

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ОСТАТОЧНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ В НОВОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ КИСЛОТЫ 3-(1Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-2-ИЛ)-1,2,2-ТРИМЕТИЛЦИКЛОПЕНТАН-КАРБОНОВОЙ

© Метелев А.В.¹, Казакова В.С.^{1,2}, Фадеева Д.А.², Бузов А.А.¹, Чуев В.П.³¹ ООО «БЕЛФАРМАМЕД»

Россия, 308023, Белгородская область, г. Белгород, ул. Студенческая, д. 19

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ БелГУ)

Россия, 308015, Белгородская область, г. Белгород, ул. Победы, д. 85

³ АО «Опытнo-экспериментальный завод «ВладМиВа» (АО «ОЭЗ»ВладМиВа»)

Россия, 308023, Белгородская область, г. Белгород, ул. Студенческая, д. 52

Органические растворители, зачастую обладающие токсическими и/или канцерогенными свойствами, применяются на всех этапах производства фармацевтических субстанций – синтезе, выделении и очистке – и полностью не удаляются после завершения технологического процесса. Наличие даже крайне малых количеств таких соединений в лекарственных средствах может представлять опасность для пациентов. В статье изложены результаты разработки методики определения содержания остаточных органических растворителей (ООР) – спирта этилового, толуола и диметилформамида – в новой активной фармацевтической субстанции (АФС) – кислоте 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой методом газовой хроматографии.

Материалы и методы. Для идентификации и количественного определения ООР использован статический парофазный анализ. Определение остаточных органических растворителей проводили методом внутреннего стандарта с использованием газового хроматографа Shimadzu GC-2014ATF/SPL с автосамплером АОС-6000Plus, была использована хроматографическая колонка Restek SH-Rtx-624MS, 0.32 мм, 30 м, 1,8 мкм, детекция – пламенно-ионизационная. В качестве внутреннего стандарта использован спирт изобутиловый.

Результаты. Разработанная методика использована для определения содержания остаточных органических растворителей в валидационных сериях новой фармацевтической субстанции кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой. Проведена валидация методики в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ.

Заключение. Разработанная методика пригодна для дальнейшего использования в контроле качества при производстве кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой.

Ключевые слова: активная фармацевтическая субстанция (АФС); остаточные органические растворители (ООР); кислота 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбонвая; контроль качества; идентификация; количественное определение.

Метелев Антон Васильевич – химик-аналитик лаборатории контроля качества, ООО «БЕЛФАРМАМЕД», г. Белгород. ORCID iD: 0000-0003-3614-0569. E-mail: chemic2022@rambler.ru

Казакова Валентина Сергеевна – канд. фарм. наук, начальник отдела контроля качества, ООО «БЕЛФАРМАМЕД», г. Белгород; доцент кафедры фармацевтической технологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород. ORCID iD: 0000-0002-6970-2444. E-mail: kazakova@bsu.edu.ru

Фадеева Дарья Александровна – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, НИУ «БелГУ», г. Белгород. ORCID iD: 0000-0002-5539-1390. E-mail: fadeeva@bsu.edu.ru (автор, ответственный за переписку)

Бузов Андрей Анатольевич – канд. тех. наук, зам. директора, ООО «БЕЛФАРМАМЕД», г. Белгород. ORCID iD: 0000-0001-8897-0076. E-mail: buzov@mail.ru

Чуев Владимир Петрович – д-р. тех. наук, ген. директор, АО «ОЭЗ»ВладМиВа», г. Белгород. ORCID iD: 0000-0002-1033-0789. E-mail: chuev@vladmiva.ru

Современные требования к производству и контролю качества лекарственных средств предписывают обеспечить полноценную и всестороннюю оценку новых фармацевтических субстанций (ФС) на стадии фармацевтической разработки.

Новая фармацевтическая субстанция кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбонвой (эмпирическая формула C₁₆H₂₀N₂O₂) синтезирована в ООО «БЕЛФАРМАМЕД» (рис. 1). Согласно результатам исследований на лабораторных животных, данная субстанция (доза – 50 мг/кг/сут) по сравнению с эналаприлатом (5 мг/кг), верапамилом (5 мг/кг) и карведилолом (30 мг/кг) обладает более выраженной кардиопротективной

активностью, улучшаются показатели сократимости на доксорубициновой модели кардиомиопатий [1].

Кроме того, установлено, что данное соединение обладает выраженным антидиабетическим действием [2].

Кислота 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбонвая представляет собой порошок белого или почти белого цвета, растворим в 96% спирте, малорастворим в хлороформе, практически нерастворим в воде. Температура плавления составляет от 252°C до 258°C (с разложением).

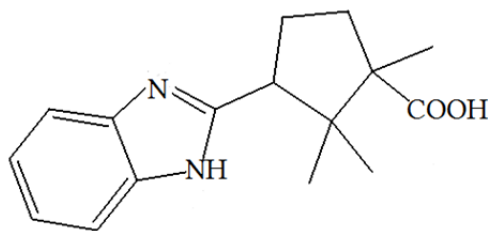


Рис. 1. Структурная формула кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой

Fig. 1. Structure of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid.

