

Рекомендована д.х.н., професором С.М.Коваленком

УДК 615.281:543.241:547.831.062

РОЗРОБКА МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ 2-ДІЕТИЛАМИНОЕТИЛАМІДУ 2-ГІДРОКСИ-9-МЕТИЛ- 4-ОКСО-4Н-ПІРИДО[1,2-*a*]ПІРИМІДИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ

Н.Л.Березнякова, Л.О.Петрушова, І.В.Українець,
Г.П.Петюнін, Т.В.Алексєєва

Національний фармацевтичний університет
Харківська медична академія післядипломної освіти

Проведено порівняльний аналіз декількох методів визначення кількісного вмісту основної речовини в субстанції 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти. Показано, що при підготовці аналітичної нормативної документації на зазначений протигерпесний засіб найбільш раціональним є ацидиметричне титрування у водному середовищі.

Розробка методики кількісного визначення є одним з важливих етапів створення аналітичної нормативної документації на субстанцію нової лікарської речовини. Проведене нами раніше вивчення фармакологічних властивостей великої серії амідованих похідних 2-гідрокси-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонових кислот [9, 10] дало змогу не тільки виявити певні закономірності взаємозв'язку між їх структурою та біологічною дією, а й знайти практично нетоксичні сполуки з високою протигерпесною дією, здатні проявляти виражені лікувальні властивості як у дослідах *in vitro*, так і *in vivo* [1]. В результаті одну з таких речовин, а саме 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) рекомендовано як потенційний протигерпесний засіб нового хімічного класу [4].

Аналіз хімічної будови даної сполуки показує, що для її кількісного визначення, принаймні теоретично, можна застосувати декілька методів (схема 1). Так, зокрема, наявність в її структурі енольного гідроксилу, який проявляє властивості слабкої кислоти, дає змогу кількісний вміст аміду 1 визначати методом алкаліметричного титрування у неводному середовищі, який уже неодноразово був з успіхом використаний при вирішенні аналогічних задач для близьких за структурою N-R-амідів 1-R-4-гідрокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-

3-карбонової кислоти [5-8]. Як розчинник у даному випадку використано диметилформамід, в якому 2-діетиламіноетиламід 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) добре розчиняється, титрантом служив розчин натрію гідроксиду в суміші метанолу з бензolem, індикатором — тимоловий синій (титрують від жовтого забарвлення до синього).

З іншого боку, присутня в структурі 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) третинна аміногрупа дозволяє кількісний вміст визначати також і методом ацидиметричного титрування, причому її виражені основні властивості дають змогу проводити експеримент як у водному, так і в неводному середовищі (льодяні оцтова кислота). У тих випадках, коли титранти були використані водний розчин кислоти хлористоводневої або розчин кислоти хлорної в льодяній оцтовій кислоті відповідно, кінцеву точку титрування визначали потенціометрично за допомогою стаціонарного pH-метра SevenEasy S-20-K Mettler Toledo з використанням комбінованого електроду InLab 413.

Порівняння метрологічних характеристик, розрахованих та статистично оброблених за загальноприйнятими методиками [3], показало, що в принципі всі три випробувані нами методи можуть бути використані для визначення кількісного вмісту 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) (табл. 1). Разом з тим, перевагу, очевидно, слід надати ацидиметричному титруванню у водному середовищі. На користь same цього методу свідчать не тільки зручність його практичного здійснення, а й відсутність токсичних розчинників та просте виготовлення титранту.

Експериментальна частина

Методика кількісного визначення 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) методом

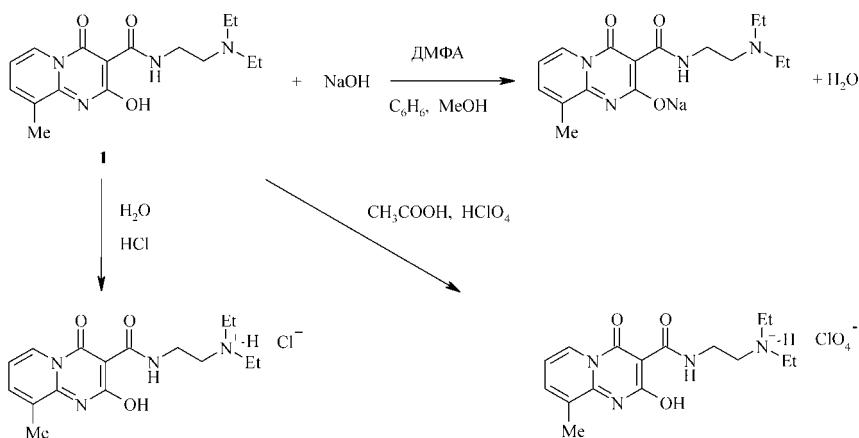


Схема 1

алкаліметричного титрування у неводному середовищі. Близько 0,1 г (точна наважка) аміду **1** розчиняють у 20 мл диметилформаміду, попередньо нейтралізованого за тимоловим синім, і титрують з тим же індикатором 0,1 М розчином NaOH у суміші метилового спирту та бензолу до синього забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід; 1 мл 0,1 М розчину NaOH відповідає 0,03183 г 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]-піримідин-3-карбонової кислоти (**1**), якого в субстанції повинно бути не менше 99,0% і не більше 101,0%. Розрахунок кількісного вмісту у відсотках проводять за формулою:

$$x_{\%} = \frac{(V_{\text{o.d.}} \cdot V_{\text{k.d.}}) \cdot K \cdot T \cdot 100}{m_H}, \quad T = \frac{C_m \text{NaOH} \cdot s \cdot M_m}{1000},$$

де: $V_{\text{o.d.}}$ і $V_{\text{k.d.}}$ — об'єми 0,1 М розчину NaOH , витрачені на титрування аміду **1** в основному та контролюному дослідах відповідно, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину NaOH ; T — титр 0,1 М розчину NaOH за амідом **1**, г/мл; m — маса наважки аміду **1**, г; C_m — молярна концентрація розчину NaOH , моль/л; s — стехіометричне відношення коефіцієнтів ($s = 1$); M_m — молекулярна маса аміду **1**, г/моль.

Метрологічні характеристики різних методів кількісного визначення 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido-[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1**)**

Алкаліметричне титрування в середовищі неводного розчинника			Ацидиметричне титрування у водному середовищі			Ацидиметричне титрування в середовищі неводного розчинника		
наважка, г	знайдено, %	метрологічні характеристики	наважка, г	знайдено, %	метрологічні характеристики	наважка, г	знайдено, %	метрологічні характеристики
0,0989	100,45	$\bar{x} = 99,73$ $S = 0,8000$ $S_x = 0,327$ $\Delta x = 0,34$ $\varepsilon = 0,34\%$	0,1005	100,08	$\bar{x} = 100,16$ $S = 0,4663$ $S_x = 0,1903$ $\Delta x = 0,20$ $\varepsilon = 0,20\%$	0,1233	99,13	$\bar{x} = 100,1$ $S = 0,6310$ $S_x = 0,256$ $\Delta x = 0,66$ $\varepsilon = 0,66\%$
0,0997	99,32		0,1004	100,20		0,1218	100,35	
0,1002	99,78		0,1012	99,40		0,1214	100,68	
0,1009	99,09		0,1001	100,48		0,1213	100,76	
0,1015	100,38		0,1006	99,98		0,1226	99,70	
0,1018	99,46		0,0998	100,80		0,1223	99,96	

\bar{x} — середнє значення; S — стандартне відхилення; S_x — стандартне відхилення середнього результату; Δx — напівширина довірчого інтервалу середнього результату; ε — відносна невизначеність середнього результату.

Методика кількісного визначення аміду **1 методом ацидиметричного титрування у водному середовищі.** Близько 0,1 г (точну наважку) аміду **1** змочують невеликою кількістю етанолу, потім розчиняють у 30 мл води і титрують 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої потенціометрично [2], причому 1 мл цього розчину кислоти хлористоводневої відповідає 0,03183 г 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (**1**). Об'єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої в точці еквівалентності визначають розрахунковим шляхом [2] за максимальним значенням $\Delta E/\Delta V$ і відповідно за $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, як зазначено у табл. 2.

Еквівалентний об'єм титранту ($V_{\text{екв.}}$) обчислюють за формулою:

$$V_{\text{екв.}} = V_1 + (V_2 - V_1) \frac{A_{V_1}}{A_{V_1} - A_{V_2}}, \quad (1)$$

де: V_1 — об'єм титранту відповідно до останнього позитивного значення A_V , мл; V_2 — об'єм титранту, що відповідає першому негативному значенню A_V , мл; $A_V = \Delta(\Delta E/\Delta V)$ — приrostи величин $\Delta E/\Delta V$ (при проходженні через точку еквівалентності A_V змінює знак на протилежний).

Таблиця 1

Таблиця 2

Результати потенціометричного титрування 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido-[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) методом ацидиметрії у водному та неводному середовищі

Ацидиметричне титрування у водному середовищі						Ацидиметричне титрування в середовищі неводного розчинника					
V, мл	ΔV	E, Mb	ΔE	ΔE/ΔV	Av = Δ(ΔE/ΔV)	V, мл	ΔV	E, Mb	ΔE	ΔE/ΔV	Av = Δ(ΔE/ΔV)
2.7		30				3.4		462			
	0.1		7	70			0.1		11	110	
2.8		37			+20	3.5		473			+30
	0.1		9	90			0.1		14	140	
2.9		46			+40	3.6		487			+40
	0.1		12	120			0.1		18	180	
3.0		58			+140	3.7		505			+50
	0.1		26	260			0.1		23	230	
3.1		84			+370	3.8		528			+70
	0.1		63	630			0.1		30	300	
3.2		147			-270	3.9		558			-100
	0.1		36	360			0.1		20	200	
3.3		183			-230	4.0		578			-80
	0.1		13	130			0.1		12	120	
3.4		196			-50	4.1		590			-70
	0.1		8	80			0.1		5	50	
3.5		204				4.2		595			-40
$V_{екв.} = 3.10 + (3.20 - 3.10) \frac{+370}{+370 - (-270)} = 3.16 \text{ мл}$						$V_{екв.} = 3.80 + (3.90 - 3.80) \frac{+70}{+70 - (-100)} = 3.84 \text{ мл}$					

Розрахунок кількісного вмісту 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido-[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) у відсотках проводять за формулою:

$$x\% = \frac{V_{HCl} \cdot K \cdot T \cdot 100}{m_n}, \quad T = \frac{Cm_{HCl} \cdot s \cdot Mm}{1000},$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, витрачений на титрування наважки аміду 1, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої; T — титр 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої за амідом 1, г/мл; m — маса наважки аміду 1, г; Cm — молярна концентрація розчину кислоти хлористоводневої, моль/л; s — стехіометричне відношення коефіцієнтів ($s=1$); Mm — молекулярна маса аміду 1, г/моль.

Методика кількісного визначення аміду 1 методом ацидиметричного титрування у неводному середовищі. Близько 0,12 г (точна наважка) аміду 1 розчиняють у 20 мл льодяної оцтової кислоти і титують потенціометрично 0,1 М розчином кисло-

ти хлорної [2], 1 мл розчину якої відповідає 0,03183 г 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido-[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1). Об'єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої в точці еквівалентності визначають розрахунковим шляхом [2] за максимальним значенням $\Delta E/\Delta V$ і відповідно за $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, як зазначено у табл. 2.

Еквівалентний об'єм титранту ($V_{екв.}$) обчислюють за формулою (1).

Розрахунок кількісного вмісту 2-діетиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4Н-піrido-[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти (1) у відсотках проводять за формулою:

$$x\% = \frac{V_{HClO_4} \cdot K \cdot T \cdot 100}{m_n}, \quad T = \frac{Cm_{HClO_4} \cdot s \cdot Mm}{1000},$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину кислоти хлорної, витрачений на титрування наважки аміду 1, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину кислоти хлорної; T — титр 0,1 М розчину

кислоти хлорної за амідом **1**, г/мл; *m* — маса наважки аміду **1**, г; *C_m* — молярна концентрація розчину кислоти хлорної, моль/л; *S* — стехіометричне відношення коефіцієнтів (*s* = 1); *M_m* — молекулярна маса аміду **1**, г/моль.

ВИСНОВКИ

1. Експериментально підтверджено, що кількісний вміст основної речовини в субстанції 2-ді-

етиламіноетиламіду 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4*H*-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти можна визначати різними методами: алкаліметрично у неводному середовищі або ацидиметрично у водному чи неводному середовищі.

2. Порівняльний аналіз показав, що найбільш доцільним з усіх розглянутих методів є ацидиметричне титрування у водному середовищі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Березнякова Н.Л., Українець І.В., Тугайбей І.А., Горохова О.В. // Медична хімія. — 2009. — Т. 11, №2. — С. 57-60.
2. Державна фармакопея України. 1-е вид. / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — Х.: PIPEГ, 2001. — С. 30-32.
3. Державна фармакопея України. 1-е вид. Доп. I / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — Х.: PIPEГ, 2001. — С. 187-192.
4. Пат. 86481 Україна, МПК С 07 D 471/04, A 61 K 31/505. Діетиламіноетиламід 2-гідрокси-9-метил-4-оксо-4*H*-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоти, який виявляє активність відносно вірусу простого герпесу / І.В.Українець, Н.Л.Березнякова, І.А.Тугайбей. — №а200707153. — Заявл.: 25.09.2007. Опубл.: 27.04.2009. — Бюл. №8.
5. Abdel Naser Dakkah. Synthesis, structure and antituberculosis activity of fluorosubstituted amides of 1-R-2-oxo-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acids: Dissertations of Candidate's Degree in Pharmacy. — Kharkov, 2002. — 129 p.
6. Golovchenko O.S. Synthesis and antimycobacterial properties of 1-R-4-hydroxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acids benzylidenehydrazides: Dissertations of Candidate's Degree in Pharmacy. — Kharkiv, 2008. — 134 p.
7. Kolisnyk O.V. Synthesis, physical, chemical and biological properties of 4-hydroxy-2-oxo-1,2,5,6,7,8-hexahydroquinoline-3-carboxylic acids amidation derivatives: Dissertations of Candidate's Degree in Pharmacy. — Kharkiv, 2009. — 155 p.
8. Petrushova L.A. Synthesis, chemical and biological properties of 1-R-2-oxo-4-hydroxyquinoline-3-carboxylic acids thiazol-2-yl amides: Dissertations of Candidate's Degree in Pharmacy. — Kharkiv, 2006. — 121 p.
9. Ukrainets I.V., Bereznjakova N.L., Tugaibei I.A. // Chem. Heterocycl. Comp. — 2008. — Vol. 44, №1. — P. 50-63.
10. Ukrainets I.V., Tugaibei I.A., Bereznjakova N.L. et al. // Chem. Heterocycl. Comp. — 2008. — Vol. 44, №5. — P. 565-575.

УДК 615.281:543.241:547.831.062

РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ 2-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛАМИДА 2-ГИДРОКСИ-9-МЕТИЛ-4-ОКСО-4*H*-ПІРІДО[1,2-*a*]ПІРІМІДИН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТЫ

Н.Л.Березнякова, Л.А.Петрушова, І.В.Українець, Г.П.Петюнін, Т.В.Алексеєва

Проведен сравнительный анализ нескольких методов определения количественного содержания основного вещества в субстанции 2-диэтиламиноэтамида 2-гидрокси-9-метил-4-оксо-4*H*-піrido[1,2-*a*]піримідин-3-карбонової кислоты. Показано, что при подготовке аналитической нормативной документации на указанное противогерпесное средство наиболее рациональным является ацидиметрическое титрование в водной среде.

UDC 615.281:543.241:547.831.062

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF 2-HYDROXY-9-METHYL-4-OXO-4*H*-PYRIDO[1,2-*a*]PYRIMIDINE-3-CARBOXYLIC ACID 2-DIETHYLAMINOETHYLAMIDE

N.L.Bereznjakova, L.A.Petrushova, I.V.Ukrainets, G.P.Petyunin, T.V.Alexeeva

The comparative analysis of several methods of the assay for the main compound in the substance of 2-hydroxy-9-methyl-4-oxo-4*H*-pyrido[1,2-*a*]pyrimidine-3-carboxylic acid 2-diethylaminoethylamide has been carried out. It has been shown that while preparing the analytical normative documentation for the anti-herpes substance acidimetric titration in the aqueous medium is the most rational one.