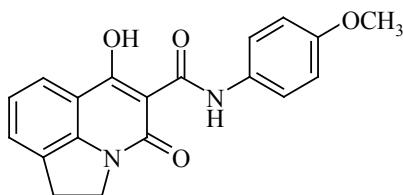


**РОЗРОБЛЕННЯ МЕТОДІВ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ТА КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ХІМОПІРОНУ**

**Ключові слова:** Хімопірон, субстанція, фармацевтичний аналіз, ідентифікація, кількісне визначення, спектроскопія

Розроблення методик якісного та кількісного визначення є одним з найважливіших етапів створення аналітично-нормативної документації (АНД) на субстанцію нової лікарської речовини. Вивчення нами раніше фармакологічних властивостей серії амідів 6-гідрокси-*N*-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамідів [1] дало змогу не тільки встановити певні закономірності взаємозв'язку між їхньою хімічною структурою та фармакологічною активністю, а й знайти практично нетоксичні сполуки з високою діуретичною дією [2, 3]. У результаті одну з таких речовин, а саме 6-гідрокси-*N*-(4-метоксифеніл)-4-оксо-1,2-дигідро-4*H*-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-5-карбоксамід, з умовною назвою Хімопірон (I), рекомендовано як потенційний діуретичний засіб нового хімічного класу.



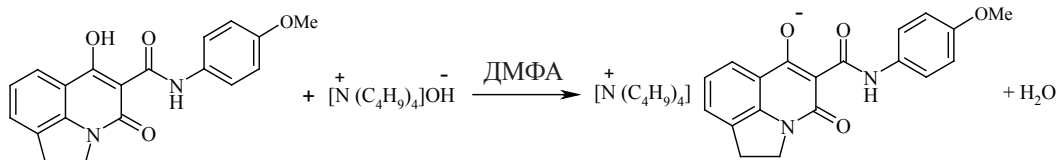
**Хімопірон**

**Мета** цієї роботи – розроблення методик контролю якості субстанції (I) для складання аналітично-нормативної документації та здійснення стандартизації відповідно до існуючих сучасних вимог щодо розробки методик аналізу лікарських сполук, які необхідні для впровадження лікарських засобів у медичну практику.

**Матеріали та методи дослідження**

Досліди виконано з використанням хроматографічно чистого зразка субстанції (I) (вміст домішок 0,5%). У роботі застосовували мірний посуд класу А, реактиви, які відповідають вимогам Державної фармакопеї України (ДФУ), аналітичні ваги AXIS. ІЧ-спектр (I) записано з використанням Фур'є-спектрометра Bruker Tensor 27 в області від 4 000 до 400 см<sup>-1</sup>. ЯМР <sup>1</sup>H-спектр зареєстровано на спектрометрі Varian Mercury-400 (400 МГц) для зразка (I) в розчині ДМСО-*d*<sub>6</sub>, внутрішній стандарт ТМС.

Обираючи метод кількісного визначення, враховано наявність кислого фенольного протона в молекулі субстанції (I), який виявляє властивості слабой кислоти. Це дає змогу визначати кількісний вміст (I) методом кислотно-основного титрування у неводному середовищі. Як розчинник запропоновано диметилформамід, в якому наважка субстанції добре розчиняється, титрантом слугував розчин тетрабутиламонію гідроксид (схема):



## Результати дослідження та обговорення

За фізичними властивостями (I) являє собою кристалічний порошок світло-жовтого кольору без запаху і смаку, практично нерозчинний у воді та етанолі, розчинний у диметилформаміді (ДМФА), диметилсульфоксиді (ДМСО), мало розчинний у хлороформі, помірно розчинний у метиленхлориді. Для визначення розчинності використовували стандартні фармакопейні методики [1, 4].

Аналіз хімічної будови (I) свідчить, що для його ідентифікації запропоновано сукупність спектральних методів, які повною мірою дають змогу встановити та підтвердити природу речовини. Оскільки спектроскопія ЯМР  $^1\text{H}$  дає досить повну інформацію про будову досліджуваної субстанції (I), здійснено аналіз відповідного спектра (рис. 1).

