

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ В СУБСТАНЦИИ 2-БЕНЗОИЛАМИНО-N-[4-(4,6-ДИМЕТИЛ- ПИРИМИДИН-2-ИЛСУЛЬФАМОИЛ)-ФЕНИЛ]-БЕНЗАМИДА МЕТОДОМ ГЖХ

Б.В. Боровский

к.фарм.н, доцент, кафедра неорганической, физической и коллоидной химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: b.v.borovskiy@pmedpharm.ru

Н.О. Коваль

аспирант, кафедра неорганической, физической и коллоидной химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)

В.А. Компанцев

д.фарм.н, профессор, кафедра неорганической, физической и коллоидной химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)

И.П. Кодониди

д.фарм.н, профессор, кафедра органической химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)

М.В. Ларский

к.фарм.н, доцент, кафедра фармацевтической химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)
E-mail: m.v.larsky@pmedpharm.ru

А.Г. Рассказов

преподаватель, кафедра токсикологической и аналитической химии,
Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (г. Пятигорск, Россия)

Актуальность. В связи с активным ростом фармацевтической промышленности в Российской Федерации одной из важных задач является контроль качества и стандартизация выпускаемой фармацевтической продукции. В процессе синтеза фармацевтических субстанций, как в лабораторных условиях, так и на крупных фармацевтических предприятиях, используются различные органические растворители. В соответствии с требованиями нормативной документации (НД) определение содержания органических растворителей является обязательным требованием в контроле качества лекарственных препаратов. Таким образом, разработка методики определения остаточных органических растворителей является актуальной для современной фармацевтической науки.

Цель исследования. Разработка методики количественного определения остаточных органических растворителей в фармацевтической субстанции 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида.

Материал и методы. Исследование выполнено с использованием газожидкостного хроматографа «Кристалл 2000М» на 5 лабораторных сериях субстанции 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида. Для анализа уксусной кислоты применяли насадочную стеклянную колонку HP-FFAP (длина 1 м, диаметр 2,0 мм). Неподвижная жидкая фаза – FFAP в количестве 15% от твердого носителя, размер частиц 0,255–0,350 мм, время удерживания уксусной кислоты 4,54 мин. Для анализа остаточного содержания диметилформамида (ДМФА) использовали хроматографическую колонку М (тип 11) «Хроматэк» из нержавеющей стали длиной 2 м и внутренним диаметром 3 мм. В качестве неподвижной жидкой фазы использовали FFAP (в количестве 10% от твердого носителя, размер частиц 0,255 – 0,350 мм, время удерживания пика ДМФА 5,55 мин, в обоих случаях использовали статический (уксусная кислота) и динамический (ДМФА) парофазный анализ.

Результаты. Установлено, что среднее содержание остаточных органических растворителей в пересчете на 1 г субстанции 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида составляет 34,59±1,02 мг для кислоты уксусной и 38,99±1,70 мг для диметилформамида. Подтверждено соответствие предлагаемой методики таким валидационным показателям, как линейность, прецизионность и правильность.

Выводы. Предлагаемая методика позволяет проводить определение остаточных органических растворителей в 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамиде и может быть включена в проект НД на его фармацевтическую субстанцию.

Ключевые слова: газожидкостная хроматография, остаточные органические растворители, уксусная кислота, диметилформамид, хинозалиноны.

Для цитирования: Боровский Б.В., Коваль Н.О., Компанцев В.А., Кодониди И.П., Ларский М.В., Рассказов А.Г. Определение остаточных органических растворителей в субстанции 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида методом ГЖХ. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2021;24(4):15–23. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-04-03>

В последнее время отмечается рост числа нервно-психических заболеваний, в том числе неврозов, которые прочно удерживают лидирующее положение. Депрессивные расстройства в мире являются одним из самых распространенных психических расстройств – от них страдает 350 млн человек из всех возрастных групп. По результатам исследования ученых Национального медицинского исследовательского центра психиатрии и наркологии имени В.П. Сербского, в России страдают депрессивными расстройствами 8 млн человек [1, 2]. В этой связи актуальным является поиск новых биологически активных соединений, обладающих анксиолитической и антидепрессивной активностью.

Одним из таких соединений является производное хиназолинона– 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамид (лабораторный шифр ПМФИ-195), синтезированный на кафедре органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института под руководством проф. И.П. Кодониди. В ходе фармакологических исследований установлено, что данное соединение обладает анксиолитической, актопротекторной и антидепрессивной активностью [3].

В соответствии с ОФС.1.1.0008.15 «Остаточные органические растворители», фармацевтические субстанции подлежат контролю на содержание органических растворителей. Органическими растворителями для синтеза субстанции ПМФИ-195 являются уксусная кислота и диметилформамид (ДМФА), относящиеся соответственно к 3-му и 2-му классам токсичности. Анализ литературных данных выявил основные методы определения уксусной кислоты и ДМФА.

