

[https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-73-78](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-73-78)
УДК 54.057:54.062:543.544.43



Оригинальная статья / Research article

Разработка и валидирование условий определения остаточных органических растворителей – уксусной кислоты в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она

Е. Н. Люст✉, О. В. Бобровская, В. Л. Гейн

ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России), 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

✉ Контактное лицо: Люст Елена Николаевна. E-mail: elenalyust@mail.ru

ORCID: Е. Н. Люст – <https://orcid.org/0000-0002-1943-2669>; О. В. Бобровская – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>; В. Л. Гейн – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>.

Статья поступила: 14.10.2022

Статья принята в печать: 28.11.2022

Статья опубликована: 27.12.2022

Резюме

Введение. Для новых синтезируемых фармакологически активных соединений уже на стадии стандартизации необходима разработка методик определения показателей их качества, нормируемых фармакопейной статьёй на фармацевтические субстанции. Одним из таких показателей является остаточные органические растворители, для анализа которых пригодны хроматографические методы, например, газожидкостная хроматография.

Цель. Разработать условия определения остаточных органических растворителей – уксусной кислоты в новом фармакологически активном соединении (субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она), провести валидацию разработанной методики.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали субстанцию серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она, синтезированную в Пермской государственной фармацевтической академии. Исследование вели газохроматографическим методом (газо-жидкостной хроматограф «Хроматэк-Кристалл 5000», ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия).

Результаты и обсуждение. В настоящей работе отражены результаты по выбору газохроматографических условий определения остаточного органического растворителя (уксусной кислоты) в субстанции, данные условия оценены по показателям валидации, предъявляемым к аналитическим методикам.

Заключение. Разработана методика определения остаточного органического растворителя в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она, проведено валидирование методики.

Ключевые слова: субстанция, стандартизация, остаточные органические растворители, газо-жидкостная хроматография, валидация

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

Вклад авторов. О. В. Бобровская и В. Л. Гейн осуществили синтез субстанции. Е. Н. Люст провела газохроматографическое исследование, обработку данных, валидирование методики. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Пермского научно-образовательного центра «Рациональное недропользование», 2022 год.

Для цитирования: Люст Е. Н., Бобровская О. В., Гейн В. Л. Разработка и валидирование условий определения остаточных органических растворителей – уксусной кислоты в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(4-1):73–78. [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-73-78](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-73-78)

Development and Validation of Conditions for the Determination of Residual Organic Solvents – Acetic Acid in the Silver Salt Substance 4-[4-(atsetilaminosul'fonil)fenil]-6-(4-bromfenil)-5-(2-nitrofenil)-3,5-digidropirrolo[3,4-c]pirazol-3-ona

Elena N. Lyust✉, Olga V. Bobrovskaya, Vladimir L. Gein

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Perm State Pharmaceutical Academy" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2, Polevaya str., Perm, 614990, Russia

✉ Corresponding author: Elena N. Lyust. E-mail: elenalyust@mail.ru

ORCID: Elena N. Lyust – <https://orcid.org/0000-0002-1943-2669>; Olga V. Bobrovskaya – <https://orcid.org/0000-0002-3394-9031>; Vladimir L. Gein – <https://orcid.org/0000-0002-8512-0399>.

Received: 14.10.2022

Revised: 28.11.2022

Published: 27.12.2022

© Люст Е. Н., Бобровская О. В., Гейн В. Л., 2022

© Lyust E. N., Bobrovskaya O. V., Gein V. L., 2022

Abstract

Introduction. For new synthesized pharmacologically active compounds, already at the stage of standardization, it is necessary to develop methods for determining their quality indicators, normalized by a pharmacopoeial article for pharmaceutical substances. One of these indicators is the residual organic solvents, for the analysis of which chromatographic methods are suitable, for example, gas-liquid chromatography.

Aim. To develop conditions for the determination of residual organic solvents - acetic acid in a new pharmacologically active compound (substance of silver salt 4-[4-(acetilaminosulfonyl)phenyl]-6-(4-bromophenyl)-5-(2-nitrophenyl)-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-one), to validate the developed method.

