

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ

О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

(назва кафедри)

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Визначення методом газової хроматографії залишкових кількостей метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду в субстанції ітраконазолу»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи М1А
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Матіяш Інна Сергіївна

(прізвище та ініціали)

Керівник: **проф., д.мед.н. Ніженковська І.В.**

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: **к.б.н. Мелешко Р.А.**

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2025-2026 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	11
 РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ, ВЛАСТИВОСТІ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ.....	11
1.1. Особливості хімічної будови	11
1.2. Біологічна активність	16
 РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ.....	20
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	20
 РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	28
 ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	38
SUMMARY	41
ДОДАТОК 1.....	42

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікромметр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – наномметр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

°C – градуси Цельсія

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спин-спінової взаємодії, герци

MOR – μ -opioid receptor

ВСТУП

Актуальність теми. Метанол, етанол, метиленхлорид та диметилформамід (ДМФА) – це органічні розчинники, які використовують при виробництві лікарських засобів для розчинення та очищення субстанцій.

Вони часто використовуються в лабораторній та промисловій практиці:

- Метанол - це найпростіший одноатомний спирт, змішується з водою у будь-яких пропорціях. Розчинник, сировина для виробництва формальдегіду, паливо. Метанол надзвичайно токсичний. При потрапленні в організм вражає зоровий нерв (розвиток сліпоти) та печінку. Смертельна доза — від 30 мл.
- Етанол - це одноатомний спирт (медичний/харчовий спирт). Безбарвна рідина з характерним запахом, легкозаймиста. Антисептик, розчинник у фармації та парфумерії, паливо, основа алкогольних напоїв. Має наркотичну дію на ЦНС; викликає залежність та алкоголізм.
- Метиленхлорид або Дихлорметан – це хлорований вуглеводень. Це важка, летка рідина з солодкуватим запахом, чудово розчиняє органічні сполуки. Область застосування: екстракція (декофеїнізація кави), зняття фарби, знежирення металів, розчинник для склеювання пластмас. Токсичний при вдиханні, є потенційним канцерогеном. При високих температурах виділяє фосген.
- Диметилформамід (ДМФА) - це апротонний полярний розчинник (амід мурашиної кислоти). Безбарвна рідина зі слабким запахом амінів. «Універсальний» розчинник, він використовується для важкорозчинних речовин, у синтезі пептидів, у виробництві акрилових волокон та поліуретанів. Має гепатотоксичний (вражає печінку), легко проникає через шкіру, несучи з собою токсини. Тератоген (небезпечний для репродуктивного здоров'я).

У фармацевтичній галузі ці органічні розчинники використовуються на різних етапах — від синтезу активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) до виготовлення готових лікарських форм.

Метанол використовують у синтезі АФІ, як реакційне середовище при виробництві вітамінів, гормонів, стрептоміцину, холестерину. Застосовується для кристалізації та осадження лікарських речовин. *Метанол* є стандартним розчинником у методах високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) для контролю якості ліків.

Етанол – це основний розчинник для отримання настоянок та рідких екстрактів з рослинної сировини, входить до складу сиропів, розчинів для перорального застосування та лініментів. Він є антисептиком, використовується для дезінфекції шкіри, рук персоналу та медичних інструментів.

Метиленхлорид (Дихлорметан) - процесний розчинник: застосовується при виробництві антибіотиків, стероїдів, вітамінів, використовується як летка основа для нанесення захисних плівкових оболонок на таблетки та гранули, в очищенні активних речовин методом колонної хроматографії.

Диметилформамід (ДМФА) використовують у синтезі пептидів завдяки полярності є ідеальним середовищем для реакцій, універсальний розчинник, для розчинення сполук, які майже не розчиняються в інших рідинах, у виробництві плівок: у процесах формування мембран та специфічних полімерних покриттів для систем доставки ліків.

Метанол, метиленхлорид та ДМФА є токсичними, їх вміст у кінцевому лікарському засобі суворо регламентується фармакопеями (класифікуються як залишкові розчинники 2-го або 3-го класу) [1-8].

Аналіз метанолу у фармацевтичній галузі проводиться відповідно до вимог провідних світових та національних фармакопей. Станом на 2025 рік є актуальними такі стандарти:

1. Державна Фармакопея України (ДФУ).

Для українського ринку основним документом є ДФУ (поточне видання), гармонізоване з Європейською фармакопеею. Вона регламентує:

Ідентифікацію: фізико-хімічні показники (щільність, показник заломлення).

Чистоту: визначення домішок (кислотність, лужність, леткі речовини).

Метанол як домішка: стаття 2.9.11 - метод газової хроматографії для визначення метанолу в етаноловмісних препаратах.

2. Провідні міжнародні фармакопеї (2025)

Метанол як сировина або розчинник у міжнародному виробництві, його аналізують за:

Європейська фармакопея (Ph. Eur.): В 2025 діють оновлені методи контролю (капілярна газова хроматографія).

Фармакопея США (USP-NF): монографії для «Methyl Alcohol», включаючи вимоги до чистоти щонайменше 99.5%.

Британська фармакопея: для сертифікації фармацевтичного метанолу.

Основні методи аналізу (згідно з монографіями 2025 року)

- Газова хроматографія (ГХ): визначення кількісного вмісту та ідентифікації летючих домішок.
- Спектрофотометрія (УФ/вид): наявність альдегідів та інших органічних забруднень.

Титрування: Для визначення кислотності чи лужності.

Зміна 2025 року: У зв'язку з посиленням контролю за обігом метилового спирту, з 1 вересня 2025 року запроваджуються нові правила обліку та аналізу метанолу, запобігання його потраплянню в нехарчову продукцію під виглядом етанолу.

Аналіз етилового спирту у фармацевтичних цілях у 2025 році згідно з монографіями основних фармакопей, які визначають вимоги до його чистоти та методів контролю.

Державна фармакопея України (ДФУ). В Україні основним стандартом є ДФУ 2-го видання. Додаток 8: З 1 серпня 2025 року введено в дію Додаток 8 до ДФУ 2.0, містить актуальні вимоги до реактивів та методів аналізу. Монографії: ДФУ включає статті на "Спирт етиловий 96%", "Спирт етиловий 70%" та "Спирт етиловий безводний".

Методи аналізу: Визначення густини (алкоголеметрія), прозорості, кольоровості, а також перевірка на наявність домішок (альдегіди, сивушні олії, фурфурол).

Європейська фармакопея (Ph. Eur.), аналіз часто спирається на European Pharmacopoeia 11th Edition (з оновленнями 2025 року). Ідентифікація: ІЧ-спектрометрія та визначення фізичних констант. Чистота: Газова хроматографія (ГХ) є обов'язковим методом визначення летючих домішок (метанол, ацетальдегід, 2-пропанол).

Бактеріальні ендотоксини: оновлено загальні розділи (наприклад, 2.6.14), що важливо для етанолу, який використовується у виробництві стерильних лікарських форм.

Фармакопея США (USP-NF 2025), актуальним є видання USP-NF 2025 (включаючи Issue 1 та Issue 2). Критичний тест: «Limit of Methanol» включений до розділу ідентифікації (Identification C) з жорстким критерієм – не більше 200 мкл/л. Органічні домішки: Аналізуються методом газової

хроматографії, щоб уникнути забруднення бензолом та іншими токсичними розчинниками.

Показники якості у 2025 році: Концентрація: Для фармацевтичного етанолу зазвичай становить 95.1%–96.9% про. (Для 96% спирту) або не менше 99.5% про. (Для безводного). Відсутність метанолу: контроль через високу токсичність останнього. Кислотність/лужність: Титрування з використанням фенолфталеїну. УФ-поглинання: Перевірка на наявність бензолу та інших ароматичних сполук [9-18, 27, 28].

Актуальним завданням експериментальної роботи є впровадження високоселективного методу ГХ для ідентифікації залишкових кількостей метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду в субстанції ітраконазолу та визначення чистоти субстанції.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є ідентифікація залишкових кількостей метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду та визначення чистоти методом ГХ субстанції ітраконазолу.

Завдання експериментального дослідження:

- ідентифікувати методом ГХ залишкові кількості метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду у складі субстанції ітраконазолу;
- визначити чистоту досліджуваної субстанції ітраконазолу хроматографічним методом (ГХ) (присутність супровідних речовин);
- адаптувати методики дослідження та розробити умови дослідження, які дозволять захистити структуру молекули речовин від хімічної деградації.

Методи дослідження. Газова хроматографія. Agilent 6890A з полум'я-іонізаційним детектором (FID), колонка – DB-624 ((6%-ціанопропілфеніл)-метилполісилоксан), 30 м × 0,53 мм × 3 мкм; колонка була підключена до

заднього полум'я-іонізаційного детектора (FID, газ-носій — азот, подача в режимі постійного потоку 3,5 мл/хв. Контроль режиму потоку здійснювався у режимі постійного потоку, комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у осучасненні фармацевтичного аналізу шляхом впровадження високоселективного хроматографічного методу ГХ у аналіз АФІ - субстанції ітраконазолу та визначення її чистоти щодо залишкових кількостей метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 42, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 28.

