

*На правах рукописи*



Чепило Дмитрий Андреевич

**Разработка стандартных образцов для контроля качества антигипертензивных лекарственных средств – ингибиторов АПФ**

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2022

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

**Научный руководитель:**

Доктор биологических наук, доцент

**Белова Мария Владимировна**

**Официальные оппоненты:**

**Эпштейн Наталья Борисовна**, доктор фармацевтических наук, доцент, Обнинский институт атомной энергетики – филиал федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский ядерный университет «Московский инженерно-физический институт» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, отделение биотехнологий, профессор

**Белуосов Михаил Валерьевич**, доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтического анализа, заведующий кафедрой

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «21» декабря 2022 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.002.02 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бул., д. 37/1 и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>.

Автореферат разослан: « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета ДСУ 208.002.02  
доктор фармацевтических наук, профессор



Демина Наталья Борисовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Артериальная гипертензия – одна из самых распространенных патологий сердечно-сосудистой системы среди населения земного шара. Ранее характерная в большей степени для лиц старших возрастных групп, в современном мире она все чаще встречается у людей среднего возраста, подростков и даже детей. Прогнозируется прирост количества пациентов с артериальной гипертензией до 20 % к 2025 году, что составит около 1,5 миллиарда человек.

Наиболее распространенной рациональной фармакотерапией артериальной гипертензии являются лекарственные средства (ЛС) группы ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) – каптоприл и эналаприл (эналаприла малеат). Доказанная эффективность и профиль безопасности, определяющие наибольшую частоту назначения данных ЛС врачами, широко представленный ассортимент на российском фармацевтическом рынке зарубежных и отечественных препаратов каптоприла и эналаприла (эналаприла малеата), как в монокомпонентном виде, так и в виде комбинаций с другими активными веществами способствовали выбору именно каптоприла и эналаприла (эналаприла малеата) в качестве объектов настоящего исследования в виде активных фармацевтических субстанций.

Текущая тенденция развития фармацевтической отрасли определяет расширение номенклатуры лекарственных средств, в том числе группы иАПФ, что, в свою очередь, также предопределяет обновление существующих и создание новых современных требований к контролю качества препаратов. Применение высокочувствительных, селективных физико-химических и физических методов анализа является неотъемлемой частью проведения контроля качества лекарственных средств. В ходе анализа ведущих зарубежных фармакопей можно сделать заключение, что определение таких ключевых показателей лекарственного средства, как «Количественное определение», «Подлинность» и «Определение чистоты» выполняется аналитическими методами, где в большинстве случаев используются стандартные образцы (СО).

В настоящее время на территории Российской Федерации (РФ) в фармацевтическом анализе преимущественно используются СО зарубежных производителей и практически не применяются отечественные стандарты.

Таким образом, актуальными задачами являются аттестация СО каптоприла и эналаприла малеата, создание соответствующей нормативной документации на аттестуемые СО. Выполнение данных задач позволит насытить отечественный фармацевтический рынок качественным и конкурентным продуктом с постоянной ценой, а также повысит доступность СО на территории РФ.

### **Степень разработанности темы исследования**

Тематике аттестации СО в разные периоды времени были посвящены научные исследования академика Российской академии медицинских наук, профессора Арзамасцева А.П., профессора Садчиковой Н.П., доцента Щепочкиной О.Ю. и других ученых. Актуальные требования, положения и принципы создания и применения СО рассматриваются Государственной Фармакопеей Российской Федерации (ГФ РФ) XIV издания ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы», а также Федеральным законом от 26.06.2008 № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений». На сегодняшний день также существует проект общей фармакопейной статьи «Стандартные образцы» Фармакопеи Евразийского экономического союза.

Использование СО каптоприла и эналаприла в контроле качества ЛС обеспечивает выпуск и обращение качественных, безопасных и эффективных ЛС на отечественном фармацевтическом рынке.

### **Цель исследования**

Цель исследования – разработать стандартные образцы, предназначенные для стандартизации и контроля качества антигипертензивных лекарственных средств иАПФ – каптоприла и эналаприла малеата.

### **Задачи исследования**

Для достижения цели исследования определены следующие задачи:

1. Изучить современное состояние и перспективы совершенствования системы обеспечения качества ЛС и определить основные тенденции развития стандартизации антигипертензивных лекарственных средств – иАПФ в РФ и за рубежом;
2. Провести исследования по изучению физико-химических свойств и разработке методик анализа СО антигипертензивных ЛС – иАПФ с помощью методов комплексной оценки для подтверждения их подлинности;
3. Охарактеризовать качество разрабатываемых СО каптоприла и эналаприла малеата по общим показателям фармакопейного анализа и установить нормы для их дальнейшего контроля качества;
4. Разработать и валидировать методики для анализа чистоты СО каптоприла и эналаприла малеата по показателю «Посторонние примеси» с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии, провести исследование аттестуемых образцов и установить нормы по данному разделу;
5. Разработать и валидировать методику оценки СО каптоприла и эналаприла малеата по показателю «Остаточные органические растворители» с помощью метода газовой хроматографии, провести исследование аттестуемых образцов и установить нормы по данному разделу;
6. Предложить метод количественного определения СО каптоприла и эналаприла малеата, а также оценить приемлемость выбранного метода в контроле качества;
7. Создать проекты регламентирующих документов на СО каптоприла и эналаприла малеата.

## Научная новизна

Предложен комплексный подход аттестации эналаприла (эналаприла малеата) и каптоприла в качестве СО, включающий применение общих фармакопейных испытаний, проведение исследований с использованием высокочувствительных физико-химических методов для определения показателей «Подлинность», «Посторонние примеси», «Остаточные органические растворители».

Определение показателя «Подлинность» с помощью нескольких методов: ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) – позволило провести надежную идентификацию каптоприла и эналаприла малеата.

Разработаны и валидированы методики определения показателей «Посторонние примеси» и «Остаточные органические растворители» с помощью методов высокоэффективной жидкостной хроматографии и газовой хроматографии соответственно.

Предложены нормы аттестуемых показателей для включения в спецификации на СО эналаприла и каптоприла с целью последующего контроля их качества.

## Теоретическая и практическая значимость работы

Подходы, используемые для аттестации СО эналаприла и каптоприла, могут применяться при решении подобного рода задач в отношении других веществ группы иАПФ различного химического строения. Установлены соответствующие нормы качества для СО эналаприла и каптоприла согласно разработанным методикам аналитического контроля. Оформлены проекты нормативной документации (спецификации) для СО эналаприла и каптоприла.

Разработанные методики и комплекс проведенных исследований были учтены при процедуре аттестации СО утвержденного типа состава каптоприла (НЦСО-Каптоприл) ГСО 11697-2021 и СО утвержденного типа состава эналаприла малеата (НЦСО-Эналаприл) ГСО 11691-2021, которые находят свое применение в контроле качества ЛС каптоприла и эналаприла.

## Методология и методы исследования

Настоящая работа выполнена с учетом требований к СО – ОФС.1.1.0007.18 «Стандартные образцы» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XIV издания и Федерального закона от 26.06.2008 № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений».

В ходе настоящего исследования были применены методы ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопии. Содержание воды определяли методом Карла Фишера. Хроматографический анализ осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием, методом газовой хроматографии с пламенно-ионизационным детектором. Количественное определение СО проводили методом материального баланса с учетом таких параметров как содержание воды, сульфатной золы, остаточных органических растворителей и посторонних примесей. Обработка результатов, полученных в ходе проведения исследования, осуществлялась при помощи программного обеспечения: TopSpin, LabSolutions, Microsoft Office Excel.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Обоснование и результаты применения комплекса спектральных методов анализа (ИК-спектроскопии, масс-спектрометрии, ЯМР-спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ )) для достоверной идентификации стандартных образцов эналаприла и каптоприла.
2. Обоснование проведения ряда общих фармакопейных испытаний для контроля качества стандартных образцов эналаприла и каптоприла (внешний вид, растворимость в различных растворителях, прозрачность и цветность, температура плавления, удельное вращение, содержание воды, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, сульфатная зола) и определение соответствующих норм по данным показателям.
3. Определение норм показателя «Посторонние примеси» путем обработки результатов анализа стандартных образцов эналаприла и каптоприла, полученных с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.
4. Определение норм показателя «Остаточные органические растворители» путем обработки результатов анализа стандартных образцов эналаприла и каптоприла, полученных с помощью метода газовой хроматографии.
5. Экспериментальные данные количественного определения стандартных образцов эналаприла и каптоприла.
6. Обоснование норм и показателей качества полученных стандартных образцов эналаприла и каптоприла для создания нормативной документации.

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

Полученные экспериментальные данные являются достоверными и точными, что основывается на достаточном объеме выполненных исследований, применении современных физико-химических методов анализа: ВЭЖХ, ГХ, ИК-, ЯМР-спектроскопия, масс-спектрометрия. Валидированы разработанные методики определения посторонних примесей с помощью метода ВЭЖХ и остаточных органических растворителей с помощью метода ГХ по основным параметрам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная прецизионность), аналитическая область, ПКО, ПО. Проведена статистическая обработка полученных результатов исследований в шести повторностях с помощью Microsoft Office Excel. Все применяемое в ходе исследований оборудование прошло регистрацию и поверку.

Обсуждение результатов работы проведено на 3-м ежегодном конгрессе «IPharmS» (Тегеран, февраль 2021); на научном вебинаре «Pharmtech&Ingredients» (Москва, май 2021); на 23-й Международной выставке оборудования, сырья и технологий для фармацевтического производства «Pharmtech&Ingredients» (Москва, ноябрь 2021); на конференции молодых ученых Сеченовского университета и ВГМУ «Фармация. Вызовы времени» (Москва, ноябрь 2021).

Апробация диссертации проведена «07» сентября 2022 г. 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).

### **Личный вклад автора**

В рамках проведения научно-квалифицированной работы автор определил цель и задачи исследования, составил план исследования. Комплексный анализ аттестуемых СО каптоприла и эналаприла малеата различными способами был выполнен лично автором. Автором проведен ряд общих фармакопейных исследований: описание, растворимость в различных растворителях, прозрачность и цветность, температура плавления, удельное вращение, содержание воды, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, сульфатная зола. Получены и расшифрованы ИК-, ЯМР- и масс-спектры, разработаны и валидированы методики определения остаточных органических растворителей с помощью метода ГХ и посторонних примесей с помощью метода ВЭЖХ для СО каптоприла и эналаприла малеата. Автором подготовлены проекты нормативной документации (спецификации) с целью последующего контроля качества разработанных СО. Публикации и доклады о результатах исследований, а также написание диссертации и автореферата осуществлялись непосредственно автором.

### **Внедрение результатов в практику**

Основные научные положения, выводы и рекомендации кандидатской диссертации внедрены:

1. В учебный процесс кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института Фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) при изучении дисциплины «специальная фармацевтическая химия» по направлениям подготовок (специальностей) 33.05.01 Фармация;
2. В рабочий процесс Управления по инспектированию производства лекарственных средств и экспертизе в части разработки, аттестации и производства стандартных образцов в Федеральном бюджетном учреждении «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации (ФБУ «ГИЛС и НП»);
3. В части разработки, аттестации и производства стандартных образцов в деятельность Общества с ограниченной ответственностью «Национальный центр стандартных образцов» (ООО «НЦСО»).

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

Диссертационные научные положения соответствуют формуле специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия. Полученные в ходе исследования результаты согласуются с областью исследования специальности, а именно пунктам 2 и 3 специальности 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия.

## Связь темы исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена согласно тематике и научному плану исследований 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) «Совершенствование образовательных технологий додипломного и последипломного медицинского и фармацевтического образования» (№ государственной регистрации: 01.2.011.68237).

### Публикации

По результатам исследования автором опубликовано 8 работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 1 научная статья в журнале, индексируемом в Международной системе цитирования Chemical Abstracts; 2 научные статьи в изданиях, индексируемых в международных базах Scopus; 4 публикации в сборниках материалов международных и всероссийских научных конференций (из них 1 зарубежной конференции).

### Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 141 странице, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, общих выводов, списка сокращений (списка сокращений и условных обозначений), списка литературы и приложений. Список литературы включает 118 источников (79 из которых – зарубежные). Работа содержит 46 рисунков и 68 таблиц.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Исходными объектами исследований настоящей диссертационной работы являлись три серии субстанции каптоприла (Рисунок 1 (а)) и три серии субстанции эналаприла малеата (Рисунок 1 (б)), произведенные в Китайской Народной Республике, Индии и РФ (Таблица 1).

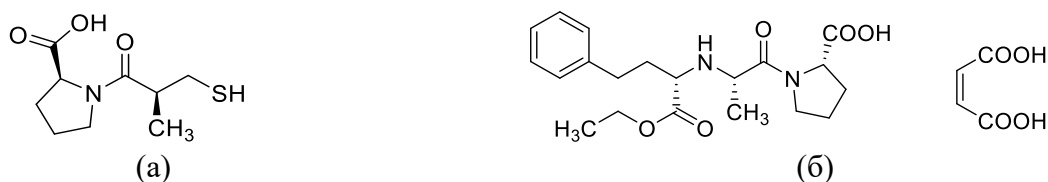


Рисунок 1 – Структурная формула каптоприла (а) и эналаприла малеата (б)

Таблица 1 – Сводная информация об исследуемых сериях субстанций лекарственных веществ

Страна производитель	Номер серии (Условное кодирование серии)	
	Каптоприл	Эналаприла малеат
Китайская Народная Республика	1012020060047 (1К)	541220163 (1Э)
Индия	807112032 (2К)	АЕ020448 (2Э)
РФ	1141021 (3К)	103756 (3Э)



Характеристику физико-химических свойств исследуемых веществ каптоприла и эналаприла малеата, осуществление разработки методик с их последующей валидацией и воспроизведением, а также оценку научно-обоснованных норм качества СО осуществляли в лаборатории аналитических методов исследования ФБУ «ГИЛС и НП» и в научно-исследовательской лаборатории кафедры фармацевтической и токсикологической химии имени А.П. Арзамасцева Института Фармации ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Для идентификации исследуемых образцов были выбраны следующие методы: ИК-спектроскопия, масс-спектрометрия, ЯМР-спектроскопия ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ). Совместное применение таких методик, как ИК-, ЯМР-спектроскопия и масс-спектрометрия, позволило провести комплексную и надежную идентификацию анализируемых образцов и использовать данные методы в последующем контроле качества СО, что несомненно будет гарантировать качество производимой продукции и ее пригодность для выполнения поставленных задач.

При изучении спектральных характеристик исследуемых образцов методом ИК-спектроскопии в области от  $4000\text{ см}^{-1}$  до  $400\text{ см}^{-1}$  применяли ИК-Фурье спектрометр IRAffinity-1S (Shimadzu Corporation, Япония) с программным обеспечением LabSolutions IR. Осуществляли приготовление смеси в соотношении 1-3 мг исследуемого образца вещества на 150-200 мг калия бромида. При изучении спектральных характеристик исследуемых образцов методом ЯМР-спектроскопии снятие и обработку  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектров испытуемых растворов проводили на спектрометре Bruker AVANCE III 400MHz Ultra Shield Plus при помощи программного обеспечения TopSpin. ЯМР-спектр  $^1\text{H}$  снимали на частоте 400 МГц, а ЯМР-спектр  $^{13}\text{C}$  – на частоте 100 МГц. Изучение спектральных характеристик исследуемых образцов методом масс-спектрометрии осуществляли на жидкостном хроматографе Shimadzu Nexera с использованием масс-селективного детектора Shimadzu LCMS-8050. Использовали химическую ионизацию при атмосферном давлении (APCI) для образцов каптоприла и ионизацию электрораспылением с нагреванием (HESI) для образцов эналаприла малеата. При использовании каждого метода в рамках определения показателя «Подлинность» анализу подвергалась каждая серия субстанции в трех повторностях.

Остаточные органические растворители и примесь F определяли методом газовой хроматографии (ГХ) на газовом хроматографе Shimadzu GC-2010 с пламенно-ионизационным детектором и автоматическим устройством для анализа равновесной паровой фазы со шприцевым дозированием пробы Shimadzu Headspace, AOC-5000 Plus. При определении примеси F в исследуемых образцах каптоприла проводили предварительную предколонную дериватизацию, – метилирование по карбоксильной группе и ацилирование пентафторпропионовым ангидридом по тиоловой группе. Методика определения примеси F в исследуемых образцах каптоприла является воспроизведенной методикой из ГФ РФ XIV ФС.2.1.0106.18 Каптоприл, «Примесь F».

Посторонние примеси определяли на жидкостном хроматографе Shimadzu Nexera с детектором UV/VIS SPD-40 на хроматографической колонке типа C 18, в градиентном режиме элюирования подвижной фазы. Исследования образцов каптоприла вели при 210 нм, а образцов эналаприла при 215 нм.

Валидацию разработанных методик определения посторонних примесей и остаточных органических растворителей, а также статистическую обработку полученных результатов проводили в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания.

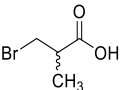
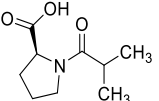
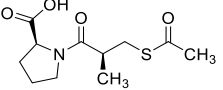
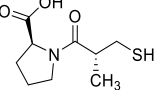
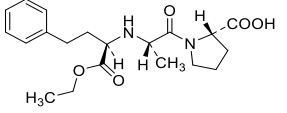
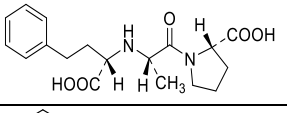
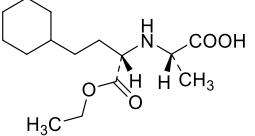
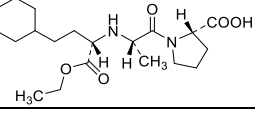
Проведенная валидация методики количественного определения остаточных органических растворителей методом ГХ показала, что методика удовлетворяет критериям приемлемости по параметрам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная прецизионность), аналитическая область, ПКО. Проведенная валидация методик количественного определения посторонних примесей в исследуемых образцах каптоприла и эналаприла малеата методом ВЭЖХ показала, что методики удовлетворяют критериям приемлемости по параметрам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (повторяемость и внутрилабораторная прецизионность), аналитическая область, ПКО, ПО.

Для оценки содержания посторонних примесей каптоприла методом ВЭЖХ, в том числе при валидации разработанной методики, использовали СО примесей каптоприла: В,С,Д,Е,Ж (EP CRS), а также сам СО каптоприла (EP CRS). Для определения содержания примеси F в исследуемых образцах каптоприла методом ГХ использовали СО каптоприла для проверки пригодности системы, содержащий примесь F (EP CRS). Для оценки содержания посторонних примесей эналаприла методом ВЭЖХ, в том числе при валидации разработанной методики, использовали СО примесей эналаприла: СО смеси примесей А (содержит примеси С и Н) (EP CRS), стандарт примеси G (EP CRS), СО эналаприла для проверки пригодности хроматографической системы (содержащий примесь А) (EP CRS). Структурные формулы и химические наименования примесей каптоприла и эналаприла малеата представлены в Таблице 2.

**Таблица 2 – Описание исследуемых примесей каптоприла и эналаприла малеата**

Структурная формула	Кодировка примеси	Химическое наименование
Примеси каптоприла		
	Примесь А	1,1'-[дисульфандиилбис[(2S)-2-метил-1-оксопропан-3,1-диил]]бис[(2S)-пирролидин-2-карбоновая] кислота
	Примесь В	(2S)-1-[(2S)-3-бром-2-метилпропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота
	Примесь С	(2R)-2-метил-3-сульфанилпропановая кислота

## Продолжение Таблицы 2

	Примесь D	(2 <i>S</i> )-3-бром-2-метилпропановая кислота
	Примесь E	(2 <i>S</i> )-1-(2-метилпропаноил)пирролидин-2-карбоновая кислота
	Примесь J	(2 <i>S</i> )-1-[(2 <i>S</i> )-3-(ацетилсульфанил)-2-метилпропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота
	Примесь F	(2 <i>S</i> )-1-[(2 <i>R</i> )-2-метил-3-сульфанилпропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота
Примеси эналаприла малеата		
	Примесь A	(2 <i>S</i> )-1-[(2 <i>S</i> )-2-[[1 <i>R</i> ]-1-(этоксикарбонил)-3-фенилпропил]амино]пропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота
	Примесь C	(2 <i>S</i> )-1-[(2 <i>S</i> )-2-[[1 <i>S</i> ]-1-карбокси-3-фенилпропил]амино]пропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота
	Примесь G	(2 <i>S</i> )-2-[[1 <i>S</i> ]-3-циклогексил-1-(этоксикарбонил)пропил]амино]пропановая кислота
	Примесь H	(2 <i>S</i> )-1-[(2 <i>S</i> )-2-[[1 <i>S</i> ]-3-циклогексил-1-(этоксикарбонил)пропил]амино]пропаноил]пирролидин-2-карбоновая кислота

При определении посторонних примесей в исследуемых образцах каптоприла использовали раствор сравнения А (содержал точные навески СО примесей В,С,Д,Ж); раствор сравнения В (содержал точные навески СО примеси Е и испытуемого образца каптоприла); раствор сравнения С (содержал примесь А, получаемую окислением каптоприла в испытуемом растворе). При определении посторонних примесей в исследуемых образцах эналаприла малеата использовали раствор сравнения В (содержал точную навеску СО эналаприла для проверки пригодности хроматографической системы, включающего примесь А); раствор сравнения С (содержал СО смеси примесей С и Н); раствор сравнения Д (содержал точную навеску СО примеси G).

Для определения остаточных органических растворителей в исследуемых образцах каптоприла и эналаприла малеата использовали стандартный раствор, полученный внесением точных навесок гексана, метилхлорида (МХ), этанола и ацетона в диметилацетамид с последующим разведением.

### Результаты исследования

Результаты общих фармакопейных испытаний (описание (внешний вид), растворимость в различных растворителях, прозрачность и цветность, температура плавления, удельное вращение, содержание воды, потеря в массе при высушивании, содержание тяжелых металлов, сульфатная зола) позволили установить нормы контроля качества СО каптоприла и эналаприла малеата (Таблицы 3 и 4).

Таблица 3 – Результаты общих фармакопейных испытаний СО каптоприла

Показатель/Метод	Обозначение серии	Результат	Нормирование для исходной субстанции	Нормирование для аттестуемого СО
Описание/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.1.0001.18 «Правила пользования фармакопейными статьями»)	1К	Белый или почти белый кристаллический порошок		
	2К			
	3К			
Растворимость/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость»)	1К	Растворим в воде, легко растворим в метаноле, этаноле и МХ	Растворим в воде, легко растворим в метаноле и МХ	Растворим в воде, легко растворим в метаноле, этанолe и МХ
	2К			
	3К			
Температура плавления, °С/ Термический анализ капиллярным методом (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0011.18 «Температура плавления», метод 1)	1К	106,5 – 107,4	Отсутствует	От 106,0 до 108,0
	2К	106,1 – 107,8		
	3К	106,0 – 107,9		
Удельное вращение, °/ Поляриметрия (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0018.15 «Поляриметрия»)	1К	-129,6	От -132,0 до -127,0 (в пересчете на сухое вещество для 1%-го раствора вещества в этанолe безводном)	От -131,0 до -128,0 (в пересчете на сухое вещество для 1%-го раствора вещества в этаноле безводном)
	2К	-129,2		
	3К	-128,5		
Содержание воды, %/ Титриметрия методом К. Фишера (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.3.0002.15 «Определение воды», метод 1)	1К	0,010	Отсутствует	Не более 0,05
	2К	0,031		
	3К	0,011		
Сульфатная зола, %/ Гравиметрический (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.2.2.0014.15 «Сульфатная зола»)	1К	0,069	Не более 0,2	Не более 0,1
	2К	0,085		
	3К	0,063		
Тяжелые металлы, %/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы», метод 2)	1К	Не более 0,002	Не более 0,002	Не более 0,002
	2К			
	3К			

## Продолжение Таблицы 3

Прозрачность/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0007.15 «Прозрачность и степень мутности жидкостей»)	1К	2%-й водный раствор вещества прозрачен	2%-й раствор вещества должен быть прозрачным или не превышать опалесценцию стандартного эталона I	2%-й водный раствор вещества должен быть прозрачным
	2К			
	3К			
Цветность/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0006.15 «Степень окраски жидкостей», метод 2)	1К	Раствор, полученный в испытании «Прозрачность», бесцветен	2%-й раствор вещества должен быть прозрачным или не превышать опалесценцию стандартного эталона B <sub>9</sub>	Раствор, полученный в испытании «Прозрачность», должен быть бесцветным
	2К			
	3К			

Таблица 4 – Результаты общих фармакопейных испытаний СО эналаприла малеата

Показатель/Метод	Обозначение серии	Результат	Нормирование для исходной субстанции	Нормирование для аттестуемого СО
Описание/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.1.0001.18 «Правила пользования фармакопейными статьями»)	1К	Белый или почти белый кристаллический порошок		
	2К			
	3К			
Растворимость/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0005.15 «Растворимость»)	1К	Умеренно растворим в воде, легко растворим в метаноле, растворим в этаноле 96%	Умеренно растворим в воде, легко растворим в метаноле и диметилформамиде, растворим в этаноле 96%	Умеренно растворим в воде, легко растворим в метаноле, растворим в этаноле 96%
	2К		Умеренно растворим в воде, легко растворим в метаноле, растворим в этаноле 96%	
	3К			
Температура плавления, °С/ Термический анализ капиллярным методом (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0011.18 «Температура плавления», метод 1)	1К	143,1 – 144,6	От 142,0 до 147,0	От 142,0 до 146,0
	2К	142,7 – 143,5		
	3К	143,0 – 144,9		

## Продолжение Таблицы 4

Удельное вращение, %/ Поляриметрия (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0018.15 «Поляриметрия»)	1К	-42,0	От -41,0 до -43,5 (в пересчете на сухое вещество для 1%-го раствора вещества в метаноле)	От -41,0 до -43,0 (в пересчете на сухое вещество для 1%-го раствора вещества в метаноле)
	2К	-41,9		
	3К	-42,3		
Содержание воды, %/ Титриметрия методом К. Фишера (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.3.0002.15 «Определение воды», метод 1)	1К	0,019	Отсутствует	Не более 0,1
	2К	0,027		
	3К	0,020		
Сульфатная зола, %/ Гравиметрический (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.2.2.0014.15 «Сульфатная зола»)	1К	0,043	Не более 0,05	Не более 0,05
	2К	0,046	Не более 0,1	
	3К	0,039	Не более 0,1	
Тяжелые металлы, %/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.2.2.0012.15 «Тяжелые металлы», метод 1)	1К	Не более 0,001	Не более 0,001	Не более 0,001
	2К			
	3К			
Прозрачность/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0007.15 «Прозрачность и степень мутности жидкостей»)	1К	1%-й водный раствор вещества прозрачен	1%-й водный раствор вещества должен быть прозрачным или выдерживать сравнение со стандартным эталоном I	1%-й водный раствор вещества должен быть прозрачным
	2К			
	3К			
Цветность/ Визуальный (ГФ РФ, изд. XIV, том I, ОФС.1.2.1.0006.15 «Степень окраски жидкостей», метод 2)	1К	Раствор, полученный в испытании «Прозрачность», бесцветен	1%-й водный раствор вещества должен быть прозрачным или выдерживать сравнение со стандартным эталоном B <sub>9</sub>	Раствор, полученный в испытании «Прозрачность», должен быть бесцветным
	2К			
	3К			

Полученные ИК-спектры исследуемых образцов подтверждали химическое строение каптоприла и эналаприла малеата (Рисунок 2). Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах исследуемых образцов каптоприла и эналаприла малеата представлено в Таблице 5.

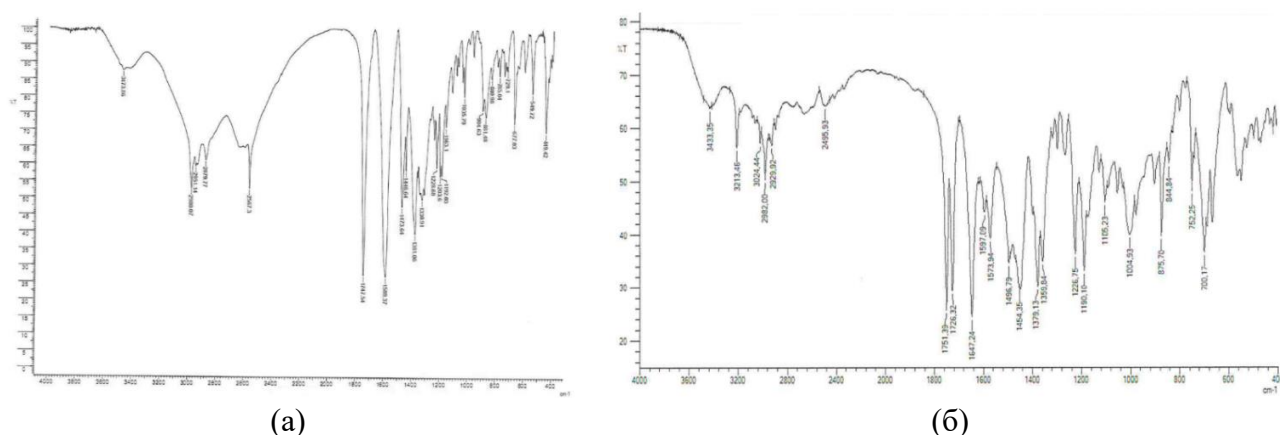


Рисунок 2 – Типичный ИК-спектр исследуемого образца каптоприла (а) и эналаприла малеата (б)

Таблица 5 – Отнесение полос поглощения в ИК-спектрах исследуемых образцов каптоприла и эналаприла малеата

Максимумы полос поглощения деформационных (d) ( $d_s$ - симметричных, $d_{as}$ - антисимметричных), плоскостных деформационных (r), внеплоскостных деформационных (w), а также валентных (n) колебаний, $см^{-1}$
Каптоприл
3474-2567 (nO-H, -COOH), 2980-2880 (nC-H, -CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> , -CH), 2567 (nS-H, -SH), 1748 (nC=O, -COOH), 1589 (nC=O, NC=O), 1474 ( $d_s$ C-H, -CH <sub>2</sub> ), 1447 ( $d_{as}$ C-H, -CH <sub>3</sub> ), 1381 (dC-OH, -COOH), 1331 ( $d_s$ C-H, -CH <sub>3</sub> ), 1192 (nC-N, -C-N-), 881 (dO-H, -COOH), 729 (nC-S, -C-SH), 677 (rC-H, -CH <sub>2</sub> )
Эналаприла малеат
3435 (nN-H, -NH), 3213-3024 (nC-H, -CH <sub>Ar</sub> ), 2982-2930 (nC-H, -CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> , -CH), 3435-2498 (nO-H, -COOH), 1751 (nC=O, -COOEt), 1726 (nC=O, -COOH), 1647 (nC=O, NC=O) 1574 (nC=C, -HC=CH-), 1597 и 1360 (nC-C, C <sub>Ar</sub> -C <sub>Ar</sub> ), 1497 ( $d_s$ C-H, -CH <sub>2</sub> ), 1454 ( $d_{as}$ C-H, -CH <sub>3</sub> ), 1379 ( $d_s$ C-H, -CH <sub>3</sub> ), 1227 (nC(=O)-O, -COOEt), 1190 (nO-C-C, -COOEt), 1105 (nC-N, -C-N-), 1005 (dO-H, -COOH), 876-845 (wC-H, -CH <sub>Ar</sub> ), 752 (rC-H, -CH <sub>2</sub> ), 700 (wC-H, -HC=CH-)

Все снятые ЯМР-спектры исследуемых образцов подтверждали химическое строение каптоприла и эналаприла малеата. Описание и отнесение сигналов в ЯМР-спектрах  $^1H$  и  $^{13}C$  исследуемых образцов каптоприла и эналаприла малеата представлено в Таблицах 6 и 7 соответственно. При рассмотрении  $^{13}C$  ЯМР-спектров описывали только сигналы основного конформера.

Таблица 6 – Описание и отнесение сигналов в ЯМР-спектрах  $^1H$  и  $^{13}C$  исследуемых образцов каптоприла

Наименование ЯМР-спектра каптоприла	Химический сдвиг (d, м.д.) с мультиплетностью в виде дублета (д), мультиплета (м), т-триплета (т), уширенного синглета (уш. с.), КССВ (J, Гц)
$^1H$	1,19 д (3H, CH <sub>3</sub> , J 6,7 Гц), 1,55 т (1H, SH, J 8,7 Гц), 1,96 - 2,18, 2,19 - 2,30, 2,40 - 2,53, 2,72 - 2,96 м (7H, протоны при C3, C4, C10, C11), 3,55 - 3,72 м (2H, протоны при C5), 4,49 - 4,67 м (1H, протон при C2), 11,52 уш. с. (1H, COOH)
$^{13}C$	17,0 (CH <sub>3</sub> ), 24,8 (C3), 27,5 (C4), 28,2 (C11), 42,6 (C10), 47,5 (C5), 59,3 (C2), 174,4 и 175,5 (C6 и C9)

**Таблица 7 – Описание и отнесение сигналов в ЯМР-спектрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  исследуемых образцов эналаприла малеата**

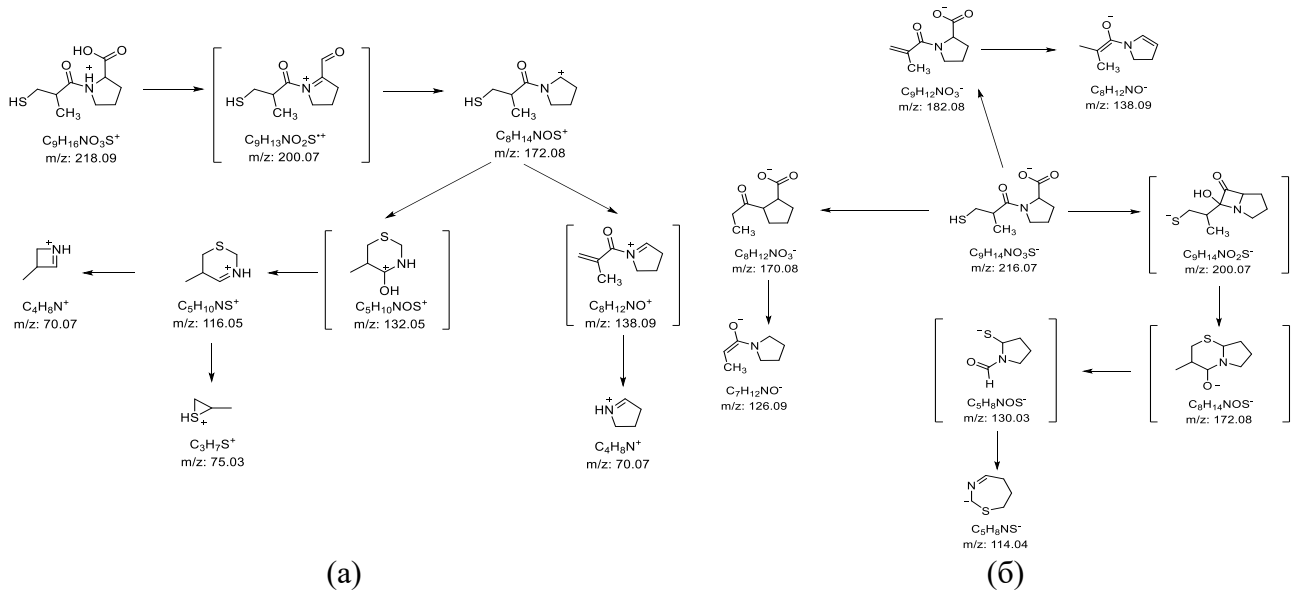
Наименование ЯМР-спектра эналаприла малеата	Химический сдвиг (d, м.д.) с мультиплетностью в виде дублета (д), дублета дублетов (дд), дублета триплетов (дт), квартета (к) мультиплета (м), синглета (с), т-триплета (т), КССВ (J, Гц)
$^1\text{H}$	1,24 т (3H, протоны при C15, J 7,1 Гц), 1,37 и 1,40 2хд (3H, протоны при C18, J 6,8 Гц), 1,57-1,71, 1,80-1,97, 1,97-2,14, 2,14-2,28 м (6H, протоны при C9, C20, C21), 2,52-2,63, 2,66-2,83 м (2H, протоны при C8), 3,36, 3,48, 3,59 дт (2H, протоны при C19, J 11,8, 8,1; 9,5, 6,5; 10,0, 6,5 Гц), 3,66, 3,74 т (1H, протон при C10, J 5,3; 5,5 Гц), 3,86, 4,07 к (1H, протон при C16, J 6,5; 5,9 Гц), 4,11-4,27 м (2H, протоны при C14), 4,30, 4,61 дд (1H, протон при C22, J 8,6, 4,8; 7,7, 2,4 Гц), 6,09 с (2H, протоны при C25 и C26), 7,18-7,26 м (3H, протоны при C2, C4, C6), 7,27-7,34 м (2H, протоны при C3 и C7)
$^{13}\text{C}$	13,6 (C15), 16,1 (C18), 24,2 (C8), 28,2 (C9), 30,5 (C20), 32,4 (C21), 46,0 (C19), 52,8 (C16), 57,7 (C10), 58,4 (C14), 60,8 (C22), 125,7 (C2), 127,9 и 128,0 (C3, C4, C6, C7), 132,7 (C25 и C26), 140,5 (C5), 166,4 (C23 и C24), 169,4 (C1), 170,9 (C12), 172,3 (C17)

При обработке полученного масс-спектра исследуемого образца каптоприла, снятого по типу положительной ионизации (APCI<sup>+</sup>), был определен основной пик молекулярного иона по отношению массы к заряду ( $m/z$ ):  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 218 m/z$ . Фрагментация основного молекулярного иона на тандемном спектре показывала присутствие следующих ионов:  $172 m/z$  ( $\text{C}_8\text{H}_{14}\text{NOS}^+$ ),  $116 m/z$  ( $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{NS}^+$ ),  $75 m/z$  ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{S}^+$ ),  $70 m/z$  ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}^+$ ). Согласно полученным результатам была предложена вероятная схема процесса фрагментации соединения (Рисунок 3 (а)). При обработке полученного масс-спектра исследуемого образца каптоприла, снятого по типу отрицательной ионизации (APCI<sup>-</sup>), был определен основной пик молекулярного иона:  $[\text{M}-\text{H}]^- = 216 m/z$ . Фрагментация основного молекулярного иона на тандемном спектре показывала присутствие следующих ионов:  $182 m/z$  ( $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{NO}_3^-$ ),  $138 m/z$  ( $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{NO}^-$ ),  $126 m/z$  ( $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}^-$ ),  $114 m/z$  ( $\text{C}_5\text{H}_8\text{NS}^-$ ). Согласно полученным результатам была предложена вероятная схема процесса фрагментации соединения (Рисунок 3 (б)).

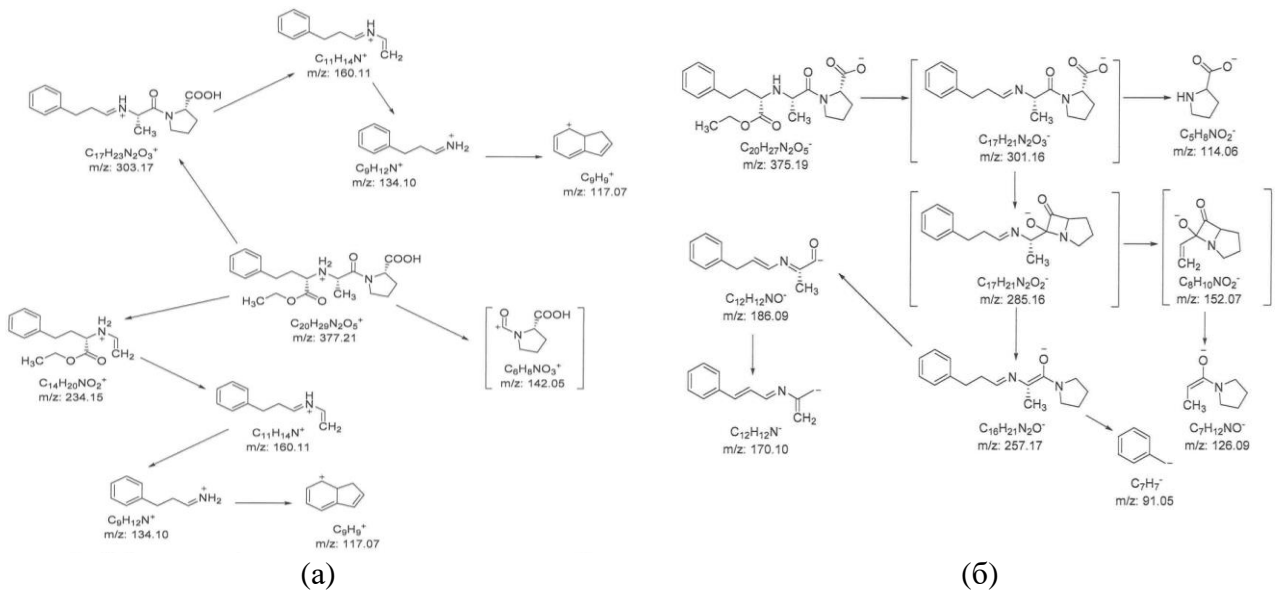
При обработке полученного масс-спектра исследуемого образца эналаприла малеата, снятого по типу положительной ионизации (HESI<sup>+</sup>), был определен основной пик молекулярного иона:  $[\text{M}+\text{H}]^+ = 377 m/z$ . Фрагментация основного молекулярного иона на тандемном спектре показывала присутствие следующих ионов:  $303 m/z$  ( $\text{C}_{17}\text{H}_{23}\text{N}_2\text{O}_3^+$ ),  $234 m/z$  ( $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{NO}_2^+$ ),  $160 m/z$  ( $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}^+$ ),  $134 m/z$  ( $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}^+$ ),  $130 m/z$  ( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}^+$ ),  $117 m/z$  ( $\text{C}_9\text{H}_9^+$ ) и  $91 m/z$  ( $\text{C}_7\text{H}_7^+$ ). Согласно полученным результатам была предложена вероятная схема процесса фрагментации соединения (Рисунок 4 (а)). При обработке полученного масс-спектра исследуемого образца эналаприла малеата, снятого по типу отрицательной ионизации (HESI<sup>-</sup>), был определен основной пик молекулярного иона:  $[\text{M}-\text{H}]^- = 375 m/z$ . Фрагментация основного молекулярного иона на тандемном спектре показывала присутствие следующих ионов:  $257 m/z$  ( $\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_3^-$ ),  $186 m/z$  ( $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{NO}^-$ ),  $170 m/z$  ( $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}^-$ ),  $126 m/z$  ( $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}^-$ ),  $114 m/z$  ( $\text{C}_5\text{H}_8\text{NO}_2^-$ ) и  $91 m/z$  ( $\text{C}_7\text{H}_7^-$ ). Согласно полученным результатам была предложена вероятная схема процесса фрагментации соединения (Рисунок 4 (б)).



Все снятые масс-спектры исследуемых образцов подтверждали химическое строение каптоприла и эналаприла малеата.



**Рисунок 3 – Модели фрагментации: основного молекулярного иона  $[M+H]^+ = 218 m/z$  анализируемого образца каптоприла (ВЭЖХ-МС, АРСІ<sup>+</sup>) (а); основного молекулярного иона  $[M-H]^- = 216 m/z$  анализируемого образца каптоприла (ВЭЖХ-МС, АРСІ<sup>-</sup>) (б)**



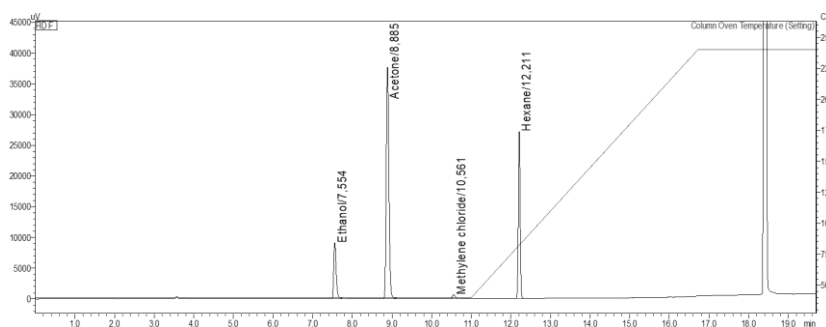
**Рисунок 4 – Модели фрагментации: основного молекулярного иона  $[M+H]^+ = 377 m/z$  анализируемого образца эналаприла малеата (ВЭЖХ-МС, HESI<sup>+</sup>) (а); основного молекулярного иона  $[M-H]^- = 375 m/z$  анализируемого образца эналаприла малеата (ВЭЖХ-МС, HESI<sup>-</sup>) (б)**

### Разработка и валидация методики определения остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии

Предложена универсальная методика определения остаточных органических растворителей в исследуемых образцах каптоприла и эналаприла малеата. В качестве потенциальных примесей

органической природы с последующим нормированием были определены: этанол, ацетон, МХ, гексан. Выбор вышеописанных остаточных органических растворителей определялся их использованием при производстве исходных объектов исследования – активных фармацевтических субстанций (АФС) каптоприла и эналаприла малеата – на стадии очистки.

Порядок выхода компонентов в условиях разработанной и валидированной методики на хроматограмме стандартного раствора представлял следующую последовательность: этанол, ацетон, МХ, гексан (Рисунок 5).



**Рисунок 5 – Порядок выхода остаточных органических растворителей на хроматограмме стандартного раствора**

С помощью разработанной и валидированной методики было оценено содержание остаточных органических растворителей в исследуемых образцах каптоприла и эналаприла малеата. За результат измерения принимали среднее значение не менее шести определений (Таблица 8). Определяли суммарное содержание остаточных органических растворителей в процентах как сумму содержания каждого из компонентов, если его содержание было 0,025 % и более.

**Таблица 8 – Содержание остаточных органических растворителей в испытуемых образцах**

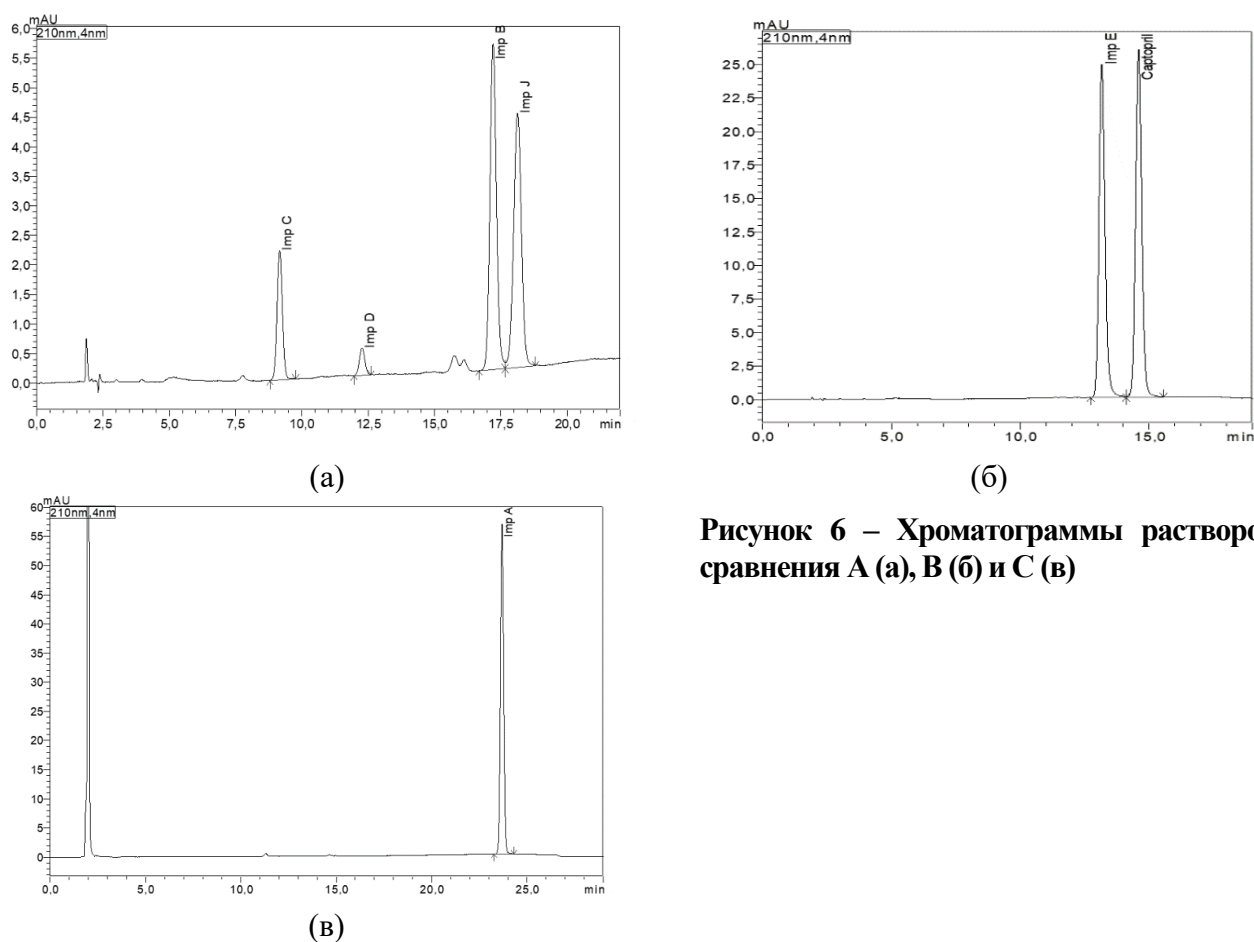
№ серии	Содержание остаточных органических растворителей ( $\pm \sigma$ ), %
<b>Каптоприл</b>	
1К	Этанол, ацетон, гексан – Ниже ПКО; МХ – $0,022 \pm 0,001$
2К	Ацетон, гексан – Ниже ПКО; Этанол – $0,023 \pm 0,001$ ; МХ – $0,041 \pm 0,002$
3К	Этанол, ацетон, гексан – Ниже ПКО; МХ – $0,023 \pm 0,001$
<b>Эналаприла малеат</b>	
1Э	МХ, ацетон, гексан – Ниже ПКО; Этанол – $0,036 \pm 0,002$
2Э	МХ, гексан – Ниже ПКО; Ацетон – $0,030 \pm 0,003$ ; Этанол – $0,051 \pm 0,002$
	Сумма остаточных органических растворителей – 0,081
3Э	МХ, ацетон, гексан – Ниже ПКО; Этанол – $0,029 \pm 0,002$

На основании полученных результатов и требований ГФ РФ XIV издания, ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители» при определении остаточных органических растворителей в исследуемых образцах каптоприла и эналаприла малеата установили нормы для последующего включения в нормативную документацию на СО: этанол – не более 0,5 %; ацетон – не более 0,5 %; МХ – не более 0,06 %; гексан – не более 0,029 %. Сумма остаточных органических растворителей – не более 0,6 %.

## Разработка и валидация методики определения посторонних примесей каптоприла методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

На основании анализа данных в доступных ранее разработанных методиках, имеющих аналогичное или смежное применение, а также на основании экспериментальных исследований, была разработана методика для определения предполагаемых посторонних примесей каптоприла (примеси А, В, С, D, Е, J) с использованием метода ВЭЖХ.

Регистрировали и обрабатывали данные хроматограмм, полученных в условиях разработанной и валидированной методики (Рисунок 6). Результаты количественного определения посторонних примесей в исследуемых образцах каптоприла, полученные с помощью разработанной и валидированной методики, приведены в Таблице 9. Общее содержание примесей вычисляли, как сумму содержания каждой примеси. Итоговым значением являлся средний показатель не менее шести определений.



**Рисунок 6 – Хроматограммы растворов сравнения А (а), В (б) и С (в)**

**Таблица 9 – Содержание посторонних примесей в испытуемых образцах каптоприла**

№ серии	Содержание посторонних примесей ( $\pm \sigma$ ), %
1К	Примесь А – $0,084 \pm 0,002$ ; Примесь В – $0,026 \pm 0,001$ ; Примесь С – $0,032 \pm 0,001$ ; Примеси: D, J – Ниже ПКО; Примесь Е – Ниже ПО; Любая другая единичная примесь – $0,039 \pm 0,0009$ ; Сумма примесей – 0,181
2К	Примесь А – $0,373 \pm 0,001$ ; Примесь С – $0,028 \pm 0,001$ ; Примесь J – $0,105 \pm 0,003$ ; Примесь Е – $0,065 \pm 0,001$ ; Примеси: В, D – Ниже ПКО; Любая другая единичная примесь – $0,054 \pm 0,0007$ ; Сумма примесей – 0,625

## Продолжение Таблицы 9

ЗК	Примесь А – $0,099 \pm 0,002$ ; Примесь С – $0,040 \pm 0,001$ ; Примеси: В, С, D, J – Ниже ПКО; Примесь Е – Ниже ПО; Любая другая единичная примесь – $0,041 \pm 0,0009$ ; Сумма примесей – $0,180$
----	---

На основании полученных результатов определения предполагаемых посторонних примесей в исследуемых образцах каптоприла установили нормы для последующего включения в нормативную документацию на СО: каждая из примесей В, С, D, Е – не более 0,15 %, примесь J – не более 0,2 %, примесь А – не более 1,0 %. Любая другая единичная примесь должна быть не более 0,10 %. Сумма примесей должна составлять не более 1,0 %.

### Определение примеси F для исследуемых образцов каптоприла методом газовой хроматографии

За результат измерения примеси F принимали среднее значение шести определений. Содержание примеси F ( $\pm \sigma$ ), % составляло:  $0,051 \pm 0,003$  (1К);  $0,081 \pm 0,002$  (2К);  $0,064 \pm 0,003$  (3К). На основании полученных результатов определения примеси F в исследуемых образцах каптоприла установили норму для последующего включения в нормативную документацию на СО каптоприла: не более 0,1%.

### Разработка и валидация методики определения посторонних примесей эналаприла малеата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

На основании анализа данных в доступных ранее разработанных методиках, имеющих аналогичное или смежное применение, а также на основании экспериментальных исследований, была разработана методика для определения предполагаемых посторонних примесей эналаприла (примеси А, С, G, H) с использованием метода ВЭЖХ.

Регистрировали и обрабатывали данные хроматограмм, полученных в условиях разработанной и валидированной методики (Рисунок 7).

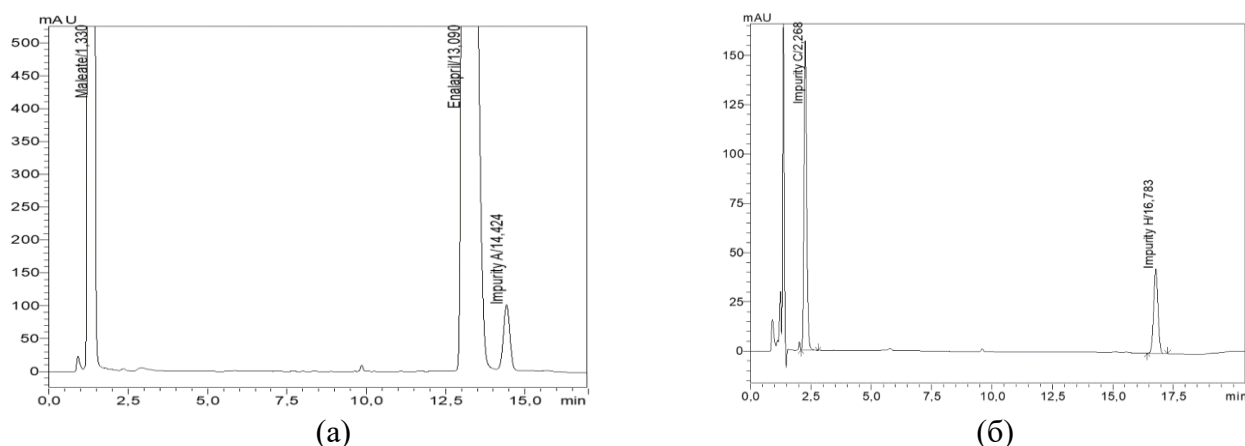


Рисунок 7 – Хроматограммы растворов сравнения В (а) и С (б)

Результаты количественного определения посторонних примесей в исследуемых образцах эналаприла малеата, полученные с помощью разработанной и валидированной методики, приведены в Таблице 10. Общее содержание примесей вычисляли, как сумму содержания каждой примеси. Итоговым значением являлся средний показатель не менее шести определений.

**Таблица 10 – Содержание посторонних примесей в испытуемых образцах эналаприла малеата**

№ серии	Содержание посторонних примесей ( $\pm \sigma$ ), %
1Э	Примесь А – Ниже ПО; Примесь G – Ниже ПКО; Примесь С – $0,089 \pm 0,002$ ; Примесь Н – $0,091 \pm 0,001$ ; Любая другая единичная примесь – $0,033 \pm 0,001$ ; Сумма примесей – 0,213
2Э	Примесь А – $0,245 \pm 0,005$ ; Примесь G – $0,184 \pm 0,005$ ; Примесь С – $0,086 \pm 0,002$ ; Примесь Н – $0,153 \pm 0,004$ ; Любая другая единичная примесь – $0,041 \pm 0,001$ ; Сумма примесей – 0,709
3Э	Примесь А – Ниже ПО; Примесь G – Ниже ПКО; Примесь С – $0,095 \pm 0,001$ ; Примесь Н – $0,097 \pm 0,002$ ; Любая другая единичная примесь – $0,057 \pm 0,001$ ; Сумма примесей – 0,249

На основании полученных результатов определения предполагаемых посторонних примесей в исследуемых образцах эналаприла малеата удалось установить соответствующие нормы для последующего включения в нормативную документацию на СО: примесь А – не более 0,5 %; примесь Н – не более 0,3 %; примесь С – не более 0,2 %, примесь G – не более 0,2 %. Любая другая единичная примесь должна быть не более 0,1 %. Сумма примесей должна составлять не более 1,0 %.

#### **Количественное определение основного компонента методом материального баланса**

Количественное определение проводили регламентированным ГФ РФ XIV методом материального баланса, где содержание основного компонента СО рассчитывали исходя из значений, полученных при определении примесей (неорганические и органические примеси, остаточные органические растворители, вода). При расчете не учитывали значения установленного показателя «Потеря в массе при высушивании» ввиду отдельного определения и учета в расчете значений показателей «Содержание воды» и «Остаточные органические растворители».

Содержание основного вещества (X, %) в СО в пересчете на сухое вещество вычисляли по формулам:

$$X = 100 - x_{\text{ПП}} - x_{\text{F}} - x_{\text{СЗ}} - x_{\text{В}} - x_{\text{ООР}}, \quad \text{каптоприл} \qquad \text{эналаприла малеат}$$

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

где  $x_{\text{ПП}}$  – суммарное содержание посторонних примесей, %;  $x_{\text{F}}$  – содержание примеси F, %;  $x_{\text{СЗ}}$  – содержание сульфатной золы, %;  $x_{\text{В}}$  – содержание воды, %;  $x_{\text{ООР}}$  – суммарное содержание остаточных органических растворителей, %.

При расчете содержания основного компонента СО значения определяющих показателей (примеси, вода и т.д.) не учитывали в случае, если значение каждого отдельного показателя составляло менее 0,025 %.

Результаты расчета содержания основного компонента СО каптоприла ( $\pm \sigma$ ), % составляли:  $99,70 \pm 0,002$  (1К);  $99,14 \pm 0,003$  (2К);  $99,69 \pm 0,002$  (3К).