Для вновь созданной молекулы с доказанным фармакологическим эффектом в настоящее время разрабатываются нормы качества, отвечающие требованиям Государственной Фармакопеи Российской Федерации 14 издания [3]. В соответствии с современными требованиями, в том числе Государственной Фармакопей РФ (ОФС.1.1.0006.15), в фармацевтических субстанциях необходимо контролировать такой параметр, как содержание остаточных органических растворителей (ООР) [4].

Органические растворители, зачастую обладающие токсическими и/или канцерогенными свойствами, применяют на всех этапах производства фармацевтических субстанций – синтезе, выделении и очистке – и полностью не удаляются после завершения технологического процесса. Наличие даже крайне малых количеств таких соединений в лекарственных средствах может представлять опасность для пациентов [5, 6].

Определение содержания остаточных органических растворителей в фармацевтических субстанциях в настоящее время проводят с использованием газовой хроматографии – метода, отличающегося высокой точностью и производительностью [7]. Оптимальным вариантом для определения ООР является использование парофазного газохроматографического анализа [8-10].

Задачей настоящего исследования стала разработка и валидация методики определения остаточных органических растворителей методом парофазной газовой хроматографии в фармацевтической субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: новая фармацевтическая субстанция кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой (М.м – 272,35 г/моль), рабочие стандартные образцы (РСО) толуола, диметилформамида и

спирта этилового. Образцы субстанции и стандартные образцы растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (х.ч., ТУ 2635-114-44493179-08).

Определение остаточных органических растворителей проводили методом внутреннего стандарта с использованием газового хроматографа Shimadzu GC-2014ATF/SPL с автосамплером АОС-6000Plus (Япония), была использована хроматографическая колонка: Restek SH-Rtx-624MS, 0,32 мм, 30 м, 1,8 мкм, детекция – пламенно-ионизационная.

Валидация и статистическая обработка результатов проведена в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи РФ 14 издания.

Методика определения остаточных органических растворителей. Приготовление раствора РСО 1. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 20 мл ДМСО, 520 мг этилового спирта 96% (точная навеска), 89 мг толуола (точная навеска), 88 мг ДМФА (точная навеска), перемешивают, доводят тем же растворителем до метки.

Приготовление раствора РСО 2. В мерную колбу 100 мл помещают 50 мл ДМСО, добавляют 10 мл раствора РСО 1, перемешивают, доводят тем же растворителем до метки.

Приготовление раствора внутреннего стандарта. В мерную колбу на 100 мл вносят 50 мл ДМСО, 80 мг (точная навеска) изобутилового спирта, перемешивают, доводят тем же растворителем до метки.

Для проведения теста «Предел количественного определения» путем разбавления модельных растворов готовили концентрации этилового спирта, толуола, ДМФА до высоты пика искомого компонента, в 10 раз превышающих уровень шума сигнала.

Для хроматографирования РСО во флакон для парофазного анализа вместимостью 20 мл вносили 4 мл ДМСО, 1 мл внутреннего стандарта и 5 мл раствора РСО 2, после чего герметизировали флаконы. Для хроматографирования образцов субстанции во флакон для парофазного анализа вместимостью 20 мл вносили 1000 мг (точная навеска) анализируемой субстанции,

9 мл ДМСО и 1 мл раствора внутреннего стандарта, флаконы герметизировали. Хроматографировали образцы РСО и образцы препарата, получая по три хроматограммы для каждого из анализируемых растворов (отдельные флаконы).

Определение остаточных органических растворителей проводили в условиях:

- температура инжектора – 250°C;
- температура детектора – 250°C;
- температура дозатора – 130°C;
- температура термостатирования проб – 120°C;
- время термостатирования – 10 мин.

Содержание растворителей (%) в субстанции кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой определяли по формулам:

$$X(\text{толуол, ДМФА}) = \frac{\frac{S_{\text{обр}}}{S_{\text{вн.ст}}} \times m_{\text{ст}}}{\frac{S_{\text{PCO}}}{S_{\text{вн.ст}}} \times m_{\text{нав.преп.}}}$$

$$X(\text{этиловый спирт}) = \frac{\frac{S_{\text{обр}}}{S_{\text{вн.ст}}} \times m_{\text{ст}} \times \omega_{\text{сп.эт.}}}{\frac{S_{\text{PCO}}}{S_{\text{вн.ст}}} \times m_{\text{нав.преп.}} \times 100},$$

где:

$S_{\text{обр}}$ – площадь пиков искомых компонентов на хроматограммах испытуемого препарата;

$S_{\text{вн.ст}}$ – площадь пиков внутреннего стандарта на хроматограммах испытуемого препарата и РСО;

S_{PCO} – площадь пиков искомых компонентов на хроматограммах РСО;

$m_{\text{ст}}$ – масса навесок РСО толуола и ДМФА, г;

$m_{\text{нав.сп}}$ – масса навесок РСО спирта этилового, г;

$m_{\text{нав.преп.}}$ – масса навесок препарата, г;

$\omega_{\text{сп.эт}}$ – массовая доля спирта этилового в РСО спирта этилового, из сертификата качества, %.

Согласно требованиям Государственной Фармакопеи РФ 14 издания (ОФС.1.1.0008.15. Остаточные органические растворители), содержание толуола в субстанциях не должно превышать 0,089%, диметилформамида 0,088%. Содержание этанола в субстанции, исходя из особенностей технологического процесса, было установлено в пределах не более 0,7%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе синтеза субстанции используют диметилформамид (ДМФА) и толуол, для очистки субстанции применяют спирт этиловый [2]. ДМФА и толуол, согласно требованиям ОФС.1.1.0008.15, относятся к органическим растворителям 2 класса токсичности с предельным содержанием в лекарственных средствах 880 и

890 ppm соответственно. Растворители этого класса должны быть идентифицированы и определены количественно. Этанол относится к растворителям 3 класса токсичности, так как его содержание в субстанции более 0,5%, он также должен быть идентифицирован и определен количественно.