.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ

1.1. Особливості хімічної будови

Аналіз *метиленхлориду (дихлорметану)* у фармацевтичній практиці 2025 року регламентує нормативні документи в залежності від його ролі (чистої речовини, домішки в ліках).

1. Державна Фармакопея України (ДФУ). Метиленхлорид аналізується згідно з ДФУ 2-го видання (з актуальними доповненнями, включаючи Додаток 8, чинний із серпня 2025 року):

Ідентифікація: перевірка щільності (1.320–1.332), показник заломлення (1.423–1.425), ІЧ-спектрометрія.

Чистота: визначення кислотності, вільного хлору, вмісту важких металів та залишку після випаровування.

Кількісне визначення: вміст основної речовини методом газової хроматографії не менше ніж 99.0%.

2. Міжнародні стандарти (2025).

Європейська фармакопея (Ph. Eur. 11-е вид.): монографія «Methylene Chloride» встановлює вимоги до чистоти та стабільності (стабілізатори, такі як етанол або 2-метилбут-2-ен).

Фармакопея США (USP-NF 2025): монографія для «Methylene Chloride, NF», регламентує тести на специфічну гравітацію, воду (за К. Фішером) та вміст хлороводню.

Контроль як залишкового розчинника. Метиленхлорид класифікується як розчинник 2-го класу. Вміст у готових лікарських формах жорстко лімітований у всіх сучасних фармакопеях (ДФУ, Ph. Eur., USP <467>):

- ГДК (гранично допустима концентрація): 600 ppm (мг/кг).
- ГДС (гранично добове споживання): 6.0 мг/день.

Метод контролю: Газова хроматографія із парофазним введенням проби (Headspace GC).

Зауваження 2025 року: У зв'язку з новими правилами ЕРА (травень 2025 року) використання метиленхлориду в США значно обмежене, проте у фармацевтичному виробництві залишається дозволеним за умови суворого контролю умов праці та кінцевої чистоти продукту

Аналіз диметилформаміду (ДМФА).

У фармацевтичній практиці 2025 року здійснюється за стандартами, що класифікують його як технологічний розчинник.

1. Державна Фармакопея України (ДФУ). Аналізується згідно з ДФУ 2.0 (з доповненнями 2025 року).

Як реактив: Опис та вимоги до чистоти наведені в розділі 4.1.1.

Реактиви. Має бути прозорим, безбарвним, відповідати встановленим фізико-хімічним константам (щільність 0.948, температура кипіння 153 °C).

Як домішка: у лікарських засобах проводиться згідно із загальною статтею 2.4.24.

Європейська фармакопея (Ph. Eur. 11.0–11.8): ДМФА включено до переліку реактивів. Метод контролю – газова хроматографія (ГХ). Також перевіряється відсутність продуктів розкладання (диметиламіну - надають речовині характерного «рибного» запаху).

Фармакопея США (USP-NF 2025): ДМФА - у розділі реактивів (Reagent Specifications). Для використання у специфічних синтезах (пептидному) застосовуються марки підвищеної чистоти (DMF for labeling або Peptide grade).

2. Контроль залишкових кількостей (ICH Q3C)

Диметилформамід відноситься до 2-го класу розчинників (використання повинно бути обмежене через їхню токсичність). У всіх фармакопеях (ДФУ, USP <467>, Ph. Eur.) у 2025 році діють норми для ДМФА в кінцевих продуктах:

- ГДК (гранично допустима концентрація): 880 ppm (мг/кг).
- ГДС (гранично добове споживання): 8.8 мг/день.

Метод аналізу: Газова хроматографія з використанням полум'яно-іонізаційного детектора (ГХ-ПД).

Показники аналізу:

1. Чистота: 99.5% для фармацевтичного синтезу.
2. Склад води: Визначається методом титрування за Карлом Фішером (ДМФА гігроскопічний).
3. Кислотність/лужність: для запобігання деградації чутливих АФІ.
4. Відсутність диметиламіну: показник стабільності розчинника.

Промисловий етанол виробляється для використання як паливо. Етанол використовується в багатьох сферах застосування - як розчинники, алкогольні напої, сировина для синтезу різних органічних речовин у хімічній промисловості - етилен, поліетилен, 1,3-бутадієн та етилацетат. Тенденція до відновлюваної енергії, зменшення викидів парникових газів від викопного палива сприяла зростанню попиту на етанол.

Забруднення етанолом може збільшити корозійну активність палива. Це викликає набухання деяких еластомерних деталей двигуна. Етанол для змішування з бензином повинен відповідати специфікації безводного етанолу. Це робиться, щоб забезпечити достатню якість при його використанні в транспортних засобах та гарантувати його екологічність та нешкідливість. Певні домішки впливають на характеристики етанолу - кислотність, рН, вміст води та електропровідність [18-24].

Специфікації паливного етанолу для контролю якості етанолу відрізняються через ринки, кліматичні умови, сировину. Різниця у специфікаціях вмісту води залежить від співвідношення змішування етанолу та бензину, методів транспортування бензину.

ЄС має специфікацію фосфору, засновану на виробниках етанолу. Бразильські стандарти етанолу містять критерії електропровідності - провідність може швидко виявляти домішки в етанолі. У Таїланді специфікацію безводного етанолу можна розділити на основні застосування: денатурований етанол для виробництва газоголю, етанол для фармацевтичного використання, етанол для промислового використання.

Таїланд не включає обмеження на вміст сульфатів у безводному етанолі для змішування з бензином. Максимальна кількість дозволених сульфатів у специфікаціях США, ЄС становить 4, 4 та 3 ppm.

Для США 4 ppm є обмеженням на вміст сульфатів, що узгоджується з нафтопереробною, автомобільною, етаноловою промисловістю. Обмеження може бути оновлено в майбутньому через зростання концентрації етанолу в бензині.

Більше уваги приділяється етанолу другого покоління через конфлікт між їжею та паливом. Він містить більшу кількість домішок, ніж етанол першого

покоління. Необхідно довести, які домішки в лігноцелюлозному етанолі можуть негативно впливати на роботу двигуна. Таке відкриття може призвести до прийняття нових специфікацій, щоб зробити їх сумісними з етанолом другого покоління.

Вміст фосфору в паливному етанолі слід обмежувати, щоб захистити автомобільні каталітичні системи. Якщо етанол виробляється з нетрадиційної сировини. На вміст фосфору в етанолі впливають склад сировини, добрива та поживні речовини, що використовуються в процесі ферментації.

Оцтова кислота в етанолі має вплив на кислотність етанолу, викликаючи корозію автомобільних двигунів. Вміст оцтової кислоти в лігноцелюлозному етанолі більший, ніж в етанолі. Виробникам етанолу важко дотримуватися необхідних стандартів. Лігноцелюлозний етанол містить значну кількість фуранових речовин.

Залишки фуранових сполук у суміші етанолу та бензину можуть призвести до зниження окислювальної стабільності, можливості утворення небезпечних органічних пероксидів.

Щодо безводного етанолу для фармацевтичних цілей - обмеження щодо нелетких матеріалів, бензолу, ацетальдегіду, ацеталу, інших летких домішок включені до специфікації. Якщо лігноцелюлозний етанол використовуватиметься для фармацевтичних цілей - метод розділення слід удосконалити для видалення домішок - ацетальдегіду та ацеталу.

1.2. Біологічна активність

Описано дані про домішки у різних типах зразків біоетанолу. Етанол, отриманий з лігноцелюлози, містить більше домішок, ніж етанол, отриманий з цукру та крохмалю. Лігноцелюлозна сировина потребує попередньої обробки для модифікації структури лігноцелюлози, покращення доступності ферментів і хімічних речовин.

Лігноцелюлозний етанол має високу концентрацію оцтової кислоти, ацетальдегіду, метанолу, фурану. Ці забруднювачі менші в етанолі, отриманому з цукру або крохмалю. Сірковмісних сполук, диметилдисульфід та тіазол містяться в етанолі, отриманому з лігноцелюлози. Диметилсульфід та диметилсульфоксид є сірковмісними сполуками в етанолі, отриманому з цукру та крохмалю.

На якість етанолу також впливає процедура зберігання. Зниження рН паливного етанолу протягом періодів зберігання корелює з утворенням етилсульфату. Це збільшує провідність етанолу. Під час дистиляції етанолу сульфід - побічний продукт переноситься з парами етанолу. Сульфід окислюється до сульфату протягом зберігання. Питання забруднення сульфатами привернуло увагу через його вплив на двигуни транспортних засобів. Забруднення сульфатами спричиняє утворення відкладень на впускних клапанах у камерах згоряння.