Так, для определения уксусной кислоты, которая образуется в результате расщепления ацетильных групп в гемицеллюлозе, применяли метод газовой хроматографии [4]. Для определения в гидролизате биомассы использовали метод газовой хроматографии [5], высокоэффективную жидкостную и ионную хроматографии [6, 7], также применяли традиционный метод титрования [8]. Методики основаны на реакции дериватизации спиртов и кислот *in vivo*; в качестве предпочтительного реагента выбрана смесь гидросульфата натрия и этанола. Для наиболее объективного определения уксусной кислоты был выбран метод газовой хроматографии (ГХ) (парофазный анализ) [9].

Прямой анализ низкомолекулярных карбоновых кислот с помощью ГХ часто затруднен из-за плохого разделения и обнаружения этих соединений. Однако при предварительной дериватизации различными химическими агентами [10–12] возможность идентифицировать и количественно определить исследуемые соединения увеличивается.

В [13] предложена методика определения уксусной кислоты в водных образцах путем водно-фазовой дериватизации, твердофазной микроэкстракции (ТФМЭ) и газовой хроматографии. Была оценена возможность использования прямой дериватизации уксусной кислоты *n*-гексилхлорформиадом и бензилбромидом в воде. В случае *n*-гексилхлорформиата уксусная кислота не дает производного *n*-гексилацетата, но реакция уксусной кислоты с бензилбромидом в водном растворе приводит к образованию бензилацетата. Производные выделяли методом жидкостно-жидкостной экстракции и ТФМЭ, а затем анализировали методом газовой хроматографии с пламенной ионизацией.

Для анализа ДМФА в субстанции темозолид была разработана и валидирована методика определения остаточных органических растворителей ацетона, метанола и ДМФА методом газовой хроматографии (вариант – парофазный анализ) [14].

Таким образом, анализ литературы показал, что для определения уксусной кислоты наиболее часто применяют методики с использованием газовой хроматографии с предварительной дериватизацией различными химическими веществами, а в случае ДМФА – парофазный анализ.

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – разработка методики количественного определения остаточных органических растворителей: уксусной кислоты и ДМФА в субстанции 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида методом ГЖХ с использованием парофазного анализа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – пять лабораторных серий субстанции ПМФИ-195.

Способ получения 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфамоил)-фенил]-бензамида основан на взаимодействии 2-фенилбензоил-[1,3]оксазин-4-она с 2-(4-аминобензолсульфамидо)-4,6-диметилпиримидином при нагревании в среде ледяной уксусной кислоты и диметилформамида [3].

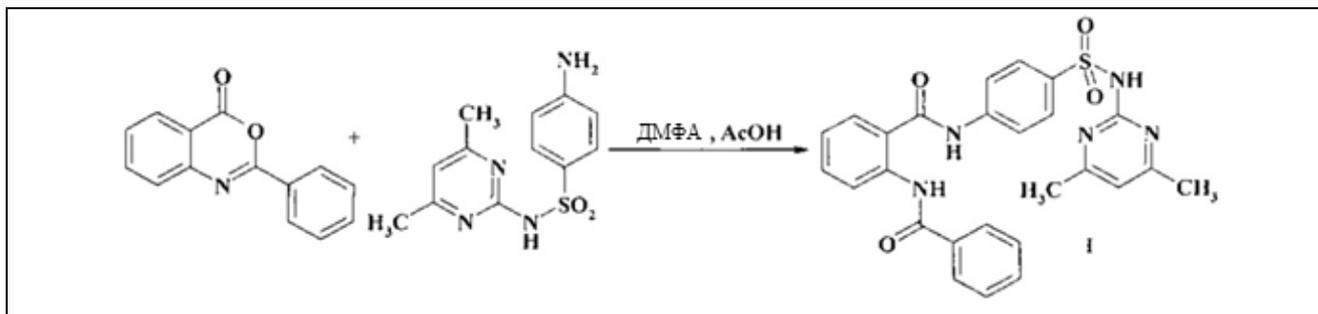


Рис. 1. Схема синтеза 2-бензоиламино-N-[4-(4,6-диметилпиримидин-2-илсульфоамил)-фенил]-бензамида (лабораторный шифр ПМФИ-195)

Испытуемое вещество практически нерастворимо в спирте этиловом 95%-ном и нерастворимо в воде. Для извлечения органических растворителей с учетом их смешиваемости применяли воду для хроматографии с последующим парофазным вводом пробы, используя при этом газовую экстракцию. Анализ уксусной кислоты проводили статическим парофазным методом, ДМФА – динамическим.

В работе использовали газовый хроматограф «Кристалл 2000М» (Россия), снабженный пламенно-ионизационным детектором (ПИД), весы аналитические RadwagAS 220.R2 (Польша), мерную посуду класса А, органические растворители (уксусная кислота, ДМФА) марки хч (ЗАО «Вектон», Санкт-Петербург, Россия), вода для хроматографии (LC-MS grade, Panreac, Испания).