В качестве внутреннего стандарта использовали изобутиловый спирт, так как его время удерживания значительно отличается от времени удерживания исследуемых компонентов, таким образом обеспечивается высокое разрешение пиков на хроматограммах.

На основании проведенных предварительных исследований оптимальным растворителем для РСО и образцов кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой стал диметилсульфоксид (ДМСО), так как он не взаимодействует с исследуемой субстанцией, имеет более высокую температуру кипения, чем у исследуемых компонентов, а также хорошо элюируется из колонки.

Была разработана универсальная методика, позволяющая одновременно идентифицировать и определить количественно содержание остаточных органических растворителей в исследуемой субстанции.

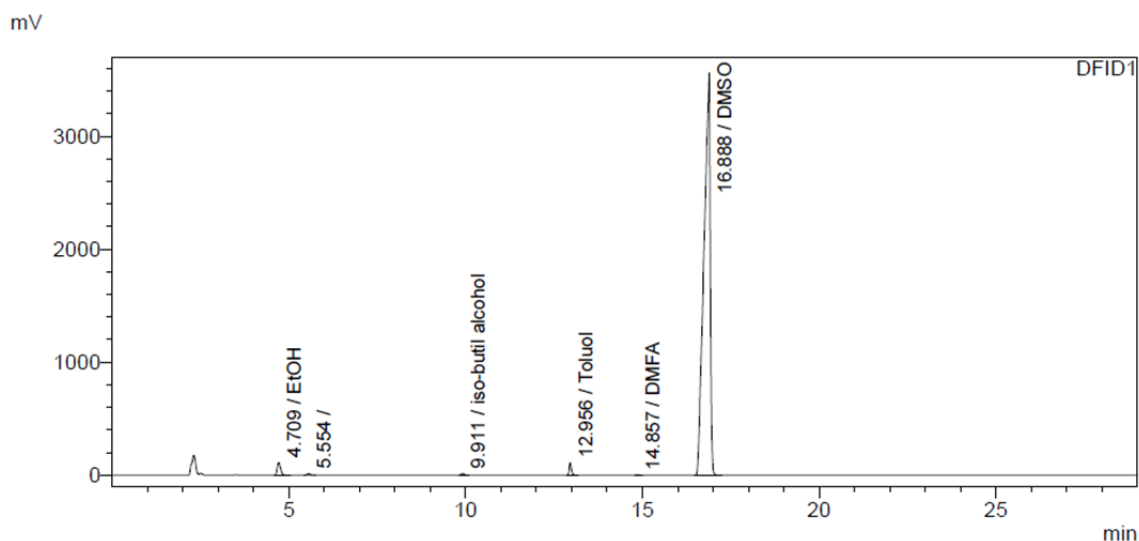
С использованием разработанной методики было проведено исследование трех серий фармацевтической субстанции кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой по показателю «Содержание остаточных органических растворителей». На рисунке 2 представлена типичная хроматограмма, полученная при определении ООР в субстанции.

Время удерживания этанола составило 4,7 мин, толуола – 12,96 мин, диметилформамида – 14,9 мин. Хроматограмма характеризуется хорошим разрешением пиков. Результаты исследования трех серий субстанции приведены в таблице 1.

Таким образом, содержание всех растворителей находится в регламентируемых пределах.

Согласно ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» (ГФ РФ 14 издания), методики, предназначенные для определения посторонних примесей, к которым относятся и остаточные растворители, должны быть валидированы по характеристикам специфичность, предел количественного определения, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность.

Специфичность методики заключается в ее способности однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.



<Peak Table>

DFID1

Peak#	Ret. time	Area	Height	Area%	Name
1	4.709	711647	111450	1.578	EtOH
2	5.554	75933	13151	0.168	
3	9.911	65314	13573	0.145	iso-butyl alcohol
4	12.956	464397	107929	1.030	Toluol
5	14.857	12936	2830	0.029	DMFA
6	16.888	43773215	3559073	97.051	DMSO
Total		45103442	3808006	100.000	

Рис. 2. Типичная хроматограмма, полученная при определении содержания ООР в фармацевтической субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой.

Fig. 2. Typical chromatogram for determining residual solvents content in 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid.

Таблица 1

Table 1

Результаты количественного определения остаточных органических растворителей в субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой

Results of quantitative determination of residual organic solvents in 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid

Номер серии Batch No.	Органический растворитель Residual organic solvent	$X \pm \Delta X$, %	Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %
011220	Толуол Toluene	0.086 ± 0.0048	6.85
	Этанол Ethanol	0.620 ± 0.0260	5.10
	ДМФА Dimethylformamide	0.083 ± 0.004	5.91
021220	Толуол Toluene	0.078 ± 0.005	8.12
	Этанол Ethanol	0.580 ± 0.027	5.56
	ДМФА Dimethylformamide	0.083 ± 0.001	2.15
031220	Толуол Toluene	0.080 ± 0.002	3.73
	Этанол Ethanol	0.583 ± 0.016	3.37
	ДМФА Dimethylformamide	0.081 ± 0.002	2.74

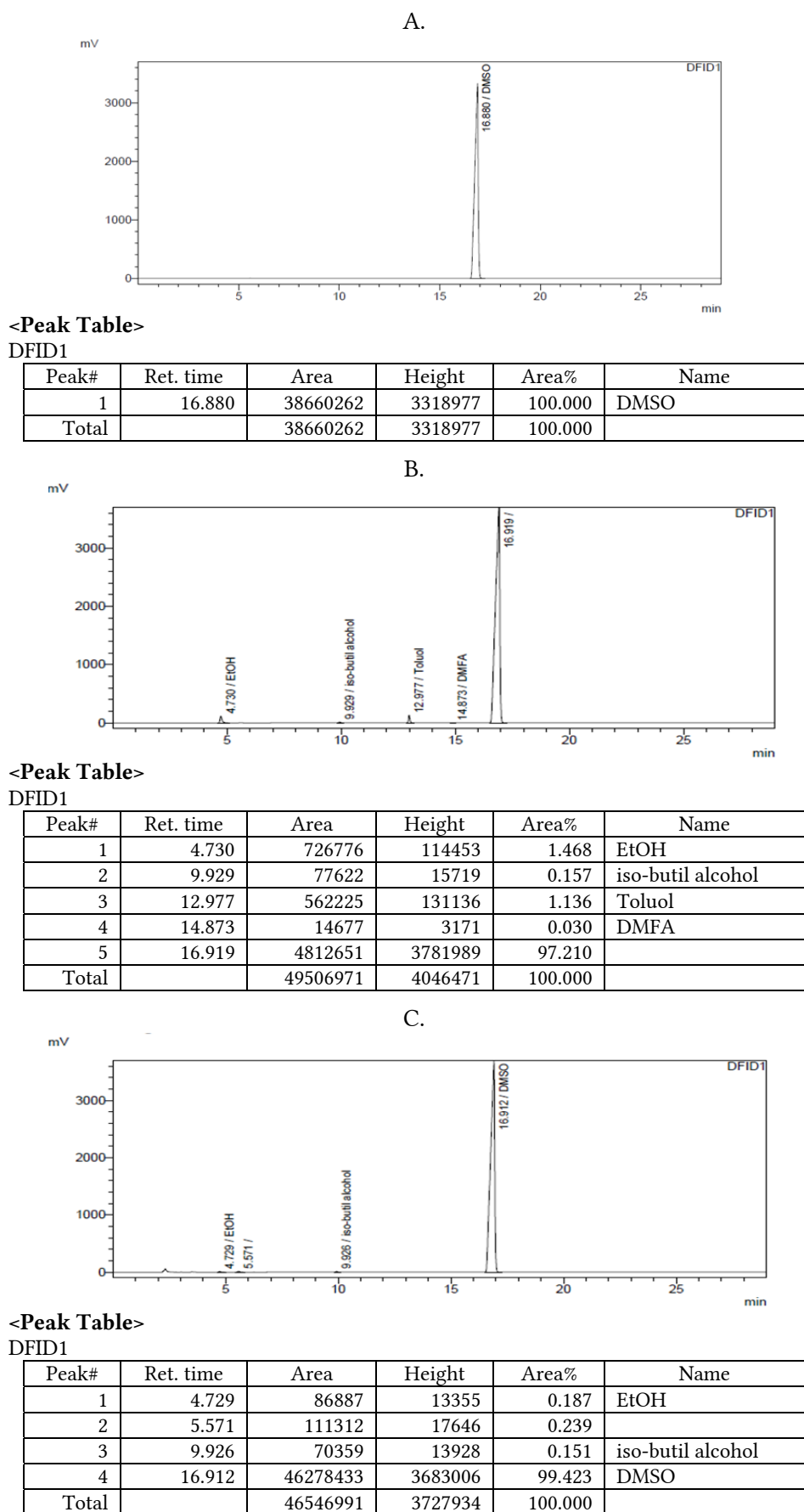


Рис. 3. Хроматограммы теста «Специфичность» (1 – хроматограмма ДМСО, 2 – хроматограмма РСО в ДМСО, 3 – хроматограмма образца субстанции в ДМСО).

Fig. 3. Chromatograms of the "Specificity" test (1 – DMSO chromatogram, 2 – chromatogram of reference solution in DMSO, 3 – chromatogram of the substance sample in DMSO).

Доказательство специфичности валидируемой методики обычно основывается на рассмотрении полученных с ее использованием данных анализа модельных смесей известного состава. Специфичность предложенной методики была доказана путем проведения в трех повторностях хроматографического анализа образца ДМСО, ДМСО с добавлением РСО и ДМСО с внесением исследуемого препарата. При сравнении времени удерживания матрицы в виде раствора ДМСО без добавления РСО и исследуемой субстанции на хроматограммах не должно быть пиков, отвечающих времени удерживания искоемых компонентов.

Полученные результаты (рис. 3) свидетельствуют об отсутствии в пробах с ДМСО пиков, присущих исследуемым компонентам, и, соответственно, о приемлемости данной методики.

Предел количественного определения представляет собой наименьшую концентрацию вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики с требуемой правильностью и прецизионностью. Предел количественного определения является необходимой валидационной характеристикой методик, используемых для оценки малых количеств веществ в образце и, в частности, для оценки содержания органических растворителей.