Існує кілька досліджень, присвячених домішкам, що виникають протягом усього виробничого процесу. Деякі опубліковані роботи намагаються встановити рекомендації щодо контролю якості змішаного бензину протягом зберігання [18,19, 24-26].

Відсутність інформації щодо контролю якості безводного етанолу від початкового до кінцевого процесу є поточною прогалиною в знаннях.

Окрім типу сировини та виробничого процесу, на якість етанолу впливає процедура зберігання. Зниження рН паливного етанолу протягом періодів зберігання корелює з утворенням етилсульфату. Це збільшує провідність етанолу.

Виробництво етанолу з різних типів сировини. Етанол можна виробляти з різних видів сировини. Існує два основних типи сировини для виробництва етанолу: сировина, що містить цукор, та сировина з крохмалем. Збільшення попиту на паливо призвели до використання лігноцелюлозної сировини для виробництва етанолу в технології другого покоління.

Процеси виробництва етанолу з сировини можна розділити на три основні етапи: перетворення сировини на ферментований цукор; ферментації для перетворення ферментованого цукру на етанол; процес відновлення та зберігання етанолу. Виробнича сировина відрізняється, але ферментація та подальші процеси схожі. При розгляді різних видів сировини різниця в забрудненні залежить від стадії сировини, що включає перетворення на ферментований цукор.

Вплив різних видів сировини на домішки в паливному етанолі. Процес виробництва етанолу з сировини включає три основні етапи: перетворення сировини, ферментацію та відновлення етанолу. Ключем до цього процесу є вивільнення молекул цукру зі структури. Труднощі з вивільненням молекул цукру залежать від типу сировини. Це включає необхідні етапи для перетворення сировини, призводить до різних профілів забруднення етанольного продукту.

Перетворення цукровмісної сировини. Цукрову тростину вирощують для виробництва цукру. Цінним побічним продуктом виробництва цукру є меляса - використовується у виробництві етанолу. Сік цукрової тростини використовується для виробництва етанолу. Необхідно враховувати процес виробництва цукру, він визначає якість та домішки сировини під час

виробництва. Приєднані та автономні винокурні – це два типи заводів з виробництва етанолу з цукрової тростини. Вони класифіковані за типом сировини для виробництва етанолу. Загальний виробничий процес та хімічні додавання на кожному етапі для двох категоризованих заводів з виробництва етанолу з цукрової тростини показано на рисунку 1.2.1. У випадку автономних винокурень, секцію процесу в пунктирно-синій рамці виключають.

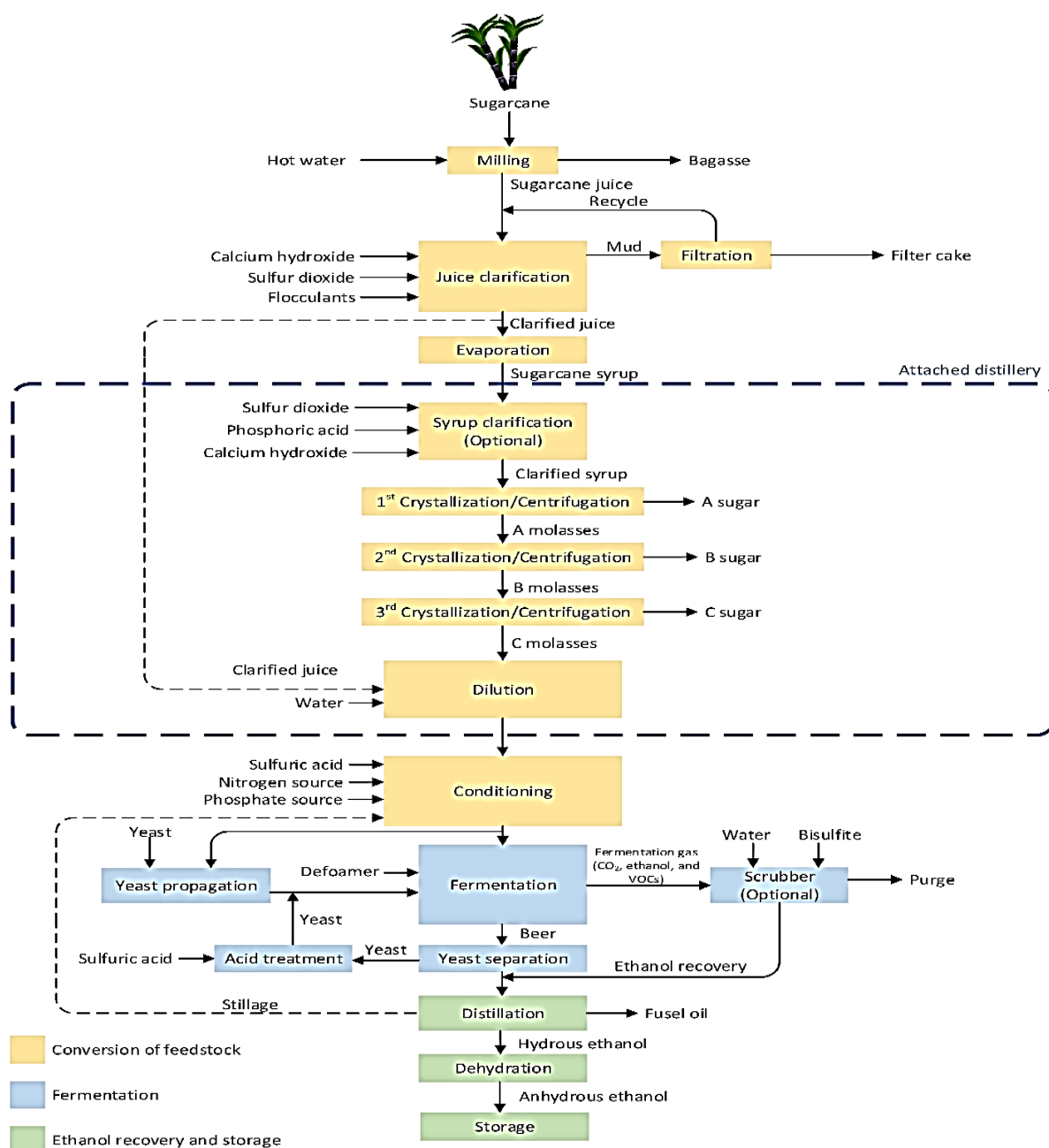


Рисунок 1.2.1. Загальний виробничий процес етанолу.

Приєднаний винокурний завод виробляє цукор із соку цукрової тростини. Меляса з'являється як побічний продукт. У випадку приєднаних винокурних заводів мелясу розглядають як основну сировину для виробництва етанолу. Сік цукрової тростини можна розподілити між виробництвом цукру та етанолу.

Вирощування та збір цукрової тростини. Виробництво цукру з цукрової тростини починається з плантації. Основними кліматичними факторами, що впливають на врожай цукрової тростини, є кількість опадів, температура, сонячне світло. Склад цукрової тростини залежить від умов вирощування. Більшість варіацій у складі цукрової тростини базуються на різниці у вмісті вологи, цукру.

Збір цукрової тростини може здійснюватися двома методами - ручне та механічне збирання. Метод збору цукрової тростини впливає на хімічний склад соку тростини. Всі поля цукрової тростини, оброблені вручну, спалюють перед збиранням.

Склад спаленої тростини відрізняється від неспаленої. Неспалений сік тростини містить більшу частку розчинних неорганічних іонів, іонізуючих органічних кислот. Вік збирання є ще одним фактором, що впливає на метод екстракції соку.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

Після збору врожаю цукрову тростину необхідно переробити на виробництво етанолу, оскільки втрачується сахароза, пов'язана з активністю інвертази та мікробів, які виробляють кислоту, етанол або декстран. Біопшкодження може відбуватися через затримки між збором врожаю та подрібненням. Біопшкодження пов'язане з іншими факторами - температура навколишнього середовища, вологість, сорт тростини, термін зберігання, активність інвертази.

Середній склад цукрової тростини можна класифікувати на 86,7% бульйону та 13,3% клітковини. Більшість волокон відокремлюються перед процесом екстракції соку.

Бульйон складається з 69,7% води та 17% розчинних твердих речовин. Розчинні тверді речовини містять 15,35% цукру та кількість нецукрових речовин. Вони видаляються на етапі освітлення соку. Вміст цукру включає як неферментований цукор та ферментовані цукри - сахароза, глюкоза та фруктоза.

Сирий сік отримують шляхом екстракції. Він містить домішки - мінерали, солі, органічні кислоти, бруд та волокна. Сирий сік проходить процес освітлення з додаванням діоксиду сірки для знищення бактерій. Це пригнічує реакції, що покращують колір, зовнішній вигляд, коагуляцію суспендованих колоїдів.

Процес освітлення включає три етапи: коагуляцію, флокуляцію, осадження. На першому етапі - коагуляції додають гідроксид кальцію для нейтралізації, зменшення втрати вмісту сахарози.