Анализ уксусной кислоты выполняли с помощью насадочной стеклянной колонки НР-FFAP (длина 1 м, диаметр 2,0 мм). Неподвижная жидкая фаза – FFAP в количестве 15% от твердого носителя, размер частиц 0,255–0,350 мм. Для уменьшения адсорбционной активности твердого носителя на межфазной поверхности, приводящей к размыванию хроматографического пика уксусной кислоты, твердый носитель модифицировали ортофосфорной кислотой в количестве 2% от его массы. Хроматографирование проводили в изотермическом режиме при температуре колонки 130 °С. Температура инжектора – 190 °С, температура детектора – 220 °С. Газ носитель – азот, скорость потока – 30 мл/мин. Расход водородосоставлял 20 мл/мин; расход воздуха – 200 мл/мин.

Остаточное содержание ДМФА анализировали с помощью хроматографической колонки М (тип 11) «Хроматэк» из нержавеющей стали длиной 2 м и внутренним диаметром 3 мм. В качестве неподвижной жидкой фазы использовали FFAP (в

количестве 10% от твердого носителя, размер частиц 0,255–0,350 мм, в качестве газа носителя – азот марки осч, скорость потока – 30 мл/мин. Расход водорода – 25 мл/мин; расход воздуха – 200 мл/мин.

Для анализа уксусной кислоты после термостатирования при 85 °С хроматографическим шприцом отбирали 1 см³ паровой фазы испытуемой суспензии субстанции калибровочных растворов и вводили в испаритель хроматографа.

Для анализа ДМФА 1 мл суспензии субстанции и 1 мл калибровочных растворов в виалах вместимостью 2 мл помещали в герметичный патрон приставки динамического парофазного анализа, термостатировали при температуре 85 °С в течение 15 мин при давлении азота во флаконе 1,25 кг/см² (температура колонки 150 °С, испарителя –200 °С, детектора 200 °С). Затем заполняли дозаторную петлю объемом 0,8545 см³ и пневмоспособом с потоком газа-носителя вводили в хроматографическую колонку, фиксируя время удерживания.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматограммы суспензии ПМФИ-195, полученные в вышеуказанных условиях при определении кислоты уксусной и ДМФА, представлены на рис. 2,а и 2,б соответственно.

Время удерживания пика кислоты уксусной составляет 4,54 мин, пика ДМФА – 5,55 мин. Количество остаточных органических растворителей в субстанции ПМФИ-195 рассчитывали методом внешнего стандарта. Метод измерения включает в себя отбор равновесной паровой фазы над пробой суспензии или калибровочного раствора органических растворителей и ее последующий ГЖХ-анализ с пламенно-ионизационным детектированием (ГЖХ–ПИД).

