

Т. А. Гендугов ¹, А. А. Глушко ¹, А. А. Озеров ², Л. И. Щербакова ¹

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолГМУ, кафедра неорганической, физической и коллоидной химии;

² Волгоградский государственный медицинский университет, кафедра фармацевтической и токсикологической химии

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУБСТАНЦИИ 3-[2-(4-ФЕНИЛ-1-ПИПЕРАЗИНО)-2-ОКСОЭТИЛ]-ХИНАЗОЛИН-4(3H)-ОНА МЕТОДОМ ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ В НЕВОДНОЙ СРЕДЕ

УДК 547.856.1:615.072:543.241.8:543.554.4

Исследована возможность использования потенциометрического титрования в неводной среде для количественного определения субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она. Разработана методика количественного определения и проведена ее валидационная оценка по параметрам линейности, прецизионности и правильности.

Ключевые слова: хиназолин-4(3H)-он, количественное определение, титрование, потенциометрия, валидация.

T. A. Gendugov, A. A. Glushko, A. A. Ozerov, L. I. Shcherbakova

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF SUBSTANCE 3-[2-(4-PHENYL-1-PIPERAZINYL)ETHYL]QUINAZOLINE-4(3H)-ONE BY METHOD OF POTENTIOMETRIC TITRATION IN A NON-AQUEOUS ENVIRONMENT

The possibility of using of potentiometric titration in a nonaqueous medium for the quantitative determination of the substance 3-[2-(4-phenyl-1-piperazino)-2-oxoethyl]quinazoline-4(3H)-one has been studied. The methodology for determination was developed and its validation was evaluated in terms of parameters linearity, precision, correctness.

Key words: quinazoline-4(3H)-one, quantification, titration, potentiometry, validation.

В настоящее время депрессия – наиболее распространённое психическое расстройство, от нее страдают более 300 миллионов человек всех возрастных групп [3]. Согласно прогнозам Всемирной организации здравоохранения, к 2025–2030 гг. смертность от депрессий выйдет на 1-е место в мире [6]. Такая тенденция подтверждает актуальность разработки новых биологически активных соединений психотропного действия, обладающих высоким терапевтическим потенциалом и меньшим числом побочных эффектов.

Новое биологически активное соединение – 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он (лабораторный шифр: VMA-10-21), синтезированное и изученное в ВолГМУ, доказало свою эффективность в качестве антидепрессантного и анксиолитического средства [4].

Разработка методик количественного анализа является одним из важнейших этапов при создании нормативной документации для новых лекарственных веществ. При этом титриметрические методы являются наиболее доступными и в то же время точными методами определения содержания веществ. Для количе-

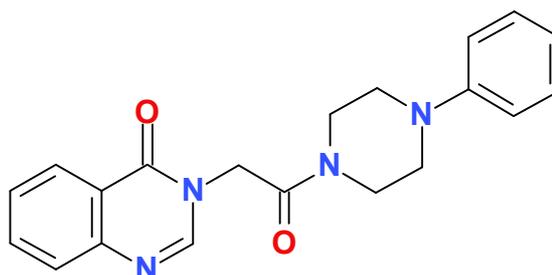
ственного определения слабых кислот и оснований, плохо растворимых в воде, традиционно используется метод кислотно-основного титрования в неводной среде.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка и валидация методики количественного определения субстанции VMA-10-21 методом титрования в неводной среде.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования – 5 серий субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-она структурной формулы:



Ранее нами были изучены физико-химические свойства и спектральные характеристики VMA-10-21 с использованием ИК-спектроскопии [1]. Чистота полученных образцов подтверждена методами ЯМР ^1H [4] и ВЭЖХ: содержание субстанции составило 99,78 %, общее содержание двух различных примесей – 0,22 %.

С целью изучения возможности образования солей соединением VMA-10-21 в программе ORCA 4.1 методом теории функционала плотности (UB3LYP) с применением базиса 6-311G* [5] был осуществлен расчет распределения электронной плотности, зарядов и оптимальной геометрии молекулы. Потерю в массе при высушивании проводили согласно ОФС.1.2.1.0010.15 ГФ XIV изд. Результаты потери в массе при высушивании (В) составили 0,28 % и учитывались в дальнейшем при расчете содержания вещества.