Сік лайма нагрівають для коагуляції колоїдних частинок. Білки та полісахариди адсорбуються на колоїдних частинках. На етапі флокуляції

кальцій реагує з фосфатом у цукровій тростині та діоксидом сірки у фосфаті кальцію, сульфіді кальцію.

Частинки фосфату кальцію та сульфід кальцію беруть участь в утворенні флокул. На етапі осадження флокули осідають у резервуарі-відстійнику. Шлам відокремлюється від освітленого соку у вигляді фільтраційного осаду. Концентрація сахарози в освітленому соку становить 10–15%.

Випарювання. Метою випарювання є видалення води з освітленого соку. Існують відмінності між автономною та приєднаною винокурнею. На автономній винокурні етап випаровування проводиться перед процесом ферментації. Це необхідно для того, щоб відрегулювати концентрацію соку та досягти приблизно 60–70 °Вх.

На приєднаній винокурні випаровування проводиться перед етапами кристалізації та центрифугування. Пару або конденсат можна повторно використати на інших етапах процесу. Після видалення води отримують близько 60 °Вх цукрового сиропу.

Кристалізація та центрифугування (для приєднаної винокурні). Під час етапу кристалізації надлишок води в цукровому сиропі видаляється вакуум-піддоном. Засівання кристалами сахарози необхідне для утворення кристалів цукру.

Суміш кристалів цукру та маточного розчину називається утфелем. Кристали цукру відокремлюються від маточного розчину центрифугуванням. Після кристалізації та центрифугування цукор-сирець та меляса використовуються як сировина для виробництва етанолу.

Розведення (для приєднаних винокурень). Мелясу необхідно розбавляти перед бродінням. Вона не підходить для безпосереднього використання як середовище для бродіння. На приєднаних винокурнях мелясу слід розбавляти

освітленим соком або водою. Високий осмотичний тиск може впливати на метаболізм дріжджів, знижувати життєздатність дріжджів. Необхідно регулювати рН, знищувати бактерії сірчаною кислотою. Отримана меляса являє собою темно-коричневу в'язку рідину.

Враховуючи склад меляси, вона складається до 50% з розчинних вуглеводів - сахароза, D-глюкоза та D-фруктоза. Її основними компонентами є солі кальцію, калію та магнію, хлорид магнію та сульфат магнію.

Його другорядні складові - віск кутикули, жири та стероли цукрової тростини, рослинні феноли, полісахариди, аконіт, рослинні пігменти, амінокислоти, неорганічні іони (іон натрію, заліза, алюмінію), сполуки кремнію, сліди металів.

Висока концентрація розчинених компонентів може спричинити осмотичний стрес. Це негативно впливає на функцію дріжджових клітин у виробничому процесі. Коливання якості води може вплинути на швидкість росту дріжджів, на ефективність конверсії.

Необхідно ретельно контролювати якість води в процесі ферментації. Загальними параметрами для тестування води є рН, нітрати, нітрити та мікроелементи.

Забруднення води стічними водами або відходами тваринного походження можна визначити за концентрацією нітратних та нітритних солей. Якщо вони перевищують 50 ppm – необхідно уникати використання цієї води в процесі ферментації.

Сировина з сахарозою - сік цукрової тростини та меляса, може містити речовини, які можуть пригнічувати мікроорганізми та перетворюють цукор на спирт.

Концентрацію інгібіторів у сировині важко контролювати. Інгібітори в сировині слід видалити, розбавити перед ферментацією.

Синтетичні цеоліти зазвичай застосовуються для усунення інгібуючих речовин. Цеоліти додають до системи ферментації, Na^+ здебільшого міститься в середовищі для ферментації як інгібітор,. Його можна видалити за допомогою іонообмінної смоли, замінивши цеоліт, що містить K^+ .

Калієва сіль є менш інгібіторною, ніж натрієва сіль. Цеоліти служать регуляторами рН під час ферментації, підтримують життєздатність клітин та метаболічну активність.

Сировина може містити золу. Сировина з цукрової тростини містить 10–16% золи. Вміст золи понад 10% може спричинити проблеми з утворенням накипу в трубопроводах та дистиляційних вежах. Антискалант, інгібітор накипу, – це хелатна сполука. Його можна застосовувати до води або мелясного пива для зменшення утворення накипу.

Джерело азоту відіграє життєво важливу роль у ферментації. Недостатня кількість азоту може уповільнити використання цукру, оскільки азот бере участь у синтезі білка.

Вихідна сировина для виробництва етанолу повинна містити достатню кількість джерел вуглецю, інші поживні речовини - вільний аміноазот (ВАН), мінерали, вітаміни та інші фактори росту. Вони є важливими компонентами для здоров'я та ефективності дріжджів.

У ферментаційному середовищі можуть бути присутні високоазотні речовини. Вони знаходяться у складній формі, яку дріжджі не можуть споживати, не гідролізуються на амінокислоти, дипептиди або трипептиди.

Азот для дріжджів під час процесу ферментації називається вільним аміноазотом (ВАН). Залежно від сировини, ферментаційне середовище містить невелику кількість ВАН. Цього недостатньо, необхідно забезпечити додаткові джерела аміноазотону.

Недостатність ВАН знижує ріст дріжджів та знижує ефективність ферментації. Щоб вивільнити більше FAN з розчинного білка.

Окрім FAN, сульфат амонію може бути джерелом азоту для дріжджів. Додавання сульфату амонію може контролювати утворення сивушних спиртів - 1-пропанол, 2-метил-1-пропанол та 3-метил-1-бутанол. Додавання сульфату амонію може призвести до осадження сульфатних солей у форсунках.

Сечовина є більш бажаним джерелом азоту для бродіння етанолу. Сечовина є найкращим варіантом. Вона не тільки покращує вихід етанолу та зменшує утворення побічних продуктів, але збільшує питому швидкість росту, здатність переносити етанол. Сечовина непридатна для спиртового бродіння у виробництві напоїв через утворення канцерогенного етилкарбамату.

Джерело фосфату. У процесі бродіння недостатність фосфату призводить до зниження швидкості росту клітин. Фосфат необхідний для біосинтезу нуклеотидів, фосфоліпідів, метаболітів. Додавання діамонійфосфату як джерела фосфору може зменшити потребу в сечовині.

Антискалант. Автономні винокурні використовують цукрову тростину для виробництва етанолу. Цей тип винокурні використовує сік цукрової тростини як основну сировину.

Порівняння забруднення між приєднаною винокурнею та автономною винокурнею для сировини на основі цукрової тростини. Такий тип винокурні дозволяє виробнику скористатися синергією між цукром та етанолом.

На кожному типі заводів з виробництва етанолу автономні винокурні використовують сік цукрової тростини як сировину для виробництва етанолу. На приєднаних винокурнях як основна сировина використовується меляса. Сік цукрової тростини використовується паралельно з мелясою.

Враховуючи домішки сировини, меляса має вищий рівень домішок, ніж сік цукрової тростини (неорганічні солі, неферментовані цукри, сульфатована зола та пігмент). Вона забруднюється під час процесу виробництва цукру.

Склад меляси залежить від процесу екстракції соку цукрової тростини. Діоксид сірки додають як консервант під час екстракції соку тростини з молодшої цукрової тростини, залишається у вигляді сульфіту в етанольному продукті на стадії дистиляції.

Через високий вміст домішок у мелясі вивчали вплив домішок у мелясі цукрової тростини на ферментацію. Домішки в мелясі можуть впливати на ферментативну активність. Вихід етанолу можна покращити, використовуючи деякі стабілізатори ферментів, агенти/добавки - можуть пом'якшити вплив цих домішок.

Перетворення крохмальовмісної сировини. Виробництво етанолу з крохмальовмісної сировини - кукурудзяні зерна та маніока можна класифікувати на два процеси: процес мокрого помелу, процес сухого помелу. Основна відмінність між двома методами полягає в тому, що процес мокрого помелу розроблений для відділення високоцінних продуктів від крохмальовмісної сировини.

Процес мокрого помелу застосовується для кукурудзяного зерна, воно містить високоцінні компоненти. Кукурудзяне зерно містить близько 70–73% крохмалю, 9–10% білка, 9–10% сирої клітковини, 4–5% жиру, 1–2% золи, 2% цукру.

Процес мокрого помелу починається з очищення та замочування кукурудзяних зерен у розчині для замочування. Вона складається з діоксиду сірки та молочної кислоти. Роль замочування полягає в пом'якшенні кукурудзяних зерен, розщепленні білка.

М'які кукурудзяні зерна подрібнюються за допомогою дегермінатора кукурудзи. Кукурудзяний зародок відділяється рідинним циклоном. Дегернтовані подрібнені зерна промиваються, подрібнюються, просіваються.

Центрифуга відокремлює білок у вигляді кукурудзяного глютенного борошна (CGM) від суспензії вільного крохмалю.