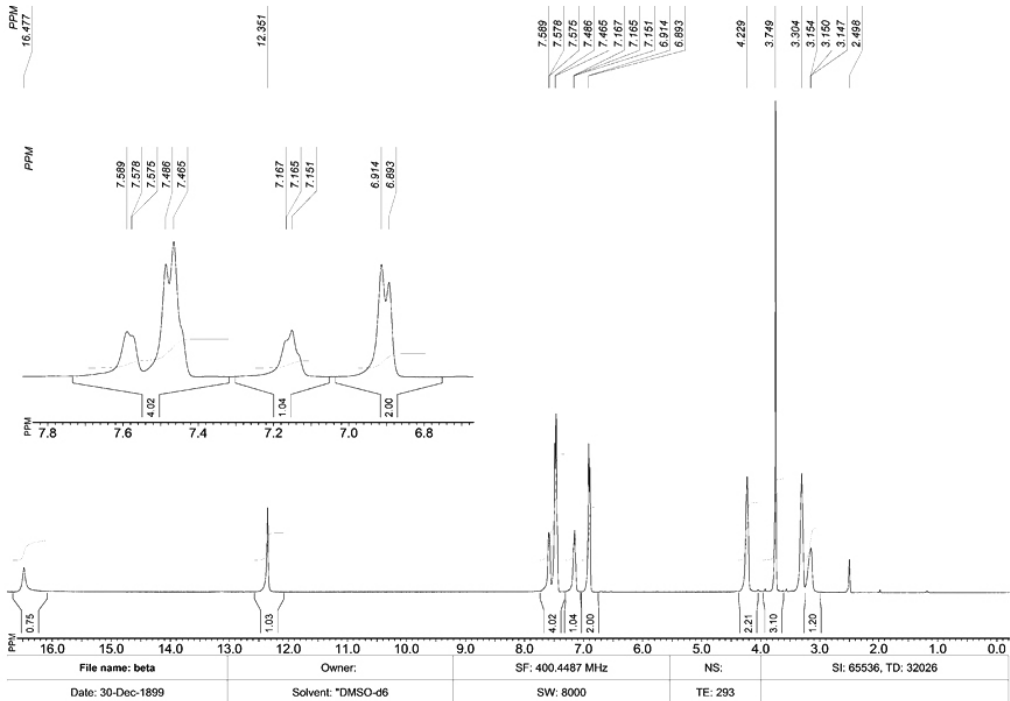


Рис. 1. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  субстанції (I)

Характеристичні хімічні зсуви, інтегральна інтенсивність та мультиплетність сигналів протонів усіх функціональних груп цієї сполуки дають можливість надійно ідентифікувати ароматичні протони хінолонового ядра (7.73, 1H, д, Н-9; 7.44, 1H, д, Н-7; 7.18, 1H, д, Н-8) та *para*-заміщеного анізидинового фрагмента (7.57, 2H, д, Н-2',6'; 6.85, 1H, д, Н-3',5'). Протони CONH- та 4-OH-груп проявляються синглетами і резонують у слабому полі – 12.40 та 16.73 м. ч. відповідно. Метиленові ланки пірольного циклу дають два окремі триплетні сигнали при 4.38 (5- $\text{CH}_2$ ) та 3.44 (6- $\text{CH}_2$ ) м. ч. із досить близькими величинами констант спин-спінової взаємодії (8.2 і 8.1 Гц відповідно). Магнітно еквівалентні протони метоксигрупи дають один спільний синглет інтенсивністю 3H при 3.79 м. ч. [5].

ДФУ рекомендує для ідентифікації сполук органічної природи використовувати метод інфрачервоної спектроскопії [6].

Враховуючи, що поглинання речовини в ІЧ-області дає змогу виявити окремі структурні фрагменти та функціональні групи, для зразка (I) (попередньо висушеного до сталої маси), було одержано ІЧ-спектр (рис. 2.).