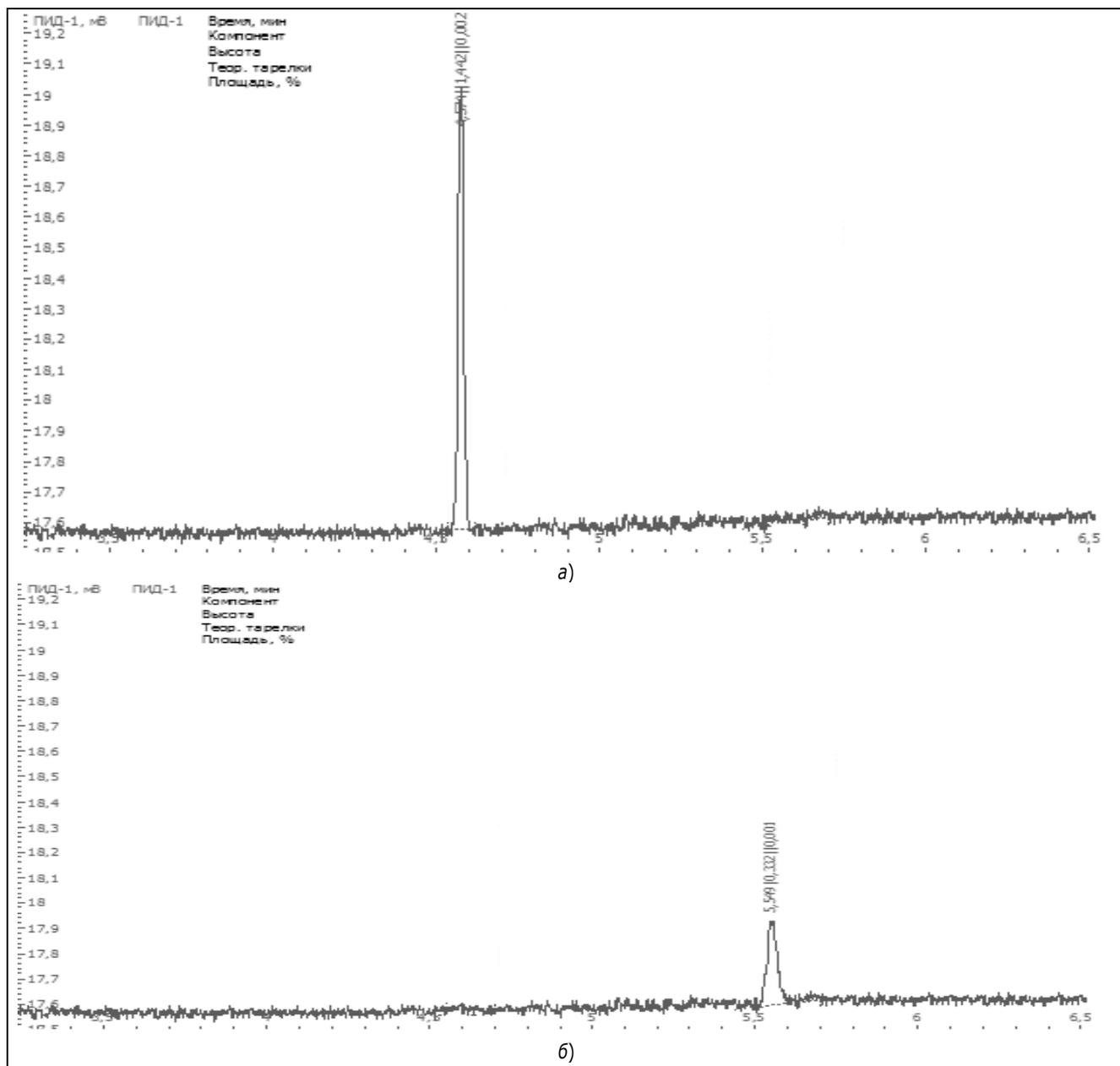


Рис. 2. Хроматограмма раствора суспензии ПМФИ-195: а – пик уксусной кислоты; б – пик ДМФА

Концентрация каждого компонента в паровой фазе прямо пропорциональна его первоначальной концентрации в растворе или в суспензии. Расчеты проводили с использованием уравнения линейного детектирования пропорциональности сигнала детектора (J) от концентрации (C , мг/г) вещества [15, 16]:

$$C = \frac{A_{ст} \times J_i \times V}{J_{ст} \times P}, \quad (1)$$

где $A_{ст}$ – концентрация стандартного раствора органического растворителя, мг/мл; J_i – высота

(площадь) пика соответствующего растворителя, вычисленная по трем хроматограммам испытуемой суспензии; V – объем стандартного раствора, мл; $J_{ст}$ – высота(площадь) пика стандартного образца, вычисленная по трем хроматограммам; P – навеска субстанции, г.

В формуле (1) соотношение $\frac{A_{ст}}{J_{ст}}$ – фактор отклика (f_R), характеризующий физическую величину зависимости сигнала детектора от концентрации вещества, введенного в хроматографиче-

скую колонку, является показателем линейности детектирования. Тогда уравнение (1) примет вид:

$$C = \frac{f_R \times J_i \times V}{P} \quad (2)$$

Для приготовления калибровочных растворов брали точные навески кислоты уксусной, разбавляли водой для ВЭЖХ до концентрации 2,5 мг/г.

Из этого раствора готовили рабочие стандартные образцы со следующими концентрациями: 0,50; 1,0; 1,5; 2,0; 2,50 мг/мл.

Из каждого образца отбирали по 1,0 мл в вials вместимостью 2 мл и проводили хроматографический анализ. Результаты анализа калибровочных растворов кислоты уксусной представлены в табл. 1 и на рис. 3.

Таблица 1. Результаты анализа калибровочных растворов уксусной кислоты

Номер серии	Концентрация в растворе, мг/мл	Высота пика, мм	$f_R(x_i)$	Метрологические характеристики
1	0,50	39,0	0,01282	$\bar{X} = 0,01222$ $S = 3,361 \times 10^{-4}$ $S_{\bar{x}} = 1,503 \times 10^{-4}$ $\Delta \bar{x} = \pm 3,863 \times 10^{-4}$ $\varepsilon_i = \pm 3,16\%$
2	1,00	83,0	0,01205	
3	1,50	124,0	0,01210	
4	2,00	166,0	0,01205	
5	2,50	207,0	0,01208	

Таблица 2. Результаты анализа калибровочных растворов ДМФА

Номер серии	Концентрация ДМФА в растворе, мг/мл	Высота пика, мм	$f_R(x_i)$	Метрологические характеристики
1	0,50	53	0,009433	$\bar{X} = 0,009450$ $S = 6,2 \times 10^{-5}$ $S_{\bar{x}} = 2,8 \times 10^{-5}$ $\Delta \bar{x} = 7,7 \times 10^{-5}$ $\varepsilon_i = \pm 1,83\%$
2	1,00	105	0,009363	
3	1,50	158	0,009524	
4	2,00	210	0,009494	
5	2,50	253	0,009434	

