

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**БЕВЗ ОЛЕНА ВАЛЕРІЇВНА**

**УДК 615.07:54.057:543.612:543.57**

**НАУКОВЕ ОБҐРУНТУВАННЯ АТЕСТАЦІЇ ФАРМАКОПЕЙНИХ  
СТАНДАРТНИХ ЗРАЗКІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ТЕРМІЧНИХ МЕТОДІВ  
АНАЛІЗУ**

**15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів**

**Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2019**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

**Науковий керівник:** доктор фармацевтичних наук, старший науковий співробітник  
**ЛЕОНТЬЄВ ДМИТРО АНАТОЛІЙОВИЧ**  
Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", начальник відділу валідації та стандартних зразків

**Офіційні опоненти:** доктор фармацевтичних наук, професор  
**КУЧЕРЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА**  
Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри фармацевтичної хімії

кандидат фармацевтичних наук, старший науковий співробітник  
**НАЗАРОВА ОЛЕНА СЕРГІЇВНА**  
Публічне акціонерне товариство «ФАРМСТАНДАРТ-БІОЛІК»,  
начальник відділу фармацевтичної розробки

Захист відбудеться " 07 " червня 2019 року о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий "06" травня 2019 року.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради,  
професор

В.А. Георгіянц

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Для контролю якості (КЯ) лікарських засобів (ЛЗ) необхідні стандартні зразки (СЗ) для визначення активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) та їх домішок. Для офіційних аналізів використовуються фармакопейні СЗ (ФСЗ). Номенклатура ФСЗ Державної Фармакопеї України (ДФУ) має забезпечувати контроль якості ЛЗ, які зареєстровані в Україні.

Для КЯ вітчизняних ЛЗ із орнідазолом потрібне використання домішок, котрі були відсутні як ФСЗ. У вітчизняних виробників препарату з прегабаліном також існувала проблема із забезпечення потреби в забезпеченні домішкою D прегабаліну. Тому синтез цих домішок як матеріал для атестації (МдА) ФСЗ ДФУ є актуальним.

Термічні методи аналізу – термогравіметрія (ТГА) та диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) – використовуються для визначення чистоти й однорідності СЗ. Однак можливість застосування цих термічних методів аналізу не була проаналізована з точки зору вимог до ФСЗ. Тому актуальною є розробка метрологічних критеріїв для результатів характеристизації ФСЗ ДФУ з використанням термічних методів аналізу.

З метою забезпечення надійності результатів аналізу використовують СЗ для кваліфікації обладнання. Для термічних методів аналізу такі СЗ повинні імітувати об'єкт аналізу за своїми властивостями, які можуть впливати на метрологічні характеристики результатів аналізу (теплоємність, температура плавлення, чистота тощо). Такі СЗ повинні забезпечувати також одержання результатів із характеристиками, прийнятними для завдання аналізу, – наприклад, бути достатньо однорідними і в той же час мати достатньо великий вміст домішок, щоб їх визначення було актуальним як завдання атестації ФСЗ. Такі СЗ для кваліфікації термічних методів аналізу, прийнятні для завдань атестації ФСЗ, були відсутні.

Надійність результатів аналізу забезпечується відповідними процедурами контролю якості результатів аналізу. Для методу ТГА критичним є коректне визначення часу закінчення висушування (ЗВ), для детектування якого була відсутня статистично обґрунтована процедура. Тому розробка такої процедури, котра повинна спиратися на математичну модель процесу висушування, є актуальним завданням.

До цього часу ТГА та ДСК не використовувалися для атестації ФСЗ ДФУ. Термічні методи мають свої обмеження і не можуть бути застосовані для всіх МдА ФСЗ. Але в деяких випадках термічні методи мають суттєву перевагу перед іншими методами. Тому актуальним було застосувати термічні методи для атестації низки ФСЗ ДФУ у випадках, коли їх використання об'єктивно має такі переваги. У першу чергу, це вивчення однорідності для невеликих наважок МдА та підтвердження чистоти МдА з використанням термічних методів як альтернативних основному методу визначення чистоти.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.**

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Розробка та валідація

методів контролю якості лікарських засобів аптечного та промислового виробництва» (номер державної реєстрації 0114U000949).

**Мета і завдання дослідження.** Метою роботи є розробка оптимальних способів одержання МДА СЗ домішок, метрологічне обґрунтування застосування термічних методів аналізу для атестації ФСЗ ДФУ та використання цих критеріїв для атестації ФСЗ ДФУ.

Для досягнення цієї мети були сформульовані такі завдання:

- запропонувати оптимальні методики синтезу домішок орнідазолу та прегабаліну для отримання речовин високої чистоти з метою подальшого застосування як МДА ФСЗ ДФУ;
- провести аналіз та узагальнити дані сучасної літератури щодо застосування термічних методів аналізу для контролю якості ЛЗ та атестації фармацевтичних СЗ;
- сформулювати та експериментально перевірити метрологічні вимоги щодо результатів визначення летких домішок методом ТГА;
- запропонувати математичну модель, що описує термограму на етапі закінчення висушування (ЗВ), та розробити процедуру та критерії визначення часу ЗВ; перевірити модель експериментально;
- з використанням розроблених метрологічних критеріїв провести атестацію ФСЗ ДФУ методом ТГА за завданнями визначення летких домішок для присвоєння атестованого значення СЗ та для перевірки однорідності;
- дібрати кандидата СЗ для кваліфікації методу ТГА для завдань атестації ФСЗ ДФУ за показником «леткі домішки»;
- сформулювати метрологічні вимоги щодо результатів визначення чистоти, температури й ентальпії плавлення СЗ методом ДСК для завдання атестації ФСЗ ДФУ та з урахуванням цих вимог провести атестацію ФСЗ ДФУ;
- дібрати кандидата СЗ для кваліфікації методу ДСК за показниками «чистота», «температура плавлення» та «ентальпія плавлення», прийнятних для завдань атестації ФСЗ ДФУ.

*Об'єкт дослідження* – супровідні домішки АФІ та готових ЛЗ, матеріали для атестації ФСЗ ДФУ для контролю якості ЛЗ, матеріали для атестації ФСЗ ДФУ для кваліфікації термічних методів аналізу, фармакопейні методи термічного аналізу.

*Предмет дослідження* – процедури та критерії метрологічного КЯ атестації ФСЗ ДФУ для кількісного визначення домішок та діючих речовин; складові невизначеності фармакопейних методів термічного аналізу; критерії прийнятності процедур забезпечення якості результатів випробувань методами термічного аналізу.

**Методи дослідження.** Фармакопейні фізичні та фізико-хімічні методи: рідинна хроматографія (РХ), газова хроматографія (ГХ), абсорбційна спектрофотометрія (СФ) в інфрачервоній області спектра (ІЧ); спектроскопія ядерного магнітного резонансу (ЯМР), диференціальна скануюча калориметрія (ДСК) та термогравіметричний аналіз (ТГА, ДТГ); випробування на чистоту, у т.ч. контроль вмісту води, супровідних та летких домішок; статистичний аналіз результатів експериментальних досліджень.

**Наукова новизна отриманих результатів.** З урахуванням вимог до ФСЗ ДФУ сформульовані метрологічні вимоги до визначення летких домішок та визначені мінімальні наважки для методу ТГА.

Уперше запропоновано кальцію оксалат моногідрат (синтезований та підданий спеціальній обробці) як СЗ для кваліфікації обладнання, котрий відповідає завданням атестації ФСЗ ДФУ.

У зв'язку з вимогами до ФСЗ ДФУ сформульовані метрологічні вимоги до визначення чистоти методом ДСК.

Уперше запропоновано холестерин як СЗ для кваліфікації методу ДСК, для котрого одночасно сертифіковані чистота, температура плавлення та ентальпія плавлення.

Уперше запропонована математична модель для опису термограми для методу ТГА в ізотермічному режимі. Уперше розроблені статистично обґрунтована процедура та математична модель визначення часу закінчення висушування зразків.

Новизна досліджень підтверджена патентом на корисну модель № 126009 України.

**Практичне значення отриманих результатів.** Оптимізовані методики синтезу 3-(5-нітро-1Н-імідазол-1-іл)пропан-1,2-діол (орнідазол-діол), 1-(2,3-епоксипропіл)-2-метил-5-нітроімідазол (орнідазол-епоксид), 1-метилетил-(2RS)-2-гідрокси-2-фенілацетат (прегабаліну домішка D). Одержані високочисті сполуки з високим виходом, які задовольняють вимоги до МДА ФСЗ ДФУ.

Метрологічні критерії прийнятності результатів аналізу для методів ТГА та ДСК для завдань атестації ФСЗ ДФУ запроваджено в практику Державного підприємства «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів» (ДП «Фармакопейний центр») та Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України (ІСМА).

Статистично обґрунтовану процедуру визначення часу закінчення висушування для методу ТГА запроваджено в практику ДП «Фармакопейний центр» та ІСМА.

З використанням термічних методів атестовано 14 ФСЗ ДФУ для кількісного визначення АФІ та кількісного визначення домішок.

Атестовано 4 ФСЗ ДФУ для визначення температури та ентальпії плавлення.

Атестовані ФСЗ ДФУ для кваліфікації методу ТГА та методу ДСК. ФСЗ ДФУ прийнятні для завдань атестації ФСЗ.