Materials and methods. The substance of the silver salt 4-[4-(acetilaminosulfonyl)phenyl]-6-(4-bromophenyl)-5-(2-nitrophenyl)-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazole-3-one, synthesized at the Perm State Pharmaceutical Academy. The study was carried out by the gas chromatographic method (gas-liquid chromatograph Chromatec-Crystal 5000, JSC SDO «Chromatec», Russia).

Results and discussion. This paper reflects the results of the choice of gas chromatographic conditions for determining the residual organic solvent (acetic acid) in the substance, these conditions are evaluated according to the validation indicators required for analytical methods.

Conclusion. A procedure has been developed for determining the residual organic solvent in the substance of the silver salt 4-[4-(acetilaminosulfonyl)phenyl]-6-(4-bromophenyl)-5-(2-nitrophenyl)-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazole-3-one, the methodology was validated.

Keywords: substance, standardization, residual organic solvents, gas-liquid chromatography, validation

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Olga V. Bobrovskaya and Vladimir L. Gein carried out the synthesis of the substance. Elena N. Lyust conducted a gas chromatographic study, data processing, method validation. All authors participated in the discussion of the results and writing the text of the article.

Funding. The study was carried out with the financial support of the Perm Scientific and Educational Center "Rational Subsoil Use", 2022.

For citation: Lyust E. N., Bobrovskaya O. V., Gein V. L. Development and validation of conditions for the determination of residual organic solvents – acetic acid in the silver salt substance 4-[4-(acetilaminosulfonyl)phenyl]-6-(4-bromophenyl)-5-(2-nitrophenyl)-3,5-dihydropyrrolo[3,4-c]pyrazol-3-one. *Drug development & registration*. 2022;11(4–1):73–78. (In Russ.) [https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4\(1\)-73-78](https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-4(1)-73-78)

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что реакции соле- и комплексообразования приводят к получению металлосодержащих органических соединений с высоким биологическим действием и являются одними из эффективных путей повышения и изменения направленности фармакологических эффектов. В результате многолетних исследований в области синтеза новых высокоэффективных, безопасных биологически активных соединений на основе химических превращений сульфаниламидов с метиловыми эфирами ацилпировиноградных кислот [1–12] сотрудниками кафедры общей и органической химии Пермской государственной фармацевтической академии были получены натриевые и серебряные соли 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-N-[4-(N-R-сульфамоил)фенил]бут-2-енамидов, 5-арил(t-бутил)-N-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамоил]фенил]-1-фенилпиразол-3-карбоксамидов, метил (2Z)-4-арил-4-оксо-2-[[4-(N-R-сульфамоил)фенил]амино]бут-2-еноатов, пирроло [3,4-c]пиразол-3-онов [4, 6, 8, 10–12].

Особый интерес представляет серебряная соль 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-c]пиразол-3-она, обладающая высокой антибактериальной и противогрибковой активностью [11, 12], которая синтезирована по методике [11]. Структура соединения подтверждена данными спектроскопии ЯМР ¹H, ИК- и масс-спектрометрии [11].

Обязательным требованием для фармацевтических субстанций является определение остаточных количеств органических растворителей, т. е. летучих веществ, которые используются или образуются на любой стадии производства фармацевтических субстанций, вспомогательных веществ или лекарственного препарата и полностью не удаляются после завершения технологического процесса. Данные растворители классифицированы на 1, 2, 3 классы токсичности^{1,2}.

Для субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-c]пиразол-3-она из остаточных органических растворителей характерно содержание уксусной кислоты и этанола, которые согласно ОФС.1.1.0008.15. «Остаточные органические растворители» относят к растворителям 3 класса токсичности. Чаще всего для определения остаточного содержания органических растворителей при-

¹ ОФС.1.1.0008.15. Остаточные органические растворители: взамен ОФС 42-0057-07. Государственная Фармакопея РФ 14-е изд. Т. 1. 2018. Доступно по: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/203/index.html#zoom=z. Ссылка активна на 20.10.2022.

² ОФС.1.1.0006.15. Фармацевтические субстанции. Государственная Фармакопея РФ 14-е изд. Т. 1. 2018. Доступно по: http://resource.rucml.ru/feml/pharmacopia/14_1/HTML/176/index.html#zoom=z. Ссылка активна на 20.10.2022.

меняют хроматографические методы исследования, такие как газожидкостная хроматография.