Розчин з випарованої води для замочування змішується з кукурудзяним волокном для отримання кукурудзяного глютенного корму (CGF). Після завершення фракціонування компонентів крохмальна суспензія подається на процеси варіння та ферментативного гідролізу (рис. 2.1.1).

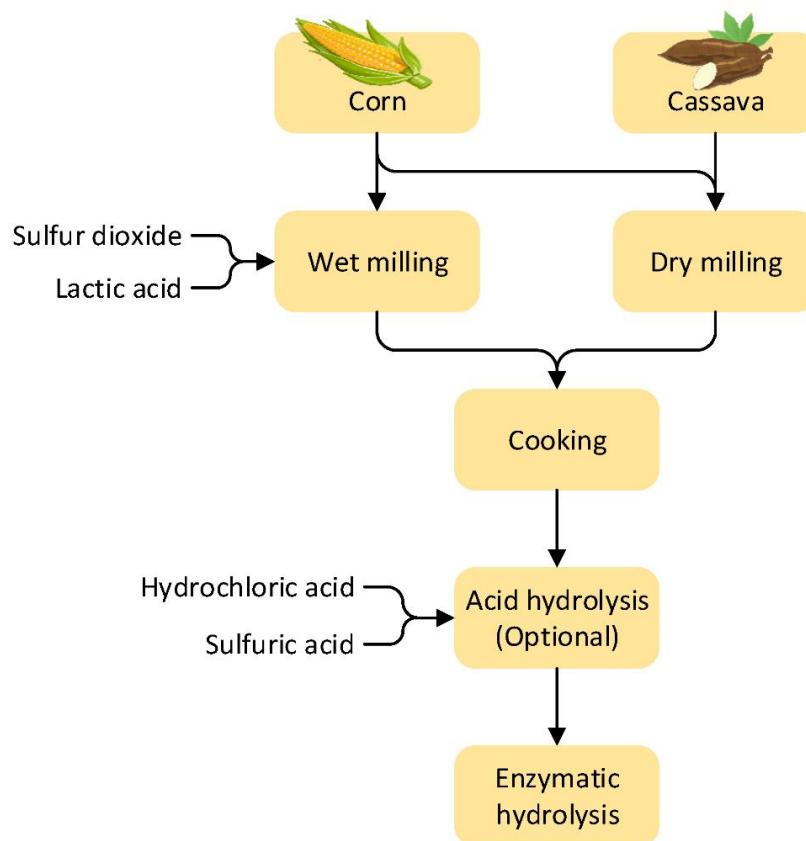


Рисунок 2.1.1. Ензиматичний гідроліз.

Схема обробки сировини представлена на рисунку 2.1.2.

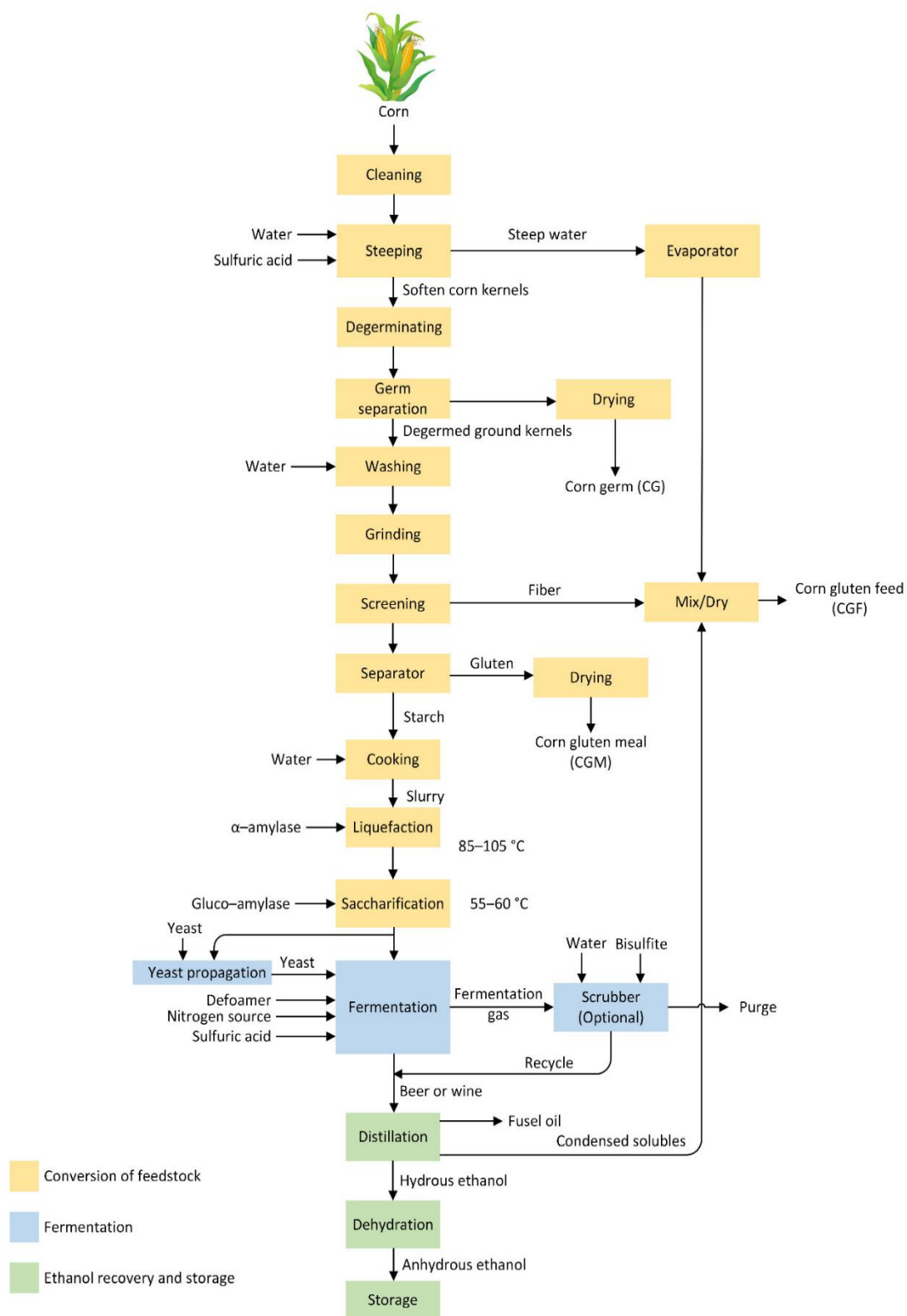


Рисунок 2.1.2. Технологія обробки сировини.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Ітраконазол – це синтетичний протигрибковий засіб із групи похідних тріазолу. Він застосовується для лікування різних грибкових інфекцій шкіри, нігтів та внутрішніх органів. Він пригнічує синтез ергостеролу.

У процесі синтезу ітраконазолу можуть використовуватися органічні розчинники, вміст яких у готовій субстанції суворо регламентується статтею 5.4 «Залишкові розчинники» (відповідає вимогам ICH Q3C).

Допускаються основні залишкові розчинники з встановленими лімітами:

- N,N-Диметилформамід (клас 2): ліміт менше 880 ppm.
- Метанол (клас 2): ліміт менше 3000 ppm.
- Толуол (клас 2): ліміт менше 890 ppm.
- Інші розчинники класу 3 (наприклад, етанол, ацетон, етилацетат) вважаються менш токсичними. Їх вміст не повинен перевищувати 0,5% (5000 ppm) без додаткового обґрунтування.

Важливо: Використання розчинників 1 класу (бензол, чотирихлористий вуглець) заборонено через їхню високу токсичність, за винятком випадків, коли це технологічно неминуче (тоді встановлюються критично низькі ліміти).

Конкретний перелік розчинників для кожної партії субстанції вказується в Сертифікаті аналізу.

Споріднені домішки (Related substances) - технологічні домішки (проміжні продукти синтезу) та продукти деградації. Фармакопея виділяє:

Специфіковані домішки:

- Домішка В: Метильна похідна ітраконазолу.

- Домішки C і D: Ізмери (пропілові аналоги) ітраконазолу.
- Домішка E: Окислена форма (кето-аналог).
- Домішка G: Епімер ітраконазолу.

Інші домішки, що детектуються:

- Домішка A: Вихідне з'єднання (анілінове похідне).
- Домішка F: З'єднання зі зміненою структурою триазольного циклу.

Допустимі норми

Норми для субстанції ітраконазолу суворо регламентовані:

Будь-яка окрема домішка: не більше 0,5% (0,8% для деяких видів готових форм).

Сума всіх домішок: не повинна перевищувати 1,25–1,5% залежно від конкретного стандарту підприємства, схваленого Фармакопеею.

Інші показники чистоти:

Втрата маси при висушуванні: не більше 0,5%.

Сульфатна зола: трохи більше 0,1%.

Тяжкі метали: сумарно не більше 20 ppm.

