DOI: 10.26896/1028-6861-2018-84-9-13-20

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В СУБСТАНЦИИ (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-ДИМЕТИЛ-2-(ТИОФЕН-2-ИЛ)ОКТАГИДРО-2*H*-ХРОМЕН-4-ОЛ, ОБЛАДАЮЩЕЙ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

© Анастасия Валерьевна Ластовка^{1,2}, Елена Юрьевна Яковлева^{2,3},
Виталий Федорович Коллегов¹, Валентина Павловна Фадеева^{1,2},
Нариман Фаридович Салахутдинов^{1,2}

¹ Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск, Россия;
e-mail: nast.lastovka@gmail.com

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, г. Новосибирск, Россия.

³ Институт катализа им. Г. К. Борескова СО РАН, г. Новосибирск, Россия.

Статья поступила 29 марта 2018 г.

Для внедрения субстанции в медицинскую практику в рамках доклинических испытаний необходимо доказательство ее чистоты. Одним из показателей контроля качества субстанции является содержание остаточных органических растворителей, которые могут влиять на фармакологическую активность лекарственного препарата. В ходе синтеза и выделения субстанции используют четыре растворителя: дихлорметан, этилацетат, метил-*трет*-бутиловый эфир (МТБЭ), *n*-гексан. В работе предложено два способа определения остаточных органических растворителей методом газовой хроматографии в субстанции (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2*H*-хромен-4-ол — с вводом газовой пробы и разделением определяемых компонентов на коммерческой капиллярной колонке HP-5ms (30 м × 0,35 мм × 0,25 мкм); с вводом жидкой пробы и разделением на капиллярной колонке (30 м × 0,32 мм × 0,30 мкм), заполненной модифицированным поли(1-триметилсилил-1-пропином) (ПТМСП). Поскольку первым способом удалось определить только *n*-гексан и этилацетат, была разработана и валидирована методика определения четырех остаточных растворителей — дихлорметана, этилацетата, МТБЭ, *n*-гексана в исследуемой субстанции методом газовой хроматографии на колонке с модифицированной фазой на основе ПТМСП. Обнаружены следовые количества этилацетата и МТБЭ, содержания дихлорметана и *n*-гексана в субстанции — ниже пределов обнаружения. Средние содержания этилацетата и МТБЭ в субстанции для 9 параллельных определений составили 0,10 и 0,20 ppm, что ниже ПДС (5000 ppm) в 5 и 2,5 · 10⁴ раз соответственно. Проведена оценка разработанной методики по следующим характеристикам: специфичность, линейность градуировочного графика, правильность, прецизионность на уровне повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, устойчивость хроматографической системы. Стандартные отклонения результатов при определении этилацетата и МТБЭ в субстанции с использованием разработанной методики не превышают 0,03 и 0,09 соответственно. Методика является специфичной, точной и достоверной для определения остаточных органических растворителей в субстанции.

Ключевые слова: (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2*H*-хромен-4-ол; газовая хроматография (ГХ); остаточные органические растворители; валидация.

CHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF RESIDUAL ORGANIC SOLVENTS IN (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-DIMETHYL-2-(THIOPHEN-2-YL)OCTAHYDRO-2*H*-CHROMEN-4-OL WHICH EXHIBITS HIGH ANALGESIC ACTIVITY

© Anastasiya V. Lastovka^{1,2}, Elena Yu. Yakovleva^{2,3}, Vitaly F. Kollegov¹,
Valentina P. Fadeeva^{1,2}, Nariman F. Salahutdinov^{1,2}

¹ N. N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia; e-mail: nast.lastovka@gmail.com

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia.

³ G. K. Borekov Institute of Catalysis of Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia.

Submitted March 29, 2018.