Критерием приемлемости для показателя «Предел количественного определения» (ПКО) является значение концентрации компонентов с высотой пика в 10 раз выше уровня шума, которое и есть предел количественного определения. По результатам проведенных исследований ПКО для этилового спирта составил 0,01% (2,2% от номинала), толуола – 0,00025% (0,3% от номинала), ДМФА – 0,01% (14% от номинала).

Согласно ОФС.1.1.0012.15 Валидация аналитических методик (ГФ РФ 14 издания), аналитическая область методики – это интервал между верхним и нижним значением аналитических характеристик определяемого компонента в объекте анализа (его количества, концентрации, активности и т.п.). В этом интервале результаты, получаемые с использованием валидируемой методики, должны иметь приемлемый уровень правильности и внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности. Методики количественного определения должны быть применимы в интервале от 80 до 120% от номинального значения определяемой аналитической характеристики, должна наблюдаться линейная зависимость аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической области методики (значение коэффициента корреляции r для следовых коли-

честв веществ должно составлять не менее 0,9). Было проведено изучение линейности методики при определении толуола, этанола и диметилформамида в исследуемой субстанции. На рисунке 3 представлены линейные зависимости усредненных отношений площадей пиков компонентов к площади пиков внутреннего стандарта на хроматограмме от концентрации растворителей, значение коэффициента корреляции во всех опытах превышало критерий 0,9. Таким образом, линейность методики подтверждена.

Правильность методики определяли методом модельных смесей: готовили растворы с содержанием исследуемых растворителей в концентрации 80%, 100%, 120% от номинала. Критерием приемлемости методики считали нахождение показателя «Найдено от истинного значения» от 85% до 115%, результаты определения представлены в таблице 2.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанная методика соответствует критерию правильности – показатель «Найдено» во всех опытах находился в регламентированном диапазоне.

Прецизионность методики характеризуется рассеянием результатов, получаемых с ее использованием, относительно величины среднего результата. Мерой такого рассеяния является величина стандартного отклонения результата отдельного определения, полученная для выборки достаточно большого объема. Правильность изучали на повторяемости (сходимости) и промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности.

Повторяемость аналитической методики оценивали по независимым результатам, полученным в одинаковых регламентированных условиях в одной лаборатории (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор реактивов) в пределах короткого промежутка времени. Выполняли исследование шести модельных образцов с содержанием каждого из растворителей около 100% от номинала, полученные результаты представлены в таблице 3.

Критерием приемлемости для данного показателя являлась величина относительного стандартного отношения, не превышающая 15%. Полученные результаты свидетельствовали о повторяемости (сходимости) методики – относительное стандартное отклонение для этанола, толуола и ДМФА составило 3,37%, 3,73% и 2,74% соответственно.

Внутрилабораторную прецизионность валидируемой методики оценивали в условиях работы одной лаборатории в разные дни и разными исполнителями (табл. 4).

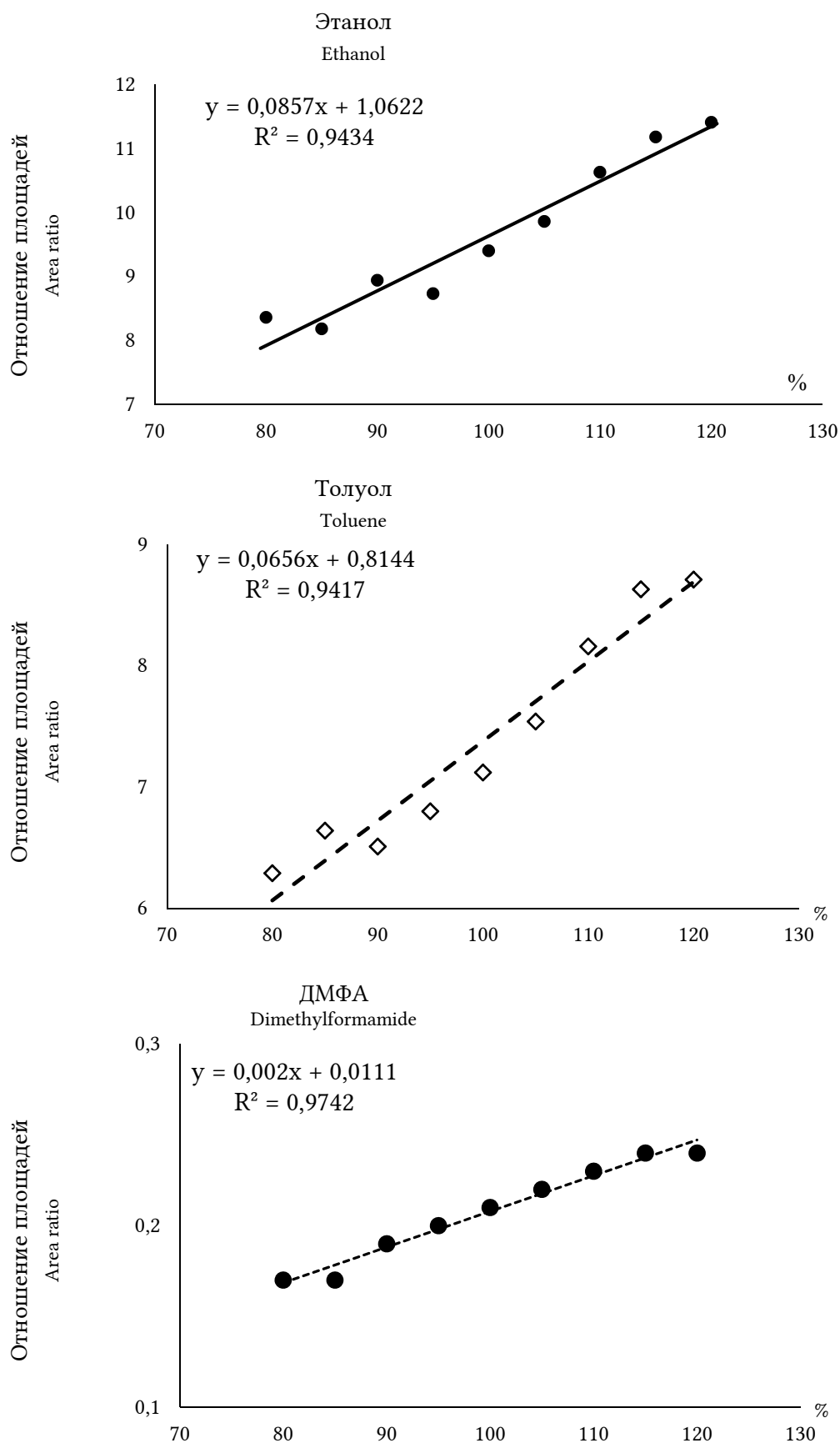


Рис. 4. Результаты изучения линейности методики определения остаточных органических растворителей в субстанции кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой.

Fig. 4. Results of studying the linearity of the method for determining residual organic solvents in the substance of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid.

Таблица 2

Table 2

Результаты исследования правильности методики определения ООР в субстанции кислоты
3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой

The results of the study of the trueness of the procedure for determining the residual solvents in 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-
1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid

ООР	Концентрация растворителя от номинала, %	Найдено, %	Введено, %	Найдено от истинного значения, %
Residual solvents	Solvent concentration, % from nominal	Found, %	Introduced, %	Found from true value, %
Этиловый спирт Ethanol	80	82	81	101
	80	91	81	112
	80	77	81	95
	100	104	102	102
	100	102	102	101
	100	103	102	101
	120	123	123	100
	120	125	123	102
	120	123	123	100
Толуол Toluene	80	86	83	97
	80	95	83	87
	80	78	83	106
	100	108	107	99
	100	106	107	100
	100	106	107	100
	120	131	128	98
	120	127	128	101
	120	127	128	101
ДМФА Dimethylforma- mide	80	72	77	94
	80	80	77	104
	80	73	77	95
	100	88	97	91
	100	87	97	90
	100	87	97	90
	120	106	116	92
	120	108	116	93
	120	107	116	93

Таблица 3

Table 3

Результаты оценки повторяемости методики определения ООР в субстанции кислоты

3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой

The results of the study of the repeatability of the procedure for determining the residual solvents in 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid

№ модельного раствора Model solution No.	Отношение площадей пиков компонентов к площадям пиков внутреннего стандарта The ratio of the peak areas of the components to the peak areas of the internal standard			Содержание компонентов, % Content of components, %		
	Этиловый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dimethylformamide	Этиловый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dimethylformamide
1	11.2	7.07	0.21	0.58	0.078	0.084
2	11.35	7.31	0.21	0.58	0.079	0.083
3	11.17	7.29	0.20	0.56	0.078	0.080
4	11.22	7.30	0.19	0.58	0.080	0.080
5	11.32	7.35	0.20	0.58	0.080	0.082
6	12.12	7.87	0.19	0.62	0.086	0.078
Статистические характеристики Statistical parameters				Результаты Results		
				Этиловый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dimethylformamide
Наименьшее значение Minimum				0.56	0.78	0.078
Наибольшее значение Maximum				0.62	0.86	0.084
Среднее значение Average				0.583	0.080	0.081
Стандартное отклонение Standard deviation				0.0196	0.0029	0.0022
Дисперсия Dispersion				0.00003	0.0000084	0.0000048
Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %				3.37	3.73	2.74
Доверительный интервал по отношению к среднему значению, % Confidence interval to average, %				0.583±0.016	0.08±0.002	0.081±0.002

Таблица 4

Table 4

Результаты установления внутрилабораторной прецизионности методики определения содержания ООР в субстанции кислоты 3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой
The results of the study of the interlaboratory precision of the procedure for determining the residual solvents in 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid

Номер опыта Experiment No.	Сотрудник А, день 1 Researcher A, day 1						Сотрудник Б, день 2 Reseracher B, day 2					
	Отношение площадей пиков компонентов к площадям пиков внутреннего стандарта The ratio of the peak areas of the components to the peak areas of the internal standard			Содержание компонентов, % Content of components, %			Отношение площадей пиков компонентов к площадям пиков внутреннего стандарта The ratio of the peak areas of the components to the peak areas of the internal standard			Содержание компонентов, % Content of components, %		
	Этило- вый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dime- thyl- forma- mide	Этило- вый спирт Ethanol, %	Толуол Toluene	ДМФА Dime- thyl- forma- mide	Этило- вый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dime- thyl- forma- mide	Этило- вый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dime- thyl- forma- mide
	1	10.90	7.11	0.20	0.60	0.083	0.087	11.52	7.22	0.21	0.59	0.079
2	11.03	7.20	0.19	0.61	0.084	0.085	11.75	7.13	0.21	0.58	0.074	0.083
3	12.77	8.74	0.17	0.68	0.098	0.074	10.59	6.53	0.21	0.54	0.071	0.086
4	11.08	7.07	0.19	0.62	0.083	0.085	11.43	7.40	0.20	0.59	0.081	0.082
5	11.28	7.15	0.20	0.62	0.084	0.087	12.11	8.01	0.20	0.63	0.088	0.082
6	11.03	7.43	0.19	0.59	0.084	0.082	10.72	6.66	0.20	0.55	0.073	0.081
Статистические характеристики Statistical parameters			Результаты Сотрудник А Results Researcher A					Результаты Сотрудник Б Results Reseracher B				
			Этиловый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dimethylfor- mamide	Этиловый спирт Ethanol	Толуол Toluene	ДМФА Dimethylfor- mamide				
Наименьшее значение Minumum			0.59	0.083	0.074	0.54	0.071	0.081				
Наибольшее значение Maximum			0.68	0.098	0.087	0.63	0.088	0.086				
Среднее значение Mean			0.62	0.086	0.083	0.580	0.0776	0.083				
Стандартное отклонение Standart deviation			0.0316	0.0058	0.0049	0.03224	0.0063	0.0017				
Дисперсия Dispersion			0.00099	0.000033	0.000024	0.00103	0.000039	0.0000028				
Относительное стандартное отклонение, % Relative standart devia- tion, %			5.1	6.85	5.91	5.56	8.12	2.15				
Доверительный интервал по отношению к сред- нему значению, % Confidence interval to relative mean. %			0.62±0.026	0.086±0.0048	0.083±0.004	0.580±0.0266	0.0776±0.005	0.083±0.0014				

Критерии приемлемости показателя «Внутрилабораторная прецизионность» были также подтверждены: относительное стандартное отклонение составило менее 15%, значение доверительного интервала в обоих случаях также не превысило установленные пределы содержания остаточных органических растворителей в субстанции (99,0-102,0%).

Таким образом, при определении норм качества новой фармацевтической субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой была разработана методика определения содержания в ней остаточных органических растворителей – спирта этилового, толуола и диметилформамида методом парового газохроматографического анализа. Предложенная методика валидирована и пригодна к выполнению измерений в исследуемом диапазоне.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Метелев А.В. – разработка концепции эксперимента, проведение эксперимента; Казакова В.С. – анализ и интерпретация данных; Фадеева Д.А. – анализ и интерпретация данных, статистическая обработка результатов; Бузов А.А. – окончательное утверждение для публикации рукописи; Чуев В.П. – проверка критически важного интеллектуального содержания.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Покровский М.В., Чуев В.П., Бузов А.А., Коваленко С.Н., Кравченко А.В., авторы; ООО «БЕЛФАРМАМЕД», патентообладатель. 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновая кислота, обладающая кардиопротекторной активностью. Российская Федерация патент RU 2645356. 21 февраля 2018 г. [Pokrovskij M. V., Chuev V.P., Buzov A.A., Kovalenko S.N., Kravchenko A.V., authors; LLC "BELFARMAMED", assignee. 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethyl cyclopentancarbonic acid with cardioprotective activity. Russian Federation patent RU 2645356. 2018 Feb 21 (in Russ.)]. EDN: ZEDDHV
2. Чуев В.П., Бузов А.А., Коваленко С.Н., Мерзликин С.И., Штрыголь С.Ю., авторы; ООО «ВладМиВа», патентообладатель. Фармацевтическая антидиабетическая композиция на основе (+)-

цис-3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой кислоты. Российская Федерация патент RU 2624872. 07 июля 2017 г. [Chuev V.P., Buzov A.A., Kovalenko S.N., Merzlikin C.I., Strygol C.Y., authors; LLC "VladMiVa", assignee. Pharmaceutical antidiabetic composition based on (+)-cis-3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane carboxylic acid. Russian Federation patent RU 2624872. 2017 Jul 21 (in Russ.)]. EDN: WWFWNX

3. Метелев А.В., Казакова В.С., Фадеева Д.А., Бузов А.А., Чуев В.П. Разработка методик для установления норм качества новой фармацевтической субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой. *Медицина*. 2022;10(1):19–31 [Meteliev A.V., Kazakova V.S., Fadeeva D.A., Buzov A.A., Chuev V.P. Elaboration of techniques for quality control of a new active pharmaceutical substance of 3-(1h-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethyl cyclopentancarbonic acid. *Medicine*. 2022;10(1):19–31 (in Russ.)]. DOI: 10.29234/2308-9113-2022-10-1-19-31. EDN: AIATDX
4. Reid G.L. *Residual solvents*. In: *Specification of Drug Substances and Products*. Elsevier, 2020:345–365. DOI: 10.1016/B978-0-08-102824-7.00013-0
5. Sattineni S.R., Joseph A., Das S., Chaitanya B., Rao S. Method development and validation for the determination of residual solvents in racecadotril by gas chromatography. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2021;17(9):1232–1239. DOI: 10.2174/1573412916999200819163552
6. Bawazeer S. Development and validation of chromatographic methods for the quantitative determination of toltrazuril and its residual solvents. *Hail Journal of Health Sciences*. 2020;2(1):9–18. DOI: 10.4103/1658-8312.347570
7. Chawla R.K., Koteswara Rao G.S.N., Kulandaivelu U., Panda S.P., Alavala R.R. Development and validation of a headspace gas chromatographic (HS-GC) method for determination of residual solvents in nitazoxanide API. *Int J Res Pharm Sci*. 2020;11(SPL4):1719–1727. DOI: 10.26452/ijrps.v11iSPL4.4362
8. Noorbasha K., Shaik A. Determination of residual solvents in paclitaxel by headspace gas chromatography. *Futur J Pharm Sci*. 2021;7(1):1–17. DOI: 10.1186/s43094-021-00186-7
9. Rao S.S., Vijayalakshmi A. Analytical method development and validation of glipizide to determine residual solvents by head space-gas chromatography. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021;14(5):2440–2444. DOI: 10.52711/0974-360X.2021.00429
10. Louati K., Mouna S., Fathi S. Development and Validation of a Separation and Quantification Method for Residual Solvents in Active Substances by Headspace Gas Chromatography. *American Academic Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*. 2018;41(1):57–75

Поступила в редакцию 15.06.2022

Подписана в печать 20.10.2022

Для цитирования: Метелев А.В., Казакова В.С., Фадеева Д.А., Бузов А.А., Чуев В.П. Разработка методики определения содержания остаточных органических растворителей в новой фармацевтической субстанции кислоты 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновой. *Человек и его здоровье*. 2022;25(3):81–92. DOI: 10.21626/vestnik/2022-3/09. EDN: ASUFOS

DEVELOPMENT OF METHODS FOR DETERMINING THE CONTENT OF RESIDUAL ORGANIC SOLVENTS IN A NEW PHARMACEUTICAL SUBSTANCE OF 3-(1H-BENZIMIDAZOL-2-YL)-1,2,2-TRIMETHYLCYCLOPENTANE-CARBOXYLIC ACID

© Metelev A.V.¹, Kazakova V.S.^{1,2}, Fadeeva D.A.², Buzov A.A.¹, Chuev V.P.³

¹ LLC "BELPHARMAMED"

19, Studencheskaya str., Belgorod, Belgorod region, 308023, Russian Federation

² Belgorod national research university (BNRU)

85, Pobedy st., Belgorod, Belgorod region, 308015, Russian Federation

³ JSC "VLADMIVA" Experimental plant

52, Studencheskaya str., Belgorod, Belgorod region, 308023, Russian Federation

Objective. Organic solvents, which often have toxic and/or carcinogenic properties, are used at all stages of the production of pharmaceutical substances - synthesis, isolation and purification - and are not completely removed after the completion of the technological process. The presence of even extremely small amounts of such compounds in medicines can be dangerous for patients. The article presents the results of the development of a method for determining the content of residual organic solvents (ROS) - ethanol, toluene and dimethylformamide - in a new active pharmaceutical ingredient (API) 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid by gas chromatography.

Materials and methods. Static vapor phase analysis was used to identify and to quantify residual organic solvents. It was determined by the internal standard method using a Shimadzu GC-2014ATF/SPL gas chromatograph with an AOC-6000Plus autosampler; PID detection. Isobutyl alcohol was used as an internal standard.

Results. The developed method was used to determine the content of residual organic solvents in the validation series of the new pharmaceutical substance 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid. The method was validated in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation.

Conclusion. The developed method is suitable for further use in quality control in the production of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid.

Keywords: active pharmaceutical substance (API); residual solvents (RS), 3-(1h-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethyl cyclopentancarbonic acid; quality control; identification; assay.

Metelev Anton V. – chemical analyst of the quality control laboratory, LLC "BELFARMAMED", Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3614-0569. E-mail: chemic2022@rambler.ru

Kazakova Valentina S. – Cand. Sci. (Pharm.), Head of the quality control department, LLC "BELFARMAMED", Belgorod, Russian Federation; Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Technology, BNRU, Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-6970-2444. E-mail: kazakova@bsu.edu.ru

Fadeeva Dariya A. – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Technology, BNRU, Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-5539-1390. E-mail: fadeeva@bsu.edu.ru (correspondence author)

Buzov Andrey A. – Cand. Sci. (Tech.), Deputy Director, LLC "BELFARMAMED", Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8897-0076. E-mail: buzov@mail.ru

Chuev Vladimir P. – Dr. Sci. (Tech.), General Director, JSC "VLADMIVA" EXPERIMENTAL PLANT, Belgorod, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1033-0789. E-mail: chuev@vladmiva.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Metelev A.V. – development of the concept of the experiment, elaboration of the experiment; Kazakova V.S. – analysis and interpretation of data; Fadeeva D.A. – analysis and interpretation of data, statistical processing of results; Buzov A.A. – final approval for publication of the text; Chuev V.P. – verification of critical intellectual content of the article.

Received 15.06.2022

Accepted 20.10.2022

For citation: Metelev A.V., Kazakova V.S., Fadeeva D.A., Buzov A.A., Chuev V.P. Development of methods for determining the content of residual organic solvents in a new pharmaceutical substance of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentane-carboxylic acid. *Humans and their health*. 2022;25(3):81–92. DOI: 10.21626/vestnik/2022-3/09. EDN: ASUFOS