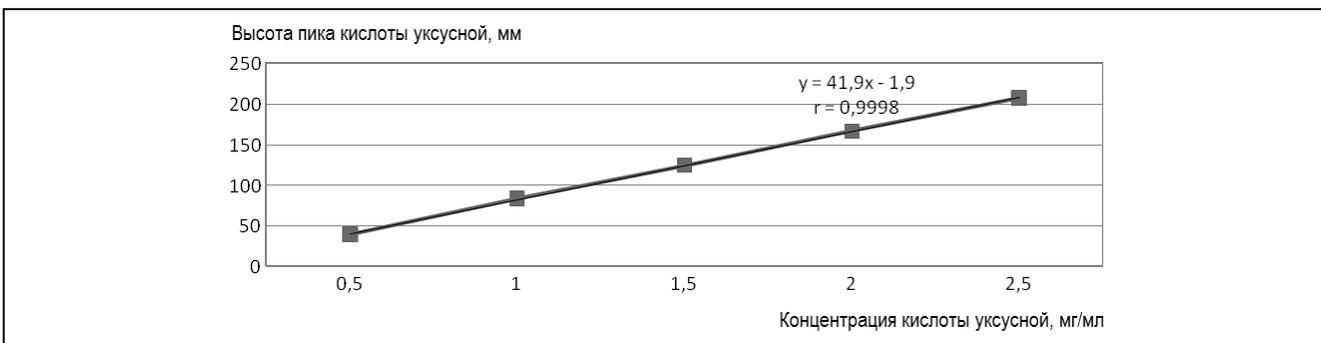


Рис. 3. График линейной зависимости высоты пика от концентрации уксусной кислоты

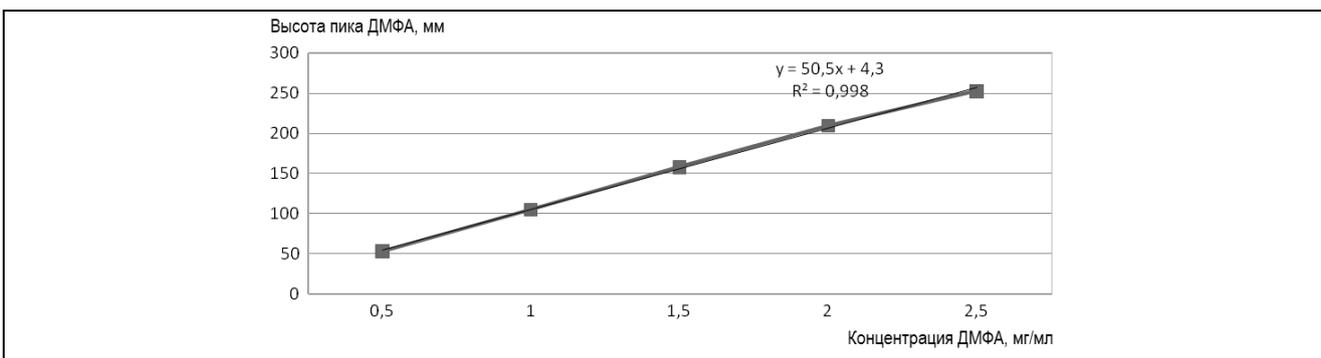


Рис. 4. График линейной зависимости высоты пика от концентрации ДМФА

Таблица 3. Количественное определение содержания уксусной кислоты в субстанции ПМФИ-195

Номер серии	Навеска субстанции, мг	Высота пика, мм	Концентрация в суспензии, мг/мл	Содержание кислоты уксусной, мг/г	Метрологические характеристики
1	19,70	53,6	0,6538	33,886	$\bar{X} = 34,59$ $S = 0,8166$ $S_{\bar{x}} = 0,36519$ $\Delta\bar{x} = 1,02$ $\varepsilon_i = \pm 2,93\%$
2	20,01	55,1	0,6721	35,588	
3	19,55	53,3	0,6515	33,612	
4	20,45	55,5	0,6782	34,911	
5	20,00	54,4	0,6597	34,931	

Таблица 4. Количественное определение содержания ДМФА в субстанции ПМФИ-195

Номер серии	Навеска субстанции, мг	Высота пика, мм	Концентрация в суспензии, мг/мл	Содержание ДМФА, мг/г	Метрологические характеристики
1	19,52	82,6	0,778	39,896	$\bar{X} = 38,99$ $S = 0,6133$ $S_{\bar{x}} = 0,27428$ $\Delta\bar{x} = 1,70$ $\varepsilon_i = \pm 2,51\%$
2	20,16	83,4	0,787	39,077	
3	20,43	84,0	0,792	38,734	
4	19,58	79,2	0,745	38,211	
5	20,07	83,1	0,783	39,052	

Согласно данным, представленным в табл. 1, значение относительного стандартного отклонения для количественного определения кислоты уксусной составило 3,16%, что не превышает стандартного отклонения, составляющего 4% [17]. Значение коэффициента корреляции указывает на удовлетворительную линейность. Нижний предел детектирования уксусной кислоты линейного динамического диапазона, сигнал которого превышает двойную амплитуду шума, составляет 14 мм, тогда $C_{\min} = 14 \times 0,01222 = 0,171$ мг/мл. Линейный динамический диапазон детектирования составляет 0,171–2,5 мг/мл.

Калибровочные растворы ДМФА в воде готовили разбавлением 5 мг/мл раствора ДМФА до концентраций 0,50; 1,0; 1,5; 2,0; 2,50 мг/мл. Из каждой смеси отбирали по 1 мл, помещали в вials вместимостью 2 мл, устанавливали в герметичный патрон приставки для динамического парофазного анализа. Хроматографировали, измеряя высоту пика ДМФА. Результаты представлены в табл. 2 и на рис. 4.

