1055.

42. Degradation of anti-inflammatory drug ketoprofen by electro-oxidation: Comparison of electro-Fenton and anodic oxidation processes / L. Feng, N. Oturan, E. D. van Hullebusch, G. Esposito [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. — 2014. — Vol. 21. — P. 8406–8416.

43. Delaney, E. J. An impact analysis of the application of the threshold of toxicological concern concept to pharmaceuticals / E. J. Delaney //Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2007. – Vol. 49. – №. 2. – P. 107-124.

44. Determination of residual 4-nitrobenzaldehyde in chloramphenicol and its pharmaceutical formulation by HPLC with UV/Vis detection after derivatization with 3-nitrophenylhydrazine / L. Luo, C. Gu, M. Li [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2018. – Vol. 156. – P. 307-312.

45. Development and optimization of liquid chromatography analytical methods by using AQbD principles: Overview and recent advances / T. Tome, N. Žigart, Z. Casar [et al.] // Organic process research & development. – 2019. – Vol. 23. – №. 9. – P. 1784-1802.

46. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review / Blessy M., Patel R.D., Prajapati N.M. [et al.] // Journal of Pharmaceutical Analysis. – 2014. – Vol. 4, №3. – P. 159–165.

47. 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. Gorpinchenko [et al] // Pharmaceuticals. – 2025. – Vol. 18. – № 59.

48. Development of pure certified reference material of squalene / W. Chen, H. Fang, W. Jin [et al.] // Microchemical Journal. - 2023. - Vol. 193. - P. 108926.

49. Diethylene glycol poisoning in Nigerian children / H. O. Okuonghae, I. S. Ighogboja, J. O. Lawson [et al.] // Annals of Tropical Paediatrics. – 1992. – Vol. 12. – № 3. – P. 235-238.

50. European Pharmacopoeia 8th Edition. // Electronic version / European Department for the Quality of Medicines & Healthcare / Strasbourg, France. – 2014.

51. Fanali, S. Some thoughts about enantioseparations in capillary electrophoresis / S. Fanali, B. Chankvetadze //Electrophoresis. – 2019. – Vol. 40. – №. 18-19. – P. 2420-2437.

52. Franks, M. E. Thalidomide / M.E. Franks, G.R. Macpherson, W.D. Figg // The Lancet. – 2004. – Vol. 363. – №. 9423. – P. 1802-1811.

53. Fundamentals of Analytical Chemistry / D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler [et al.]. Boston : Cengage Learning, 2013. - 1368 с. - ISBN 9781285607191. - Текст : непосредственный.

54. Gabrič, A. Oxidation of Drugs during Drug Product Development: Problems and Solutions / A. Gabrič, Ž. Hodnik, S. Pajk // Pharmaceutics. — 2022. — Vol. 14, № 2. — P. 325.

55. Ghose, A. K. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases / A.K. Ghose, V.N. Viswanadhan, J.J. Wendoloski //Journal of combinatorial chemistry. – 1999. – Vol. 1. – №. 1. – P. 55-68.

56. Görög, S. Critical review of reports on impurity and degradation product profiling in the last decade / S. Görög // TrAC Trends Anal. Chem. - 2018. - Vol. 101. P. 2–16.

57. Görög, S. Identification and Determination of Impurities in Drugs. Elsevier / S. Görög; - Budapest: Elsecier Science, 2000. - 748 p. - ISBN: 9780080534404. - Текст: непосредственный.

58. Ha, L. D. Synthesis and establishment of Amlodipine impurity G reference standard / L. D. Ha, T. T. D. Nguyen, T. M. Le // Journal of Applied Pharmaceutical Science. — 2017. — Vol. 7, № 10. — P. 105–110.

59. Hancu, G. Chiral Switch: Between therapeutical benefit and marketing strategy / G. Hancu, A. Modroiu // Pharmaceuticals - 2022. - Vol. 15. - P. 240.

60. Hotha, K. K. Drug-Excipient Interaction of Methylphenidate with Glycerin in Methylphenidate Oral Solution and Identification of its Transesterification Products by UPLC-MS/MS / K.K. Hotha, S. Roychowdhury, V. Subramanian // American Journal of Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 7. – №. 2. – P. 151-164.

61. Hotha, K. K. Drug-excipient interactions: case studies and overview of drug degradation pathways / K.K. Hotha, S. Roychowdhury, V. Subramanian // American Journal of Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 7. – №. 1. – P. 107-140.

62. Hu, Z. Synthesis of ketoprofen / Z. Hu // Journal of Chinese Pharmaceutical Industry. — 2004. — Vol. 35. — P. 520–521.