Залишкові розчинники: суворо контролюється вміст метанолу, толуолу та диметилформаміду (розділ 5.4 Фармакопеї).

Усі показники, ліміти для кожної партії субстанції фіксуються у Сертифікаті аналізу (CoA) виробника - підтверджує відповідність поточним фармакопейним стандартам 2025 року.

Леткі домішки в етанолі виявляються за допомогою газового хроматографа (ГХ). Метанол, ацетальдегід, ацеталь, бензол перевіряються як домішки.

Для виявлення слідів бензолу в межах 2 об. ppm та отримання належного розділення ацетальдегіду та метанолу (розділення 1,5) потрібна відповідна конфігурація приладу.

Випробування етанолу в дезінфікуючому засобі, охоплюється загальним протоколом для перевірки чистоти етанолу (рис. 3.1).

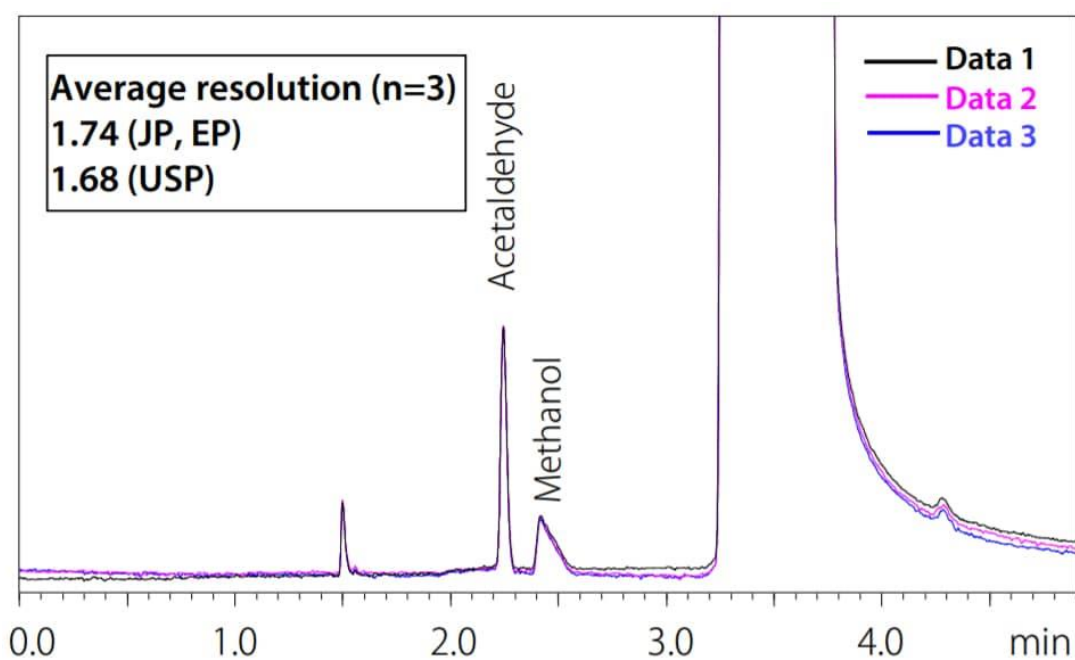


Рисунок 3.1. Хроматограма етанолу.

Випробування ДМФА охоплюється загальним протоколом для перевірки чистоти (рис. 3.2).

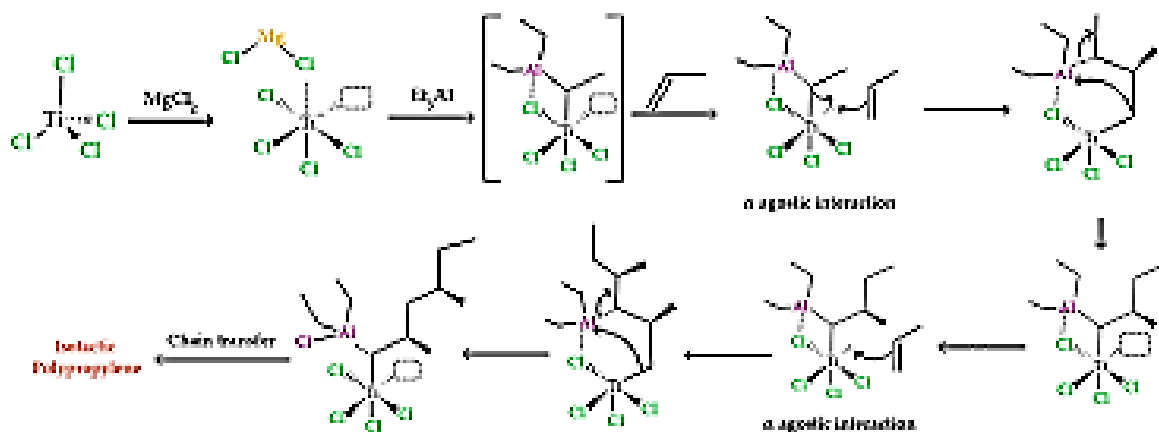


Рисунок 3.2. Схема утворення продуктів деградації ДМФА.

На рисунку 3.3. представлено ПМР-спектр метанолу та його домішок.

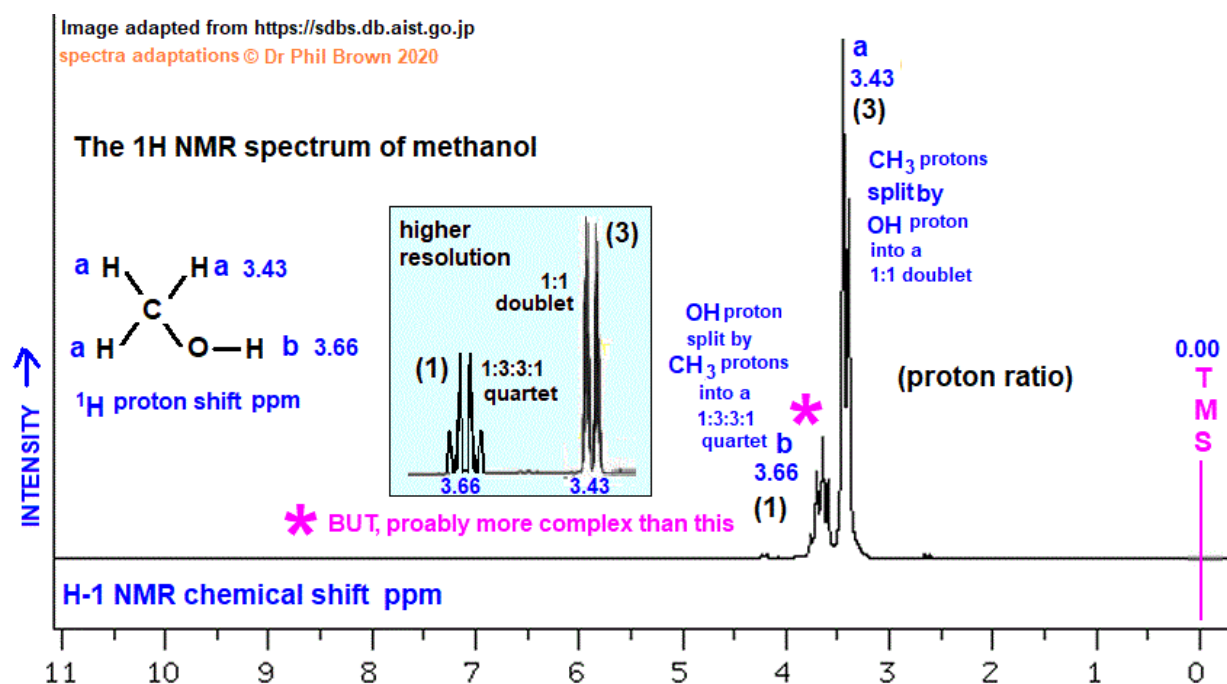


Рисунок 3.3. ПМР спектр метанолу.

Нами виконано хроматографічне дослідження методом ГХ для ідентифікації та визначення чистоти випробовуваної субстанції ітраконазолу на вміст залишкових кількостей метанолу, етанолу, метиленхлориду та диметилформаміду, адаптація умов хроматографування випробовуваної субстанції з використанням базових умов хроматографування і методик дослідження, які описано в Європейській Фармакопеї для дослідження методом ГХ.

Матеріали та методи.

Для проведення інструментальних досліджень використовували газовий хроматограф: Agilent 6890A з полум'я-іонізаційним детектором (FID).

Умови хроматографування:

- колонка – DB-624 ((6%-ціанопропілфеніл)-метилполісилоксан), 30 м × 0,53 мм × 3 мкм; колонка була підключена до заднього полум'я-іонізаційного детектора (FID)
- газ-носії — азот, подача в режимі постійного потоку 3,5 мл/хв. Контроль режиму потоку здійснювався у режимі постійного потоку.