Introduction of a substance into medical practice requires the indispensable evidence of the substance purity as early as the stage of preclinical testing. The content of residual organic solvents, which can affect the pharmacological activity of the drug, is one of the indicators of the substance quality control. Four solvents are used during synthesis and isolation of the substance: dichloromethane, ethyl acetate, methyl *tert*-butyl ether (MTBE), and *n*-hexane. Two methods of determining residual organic solvents in (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2*H*-chromen-4-ol using gas chromatography are offered: i) introduction of a gas sample and separation of the components on a commercial HP-5ms capillary column (30 m × 0.35 mm × 0.25 μm); ii) introduction of a liquid sample and separation on a capillary column (30 m × 0.32 mm × 0.30 μm) filled with a modified poly(1-trimethylsilyl-1-propyne) (PTMS). Since the first method provides only determination of *n*-hexane and ethyl acetate, the procedure was developed and validated for determination of four residual solvents, i.e., dichloromethane, ethyl acetate, methyl *n*-butyl ether, and *n*-hexane in test substance using gas chromatography on the column with a modified PTMSP-based phase. We detected trace amounts of ethyl acetate and methyl *n*-butyl ether; the content of dichloromethane and *n*-hexane in the substance appeared below the detection limits. The average content of ethyl acetate and MTBE in the substance for 9 parallel determinations (0.10 and 0.20 ppm) appeared 5 and 2.5 × 10⁴ times lower than maximum permissible content (5000 ppm), respectively. The developed technique was assessed for: specificity, linearity of the calibration curve, correctness, precision at the level of the repeatability and intralaboratory precision, and stability of the chromatographic system. Standard deviations in the determination of ethyl acetate and MTBE in the substance do not exceed 0.03 and 0.09, respectively. The procedure is specific, accurate and reliable for determination of the residual organic solvents in the substance.

Keywords: (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2*H*-chromen-4-ol; gas chromatography; residual organic solvents; validation.

Новое производное монотерпеноида (–)-изопулегола — (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2*H*-хромен-4-ол, синтезированный в НИОХ СО РАН им. Н. Н. Ворожцова, по результатам доклинических фармакологических исследований обладает высокой анальгетической активностью в сочетании с низкой токсичностью [1]. Для дальнейшего возможного внедрения субстанции синтетического происхождения в медицинскую практику необходимо всестороннее изучение физико-химических свойств и подтверждение чистоты с использованием как химических, так и физических и физико-химических методов анализа. Методами элементного анализа, УФ-, ИК-, ЯМР ¹H- и ¹³C-спектроскопии, РСА доказаны состав и строение анализируемой субстанции, исследованы ее физико-химические свойства и разработана методика определения действующего вещества [2].

Субстанцию получали реакцией тиофен-2-карбальдегида с (–)-изопулеголом в присутствии катализатора монтмориллонита K10 с использованием дихлорметана (ДХМ) в качестве рас-

творителя (рис. 1). Далее ДХМ отгоняли на ротационном испарителе, реакцию смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 1 ч, добавляли этилацетат, катализатор отфильтровывали, растворитель отгоняли. Остаток растворяли в метил-*трет*-бутиловом эфире (МТБЭ) с последующим добавлением *n*-гексана и оставляли при комнатной температуре для кристаллизации. Процедуру перекристаллизации повторяли несколько раз [1]. Таким образом, при получении субстанции применяли четыре растворителя: дихлорметан, этилацетат, МТБЭ и *n*-гексан, их физические свойства приведены в табл. 1.

Согласно Фармакопее XIII одним из требований контроля качества фармацевтических препаратов является определение остаточных органических растворителей (ООР), применяемых в синтезе и выделении субстанции [4]. Определение ООР в лекарственных препаратах и субстанциях с помощью газовой хроматографии является сложной задачей ввиду того, что возникает необходимость одновременного определения разных по свойствам растворителей с низкими

Рис. 1. Схема синтеза диметилтиохроменоло

пределами обнаружения. Заметим, что в Фармакопее ХП [4] нет рекомендаций по определению ООР методом ГХ, а в общей статье <467> Фармакопее США [5] и в работе [6] для разделения определяемых компонентов смеси рекомендуется применять колонки G43 с неподвижной фазой, содержащей 6 % цианопропилфенила и 94 % метилполисилоксана. Ввиду отсутствия колонки G43 мы опробовали два вида имеющихся в нашем распоряжении колонок: HP-5MS, которая для нашего набора остаточных растворителей оказалась малоприменимой, и колонку, заполненную модифицированным ПТМСР, с помощью которой задача определения ООР была решена.

Остаточные растворители *n*-гексан и дихлорметан относятся ко 2-му классу токсичности, их предельно допустимые содержания (ПДС) согласно Государственной Фармакопее (ГФ) ХП составляют 290 и 600 ppm соответственно [4]. Этилацетат в ГФ ХП не отнесен к какому-либо классу токсичности. В ГФ ХП, как и в основных фармакопеех мира, этилацетат относят к группе растворителей 3-го класса токсичности, для которых установлено ПДС на уровне 0,5 % (5000 ppm) [7]. К этому же классу токсичности относится МТБЭ. Эти значения ПДС мы и приняли как заданные.