Цель работы заключается в разработке и валидации условий определения содержания уксусной кислоты в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она методом газожидкостной хроматографии.

В ходе работы установлено содержание уксусной кислоты в субстанции, не превышающих предельно допустимых концентраций, разработаны газохроматографические условия определения уксусной кислоты в субстанции, проведено валидирование методики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Субстанция серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она (субстанция серебряной соли пирролопиразола).

Оборудование

Газо-жидкостной хроматограф «Хроматэк-Кристалл 5000» (ЗАО СКБ «Хроматэк», Россия).

Используемые реактивы

Диметилсульфоксид (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия), диметилформамид (х.ч., АО «ВЕКТОН», Россия), ГСО 8462–2003 стандартный образец состава раствора уксусной кислоты (аттестованное значение 1,00 мг/см³, ЭАА «Эко-Аналитика», Россия, 25.05.2022 г., срок годности 3 года).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования по установлению оптимальных условий газохроматографического определения уксусной кислоты сводились к выбору типа колонки (неподвижная жидкая фаза) и режима программирования температуры анализа, выбора растворителя для субстанции.

В эксперименте использована колонка полярная HP-FFAP, чаще всего применяемая для хроматографирования летучих органических веществ. В качестве растворителя применены диметилформамид и диметилсульфоксид.

В ходе экспериментов установлено, что при хроматографировании разделение уксусной кислоты и растворителя диметилформамида не представляется возможным, поэтому в дальнейших экспериментах был использован в качестве растворителя диметилсульфоксид, что позволило достигнуть удовлетворительного разделения компонентов. Таким образом, нами предложены следующие условия хроматографирования уксусной кислоты: колонка капиллярная HP-FFAP; температура термостата колон-

ки начальная – 120 °С, далее со скоростью нагрева 15 °С/мин до температуры 220 °С; температура детектора – 230 °С; температура испарителя – 180 °С; объем вводимой пробы – 1 мкл. В данных условиях время анализа в среднем составило 20,0 минут. Время выхода уксусной кислоты в среднем составило 9,9 мин., диметилсульфоксида – 11,6 мин.

Далее проводили валидирование разработанных условий по показателям: специфичность, линейность, правильность, предел количественного определения, прецизионность (в условиях повторяемости).

Для оценки специфичности сравнивали результаты анализа модельной смеси с концентрацией уксусной кислоты 1 % в диметилсульфоксиде и непосредственно растворителя. Полученные результаты проиллюстрированы на рисунке 1. Анализ полученных хроматограмм показал, что уксусная кислота и диметилсульфоксид имеют отличные времена удерживания, а посторонние примеси субстанции не мешают достоверному определению уксусной кислоты.

Линейность разработанных условий проверяли для 7 уровней концентрации определяемого вещества в диапазоне 0,04–0,6 % уксусной кислоты в пробе (13–130 %). У полученных хроматограмм оценивали площадь хроматографического пика. Полученная зависимость в анализируемом диапазоне линейна и описывается уравнением:

$$S = 3,110 \times 10^{04} \times C,$$

где S – площадь хроматографического пика; C – концентрация уксусной кислоты, коэффициент корреляции $\geq 0,99$ ($R^2 = 0,999$) (рисунок 2).

Определение правильности методики оценивали на модельных растворах с известным содержанием уксусной кислоты: на уровнях 80, 100 и 120 % в трех повторностях. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Значения (содержание уксусной кислоты в пробе), принимаемые за истинные, лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних результатов анализов, полученных экспериментально по данной методике, что свидетельствует о правильности методики.

Предел количественного определения – это наименьшее количество вещества в образце, которое может быть количественно оценено с использованием валидируемой методики. Данная характеристика является необходимой для методик оценки малых количеств веществ в образце, в том числе для оценки содержания примесей. Предел количественного определения (ПКО) вычисляли по величине стандартного отклонения сигнала и угловому коэффициенту градуировочного графика, где

$$\text{ПКО} = 10 \times S/b,$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала; b – угловой коэффициент градуировочного графика. В результате вычислений ПКО уксусной кислоты в данных условиях равен 0,004 %.

Определение прецизионности (в условиях повторяемости (сходимость) проводили по результатам шести определений для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к номинальному (100 %). Повторяемость оценивали по результатам анализа одного аналитика, полученных в одной лаборатории. Внутрिलाбораторная прецизионность исследовалась по результатам двух аналитиков, полученных в одной лаборатории в разные дни. Результаты представлены в таблицах 2 и 3.