63. ICH M7(R2). Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (2023) [Electronic resource] - URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-m7-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities-pharmaceuticals-limit-potential-carcinogenic-risk-scientific-guideline (Дата обращения: 01.04.2025).

64. ICH Q3A(R2). Impurities: Guideline for New Drug Substances (2006) [Electronic resource] - URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3a-r2-impurities-new-drug-substances-scientific-guideline (Дата обращения: 18.03.2025).

65. ICH Q3B(R2). Impurities: Guideline for New Drug Products (2006) [Electronic resourcec] - URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3b-r2-impurities-new-drug-products-scientific-guideline (Дата обращения: 01.04.2025).

66. ICH Q3C(R8). Impurities: Guideline for Residual Solvents (2024) [Electronic resource] – URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3c-r9-residual-solvents-scientific-guideline (Дата обращения: 01.04.2025).

67. ICH Q3D(R2). Guideline for Elemental Impurities (2022) [Electronic resource] – URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3d-elemental-impurities-scientific-guideline (Дата обращения: 12.12.2024).

68. ICH Q6A. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances (2000) [Electronic resource] - URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q6a-specifications-test-procedures-acceptance-criteria-new-drug-substances-new-drug-products-chemical-substances-scientific-guideline (Дата обращения: 01.04.2025).

69. ICH Q6B. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological/Biological Products (1999) [Electronic resource] - URL: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q6b-specifications-test-procedures-acceptance-criteria-biotechnological-biological-products-scientific-guideline (Дата обращения: 01.04.2025).

70. ICH Quality Guidelines: An Implementation Guide / A. Teasdale, D. Elder, R.W. Nims. Hoboken : John Wiley & Sons, 2017. - 736 с. - ISBN 978-1-118-97111-6. - Текст : непосредственный.

71. Identification, characterization, synthesis and HPLC quantification of new process-related impurities and degradation products in retigabine / M. Douša, J. Srbek, S. Rádl [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. — 2014. — Vol. 94. — P. 71–76.

72. Impurity profiling of drugs towards safety and efficacy: Theory and practice / K. Dhangar, R. Jagtap, S. Surana. [et al.]// J. Chil. Chem. Soc. - 2017. - Vol. 62, - № 3. - P. 3543–3557.

73. Introducing multifactorial peak crossover in analytical and preparative chromatography via computer-assisted modeling / I.A. Haidar Ahmad , V. Shchurik, T. Nowak //Analytical Chemistry. – 2020. – Vol. 92. – №. 19. – P. 13443-13451.

74. ISO 17034:2016 General requirements for the competence of reference material producers, 2016. Верньер, Женева, Швейцария : база данных. Данные в формате PDF. URL: https://www.iso.org/standard/29357.html (дата обращения: 01.04.2025). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.

75. ISO Guide 30:2015 Reference materials – Selected terms and definitions, 2023. Верньер, Женева, Швейцария : база данных. Данные в формате PDF. URL: https://www.iso.org/standard/46209.html (дата обращения: 01.04.2025). Режим доступа: для зарегистрир. пользователей.

76. James, M. Low-level determination of mutagenic nitrosamine impurities in drug substances by LC–MS/MS / M. James, T. Edge // LCGC Europe. – 2021. - Vol. 34. - №7. - P. 267-276.

77. Karakaplan, M. A practical synthesis of chiral 3-aryloxy-1,2-propanediols / M. Karakaplan, Y. Turgut, H. Hoşgören // Journal of Chemical Research. — 2005. — Vol. 2005, № 1. — P. 41–42.

78. Ketoprofen as an emerging contaminant: occurrence, ecotoxicity and (bio)removal / E. Tyumina, M. Subbotina, M. Polygalov // Frontiers in Microbiology. - 2023. - Vol. 14. - P. 1200108.

79. Ketoprofen removal by O_3 and O_3/UV processes: Kinetics, transformation products and ecotoxicity / E. Illés, E. Szabó, E. Takács [et al.] // Science of the Total Environment. — 2014. — Vol. 472. — P. 178–184.

80. Konieczka, P. The Role of and the Place of Method Validation in the Quality Assurance and Quality Control (QA/QC) System / P. Konieczka // Critical Reviews in Analytical Chemistry. — 2007. — Vol. 37. — P. 173–190.

81. Kuczyńska, J. Future prospects of ketoprofen in improving the safety of the gastric mucosa / J. Kuczyńska, B. Nieradko-Iwanicka // Biomedicine & Pharmacotherapy. - 2021. - Vol. 139. - P. 111608.