Представленные результаты также свидетельствуют об удовлетворительной линейности получаемых результатов при приемлемом значении от-

носительного стандартного отклонения. Нижний предел детектирования ДМФА при двойной амплитуде шума составляет $C_{\min} = 14 \times 0,009430 = 0,132$ мг/мл.

Для количественного определения остаточного содержания уксусной кислоты и ДМФА в субстанции ПМФИ-195 готовили пять точных навесок для каждой серии вещества массой приблизительно 20 мг, помещали в вials, добавляли по 1 мл воды для ВЭЖХ и встряхивали при температуре 30 °С в течение одного часа. Результаты количественного определения остаточного содержания уксусной кислоты и ДМФА представлены в табл. 3 и 4.

Результаты свидетельствуют, что в исследуемой субстанции присутствует растворитель второго класса токсичности (ДМФА) с концентрацией в суспензии 0,77 мг/мл, что меньше допустимой нормы (0,88 мг/мл) с содержанием 38,99 мг на грамм субстанции и уксусная кислота третьего класса токсичности с концентрацией в суспензии 0,67 мг/мл с содержанием 34,59 мг в 1 г субстанции. Относительное стандартное отклонение для количественного определения уксусной кислоты составляет 2,93% и ДМФА –2,51%, что не превышает норматив, равный 4%.

Таблица 5. Определение открываемости уксусной кислоты в модельной смеси суспензии ПМФИ-195

Навеска субстанции, мг	Внесено, мг	Высота пика, мм	Содержание		$K_{откр}$	Метрологические характеристики
			мг	%		
20,18	1,50	71,0	1,2676	84,50	1,1834	$\bar{X} = 84,76$ $S = 0,65889$ $S_{\bar{x}} = 0,29466$ $\Delta\bar{x} = 0,82$ $\varepsilon_i = \pm 2,16\%$
20,14	1,56	73,4	1,3112	84,05	1,1897	
20,47	1,45	68,6	1,2314	84,92	1,1775	
20,12	1,41	65,7	1,2100	85,81	1,1653	
20,36	1,48	70,4	1,2515	84,56	1,1825	

Таблица 6. Определение открываемости ДМФА в модельной смеси суспензии ПМФИ-195

Навеска субстанции, мг	Внесено, мг	Высота пика, мм	Содержание		$K_{откр}$	Метрологические характеристики
			мг	%		
20,26	1,36	140,0	1,3230	97,28	1,0280	$\bar{X} = 98,16$ $S = 0,6855$ $S_{\bar{x}} = 0,29$ $\Delta\bar{x} = 0,72$ $\varepsilon_i = \pm 1,80\%$
19,86	1,54	162,1	1,5270	99,15	1,0085	
20,17	1,48	157,2	1,4505	98,00	1,0204	
20,04	1,57	163,0	1,5382	97,98	1,0206	
20,46	1,50	155,5	1,4764	98,42	1,0160	

Для получения достоверных результатов в случае применения парофазного анализа необходимо определить открываемость (степень извлекаемости остаточных органических растворителей из субстанции). Для этого готовили модельные смеси: остаток субстанции после проведения анализа собирали, промывали водой для ВЭЖХ, высушивали до постоянной массы при 105 °С, затем проводили проверку на чистоту. После этого отбирали пять навесок субстанции, вносили 1,5 мг уксусной кислоты и ДМФА и выполняли количественное определение. Результаты представлены в табл. 5 и 6, где $K_{откр}$ – коэффициент открываемости.

Из табл 5 и 6 следует, что открываемость уксусной кислоты составляет примерно 85%, ДМФА – 98%. Окончательный результат остаточного содержания растворителей в субстанции рассчитывали по формуле (2), с введением в числитель множителя $K_{откр}$ – коэффициента открываемости. Установлено, что содержание кислоты уксусной в

одном грамме субстанции составило 40,80 мг, ДМФА – 39,72 мг/г.

ВЫВОДЫ

Создание методик для анализа короткоцепочечных кислот является актуальной задачей в фармацевтической и химической промышленности. Разработана и валидирована методика определения уксусной кислоты и ДМФА методом ГЖХ-определения с применением парофазного способа экстракции и введения проб остаточных летучих растворителей, которая позволяет получить достоверные и надежные результаты определения кислоты. Представленная методика включена в проект фармакопейной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровский Ю.А., Этиологические факторы и механизмы формирования невротических расстройств. Психиатрия: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. С. 25–30.
2. Полищук Ю.И., Летникова З.В. Многофакторные причины возникновения и развития непсихотических депрессивных