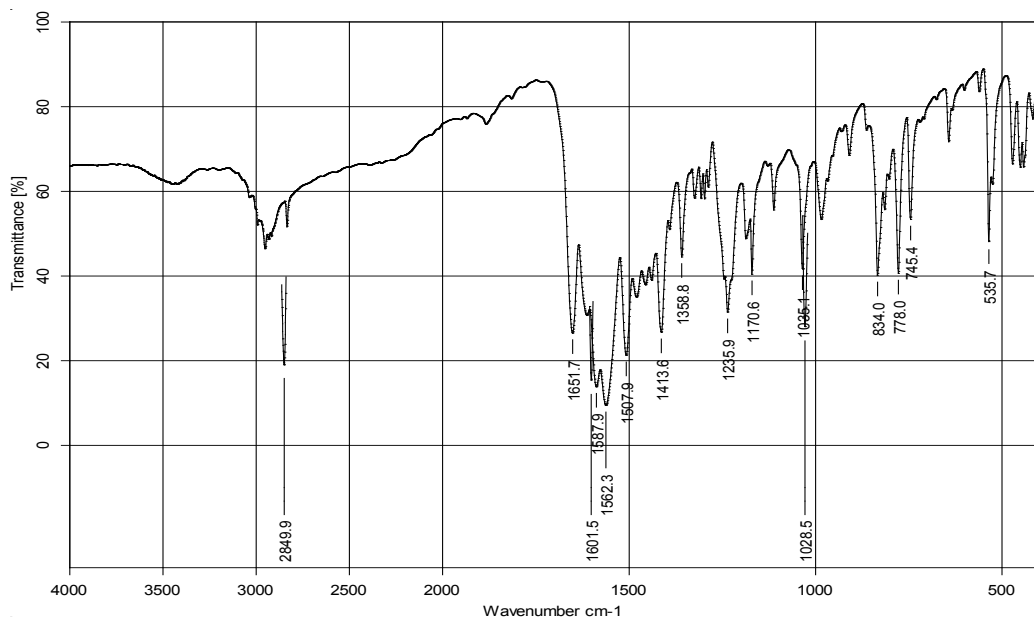


Рис. 2. ІЧ-спектр субстанції (I)

У спектрі очікувано спостерігали характеристичні смуги поглинання, які підтверджують наявність піролохінолінового ядра, амідної групи та метильних груп [7].

Смуга поглинання сильної інтенсивності в області  $1\,601,5\text{ см}^{-1}$  відповідає валентним коливанням амідної групи. Відповідно до загальноприйнятих принципів інтерпретації ІЧ-спектрів при  $2\,849,9\text{ см}^{-1}$  спостерігали симетричні валентні коливання метоксигрупи ароматичного радикала. На ділянці при  $1\,028,5\text{ см}^{-1}$  спостерігали смуги середньої інтенсивності, що відповідають деформаційним коливанням піролохінолінового фрагмента. Смуги поглинання скелета органічної молекули (зв'язки C-C, C-N) виявляються в області  $1\,366,8\text{ см}^{-1}$  у вигляді симетричних коливань, що традиційно мають назву «відбитків пальців» та найбільш широко використовуються для ідентифікації сполук [8].

Досліджуваний розчин для кількісного визначення готували таким чином: точну наважку (близько 0,25 г) субстанції розчиняли у 40 мл ДМФА (із застосуванням ультразвукової бані, підігрітої до температури 40–50 °С), охолоджували та титрували 0,1 М розчином тетрабутиламонію гідроксиду в 2-пропанолі потенціометрично [6]. Паралельно здійснювали контрольний дослід. 1 мл 0,1 М розчину тетрабутиламонію гідроксиду в 2-пропанолі відповідає 0,033635 г  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$ .