Цель работы — разработка и валидация методики определения четырех остаточных органических растворителей: дихлорметана, этилацетата, метил-*трет*-бутилового эфира, *n*-гексана в исследуемой субстанции диметилтиохромена методом газовой хроматографии.

Исследуемая субстанция практически не растворима в воде, поэтому для растворения субстанции должна применяться процедура, которая предусматривает использование растворителя, не содержащего легких примесей, хроматографические пики которых могут накладываться на пики определяемых остаточных растворителей.

Способ 1. Применяли газовый хроматограф Agilent 6890 Series (Agilent Technologies, США) с пламенно-ионизационным детектором (ПИД). Разделение проводили на капиллярной колонке HP-5ms (Agilent Technologies, США) 30 м × 0,35 мм × 0,25 мкм с неподвижной фазой, содержащей 5 % фенил- и 95 % диметилполисилоксана.

Для приготовления рабочих градуировочных растворов использовали индивидуальные растворители (хч): дихлорметан, этилацетат, метил-*трет*-бутиловый эфир, *n*-гексан.

Исходный испытуемый раствор готовили растворением в ДМСО 250 мг субстанции (точная навеска) в мерной колбе объемом 25 мл. В герметизируемый стандартный флакон вместимостью 22 мл, в который предварительно добавили 1 мл воды и 4 мл раствора KHSO₄ (2,5 мг/мл KHSO₄ в H₂O), вводили 5 мл исходного испытуемого раствора, гидросульфат калия вводили для образования фонового тока, что увеличивало интенсивность пиков определяемых соединений. В результате содержание субстанции во флаконе составило 50 мг, а общий объем раствора — 10 мл (водный раствор — 5 мл, ДМСО — 5 мл). Флакон герметизировали, содержимое интенсивно перемешивали.

Модельный раствор ООР в ДМСО содержал 25 мг/мл этилацетата, 25 мг/мл МТБЭ, 3,0 мг/мл дихлорметана и 1,45 мг/мл *n*-гексана. В колбу вместимостью 50 мл предварительно вносили 10 мл ДМСО, затем вводили поочередно этилацетат — 1250 мг, МТБЭ — 1250 мг, дихлорметан — 150 мг, *n*-гексан — 72,5 мг и постепенно с перемешиванием довели объем раствора до метки ДМСО.

В дальнейшем после введения дополнительной стадии очистки субстанции путем перекристаллизации из этилацетата определение МТБЭ не имело значения ввиду снижения остаточной концентрации до предела обнаружения (ПДС = 0,5 %).

Рабочие градуировочные растворы (РСО) готовили внесением модельного раствора в мерную колбу объемом 100 мл с последующим разбавлением для получения ряда растворов с необходимыми для сравнительного анализа концентрациями. Процедура приготовления РСО, соответствующего 1,0 ПДС, включала: добавление 1 мл модельного раствора в мерную колбу на 100 мл, в которую предварительно было внесено 70–80 мл воды, перемешивание и доведение объема раствора до метки водой.

Градуировочные растворы готовили внесением 1 мл РСО во флакон для парового анализа вместимостью 22 мл с добавлением 4 мл раствора

Таблица 1. Физические свойства используемых органических растворителей [3]

Растворитель	Мол. масса, г/моль	$T_{\text{кип}}$, °C	ρ , г/мл	Удельный объем, мл/г
Дихлорметан	84,93	40	1,330	0,750
Этилацетат	88,11	77	0,900	1,110
Метил- <i>трет</i> -бутиловый эфир	88,15	55	0,750	1,330
<i>n</i> -Гексан	86,18	69	0,655	1,530

Рис. 2. Хроматограмма парогазовой пробы над анализируемым градуировочным раствором с концентрацией, равной 1,0 ПДС

KHSO_4 и 5 мл ДМСО; флакон закрывали пробкой и перемешивали раствор. Общий объем раствора во флаконе составил 10 мл (водный раствор — 5 мл, ДМСО — 5 мл).

Парогазовую равновесную фазу над анализируемым раствором при температуре 25 °С отбирали через прокладку пробки иглой газоплотного шприца и вводили в испаритель газового хроматографа. Объем вводимой газовой пробы составлял 0,2 мл.