Основні результати дисертації апробовані та впроваджені у практичну діяльність ДП «Фармакопейний центр», Інституту сцинтиляційних матеріалів НАН України, а також на фармацевтичних підприємствах ТОВ НВФ «МІКРОХІМ» і ПАТ «Фармак».

**Особистий внесок здобувача.** Разом з науковим керівником визначено мету та основні завдання досліджень, розроблено методичні підходи, на основі яких обрано методи виконання практичної частини дисертації.

Безпосередньо автором здійснено:

- аналіз даних спеціалізованої літератури щодо можливості застосування термічних методів аналізу для вирішення завдань атестації ФСЗ ДФУ та КЯ ЛЗ;

- експериментальні дослідження з вивчення фізичних, хімічних та фізико-хімічних властивостей домішок прегабаліну та орнідазолу, які були синтезовані під керівництвом співавторів наукових праць;
- одержання кальцію оксалату моногідрату, вибір умов синтезу та виділення цільового продукту;
- розробка ФСЗ ДФУ, призначених для КЯ ЛЗ та кваліфікації термоаналітичного обладнання;
- обговорення та узагальнення результатів досліджень, здійснених термічними методами.

Експериментальні дослідження термічними методами проводили на базі відділу наноструктурних матеріалів ІСМА (керівник - к.ф.-м.н. Ващенко О.В.). Атестацію ФСЗ ДФУ проводили у відділі валідації та стандартних зразків ДП «Фармакопейний центр» (начальник - д.фарм.н. Леонтєв Д.А.).

Персональний внесок у всіх опублікованих працях із науковцями (Леонтєв Д. А., Ващенко О. В., Гризодуб О. І., Воловик Н. В., Українець І. В., Георгіянець В. А., Гелла І. М., Безуглий П. О., Шишкіна С. В., Будянська Л. В., Терно І. С., Іванов Л. В.) наведено за текстом дисертації, також в авторефераті у списку фахових публікацій.

**Апробація результатів дисертації.** За основними результатами дисертаційної роботи зроблені доповіді на міжнародній конференції студентів фармації «Be in Progress 2» (Люблін, 21-25 квітня 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017» (Мінськ, 17-19 квітня 2017 р.); XI Науково-практичній конференції "Управління якістю в фармації" (Харків, 19 травня 2017 р.); VII Українській конференції «Домбровські хімічні читання-2017», (Яремче, 12-16 вересня 2017 р.), Київській конференції з аналітичної хімії «Сучасні тенденції 2017» (Київ, 18-21 жовтня 2017 р.), V науково-практичній конференції Школи молодих науковців ПАТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво» (Київ, 19 жовтня 2017 р.), XII науково-практичній конференції «Управління якістю в фармації» (Харків, 18 травня 2018 р.), VI науково-практичній конференції Школи молодих науковців ПАТ «Фармак» «Наука та сучасне фармацевтичне виробництво» (Київ, 1 листопада 2018 р.) та на 9-тій міжнародній конференції фармацевтичної науки та практики «Science and practice 2018» (Каунас, 9 листопада 2018 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових праць, зокрема 1 патент України на корисну модель, 6 статей (4 статті у наукових фахових виданнях України та 2 статті у зарубіжних виданнях, усі 6 статей опубліковані у виданнях, які включені до міжнародних наукометричних баз), 11 тез доповідей.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 186 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту

дисертації складає 151 сторінку друкованого тексту. Робота ілюстрована 24 таблицями, 2 схемами та 48 рисунками. Список використаних джерел містить 167 найменувань, з них 48 кирилицею та 119 латиницею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі дисертаційної роботи обґрунтовано актуальність теми, сформульовано мету і завдання, об'єкти і методи досліджень, визначено наукову новизну й практичне значення одержаних результатів, наведено відомості щодо впровадження результатів дисертаційної роботи.

**Розділ 1. Класифікація та використання термічних методів аналізу (огляд літератури).** Узагальнені літературні дані свідчать, що під час здійснення контролю якості фармацевтичної продукції інколи виникають ситуації, коли СЗ, необхідний для перевірки вмісту домішок, недоступний, це призводить до проблем у виробників готових ЛЗ. Тому часто виникає потреба синтезувати МдА СЗ домішок з заданими фізичними, хімічними характеристиками і присвоєним атестованим вмістом.

Проведений науковий аналіз принципів використання термічних методів аналізу (ТГА та ДСК), свідчить, що ці методи можуть вирішувати ряд завдань під час проведення контролю якості лікарських засобів та атестації ФСЗ, зокрема визначення чистоти (вміст летких та супровідних домішок) та однорідності. Однак термічні методи аналізу раніше не застосовувалися для атестації ФСЗ ДФУ, тому критерії прийнятності результатів аналізу термічними методами для завдань атестації ФСЗ ДФУ не були сформульовані, а також не були оцінені можливості термічних методів аналізу в контексті цих вимог. Для достовірності отриманих результатів необхідно проводити дослідження на обладнанні, кваліфікованому для цих завдань, що потребує використання відповідних СЗ, які були відсутні.

**Розділ 2. Об'єкти та методи дослідження.** Подано характеристику об'єктів і методів дослідження, наведено опис матеріалів та обладнання, які були використані при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

**Розділ 3. Синтез та встановлення структури супровідних домішок субстанцій.** Наведені результати синтезу ізопропілового естеру мигдальної кислоти (прегабаліну домішки D) з високим виходом продукту. Визначено, що не можна використовувати кальцію хлорид як осушувач, оскільки цільова сполука утворює спів-кристали з кальцій хлоридом, а оптимальним шляхом отримання МдА прегабаліну домішки D є вакуумна перегонка з дефлегматором.

Підтвердження будови синтезованого ізопропілового естеру мигдальної кислоти здійснювали рентгеноструктурним аналізом,  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектроскопією. Дані спектрів ЯМР підтвердили наявність усіх протонів в ізопропіловому естері мигдальної кислоти: спектр  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  м.ч. 7.35 (2H, д, J=7.4, H-2,6), 7.31 (2H, т, J=7.3, H-3,5), 7.25 (1H, т, J= 6.8, H-4), 5.96 (1H, д, J=5.3, OH), 5.07 (1H, д, J=5.3, CHO), 4.85 (1H, м,  $\text{CH}(\text{Me})_2$ ), 1.16 (3H, д, J=6.2, Me), 1.03 (3H, д, J=6.2, Me) (рис.1, а) та спектр  $^{13}\text{C}$  ЯМР (100 МГц, ДМСО- $d_6$ ):  $\delta$  м.ч. 172.5, 140.2, 129.4, 128.6, 126.4, 72.8, 68.2, 21.6, 21.3 (рис.1, б).

Структуру одержаного продукту також було підтверджено ІЧ-спектром.

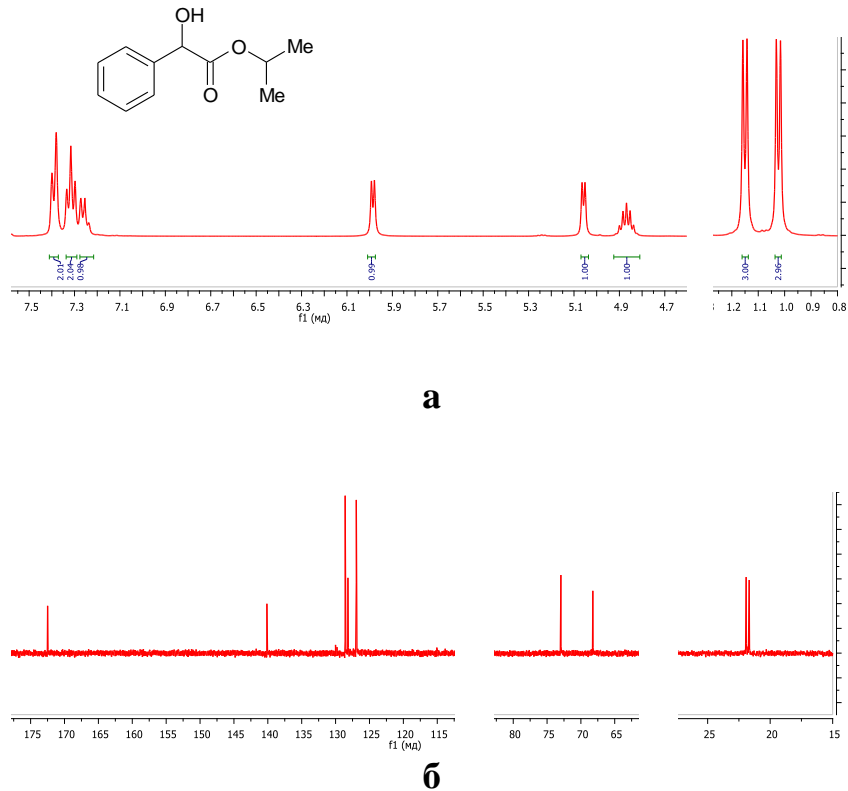


Рис. 1 Спектри  $^1\text{H}$ -ЯМР (а) та  $^{13}\text{C}$ -ЯМР (б) ізопропілового естеру мигдальної кислоти після вакуумної перегонки з дефлегматором

Методом термічного аналізу визначено, що прегабаліну домішка D є термічно стійкою та легко леткою речовиною. Методом рідинної хроматографії визначено чистоту цільової сполуки, що становить 100,0%.