Все использованные растворы соответствовали требованиям ГФ XIV издания [2]. Поправочный коэффициент хлорной кислоты составил 0,99, титр – 17,42 мг/мл. Контрольный опыт проводили с использованием двух разных навесок исследуемого вещества.

Валидацию разработанной методики проводили по показателям прецизионности, линейности и правильности. Для оценки прецизионности методики проводили девять параллельных определений с точной навеской субстанции (около 0,1 г). Линейность методики определяли путем статистической обработки результатов количественного определения на семи уровнях навески исследуемого вещества в диапазоне 70–130 %, за 100 % принимали 0,15 г. Правильность методики оценивали по критерию открываемости для девяти навесок субстанции на трех уровнях: 1:0,5; 1:1; 1:2 от верхнего предела линейности методики. Полученные данные обрабатывали согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» [2].

Содержание испытуемого вещества в % (X) определяли по формуле:

$$X = \frac{(V - V_0) * K * T * 100 * 100}{(a - a_0) * 1000 * (100 - B)}, \text{ где}$$

V – объем хлорной кислоты, мл;
 V_0 – объем титранта, израсходованный на титрование в контрольном опыте;

T – титр хлорной кислоты, мг/мл;

K – поправочный коэффициент;

a – навеска, г;

a_0 – навеска в контрольном опыте, г;

B – потеря в массе при высушивании, %.

Фактор эквивалентности (f) рассчитывали по формуле:

$$f = \frac{a * 1000}{K * C * V * M}, \text{ где}$$

M – молярная масса исследуемой субстанции, г/моль.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку соединение VMA-10-21 является слабым основанием, нами были использованы методики с применением уксусной и муравьиной кислоты, а также их смесей – растворителей, у которых способность к отдаче протона значительно превышает способность к его присоединению.

Методика: около 0,1 г субстанции (точная навеска) растворяют в 30 мл ледяной уксусной кислоты. Полученный раствор титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты, перемешивая после каждого добавления. Конец титрования фиксируют потенциометрически. Параллельно проводят контрольный опыт. Среднее значение рКа, определенное для образцов 5 серий субстанции VMA-10-21, составило 4,77, что свидетельствует о слабых основных свойствах. Это подтверждает целесообразность разработки методики методом ацидиметрии в неводной среде. Следует отметить, что использование муравьиной кислоты, а также смеси ее с уксусной кислотой (в соотношении 1:1) показало отсутствие скачка титрования и, соответственно, невозможность их применения для количественного определения субстанции VMA-10-21.

Для органолептического установления точки эквивалентности использовали индикатор кристаллический фиолетовый. В процессе титрования титруемый раствор из первоначального цвета – сине-фиолетового, переходил в фиолетовый, далее – в голубой, зеленый и желтый с образованием осадка. Однако указанные переходы окраски не соответствовали точке эквивалентности, поэтому нами рекомендуется потенциометрический способ определения точки эквивалентности (рис. 1).

Исходя из полученных данных, был рассчитан фактор эквивалентности $f = 0,5005$, подтверждающий, что одна молекула субстанции VMA-10-21 взаимодействует с двумя молекулами хлорной кислоты. Опираясь на результаты расчетов зарядов в ORCA 4.1 (рис. 2), мы предполагаем протонирование атома азота хи-назолинового ядра в положении N^1 и атома азота в пиперазиновом цикле, соединенного с фенильным заместителем. По данным расчетов, другие атомы азота (N^3 и вторичный амидный) не участвуют в протонировании из-за электронных эффектов расположенных рядом карбонильных групп.

Полученные результаты по оценке прецизионности методики представлены в табл. 1.

