

Розробка методики кількісного потенціометричного визначення субстанції 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду

Г.В.Георгієвський

ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»
Харків, Україна

Проведені дослідження щодо розробки кількісного визначення субстанції 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду із застосуванням потенціометричного титрування в середовищі оцтового ангідриду 0,1 М розчином кислоти хлорної в безводній оцтовій кислоті із застосуванням системи електродів «скляний – хлорсрібний».

Ключові слова: критичні показники якості, потенціометрія, неводні розчинники, кількісне визначення валідації, 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід.

ВСТУП

Ефективність надання лікарської допомоги населенню України залежить від наявності вискоєфективних конкурентоспроможних лікарських засобів (ЛЗ) вітчизняного виробництва. Незважаючи на великі успіхи в лікуванні захворювань серцево-судинної системи (ішемічна хвороба серця, інфаркт міокарда, серцева недостатність, гіпертонічна хвороба), які були досягнуті у 80-х рр. минулого століття, ця проблема залишається найбільш актуальною для сучасної медицини. У вирішенні цієї проблеми окреме місце займає створення лікарських препаратів на основі похідних 1,2,4-триазолу [1-3].

У теперішній час колектив авторів під керівництвом професора І.А.Мазура, продовжуючи роботи зі створення препаратів для лікування хвороб системи кровообігу, синтезував та запропонував нову субстанцію 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід, який перевищує кардіотонічну дію тіотриазоліну і кардіотрилу [3].

Слід окремо відзначити, що якість ЛЗ повинна бути забезпечена при їх створенні та виробництві. Важливу роль у цьому відіграє аналітичне забезпечення досліджень, що базується на впровадженні науково обґрунтованих методик аналізу з використанням комплексу фізико-хімічних, хроматографічних та біологічних методів. Саме комплекс наведених методик дозволяє дослідити критичні показники якості та їх параметри, тоді як вихід за встановлені межі призводить до порушень технологічних процесів синтезу та отримання готових лікарських форм, у результаті чого ЛЗ не відповідають специфікації та іншим критеріям приємності.

Створення таких методик та обґрунтування їх комплексного застосування є актуальним завданням для аналітичного забезпечення синтезу та технології виготовлення нових ЛЗ на основі похідних 1,2,4-триазолу [4].

Одним із критичних показників якості субстанції, згідно з вимогами ДФУ, є кількісний вміст діючої речовини, який для синтетичних субстанцій повинен бути не менш 98,5% [5].

Для кількісного визначення досліджуваної субстанції був обраний метод кислотно-основного титрування в неводних розчинниках, який використовується в Європейській фармакопеї, Фармакопеї США та найбільш обґрунтований у ДФУ [6].

Метою дослідження були розробка та валідація методики кількісного визначення 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду потенціометричним методом у середовищі неводних розчинників.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єкт дослідження: 1-(в-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід.

Розчинники та реактиви (згідно з вимогами ДФУ 4.1.1-4.2): оцтова кислота, оцтовий ан-

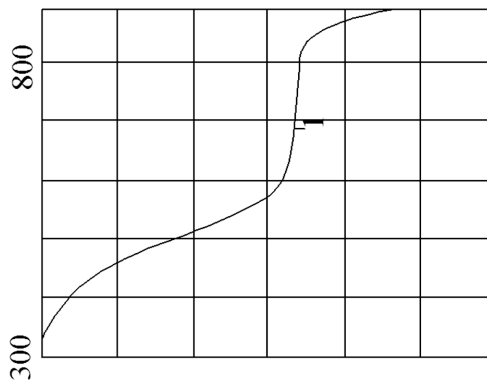


Рис. 1. Типова крива потенціометричного титрування 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду в оцтовому ангідриді.

гідрид, 0,1 М розчин кислоти хлорної в оцтовій кислоті, ртуті (II) ацетат, калію гідрофталат.

Обладнання: автоматичний титратор 7025 М Titrino «Metrohm» (Швейцарія) з об'ємом бюретки 10 мл.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з результатами дослідження кислотно-основних властивостей похідних 1,2,4-триазолу, оптимальними умовами при проведенні кількісного визначення методом неводного титрування є середовище оцтового ангідриду, в якому 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід титрується як однокислотна основа (рис. 1). У середовищі оцтової кислоти потенціометричне титрування неможливе. У той саме час при з'язуванні аніону броміду ацетатом ртуті в середовищі оцтової кислоти умови титрування менш прийнятні, тому що потрібне застосування додаткового реагенту.

Тому ми проводили аналіз у середовищі оцтового ангідриду за наступною методикою:

ТАБЛИЦЯ 1
Кількісне визначення 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду

m (нав), мг	V _{0,1 М HClO₄} , мл	%
100,1	5,26	99,6
100,6	5,28	99,5
101,2	5,31	99,5
100,0	5,24	99,4
100,1	5,26	99,6
середнє		99,5

0,10 г (точна наважка) 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду розчиняють в 40 мл оцтового ангідриду, титрують 0,1 М розчином кислоти хлорної в безводній оцтовій кислоті потенціометрично (ДФУ 2.2.20) з використанням системи електродів «скляний – хлорсрібний» (рис. 1).