Оптимізовані умови отримання МдА ФСЗ домішок орнідазолу – орнідазол-епоксиду та орнідазол-діолу з високим виходом цільових сполук високої чистоти.

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР орнідазол-епоксиду (400 МГц, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  8.01 (s, 1H, H-4), 4.78 (dd,  $J=15.4, 2.6$  Hz, 1H, N- $\text{CH}_2$ ), 4.32 (dd,  $J=15.4, 5.4$  Hz, 1H, N $\text{CH}_2$ ), 3.39 (m, CH), 2.78, br.t., 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ) 2.47 (m, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ). 2.40 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) (рис. 2, а).

Спектр  $^1\text{H}$  ЯМР орнідазол-діолу (400 МГц, DMSO -  $d_6$ ):  $\delta$  7.99 (s, 1H, H-4), 5.09 (d,  $J=3.9$  Hz, 1H), 4.83 (br.s, 1H), 4.48 (dd,  $J=14.2, 2.7$  Hz, 1H), 4.10 (dd,  $J=14.1, 9.3$  Hz, 1H), 3.70 (s, 1H), 2.43 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) (рис. 2, б).

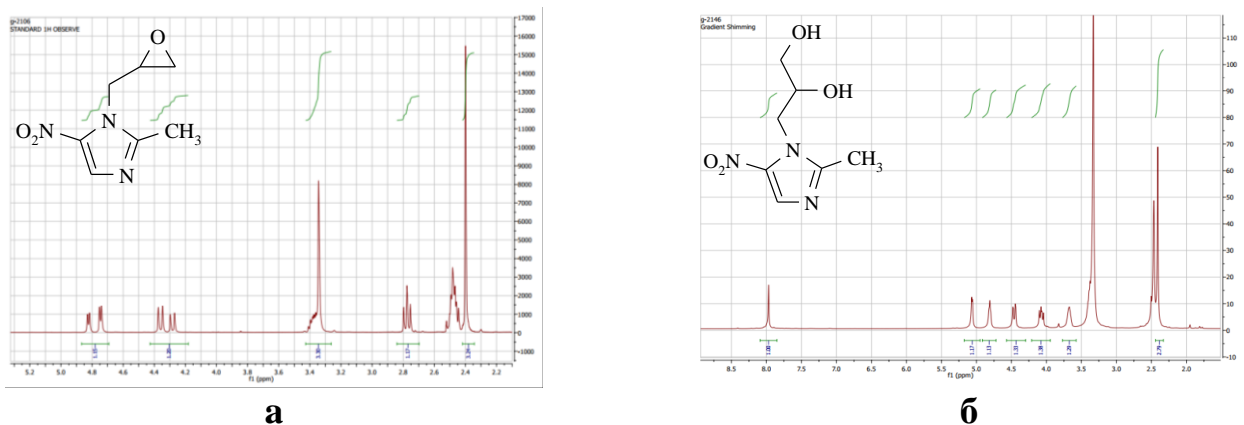


Рис. 2 Спектри  $^1\text{H}$ -ЯМР орнідазол-епоксиду (а) та орнідазол-діолу (б)



Методом ДСК доведено: речовини плавляться з розкладанням за тих самих температур, що отримані при визначенні капілярним методом. Орнідазол-епоксид розкладається відразу після плавлення (рис. 3, а). На термограмі орнідазол-діолу (рис. 3, б) спостерігається додатковий пік, що свідчить про поліморфізм досліджуваного зразка.

Отримані результати абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоній області свідчать, що в ІЧ-спектрах синтезованих сполук спостерігаються характеристичні смуги, властиві основним функціональним групам молекул.

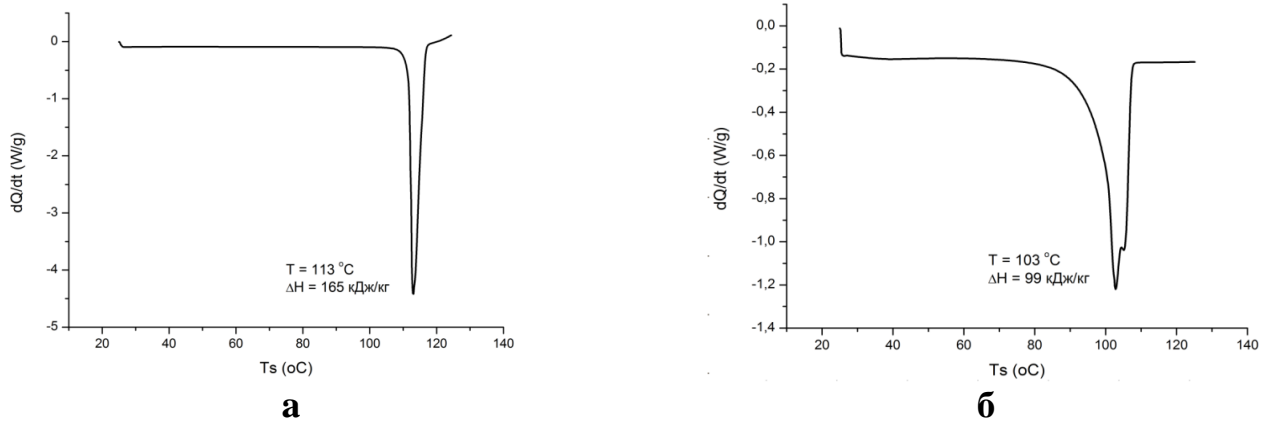


Рис. 3 ДСК-термограми синтезованих орнідазол-епоксиду (а), орнідазол-діолу (б)

Методика РХ була модифікована введенням у рухому фазу фосфатного буферного розчину, що дозволило коректно встановити: чистота синтезованих сполук орнідазол-діолу і орнідазол-епоксиду становить 99,5%.

Отримані МДА домішок прегабаліну та орнідазолу можуть бути використані для атестації відповідних ФСЗДФУ.

#### **Розділ 4. Застосування методу ТГА для атестації фармацевтичних стандартних зразків.**

*Застосування математичної моделі для опису дериватограм із метою визначення часу закінчення висушування.* Для завдань атестації СЗ ТГА застосовується з метою визначення вмісту летких домішок. Для одержання надійних результатів критичним є коректне визначення часу ЗВ. Нами запропоновано визначення ЗВ за допомогою математичної моделі, яка описує ділянку дериваторами, що відповідає ЗВ (рис. 4). Можна бачити, що вигляд дериватограм близько ЗВ схожий для різних зразків, які були використані для тестування математичної моделі. Процес висушування триває спочатку швидко, потім уповільнюється і виходить на пряму лінію, паралельну осі абсцис. Тому для опису термограми доцільно використовувати комбінацію гіперболи та прямої:

$$Y = a + \frac{b}{X} + k \cdot X \quad (1)$$

де  $a$ ,  $b$ ,  $k$  – емпіричні коефіцієнти, які знаходимо з використанням нелінійного методу найменших квадратів.

Це рівняння може бути використане для визначення часу ЗВ ( $X_{end}$ ). Однак при обчисленні коефіцієнтів рівняння (1) дуже велику роль відіграють початкові точки з

малим часом висушування, які не становлять інтересу для знаходження  $X_{end}$ . І, навпаки, найбільш важливі кінцеві точки з великим часом висушування мало впливають на знаходження коефіцієнтів (1).

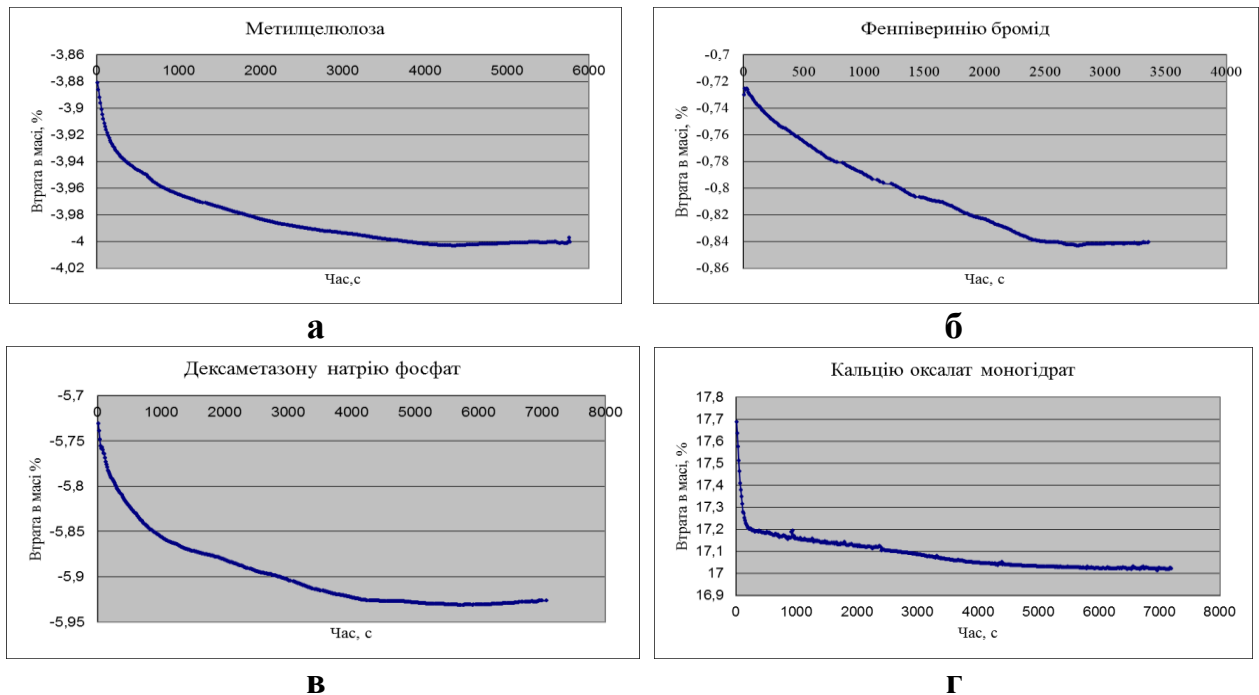


Рис. 4 Типові фрагменти дериватограм, які відповідають ЗВ для досліджуваних зразків: метилцелюлоза (а), фенпіверинію бромід (б), дексаметазону натрію фосфат (в), кальцію оксалат моногідрат (г)