Температурна програма хроматографічного аналізу:

- початкова температура: 40 °C (утримання 5 хв),
- нагрівання зі швидкістю 20 °C/хв до 150 °C (утримання 2 хв),
- нагрівання зі швидкістю 30 °C/хв до 230 °C (утримання 5 хв),
- кінцева температура: 230 °C.
- температура інжектора — 250 °C.
- інжекція здійснювалась у режимі з діленням потоку зі співвідношенням 10:1. Об'єм ін'єкції складав 1 мкл.

Температура детектора FID — 250 °C. Детектор працював із потоком:

- водню 30 мл/хв;
- повітря 350 мл/хв;
- азоту 10 мл/хв.

Передній детектор ECD був вимкнений.

- час хроматографування – 12 хв

Ідентифікацію сполук проводили за часом утримування з порівнянням до стандартів.

Обчислення концентрацій виконували за площею піків у хроматограмах.

При проведенні *комп'ютерного аналізу* використовували програму OpenLab CDS.

Для проведення досліджень методом ГХ використовували реактиви:
вода (чистоти для ГХ).

Отримані результати.

На рисунках 3.4-3.6 представлено отримані хроматограми.



Рисунок 3.4. Хроматограма бланку.

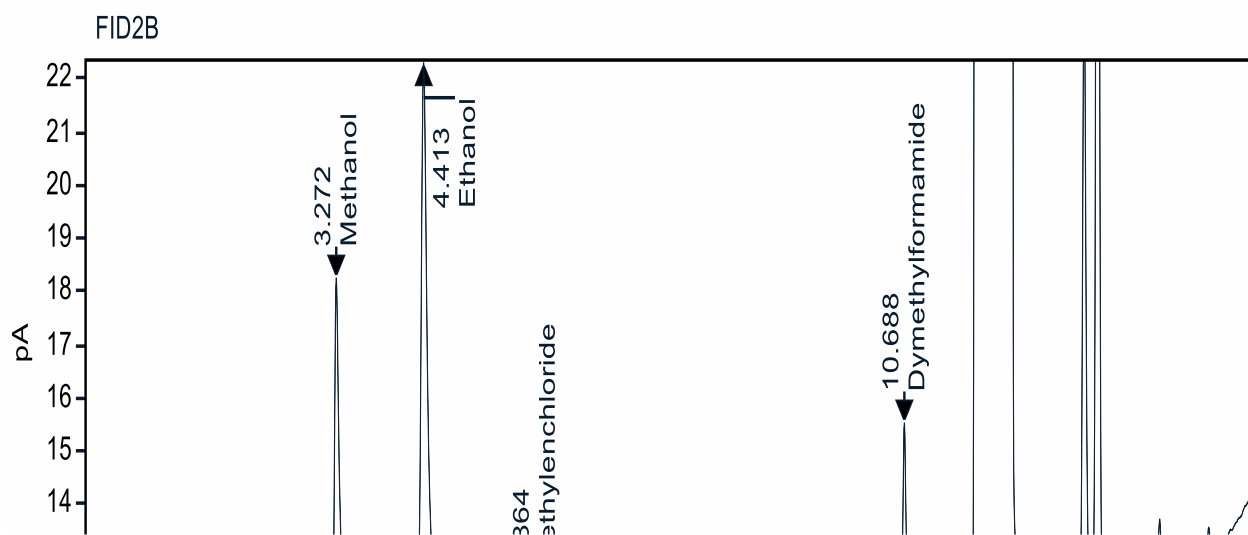


Рисунок 3.5. Хроматограма розчину стандартних зразків ДФУ.

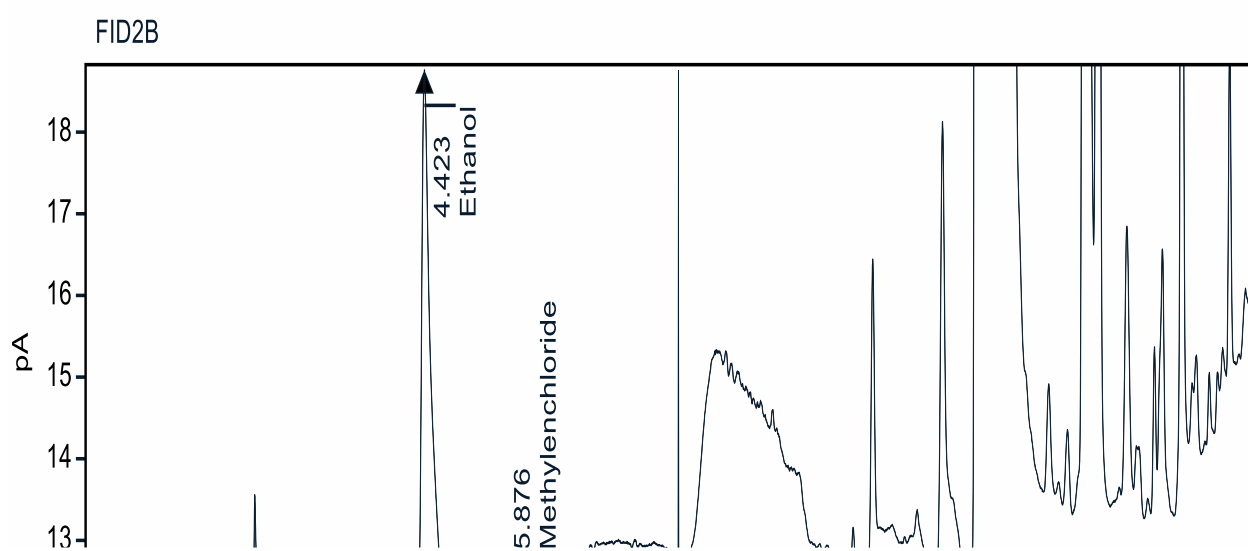


Рисунок 3.6. Хроматограма розчину випробовуваного зразку субстанції ітраконазолу: *етанол* $R_t=4.423$ хв, *метиленхлорид* $R_t=5.876$ хв та неідентифіковані домішки.

Отримані результати представлено в таблицях 3.1 (стандарт), 3.2 (тест):

Стандарт								
	Метанол		Етанол		Метиленхлорид		Диметилформамід	
	час	площа	час	площа	час	площа	час	площа
	3,272	26,004	4,413	59,017	5,864	1,308	10,688	9,064
	3,273	26,293	4,412	60,040	5,861	1,295	10,686	9,464
	3,271	26,572	4,413	60,984	5,861	1,381	10,687	9,453
	3,272	23,630	4,409	55,251	5,859	1,382	10,689	8,362
	3,271	25,254	4,41	56,816	5,861	1,192	10,687	8,742
	3,272	23,706	4,409	55,307	5,857	1,161	10,687	8,363
Середнє	3,272	25,243	4,411	57,903	5,861	1,287	10,687	8,908
SD		1,297		2,460		0,093		0,501
RSD%		5%		4%		7%		6%
Тест								
	Метанол		Етанол		Метиленхлорид		Диметилформамід	
	час	площа	час	площа	час	площа	час	площа
			4,423	56,687	5,876	3,036		
	-	-	4,422	54,034	5,873	2,873	-	-
			4,424	50,005	5,876	2,830		
Середнє	-	-	4,423	53,575	5,875	2,913	-	-

В таблицях:

T- тейлінг (форма піку, часто буває менше 2),

N – кількість теоретичних тарілок (чим більше теоретичних тарілок, тим вища ефективність розділення компонентів у колонці),

RSD - відносне стандартне відхилення, згідно Фармакопеї, має бути менше 2),

SD –стандартне відхилення, використовується для визначення RSD)

У результаті проведеного аналізу зразків субстанції ітраконазолу встановлено, що вони не містять залишкових кількостей метанолу та N,N-диметилформаміду.

Разом з тим, концентрації етанолу та метиленхлориду в зразках не перевищують встановлені межі. Зокрема, концентрація етанолу становить приблизно 465 ppm, що значно нижче допустимої межі 5000 ppm.

Аналогічно, концентрація метиленхлориду оцінена в 139 ppm (що не перевищує 600 ppm для розчинників класу 2. За вмістом розчинників у залишкових кількостях зразки відповідають нормам, спрямованим на мінімізацію токсичного впливу залишкових домішок. Однак, на хроматограмі виявлено сигнали неідентифікованих домішок.