- и тревожных расстройств в позднем возрасте. Социальная и клиническая психиатрия. 2019; 29(2): 86–92.
- Патент РФ № 2643356. Новое N-арилсульфамидное производное о-бензоиламинобензойной кислоты, обладающее анксиолитической, акропротекторной и антидепрессивной активностью. Э.Т. Оганесян, И.П. Кодониди, Э.А. Манвелян, В.С. Сочнев, В.Ю. Сыса, М.М. Манвелян. 2018.
 - Yang G., Jahan M.S., Ahsan L., Zhang L.Q., Ni Y.H. Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. *Bioresour Technol.* 2013; 138: 258.
 - Zhao G.H., Nyman M., Jönsson J.Å. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. *Biomed. Chromatography.* 2006; 20(8): 674–682.
 - Torii T., Kanemitsu K., Wada T., Itoh S., Kinugawa K., Hagiwara A. Measurement of short-chain fatty acids in human faeces using high-performance liquid chromatography: specimen stability. *Ann. Clin. Biochem.* 2010; 47(5): 447–452.
 - Ferreir F.N., Carneiro M.C., Vaitsman D.S., Pontes F.V.M., Monteiro M.I.C., Da Silva L.I.D., Neto A.A. Matrix-elimination with steam distillation for determination of short-chain fatty acids in hypersaline waters from pre-salt layer by ion-exclusion chromatography. *J. Chromatography A.* 2012; 1223: 79–83.
 - Hey T., Sandström D., Ibrahim V., Jönsson K. Evaluating 5 and 8 pH-point titrations for measuring VFA in full-scale primary sludge hydrolysate. *Water SA* 2013; 39(1): 17–22.
 - Dandan Z., Qingxi H., Wei L., Xiaoli R. Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry.* 2017; 47: 281–287.
 - Blau K., Halket J. (Eds.) *Handbook of Derivatization for Chromatography*, 2nd ed. Heyden, London. 1993.
 - Wells R.J. Recent advances in non-silylation derivatization techniques for gas chromatography. *J. Chromatography A.* 1999; 843(1–2): 1–18.
 - Husek P. Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents. *J. Chromatography B.* 1998; 717(1–2): 57–91.
 - Wittmann Gy., Van Langenhove H., Dewulf J. Determination of acetic acid in aqueous samples, by water-phase derivatization, solid-phase microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatography A.* 2000; 874(2): 225–234.
 - Keerthi K., Valli Kumari R.V., Tulja Rani G. Head space gas chromatography analysis of residual solvents in temozolomide by using Zb-624 Column. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB).* 2015; 3(6): 92–100.
 - Вигдергауз М.С. Расчеты в газовой хроматографии. М.: Химия, 1978. 248 с.
 - Витенберг А.Г., Конопелько Л.А. Парофазный газохроматографический анализ: метрологические приложения. *Журнал аналитической химии.* 2011; 66(5): 452–472.
 - Руководство ICN «Валидация аналитических методик». Содержание и методология. *Фармация.* 2008; 4: 3–10.

Поступила после доработки 18 февраля 2021 г.

DETERMINATION OF RESIDUAL ORGANIC SOLVENTS IN 2-BENZOYLAMINO-N- [4- (4,6-DIMETHYLPYRIMIDIN-2-YLSULFAMOIL) -PHENYL] -BENZAMIDE BY GAS CHROMATOGRAPHY

© Authors, 2021

B.V. Borovskiy

Ph.D (Pharm.), Associate Professor, Department of Inorganic, Physical and Colloid Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia), E-mail: b.v.borovskiy@pmedpharm.ru

N.O. Koval'

Post-graduate Student, Department of Inorganic, Physical and Colloid Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

V.A. Kompancev

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Department of Inorganic, Physical and Colloid Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

I.P. Kodonidi

Dr.Sc. (Pharm.), Professor, Department of Organic Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

M.V. Larskiy

Ph.D (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia), E-mail: m.v.larskiy@pmedpharm.ru

A.G. Rasskazov

Lecturer, Department of Toxicological and Analytical Chemistry, Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (Pyatigorsk, Russia)

Relevance. Due to the active growth of the pharmaceutical industry in the Russian Federation, one of the important tasks is quality control and standardization of manufactured pharmaceutical products. During the synthesis of pharmaceutical substances, both in laboratory conditions and at large pharmaceutical enterprises, various organic solvents are used. In accordance with the requirements of ND, the determination of the content of organic solvents is a mandatory requirement in the quality control of medicinal products, thus, the development of methods for the determination of residual organic solvents is relevant for modern pharmaceutical science.

The aim of the study. To develop a method for the quantitative determination of residual organic solvents in the pharmaceutical substance of 2-benzoylamino-N-[4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylsulfamoyl)-phenyl]-benzamide

Material and methods. Investigation was carried out using gas chromatograph "Kristall 2000M" on 5 laboratory series of the substance of 2-benzoylamino-N-[4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylsulfamoyl)-phenyl]-benzamide.

For the analysis of acetic acid, a packed glass column HP-FFAP was used (length 1 m, diameter. Stationary liquid phase - FFAP in an amount of 15% of the solid support, particle size 0.255 - 0.350 mm, acetic acid peak retention time 4.5. For the analysis of the residual DMF content, we used chromatographic column M (type 11) "Chromatek" made of stainless steel with a length of 2 m and an inner diameter of 3 mm. FFAP was used as a stationary liquid phase (in an amount of 10% of the solid carrier, particle size from 0.255 to 0.350 mm, retention time of the DMF peak 5.55 min, in both cases headspace analysis was used.

