

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

УДК 543.062:543.24:547-327:547.831.7:547.831.8:547.831.9

РОЗРОБКА МЕТОДУ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ГІДРОХЛОРИДУ 3-МОРФОЛІН-4-ІЛПРОПІЛАМІДУ 1-АЛІЛ-4-ГІДРОКСИ-6,7-ДИМЕТОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГІДРОХІНОЛІН-3-КАРБОНОВОЇ КИСЛОТИ

Л.В.Сидоренко, І.В.Українець, Т.В.Алексєєва

Національний фармацевтичний університет

Проведено порівняльний аналіз декількох методів визначення кількісного вмісту основної речовини в субстанції гідрохлорид 3-морфолін-4-ілпропіламіду 1-аліл-4-гідрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонОВОЇ кислоти. Показано, що при підготовці аналітичної нормативної документації на зазначену субстанцію, яка виявляє властивості антагоністів опіюїдних рецепторів, найбільш раціональними з них є ацидиметрія в неводному середовищі та алкаліметрія у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої. Однак перевагу все ж таки слід надати алкаліметричному титруванню, на користь якого свідчать простота виконання експерименту, доступність і низька токсичність розчинника.

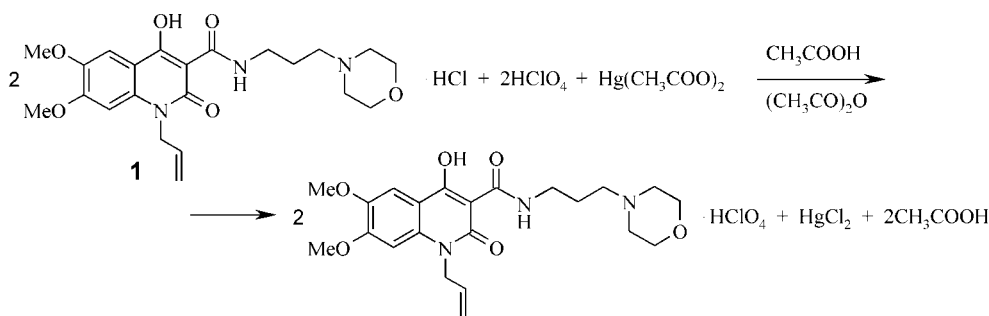
Одним з важливих етапів створення аналітичної нормативної документації на субстанцію нової лікарської речовини є розробка методики її кількісного визначення. Фармакологічні дослідження гідрохлоридів [(алкіламіно/гетерил)алкіл]амідів 1-аліл-4-гідрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонОВОЇ кислоти показали перспективи створення на їх основі високоефективних антагоністів опіюїдних рецепторів [3, 4], які останнім часом стали основними засобами боротьби з такими соціально небезпечними явищами як опійна наркоманія та алкоголізм [5-13]. У результаті одну з таких речовин, а саме гідрохлорид 3-морфолін-4-ілпропіламіду 1-аліл-4-гідрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонОВОЇ кислоти (**1**) рекомендовано до поглибленого вивчення як потенційний антагоніст опіюїдних рецепторів нового хімічного класу [3].

Аналіз хімічної будови даної сполуки показує, що для її кількісного визначення, принаймні теоретично, можна застосувати декілька методів (схема). Так, зокрема, наявність в її структурі третинного атома азоту алкіламідного залишку дає змогу кількісний вміст амідів **1**, як і більшості солей

азотовмісних основ, визначати методом ацидиметричного титрування в неводному середовищі. Основна перевага цього методу полягає у тому, що речовину кількісно визначають за фізіологічно активною частиною молекули. Як розчинник у даному випадку використовується безводна оцтова кислота та оцтовий ангідрид, в яких зростає ступінь іонізації азотовмісної основи, титрантом служив розчин кислоти хлорної в безводній оцтій кислоті, титрування проводили у присутності ртуті (II) ацетату для зв'язування хлороводню у сполуку, що мало дисоціює. Кінцеву точку титрування визначали потенціометрично за допомогою стаціонарного рН-метра SevenEasy S-20-K Mettler Toledo з використанням комбінованого електроду InLab 413.

З іншого боку, присутня в структурі амідів **1** зв'язана хлористоводнева кислота дозволяє кількісний вміст визначати також і методами алкаліметричного та аргентометричного титрування, які широко застосовуються для кількісного визначення галогеноводневих солей азотовмісних основ. Алкаліметричне титрування проводили у двох варіантах: у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої та у водному середовищі в присутності суміші органічних розчинників (спирт і хлороформ). Органічні розчинники використовуються для пригнічення дисоціації основи, що виділяється при титруванні. Кінцеву точку титрування визначали відповідно потенціометрично та за допомогою індикатора фенолфталеїну.

Порівняння метрологічних характеристик, розрахованих та статистично оброблених за загальноприйнятими методиками [2], показало, що в принципі всі чотири випробувані нами методи можуть бути використані для визначення кількісного вмісту амідів **1** (табл. 1). Найбільш доцільними з усіх розглянутих методів є ацидиметричне титрування в неводному середовищі та алкаліметричне титрування у водно-спиртовому се-



Схема

редовищі в присутності 0,01 М розчину кислоти хлористоводневої. Разом з тим перевагу, все ж таки, слід надати алкаліметричному титруванню, на користь якого свідчать не тільки зручність його практичного виконання, а й доступність і низька токсичність розчинника, а також просте виготовлення титранту.

Експериментальна частина

Методика кількісного визначення амідів 1 методом ацидиметричного титрування у неводному середовищі. Близько 0,10 г (точна наважка) амідів 1 розчиняють у 50 мл кислоти оцтової безводної, додають 10 мл оцтового ангідриду і 5 мл розчину ртуті ацетату і титрують 0,1 М розчином кислоти хлорної потенціометрично [1]. 1 мл 0,1 М розчину кислоти хлорної відповідає 0,0468 г амідів 1, якого в субстанції повинно бути не менше 98,5% і не більше 101,0% у перерахунку на суху речовину. Об'єм 0,1 М розчину кислоти хлорної в точці еквівалентності визначають розрахунковим шляхом [1] за максимальним значенням $\Delta E/\Delta V$ і відповідно за $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, як зазначено в 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, що відповідає останньому позитивному (негативному) значенню A_V , мл; V_2 — об'єм титранту, що відповідає першому негативному (позитивному) значенню A_V , мл; $A_V = \Delta(\Delta E/\Delta V)$ — прирости величин $\Delta E/\Delta V$ (при проходженні через точку еквівалентності A_V змінює знак на протилежний).

Розрахунок кількісного вмісту амідів 1 у відсотках проводять за формулою:

$$X_{\%} = \frac{V_{\text{HClO}_4} \cdot K \cdot T \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - B)},$$

$$T = \frac{C_{\text{HClO}_4} \cdot s \cdot M_m}{1000},$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину кислоти хлорної, витрачений на титрування наважки амідів 1, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину кислоти хлорної ($K = 0,9690$); T — титр 0,1 М розчину кислоти хлорної за амідом 1, г/мл; m — маса наважки амідів 1, г; B — процент вологості

амідів 1 (втрата в масі при висушуванні не більше 0,5%); C_m — молярна концентрація розчину кислоти хлорної, моль/л; s — стехіометричне відношення коефіцієнтів ($s = 1$); M_m — молярна маса амідів 1 ($M_m 467,95$ г/моль).

Методика кількісного визначення амідів 1 методом алкаліметричного титрування у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М розчину HCl. Близько 0,10 г (точна наважка) амідів 1 розчиняють в 50 мл 96% спирту, додають 5,0 мл 0,01 М розчину HCl і титрують 0,1 М розчином NaOH потенціометрично [1]. 1 мл 0,1 М розчину NaOH відповідає 0,0468 г амідів 1. Еквівалентний об'єм 0,1 М розчину NaOH ($V_{\text{екв}}$) визначають за формулою (1) розрахунковим шляхом [1]. У розрахунок беруть об'єм титранту між двома максимальними значеннями $\Delta E/\Delta V$ і відповідно за $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, як зазначено в табл. 3.

Розрахунок кількісного вмісту амідів 1 у відсотках проводять за формулою:

$$X_{\%} = \frac{(V_2 - V_1) \cdot K \cdot T \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - B)},$$

$$T = \frac{C_{\text{NaOH}} \cdot s \cdot M_m}{1000},$$

де: V_1 — об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування наважки амідів 1, що відповідає першому максимальному значенню $\Delta E/\Delta V$ і відповідно $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, мл; V_2 — об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування наважки амідів 1, що відповідає другому максимальному значенню $\Delta E/\Delta V$ і відповідно $\Delta(\Delta E/\Delta V)$, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину натрію гідроксиду ($K = 1,0010$); T — титр 0,1 М розчину натрію гідроксиду за амідом 1, г/мл; m — маса наважки амідів 1, г; B — процент вологості амідів 1 (втрата в масі при висушуванні не більше 0,5%); C_m — молярна концентрація розчину натрію гідроксиду, моль/л; s — стехіометричне відношення коефіцієнтів ($s = 1$); M_m — молярна маса амідів 1 ($M_m 467,95$ г/моль).

Методика кількісного визначення амідів 1 методом алкаліметричного титрування у водному середовищі в присутності суміші органічних розчинників. Близько 0,25 г (точна наважка) амідів 1 розчиняють у 50 мл води, додають 10 мл спирту, нейтралізованого за фенолфталеїном, 10 мл хло-

Таблиця 1

Метрологічні характеристики різних методів кількісного визначення амідів 1

Ацидиметричне титрування в неводному середовищі				Алкаліметричне титрування у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М НСІ			
наважка, г	об'єм титранту, мл	знайдено, %	метрологічні характеристики	наважка, г	об'єм титранту, мл	знайдено, %	метрологічні характеристики
0,0982	2,15	99,78	$\bar{x} = 100,05$ $S = 0,1910$ $S_{\bar{x}} = 0,0780$ $\Delta x = 0,20$ $\varepsilon = 0,20\%$	0,1001	2,12	99,70	$\bar{x} = 100,10$ $S = 0,2371$ $S_{\bar{x}} = 0,0968$ $\Delta x = 0,25$ $\varepsilon = 0,25\%$
0,0972	2,13	99,86		0,1022	2,17	99,96	
0,1011	2,22	100,07		0,1020	2,17	100,15	
0,0974	2,14	100,13		0,1015	2,16	100,18	
0,0937	2,06	100,20		0,1005	2,14	100,24	
0,1009	2,22	100,26		0,0985	2,10	100,37	
Алкаліметричне титрування у водному середовищі в присутності суміші органічних розчинників				Аргентометричне зворотне титрування			
наважка, г	об'єм титранту, мл	знайдено, %	метрологічні характеристики	наважка, г	об'єм титранту, мл	знайдено, %	метрологічні характеристики
0,2602	5,52	99,87	$\bar{x} = 100,20$ $S = 0,6941$ $S_{\bar{x}} = 0,2834$ $\Delta x = 0,73$ $\varepsilon = 0,73\%$	0,1963	4,19	99,40	$\bar{x} = 100,14$ $S = 0,4494$ $S_{\bar{x}} = 0,1835$ $\Delta x = 0,47$ $\varepsilon = 0,47\%$
0,2511	5,33	99,93		0,1998	4,29	99,98	
0,2470	5,25	100,06		0,1982	4,26	100,08	
0,2430	5,18	100,35		0,1975	4,25	100,20	
0,2530	5,40	100,48		0,2016	4,35	100,48	
0,2515	5,37	100,52		0,2007	4,34	100,70	

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

Таблиця 2

Результати потенціометричного титрування амідів 1 методом ацидиметрії в неводному середовищі

V , мл	Приріст об'єму титранту, ΔV	E , мВ	Зміна е.р.с., ΔE	$\frac{\Delta E}{\Delta V}$	$\Delta v = \Delta \left(\frac{\Delta E}{\Delta V} \right)$
1	2	3	4	5	6
1,5		434			
	0,1		9	90	
1,6		443			+10
	0,1		10	100	
1,7		453			+20
	0,1		12	120	
1,8		465			+50
	0,1		17	170	
1,9		482			+20
	0,1		19	190	
2,0		511			+1350
	0,1		154	1540	
2,1		665			-740
	0,1		80	800	
2,2		745			-560

Продовження табл. 2

1	2	3	4	5	6
	0,1		24	240	
2,3		769			-130
	0,1		11	110	
2,4		776			-10
	0,1		10	100	
2,5		787			
$V_{екв} = 2,00 + (2,10 - 2,00) \frac{+1350}{+1350 - (-740)} = 2,06 \text{ мл}$					

роформу, 5-7 крапель розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 М розчином NaOH, ретельно струшуючи до появи блідо-рожевого забарвлення водного шару. 1 мл 0,1 М розчину NaOH відповідає 0,0468 г амідів 1.

Розрахунок кількісного вмісту амідів 1 у відсотках проводять за формулою:

$$X\% = \frac{V_{NaOH} \cdot K \cdot T \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - B)},$$

$$T = \frac{C_{M_{NaOH}} \cdot s \cdot M_m}{1000},$$

де: V — об'єм 0,1 М розчину натрію гідроксиду, витрачений на титрування наважки амідів 1, мл; K —

Таблиця 3

Результати потенціометричного титрування амідів 1 методом алкаліметрії у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М розчину HCl

V , мл	Приріст об'єму титранту, ΔV	E , Mb	Зміна е.р.с., ΔE	$\frac{\Delta E}{\Delta V}$	$\Delta v = \Delta \left(\frac{\Delta E}{\Delta V} \right)$	V , мл	Приріст об'єму титранту, ΔV	E , Mb	Зміна е.р.с., ΔE	$\frac{\Delta E}{\Delta V}$	$\Delta v = \Delta \left(\frac{\Delta E}{\Delta V} \right)$
0		245				...2,2		67			
	0,1		10	100			0,1		9	90	
0,1		235			0	2,3		58			+30
	0,1		10	100			0,1		12	120	
0,2		225			+10	2,4		46			+90
	0,1		11	110			0,1		21	210	
0,3		214			+30	2,5		25			+120
	0,1		13	130			0,1		33	330	
0,4		201			+10	2,6		-8			+70
	0,1		14	140			0,1		40	400	+
0,5		187			+20	2,7		-48			+130
	0,1		15	150			0,1		53	530	
0,6		172			+50	2,8		-101			-330
	0,1		20	200			0,1		20	200	
0,7		152			-120	2,9		-121			-100
	0,1		8	80			0,1		10	100	
0,8		144			-10	3,0		-131			-10
	0,1		7	70			0,1		9	90	
0,9		137			0	3,1		-140			-10
	0,1		7	70			0,1		8	80	
1,0...		130				3,2		-148			
$V_{1екв} = 0.60 + (0.70 - 0.60) \frac{+50}{+50 - (-120)} = 0,63_{мл}$						$V_{2екв} = 2.70 + (2.80 - 2.70) \frac{+130}{+130 - (-330)} = 2,73_{мл}$					

коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину натрію гідроксиду ($K = 1,0010$); T — титр 0,1 М розчину натрію гідроксиду за амідом 1, г/мл; m — маса наважки амідів 1, г; B — процент вологості амідів 1 (втрата в масі при висушуванні не більше 0,5%); C_m — молярна концентрація розчину натрію гідроксиду, моль/л; s — стехіометричне відношення коефіцієнтів ($s = 1$); M_m — молярна маса амідів 1 ($M_m 467,95$ г/моль).

Методика кількісного визначення амідів 1 методом зворотного аргентометричного титрування. Близько 0,20 г (точна наважка) амідів 1 розчиняють у 50 мл води, додають 10 мл кислоти азотної розведеної, 10 мл 0,1 М розчину $AgNO_3$, 2 мл розчину заліза (III) амонію сульфату і титрують 0,1 М розчином амонію тіоціанату, інтенсивно струшуючи наприкінці титрування до появи рожевого забарвлення розчину над осадом. Паралельно проводять контрольний дослід. 1 мл 0,1 М розчину $AgNO_3$ відповідає 0,0468 г амідів 1.

Розрахунок кількісного вмісту амідів 1 у відсотках проводять за формулою:

$$X_{\%} = \frac{(V_{к.д.} - V_{о.д.}) \cdot K \cdot T \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - B)},$$

$$T = \frac{C_{m_{AgNO_3}} \cdot s \cdot M_m}{1000},$$

де: $V_{к.д.}$ — об'єм 0,1 М розчину амонію тіоціанату, витрачений на титрування наважки амідів 1 в контрольному досліді, мл; $V_{о.д.}$ — об'єм 0,1 М розчину амонію тіоціанату, витрачений на титрування наважки амідів 1 в основному досліді, мл; K — коефіцієнт поправки до концентрації 0,1 М розчину амонію тіоціанату ($K = 0,9901$); T — титр 0,1 М розчину срібла нітрату за амідом 1, г/мл; m — маса наважки амідів 1, г; B — процент вологості амідів 1 (втрата в масі при висушуванні не більше 0,5%); C_m — молярна концентрація розчину срібла нітрату, моль/л; s — стехіометричне відношен-

ня коефіцієнтів ($s = 1$); M_m — молярна маса аміду 1 ($M_m 467,95 \text{ г/моль}$).

ВИСНОВКИ

1. Проведено експериментальне вивчення декількох методів визначення кількісного вмісту основної речовини в субстанції гідрохлориду 3-морфолін-4-ілпропіламіду 1-аліл-4-гідрокси-6,7-ди-

метокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти.

2. Встановлено, що найбільш доцільними з усіх розглянутих методів є ацидиметричне титрування в неводному середовищі або алкаліметричне титрування у водно-спиртовому середовищі в присутності 0,01 М розчину НСІ.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України. 1-е вид. / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — Х.: РІРЕГ, 2001. — С. 30-32.
2. Державна фармакопея України. 1-е вид. Доп. 1 / Державне підприємство “Науково-експертний фармакопейний центр”. — Х.: РІРЕГ. — 2001. — С. 187-192.
3. Пат. 85989 Україна, МПК С 07 D 215/20, С 07 D 401/12, С 07 D 413/12, А 61 Р 25/30. Гідрохлориди алкіламіноалкіламідів 1-аліл-4-гідрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигідрохінолін-3-карбонової кислоти, які виявляють властивості антагоністів опіоїдних рецепторів / І.В.Українець, Л.В.Сидоренко, О.О.Давиденко та ін. — №а200808779. — Заявл.: 03.07.2008. Опубл.: 10.03.2009. — Бюл. №5.
4. Українець І.В., Сидоренко Л.В., Давиденко А.А., Ярош А.К. // Хімія гетероцикл. соед. — 2010. — №4. — С. 560-568.
5. Capone C., Kahler C.W., Swift R.M., O'malley S.S. // J. Stud. Alcohol Drugs. — 2011. — Vol. 72, №1. — P. 135-140.
6. Coviello D.M., Cornish J.W., Lynch K.G. et al. // Am. J. Addict. — 2010. — Vol. 19, №5. — P. 422-432.
7. Florez G., Saiz P.A., Garcia-Portilla P. et al. // Eur. Addict. Res. — 2011. — Vol. 17, №1. — P. 29-36.
8. Franchi S., Sacerdote P., Moretti S. et al. // Int. J. Immunopathol. Pharmacol. — 2010. — Vol. 23, №3. — P. 847-855.
9. Lahti T., Halme J.T., Pankakoski M. et al. // Psychopharmacol. Bull. — 2010. — Vol. 4, №3. — P. 35-44.
10. Mannelli P., Peindl K., Patkar A.A. et al. // J. Clin. Psychopharmacol. — 2010. — Vol. 30, №4. — P. 476-478.
11. Raffa R.B., Pergolizzi J.V.Jr. // Drugs. — 2010. — Vol. 70, №13. — P. 1657-1675.
12. Soyka M., Rosner S. // Expert Opin. Investig. Drugs. — 2010. — Vol. 19, №11. — P. 1451-1459.
13. Wesson D.R., Smith D.E. // J. Psychoactive Drugs. — 2010. — Vol. 42, №2. — P. 161-175.

УДК 543.062:543.24:547-327:547.831.7:547.831.8:547.831.9
РАЗРАБОТКА МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГИДРОХЛОРИДА 3-МОРФОЛИН-4-ИЛПРОПИЛАМИДА 1-АЛЛИЛ-4-ГИДРОКСИ-6,7-ДИМЕТОКСИ-2-ОКСО-1,2-ДИГИДРОХИНОЛИН-3-КАРБОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Л.В.Сидоренко, И.В.Украинец, Т.В.Алексеева

Проведен сравнительный анализ нескольких методов определения количественного содержания основного вещества в субстанции гидрохлорида 3-морфоллин-4-илпропиламида 1-аллил-4-гидрокси-6,7-диметокси-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты. Показано, что при подготовке аналитической нормативной документации на указанную субстанцию, проявляющую свойства антагониста опиоидных рецепторов, наиболее рациональными из них являются ацидиметрия в неводной среде и алкаліметрия в водно-спиртовой среде в присутствии 0,01 М раствора кислоты хлористоводородной. Однако преимущество все-таки следует отдать алкаліметрическому титрованию, в пользу которого свидетельствуют простота выполнения эксперимента, доступность и низкая токсичность растворителя.

UDC 543.062:543.24:547-327:547.831.7:547.831.8:547.831.9
DEVELOPMENT OF THE QUANTITATIVE DETERMINATION METHOD FOR 1-ALLYL-4-HYDROXY-6,7-DIMETHOXY-2-OXO-1,2-DIHYDROQUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID 3-MORPHOLIN-4-YLPROPYL-AMIDE HYDROCHLORIDE

L.V.Sidorenko, I.V.Ukrainets, T.V.Alexeeva

A comparative analysis of several methods of quantification for the main components in the substance of 1-allyl-4-hydroxy-6,7-dimethoxy-2-oxo-1,2-dihydroquinoline-3-carboxylic acid 3-morpholin-4-ylpropylamide hydrochloride has been carried out. It has been shown that when preparing the analytical normative documents for the substance, which reveals the properties of the opioid receptors antagonist, the most rational is acidimetric titration in the non-aqueous medium and alkalimetry in the water alcoholic medium in the presence of 0,01 M solution of hydrochloric acid. However, the advantage should be given to alkalimetric titration because of the simplicity of the experiment, its availability and low toxicity of the solvent.