82. Kuczyńska, J. The comparison of dexketoprofen and other painkilling medications (review from 2018 to 2021) / J. Kuczyńska, A. Pawlak, B. Nieradko-Iwanicka // Biomedicine & Pharmacotherapy. - 2022. - Vol. 149. - P. 112819.

83. Ladage, D. Cardio-selective beta-blocker: pharmacological evidence and their influence on exercise capacity / D. Ladage, R.H.G. Schwinger, K. Brixius // Cardiovascular Therapeutics. - 2013. - Vol. 31, - №. 2. - P. 76-83.

84. Liu, D. Q. Recent advances in trace analysis of pharmaceutical genotoxic impurities / D.Q. Liu, M. Sun , A.S. Kord //Journal of pharmaceutical and biomedical analysis. – 2010. – Vol. 51. – №. 5. – P. 999-1014.

85. Liu, K.-T. Determination of Impurities in Pharmaceuticals: Why and How? / Liu, K.-T., Chen, C.-H. // Quality Management and Quality Control / под ред. P. Pereira, S. Xavier. – Rijeka : IntechOpen. 2019.

86. Lu, B. Study on the synthesis of ketoprofen / B. Lu, Y. Z. Wang, Y. Li // Chinese Journal of Medicinal Chemistry. — 2000. — Vol. 10. — P. 127–128.

87. Management of organic impurities in small molecule medicinal products: Deriving safe limits for use in early development / J. Harvey, A. Fleetwood, R. Ogilvie // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2017. – Vol. 84. – P. 116-123.

88. Pharmaceutical impurity analysis by comprehensive two-dimensional temperature responsive × reversed phase liquid chromatography / K. Wicht, M. Baert, A. Kajtazi [et al.] // J. Chromatogr. A. - 2020. - Vol. 1630. - P. 461-561.

89. Pirok, B. W. J. Recent developments in two-dimensional liquid chromatography: fundamental improvements for practical applications / B. W. J. Pirok, D.R. Stoll, P. J. Schoenmakers //Analytical Chemistry. – 2018. – Vol. 91. – №. 1. – P. 240-263.

90. Pokar, D. Industrial approaches and consideration of clinical relevance in setting impurity level specification for drug substances and drug products / D. Pokar, N. Rajput, P. Sengupta //International Journal of Pharmaceutics. – 2020. – Vol. 576. – P. 119018.

91. Pounikar, A. Genotoxic impurities: an important regulatory aspect / A. R Pounikar, M. J Umekar, K. R Gupta // Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. – 2020. – P. 10-25.

92. Prachi, S. Influence of peroxide impurities in povidone on the stability of selected β-blockers with the help of HPLC / S. Prachi, C. Komal, M.J. Priti // AAPS PharmSciTech. – 2017. – Vol. 18. – P. 2410-2417.

93. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology / под редакцией H. G. Brittain. - 1-е изд. - Лондон : Academic Press, 2017. – Т.37. – 464. с. – ISBN 978-5-4235-0273-7. – Текст : непосредственный.

94. Recent advances in chromatography for pharmaceutical analysis / V. D'Atri, S. Fekete, A. Clarke [et al.] //Analytical chemistry. – 2018. – Vol. 91. – №. 1. – P. 210-239.

95. Reichert U. Elemental Impurities: Implications for Manufacturers of Drug Products, APIs, and Excipients // American Pharmaceutical Review. - 2016. - Электрон. версия. – URL: https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/239888-Elemental-Impurities-Implications-for-Manufacturers-of-Drug-Products-APIs-and-Excipients/

96. Sensitive quantitation of residual phenylhydrazine in antipyrine by LC-ICP-MS with iodo derivatization / K. Harigaya, H. Yamada, S. Horimoto // Analytical Sciences. – 2014. – Vol. 30. – №. 8. – P. 845-850.

97. Separation and quantification of organic-related impurities of beta-adrenergic receptor blocking agent propranolol in pharmaceutical solid dosage forms: Impurity profiling using

stability-indicating HPLC method / M. Pasham, S. B. Haridasyam, P. Boppy [et al.] // Sep. Sci. Plus. — 2024. — Vol. 7. — P. 2300159.

98. 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.

99. Simultaneous optimization of mobile phase composition and pH using retention modeling and experimental design / N. Rácz, I. Molnár, A. Zöldhegyi [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2018. – Vol. 160. – P. 336-343.