Результаты расчета содержания основного компонента СО эналаприла малеата ( $\pm \sigma$ ), % составляли:  $99,71 \pm 0,002$  (1Э);  $99,14 \pm 0,003$  (2Э);  $99,68 \pm 0,003$  (3Э).

Исходя из полученных результатов определения содержания основного компонента СО каптоприла и эналаприла малеата, в исследуемых образцах методом материального баланса была установлена

следующая норма: не менее 99,0% (в пересчете на сухое вещество). Данная норма в рамках показателя «Содержание основного вещества» подлежит включению в спецификацию СО. При этом, в документации каждого СО указывается реальное содержание основного компонента. Таким образом все объекты исследования имели достаточно высокие значения содержания основных компонентов и являлись пригодными для использования в качестве СО.

### **Нормы и показатели качества стандартного образца каптоприла и эналаприла малеата**

Осуществление полного перечня испытаний исследуемых образцов позволило сформировать конкретные показатели качества и установить соответствующие нормы, которые подлежали включению в нормативную документацию (спецификацию) на СО каптоприла и эналаприла малеата и были учтены при процедуре аттестации СО утвержденного типа ГСО 11697-2021 (каптоприл) и ГСО 11691-2021 (эналаприла малеат). Показатель «Потеря в массе при высушивании» не был включен в предлагаемые спецификации ввиду отдельного определения с последующим нормированием показателей «Содержание воды» и «Остаточные органические растворители», что обеспечивает более высокие требования к чистоте СО.

### **Выводы**

1. Изучено актуальное состояние и выявлены возможности совершенствования системы обеспечения качества ЛС группы иАПФ с применением СО на территории РФ и за рубежом;
2. Проведен комплексный анализ разработанных СО каптоприла и эналаприла малеата методами ИК-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии ( $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ ) и масс-спектрометрии, по результатам которого установлено их соответствие химической структуры химическим структурам каптоприла и эналаприла малеата. Обоснована необходимость включения перечисленных методов в раздел «Подлинность» нормативной документации на каждый разработанный СО для осуществления надежной идентификации;
3. Проведен ряд общих фармакопейных исследований, позволяющих контролировать качество СО каптоприла и эналаприла малеата. Установлены нормы для показателей, включенных в нормативную документацию СО: описание, растворимость, прозрачность, цветность, температура плавления, удельное вращение, содержание воды, содержание тяжелых металлов, сульфатная зола;
4. Разработаны и валидированы хроматографические методики для анализа СО каптоприла и эналаприла малеата по показателю «Посторонние примеси» с помощью метода ВЭЖХ. Проведено определение примесей и установлены нормы для включения в нормативную документацию на СО каптоприла: примесь А – не более 1,0 %; примесь В,С,Д,Е – каждой примеси не более 0,15 %; примесь J – не более 0,2 %; любая другая единичная примесь – не более 0,10 %; сумма примесей – не более 1,0 %; на СО эналаприла: примесь А – не более 0,5 %; примесь Н – не более 0,3 %; примесь С,Г – каждой примеси не более 0,2 %; любая другая единичная примесь – не более 0,1 %; сумма примесей – не более 1,0 %;
5. Разработана и валидирована хроматографическая методика для анализа СО каптоприла и эналаприла малеата по показателю «Остаточные органические растворители» с помощью метода ГХ.

Проведено определение остаточных органических растворителей при разработке СО каптоприла и эналаприла малеата и установлены нормы остаточных органических растворителей для включения в нормативную документацию на каждый СО: этанол – не более 0,5%; ацетон – не более 0,5%; гексан – не более 0,029 %; МХ – не более 0,06 %; сумма остаточных органических растворителей – не более 0,6 %;

6. Проведено количественное определение СО каптоприла и эналаприла малеата в соответствии с принципом материального баланса. Установлены нормы по показателю «Содержание основного вещества» для разработанных СО – не менее 99,0% (в пересчете на сухое вещество);

7. Созданы нормативные документы (спецификации) для аттестованных СО каптоприла и эналаприла малеата.

### Практические рекомендации

Результаты исследований целесообразно применять при производстве СО каптоприла и эналаприла малеата, в контроле качества одноименных АФС, а также лекарственных препаратов, содержащих исследуемые вещества как в виде монокомпонентов, так и в виде комбинаций с другими веществами.

### Перспективы дальнейшей разработки темы

Представленный подход аттестации исследуемых образцов позволяет применить его к соединениям, отличающимся по химическому строению от каптоприла и эналаприла малеата, что, в свою очередь, позволит нарастить национальный перечень наименований СО и заменить аналогичные зарубежные СО на отечественном фармацевтическом рынке. Представленный способ аттестации СО может применяться не только к АФС, но и к соответствующим примесным соединениям субстанций. Возможность включения результатов проведенного исследования в нормативную документацию АФС, а также лекарственных препаратов, содержащих каптоприл и эналаприла малеат, позволит эффективно контролировать качество соответствующих объектов анализа.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Чепило Д.А.** Применение метода хромато-масс-спектрометрии для идентификации стандартных образцов лекарственных препаратов ингибиторов АПФ / **Д.А. Чепило, В.И. Гегечкори, О.Ю. Щепочкина** [и др.] // **Фармация**. – 2022. – Т.71. – №3. – С. 34 – 41.
2. **Чепило Д.А.** Контроль качества стандартных образцов препаратов группы ингибиторов АПФ по показателю посторонние примеси / **Д.А. Чепило, В.И. Гегечкори, Д.И. Саранчук** [и др.] // **Естественные и технические науки**. – 2022. – №8 (171). – С. 86 – 93 [**Chemical Abstracts**].
3. Щепочкина О.Ю. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств / **О.Ю. Щепочкина, В.И. Гегечкори, В.И. Прокофьева, Д.А. Чепило** [и др.] // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2020. – Т. 54. – №7. – С. 49 – 54. (Shchepochkina O.Y. Modern approaches to the development of standard samples of drugs / O.Y. Shchepochkina, V.I. Gegechkori, V.I. Prokof'eva [et al.] // **Pharmaceutical Chemistry Journal**. – 2020. – Vol.54. – №7. – P. 761 – 765) [**Scopus**].
4. **Чепило Д.А.** Комплексный подход к определению подлинности при разработке стандартных образцов лекарственных препаратов ингибиторов АПФ / **Д.А. Чепило, В.И. Гегечкори, О.Ю. Щепочкина** [и др.] // **Химико-фармацевтический журнал**. – 2022. – Т.56. – №4. – С. 41 – 47. (**Chepilo D.A.** A complex approach to the determination of authenticity in the development of standard samples for ACE inhibitors /

- D.A. Chepilo, V.I. Gegechkori, O.Y. Shchepochkina [et al.] // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2022. – Vol.56. – №4. – P. 515 – 521) [Scopus].**
5. **Чепило Д.А.,** Гегечкори В.И., Щепочкина О.Ю., Раменская Г.В. / Роль стандартных образцов в системе контроля качества лекарственных средств // Сборник тезисов VII Международного молодежного научного медицинского форума «Белые цветы», Казань, Россия, 2020. – С. 163.
  6. **Чепило Д.А.,** Гегечкори В.И., Раменская Г.В. / Разработка стандартных образцов для контроля качества антигипертензивных лекарственных средств – ингибиторов АПФ // Материалы Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Перспективы развития биологии, медицины и фармации», «Вестник ЮКМА», Шымкент, Казахстан, 2020. – С. 163.
  7. **Чепило Д.А.,** Раменская Г.В., Гегечкори В.И., Пожарнов И.А. / Роль стандартных образцов в системе экологического мониторинга при производстве лекарственных средств // Тезисы докладов IV Международной (XVII Региональной) научной конференции «Техногенные системы и экологический риск», Обнинск, Россия, 2021. – С. 384-386.
  8. **Чепило Д.А.,** Гегечкори В.И., Белова М.В. / Подход к разработке стандартных образцов ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента // Сборник научных трудов III Международной научно-практической конференции «Реалии и современные возможности науки», Москва, Россия, 2022. – С. 83-86.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФС – активная фармацевтическая субстанция	ПО – предел обнаружения
ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография	РФ – Российская Федерация
ГФ – Государственная Фармакопея	СО – стандартный образец
ГХ – газовая хроматография	ЯМР-спектр – спектр ядерного магнитного резонанса
иАПФ – ингибитор ангиотензинпревращающего фермента	ЯМР-спектроскопия – спектроскопия ядерного магнитного резонанса
ИК – инфракрасная(-ый)	EP CRS – стандартный образец химического вещества Европейской Фармакопеи
ЛС – лекарственное средство	$\sigma$ – среднеквадратичное (стандартное) отклонение
МХ – метиленхлорид	
ОФС – общая фармакопейная статья	
ПКО – предел количественного определения	