Различия между результатами определений, проведенных двумя аналитиками, статистически незначимы, так как величина расчетного значения критерия Фишера (1,03) меньше табличного значения, которое составляет 5,05 для $P = 0,95$ (доверительная вероятность), f_1 и f_2 (число степеней свободы) = 5.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработана методика определения содержания уксусной кислоты методом газожидкостной хроматографии в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бромфенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с]пиразол-3-она. Проведено валидирование методики: методика линейна в аналитической области, специфична, оценена по показателям правильность и прецизионность (повторяемость (сходимость), внутрिलाбораторная прецизионность).

Содержание остаточного органического растворителя (уксусной кислоты) в субстанции серебряной соли 4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-6-(4-бром-

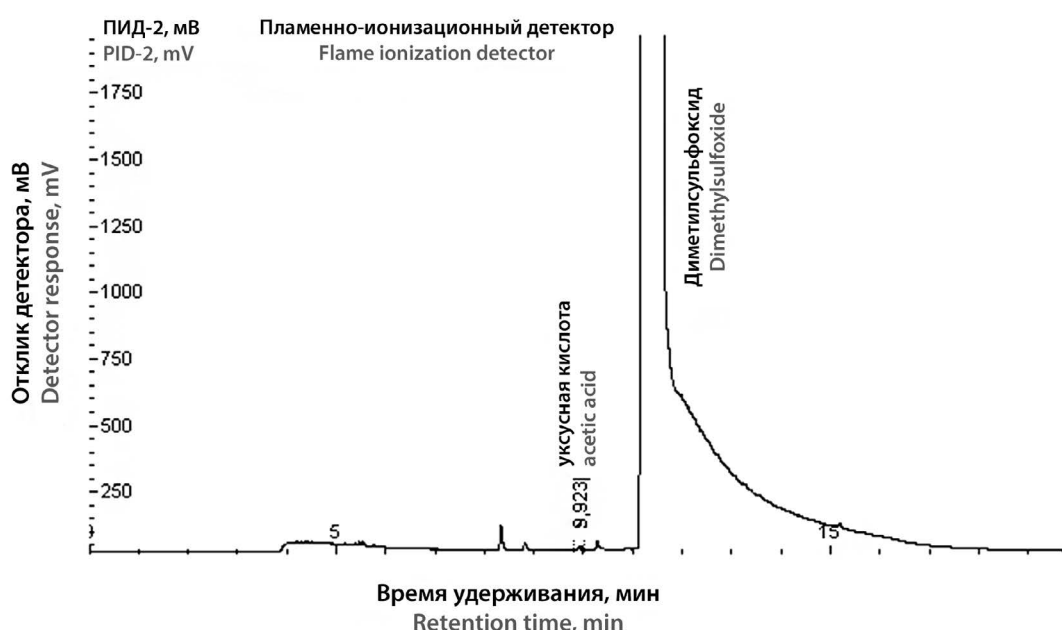


Рисунок 1. Хроматограмма субстанции серебряной соли пирролопиразола (растворитель диметилсульфоксид)

Figure 1. Chromatogram of the substance of the silver salt of pyrrolopyrazole (dimethylsulfoxide solvent)

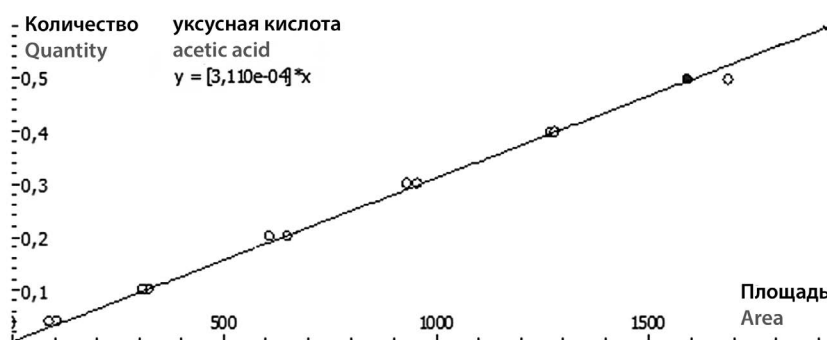


Рисунок 2. Градуировочная характеристика зависимости площади хроматографического пика от содержания уксусной кислоты в растворе (растворитель диметилсульфоксид)