100. Snodin, D. J. A Primer for Pharmaceutical Process Development Chemists and Analysts in Relation to Impurities Perceived to Be Mutagenic or "Genotoxic" / D. J. Snodin // Organic Process Research & Development. – 2020. – Vol. 24. – № 11. – P. 2407-2427.

101. Snodin, D. J. Genotoxic Impurities: From Structural Alerts to Qualification / D. J. Snodin // Organic Process Research & Development. – 2010. – Vol. 14. – Genotoxic Impurities. – № 4. – P. 960-976.

102. Snodin, D. J. Guidelines and pharmacopoeial standards for pharmaceutical impurities: Overview and critical assessment / D. J. Snodin, S. D. McCrossen // Regulatory Toxicology and Pharmacology. – 2012. – Vol. 63. – Guidelines and pharmacopoeial standards for pharmaceutical impurities. – № 2. – P. 298-312.

103. Solid state compatibility study and characterization of a novel degradation product of tacrolimus in formulation / T. Rozman Peterka, R. Grahek, J. Hren [et al.] // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2015. – Vol. 110. – P. 67-75.

104. Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet / R. Kroes, A. G. Renwick, M. Cheeseman [et al.] // Food and Chemical Toxicology. – 2004. – Vol. 42. – Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC). – № 1. – P. 65-83.

105. Synthesis and control of process-related impurities in the β-lactamase inhibitor drug substance zidebactam / A. A. Pund, V. P. Rane, V. T. Raut [et al.] // Synthetic Communications. — 2023. — Vol. 53, № 13. — P. 1041–1052.

106. The United States Pharmacopoeia 35th revision. / National formular 30th edition (USP 35–NF 30) // Electronic version / The United States Pharmacopeial Convention / Maryland, United States. – 2011.

107. Valsartan recall: global regulatory overview and future challenges / M. J. Farrukh, M. H. Tariq, O. Malik [et al.] // Therapeutic Advances in Drug Safety. – 2019. – Vol. 10. – Valsartan recall. – P. 204209861882345.

108. Wax, P. M. Elixirs, Diluents, and the Passage of the 1938 Federal Food, Drug and Cosmetic Act / P. M. Wax // Annals of Internal Medicine. – 1995. – Vol. 122. – № 6. – P. 456.

109. Wiggins, J.M. Prospective/informal harmonization of pharmacopoeia monographs / J.M. Wiggins. — Текст : электронный // Pharmacopoeial Forum : электронный журнал. — URL: https://www.pharmtech.com/view/prospectiveinformal-harmonization-pharmacopoeia-monographs. — Дата публикации: 15.03.2020.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