Вміст  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$ , у перерахунку на суху речовину, у %, визначали за формулою:

$$X, \% = \frac{K \cdot (V_1 - V_0) \cdot 0.033635 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)} \times 100\% = \frac{K \cdot (V_1 - V_0) \cdot 336.35}{m \cdot (100 - W)},$$

де  $V_0$  – об'єм 0,1 М розчину тетрабутиламонію гідроксиду в 2-пропанолі, який витрачається на титрування в контрольному досліді, мл;

$V_1$  – об'єм 0,1 М розчину тетрабутиламонію гідроксиду в 2-пропанолі, який витрачається на титрування субстанції, мл;

$K$  – поправочний коефіцієнт до молярності розчину тетрабутиламонію гідроксиду в 2-пропанолі;

$m$  – маса наважки субстанції, г;

$W$  – втрата у масі під час висушування субстанції, %.

Криву потенціометричного титрування зразка субстанції (I) та її першу похідну наведено на рис. 3. Як видно, крива має різкий та глибокий скачок потенціалу (близько 300 мВ), що дає змогу однозначно визначити точку перегибу.

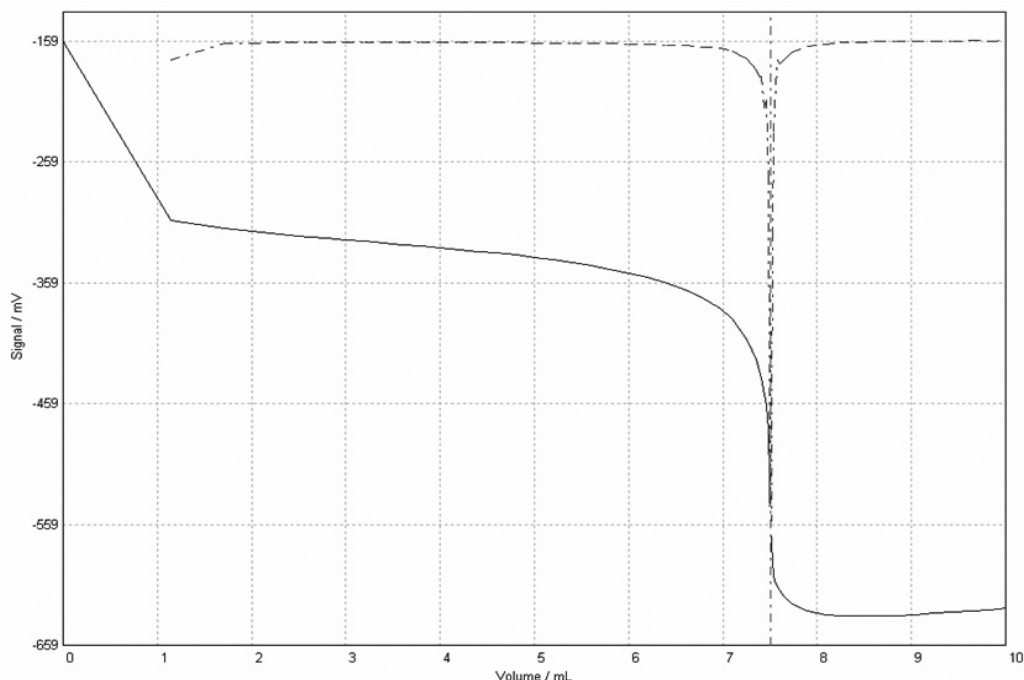


Рис. 3. Крива потенціометричного титрування субстанції (I)

Для виключення додаткових помилок, стандартизацію титрованого розчину та кількісне визначення здійснювали в одних і тих самих умовах. Виходячи з одержаних результатів кількісного визначення, встановлено межі кількісного вмісту основної речовини в субстанції (I) – 99,5% і 100,5% (таблиця).

Т а б л и ц я

**Результати кислотно-основного визначення субстанції (I)**

№ з/п	Наважка, г	$V_1$ + [N(C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> ) <sub>4</sub> ]OH, мл	$V_0$ , мл	$K$	Вміст, %
1	0,2495	7,60	0,2	1,0000	99,77
2	0,2500	7,59	0,2	1,0000	99,52
3	0,2517	7,68	0,2	1,0000	100,03
4	0,2461	7,50	0,2	1,0000	99,89
5	0,2542	7,76	0,2	1,0000	100,12
6	0,2601	7,97	0,2	1,0000	100,50

**В и с н о в к и**

1. Розроблено фізико-хімічні методи ідентифікації субстанції (I), які будуть включені в методики контролю якості на цю речовину з подальшим використанням у фармацевтичному аналізі.