Figure 2. Calibration characteristic of the dependence of the area of the chromatographic peak on the content of acetic acid in solution (dimethylsulfoxide solvent)

Таблица 1. Результаты определения правильности методики газохроматографического исследования уксусной кислоты

Table 1. Results of determining the correctness of the gas chromatographic study of acetic acid

Уровень концентрации уксусной кислоты, % The concentration of acetic acid, %	«Истинное» содержание уксусной кислоты в пробе, % «True» content of acetic acid in the sample, %	Площадь пика уксусной кислоты Peak area for acetic acid	Найденное содержание уксусной кислоты в пробе, % Found content of acetic acid in the sample, %	Открываемость, % Opening, %
80	0,100	321,11	0,100	100,00
		318,02	0,099	99,00
		324,71	0,101	101,00
100	0,300	972,48	0,302	100,67
		975,43	0,303	101,00
		972,75	0,303	101,00
120	0,500	1637,45	0,509	101,80
		1570,85	0,489	97,80
		1593,35	0,496	99,20
Статистическая обработка результатов Statistical processing of results				
$\bar{X}_{\text{открываемости}}^*$, % $\bar{X}_{\text{of open}}^*$, %	SD (S_o)**	$\Delta\bar{x}^{***}$ ($P = 0,95; n = 9$)	$\epsilon_{\text{ср.}}^{****}$, %	t-критерий Стьюдента, рас- четное
100,16	1,27	1,10	1,09	0,65
t-критерий Стьюдента ($P = 95\%$ и $f = 8$), табличное – 2,31				

Примечание. * Средний процент открываемости.

** Стандартное отклонение среднего результата.

*** Доверительный интервал.

**** Относительная ошибка среднего результата.

Note. * Average open rate.

** Standard deviation of mean result.

*** Confidence limit.

**** Relative error of mean result.

фенил)-5-(2-нитрофенил)-3,5-дигидропирроло[3,4-с] пиразол-3-она, определенное по разработанной методике, составило от 0,13 до 0,34 %.

Таблица 2. Статистическая обработка результатов газохроматографического определения уксусной кислоты при оценке повторяемости (сходимости)

Table 2. Statistical processing of the results of gas chromatographic determination of acetic acid in the evaluation of repeatability (convergence)

Площадь пика уксусной кислоты Peak area for acetic acid	Содержание уксусной кислоты, % Acetic acid content, %	$\bar{X}^*$	SD (S_o)**	RSD***, % ($S_{o\%}$)
980,02	0,305	0,301	0,003	1,110
973,20	0,303			
972,84	0,302			
958,70	0,298			
971,89	0,302			
953,09	0,296			

Примечание. * Результат средний.

** Стандартное отклонение среднего результата.

*** Относительное стандартное отклонение среднего результата.

Note. * Average result.

** Standard deviation of mean result.

*** Relative standard deviation of the mean.

Таблица 3. Оценка внутрилабораторной прецизионности методики газохроматографического определения уксусной кислоты

Table 3. Evaluation of the intralaboratory precision of the method for the gas chromatographic determination of acetic acid

№	Найденное содержание уксусной кислоты, % Found content of acetic acid, %	
	Результаты 1-го аналитика The results of the first analyst	Результаты 2-го аналитика The results of the second analyst
1	0,305	0,295
2	0,303	0,298
3	0,302	0,302
4	0,298	0,302
5	0,302	0,300
6	0,296	0,304
$\bar{X}^*$	0,3010	0,3002
SD** (S_o)	0,0033	0,0033
RSD***, % ($S_{o\%}$)	1,11	1,08

Примечание. * Результат средний.

** Стандартное отклонение среднего результата.

*** Относительное стандартное отклонение среднего результата.

Note. * Average result.

** Standard deviation of mean result.

*** Relative standard deviation of the mean.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Русских А. А., Петухова Н. Н. Синтез 4-арил-2-гидрокси-4-оксо-*N*-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]бут-2-енамидов. *Журнал общей химии*. 2018;88(2):338–341. DOI: 10.1134/S1070363218020238.
2. Гейн В. Л., Замараева Т. М., Горгопина Е. В., Игидов Н. М., Бобровская О. В., Дмитриев М. В. Синтез и строение (Z)-*N*-арил-2-гидрокси-4-оксо-4-фенилбут-2-енамидов. *Журнал общей химии*. 2018;88(4):686–689. DOI: 10.1134/S1070363218040321.
3. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Дмитриев М. В., Махмудов Р. Р., Белоногова В. Д. Синтез и биологическая активность соединений, полученных на основе взаимодействия метиловых эфиров ароилпировиноградных кислот с сульфадимидином. *Журнал общей химии*. 2018;88(6):914–921. DOI: 10.1134/S1070363218060087.
4. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Русских А. А., Новикова В. В., Гейн О. Н., Карпенко Ю. Н., Чашчина С. В., Дмитриев М. В., Янкин А. Н. Синтез и биологическая активность 5-арил-*N*-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фенил]-1-фенилпирозол-3-карбоксамидов и их солей. *Журнал общей химии*. 2019;89(4):542–551. DOI: 10.1134/S0044460X19040073.
5. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Русских А. А., Дмитриев М. В., Янкин А. Н. Синтез метил 4-арил-4-оксо-2-[4-[(1,3-тиазол-2-ил)сульфамойл]фениламино]бут-2-еноатов и их взаимодействие с нингидрином. *Журнал органической химии*. 2019;55(5):693–699. DOI: 10.1134/S0514749219050057.
6. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Машкина Е. А., Новикова В. В., Махмудов Р. Р., Янкин А. Н., Данилов С. Е., Хволис Е. А., Белоногова В. Д., Гуляев Д. К. Синтез и противомикробная активность метил 4-арил-2-[4-[(4,6-диметилпиримидин-2-ил)сульфамойл]фениламино]-4-оксобут-2-еноатов и их серебряных солей. *Журнал общей химии*. 2020;90(5):723–729. DOI: 10.31857/S0044460X20050108.
7. Bobrovskaya O. V., Russkikh A. A., Yankin A. N., Dmitriev M. V., Bunev A. S., Gein V. L. Straightforward synthesis of novel spiroether derivatives. *Synthetic Communications*. 2021;51(11):1731–1741. DOI: 10.1080/00397911.2021.1903930.
8. Гейн О. Н., Бобровская О. В., Гейн С. В., Гейн В. Л. Иммунобиологическая и противовоспалительная активность натриевых солей пирроло[3,4-*c*]пирозол-3-онов и пирозол-3-карбоксамидов в эксперименте. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2022;85(2):21–25. DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
9. Гейн В. Л., Назарев О. В., Романова А. В., Бобровская О. В., Махмудов Р. Р. Синтез и анальгетическая активность метил-2-[[[(2Z)-4-арил-2-гидрокси-4-оксобут-2-еноил]амино]бензоатов. *Журнал общей химии*. 2022;92(8):1163–1167. DOI: 10.31857/S0044460X22080017.
10. Новикова В. В., Русских А. А. Исследование противогрибковой активности нового соединения ряда серебряных солей пирозолкарбоксамидов *in vitro*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018;2(23):92–95.
11. Гейн В. Л., Бобровская О. В., Селиверстов Г. В., Новикова В. В., Махмудов Р. Р. Серебряные соли 3,4-диарил-5-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-4,6-дигидропирроло[3,4-*c*]пирозол-6-онов, проявляющие противогрибковую активность. Патент РФ на изобретение № RU 2706357 C1. 18.11.2019. Доступно по: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=IZPM&id=45B52611-1395-49F3-90AF-424E1759270E/> Ссылка активна на 20.10.2022.
12. Новикова В. В., Бобровская О. В., Гейн В. Л., Селиверстов Г. В., Люст Е. Н., Махмудов Р. Р. Оценка противогрибковой и антибактериальной активности серебряных солей 5,6-диарил-4-[4-(ацетиламиносульфонил)фенил]-3,5-дигидропирроло[3,4-*c*]пирозол-3-онов. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2021;84(9):34–38. DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.
2. Gein V. L., Zamaraeva T. M., Gorgopina E. V., Igidov N. M., Bobrovskaya O. V., Dmitriev M. V. Synthesis and Structure (Z)-*N*-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-4-phenylbut-2-enamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(4):832–835. (In Russ.) DOI:10.1134/S1070363218040321.
3. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Dmitriev M. V., Makhmudov R. R., Belonogova V. D. Synthesis and Biological Activity of Compounds Obtained by Reacting Methyl Aroylpyruvates with Sulfadimidine. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(6):1095–1102. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363218060087.
4. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Russkikh A. A., Novikova V. V., Gein O. N., Karpenko Yu. N., Chashchina S. V., Dmitriev M. V., Yankin A. N. Synthesis and Biological Activity of 5-Aryl-*N*-[4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenyl]-1-phenyl-1*H*-pyrazole-3-carboxamides and Their Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2019;89(4):680–688. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363219040078.
5. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Russkikh A. A., Dmitriev M. V., Yankin A. N. Synthesis of Methyl 4-Aryl-4-oxo-2-[4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenylamino]but-2-enoates and Their Reactions with Ninhydrin. *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2019;55(5):602–607. (In Russ.) DOI: 10.1134/S107042801905004X.
6. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Mashkina E. A., Novikova V. V., Makhmudov R. R., Yankin A. N., Danilov S. E., Hvolis E. A., Belonogova V. D., Gulyaev D. K. Synthesis and Antimicrobial Activity of Methyl (2Z)-4-aryl-2-[4-[(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl)sulfamoyl]phenylamino]-4-oxobut-2-enoates and Their Silver Salts. *Russian Journal of General Chemistry*. 2020;90(5):822–826. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363220050102.
7. Bobrovskaya O. V., Russkikh A. A., Yankin A. N., Dmitriev M. V., Bunev A. S., Gein V. L. Straightforward synthesis of novel spiroether derivatives. *Synthetic Communications*. 2021;51(11):1731–1741. DOI: 10.1080/00397911.2021.1903930.
8. Gein O. N., Bobrovskaya O. V., Gein S. V., Gein V. L. Immunobiological and anti-inflammatory activity of sodium salts of pyrrolo[3,4-*c*]pyrazol-3-ones and pyrazol-3-carboxamides in experiment. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2022;85(2):21–25. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-2-21-25.
9. Gein V. L., Nazarets O. V., Romanova A. V., Bobrovskaya O. V., Makhmudov R. R. Synthesis and Analgesic Activity of Methyl 2-[[[(2Z)-4-Aryl-2-hydroxy-4-oxobut-2-enoyl]amino]benzoates. *Russian Journal of General Chemistry*. 2022;92(8):1367–1370. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363222080011.
10. Novikova V. V., Russkikh A. A. The investigation of antifungal activity of new silver salt of pyrazol-3-carboxamides *in vitro*. *Drug development & registration*. 2018;2(23):92–95. (In Russ.).
11. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Seliverstov G. V., Novikova V. V., Makhmudov R. R. Silver salts of 3,4-diaryl-5-[4-(acetylaminosulfonyl)phenyl]-4,6-dihydropyrrolo[3,4-*c*]pyrazol-6-ones, exhibiting antifungal activity. Patent RU №2706357 C1. 18.11.2019. Available at: <https://www.fips.ru/publication-web/publications/document?type=doc&tab=IZPM&id=45B52611-1395-49F3-90AF-424E1759270E/> Accessed: 20.10.2022. (In Russ.)
12. Novikova V. V., Bobrovskaya O. V., Gein V. L., Seliverstov G. V., Lyust E. N., Makhmudov R. R. Assessing the antifungal and antibacterial activity of silver salts of 5,6-diaryl-4-[4-(acetylaminosulfonyl)-phenyl]-3,5-dihydropyrrolo[3,4-*c*]pyrazol-3-ones. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2021;84(9):34–38. (In Russ.) DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-9-34-38.

REFERENCES

1. Gein V. L., Bobrovskaya O. V., Russkikh A. A., Petukhova N. N. Synthesis of 4-Aryl-2-hydroxy-4-oxo-*N*-[4-[(1,3-thiazol-2-yl)sulfamoyl]phenyl]but-2-eneamides. *Russian Journal of General Chemistry*. 2018;88(2):334–337. (In Russ.) DOI: 10.1134/S1070363218020238.