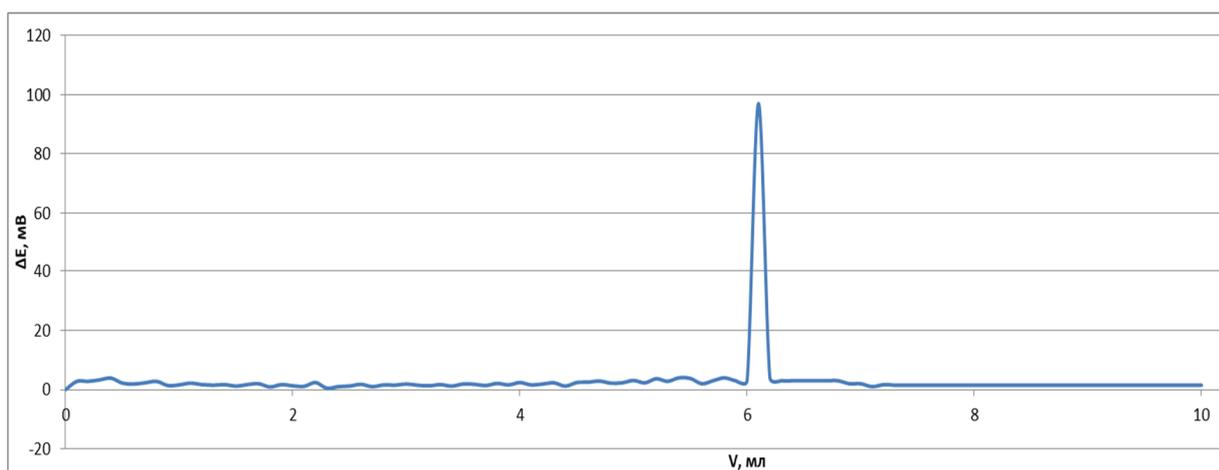


Рис. 1. Дифференциальная кривая титрования субстанции VMA-10-21 в ледяной уксусной кислоте

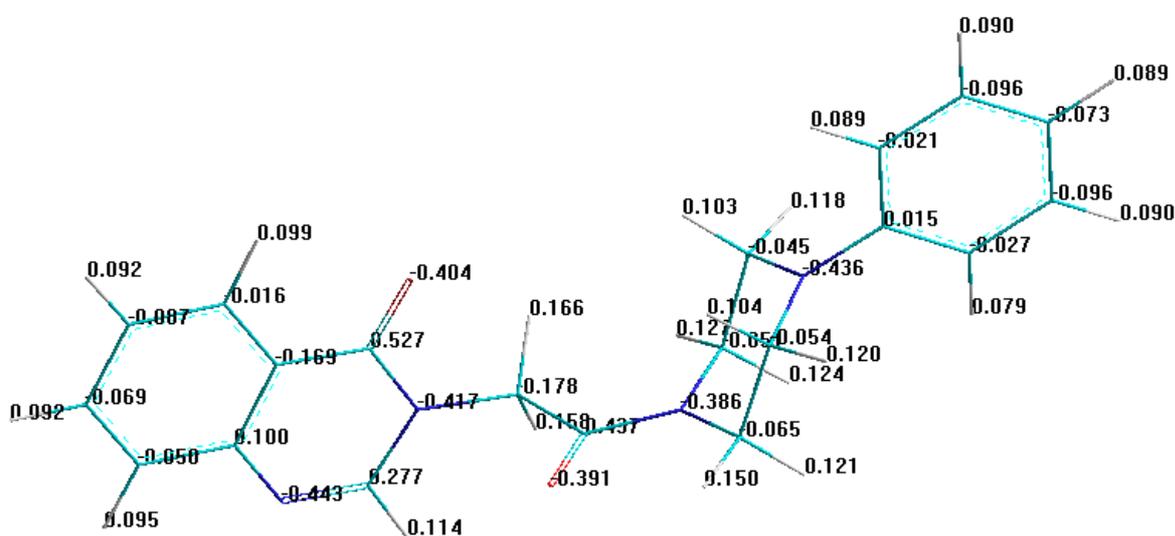


Рис. 2. Результаты расчета зарядов молекулы VMA-10-21

Таблица 1

Результаты параметров прецизионности методики

Навеска (взято), г	Объем титранта, мл	Найдено, г	Найдено, %	Метрологические характеристики
0,1053	6,00	0,1037	98,48	$\bar{X} = 99,82$ $S = 0,8921$ $S_x^- = 0,2974$ $RSD = 0,8938\%$
0,1020	5,85	0,10111	99,13	
0,1011	5,89	0,10180	100,69	
0,1056	6,05	0,1046	99,02	
0,1039	6,06	0,1047	100,81	
0,1040	6,00	0,1037	99,71	
0,1037	6,04	0,1044	100,67	
0,1005	5,77	0,0997	99,23	
0,1010	5,88	0,1016	100,62	

Относительное стандартное отклонение (RSD) при анализе субстанций не должно превышать 1 % [2]. Представленные результаты соответствуют данному требованию, что дока-

зывает валидность методики по показателю прецизионности. График, полученный в ходе оценки методики параметрам линейности, представлен на рис. 3.

Коэффициент корреляции r составил 0,999, что соответствует требованиям ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [2] и под-

тверждает пригодность методики по показателю линейности. В табл. 2 представлены результаты определения правильности методики.

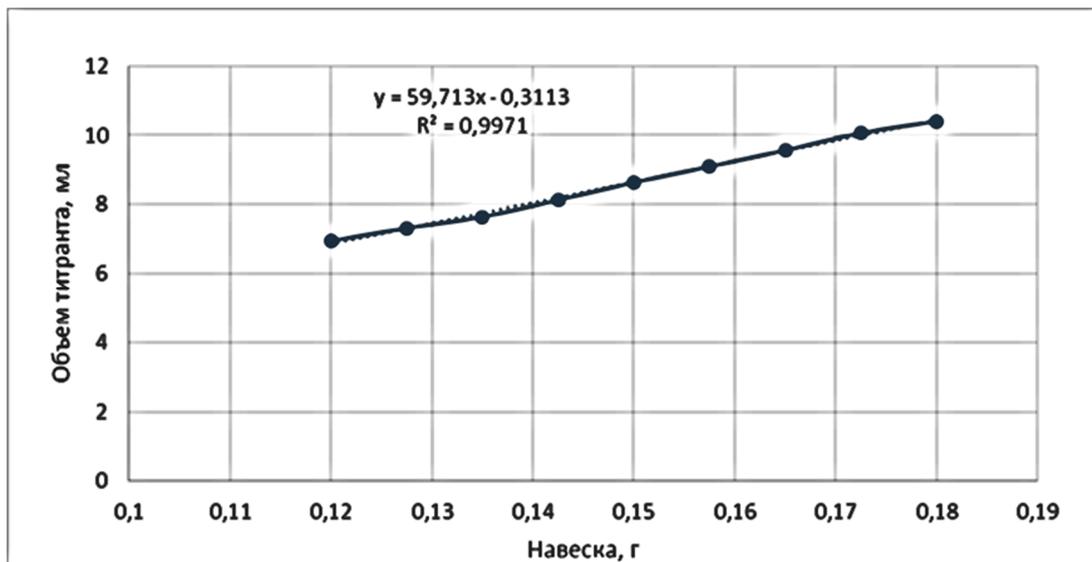


Рис. 3. График линейной зависимости предлагаемой методики

Таблица 2

Результаты определения параметров правильности методики

Уровень	Взято, г	Объем титранта, мл	Найдено, г	Открываемость (R), %	Метрологические характеристики
1 (1:0,5)	0,1212	7,08	0,122369	100,9649149	$\bar{R} = 100,60 \%$ $S = 0,8963$ $RSD = \pm 0,8910 \%$
	0,1203	7,02	0,121332	100,8582273	
	0,1215	6,99	0,120814	99,43533552	
2 (1:1)	0,0900	5,22	0,090222	100,2461816	
	0,0912	5,23	0,090394	99,11666851	
	0,0917	5,38	0,092987	101,4034628	
3 (1:2)	0,0602	3,52	0,060839	101,0615647	
	0,0609	3,59	0,062049	101,886584	
	0,0611	3,55	0,061358	100,4215657	

Значение R для субстанций должно находиться в пределах 99–101 % [2].

Полученные результаты соответствуют данному требованию, что подтверждает валидность предлагаемой методики по показателю правильности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана и валидирована титриметрическая методика количественного определения субстанции 3-[2-(4-фенил-1-пиперазино)-2-оксоэтил]хиназолин-4(3H)-он в неводной среде.

ЛИТЕРАТУРА

- Гендугов, Т. А. // Евраз. союз ученых. – 2019. – № 11–2 (68). – С. 46–47.
- Государственная Фармакопея Российской Федерации. Изд. XIV. Т. 1. – М., 2018. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://feml.scsml.rssi.ru/feml>.
- Личко, А. Е. Подростковая психиатрия / А. Е. Личко. – М.: Медицина, 1985. – 416 с.
- Пат. России № 2507199.
- Neese, F. // Comp. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 1. – № 8. – e1327.
- Wittchen H., Jacobi F., Rehm J. // Eur. Neuropsychopharmacol. – 2011. – Vol. 21, № 9. – P. 655–679.