Починаючи з деякого часу  $X_{crit}$ , внесок гіперболічного члена  $b/X$  стає незначущим порівняно з лінійним членом  $k$ , тобто виконується нерівність:

$$\frac{|b|}{X_{crit}} \leq 0.10 \cdot |k| \cdot X_{crit} . \quad (2)$$

Зі співвідношення (2) можна отримати вимоги до  $X_{crit}$ :

$$X_{crit} \geq \sqrt{\frac{|b|}{|k| \cdot 0.10}} = \sqrt{\frac{10 \cdot |b|}{|k|}} . \quad (3)$$

При  $X \geq X_{crit}$  для апроксимації експериментальної кривої (1) можна використовувати пряму:

$$Y = a_1 + k_1 \cdot X, \quad X \geq X_{crit} . \quad (4)$$

Нами запропонована така процедура знаходження ЗВ.

При  $X_1 > X_{crit}$  для кожного часового інтервалу  $[X_1, X_n]$ , що складається з  $n$  точок, параметри прямої (4) розрізняються. Зсуваючи цей інтервал  $\Delta X = X_n - X_1$  віссю часу  $X$ , отримуємо набір величин  $k_1$ . При зростанні часу  $X$  абсолютне значення величини  $k_1$  зменшується, наближаючись до нуля. Часом ЗВ можна вважати такий  $X_{end}$ , коли коефіцієнт  $k_1$  набуває значення, яке статистично незначуще відрізняється від нуля, тобто:

$$k_1(X_{end}) < t(0,95, n-1) \cdot s_{k_1} ; \quad (5)$$

де:  $t(0.95, n-1)$  – коефіцієнт Стюдента для однобічної ймовірності 0,95 і числа ступенів свободи  $n-1$ .

При цьому за  $X_{end}$  приймають середину кінцевого інтервалу оптимізації  $[X_1, X_n]$ , тобто:

$$X_{end} = \frac{X_1 + \Delta X}{2}, \quad \Delta X = X_n - X_1 = n \cdot \Delta t ; \quad (6)$$

де  $\Delta t$  – інтервал часу між точками. Оскільки  $\Delta t$  фіксоване, то число точок  $n$  і ширина інтервалу  $\Delta X$  еквівалентні.

Результати розрахунку часу ЗВ ( $X_{end}$ ) і втрати в масі  $Y_{end}$  для різної кількості точок  $n$  представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Результати розрахунку ЗВ ( $X_{end}$ ) і втрати в масі ( $Y_{end}$ ) для різної кількості точок  $n$ 

Об'єкт аналізу	Метилцелюлоза	Фенпіверинію бромід	Дексаметазону натрію фосфат	Кальцію оксалат моногідрат
$X_{crit}$ , с	1243	356	1263	1884
Діапазон величин $X$ , с	12; 5772	7; 3360	12; 7080	12; 7200
<b>n = 30</b>				
$X_{end}$ , с	4320	2758	5784	детектується некоректно
$k_1$	-5.1e-07	-1.19e-06	-2.1e-07	–
<b>n = 60</b>				
$X_{end}$ , с	4332	2800	5820	6216
$k_1$	-3.9e-07	-1.05e-06	-2.2e-07	-1.19e-05
<b>n = 90</b>				
$X_{end}$ , с	4380	2849	5796	6264
$k_1$	-3.8e-07	-6.7e-07	-2.0e-07	-8.4e-06
<b>n = 120</b>				
$X_{end}$ , с	4428	2898	5772	не визначається
$k_1$	-3.5e-07	-4.7e-07	-2.7e-07	–

Для кількості точок 60 процедура виконується коректно для всіх випадків, що було запропоновано використовувати за замовчуванням.

Формулювання критеріїв метрологічно коректного застосування ТГА для визначення летких домішок. У зв'язку з вимогами ДФУ, сформульовані вимоги до результатів визначення летких домішок методом ТГА при атестації ФСЗ ДФУ. Сформульовані вимоги двох рівнів: «мінімальні» – невизначеність результатів дорівнює максимально допустимій невизначеності для ФСЗ ДФУ ( $max\Delta_{RS}=0.5\%$ ), «максимальні» – невизначеність результатів незначуща порівняно з  $max\Delta_{RS}$  ( $=0,32 \cdot 0,5\% = 0,16\%$ ).

Як об'єкти аналізу для підтвердження цих вимог були обрані МдА ФСЗ ДФУ (ніпагін, ніпазол, натрій бензоат), які є дуже однорідними і практично не містять летких домішок. Це дозволяє використовувати оцінку збіжності для результатів аналізу цих зразків як оцінку можливості методу ТГА.

Виходячи з припущення, що абсолютне значення варіювання (в мг) не залежить від наважки випробовуваного зразка МдА, із фактичних результатів, одержаних для цих об'єктів аналізу, розраховано значення мінімальної наважки МдА, яка задовольняє вищезазначені вимоги.

Отримані результати демонструють можливість визначення летких домішок для мінімальної наважки СЗ, призначених для кількісного визначення (10 мг), з прийнятною прецизійністю. Для максимальних вимог (тобто коли невизначеність, зумовлена використанням приладу, незначуща) достатньо 5 паралельних визначень, що є прийнятним для атестації СЗ. Виходячи з отриманих результатів мінімальна наважка для СЗ домішок для найбільш жорстких вимог (кількісний тест на домішки) не перевищує 5 мг.

Розраховане значення мінімальної наважки для визначення однорідності не перевищує значення для мінімальної наважки СЗ, яка фактично використовується в методиках аналізу (10 мг).

*Застосування ТГА для визначення однорідності ФСЗ ДФУ.* Метод ТГА застосовували для визначення однорідності ФСЗ ДФУ, для яких маркером неоднорідності є леткі домішки та однорідність для котрих неможливо визначити іншими методами у зв'язку з маленькою наважкою СЗ. Такими ФСЗ стали фенілефрину гідрохлорид (для якого були дібрані оптимальні умови висушування, 130°C впродовж 1 години й визначена однорідність зразка) та фенпіверинію бромід. Для обох ФСЗ ДФУ однорідність була підтверджена.

*Застосування методу ТГА для встановлення атестованого значення ФСЗ.* При атестації ФСЗ метод ТГА використовували для встановлення приписного значення ФСЗ. Були проаналізовані зразки кверцетину, МдА нової серії та ФСЗ ДФУ попередньої серії. Продемонстровано стабільність кверцетину при 150°C і запропоновано використовувати її як робочу температуру для визначення вмісту летких домішок. Вихід на плато кривої ТГА проби кверцетину, отриманої при термостатуванні протягом двох годин при вказаній температурі, показує стабільність маси зразка (вихід на плато), тобто відсутність його термодеструкції. Для МдА кверцетину задля визначення летких домішок при подальшій атестації СЗ запропоновано проводити визначення цих домішок при 150°C до досягнення постійної маси.

*Добір СЗ для кваліфікації термогравіметричного обладнання.* З метою забезпечення якості результатів аналізу необхідно було дібрати МдА СЗ для кваліфікації методу ТГА, який повинен забезпечити одержання граничних метрологічних характеристик для результатів аналізу, що є прийнятними для завдань атестації ФСЗ ДФУ.

Для кваліфікації методу ТГА з метою визначення граничних метрологічних характеристик здійснювали добір МдА СЗ за такими вимогами:

- матеріал має бути достатньо однорідним, щоб визначати метрологічні характеристики приладу для реальних наважок, використовуваних для атестації ФармСЗ;
- матеріал повинен мати високий вміст летких домішок відносно маси основної речовини;
- втрата в масі при висушуванні повинна відбуватися в діапазоні температур, характерному для фармацевтичних субстанцій;
- матеріал має бути нелетким, стабільним і т.д., щоб забезпечувати відсутність заважальних впливів, тобто забезпечувати отримання граничних метрологічних характеристик, обумовлених виключно якістю роботи приладу.

Окрім наявності обов'язкових функціональних характеристик, бажано, щоб МДА відповідав вимогам «ідеального» СЗ – був безпечним у роботі для персоналу, простим і недорогим у виготовленні, нешкідливим для навколишнього середовища.