Results. It was found that the average content of residual solvents per 1 g of 2-benzoylamino-N-[4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylsulfamoyl)-phenyl]-benzamide is 34.59±1.02 mg for acetic acid and 38.99±1.70 mg for dimethylformamide. Proposed method has sufficient validation characteristics as linearity, precision and trueness.

Conclusions. The proposed method makes it possible to determine the residual solvents in the substance of 2-benzoylamino-N-[4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylsulfamoyl)-phenyl]-benzamide and can be included in the draft regulatory document for its pharmaceutical substance.

Key words: chromatography, residual organic solvents, acetic acid, dimethylformamide, quinosalinone derivatives.

For citation: Borovskiy B.V., N.O.Koval', Kompancev V.A., Kodonidi I.P., Larskiy M.V., Rasskazov A.G. Determination of residual organic solvents in 2-benzoylamino-n-[4-(4,6-dimethylpyrimidin-2-ylsulfamoyl)-phenyl]-benzamide by gas chromatography. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2021;24(4):15-23. <https://doi.org/10.29296/25877313-2021-04-03>

REFERENCES

- Aleksandrovskiy Ju.A., Jetiologicheskie faktory i mehanizmy formirovaniya nevrolicheskih rasstrojstv. Psihiatrija: nacional'noe rukovodstvo. M.: GJeOTAR-Media, 2011. S. 25-30.
- Polishhuk Ju.I., Letnikova Z.V. Mnogofaktornye prichiny voznikovenija i razvitiya nepsihoticheskih depressivnyh i trevozhnyh rasstrojstv v pozdnem vozraste. Social'naja i klinicheskaja psihiatrija. 2019; 29(2): 86-92.
- Patent RF № 2643356. Novoe N-arilsulfamidnoe proizvodnoe o-benzoilaminobenzojnoj kisloty, obladajushhee anksioliticheskoj, akroprotektornoj i antidepressivnoj aktivnost'ju. Je.T. Oganessian, I.P. Kodonidi, Je.A. Manveljan, V.S. Sochnev, V.Ju. Sysa, M.M. Manveljan. 2018.
- Yang G., Jahan M.S., Ahsan L., Zhang L.Q., Ni Y.H. Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. Bioresour Technol. 2013; 138: 258.
- Zhao G.H., Nyman M., Jönsson J.Å. Rapid determination of short-chain fatty acids in colonic contents and faeces of humans and rats by acidified water-extraction and direct-injection gas chromatography. Biomed. Chromatography. 2006; 20(8): 674-682.
- Torii T., Kanemitsu K., Wada T., Itoh S., Kinugawa K., Hagiwara A. Measurement of short-chain fatty acids in human faeces using high-performance liquid chromatography: specimen stability. Ann. Clin. Biochem. 2010; 47(5): 447-452.
- Ferreir F.N., Carneiro M.C., Vaitsman D.S., Pontes F.V.M., Monteiro M.I.C., Da Silva L.I.D., Neto A.A. Matrix-elimination with steam distillation for determination of short-chain fatty acids in hypersaline waters from pre-salt layer by ion-exclusion chromatography. J. Chromatography A. 2012; 1223: 79-83.
- Hey T., Sandström D., Ibrahim V., Jönsson K. Evaluating 5 and 8 pH-point titrations for measuring VFA in full-scale primary sludge hydrolysate. Water SA 2013; 39(1): 17-22.
- Dandan Z., Qingxi H., Wei L., Xiaoli R. Rapid determination of formic and acetic acids in biomass hydrolysate by headspace gas chromatography. Journal of Industrial and Engineering Chemistry. 2017; 47: 281-287.
- Blau K., Halket J. (Eds.) Handbook of Derivatization for Chromatography, 2nd ed. Heyden, London. 1993.
- Wells R.J. Recent advances in non-silylation derivatization techniques for gas chromatography. J. Chromatography A. 1999; 843(1-2): 1-18.
- Husek P. Chloroformates in gas chromatography as general purpose derivatizing agents. J. Chromatography B. 1998; 717(1-2): 57-91.
- Wittmann Gy., Van Langenhove H., Dewulf J. Determination of acetic acid in aqueous samples, by water-phase derivatization, solid-phase microextraction and gas chromatography. Journal of Chromatography A. 2000; 874(2): 225-234.
- Keerthi K., Valli Kumari R.V., Tulja Rani G. Head space gas chromatography analysis of residual solvents in temozolomide by using Zb-624 Column. International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB). 2015; 3(6): 92-100.
- Vigdergauz M.S. Raschet v gazovoj hromatografii. M.: Himija, 1978. 248 s.
- Vitenberg A.G., Konopel'ko L.A. Parofaznyj gazohromatograficheskij analiz: metrologicheskie prilozhenija. Zhurnal analiticheskij himii. 2011; 66(5): 452-472.
- Rukovodstvo ICN «Validacija analiticheskijh metodov». Soderzhanie i metodologija. Farmacija. 2008; 4: 3-10.