Анализ проводили с программированием температуры: начальная температура колонки — 40 °С (2 мин), 5 °С/мин до 50 °С, 10 °С/мин до 70 °С, 20 °С/мин до 280 °С, изотерма при 280 °С. Температура испарителя — 280 °С, детектора — 320 °С. Расход газа-носителя (водорода) через колонку составлял 2 мл/мин, режим постоянного потока, коэффициент деления потока после испарителя был равен 10. Объемная скорость подачи воздуха — 250 мл/мин, водорода — 16 мл/мин, суммарная объемная скорость газа-носителя и поддува — 4 мл/мин.

Способ 2. Использовали газовый хроматограф «Кристалл 2000» (Ижевск, Россия) с ПИД. Разделение определяемых компонентов проводили на капиллярной колонке, заполненной модифицированной неподвижной фазой на основе поли(1-триметилсилил-1-пропина) 30 м × 0,32 мм × 0,30 мкм [8 – 10].

Градуировочную зависимость устанавливали методом абсолютной градуировки с использованием смесей *n*-гексана и МТБЭ в ДМСО, ДХМ и этилацетата в ацетоне. Градуировочные растворы готовили в колбе вместимостью 25 мл растворением точной навески ООР в соответствующем растворителе.

Анализируемый испытуемый раствор готовили в колбе объемом 25 мл растворением точной навески субстанции в ДМСО (при определении

Рис. 3. Содержание *n*-гексана и этилацетата после очистки субстанции разными способами

n-гексана и МТБЭ) или в ацетоне (при определении ДХМ и этилацетата).

Вводили в хроматограф 1 мкл анализируемой пробы. Температура колонки — 100 °С, испарителя — 250 °С, детектора — 230 °С. Расход газа-носителя: азота — 26,3, воздуха — 300, водорода — 50 мл/мин.

Результаты и обсуждение. В работе разделение остаточных органических растворителей проводили на капиллярных колонках разной полярности. При вводе анализата в виде газовой фазы использовали стандартную колонку НР-5ms с 5 % фенил-, 95 % диметилполисилоксана, которая позволяет решать широкий спектр газохроматографических задач. Для анализа применяли режим программирования температуры.

Ввод пробы в виде раствора объединили с разделением на колонке, заполненной модифицированной неподвижной фазой на основе ПТМСП. Ранее такие колонки не применяли для определения ООР.

Способ с применением колонки НР-5ms позволил разделить и определить два ООР из четырех. ДМСО, использованный для растворения субстанции, несмотря на проведенную очистку, содержал легкие примеси, пики которых мешали определению основных компонентов смеси. Поэтому с использованием колонки НР-5ms удалось разработать способ определения только двух остаточных растворителей — *n*-гексана и этилацетата.

Хроматограмма парогазовой пробы над анализируемым градуировочным раствором с концентрацией, равной 1,0 ПДС, приведена на рис. 2. Время удерживания *n*-гексана составляет 1,96 мин, этилацетата — 2,04 мин. Строили график зависимости площади пика растворителя на хроматограмме от ПДС. По градуировочному

Рис. 4. Хроматограмма паровой фазы над анализируемым испытуемым раствором субстанции после перекристаллизации из этилацетата

Рис. 5. Хроматограмма модельной смеси растворителей, полученная при разделении на колонке с неподвижной фазой на основе модифицированного ПТМСП при температуре колонки 100 °С: 1 — дихлорметан ($t_R = 3,05$ мин); 2 — этилацетат (6,53 мин); 3 — МТВЭ (8,42 мин); 4 — *n*-гексан (14,33 мин); 5 — диметилсульфоксид (16,23 мин)

Рис. 6. Хроматограмма раствора субстанции в ацетоне: 1 — ацетон; 2 — этилацетат; 3 — МТВЭ

графику находили неизвестное содержание ООР в препарате.

Было определено содержание *n*-гексана в исходной партии субстанции, которое составило 1,28 ПДС, что выше допустимого значения; содержание этилацетата не превысило критического значения, поэтому была проведена работа по очистке субстанции от *n*-гексана. Попытка очистки вакуумной отгонкой при комнатной температуре и при 50 °С результата не дала (рис. 3). Снизить содержание *n*-гексана удалось только путем перекристаллизации образца из этилацетата, после чего оно составило меньше 0,1 ПДС. Содержание этилацетата после перекристаллизации во всех партиях не превысило нормы (см. рис. 3).

Хроматограмма паровой фазы над анализируемым испытуемым раствором после перекристаллизации из этилацетата приведена на рис. 4. Время удерживания *n*-гексана — 1,96 мин, этилацетата — 2,05 мин. На рисунке также видно перекрывание пиков определяемых компонентов — дихлорметана ($t_R = 1,74$ мин) и МТВЭ (1,85 мин).

Рис. 7. Хроматограмма раствора субстанции в ДМСО: 1 — этилацетат; 2 — ДМСО

Так как с помощью предложенного способа удалось определить только два остаточных растворителя из четырех, была разработана методика определения всех четырех растворителей в субстанции вторым способом — с разделением компонентов смеси на колонке, заполненной модифицированным ПТМСП (рис. 5).

Хроматограммы растворов субстанции в ацетоне и ДМСО представлены на рис. 6 и 7 соответственно.

Таблица 2. Результаты оценки методики на выбросы результатов определения этилацетата и МТБЭ в субстанции (f — число степеней свободы)

Определяемый ООР	f	X_{cp} , ppm	G_{max}	G_{min}	$G_{таб}$ ($f = 8, p = 0,95$)	SD	ΔX
Этилацетат	8	0,10	1,59	1,29	2,126	0,03	0,02
МТБЭ	8	0,20	1,34	0,89		0,08	0,06

Расчет концентрации остаточных органических растворителей в субстанции проводили по формулам, приведенным ниже, с учетом исходных данных.

Градуировочный коэффициент для ООР (мг/(мВ · мин)) вычисляли по формуле:

$$A = m/S,$$

где m — масса ООР в градуировочной смеси, мг; S — площадь пика ООР в градуировочной смеси, мВ · мин.

Массовую долю ООР (%) в анализируемой пробе рассчитывали по формуле:

$$X = AS_1/m_1,$$

где m_1 — масса анализируемой пробы, мг; S_1 — площадь пика ООР в анализируемой пробе, мВ · мин.

Концентрацию ООР (мкг/мл) рассчитывали по формуле:

$$C = \frac{AS_1V}{V_1m_1},$$

где V — объем пробы (25 мл); V_1 — объем пробы, введенной в хроматограф (0,001 мл).

В результате проведенных экспериментов в субстанции найдены следовые содержания этилацетата и МТБЭ, значения содержаний ДХМ и n -гексана — ниже пределов обнаружения.

Была выполнена валидация аналитической методики (АМ), что является экспериментальным доказательством того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач. При валидации оценивали АМ по следующим характеристикам: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, прецизионность, устойчивость. Ввиду того, что проводили определение посторонних примесей, минимальное значение, при котором результат анализа может быть оценен визуально, не устанавливали.

Специфичность методики оценивали анализом модельной смеси известного состава. Времена удерживания компонентов смеси (мин): ДХМ — 3,05, этилацетат — 6,53, МТБЭ — 8,42, n -гексан — 14,33, ДМСО — 16,23, ацетон — 2,91 мин. Времена удерживания гексана и ДМСО имеют близкие значения. С учетом того, что воз-

можно перекрывание пиков, определение дихлорметана и этилацетата проводили при растворении препарата в ДМСО; два оставшихся растворителя определяли после растворения субстанции в ацетоне. Таким образом, доказана специфичность аналитической методики для определения четырех ООР в субстанции и исключена возможность присутствия пиков, которые могут перекрывать пики определяемых растворителей. Специфичность была также подтверждена набором хроматограмм: растворителей образца, растворов сравнения, испытываемых растворов.

Правильность и прецизионность. Проверку на выброс максимального и минимального значения при определении этилацетата и МТБЭ проводили с помощью критерия Граббса (табл. 2). Определение ООР в исследуемой субстанции выполняли в течение одного рабочего дня.

Минимальное и максимальное значения критерия Граббса не превышают табличного, что доказывает отсутствие выбросов среди полученных результатов с использованием предложенной методики.

Правильность характеризуется отклонением среднего результата большого числа определений от истинного (надежно установленного) содержания определяемого компонента в пробе, т.е. она тем выше, чем меньше систематическая погрешность. Для оценки правильности готовили три модельных раствора остаточного растворителя, соответствующих нижнему, среднему и верхнему интервалам градуировочного графика, каждый раствор хроматографировали не менее трех раз. Рассчитывали открываемость измерения (отношение найденного содержания к введенному, выраженное в процентах), среднее значение открываемости (X_{cp}), стандартное отклонение (SD), относительное стандартное отклонение (RSD), доверительный интервал, средние абсолютную и относительную погрешности (табл. 3).

Прецизионность методики оценивали на двух уровнях в виде повторяемости и внутрилабораторной прецизионности. Повторяемость выражали стандартным отклонением результатов в пределах одного рабочего дня. Внутрилабораторную прецизионность исследовали в течение двух рабочих дней. Результаты оценки прецизионности и сравнение двух выборок при определении этил-

Таблица 3. Результаты оценки правильности методики определения этилацетата и МТВЭ

Определяемый ООР	n	f	$X_{\text{ср}}, \%$	$SD, \%$	$RSD, \% \text{ отн.}$	$t (95 \%, f)$	$\Delta X_{\text{ср}}, \%$	Средняя погрешность, %	
								относительная	абсолютная
Этилацетат	9	8	100,2	1,08	1,08	2,31	0,832	0,16	0,16
МТВЭ	9	8	99,63	0,71	0,71	2,31	0,547	–0,37	–0,37

Таблица 4. Результаты оценки внутрилабораторной прецизионности методики определения этилацетата и МТВЭ в субстанции в разные дни

Определяемый ООР	Номер определения	f	$X_{\text{ср}}, \text{ppm}$	G_{max}	G_{min}	$G_{\text{таб}} (f = 8, p = 0,95)$	SD	ΔX
Этилацетат	1	8	0,10	1,59	1,29	2,126	0,03	0,02
	2	8	0,10	1,53	1,53		0,03	0,02
МТВЭ	1	8	0,20	1,34	0,89		0,08	0,06
	2	8	0,20	1,60	0,93		0,09	0,07

Таблица 5. Результаты определения этилацетата и МТВЭ в разные дни (сравнение выборок)

Определяемый ООР	Номер определения	$f = n - 1$	$X_{\text{ср}}, \text{ppm}$	SD	Значение критерия Фишера F		Коэффициент Стьюдента t	
					табл.	экспл.	табл.	экспл.
Этилацетат	1	8	0,10	0,03	3,44	1,15	2,13	0,088
	2		0,10	0,03				
МТВЭ	1	8	0,20	0,08	3,44	1,07	2,13	0,064
	2		0,20	0,09				

ацетата и МТВЭ в анализируемой субстанции представлены в табл. 4, 5.

Стандартные отклонения результатов при определении этилацетата и МТВЭ в субстанции с использованием разработанной методики не превышают 0,03 и 0,09 соответственно. При сравнении результатов, полученных в разные дни, различия в воспроизводимостях отсутствуют, т.е. случайные погрешности — одного порядка.

Изменение скорости подачи азота незначительно влияет на число ТТ и симметрию пиков этилацетата, что указывает на устойчивость хроматографической системы в условиях использования методики для определения остаточных растворителей в исследуемом препарате.

Таким образом, разработана методика определения четырех остаточных органических растворителей в субстанции (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2*H*-хромен-4-ола. Анализ включает прямой ввод раствора субстанции в газовый хроматограф с последующим разделением на колонке, заполненной модифицированным ПТМСП. В ходе выполненного исследования обнаружены следовые количества этилацетата и МТВЭ; содержания дихлорметана и *n*-гексана в субстанции — ниже пределов обнаружения. Проведена оценка разработанной методики по следующим характеристикам: специфич-

ность, линейность градуировочного графика, правильность, прецизионность на уровне повторяемости и внутрилабораторной прецизионности, устойчивость хроматографической системы. Доказана специфичность и подтверждено отсутствие посторонних примесей, мешающих определению ООР. Проведенные валидационные тесты показывают, что разработанная методика является специфичной, точной и достоверной для определения остаточных органических растворителей в субстанции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nazimova E., Pavlova A., Mikhachenko O., et al. Discovery of highly potent analgesic activity of isopulegol-derived (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2*H*-chromen-4-ol / Med. Chem. Res. 2016. Vol. 25. N 7. P. 1 – 15.
2. Ластовка А. В., Фадеева В. П., Ильина И. В., Курбакова С. Ю., Волчо К. П., Салахутдинов Н. Ф. Исследование физико-химических свойств и разработка методики определения (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-диметил-2-(тиофен-2-ил)октагидро-2*H*-хромен-4-ола, обладающего высокой анальгетической активностью / Заводская лаборатория. Диагностика материалов. 2017. Т. 83. № 10. С. 11 – 17.
3. Лурье Ю. Ю. Справочник по аналитической химии. Изд. 7-е. — М.: ИД «Альяс», 2007. — 448 с.
4. Государственная Фармакопея РФ XIII. Т. 1. — М.: Министерство здравоохранения РФ, 2015. — 1470 с.
5. The United States Pharmacopoeia, USP38/NF33. Residual Solvents <467>. The United States Pharmacopoeial Convention. — Rockville (MD). USA. 2012.

6. **Grodowska K., Parczewski A.** Analytical methods for residual solvents determination in pharmaceutical products / *Acta Poloniae Pharmaceutica — Drug Research*. 2010. Vol. 67. N 1. P. 13 – 26.
7. Государственная Фармакопея РФ XII. Ч. 1. — М.: «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. — 704 с.
8. **Белоцерковская В. Ю., Яковлева Е. Ю.** Хроматографические свойства поли(1-триметилсилил-1-пропина) / *Журн. физ. химии*. 2011. Т. 85. № 5. С. 939 – 944.
9. **Patrushev Yu. V., Yakovleva E. Y., Shundrina I. K., et al.** The properties of capillary columns with sorbents based on poly-(1-trimethylsilyl-1-propyne) modified with nitrous oxide / *J. Chromatogr. A*. 2015. Vol. 1406. P. 291 – 298.
10. **Яковлева Е. Ю., Патрушев Ю. В., Пай З. П.** Капиллярные колонки с сорбентом на основе модифицированного поли(1-триметилсилил-1-пропина) для элюирующего анализа природного газа / *Журн. физ. химии*. 2018. Т. 92. № 5. С. 1016 – 1022.
1. **Nazimova E., Pavlova A., Mikhilchenko O., et al.** Discovery of highly potent analgesic activity of isopulegol-derived (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2*H*-chromen-4-ol / *Med. Chem. Res.* 2016. Vol. 25. N 7. P. 1 – 15.
2. **Lastovka A. V., Fadeeva V. P., П'ina I. V., et al.** Study of physicochemical properties and development of the technique for quantitative determination of (2*R*,4*R*,4*aR*,7*R*,8*aR*)-4,7-dimethyl-2-(thiophen-2-yl)octahydro-2*H*-chromen-4-ol which exhibits high analgesic activity / *Zavod. Lab. Diagn. Mater.* 2017. Vol. 83. N 10. P. 11 – 17 [in Russian].
3. **Lur'e Yu. Yu.** A Handbook of Analytical Chemistry. — Moscow: ID "Al'yans", 2007. — 448 p. [in Russian].
4. Pharmacopoeia of the Russian Federation XIII. Vol. 1. — Moscow: Ministerstvo zdravooohraneniya RF, 2015. — 1470 p. [in Russian].
5. The United States Pharmacopoeia, USP38/NF33. Residual Solvents <467>. The United States Pharmacopoeial Convention. — Rockville (MD). USA. 2012.
6. **Grodowska K., Parczewski A.** Analytical methods for residual solvents determination in pharmaceutical products / *Acta Poloniae Pharmaceutica — Drug Research*. 2010. Vol. 67. N 1. P. 13 – 26.
7. Pharmacopoeia of the Russian Federation XII. Vol. 1. — Moscow: Nauchnyi tsentr ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya, 2008. — 704 p. [in Russian].
8. **Belotserkovskaya V. Yu., Yakovleva E. Yu.** Chromatographic Properties of Poly(1-Trimethylsilyl-1-Propyne) / *Rus. J. Phys. Chem. A*. 2011. Vol. 85. N 5. P. 851 – 856.
9. **Patrushev Yu. V., Yakovleva E. Y., Shundrina I. K., et al.** The properties of capillary columns with sorbents based on poly-(1-trimethylsilyl-1-propyne) modified with nitrous oxide / *J. Chromatogr. A*. 2015. Vol. 1406. P. 291 – 298.
10. **Yakovleva E. Yu., Patrushev Yu. V., Pai Z. P.** Capillary Columns with a Sorbent Based on Functionalized Poly(1-Trimethylsilyl-1-Propyne) for the Elution Analysis of Natural Gas / *Russ. J. Phys. Chem. A*. 2018. Vol. 92. N 5. P. 1018 – 1023.

REFERENCES