Було обрано такі кандидати - МДА для верифікації ТГА для задачі визначення вмісту летких домішок: метилцелюлоза, ампіциліну тригідрат, магнію стеарату дигідрат і кальцію оксалату моногідрат.

Метилцелюлоза не придатна для цього завдання, оскільки є неоднорідною. Ампіцилін тригідрат дає прийнятні результати, однак ця речовина - антибіотик пеніцилінового ряду, робота з яким небезпечна для персоналу. При нагріванні МДА магній стеарату дигідрату до 100°C відбувається його плавлення і дегідратація з виділенням 2.0 молей води на моль стеарату. Це робить його потенційно прийнятним як МДА. Однак магнію стеарат не є індивідуальною речовиною, що може призводити до проблем при заміні серії МДА.

Кальцію оксалату моногідрат використовується як СЗ для кількісного визначення кальцію, але він є недоступний як реактив. Ми здійснили синтез кальцію оксалату моногідрату. Для роботи використано 2 типи зразків кальцію оксалату:

- без додаткової термообробки після осадження;
- після висушування зразка, отриманого в результаті синтезу зразка, при 105°C.

Кожен зі зразків у ТГА-експерименті сканували в однаковому температурному режимі: від 30 до 300°C зі швидкістю 5°C/хв.

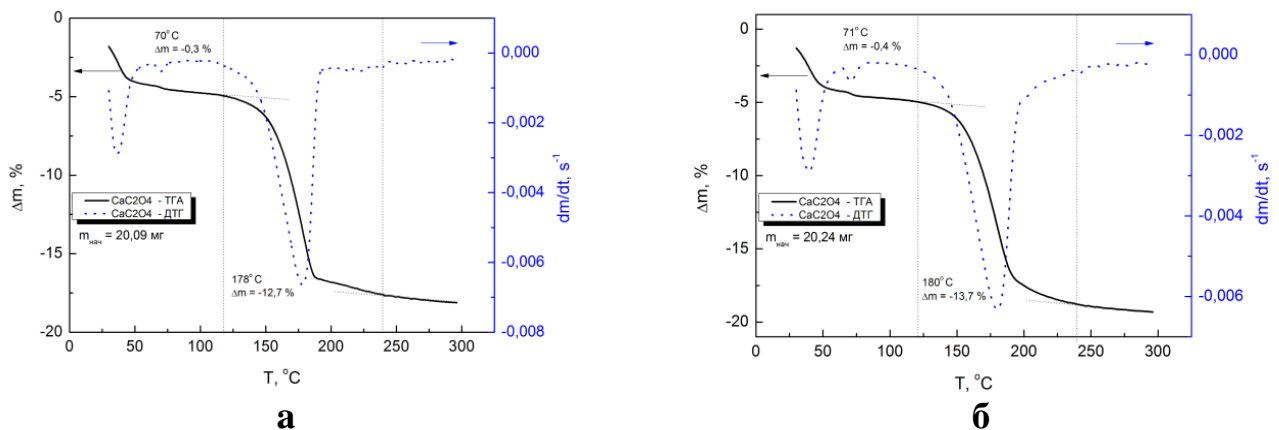


Рис. 5 Криві ТГА та ДТГ кальцію оксалату: після попереднього висушування при 105°C (а), без додаткового висушування (б)

Отримані ТГА та ДТГ криві (рис. 5) мають три різні піки:

- перший, низькотемпературний ( $<50^{\circ}\text{C}$ ) відбиває десорбцію гігроскопічної води;
- другий, малоінтенсивний ( $\sim 70^{\circ}\text{C}$ , відносне зменшення маси ( $\Delta m$ )= -0,4%), не ідентифікований;
- третій ( $\sim 180^{\circ}\text{C}$ ,  $\Delta m \sim 13\%$ ) відповідає втраті 1 моля води на моль  $\text{CaC}_2\text{O}_4$ , що свідчать про його моногідратну форму.

Разом із тим, отримані термограми містять деякі відмінності. Так, температура максимуму дегідратації та відповідна втрата маси для попередньо висушеного  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  виявилася трохи нижчою, ніж для  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  без висушування та краще узгоджується з довідковими даними за значенням  $\Delta m$ . У зв'язку із цим для подальшої роботи був обраний  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  після попереднього висушування при  $105^{\circ}\text{C}$  до постійної маси.

Параметри дегідратації кальцію оксалату були отримані також в ізотермічному режимі: 1 год. при  $105^{\circ}\text{C}$  (видалення гігроскопічної води) + 2 год. при  $180^{\circ}\text{C}$  (видалення кристалізаційної води) (рис. 6).

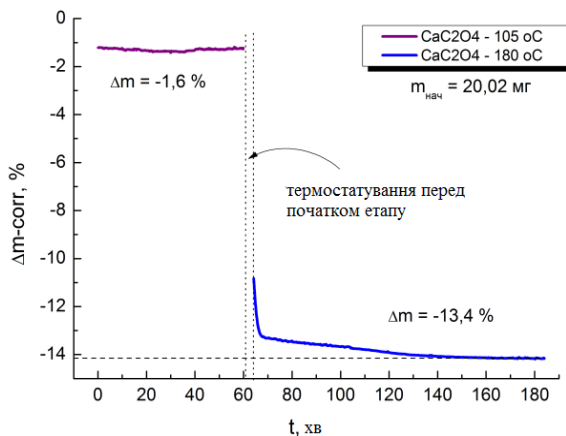


Рис. 6 Втрата маси кальцію оксалату в ступінчастому ізотермічному режимі

На першому етапі втрата маси становила 1,6%, на другому – 13,4%, що близько до теоретичного значення для утримання кристалізаційної води в  $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (13,6%). При  $180^{\circ}\text{C}$  основна частина кристалізаційної води видалається вже за перші кілька хвилин термостатування, втім, близько 1% від загальної кількості видалається вкрай повільно, протягом 80 хвилин.

Наявне «плече» заважає прецизійному та правильному визначенню легких домішок. Було прийнято рішення провести насичення водою зразків в умовах 100% відносної вологості й кімнатної температури для МДА, попередньо висушеного при  $180^{\circ}\text{C}$  до постійної маси. Унаслідок цього в зразку різко збільшилася кількість гігроскопічної води (близько 40%), а кількість кристалізаційної води залишалася такою ж, як і в зразках без насичення – близько 12% (рис. 7). Гігроскопічна вода повністю видалається при нагріванні зразка до  $100^{\circ}\text{C}$ .

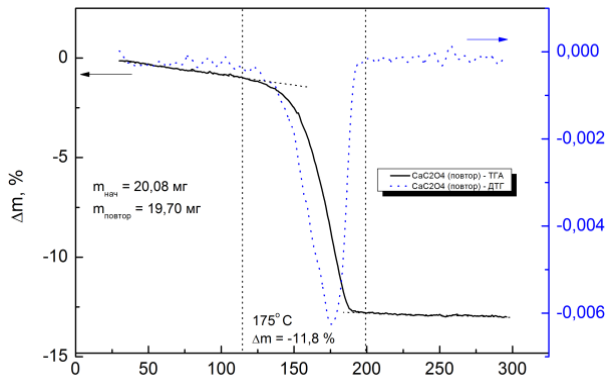


Рис. 7 Криві ТГА та ДТГ зразка кальцію оксалату (повторне сканування після 11 днів термостатування в умовах 100% вологості при кімнатній температурі)

У ступінчастому ізотермічному режимі після насичення зразків кальцію оксалату водою (рис. 8) спостерігається якісно такий самий хід залежності втрати в масі, що і без насичення. Відмінність полягає в тому, що видалення кристалізаційної води (висушування при 180°C) відбувається набагато швидше – менше ніж за годину термостатування (рис. 8).

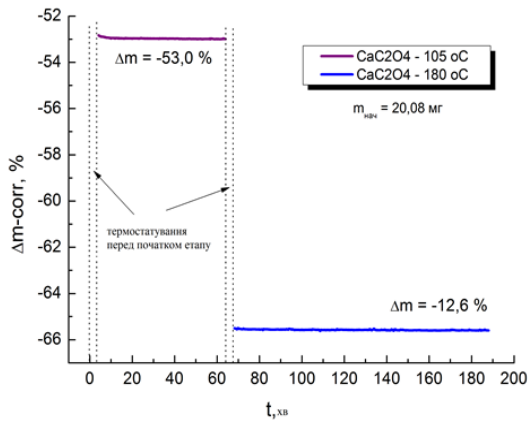


Рис. 8 Втрата маси кальцію оксалат в ступінчастому ізотермічному режимі (повторна гідратація в умовах 100% вологості при кімнатній температурі після висушування при 180°C)

Таблиця 3

**Параметри дегідратації зразків кальцію оксалату після висушування при 180 °С та повторної гідратації**

№ п/п	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Середнє ± SD	С.І.*
<b>Маса вихідного зразка, (m<sub>вих</sub>), МГ</b>	20,09	20,08	20,08	20,15	20,15	20,08	20,12	20,04	20,01	20,02	–	–
<b>Відносне зменшення маси при 180°C (Δ m<sub>180</sub>), %</b>	11,4	11,9	11,8	11,8	11,8	11,8	11,7	11,7	11,8	11,9	11,76 ± 0,143	0,32

Примітка. \* двобічний довірчий інтервал для одиничного вимірювання для рівня надійності 95%.

МДА кальцію оксалат моногідрат після висушування та повторної гідратації витримує вимоги щодо СЗ (невизначеність не перевищує 0,5%), тому він був

запропонований як ФСЗ ФДУ для кваліфікації термогравіметричного обладнання для завдань атестації стандартних зразків та контролю якості лікарських засобів.

### **Розділ 5. Застосування методу ДСК для атестації фармацевтичних стандартних зразків та пошук стандартного зразка для кваліфікації методу ДСК.**

*Формулювання критеріїв метрологічно коректного застосування ДСК.* Як і для методу ТГА, виходячи з вимог ДФУ, ми сформулювали метрологічні вимоги для результатів, отриманих із використанням СЗ для кваліфікації обладнання. Вимоги до результатів визначення чистоти також сформульовані як «мінімальні», коли невизначеність результатів дорівнює максимально допустимій невизначеності для ФСЗ ДФУ ( $\max\Delta_{RS}=0,5\%$ ), та як «максимальні» – коли невизначеність результатів незначуща порівняно з  $\max\Delta_{RS}$  ( $=0,32\cdot 0,5\%=0,16\%$ ). Результати визначення ентальпії та температури плавлення повинні мати невизначеність на рівні аналогічних СЗ.

*Добір СЗ для кваліфікації калориметричного обладнання.* Окрім загальних вимог (безпека та зручність у роботі, ціна тощо) МДА повинен відповідати спеціальним вимогам, пов'язаним із його призначенням.

Функціональні властивості щодо методу аналізу ДСК. МДА повинен плавитися без розкладання; містити одну кристалічну модифікацію; температура плавлення має бути досить високою, щоб присутні леткі домішки не заважали визначенню чистоти.

Функціональні властивості щодо вирішуваного завдання. МДА повинен бути органічною речовиною, тобто мати прийнятну теплопровідність; дозволяти стандартизувати властивості, які визначаються методом ДСК та можуть бути важливими при атестації СЗ та КЯ ЛЗ; мати прийнятний рівень вмісту домішок (мінімальна концентрація  $\approx 0,5\%$ ) і прийнятний збіг у визначенні вмісту домішок з іншими методами аналізу.

Із метою добору СЗ для кваліфікації обладнання було протестовано кілька потенційно придатних зразків: хлорхінальдол, клопідогрель гідросульфат, метамізолу домішка А (4-форміламіно-1,5-диметил-2), метамізолу домішка В (4-аміноантипирин), диклофенаку домішка А (1-(2,6 дихлорфеніл)-1,3-дигідро-2Н-індол-2-он, холестерин технічний.

Для всіх зразків ДСК-термограми показують порушення форми піка, що може бути пов'язане з неоднорідністю складу і/або кристалічної структури речовини (поліморфізмом). Це робить усі ці зразки непридатними для визначення чистоти методом ДСК.

Та для зразка холестерину виробництва Sigma Grade  $\geq 99\%$  були отримані результати, які підтверджують його придатність для верифікації визначення чистоти методом ДСК. При скануванні в температурному діапазоні  $50\div 200^\circ\text{C}$  пік плавлення субстанції гострий, правильної форми; базова лінія лінійна (рис. 9, табл. 4).



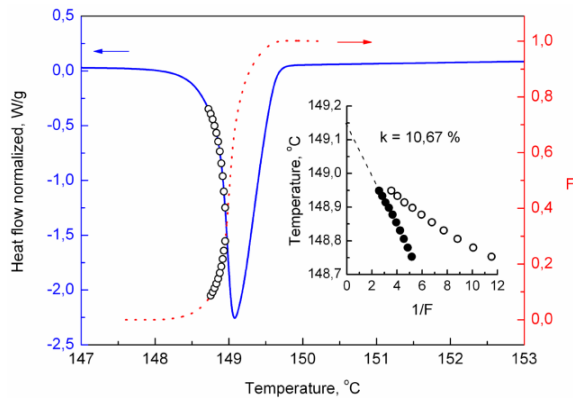


Рис. 9 Деталі аналізу визначення чистоти холестерину Sigma Grade  $\geq 99\%$ : нормована крива ДСК (суцільна лінія) та повнота фазового переходу (точкова лінія)

Примітка. Використані експериментальні дані позначені колами. Вставка: графік Вант Гоффа (відкриті символи) та його лінеаризація (суцільні символи);  $k$  – коефіцієнт корекції для лінеаризації (наведені дані для зразка 3, параметри для інших зразків – див. табл. 4).

Таблиця 4

**Результати визначення для 10 незалежних вимірювань температури плавлення, ентальпії плавлення і чистоти холестерину Sigma Grade  $\geq 99\%$**

№ зразка	Маса зразка, мг	Температура плавлення, °C	Ентальпія плавлення, кДж/моль	Чистота, %
1.	2,92	149,113	28,09	99,75
2.	2,22	149,097	28,04	99,78
3.	2,70	149,092	27,24	99,53
4.	2,72	149,047	27,77	99,62
5.	2,32	149,046	27,97	99,63
6.	2,55	149,110	27,39	99,59
7.	2,52	149,105	27,06	99,57
8.	2,50	149,097	27,96	99,63
9.	2,38	149,045	27,95	99,83
10.	2,63	149,096	27,27	99,84
Середнє	2,546	149,080	27,70	99,68
SD		0,028	0,39	0,11
C.I.*		0,051	0,72	0,21

Примітка. \*C.I. – односторонній довірчий інтервал для рівня надійності 95%.

Чистота холестерину була незалежно визначена методом ГХ відповідно до монографії ЄФ за методикою кількісного визначення. Різниця між значеннями, визначеними методом ДСК та ГХ, становить 0,28%, що менше критичного значення 0,5%.

Можна бачити, що оцінка невизначеності для холестерину (табл. 5.2), зроблена на підставі повторюваності результатів аналізу (C.I.mean=0,066), близька до вказаних показників невизначеності для NIST SRM 1514 (вміст домішок  $0,69 \pm 0,07$  мольних %) і LGC2013 (вміст домішок  $0,1 \pm 0,1$  мольних %). Також можна бачити, що температура плавлення для середнього значення має значущі цифри  $\sim 10^{-2} \text{°C}$ , як і для пропонуваного СЗ задля калібрування за температурою плавлення. Ентальпія плавлення для холестерину має значущі цифри  $\sim 10^{-1}$  кДж/моль, як і інші комерційно доступні СЗ, для яких атестований цей параметр.

Указаний кандидат СЗ для кваліфікації обладнання може використовуватися за призначенням в такий спосіб. У Сертифікаті до СЗ для кваліфікації обладнання

повідомлені умови аналізу та фактичні значення результатів аналізу, отримані в цій роботі. Лабораторія, яка проводить кваліфікацію обладнання, отримує результати аналізу в зазначених умовах на своєму приладі та порівнює їх із указаними в сертифікаті на СЗ для кваліфікації обладнання. Такий підхід використовується ЄФ для СЗ ЄФ «Комплект для кваліфікації обладнання». Для СЗ для кваліфікації обладнання Холестерину запропонована така інформація для включення в сертифікат:

«Чистота ДСК визначається для 2-3 мг субстанції з застосуванням наведеної нижче температурної програми. Програма нагрівання: витримують протягом 10 хв при 135°C, потім нагрівають до 160°C зі швидкістю нагріву 1°C/хв. Контейнер: близько 40 мкл. Без продування інертним газом (в атмосфері повітря). n = 10.

Чистота: 99,7%. SD=0,11.

Ентальпія плавлення: 27,7 кДж/моль. SD=0,39.

Температура максимуму точки плавлення: 149,12°C. SD=0,038».

*Застосування методу ДСК для визначення характеристик температури плавлення та ентальпії плавлення.* Визначення температури плавлення з використанням методу ДСК було задовільно використано для атестації ФСЗ ДФУ.

Другим показником, що визначають методом ДСК, є ентальпія. Для кращої стандартизації результатів рада експертів Фармакопеї США пропонує зазначати ентальпію для СЗ задля визначення температури плавлення.

Метод ДСК застосовували для атестації таких ФСЗ ДФУ: кофеїн, ванілін, фенілсаліцилат та парацетамол. Ці ФСЗ ДФУ використовують для верифікації приладу для визначення температури плавлення відповідно до загальних статей ДФУ та ЄФ 2.2.14 – Температура плавлення – капілярний метод, 2.2.15 – Температура плавлення – відкритий капілярний метод, 2.2.16 – Температура плавлення – метод миттєвого плавлення.

Одержані значення температури плавлення та ентальпії для досліджуваних зразків представлені в табл. 5.

Таблиця 5

**Параметри плавлення зразків кофеїну, ваніліну, парацетамолу та фенілсаліцилату за даними ДСК: температура (Т) і ентальпія (ΔН)**

Назва та формула	Молекулярна маса, г/моль	Маса наважки для аналізу, мг	Т плавлення, °С	ΔН, кДж/к г	ΔН, кДж/моль	Дані сертифікатів LGC, Sigma Aldrich та Фармакопеї США	
						Т плавлення, °С	ΔН, кДж/моль
Кофеїн	194,2	5,80	235,9	108,1	20,1	237 ± 0,24	–
Ванілін	152,1	6,38	81,9	145,8	22,2	82,6 ± 0,28 81,7 ± 0,2	–
Фенілсаліцилат	214,2	8,31	42,3	88,6	19,0	41,8 ± 0,03	19,18 ± 0,08
Парацетамол	151,2	4,33	169,05 ± 0,01	182,0	28,03 ± 0,03	не застосовується	

Можна бачити, що одержані значення  $T$  і  $\Delta N$  збігаються з указаними для комерційно доступних СЗ, а невизначеність для цих параметрів для ФСЗ ДФУ парацетамолу суттєво менша, ніж для комерційно доступних СЗ.