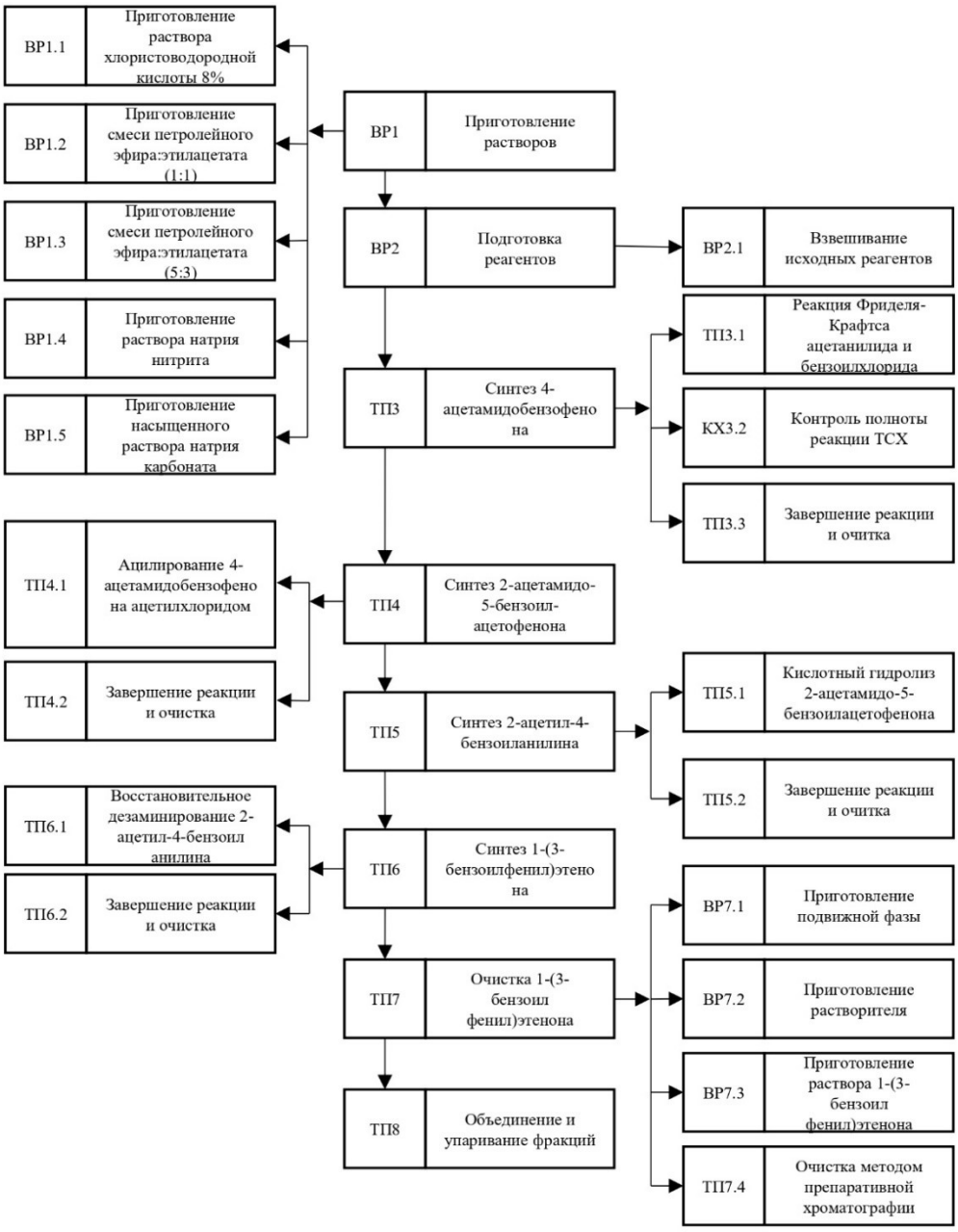


Рисунок А.1 — Схема лабораторного регламента получения материала примеси А кетопрофена