ВИСНОВКИ

1. Ідентифіковано методом ГХ залишкові кількості органічних розчинників у складі субстанції ітраконазолу, знайдено, що субстанція не містить залишкових кількостей метанолу та N,N-диметилформаміду, а концентрації етанолу та метиленхлориду в зразках не перевищують встановлені межі (концентрація етанолу становить приблизно 465 ppm - значно нижче допустимої межі 5000 ppm; концентрація метиленхлориду оцінена в 139 ppm (не перевищує 600 ppm для розчинників класу 2).
2. Визначено чистоту досліджуваної субстанції ітраконазолу хроматографічним методом (ГХ): залишкові кількості розчинників етанолу та метиленхлориду не перевищують фармакопейні вимоги, присутні неідентифіковані домішки.
3. Адаптовано методики дослідження та розроблено умови дослідження, які дозволять захистити структуру молекули ітраконазолу від хімічної деградації.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Stepien, Z.; Krasodonski, W. Investigation into Engine Deposit-Forming Tendency due to Sulfate Salt Contamination of Gasoline–Ethanol Blends. *Energy Fuels* 2019, 33, 4244–4253.
2. Hill, A.E.; Stewart, G.G. Free Amino Nitrogen in Brewing. *Fermentation* 2019, 5, 22.
3. Sanchez, N.; Ruiz, R.; Hacker, V.; Cobo, M. Impact of bioethanol impurities on steam reforming for hydrogen production: A review. *Int. J. Hydrogen Energy* 2020, 45, 11923–11942.
4. Sjulander, N.; Kikas, T. Origin, Impact and Control of Lignocellulosic Inhibitors in Bioethanol Production—A Review. *Energies* 2020, 13, 4751.
5. Wang, L.-Q.; Cai, L.-Y.; Ma, Y.-L. Study on inhibitors from acid pretreatment of corn stalk on ethanol fermentation by alcohol yeast. *RSC Adv.* 2020, 10, 38409–38415.
6. Świątek, K.; Gaag, S.; Klier, A.; Kruse, A.; Sauer, J.; Steinbach, D. Acid Hydrolysis of Lignocellulosic Biomass: Sugars and Furfurals Formation. *Catalysts* 2020, 10, 437.
7. Domínguez, E.; Río, P.G.d.; Romani, A.; Garrote, G.; Domingues, L. Hemicellulosic Bioethanol Production from Fast-Growing Paulownia Biomass. *Processes* 2021, 9, 173.
8. Wolfaardt, F.J.; Leite Fernandes, L.G.; Cangussu Oliveira, S.K.; Duret, X.; Görgens, J.F.; Lavoie, J.-M. Recovery approaches for sulfuric acid from the concentrated acid hydrolysis of lignocellulosic feedstocks: A mini-review. *Energy Convers. Manag.* 2021, 10, 100074.
9. Sanchez, N.; Cobo, M.; Rodriguez-Fontalvo, D.; Uribe-Laverde, M.Á.; Ruiz-Pardo, R.Y. Bioethanol Production from Sugarcane Press-Mud: Assessment of the Fermentation Conditions to Reduce Fusel Alcohol. *Fermentation* 2021, 7, 194.

10. Sarkar, B.; Mridha, B.; Pareek, S. A sustainable smart multi-type biofuel manufacturing with the optimum energy utilization under flexible production. *J. Clean. Prod.* 2022, 332, 129869.
11. Baloch, M.; Labidi, J.J.R.A. Lignin biopolymer: The material of choice for advanced lithium-based batteries. *RSC Adv.* 2021, 11, 23644–23653.
12. Sánchez, C.; Santos, S.; Sánchez, R.; Lienemann, C.-P.; Todolí, J.-L. Profiling of Organic Compounds in Bioethanol Samples of Different Nature and the Related Fractions. *ACS Omega* 2020, 5, 20912–20921.
13. Saldívar, S.O.S.; Soto, F.E.A. Chemical Composition and Biosynthesis of Dietary Fiber Components. In *Science and Technology of Fibers in Food Systems*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany, 2020; pp. 15–43.
14. Jung, H.J.; Oh, K.K.J.A.S. Production of Bio-Based Chemicals, Acetic Acid and Furfural, through Low-Acid Hydrothermal Fractionation of Pine Wood (*Pinus densiflora*) and Combustion Characteristics of the Residual Solid Fuel. *Appl. Sci.* 2021, 11, 7435.
15. Thakur, S.; Govender, P.P.; Mamo, M.A.; Tamulevicius, S.; Mishra, Y.K.; Thakur, V.K. Progress in lignin hydrogels and nanocomposites for water purification: Future perspectives. *Vacuum* 2017, 146, 342–355.
16. Whetten, R.; Sederoff, R. Lignin biosynthesis. *Plant Cell* 1995, 7, 1001.
17. Baloch, M.; Labidi, J.J.R.A. Lignin biopolymer: The material of choice for advanced lithium-based batteries. *RSC Adv.* 2021, 11, 23644–23653.
18. Pang, S.C.; Voon, L.K.; Chin, S.F. Controlled Depolymerization of Cellulose Fibers Isolated from Lignocellulosic Biomass Wastes. *Int. J. Polym. Sci.* 2018, 2018, 6872893.
19. Walker, D. J.; Gallagher, J.; Winters, A.; Somani, A.; Ravella, S.R.; Bryant, D.N. Process optimization of steam explosion parameters on multiple lignocellulosic biomass using Taguchi method—A critical appraisal. *Front. Energy Res.* 2018, 6, 46.

20. Lin W, Zhu J, Hayes JE, Richie JP, Jr, Muscat JE. Comparison of carcinogen biomarkers in smokers of menthol and nonmenthol cigarettes: the 2015–2016 national health and nutrition examination survey special sample. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2022;31(8):1539-1545.
21. U.S. Food and Drug Administration. FDA proposes rules prohibiting menthol cigarettes and flavored cigars to prevent youth initiation, significantly reduce tobacco-related disease and death. Published April 28, 2022. Accessed August 10, 2025. <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-proposes-rules-prohibiting-menthol-cigarettes-and-flavored-cigars-prevent-youth-initiation>.
22. Sarecka-Hujar B, Szulc-Musioł B. Herbal medicines—are they effective and safe during pregnancy? *Pharmaceutics.* 2022;14(1):171.
23. Anter A, Ahmed ASF, Hammad ASA, et al. The severity of acute kidney and lung injuries induced by cecal ligation and puncture is attenuated by menthol: role of PCNA and apoptotic markers. *Front Med.* 2022;9:904286.
24. Soleimani M, Arzani A, Arzani V, Roberts TH. Phenolic compounds and antimicrobial properties of mint and thyme. *J Herb Med.* 2022;36:100604.
25. Reichling J. Antiviral and virucidal properties of essential oils and isolated compounds: a scientific approach. *Planta Med.* 2022;88(8):587-603.
26. Cheng H, An X. Cold stimuli, hot topic: an updated review on the biological activity of menthol in relation to inflammation. *Front Immunol.* 2022;13:1023746.
27. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2.
28. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg, 11-th ed., 2022. V.1II: 3343-3344.

SUMMARY

Matias Inna

DETERMINATION OF RESIDUAL AMOUNTS OF METHANOL, ETHANOL, METHYLENE CHLORIDE AND DIMETHYLFORMAMIDE IN ITRACONAZOLE SUBSTANCE BY GAS CHROMATOGRAPHY

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: professor, doctor of med. sciences Nizhenkovska I.V.

Keywords: residual amounts, methanol, ethanol, methylene chloride and dimethylformamide, itraconazole, substance, medicinal product, GC, impurities.

Introduction. Methanol, ethanol, methylene chloride, and dimethylformamide (DMF) are organic solvents used in the manufacture of pharmaceuticals to dissolve and purify substances. - Methanol is the simplest monohydric alcohol, miscible with water in any proportion. Solvent, raw material for the production of formaldehyde, fuel. Methanol is extremely toxic. When ingested, it affects the optic nerve (development of blindness) and the liver. The lethal dose is from 30 ml. - Methylene chloride or Dichloromethane is a chlorinated hydrocarbon. It is a heavy, volatile liquid with a sweetish odor, excellently dissolves organic compounds. Application: extraction (decaffeination of coffee), paint removal, degreasing of metals, solvent for gluing plastics. Toxic by inhalation, is a potential carcinogen.

Materials and methods. Objects of research are substances of itraconazole and its standard samples. Research subject: development of conditions for GC study of pharmaceutical analysis of itraconazole substance. Methods: Agilent 6890A with flame ionization detector (FID). Chromatography conditions: - column – DB-1701 ((14%-cyanopropyl-phenyl)-methylpolysiloxane), 30 m × 530 µm × 1 µm; the column was connected to the rear flame ionization detector (FID), - carrier gas – nitrogen, constant flow rate 5.0 mL/min. OpenLab CDS program.

Results. Residual amounts of organic solvents in the itraconazole substance were identified by GC, and it was found that the substance did not contain residual amounts of methanol and N,N-dimethylformamide, and the concentrations of ethanol and methylene chloride in the samples did not exceed the established limits (the ethanol concentration is approximately 465 ppm).

Conclusions. The purity of the studied substance itraconazole was determined by chromatographic method (GC): residual amounts of ethanol and methylene chloride solvents do not exceed pharmacopoeial requirements, unidentified impurities are present.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.



Ректор Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

В. о. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. фарм. н., професор



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПІЮК