



Анализ полифторсодержащего аналога нестероидного антиандрогена флутамида методами ядерного магнитного резонанса и жидкостной хроматографии

Н. Е. Кузьмина¹, С. В. Алешин², С. Л. Кузнецов²✉, И. А. Тубашева²,
В. Г. Шуватова², М. Б. Сокол³, Е. Д. Никольская³

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России). 127051, Россия, г. Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»). 123182, Россия, г. Москва, площадь Академика Курчатова, д. 1

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля» Российской академии наук (ИБХФ РАН). 119334, Россия, г. Москва, ул. Косыгина, д. 4

✉ Контактное лицо: Кузнецов Сергей Леонидович. E-mail: Kuznetsov_SL@nrcki.ru

ORCID: Н. Е. Кузьмина – <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>;
С. В. Алешин – <https://orcid.org/0009-0003-1170-2286>;
С. Л. Кузнецов – <https://orcid.org/0000-0002-6290-5142>;
И. А. Тубашева – <https://orcid.org/0000-0002-9461-4219>;
В. Г. Шуватова – <https://orcid.org/0000-0002-7198-8568>;
М. Б. Сокол – <https://orcid.org/0000-0002-1976-1972>;
Е. Д. Никольская – <https://orcid.org/0000-0002-1931-3117>.

Статья поступила: 30.10.2025

Статья принята в печать: 10.02.2026

Статья опубликована: 13.02.2026

Резюме

Введение. В результате поиска более активных в отношении рака простаты полифторсодержащих структурных аналогов нестероидного антиандрогена флутамида был получен ряд соединений, среди которых наибольший интерес для дальнейшего изучения представлял 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-*N*-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамида (шифр F-4). Необходимые данные для строгого доказательства строения молекулы данного соединения ранее получены не были. Идентификация примесей и количественная оценка их содержания в субстанции F-4 не проводились. Для решения этих задач нами были использованы методы спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым (ВЭЖХ-УФ) и тандемным масс-селективным детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).

Цель. Комплексный анализ строения соединения F-4 методами ЯМР и ВЭЖХ, а также идентификация и количественная оценка с их помощью содержания примесей в образцах субстанции.

Материалы и методы. Объектом исследования являлись лабораторные образцы субстанции соединения F-4, полученные ацилированием 4-нитро-3-(трифторметил)анилина хлорангидридом перфторпеларгоновой кислоты известным методом. Для анализа использовали: ЯМР-спектрометр Agilent DD2 NMR System 600; жидкостный хроматограф Agilent 1200, оснащенный диодно-матричным детектором G1315B; жидкостный хроматограф Agilent Infinity II, снабженный масс-спектрометрическим детектором с тройным квадруполом G6495C (Agilent Technologies, США). В обоих хроматографах применялась колонка Luna C18(2), 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Phenomenex, США).

Результаты и обсуждение. Структурная интерпретация спектров ¹H-, ¹³C- и ¹⁹F-ЯМР образцов соединения F-4, проведенная с учетом значений химических сдвигов сигналов, их мультиплетности и данных 2D-экспериментов, однозначно свидетельствует о том, что F-4 имеет структуру 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-*N*-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамида. В спектрах ¹H- и ¹⁹F-ЯМР образцов субстанции F-4 также присутствовали сигналы двух примесных соединений, не относящихся к исходным веществам. Для их разделения был использован метод ВЭЖХ-УФ. С помощью ВЭЖХ-МС/МС при ионизации электроспреем в отрицательном режиме (–ESI) для всех пиков были зафиксированы высокоинтенсивные сигналы *m/z*, характерные для депротонированных молекулярных ионов. Строение обнаруженных примесей было подтверждено методами спектроскопии ЯМР. Результаты количественного определения относительного содержания примесей в образцах субстанции F-4 с применением методов ¹H- и ¹⁹F-ЯМР практически совпали, различия между полученными средними значениями статистически не были значимы.

Заключение. В результате комплексного исследования методами ЯМР и ВЭЖХ установлено, что соединение F-4 соответствует структуре 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-N-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамида. В образцах субстанции F-4 были идентифицированы две родственные примеси, относительное содержание каждой примеси не превышало 1,7 %.

Ключевые слова: нестероидный антиандроген, флутамид, структурный аналог, ЯМР, ВЭЖХ, родственная примесь

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

Вклад авторов. Н. Е. Кузьмина предложила концепцию исследования и провела анализ образцов целевого соединения методами спектроскопии ЯМР. С. Л. Кузнецов и И. А. Тубашева получали испытуемые образцы. С. В. Алешин, М. Б. Сокол и Е. Д. Никольская анализировали их методами ВЭЖХ. В. Г. Шуватова наряду с другими авторами участвовала в написании текста статьи.

Финансирование. Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт». Использовались оборудование ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, ресурсного центра НИЦ «Курчатовский институт» и ИБХФ РАН.

Для цитирования: Кузьмина Н. Е., Алешин С. В., Кузнецов С. Л., Тубашева И. А., Шуватова В. Г., Сокол М. Б., Никольская Е. Д. Анализ полифторсодержащего аналога нестероидного антиандрогена флутамида методами ядерного магнитного резонанса и жидкостной хроматографии. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2026;15(1):146–160. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2217>

Analysis of a polyfluorinated analogue of the nonsteroidal antiandrogen flutamide by nuclear magnetic resonance and liquid chromatography

Natal'ya E. Kuz'mina¹, Sergey V. Aleshin², Sergey L. Kuznetsov²✉, Irina A. Tubasheva², Valentina G. Shuvatova², Maria B. Sokol³, Elena D. Nikolskaya³

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. 8/2, Petrovsky bulvar, Moscow, 127051, Russia

² National Research Centre "Kurchatov Institute". 1, Ploshchad Academica Kurchatova, Moscow, 123182, Russia

³ N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences (IBCP RAS). 4, Kosygina str., Moscow, 119334, Russia

✉ **Corresponding author:** Sergey L. Kuznetsov. **E-mail:** Kuznetsov_SL@nrcki.ru

ORCID: Natal'ya E. Kuz'mina – <https://orcid.org/0000-0002-9133-0835>;
Sergey V. Aleshin – <https://orcid.org/0009-0003-1170-2286>;
Sergey L. Kuznetsov – <https://orcid.org/0000-0002-6290-5142>;
Irina A. Tubasheva – <https://orcid.org/0000-0002-9461-4219>;
Valentina G. Shuvatova – <https://orcid.org/0000-0002-7198-8568>;
Maria B. Sokol – <https://orcid.org/0000-0002-1976-1972>;
Elena D. Nikolskaya – <https://orcid.org/0000-0002-1931-3117>.

Received: 30.10.2025

Accepted: 10.02.2026

Published: 13.02.2026

Abstract

Introduction. As a result of the search for more active polyfluoro-containing structural analogs of the non-steroidal antiandrogen flutamide against prostate cancer, a number of compounds were obtained, among which 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-hepta-decafluoro-N-(4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl)nonanamide (code F-4) was of the greatest interest for further study. The necessary data for rigorous proof of the molecular structure of this compound have not previously been obtained. Identification of impurities and quantitative assessment of their content in the F-4 substance have not been conducted. To address these issues, we used nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy and high-performance liquid chromatography with ultraviolet (HPLC-UV) and tandem mass-selective detection (HPLC-MS/MS).

Aim. Comprehensive analysis of the structure of compound F-4 using NMR and HPLC methods, as well as identification and quantitative assessment using them of the content of impurities in samples of the substance.

Materials and methods. The object of the study were laboratory samples of the substance of compound F-4, obtained by acylation of 4-nitro-3-(trifluoromethyl)aniline with perfluoropelargonic acid chloride using a known method. The following were used for the analysis: NMR spectrometer Agilent DD2 NMR System 600; liquid chromatograph Agilent 1200 equipped with diode array detector G1315B; liquid chromatograph Agilent Infinity II equipped with mass spectrometric detector with triple quadrupole G6495C (Agilent Technologies, USA). Both chromatographs used a column Luna C18(2), 250 × 4.6 mm, 5 μm (Phenomenex, USA).

Results and discussion. Structural interpretation of the ¹H, ¹³C, and ¹⁹F NMR spectra of F-4 samples, taking into account the chemical shift values of the signals, their multiplicity, and 2D experimental data, clearly indicates that F-4 has the structure of 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-hepta-decafluoro-N-(4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl)nonanamide. The ¹H and ¹⁹F NMR spectra

of the F-4 substance samples also contained signals of two impurity compounds not related to the starting materials. HPLC-UV method was used to separate them. Using HPLC-MS/MS with electrospray ionization in the negative mode (–ESI), high-intensity *m/z* signals characteristic of deprotonated molecular ions were recorded for all peaks. The structure of the detected impurities was confirmed using NMR spectroscopy. The results of quantitative determination of the relative impurity content in samples of F-4 substance using ¹H and ¹⁹F NMR methods were virtually identical; the differences between the obtained average values were not statistically significant.

Conclusion. A comprehensive study using NMR and HPLC methods revealed that compound F-4 corresponds to the structure of 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-heptafluoro-*N*-(4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl)nonanamide. Two related impurities were identified in samples of substance F-4, the relative content of each impurity did not exceed 1.7 %.

Keywords: nonsteroidal antiandrogen, flutamide, structural analogue, NMR, HPLC, related impurity

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. Natal'ya E. Kuz'mina proposed the study concept and analyzed the target compound samples using NMR spectroscopy. Sergey L. Kuznetsov and Irina A. Tubasheva prepared the test samples. Sergey V. Aleshin, Maria B. Sokol, and Elena D. Nikolskaya analyzed them using HPLC. Valentina G. Shuvatova, along with other authors, participated in writing the text of the article.

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the National Research Centre "Kurchatov Institute". The equipment used was from the Federal State Budgetary Institution "National Centre for Expertise and Medical Research" of the Ministry of Health of the Russian Federation, the resource center of the National Research Centre "Kurchatov Institute" and the N. M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Kuz'mina N. E., Aleshin S. V., Kuznetsov S. L., Tubasheva I. A., Shuvatova V. G., Sokol M. B., Nikolskaya E. D. Analysis of a polyfluorinated analogue of the nonsteroidal antiandrogen flutamide by nuclear magnetic resonance and liquid chromatography. *Drug development & registration*. 2026;15(1):146–160. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2217>

ВВЕДЕНИЕ

При лечении рака предстательной железы существенную роль играют нестероидные антиандрогены [1–4]. Первый препарат этой группы флутамид (рисунок 1) был разрешен к широкому применению в 1989 году [1, 5, 6]. Во второй половине 1990-х годов были одобрены для лечения и другие нестероидные антиандрогены первого поколения – нилутамид (Анандрон®) и бикалутамид (Касодекс®) [1–3]. Они способны блокировать андрогенный импульс на уровне рецепторов предстательной железы [2]. Связываясь с андрогеновыми рецепторами цитозоля, антиандрогены конкурентно ингибируют захват и/или связывание андрогенов с тканями-мишенями, подавляют рост опухоли и вызывают регресс аденогензависимого рака простаты [5]. В настоящее время, кроме бикалутамида и флутамида, используются более эффективные ингибиторы андрогенных рецепторов второго поколения: энзалутамид, апалутамид и даролутамид [7, 8]. Все нестероидные антиандрогены были разработаны за рубежом.

В конце 1990-х и начале 2000-х годов в Российской Федерации проводились работы по синтезу полифторсодержащих структурных аналогов флутамида и изучению их цитотоксических свойств [9–11]. Среди полученных соединений высокий интерес пред-

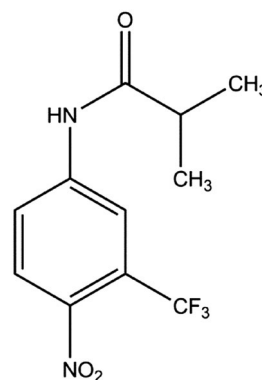


Рисунок 1. Структурная формула флутамида

Figure 1. Structural formula of flutamide

ставляло соединение 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-*N*-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамид (CAS Registry Number 565176-69-4). У разработчиков данное вещество получило условное название «флустат» [11] и шифр F-4.

В исследованиях *in vitro* полифторкарбоксамид F-4 показал более высокую, чем флутамид, цитотоксическую активность в отношении опухолевых клеток аденокарциномы простаты человека линии

LNCaP, определенную по методу Мосманна [10, 11]. При испытании *in vivo* на модели перевиваемой аденокарциномы предстательной железы крыс линии R3327-H Dunning у антиандрогена F-4 было выявлено более выраженное и продолжительное противоопухолевое действие по сравнению с флутамидом [10, 11].

В работе [10] описано получение соединения F-4 ацилированием 4-нитро-3-(трифторметил)анилина хлорангидридом перфторпеларгоновой кислоты. Данные инфракрасной спектроскопии, а также спектроскопии ядерного магнитного резонанса на протонах (^1H -ЯМР) подтвердили наличие в молекуле F-4 структурного фрагмента $\text{Ar}-\text{NHC(O)}-$. В ИК-спектре F-4 присутствовали характеристические полосы поглощения групп NH и $\text{C}=\text{O}$ (3304 и 1716 cm^{-1}). На ^1H -ЯМР-спектре обнаружены сигналы протонов ароматических CH -групп $8,24$ (2H) и $8,33$ (1H) м.д., а также протона NH -группы $11,85$ (1H) м.д. Соединению F-4 была приписана структурная формула, представленная на рисунке 2.

Однако данные, приведенные в работе [10], не подтверждают положение и природу заместителей в ароматическом цикле, а также строение полифторированного алифатического фрагмента. Поэтому потребовалось более строгое доказательство строения соединения F-4 методами, которые позволяют идентифицировать не только наличие определенных структурных фрагментов в молекуле, но и последовательность их соединения друг с другом.

Продукты синтеза F-4 наряду с целевым соединением могут содержать родственные примеси, наличие и строение которых ранее не было изучено. Актуально было идентифицировать эти примеси и количественно оценить их содержание в образцах субстанции F-4.

Для решения поставленных задач были использованы методы спектроскопии ^1H -, ^{13}C -, ^{19}F -ЯМР, а также высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым (ВЭЖХ-УФ) и tandemным

масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС). Примеры применения спектроскопии ЯМР для идентификации основных компонентов в лекарственном препарате и их количественное определение без использования стандартных образцов представлены в работах [12, 13]. Использование ВЭЖХ с масс-селективным детектированием и ионизацией электроспреем для качественного анализа приведено в статье [14].

Цель исследования. Комплексный анализ строения соединения F-4 методами ЯМР и ВЭЖХ, а также идентификация и количественная оценка с их помощью содержания примесей в образцах субстанции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись лабораторные образцы субстанции соединения F-4 (I–IV), полученные известным методом [10, 11], а также исходные соединения (прекурсоры) – 4-нитро-3-(трифторметил)анилин и гептадекафторнонановая (перфторпеларгоновая) кислота разных производителей.

Реактивы

При получении образцов субстанции F-4 использовались: гептадекафторнонановая кислота, 97 % (35,445-9, Aldrich); перфторпеларгоновая кислота, 97 % (Пермский филиал НПО ГИПХ, СССР); 4-нитро-3-(трифторметил)анилин, 98 % (A6,880-7, Aldrich); 4-нитро-3-(трифторметил)анилин, 98 % (China National Chemical Construction Zhuhai Company, Китай).

Оборудование

Изучение веществ методами спектроскопии ЯМР проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600 (США) с 5-миллиметровым мультядерным датчиком, оснащенный градиентной катушкой и программным обеспечением (ПО) VNMRJ, версия 4.2 (Agilent Technologies, США).

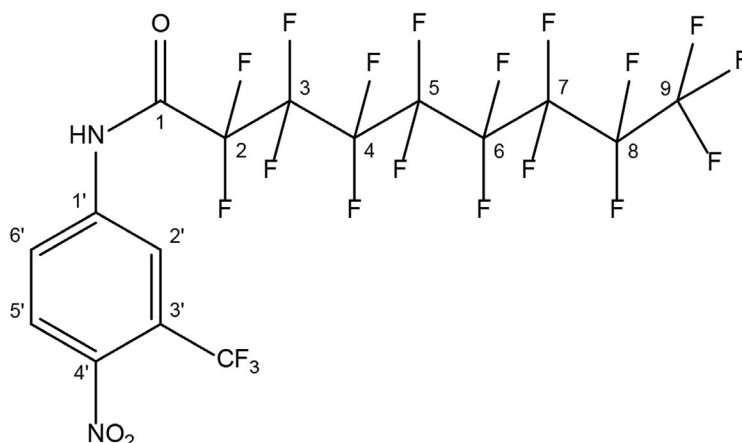


Рисунок 2. Структурная формула соединения F-4

Figure 2. Structural formula of compound F-4

Для хроматографических и масс-спектрометрических исследований образцов использовали жидкостные хроматографы:

- ✓ Agilent 1200, оснащенный диодно-матричным УФ-детектором G1315B, двухканальным насосом, автосамплером, термостатом колонок, ПО Agilent OpenLAB CDS ChemStation ver. C.01.08 (Agilent Technologies, США);
- ✓ Agilent Infinity II, оснащенный tandemным масс-селективным детектором с тройным квадруполем G6495C, двухканальным насосом, автосамплером, ПО Agilent MassHunter Workstation ver. 10.1 (Agilent Technologies, США).

Измерения методом ЯМР

Около 25 мг образца (точная навеска необязательна) помещали в ЯМР-ампулу, добавляли 0,5 мл дейтерированного диметилсульфоксида (DMCO-d₆, D 99,9 %, Cambridge Isotope Laboratories, Inc., США), интенсивно встряхивали до полного растворения образца. Регистрацию спектров ЯМР проводили на ЯМР-спектрометре Agilent DD2 NMR System 600. Параметры 1D-экспериментов: температура – 27 °C; ширина спектра – 9615,4 Гц (¹H) и 32051,8 Гц (¹³C), 31578,9 Гц (¹⁹F); угол поворота намагниченности – 45°; время релаксации – 5 с (¹H), 2 с (¹³C), 5 с (¹⁹F); количество накоплений спада свободной индукции – 256 (¹H) и 16 000 (¹³C), 256 (¹⁹F); число точек аналого-цифрового преобразования – 64 К; экспоненциальное умножение – 0,3 Гц (¹H) и 1,5 Гц (¹³C), 1,5 Гц (¹⁹F); дополнение нулями – 64 К; автоматическая коррекция базовой линии спектра, ручная настройка фазы, калибровка шкалы химических сдвигов (δ) под сигналы DMCO (δ = 2,50 м.д. для ¹H и 39,52 для ¹³C) и CFCl₃ (δ = 0,00 м.д. для ¹⁹F) [15]. Регистрацию двумерных спектров (2D) ¹H-¹H-gCOSY, ¹⁹F-¹⁹F-gCOSY, ¹H-¹³C-gHSQC, ¹⁹F-¹³C-gHSQC, ¹H-¹³C-gHMBC проводили с применением стандартных параметров.

Получены следующие данные из ¹H-, ¹³C- и ¹⁹F-спектров ЯМР (DMCO-d₆).

Соединение F-4. ¹H, δ, м.д.: 11,87 (с, 1H, NH), 8,32 (уш. с, 1H, CH), 8,22 (уш. д, J 9,0 Гц, 1H, CH), 8,20 (уш. д, J 9,0 Гц, 1H, CH).

¹³C, δ, м.д.: 155,87 (т, J 27,2 Гц, C=O), 143,41 с, 140,71 с, 127,27 с, 124,83 с, 122,66 (кв, J 33,3 Гц, CF₃—C), 121,67 (кв, J 272,9 Гц, CF₃), 119,52 (кв, J 5,6 Гц), 116,46 (квт, J 287,6 и 33,3 Гц, CF₃—CF₂), 108,31 (тт, J 270,0 и 31,3 Гц, CF₂—C=O), 110,51 (м, 6CF₂).

¹⁹F, δ, м.д.: –126,50 (м, 2F, CF₂), –123,09 (м, 2F, CF₂), –122,45 (м, 2F, CF₂), –122,25 (м, 2F, CF₂), –122,13 (м, 2F, CF₂), –121,75 (м, 2F, CF₂), –118,67 (т, J 12,2 Гц, 2F, CF₂—C=O), –81,24 (т, J 10,1 Гц, 3F, CF₃—CF₂), –59,75 (с, 3F, CF₃—C).

4-нитро-3-(трифторметил)анилин. ¹H, δ, м.д.: 8,00 (д, J 9,1 Гц, 1H, CH), 7,05 (д, J 2,5 Гц, 1H, CH), 6,97 (уш. с, 2H, NH₂), 6,80 (дд, J 9,1 и 2,5 Гц, 1H, CH). ¹⁹F, δ, м.д.: –59,79 (с, 3F, CF₃).

Перфторпеларгоновая кислота. ¹⁹F, δ, м.д.: –126,43 (м, 2F, CF₂), –123,04 (м, 2F, CF₂), –122,89 (м, 2F, CF₂), –122,23 (м, 2F, CF₂), –122,17 (м, 2F, CF₂), –121,91 (м, 2F, CF₂), –118,30 (т, J 12,2 Гц, 2F, CF₂—C=O), –81,14 (т, J 10,1 Гц, 3F, CF₃—CF₂).

Относительное содержание примеси в образцах субстанции F-4 определяли как массовую долю вещества i ($X_{i, \text{масс}}$) в смеси n известных компонентов методом внутренней нормализации¹ по формуле:

$$X_{i, \text{масс}} (\%) = \frac{M_i \cdot S'_i}{\sum_{j=1}^{j=n} M_j \cdot S'_j} \cdot 100,$$

где M_i – молекулярная масса анализируемого компонента i ; S'_i – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала компонента i ; M_j – молекулярная масса и S'_j – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала каждого компонента j ($j = 1, 2, \dots, n$), n – число компонентов испытуемого образца [12].

Для каждого из образцов за результат принимали усредненное значение трех измерений с указанием двухстороннего доверительного интервала для вероятности 0,95. Двухсторонний доверительный интервал и значения RSD (относительное стандартное отклонение, relative standard deviation) рассчитывали по ГОСТ Р 50779.22-2005² с помощью программы Microsoft Office Excel 2007 с установленным пакетом «Анализ данных» (США).

Метод ВЭЖХ-УФ

Хроматографическое разделение субстанции F-4 проводили на аналитической колонке Luna C18(2), 250 × 4,6 мм, 5 мкм (Phenomenex, США). Для приготовления подвижной фазы использовали: деионизированную воду аналитического качества (Milli-Q), полученную на установке Millipore Integral A10 (Франция); ацетонитрил, класс «for LC-MS» (Panreac Quimica S.L.U., Испания) и кислоту муравьиную для ЖХ-МС LiChropur™, 97,5–98,5 % (Sigma-Aldrich, США). В качестве компонентов подвижной фазы использовали: 0,1 % (по объему) раствор муравьиной кислоты в воде (компонент 1) и 0,1 % (по объему) раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле (компонент 2). Применялся режим градиентного элюирования: 0–60 мин – 10 % компонента 2, 60–90 мин – увеличение содержания

¹ ОФС.1.2.1.1.0007 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса». Государственная фармакопея РФ. XV издание. Доступно по: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-2/1-2-1/1-2-1-1-1-metody-spektralnogo-analiza-spektroskopiya-yadernogo-magnitnogo-rezonansa/> Ссылка активна на 06.10.2025.

² ГОСТ Р 50779.22-2005. Статистические методы. Статистическое представление данных. Точечная оценка и доверительный интервал для среднего. Доступно по: <https://internet-law.ru/gosts/gost/4946/?ysclid=m9yjh1kkex446036205>. Ссылка активна на 06.10.2025.

компонента 2 до 90 %, 90–100 мин – 90 % компонента 2. Скорость потока составляла 1 мл/мин, температура колонки – 30 °С, объем вводимой пробы – 30 мкл. Детектирование осуществлялось при аналитической длине волны 250 нм. Продолжительность анализа с учетом стабилизации системы перед вводом следующего образца составляла 120 мин.

Метод ВЭЖХ-МС/МС

Хроматографические условия были аналогичны ВЭЖХ-УФ (колонка, подвижная фаза, режим элюирования и прочее – см. выше), объем вводимой пробы составил 3 мкл. Детектирование осуществлялось при отрицательном режиме ионизации в электроспрее (–ESI, electrospray ionization). Условия ионизации: напряжение на капилляре – 3,0 кВ, температура капилляра – 350 °С, скорость потока осушающего газа (азот) – 14 л/мин, температура газа – 250 °С, напряжение на фрагменторе – 160 В, давление небулайзера – 1,7 бар. Диапазон сканирования – от *m/z* 20 до 1000, точность определения масс на приборе – 1 Да.

Приготовление рабочих растворов: навески 25 мг субстанции F-4 (образцов I–IV), а также исходного 4-нитро-3-(трифторметил)анилина помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл и растворяли в ацетонитриле. Концентрация каждого полученного раствора составила 1 мг/мл. Для приготовления раствора модельной смеси в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 0,25 мл раствора 1 мг/мл 4-нитро-3-(трифторметил)анилина, затем доводили до метки рабочим раствором образца III и перемешивали. Получали раствор модельной смеси в ацетонитриле с концентрациями ~10 мкг/мл 4-нитро-3-(трифторметил)анилина и ~990 мкг/мл образца III.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обзорные спектры ¹H-, ¹³C- и ¹⁹F-ЯМР субстанции F-4 приведены на рисунке 3.

В таблице 1 представлена структурная интерпретация спектров ¹H-, ¹³C- и ¹⁹F-ЯМР соединения F-4, проведенная с учетом полученных значений химических сдвигов сигналов (δ), их мультиплетности и данных гомоядерных и гетероядерных 2D-экспериментов ¹H-¹H-gCOSY, ¹⁹F-¹⁹F-gCOSY, ¹H-¹³C-gHSQC, ¹⁹F-¹³C-gHSQC, ¹H-¹³C-gHMBC. Нумерация атомов в таблице 1 соответствует нумерации атомов на рисунке 2.

Проведенная структурная интерпретация спектров ЯМР однозначно свидетельствует о том, что соединение F-4 имеет структуру 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-N-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонамида, представленную на рисунке 2.

В спектрах ¹H- и ¹⁹F-ЯМР образцов субстанций F-4 были обнаружены сигналы продуктов синтеза – примесных соединений (примесей) А и В (рисунок 4), которые не относятся к исходным компонентам – перфторпеларгоновой кислоте и 4-нитро-3-(трифторметил)анилину.

Таблица 1. Спектральные характеристики ¹H-, ¹³C-, ¹⁹F-ЯМР соединения F-4

Table 1. ¹H, ¹³C, ¹⁹F NMR spectral characteristics of compound F-4

№ атома No. of atom	Химический сдвиг, δ, м.д. (J, Гц)* Chemical Shift, δ, ppm (J, Hz)*		
	¹ H	¹³ C	¹⁹ F
1		155,87 т (27,2) 155.87 t (27.2)	
2		108,31 тт (270,0; 31,3) 108.31 tt (270.0; 31.3)	–118,67 т (12,2) –118.67 t (12.2)
3		110,5 м 110.5 m	–121,75 м –121.75 m
4		110,5 м 110.5 m	–122,25 м –122.25 m
5		110,5 м 110.5 m	–126,50 м –126.50 m
6		110,5 м 110.5 m	–122,45 м –122.45 m
7		110,5 м 110.5 m	–122,13 м –122.13 m
8		110,5 м 110.5 m	–123,09 м –123.09 m
9		116,46 квт (287,6; 33,3) 116.46 qvt (287.6; 33.3)	–81,24 т (10,1) –81.24 t (10.1)
NH	11,87 с 11.87 s		
1'		143,41 с 143.41 s	
2'	8,32 уш. с 8.32 br. s	119,52 кв (5,6) 119.52 qv (5.6)	
3'		122,66 кв (33,3) 122.66 qv (33.3)	
4'		140,71 с 140.71 s	
5'	8,20 уш. д (9,0) 8.20 br. d (9.0)	127,27 с 127.27 s	
6'	8,22 уш. д (9,0) 8.22 br. d (9.0)	124,83 с 124.83 s	
3'-CF ₃		121,67 кв (272,9) 121.67 qv (272.9)	–59,75 с –59.75 s

Примечание. * Сокращения: м.д. – миллионная доля; J – константа спин-спинового взаимодействия (Гц); с – синглет; уш. с – уширенный синглет; уш. д – уширенный дублет; д – дублет; дд – дублет дублетов; т – триплет; тт – триплет триплетов; м – мультиплет; кв – квартет; квт – квартет триплетов.

Note. * Abbreviations: ppm – parts per million; J – spin-spin interaction constant (Hz); s – singlet; br. s – broadened singlet; br. d – broadened doublet; d – doublet; dd – doublet of doublets; t – triplet; tt – triplet of triplets; m – multiplet; qv – quartet; qvt – quartet of triplets.

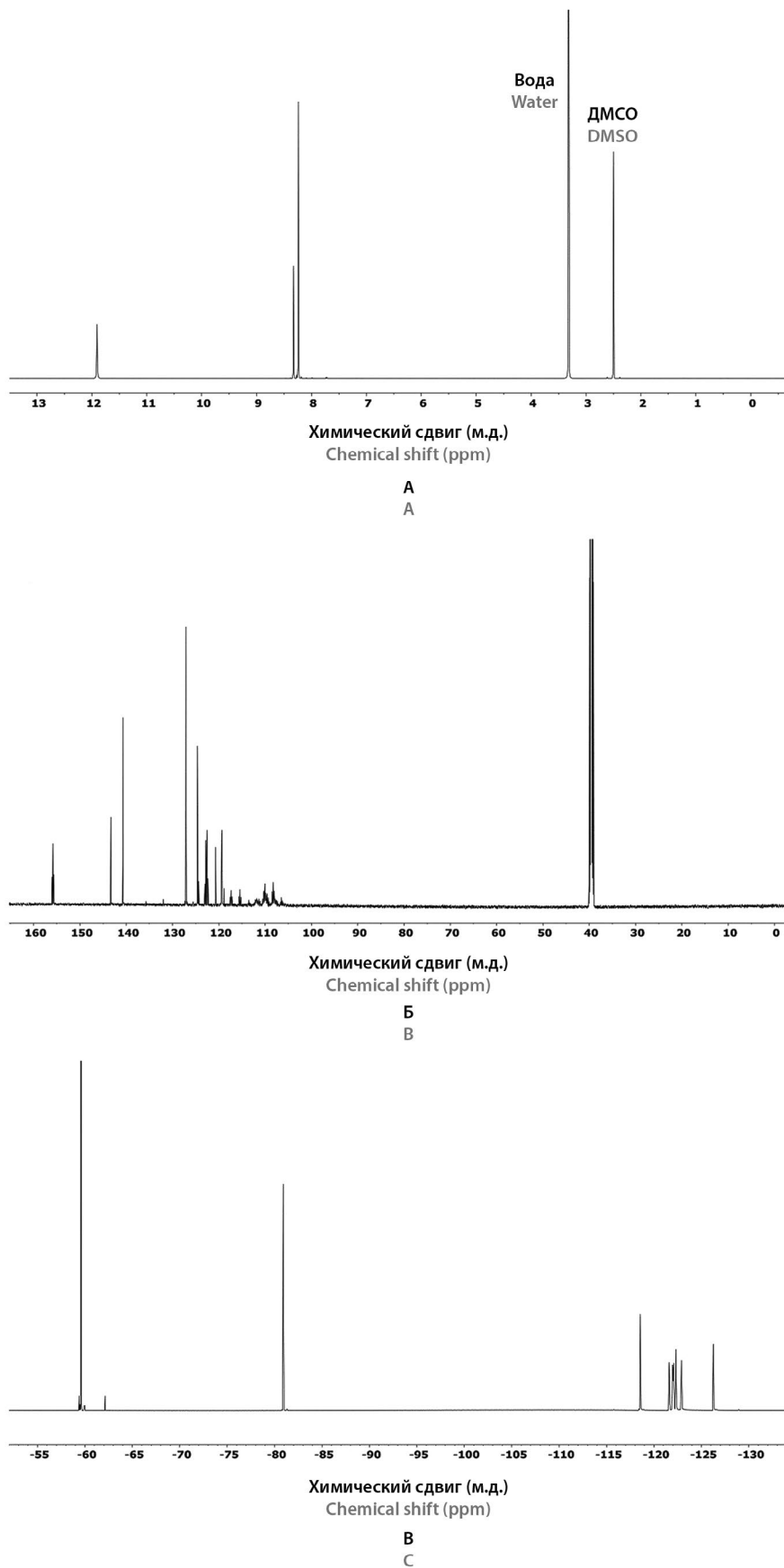


Рисунок 3. Спектры ЯМР ^1H (А), ^{13}C (Б) и ^{19}F (В) субстанции F-4

Figure 3. NMR spectra ^1H (A), ^{13}C (B) and ^{19}F (C) of substance F-4

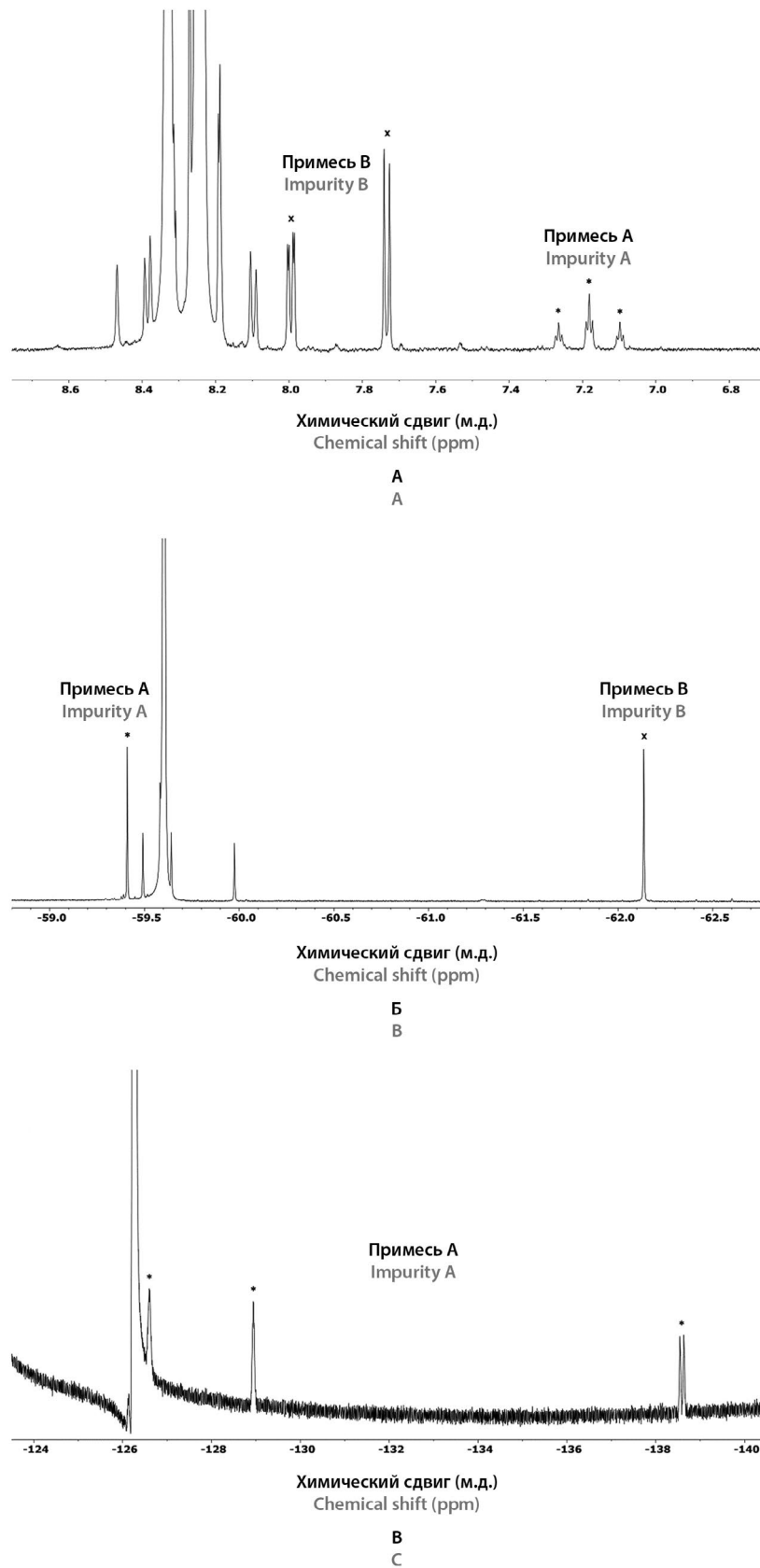


Рисунок 4. Фрагменты спектров ЯМР ^1H (А) и ^{19}F (Б, В) субстанции F-4 (образец III), содержащие сигналы примесей А (*) и В (x)

Figure 4. Fragments of the ^1H (A) and ^{19}F (B, C) NMR spectra of substance F-4 (sample III) containing signals of impurities A (*) and B (x)

Примесь А. ^1H , δ , м.д.: 7,16 (тт, J 50,4, 5,3 Гц; CHF_2). ^{19}F , δ , м.д.: -138,77 (д, J 50,4 Гц; 2F, CHF_2); -129,01 (уш. с, 2F, CF_2); -126,91 (уш. д, J 52,45 Гц; 2F, CF_2); -59,46 (с, 3F, CF_3).

Примесь В. ^1H , δ , м.д.: 11,55 (с, NH); 7,97 (дд, J 8,9, 2,0 Гц; $^1\text{H}_{\text{Ar}}$); 7,69 (д, J 8,9 Гц; $^1\text{H}_{\text{Ar}}$). ^{19}F , δ , м.д.: -62,30 (с, 3F, CF_3).

Анализ субстанции F-4 методом ВЭЖХ-УФ показал наличие на хроматограммах всех образцов (I–IV) пиков основного вещества (время удерживания, в. у. 93–96 мин) и примеси А (в. у. 91–93 мин) (рисунок 5). На хроматограммах образцов III и IV дополнительно был обнаружен пик примеси В (в. у. 96–98 мин).

На хроматограмме раствора модельной смеси (рисунок 6), кроме пиков основного вещества F-4, примесей А и В, присутствует пик исходного 4-нитро-3-(трифторметил)анилина (в. у. 79–80 мин), добавленного в качестве свидетеля на стадии приготовления. Пики компонентов модельной смеси в разработанных условиях были полностью разделены, эффективность разделения составила не менее $80 \cdot 10^3$ теоретических тарелок, разрешение между пиками – не менее 11.

Раствор модельной смеси проявил стабильность в процессе хранения при комнатной температуре в течение 1 месяца. Повторный его анализ показал отсутствие значимых изменений площадей пиков друг относительно друга и других хроматографических характеристик.

ВЭЖХ-УФ-анализ всех образцов I–IV субстанции F-4 не выявил наличие в них исходного 4-нитро-3-

(трифторметил)анилина, что подтверждалось и данными ЯМР.

При анализе модельного раствора методом ВЭЖХ-МС/МС с помощью ионизации электроспреем в отрицательном режиме (–ESI) для всех хроматографических пиков на масс-спектрах были получены максимально интенсивные сигналы (основные пики) величин отношения массы к заряду (m/z max), которые обычно соответствуют депротонированным, отрицательно заряженным молекулярным ионам $[\text{M}-n\text{H}]^-$, где $n = 1, 2$ (рисунок 7). В кластере с основным пиком также присутствуют менее интенсивные сигналы с массовыми числами на 1–2 больше, чем m/z max.

Для хроматографического пика целевого соединения F-4 (в. у. ~93,9 мин) на масс-спектре (рисунок 7, В) были зарегистрированы основной сигнал с m/z max 650,8 и менее интенсивные пики с m/z 651,8 (20,4%) и 652,8 (2,2%). В скобках приведены их относительные интенсивности ($I_{\text{отн.}}$) в процентах от интенсивности основного пика, принимаемой за 100%. Согласно данным спектроскопии ЯМР соединению F-4 (таблица 1) соответствует структурная формула, изображенная на рисунке 2. Его молекулярная формула (molecular formula) – $\text{C}_{16}\text{H}_4\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ и относительная молекулярная масса M_r (molecular weight) – 652,19 (таблица 2).

На рисунках 7, А, Б, Г представлены масс-спектры других компонентов модельной смеси: исходного 4-нитро-3-(трифторметил)анилина, примесей А и В. У основных пиков этих соединений m/z max 204,9,

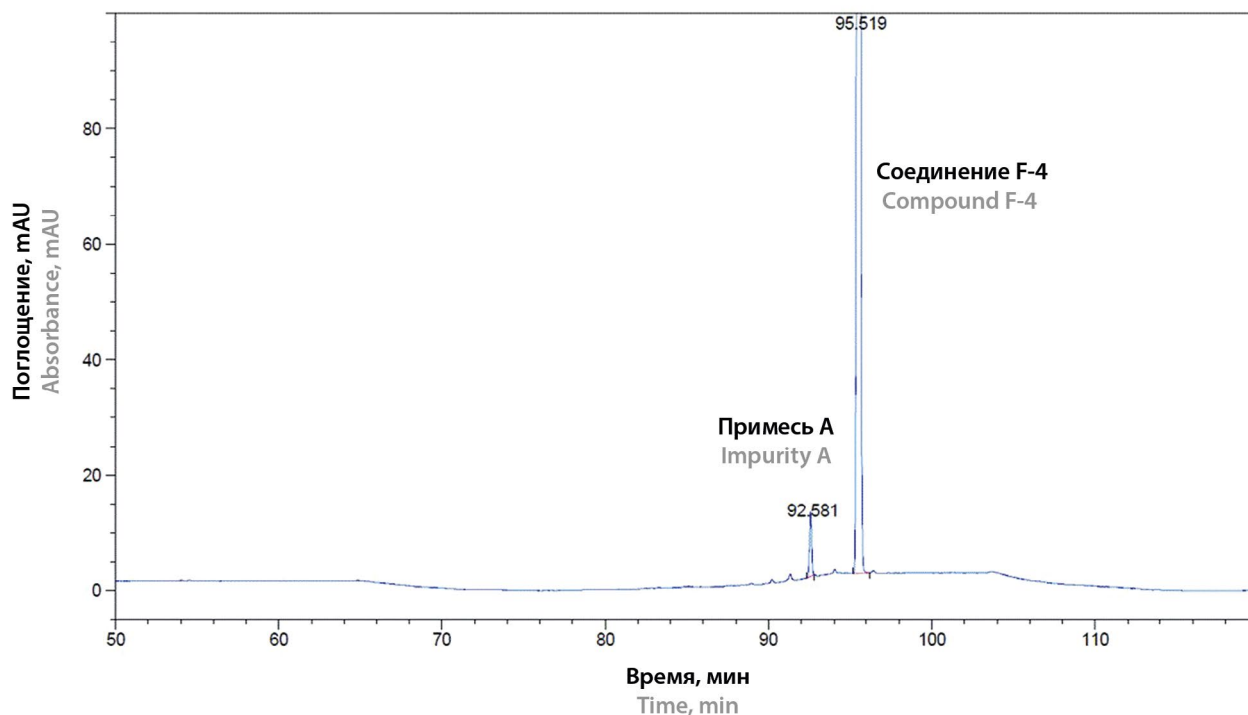


Рисунок 5. Хроматограмма субстанции F-4 (образец II)

Figure 5. Chromatogram of substance F-4 (sample II)

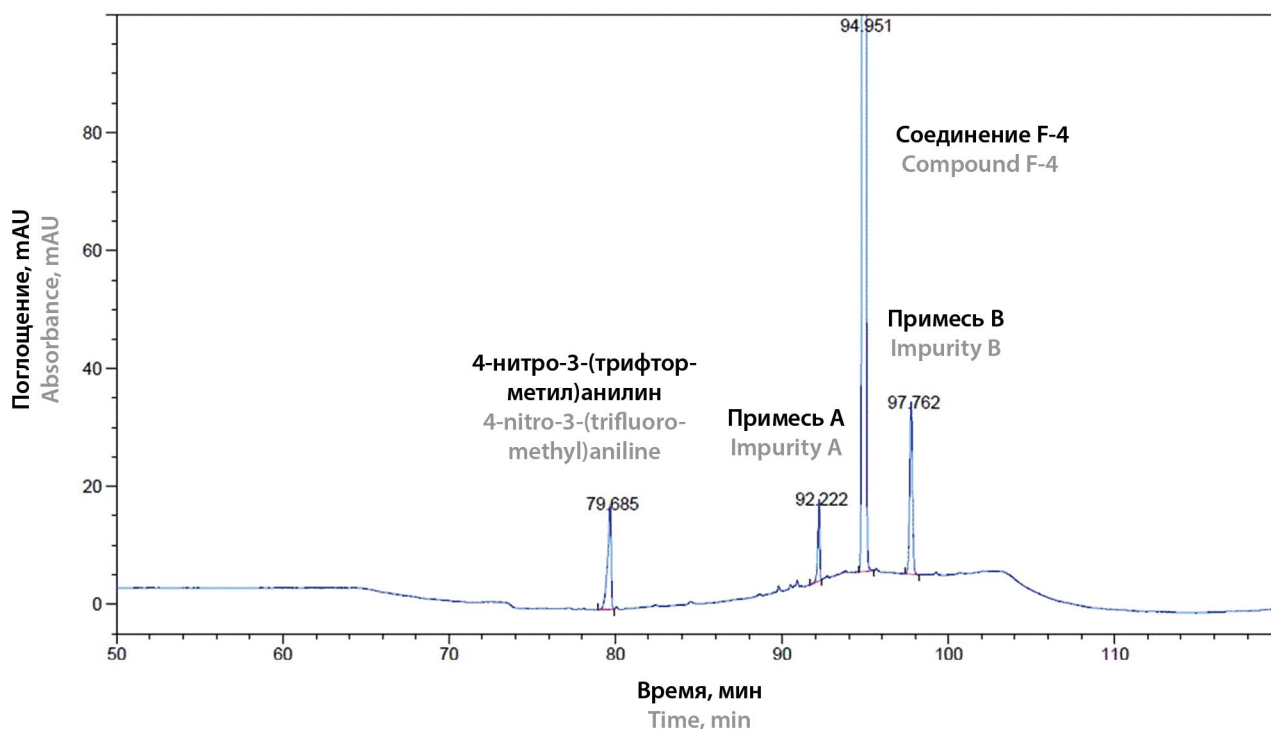


Рисунок 6. Хроматограмма модельной смеси

Figure 6. Chromatogram of a model solution

633,0 и 639,7 соответственно. В таблице 2 суммированы полученные данные: название компонента, время удерживания, величины m/z max основного пика, m/z пиков других ионов и $I_{отн.}$

По данным таблицы 2, в масс-спектре примеси В имеются два пика с m/z max 639,7 (100 %) и m/z 641,7 (33,7 %), у которых разница массовых чисел $\Delta m/z$ равна 2. Соотношение относительных интенсивностей пиков составляет $100:33,7 \approx 3,0:1$. Это свидетельствует о наличии в анализируемом веществе одного атома хлора и обусловлено соотношением $\sim 3,09:1$ природной распространенности изотопов $^{35}\text{Cl}:^{37}\text{Cl}$ [16].

Комплексный анализ результатов исследования образцов субстанции F-4 методами ^1H -, ^{19}F -ЯМР и ВЭЖХ показал, что двум обнаруженным родственным примесям А и В соответствуют структуры, представляющие собой 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-гексадекафтор-*N*-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамид (примесь А) и *N*-(3-(трифторметил)-4-хлорфенил)-2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафторнонанамид (примесь В), изображенные на рисунке 8.

¹ ОФС.1.1.0023 «Родственные примеси в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах». Государственная фармакопея РФ. XV издание. Доступно по: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-1/rodstvennye-primesi-v-farmatsevticheskikh-substantsiyakh-i-lekarstvennykh-preparatakh/?sphrase_id=997619. Ссылка активна на 06.10.2025.

Можно предположить, что источником примесей А и В в образцах субстанции F-4 являются технологические примеси, присутствующие в исходных соединениях. Действительно, в спектрах ^1H - и ^{19}F -ЯМР образца исходной перфторпеларгоновой кислоты были обнаружены сигналы примесного соединения – 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9-гексадекафторпеларгоновой кислоты $\text{CHF}_2(\text{CF}_2)_7\text{COOH}$ (^1H , δ , м.д.: 7,17 (тт, J 50,4, 5,2 Гц; CHF_2), ^{19}F , δ , м.д.: -138,64 (д, J 50,4 Гц; 2F, CHF_2), -129,01 (уш. с, 2F, CF_2), -126,91 (уш. д, J 52,45 Гц; 2F, CF_2)). Данная примесь превращается при синтезе субстанции F-4 в примесь А. Образование примеси В в субстанции F-4, наиболее вероятно, обусловлено присутствием 3-(трифторметил)-4-хлоранилина в исходном образце 4-нитро-3-(трифторметил)анилина.

В таблице 3 представлены результаты измерения количественного содержания примесей А и В в различных образцах субстанции F-4 методами спектроскопии ^1H - и ^{19}F -ЯМР. Каждый образец рассматривали как смесь 3 компонентов: собственно соединение F-4, примесь А и примесь В. При расчете относительного содержания примесей по спектрам ^1H -ЯМР измеряли интегральные интенсивности сигналов протонов концевой группы CHF_2 в алифатическом фрагменте молекулы (примесь А) и ароматических протонов в положениях 5' и 6' (примесь В) относительно интегральной интенсивности сигналов вицинальных протонов соединения F-4 (5'- H_{Ar} и 6'- H_{Ar} , см. таблицу 1). Боковые сигналы не включали в область интегрирования, $S' = 200$ (см. рисунок 4, А).

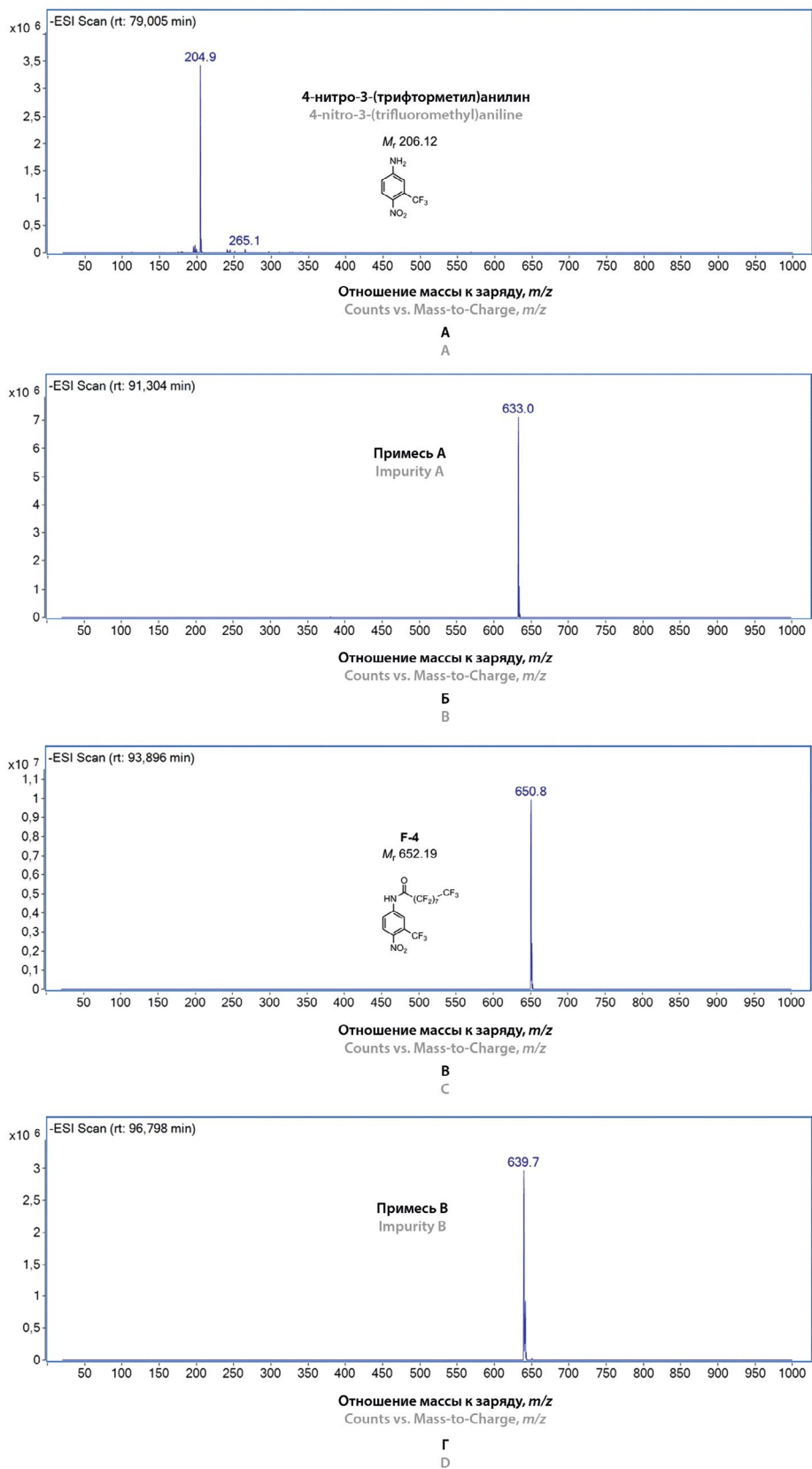


Рисунок 7. Масс-спектры компонентов модельной смеси:

А – 4-нитро-3-(трифторметил)анилина; **Б** – примеси А; **В** – соединения F-4; **Г** – примеси В

Figure 7. Mass spectra of the components of the model mixture:

A – 4-nitro-3-(trifluoromethyl)aniline; **B** – impurity A; **C** – compound F-4; **D** – impurity B

Таблица 2. Основные хроматографические и масс-спектрометрические характеристики компонентов модельной смеси по данным ВЭЖХ-МС/МС

Table 2. Main chromatographic and mass spectrometric characteristics of the components of the model mixture according to HPLC-MS/MS data

Название компонента Component name	Время удерживания, мин Retention time, min	m/z max*	m/z ($I_{отн.}$, %) ** m/z ($I_{rel.}$, %) **	Молекулярная формула Molecular formula	Относительная молекулярная масса Molecular weight
4-нитро-3-(трифторметил)анилин 4-nitro-3-(trifluoromethyl)aniline	79,0	204,9	195,8 (3,2) 197,8 (3,8) 199,7 (2,1) 206,0 (6,8)	$C_7H_5F_3N_2O_2$	206,12
Примесь А Impurity A	91,3	633,0	634,0 (14,8) 635,0 (1,6)	$C_{16}H_5F_{19}N_2O_3$	634,20
Соединение F-4 Compound F-4	93,9	650,8	651,8 (20,4) 652,8 (2,2)	$C_{16}H_4F_{20}N_2O_3$	652,19
Примесь В Impurity B	96,8	639,7	640,7 (22,3) 641,7 (33,7) 642,7 (4,9)	$C_{16}H_4ClF_{20}NO$	641,63

Примечание. * Отношение массы к заряду основного пика.

** Величина m/z других ионов, в скобках – относительная интенсивность сигнала $I_{отн.}$ (%).

Note. * Mass-to-charge ratio of the main peak.

** The m/z value of other ions, in brackets is the relative signal intensity $I_{rel.}$ (%).

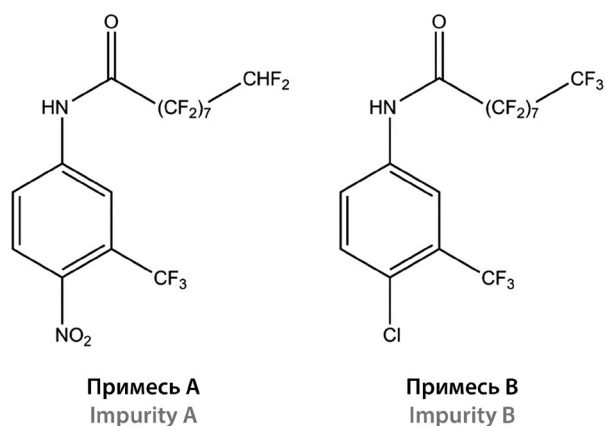


Рисунок 8. Структурные формулы примесей, обнаруженных в образцах субстанции F-4

Figure 8. Structural formulas of impurities detected in samples of substance F-4

По спектрам ^{19}F -ЯМР относительное содержание примесей А и В определяли, измеряя интегральные интенсивности сигналов ароматических групп 3'- CF_3 каждой примеси относительно аналогичного сигнала соединения F-4, $S' = 100$ (см. рисунок 4, Б). Относительные молекулярные массы всех компонентов приведены в таблице 2.

Из таблицы 3 следует, что массовые доли примесей А и В в образцах I–IV субстанции F-4, определенные двумя методами (1H - и ^{19}F -ЯМР), практически совпадают, различия между полученными средними

значениями статистически незначимы. Относительное содержание каждой примеси находится в диапазоне от 1,0 до 1,62 % масс.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного комплексного исследования методами спектроскопии ЯМР (1H , ^{13}C , ^{19}F , 1H - 1H -gCOSY, ^{19}F - ^{19}F -gCOSY, 1H - ^{13}C -gHSQC, ^{19}F - ^{13}C -gHSQC, 1H - ^{13}C -gHMBC), а также ВЭЖХ-МС/МС и ВЭЖХ-УФ было установлено следующее:

1. Соединение F-4 соответствует структуре 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафтор-N-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамид.
2. В образцах субстанции F-4 обнаружены две основные родственные примеси, структуры которых представляли 2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гексадекафтор-N-(4-нитро-3-(трифторметил)фенил)нонанамид (примесь А) и N-(3-(трифторметил)-4-хлорфенил)-2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,9,9,9-гептадекафторнонанамид (примесь В).
3. Определены спектральные характеристики, позволяющие методами 1H - и ^{19}F -ЯМР идентифицировать и количественно оценивать содержание примесей А и В в субстанции F-4. Результаты определения содержания этих примесей с помощью спектроскопии 1H - и ^{19}F -ЯМР практически совпадают, различия между полученными средними значениями статистически незначимы. Относительное содержание каждой примеси не превышало 1,7 %.

Таблица 3. Содержание примесей А и В в образцах субстанции F-4, определенное методами ¹H- и ¹⁹F-ЯМР

Table 3. The content of impurities A and B in samples of substance F-4, determined by ¹H and ¹⁹F NMR methods

Образец Sample	Примесь Impurity	Ядро Core	№ эксперимента Experiment No.	S' [*]	Массовая доля, масс. % Mass fraction, mass %	Средняя массовая доля, масс. % Average mass fraction, mass %
I	A	¹ H	1	1,48	1,418	1,40 ± 0,05 (RSD 1,36 %)
			2	1,46	1,399	
			3	1,44	1,380	
		¹⁹ F	1	1,42	1,361	1,37 ± 0,03 (RSD 0,80 %)
			2	1,44	1,380	
			3	1,44	1,380	
	B	¹ H, ¹⁹ F	Примесь В отсутствует Impurity B is absent			
II	A	¹ H	1	1,35	1,295	1,29 ± 0,04 (RSD 1,14 %)
			2	1,33	1,276	
			3	1,36	1,305	
		¹⁹ F	1	1,35	1,295	1,29 ± 0,01 (RSD 0,40 %)
			2	1,34	1,286	
			3	1,35	1,296	
	B	¹ H, ¹⁹ F	Примесь В отсутствует Impurity B is absent			
III	A	¹ H	1	1,17	1,107	1,09 ± 0,05 (RSD 2,03 %)
			2	1,14	1,108	
			3	1,13	1,069	
		¹⁹ F	1	1,15	1,088	1,08 ± 0,04 (RSD 1,51 %)
			2	1,16	1,098	
			3	1,12	1,060	
	B	¹ H	1	1,60 1,57	1,516	1,51 ± 0,03 (RSD 0,73 %)
			2	1,58 1,55	1,497	
		¹⁹ F	1	1,56	1,493	1,51 ± 0,07 (RSD 1,99 %)
			2	1,57	1,502	
3	1,62	1,549				
IV	A	¹ H	1	1,07	1,013	1,00 ± 0,02 (RSD 0,95 %)
			2	1,05	0,994	
			3	1,06	1,004	
		¹⁹ F	1	1,07	1,013	1,02 ± 0,03 (RSD 1,11 %)
			2	1,09	1,032	
			3	1,07	1,013	
	B	¹ H	1	1,68 1,67	1,602	1,60 ± 0,03 (RSD 0,79 %)
			2	1,69 1,67	1,607	
		¹⁹ F	1	1,69 1,62	1,586	1,62 ± 0,08 (RSD 2,04 %)
			2	1,67	1,597	
3	1,73	1,657				

Примечание. * S' – нормированное значение интегральной интенсивности сигнала примеси А или В.

Note. * S' – normalized value of the integral intensity of the impurity signal A or B.

ЛИТЕРАТУРА

- Мишугин С. В., Грицкевич А. А., Русаков И. Г. Эволюция изучения и клинического применения антиандрогенов в лечении распространенного рака предстательной железы. *Медицинский Совет*. 2016;(10):34–37. DOI: 10.21518/2079-701X-2016-10-34-37.
- Бухаркин Б. В., Гриднева Я. В., Митин А. А. Нестероидные антиандрогены в лечении рака предстательной железы. *Русский медицинский журнал*. 2009;17(22):1497–1499.
- Бухаркин Б. В., Аксенов А. А. Применение антиандрогенов в монорежиме при лечении рака предстательной железы. *Онкоурология*. 2005;(5):43–47.
- Носов Д. А., Волкова М. И., Гладков О. А., Карабина Е. В., Крылов В. В., Матвеев В. Б., Усычкин С. В., Митин Т. Рак предстательной железы. *Злокачественные опухоли*. 2024;14(3s2-2):242–266. DOI: 10.18027/2224-5057-2024-14-3s2-1.2-10.
- Зиганшина Л. Е., Лепяхин В. К., Петров В. И., Хабриев Р. У., ред. Большой справочник лекарственных средств. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. 3344 с.
- Sternal R., Nugara N. Flutamide. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*. Vol. 27. In: Brittain H. G., editor. Analytical profiles of drug substances. Volume 27. San Diego: Academic Press; 2001. P. 115–157.
- Ушкалова Е. А., Зырянов С. К., Гопиенко И. А. Ингибиторы андрогенных рецепторов второго поколения в терапии неметастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы: роль профиля безопасности и влияния на качество жизни. *Вопросы онкологии*. 2021;67(2):217–226. DOI: 10.37469/0507-3758-2021-67-2-217-226.
- Kandil S. B., McGuigan C., Westwell A. D. Synthesis and Biological Evaluation of Bicalutamide Analogues for the Potential Treatment of Prostate Cancer. *Molecules*. 2020;26(1):56. DOI: 10.3390/molecules26010056.
- Крюкова Л. Ю., Москалева Е. Ю., Астахов Д. В., Посыпанова Г. А., Родина А. В., Поташников П. Ф., Воронцов Е. А., Кузнецов С. Л., Крюков Л. Н., Северин С. Е. Синтез полифторсодержащих аналогов флутамида и их цитотоксическая активность. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 1998;(3):29–32.
- Катлинский А. В., Северин Е. С., Северин С. Е., Крюков Л. Н., Москалева Е. Ю., Воронцов Е. А., Смирнова З. С., Крюкова Л. Ю., Белушкина Н. Н., Кузнецов С. Л., Фельдман Н. Б., Пальцев М. А. Аналоги флутамида: синтез, биоактивность и перспективы медицинского применения. *Молекулярная медицина*. 2003;(2):60–64.
- Аляутдин Р. Н., Воронцов Е. А., Иванов А. А., Крюков Л. Н., Кузнецов С. Л., Москалева Е. Ю., Пальцев М. А., Посыпанова Г. А., Северин Е. С., Северин С. Е., Хомяков Ю. Н. 4-Нитро-3-трифторметил-перфторнонаноиланилид (флустат), способ его получения и фармацевтическая композиция на его основе. Патент РФ на изобретение № 2186057 С1 от 27.07.2002. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2186057C1/ru?oq=RU2186057C1>. Ссылка активна на 07.02.2025.
- Моисеев С. В., Крылов В. И., Мастеркова Т. В., Яшкир В. А., Бунятян Н. Д. Использование метода ЯМР-спектроскопии для подтверждения подлинности, идентификации и количественного определения посторонних примесей субстанции салициловой кислоты. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2014;(1):15–19.
- Кузьмина Н. Е., Моисеев С. В., Якупов И. Ю., Кулешова С. И. Количественное определение основных компонентов в лекарственных препаратах полимиксина В методом ЯМР-спектроскопии. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2025;15(2):206–212. DOI: 10.30895/1991-2919-2025-15-2-206-212.
- Сапон Е. С., Лугин В. Г., Совастей О. Г., Ефремова А. А., Гарипов Р. М. Применение ВЭЖХ-МС с электроспреей ионизацией для качественного анализа антибиотиков цефалоспоринового ряда. *Вестник казанского технологического университета*. 2014;17(17):136–138.
- Gottlieb H. E., Kotlyar V., Nudelman A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *The Journal of Organic Chemistry*. 1997;62(21):7512–7515. DOI: 10.1021/jo971176v.
- Зенкевич И. Г., Иоффе Б. В. Интерпретация масс-спектров органических соединений. Л.: Химия; 1986. С. 61–65.

REFERENCES

- Mishugin S.V., Gritskevich A.A., Rusakov I.G. Development and clinical effectiveness of antiandrogens in the treatment of advanced prostate cancer. *Medical Council*. 2016;(10):34–37. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2016-10-34-37.
- Bukharkin B.V., Gridneva Ya.V., Mitin A.A. Nonsteroidal antiandrogens in the treatment of prostate cancer. *Russian Medical Journal*. 2009;17(22):1497–1499. (In Russ.)
- Bukharkin B.V., Aksenov A.A. Use of antiandrogens in monotherapy in the treatment of prostate cancer. *Cancer Urology*. 2005;(3):43–47. (In Russ.)
- Nosov D.A., Volkova M.I., Gladkov O.A., Karabina E.V., Krylov V.V., Matveev V.B., Usyckin S.V., Mitin T. Prostate cancer. *Malignant tumors*. 2024;14(3s2-2):242–266. (In Russ.) DOI: 10.18027/2224-5057-2024-14-3s2-1.2-10.
- Ziganshina L. E., Lepakhin V. K., Petrov V. I., Khabriev R. U., editors. Large reference book of medicine. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. 3344 p. (In Russ.)
- Sternal R., Nugara N. Flutamide. *Analytical Profiles of Drug Substances and Excipients*. Vol. 27. In: Brittain H. G., editor. Analytical profiles of drug substances. Volume 27. San Diego: Academic Press; 2001. P. 115–157.
- Ushkalova E. A., Zyryanov S. K., Gopienko I. A. Second-generation androgen receptor inhibitors in therapy of non-metastatic castration resistant prostate cancer: role of safety profile and effect on quality of life. *Problems in Oncology*. 2021;67(2):217–226. (In Russ.) DOI: 10.37469/0507-3758-2021-67-2-217-226.
- Kandil S. B., McGuigan C., Westwell A. D. Synthesis and Biological Evaluation of Bicalutamide Analogues for the Potential Treatment of Prostate Cancer. *Molecules*. 2020;26(1):56. DOI: 10.3390/molecules26010056.
- Kryukova L. Yu., Moskaleva E. Yu., Astakhov D. V., Posypanova G. A., Rodina A. V., Potashnikov P. F., Vorontsov E. A., Kuznetsov S. L., Kryukov L. N., Severin S. E. Synthesis of polyfluorinated analogues of flutamide and their cyto-

- toxic activity. *Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical chemistry*. 1998;(3):29–32. (In Russ.)
10. Katlinskiy A. V., Severin E. S., Severin S. E., Kryukov L. N., Moskaleva E. Yu., Vorontsov E. A., Smirnova Z. S., Kryukova L. Yu., Belushkina N. N., Kuznetsov S. L., Feldman N. B., Paltsev M. A. Analogues of flutamide: synthesis, biological activity and prospects of medical application. *Molecular medicine*. 2003;(2):60–64. (In Russ.)
 11. Alyautdin R. N., Vorontsov E. A., Ivanov A. A., Kryukov L. N., Kuznetsov S. L., Moskaleva E. Yu., Paltsev M. A., Posypanova G. A., Severin E. S., Severin S. E., Khomyakov Yu. N. 4-Nitro-3-fluoromethylperfluorononanylanilide (flustat), method of its synthesis and pharmaceutical composition based on thereof. Patent RUS No. 2186057 C1 dated 27.07.2002. Available at: <https://patents.google.com/patent/RU2186057C1/en?q=RU2186057C1>. Accessed: 07.02.2024. (In Russ.)
 12. Moiseev S. V., Krylov V. I., Masterkova T. V., Yashkir V. A., Bunyatyan N. D. Nuclear magnetic resonance spectroscopy for drug identification, characterization and quantification of impurities in substance of salicylic acid. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2014;(1):15–19. (In Russ.)
 13. Kuz'mina N. E., Moiseev S. V., Yakupov I. Yu., Kuleshova S. I. Quantitative Determination of Major Active Components in Polymyxin B Medicinal Products by NMR Spectroscopy. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2025;15(2):206–212. (In Russ.). DOI: 10.30895/1991-2919-2025-15-2-206-212.
 14. Sapon E. S., Lugin V. G., Sovastey O. G., Efremova A. A., Garipov R. M. Application of electrospray ionization HPLC-MS for qualitative analysis of cephalosporin antibiotics. *Bulletin of Kazan technological university*. 2014;17(17):136–138. (In Russ.)
 15. Gottlieb H. E., Kotlyar V., Nudelman A. NMR Chemical Shifts of Common Laboratory Solvents as Trace Impurities. *The Journal of Organic Chemistry*. 1997;62(21):7512–7515. DOI: 10.1021/jo971176v.
 16. Zenkevich I. G., Ioffe B. V. Interpretation of mass spectra of organic compounds. Leningrad: Khimiya; 1986. P. 61–65. (In Russ.)