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

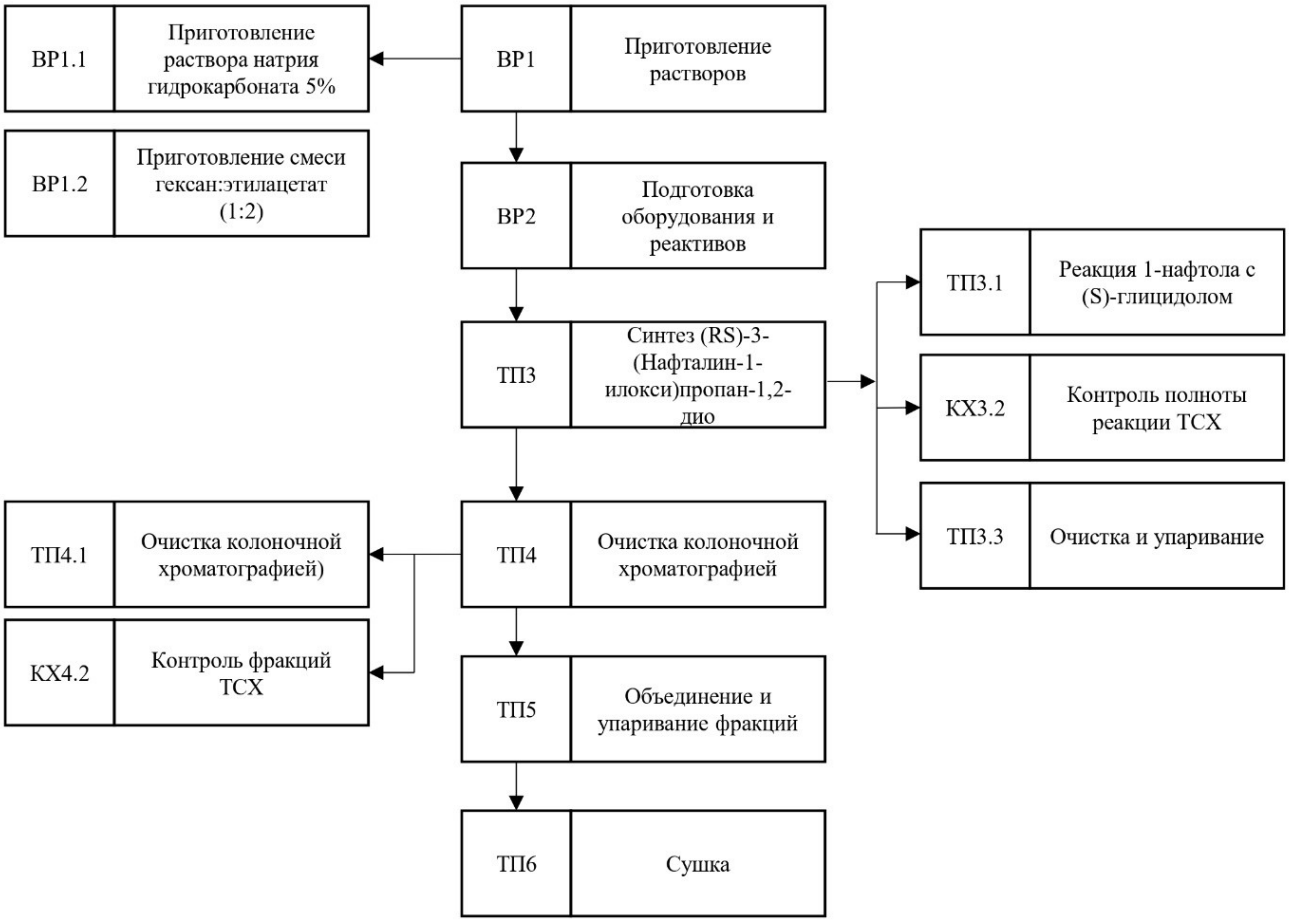


Рисунок Б.1 — Схема лабораторного регламента получения материала примеси А пропранолола

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Таблица В.1 — Материальный баланс процесса получения материала примеси А кетопрофена

Кетопрфоен Примесь А			
Израсходоново		Получено	
А) Сырье:	г/мл	А) Конечный продукт:	
Ацетанилид г	15,80	1-(3-бензоилфенил)этенон	10,65
Бензоилхлорид г	16,40	Б) Потери	
Хлороформ мл	1200,00	Неиспользуемый избыток неочищенного 1-(3-бензоилфенил)этенон (после ТП 6)	3,30
Хлорид алюминия безводный г	41,50	Потери, связанные с очисткой (ТП7)	1,35
Вода мл	1664,50	Неучетные потери (жидкие)	55,00
Хлористоводородная кислота мл	131,00	Неучетные потери (твердые)	16,90
Петролейный эфир мл	572,50	В) Отходы	
Этилацетат мл	747,50	Жидкие отходы синеза	4450,96
Ацетилхлорид мл	10,00	В том числе соли	358,50
Этанол мл	50,00	Хлорид алюминия безводный	41,50
Натрия карбонат додекогидрат г	300,00	Натрия карбонат додекогидрат	300,00
Ледяная уксусная кислота мл	50,00	Натрия нитрит	17,00
Концентрированная серная кислота мл	10,00	Хроматографичекие отходы жидкие	68179,54
Натрия нитрит г	17,00	В том числе	
Н-пропиловый спирт мл	50,00	Муравьиная кислота	68,00
Метанол мл	200,00		
Вода для хроматографии мл	39450,00		
Ацетонитрил мл	28550,00		
Муравьиная кислота мл	68,00		
Итого			
Жидкие, мл	72753,50	Жидкие, мл	72753,50
Твердые, г	390,70	Твердые, г	390,70

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Таблица Г.1 — Материальный баланс процесса получения материала примеси А пропранолола

Пропранолол Примесь А			
Израсходоново		Получено	
А) Сырье:		А) Конечный продукт:	
Натрия гидрокарбонат, г	5,00	(RS)-3-(Нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диол	7,12
Вода, мл	98,20	Б) Потери	
Гексан, мл	2250,00	Жидкие отходы при синтезе	100
Этилацетат, мл	4500,00	в том числе натрия гидрокарбонат	5
1-нафтол, г	5,76	Неучетные потери (жидкие)	22,48
(S)-глицидол, г	3,02	Неучетные потери (твердые)	1,68
Хлорид пиперидиния, г	0,024	В) Отходы	
		Жидкие отходы колоночной хроматографии (ТП4.1)	5967,6
		Отходы упаривания фракций (ТП5): в том числе	
		Смесь гексан:этилацетат	751
Итого			
Жидкие, мл	6848,20	Жидкие, мл	6848,20
Твердые, г	13,80	Твердые, г	13,80

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Общество с ограниченной ответственностью «Национальный центр стандартных образцов»
(ООО «НЦСО»),
117186, г. Москва, ул. Нагорная, д. 3А, этаж 4, пом/ком I/24-34, 36

Лист 1
Всего листов 2

ПАСПОРТ
стандартного образца утверждённого типа
ГСО 12058-2022
Партия № 001

Наименование стандартного образца: стандартный образец состава 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она (Примесь А кетопрофена) (НЦСО-Примесь А кетопрофена).

Назначение: контроль точности результатов измерений и аттестация методик измерений массовой доли 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она в субстанции кетопрофена, фармацевтических препаратах и материалах, в состав которых входит кетопрофен. Стандартный образец может использоваться для:
- установления и контроля стабильности градуировочной (калибровочной) характеристики средств измерений при соответствии метрологических характеристик стандартного образца требованиям методики измерений;
- калибровки средств измерений при соответствии метрологических характеристик стандартного образца требованиям методики калибровки.

Метрологические характеристики:
Аттестованная характеристика – аттестуемая характеристика – массовая доля 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она, %.
Т а б л и ц а – Метрологические характеристики

Аттестуемая характеристика СО	Аттестованное значение СО, %	Границы значений абсолютной погрешности аттестованного значения СО (при *P=0,95*), ±δ %	Значение абсолютной расширенной неопределенности аттестованного значения СО (при P=0,95, k=2) U, %
Массовая доля 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она, %	99,8	±1,0	1,0

Срок годности экземпляра: 2 года.

Описание стандартного образца: стандартный образец представляет собой субстанцию 1-(3-бензоилфенил)этан-1-она (Примесь А кетопрофена), белый или почти белый кристаллический порошок, расфасованный по 25 мг во флаконы темного стекла марки ОС или ОС-1 с кримповыми крышками. Каждый флакон снабжается этикеткой и помещается в полиэтиленовый пакет.

Способ определения метрологических характеристик стандартного образца: аттестованное значение установлено методом прямых измерений на ГЭТ 208-2019 «Государственный первичный эталон единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии» методом массового баланса.

Утверждение о прослеживаемости:
Прослеживаемость аттестованного значения стандартного образца к единице величины «массовая доля компонента», воспроизводимой ГЭТ 208 Государственным первичным эталоном единиц массовой (молярной) доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе жидкостной и газовой хромато-масс-спектрометрии с изотопным разбавлением и гравиметрии, обеспечивается проведением прямых измерений на ГЭТ 208.

Дополнительные сведения
Подлинность материала стандартного образца подтверждена методом ВЭЖХ-МС/МС

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Общество с ограниченной ответственностью «Национальный центр стандартных образцов»
(ООО «НЦСО»),
117186, г. Москва, ул. Нагорная, д. 3А, этаж 4, пом/ком I/24-34, 36

Лист 1
Всего листов 2

ПАСПОРТ
стандартного образца утверждённого типа
ГСО 11935-2022
Партия № 001

Наименование стандартного образца: стандартный образец состава (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола (примесь А пропранолола) (НЦСО - Примесь А пропранолола).

Назначение: контроль точности результатов измерений и аттестация методик измерений массовой доли (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола в субстанции пропранолола, фармацевтических препаратах и материалах, в состав которых входит пропранолол. Стандартный образец может использоваться для:

- установления и контроля стабильности градуировочной (калибровочной) характеристики средств измерений при соответствии метрологических характеристик стандартного образца требованиям методики измерений;
- калибровки средств измерений при соответствии метрологических характеристик стандартного образца требованиям методики калибровки.

Метрологические характеристики:

Аттестованная характеристика – массовая доля (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола, %.

Таблица – Метрологические характеристики

Аттестуемая характеристика СО	Аттестованное значение СО, %	Границы значений абсолютной погрешности аттестованного значения СО (при *P=0,95*), ±δ %	Значение абсолютной расширенной неопределенности аттестованного значения СО (при P=0,95, k=2) U, %
Массовая доля (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола, %	99,3	±1,0	1,0

Срок годности экземпляра: 2 года.

Описание стандартного образца: стандартный образец представляет собой субстанцию (RS)-3-(нафталин-1-илокси)пропан-1,2-диола (примеси А пропранолола), белый или почти белый кристаллический порошок, расфасованный по 25 мг во флаконы темного стекла марки ОС или ОС-1 с кримповыми крышками. Каждый флакон снабжается этикеткой, оформленной согласно требованиям ГОСТ Р 8.691-2010 и помещается в полиэтиленовый пакет.

Способ определения метрологических характеристик стандартного образца: аттестованное значение стандартного образца установлено методом массового баланса по результатам измерений на Государственном первичном эталоне единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации воды в твердых и жидких веществах и материалах ГЭТ 173, Государственном вторичном эталоне единиц массовой доли и массовой (молярной) концентрации органических компонентов в жидких и твердых веществах и материалах на основе газовой и жидкостной хроматографии ГВЭТ 208-1.

Утверждение о прослеживаемости:

Прослеживаемость аттестованного значения стандартного образца к единице величины «массовая доля компонента», воспроизводимой Государственным первичным эталоном единиц массовой доли, массовой (молярной) концентрации воды в твердых и жидких веществах и материалах ГЭТ 173 и Государственным первичным эталоном единиц массовой (молярной) доли и массовой

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет)
_____ Литвинова Т.М.
«___» _____ 20___ г.

01 АПР 2025

АКТ 61

о внедрении результатов диссертации Шульги Николая Андреевича в учебный процесс Института Фармации им А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет)

Мы, нижеподписавшиеся, подтверждаем, что основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации

Шульги Николая Андреевича

на тему «Разработка способов получения примесей некоторых лекарственных средств и их аттестация в качестве стандартных образцов»
внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева и кафедры химии Института Фармации им А.П. Нелюбина

при изучении дисциплин «Общая фармацевтическая химия», «Органическая химия», читаемых студентам по направлению подготовки 33.05.01 Фармация

Директор Института Фармации им. А.П. Нелюбина _____ (Подпись) Раменская Г.В.

Заведующий учебной частью кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А.П. Арзамасцева _____ (Подпись) Кузина В.Н.

Заведующий учебной частью кафедры химии _____ (Подпись) Жевлакова А.К.

Начальник Учебного управления _____ (Подпись) Юдина Л.Ю.

ПРИЛОЖЕНИЕ И

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель генерального директора по взаимодействию с органами государственной власти
Общество с ограниченной ответственностью «Национальный центр стандартных образцов» (ООО «НЦСО»)
к.фарм.н
Саканян К.М.
«05» июля 2023 г.

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы Шульги Николая Андреевича в работу в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов утвержденного типа в ООО «Национальный центр стандартных образцов» (ООО «НЦСО»)

Данный акт подтверждает, что основные научные положения, выводы и рекомендации научно-исследовательской работы

Шульги Николая Андреевича

на тему «Разработка способов получения примесей некоторых лекарственных средств и их аттестация в качестве стандартных образцов»

внедрены в рабочий процесс аналитической лаборатории в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов примесей утвержденного типа в ООО «Национальный центр стандартных образцов»

ПРИЛОЖЕНИЕ К

МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ТОРГОВЛИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И НАДЛЕЖАЩИХ ПРАКТИК»
(ФБУ «ГИЛС и НП»)
Ленинский пр-кт., д. 9, Москва, 119049
Тел. (495) 676-43-60
E-mail: info@gilsinp.ru
http://www.gilsinp.ru

УТВЕРЖДАЮ
И.о. директора
ФБУ «Государственный институт
лекарственных средств и надлежащих практик»
(ФБУ «ГИЛС и НП»)
Поляков С.В.
«23» 06 2023 г.

АКТ

о внедрении результатов научно-исследовательской работы Шульги Николая Андреевича в работу ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП») в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов утвержденного типа

Данный акт подтверждает, что основные научные положения, выводы и рекомендации научно-исследовательской работы

Шульги Николая Андреевича

на тему «Разработка способов получения примесей некоторых лекарственных средств и их аттестация в качестве стандартных образцов»

внедрены в рабочий процесс отдела по реализации проекта разработки стандартных образцов в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов примесей утвержденного типа в ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП»)

ПРИЛОЖЕНИЕ Л

RS LAB
Presice is Safe
Центр фармацевтических инноваций

№ 090425 / 01

«09» апреля 2025 г.

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО «Рефлабфарм»
Топчян В.А.

АКТ

О внедрении результатов научно-исследовательской работы в деятельность ООО «Рефлабфарм» в части разработки и аттестации стандартных образцов.

Данный акт подтверждает, что основные научные положения, выводы и рекомендации научно-исследовательской работы на тему «Разработка способов получения примесей некоторых лекарственных средств и их аттестация в качестве стандартных образцов» внедрены в работу в части синтеза примесей АФС кетопрофена и пропранолола, и использования стандартных образцов примеси А кетопрофена ГСО № 12058-2022 и примеси А пропранолола ГСО № 11935-2022 в ООО «Рефлабфарм».

Руководитель Лаборатории Акоп Варданович Топчян

Руководитель Отдела Качества Ани Вардановна Назарян

РЕФЛАБФАРМ ООО
+37441554055
info@reflab.am
Республика Армения, Ереван, 0019, Силикян 2-ая ул. 25/1