2. Експериментально підтверджено, що кількісний вміст основної речовини в субстанції (I) можна визначати методом кислотно-основного титрування у неводному середовищі.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Ukrainets I. V., Mospanova E. V., Bereznyakova N. L. et al.* Synthesis and the study of regularities of «structure – biological activity» relationship of 1-hydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-3H-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-2-carboxylic acid anilides // *Chem. Heterocycl. Comp.* – 2007. – V. 43, N 12. – P. 1532–1539.
2. *Березнякова Н. Л., Моспанова О. В., Українець І. В. и др.* Синтез, діуретична та протизапальна активність арилалкіламідів 1-гідрокси-3-оксо-5,6-дигідро-3H-піроло[3,2,1-*ij*]хінолін-2-карбонової кислоти // *Журн. орган. та фармац. хімії.* – 2007. – Т. 5, Вип. 4 (20). – С. 49–53.
3. *Машковский М. Д.* Лекарственные средства. 15-е изд. – М.: РИА «Новая волна», Издатель Умеренков, 2009. – С. 873–897.
4. Державна фармакопея України. 1-е вид. Доп. 1 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 187–192.
5. *Дероум Э.* Современные методы ЯМР для химических исследований: Пер. с англ. – М.: Мир, 1992. – 403 с.
6. Державна фармакопея України. 1-е вид. / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Харків: РІРЕГ, 2001. – С. 30–32.
7. Державна фармакопея України. 1-е вид. Доп. 2 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – Харків: РІРЕГ, 2001. – 520 с.
8. *Наканиси К.* Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир, 1965. – 216 с.

Надійшла до редакції 11. 07. 2014.

*Н. Л. Березнякова*

*Национальный фармацевтический университет, г. Харьков*

## РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХИМОПИРОНА

**Ключевые слова:** Химопирон, субстанция, фармацевтический анализ, идентификация, количественное определение, спектроскопия

## АННОТАЦИЯ

Для внедрения лекарственных средств в медицинскую практику необходимо иметь разработанные методики контроля их качества для составления аналитически-нормативной документации в соответствии с существующими современными требованиями.

Целью работы являлась разработка методов идентификации и количественного определения субстанции Химопирон.

В качестве объекта исследования использовался хроматографически чистый образец субстанции.

Идентификацию исследуемого вещества осуществляли с помощью физико-химических (ЯМР <sup>1</sup>H и ИК-спектроскопия) методов, которые дают полную информацию о химической природе вещества. Для количественного определения субстанции Химопирон предложен метод кислотно-основного титрования в неводной среде. Для исключения дополнительных ошибок стандартизацию титрованного раствора и количественное определение проводили в одинаковых условиях.

Из полученных результатов количественного определения установлены пределы количественного содержания основного вещества в субстанции Химопирон – 99,5–100,5%.

DEVELOPMENT OF METHODS FOR IDENTIFICATION AND ASSAY OF HIMOPIRON

**Key words:** Himopiron, substance, pharmaceutical analysis, identification, quantitative determination, spectroscopy

ABSTRACT

For medicines implementation to medical practice, their quality-control techniques developed are required to produce analytical and regulative documentation in accordance with existing current demands.

The aim of the study was the development of methods of identification and quantitative estimation techniques for substances Himopiron.

As the object of the investigation chromatographically pure sample of substance.

Identification of the examined substance was carried out by physical and chemical (NMR <sup>1</sup>H and IR-spectroscopy) methods which let to get full information on the chemical nature of the substance. For quantitative evaluation of the substance Himopiron, the technique of the acid-based titration of the substance was proposed in the non-water medium. To prevent additional errors, standardization of the solution titrated and quantitative measurement are conducted in the same conditions.

Based on the quantitation results obtained, the limits for the main compound's quantity in the substance were defined Himopiron – 99,5–100,5%.

*Електронна адреса для листування з авторами: talaber@mail.ru*