1 мл 0,1 М розчину кислоти хлорної в безводній оцтовій кислоті відповідає 0,01892 г 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду, вміст якого в субстанції має становити 98,5-101%.

Валідація методики

Проведено згідно з ДФУ за характеристиками – лінійність, правильність, прецизійність, а розрахунки наведені в «нормалізованих» координатах.

Наведені вище характеристики вивчено для 9 наважок препарату в області ±20% від номінального вмісту (табл. 2).

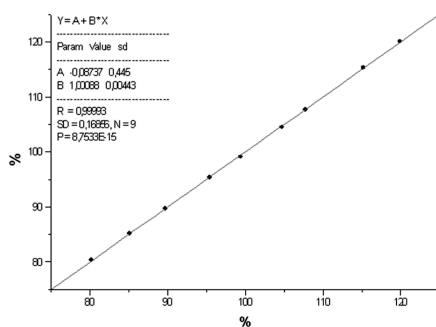
Для оцінки правильності та прецизійності використовували всі результати, отримані при визначенні лінійності.

Повна невизначеність аналізу у відсотках виражається як однобічний довірчий інтервал для імовірності 95%.

Титрування субстанції. Результати перевірки лінійності

ТАБЛИЦЯ 2

Наважка, мг	Знайдено, мг	Введено, мг	Введено, %	Знайдено/введено, %	V, мл	V*100%/V _(theor.)
81,5	80,3	80,3	80,3	100,04	4,23	80,3
86,4	85,3	85,1	85,1	100,21	4,49	85,2
91,0	89,8	89,7	89,7	100,08	4,73	89,7
96,8	95,5	95,4	95,4	100,11	5,03	95,4
100,9	99,3	99,4	99,4	99,87	5,23	99,1
106,3	104,6	104,7	104,7	99,91	5,51	104,5
109,3	107,8	107,7	107,7	100,04	5,67	107,7
116,9	115,4	115,2	115,2	100,18	6,08	115,3
121,7	120,3	119,9	119,9	100,29	6,33	120,1
				100,0		

Рис. 2. Графік лінійної залежності $Y_i = b X_i + a$.

Вимоги до максимально припустимої невизначеності кількісного визначення 1-(в-фенілетіл)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду: $D_{Ass} \leq B = 1.0\%$, де B — верхня межа вмісту, %.

Вимоги до прогнозованої невизначеності пробопідготовки

Рекомендується, щоб невизначеність пробопідготовки (D_{Sp}) була незначущою в порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу [11]:

$$D_{Sp} \leq D_{Ass} * 0,32 = 1,0 * 0,32 = 0,32\%$$

Результати валідації

Розрахунок прогнозованої невизначеності пробопідготовки:

Операція пробопідготовки	Невизначеність, %
Наважка 0,1000 г	0,25%

$$\Delta_{Sp} \leq 1.0 = \sqrt{0.25^2} = 0.25$$

Таким чином, невизначеність пробопідготовки (D_{Sp}) кількісного визначення незначуща в порівнянні з максимально припустимою невизначеністю аналізу, тому її не враховують при оцінці невизначеності результатів аналізу.

Повна невизначеність аналізу

Повну невизначеність аналізу (D) обчислюють за формулою:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{\Delta_{TitrHClO_4}^2 + \Delta_{Assay}^2}$$

Встановлення титру 0,1 М розчину хлорної кислоти за калієм гідрофталатом ($K=1,002$) із 5 визначень.

Кількісне визначення субстанції при наважці $\approx 0,1000$ г із 5 визначень має середнє 99,5%.

Невизначеність встановлення титру 0,1 М розчину $HClO_4$, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$\Delta_{Titr, HClO_4} = \frac{RSD \times t(95\%, f)}{\sqrt{n}}; \text{ де: } RSD \text{ — відносне стандартне відхилення титрування при визначенні титру 0,1 М розчину } HClO_4, \%$$

n — число паралельних визначень; t — односторонній критерій Стьюдента для імовірності 95% і числа ступенів свободи f .

Встановлення титру 0,1 М розчину $HClO_4$:

RSD, %	D_{Titr} , %
0,1022	0,1492

Невизначеність титрування субстанції у відсотках обчислюють за формулою:

$$\Delta_{Titr, HClO_4} = \frac{RSD \times t(95\%, f)}{\sqrt{n}} \text{ де: } RSD \text{ — відносне стандартне відхилення титрування при визначенні титру 0,1 М розчину } HClO_4, \%$$

n — число паралельних визначень; t — односторонній критерій Стьюдента для імовірності 95% і числа ступенів свободи f .

Титрування субстанції:

RSD, %	D_{Assay} , %
0,1065	0,1015

Повна невизначеність аналізу:

D , %	Вимоги
0,1804	1,0

Таким чином, повна невизначеність кількісного визначення (D_{FAO}) незначуща в порів-

ТАБЛИЦЯ 3

Результати перевірки правильності та прецизійності

Прецизійність	Параметр	Значення	Вимоги		Оцінка результату
	D_d	0,25	$\leq 1,0$		Відповідає
Правильність	Параметр	Значення	Критерій статистичної незначущості	Критерій практичної незначущості	Оцінка результатів
	$ d_{cp} - 100 $	0,081	$< 0,085$	$\leq 0,32$	Відповідає першому та другому критеріям

нянні з максимально припустимою невизначеністю 1,0%.

Лінійну залежність розраховали методом найменших квадратів (рис. 2):

$$Y_i = b \cdot X_i + a, \text{ де:}$$

X_i — концентрація препарату, у відсотках від номінальної;

Y_i — об'єм титранту, у відсотках від теоретичного.

Наведені розрахунки критеріїв лінійності та розраховані параметри лінійної залежності відповідають вимогам до критеріїв лінійності.

Результати перевірки правильності та прецизійності наведені в табл. 3.

Таким чином, розраховані параметри відповідають вимогам ДФУ до критеріїв правильності та прецизійності, а проведена валідація підтвердила лінійність, правильність і прецизійність методики [7-9].

ВИСНОВКИ

1. Розроблена та валідована методика кількісного визначення субстанції 1-(*в*-фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію броміду.

2. Показано, що методика, згідно з валідаційними показниками, може бути застосована в нормативно-аналітичній документації при виконанні фармацевтичної розробки у створенні нового оригінального вітчизняного препарату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мазур І.А. Метаболитотропные препараты / [І.А.Мазур, І.С.Чекман, І.Ф.Беленичев и др.]. — Запорозьє, 2007. — 304 с.
2. Патент України №79912. Спосіб одержання Бромід 1-(*в*-фенілетил)-4-(*п*-диметиламінобензиліденаміно)-1,2,4-триазолію / І.А.Мазур, М.О.Авраменко, Л.І.Кучеренко, Г.В.Георгієвський [та ін.]. — Заявлено 02.06.2006. Опубл. 25.07.2007.
3. Патент на винахід №92692 України. — Лікарський засіб для лікування ішемічної хвороби серця та гіпертонічної хвороби / І.А.Мазур, І.Ф.Беленичев, Ю.М.Колесник [та ін.]. — Заявлено 03.07.2009. Опубл. 25.11.2010.
4. Георгієвський Г.В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов — производных 1,2,4-триазола / Г.В.Георгієвський // Запорозький медичинський журнал. — 2011. — №1. — С. 58-70.
5. Субстанції для фармацевтичного застосування — Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр».

приемство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. Доп. 1 — Харків: РІРЕГ, 2004. — С. 275-281.

6. Титрування у неводних розчинниках^N — Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 51-58.
7. Валідація аналітичних методик і випробувань^N — Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: РІРЕГ, 2001. — С. 58-68.
8. Гризодуб А.І. Стандартизована процедура валідації кільцевих методик титрування лікарських засобів / А.І.Гризодуб, Д.А.Леонтьєв, С.О.Чикалова // Фармаком. — 2009. — №2. — С. 5-29.
9. Гризодуб А.І. Стандартизована процедура валідації методик контролю якості лікарських засобів. В кн. «Аналітична хімія в створенні, стандартизації і контролі якості лікарських засобів» / Под ред. чл.-кор. НАН України В.П.Георгієвського. — Харків, НТМТ — 2012. — Т.1. — С. 934-1063.

Георгієвський В.Г. Разработка методики количественного потенциометрического определения субстанции 1-(*в*-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромид. Харьков, Украина.

Ключевые слова: критические показатели качества, потенциометрия, неводные растворители, количественное определение, валідація, 1-(*в*-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромид.

Проведены исследования по разработке количественного определения субстанции 1-(*в*-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия бромид с применением потенциометрического титрования в среде уксусного ангидрида 0,1 М раствором кислоты хлорной в безводной уксусной кислоте с применением системы электродов «стеклянный — хлор-серебряный».

Georgievskij V.G. Development of method of quantity potentiometric determination of substance 1-(*в*-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide. Kharkiv, Ukraine.

Key words: critical quality values, potentiometry, non-aqueous solvents, quantification, validation, 1-(*в*-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide.

We have conducted research on development of quantitative determination of substance 1-(*в*-phenylethyl)-4-amino-1,2,4-thiazolyl bromide with the use of pH-titration in the environment of acetyloxide a 0,1 M by solution of acid chloric in a waterless acetic acid using of the system of electrodes of «glass-silver chloride».

Надійшла до редакції 02.08.2012 р.