*Визначення чистоти МдА ФСЗ ДФУ.* При атестації фармацевтичних СЗ метод ДСК застосовується як підтверджувальний, альтернативний метод для визначення чистоти МдА. ДСК було використано при підтвердженні приписного значення ФСЗ ДФУ ніпагіну та флуконазолу (табл. 6). Одержані результати збігаються з визначенням чистоти методом масового балансу. Значення невизначеності для результатів ДСК є прийнятним.

Таблиця 6

**Результати визначення чистоти для ніпагіну та флуконазолу методом ДСК як альтернативним підтверджувальним методом**

МдА ФСЗ ДФУ	Чистота методом ДСК	С.І.*	Чистота методом балансу	Різниця між методами
Ніпагін	99,9%	0	99,9%	0
Флуконазол	99,2%	0,06%	99,3	0,1%
Критерій	–	$\leq 0,5\%$	–	$\leq 0,5\%$

Примітка.\*однобічний довірчий інтервал для рівня надійності 95%.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі подано теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукового завдання, що полягає в метрологічному обґрунтуванні застосування термічних методів аналізу для атестації ФСЗ ДФУ – для КЯ ЛЗ та кваліфікації термогравіметричного обладнання.

1. Здійснено аналіз даних наукової літератури щодо сучасного стану застосування термічних методів аналізу для проведення КЯ ЛЗ та атестації ФСЗ ДФУ з метою вивчення будови, фізичних властивостей, чистоти та однорідності.

2. Дібрані оптимальні методи отримання високочистих МдА ФСЗ ДФУ домішок АФІ з високим виходом: прегабаліну домішка D, орнідазол-епоксид та орнідазол-діол. Термічні методи аналізу використані для встановлення чистоти, визначення температури та ентальпії плавлення й вивчення кристалічної модифікації. Синтезовані домішки відповідають вимогам до МдА ФСЗ ДФУ.

3. Розроблена статистично обґрунтована процедура визначення часу закінчення висушування зразка методом ТГА.

4. Установлені метрологічні критерії для визначення летких домішок при атестації СЗ: «мінімальні» – невизначеність результатів дорівнює максимально допустимій невизначеності для ФСЗ ДФУ  $\max \Delta_{RS}$ , та «максимальні» – невизначеність результатів незначуща порівняно з  $\max \Delta_{RS}$ . Експериментальна оцінка невизначеності результатів для методу ТГА задовольняє найжорсткіші вимоги завдань атестації фармацевтичних СЗ.

5. З урахуванням розроблених підходів було успішно застосовано метод ТГА для завдань атестації 8 ФСЗ ДФУ – для встановлення атестованого значення (фенпіверинію бромід, дексаметазону натрію фосфат, лізину моногідрат,

периндоприлу трет-бутиламін) та для оцінки однорідності (фенілефрину гідрохлорид, фенпіверинію бромід, кверцетин, дексаметазону натрію фосфат).

6. Дібрано МДА для кваліфікації термогравіметричного обладнання з метою атестації СЗ та КЯ ЛЗ – кальцію оксалату моногідрат, синтезований для такої цілі в лабораторії та підданий спеціальній технологічній обробці.

7. Сформульовані метрологічні критерії вимог до результатів визначення чистоти методом ДСК для завдань атестації ФСЗДФУ: «мінімальні» – невизначеність результатів дорівнює максимально допустимій невизначеності для ФСЗДФУ  $\max\Delta_{RS}$ , та «максимальні» – невизначеність результатів незначуща порівняно з  $\max\Delta_{RS}$ . Метод ДСК застосований як альтернативний метод визначення чистоти 2 ФСЗДФУ (ніпагін, флуконазол).

8. Уперше запропонований зразок холестерину для кваліфікації обладнання ДСК, придатний для завдань атестації ФСЗДФУ та КЯ ЛЗ, для якого чистота, температура плавлення та ентальпія плавлення схарактеризовані одночасно.

9. Метод ДСК застосовано з метою атестації ФСЗДФУ, призначених для верифікації приладу задля визначення температури плавлення: кофеїн, ванілін, фенілсаліцилат та парацетамол. Для цих зразків атестовані такі параметри, як температура та ентальпія плавлення.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Изучение возможности применения термогравиметрического анализа для определения летучих примесей для аттестации стандартных образцов / Д. А. Леонтьев, Н. В. Воловик, Е. В. Бевз, О. В. Ващенко, Л. В. Будянская. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2016. № 2(2). С. 10-15. (Особистий внесок – брала участь у пошуку літератури, плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
2. Crystal structure of isopropyl 2-hydroxy-2-phenylacetate: a pharmacopoeia reference standard / I. Isaiev, S. Shishkina, I. Ukrainets, E. Bevz. *Acta Cryst*. 2017. E73. P. 771–773. (Особистий внесок – брала участь у плануванні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
3. The synthesis and study of profiles of the ornidazole impurities / D. Leontiev, O. Bevz, N. Volovyk, I. Gella, V. Georgiyants. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. № 1 (11). С. 4-11. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
4. Obtaining of the pharmacopoeial reference sample of the mandelic acid isopropyl ester. O. V. Bevz, I. V. Ukrainets, O. V. Vashchenko, V.A. Georgiyants, L.V. Budianska. *Вісник фармації*. 2018. № 1 (93). С. 3-11. (Особистий внесок – провела аналіз літературних джерел, брала участь у проведенні експерименту, в узагальненні результатів та підготовці статті).
5. Characterization of a reference standard for qualification of differential scanning calorimetry intended for purity determination in certification of pharmaceutical reference standards / D. A. Leontiev, N. V. Volovyk, O. V. Bevz, O. V. Vashchenko, O. I. Gryzodub. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018. Vol. 10,

- Iss. 11. P.2709-2714. (Особистий внесок – брала участь у плануванні та проведенні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
6. Применение математической модели для описания термограмм с целью определения времени окончания высушивания: перспективы использования для аттестации стандартных образцов / Д. А. Леонтьев, А. И. Гризодуб, Л. В. Иванов, Е. В. Бевз, О. В. Ващенко, Н. В. Воловик. *Фармаком.* 2018. № 4. С. 25-32. (Особистий внесок – брала участь в плануванні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).
  7. Бевз О. В., Українець І. В., Георгіянц В. А. Спосіб одержання ізопропілового естеру мигдальної кислоти високої чистоти: пат. на корисну модель № 126009 України. № у 2018 01887; заявл. 23.02.2018; опубл. 25.05.2018, Бюл. № 10. (Особистий внесок – брала участь у патентному пошуку, проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).
  8. Development of the method for purity determination of the standart sample of nipazol by differential scanning calorimetry / O. V. Bevz, I. S. Terno, D. A. Leontiev, P. O. Bezugly. *Be in Progress 2. International Conference of Pharmacy Students, Lublin, 21th-25th April 2016.* Lublin, 2016. P. 5.
  9. Вибір методу синтезу ізопропілового естеру мигдальної кислоти для атестації стандартного зразку супровідної домішки D – прегабаліну / О. В. Бевз, Д. А. Леонтьев, І. В. Українець, В. А. Георгіянц, П. О. Безуглий. *Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи.* Матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів, Харків, 13-16 вересня 2016 р. В 2-х т., Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 165.
  10. Особливості напрацювання матеріалу для атестації фармакопейного стандартного зразку прегабаліну домішки D 1-метилетил-(2RS)-2-гідрокси-2-фенілацетату / О. В. Бевз, Д. А. Леонтьев, І. В. Українець, В. А. Георгіянц. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль, 10–11 листопада 2016 р. Тернопіль, ТДМУ, 2016. С. 175-176.
  11. Бевз Е. В. Роль методів термічного аналізу в аттестации фармакопейных стандартных образцов. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации 2017: сборник тезисов докладов LXXI Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых.* Минск, БГМУ, 2017. С. 1522.
  12. Вивчення можливості фармакопейної стандартизації продуктів деградації орнідазолу / Д. А. Леонтьев, Н. В. Воловик, О. В. Бевз, Н. В. Денисенко, Н. І. Гудзь, І. М. Гелла. *"Управління якістю в фармації"*: матеріали XI Науково-практичної конференції, Харків, 19 травня 2017 р., Харків : НФаУ, 2017, С. 102-103.
  13. Вивчення просторової будови синтезованої домішки D (ізопропілу-2-гідрокси-2-фенілацетат) прегабаліну / О. В. Бевз, І. В. Українець, С. В. Шишкіна, П. О. Безуглий. Матеріали VII Української конференції «Домбровські хімічні читання-2017», Яремче, 12-16 вересня 2017 р. Івано-Франківськ: Івано-Франківський національний медичний університет, 2017. С. С-55.

14. Бевз О. В., Леонтьєв Д. А., Гелла І. М. Синтез та атестація фармакопейних стандартних зразків домішок орнідазолу. Тези доповідей Київської Конференції з аналітичної хімії. *Сучасні тенденції 2017*, Київ, 18-21 жовтня 2017р. Київ, 2017. – С.156-157.
15. Бевз О. В. Одержання фармакопейних стандартних зразків домішок орнідазолу. Матеріали V науково-практичної конференції Школи молодих науковців ПАТ «Фармак» «*Наука та сучасне фармацевтичне виробництво*», Київ, 19 жовтня 2017 р. Київ, 2017. С.12-13.
16. Подбор стандартных веществ для квалификации термогравиметрического оборудования / Е. В. Бевз, Д. А. Леонтьев, Н. В. Воловик, О. В. Ващенко, Л. В. Будянская. *Управління якістю в фармації: матеріали XII наук.-практ. конф.*, Харків, 18 травня 2018 р. Харків. : НФаУ, 2018. С. 25-26.
17. Bevz O. V., Volovyk N. V., Leontiev D. A. The search of a standard sample for qualification of the differential scanning calorimetry method for the task of certification of pharmaceutical standard samples. Матеріали VI науково-практичної конференції Школи молодих науковців ПАТ «Фармак» «*Наука та сучасне фармацевтичне виробництво*», Київ, 1 листопада 2018 р. Київ, 2018. С. 12-14.
18. Bevz O. V., Leontiev D. A., Volovyk N. V. The requirements to standard samples for qualification of the thermal analysis equipment. 9 international pharmaceutical conference «*Science and practice 2018*», Kaunas, Lithuania, 9th November 2018. Kaunas, 2018. P. 33.

## АНОТАЦІЯ

**Бевз О. В. Наукове обґрунтування атестації фармакопейних стандартних зразків з використанням термічних методів аналізу.** – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація присвячена питанням синтезу матеріалу для атестації (МдА) домішок діючих речовин, а також застосуванню термогравіметрії (ТГА) та диференційної скануючої калориметрії (ДСК) для атестації фармакопейних стандартних зразків (ФСЗ) Державної Фармакопеї України (ДФУ).

Оптимізовані методики синтезу, отримані з високим виходом і високою чистотою орнідазол-діол, орнідазол-епоксид і прегабаліну домішка D. Для їх характеристики використані ТГА та ДСК.

Запропонований опис кінцевої частини дериватограми математичною моделлю і статистично обґрунтована процедура визначення часу закінчення висушування. Сформульовані метрологічні вимоги до результатів визначення легких домішок методом ТГА. Використовуваний прилад забезпечує виконання найбільш жорстких вимог до ФСЗ ДФУ. Метод ТГА застосований для оцінки однорідності МдА і для встановлення атестованого значення. Дібраний МдА для кваліфікації методу ТГА.

Сформульовані метрологічні вимоги до результатів визначення чистоти методом ДСК. Дібраний МдА для кваліфікації методу ДСК. Для нього одночасно схарактеризовані чистота, температура плавлення й ентальпія плавлення. Метод ДСК використаний для атестації чотирьох ФСЗ ДФУ задля верифікації визначення

температури плавлення з характеристикою ентальпії плавлення. Метод ТГА використаний для визначення чистоти МдА як альтернативний метод.

Атестовано 14 ФСЗ ДФУ для кількісного визначення і ФСЗ ДФУ для кваліфікації методів ТГА і ДСК.

**Ключові слова:** фармакопейні стандартні зразки, Державна Фармакопея України, чистота, однорідність, кваліфікація обладнання, метрологічні критерії, термогравіметричний аналіз, диференційна скануюча калориметрія.

## АННОТАЦІЯ

**Бевз Е. В. Научное обоснование аттестации фармакопейных стандартных образцов с использованием термических методов анализа.** – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.03 – стандартизация и организация производства лекарственных средств. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2019.

Диссертация посвящена вопросам синтеза материала для аттестации (МдА) примесей действующих веществ, а также применению термических методов анализа для аттестации фармакопейных стандартных образцов (ФСО) Государственной Фармакопеи Украины (ГФУ).

Были оптимизированы методики синтеза и получены с высоким выходом и высокой чистотой орнидазол-диол, орнидазол-эпоксид и прегабалина примесь D как МдА. Для их характеристики были использованы термогравиметрия (ТГА) и дифференциальная сканирующая калориметрия (ДСК).

Для обеспечения качества результатов анализа для ТГА для задач определения летучих примесей (ЛП) критичным является корректное определение времени окончания высушивания. Предложено описание конечной части дериватограммы математической моделью и базирующаяся на ней статистически обоснованная процедура определения времени окончания высушивания.

Основываясь на требованиях ГФУ, сформулированы метрологические требования к результатам определения ЛП методом ТГА для задач аттестации ФСО ГФУ. Требования к результатам определения ЛП сформулированы для двух уровней: как «минимальные» – неопределенность результатов равняется максимально допустимой неопределенности для ФСО ГФУ ( $max\Delta_{RS}=0,5\%$ ), и как «максимальные» - когда неопределенность результатов незначима по отношению к  $max\Delta_{RS}$  ( $=0,32\cdot 0,5\%=0,16\%$ ). Были выбраны образцы, которые обеспечивали получение предельных характеристик для результатов определения ЛП. Показано, что используемый прибор обеспечивает выполнение наиболее жестких требований для задач аттестации ФСО ГФУ.

Метод ТГА успешно применен для оценки однородности МдА ФСО ГФУ и для установления аттестованного значения.

Был подобран МдА, пригодный для квалификации метода ТГА для задач аттестации ФСО ГФУ по показателю содержание ЛП. Продемонстрирована

пригодность кальция оксалата моногидрата, синтезированного и подвергнутого обработке.

Основываясь на требованиях ГФУ, аналогичным образом сформулированы метрологические требования к результатам определения чистоты методом ДСК для задач аттестации ФСО ГФУ.

Был подобран МдА ФСО ГФУ для квалификации метода ДСК для задач аттестации ФСО ГФУ. Показана пригодность холестерина Sigma Grade  $\geq 99\%$ . Для него одновременно охарактеризованы чистота, температура плавления и энтальпия плавления.

Метод ДСК был использован для аттестации четырех ФСО ГФУ, предназначенных для верификации определения температуры плавления фармакопейными методами. Для них дополнительно охарактеризована энтальпия плавления.

Метод ТГА был использован для определения чистоты как альтернативный метод. Полученные результаты совпадают с результатами определения массового баланса для МдА ФСО ГФУ и имеют приемлемую неопределенность.

Основываясь на разработанных подходах, с использованием термических методов анализа аттестовано 14 ФСО ГФУ для задач количественного определения действующих веществ и примесей и ФСО ГФУ для квалификации методов ТГА и ДСК.

**Ключевые слова:** фармакопейные стандартные образцы, Государственная Фармакопея Украины, чистота, однородность, квалификация оборудования, метрологические критерии, термогравиметрический анализ, дифференциальная сканирующая калориметрия.

## ABSTRACT

**Bevz O. V. Scientific substantiation of certification of pharmacopoeia standard samples using thermal analysis methods.** – Manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Pharmaceutical Sciences in the speciality 15.00.03 – standardization and organization of pharmaceutical preparation manufacturing. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2019.

The thesis is devoted to the issues of synthesis of material for certification (CM) of impurities of active pharmaceutical ingredients and the use of thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) for certification of pharmacopoeial reference standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPhU RSs).

Ornidazole-diol, ornidazole-epoxide, and pregabalin impurity D of high yield and purity were obtained following the optimisation of the procedures for their synthesis. The impurities were characterised by TGA and DSC.

A mathematical model is proposed to describe the final part of the thermogram. A statistically sound procedure for determining the drying end time is substantiated. Metrological requirements for the results of the test for volatile impurities by TGA are formulated. The obtained results met the stringent requirements for the tasks of SPhU RSs certification. TGA was used for homogeneity evaluation and establishment of the certified value of CM. A CM for the qualification of the TGA method was selected.



Metrological requirements for the results of the purity determination by DSC are advanced. A CM for the qualification of the DSC method was selected; its purity, melting temperature and enthalpy of melting were characterised simultaneously. The DSC method was used in the certification of 4 SPhU RS intended for the verification of the melting temperature determination with the characterisation of the enthalpy of melting. The TGA method was used to determine the CM purity as an alternative method.

14 SPhU RSs for assays and SPhU RSs intended for the qualification of TGA and DSC methods were certified.

**Keywords:** pharmacopoeia reference standards, State Pharmacopoeia of Ukraine, purity, homogeneity, equipment qualification, metrological criteria, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АФІ	–	активний фармацевтичний інгредієнт
ГЛЗ	–	готовий лікарський засіб
ГХ	–	газова хроматографія
ДСК	–	диференційна скануюча калориметрія
ДФУ	–	Державна фармакопея України
ЄФ	–	Європейська Фармакопея
ЗВ	–	закінчення висушування
КЯ	–	контроль якості
ЛЗ	–	лікарський засіб
МдА	–	матеріал для атестації
РХ	–	рідинна хроматографія
РХ-МС	–	рідинна хроматографія з мас-спектрометриєю
СЗ	–	стандартний зразок
СФ	–	абсорбційна спектрофотометрія
ТГА	–	термогравіметричний аналіз
ФармСЗ	–	фармацевтичний стандартний зразок
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок
ЯМР	–	спектроскопія ядерного магнітного резонансу