

Л.І. Кучеренко

**ВИЗНАЧЕННЯ ОСНОВНИХ ПАРАМЕТРІВ ДОБРОЯКІСНОСТІ ПРЕПАРАТУ МТ**

Запорізький державний медичний університет, НВТ «Фарматрон»

**Ключові слова:** препарат МТ, ідентифікація, технологічні домішки, кількісне визначення.**Ключевые слова:** препарат МТ, идентификация, технологические примеси, количественное определение.**Key words:** preparation MT, identification, technological admixtures, quantitative determination.

Для препарату МТ визначено фізико-хімічні властивості, розроблено методи його ідентифікації, кількісного визначення та встановлення граничного вмісту в ньому технологічних домішок.

Для препарата МТ определены физико-химические свойства, разработаны методы его идентификации, количественного определения и установления граничного содержания в нем технологических примесей.

Physicochemical properties were determined for preparation MT, methods of its identification, quantitative determination and finding of boundary content of technological admixtures in it were worked out.

Початок нинішнього тисячоліття ознаменувався значним розповсюдженням серцево-судинних захворювань, які зайняли 2-3 місце в структурі смертності промислово розвинутих країн. Одним із грізних ускладнень, смертність від якого коливається від 10% до 50% у хворих з серцево-судинною патологією, є хронічна серцева недостатність. Розповсюдженість серцевої недостатності продовжує зростати і складає на 2006 рік 6,5 млн. у Європі і 5 млн. в США [1, 2, 3, 6, 7, 10]. Лідуюче місце серед причин розвитку серцевої недостатності займає ІХС і одне із її грізних проявів – інфаркт міокарда. Тому розробка засобів лікування цих патологій серцево-судинної системи є актуальною задачею сучасної наукової фармації і медицини. Згідно рекомендаціям Європейського співтовариства кардіологів, важливими компонентами комплексної терапії серцевої недостатності, особливо після перенесеного інфаркту міокарда, є діуретики, інгібітори АПФ і  $\beta$ -адреноблокатори [1, 4, 5, 6, 8, 9]. Преференційним вважається застосування „гібридного” – ( $\alpha$ + $\beta$ ) адреноблокатора останньої генерації – карведилолу [1, 2, 5, 7, 9, 11]. Однак, виявлені у нього ряд недоліків і побічних реакцій обмежують очікуване широке клінічне застосування даного препарату. Вищезазначене стало передумовою для створення принципово нового антиангінального препарату оригінальної структури.

Доклінічні дослідження підтвердили високу фармакологічну активність препарату МТ – броміду 1-( $\beta$ -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію. Він проявляє  $\beta_1$ - і  $\alpha_1$ -блокуючу дію. Володіє «миттєвою» коронаролітичною дією, знижуючи системний судинний опір, зменшуючи навантаження на серце. Попереджує пригнічення роботи серця в гострий період інфаркту міокарда – збільшує ударний викид, об'ємну швидкість кровотоку, знижує загальний периферичний опір судин, знижує артеріальний тиск. МТ значно зменшує зону некрозу міокарда в гострий період ішемії. В гострий період інфаркту міокарда інтенсифікує окислювальну продукцію АТФ в циклі Кребса.

Для контролю якості препарату МТ необхідно було визначити його основні фізико-хімічні характеристики, розробити методики ідентифікації, кількісного визначення та граничного вмісту технологічних домішок.

Препарат МТ являє собою білий кристалічний порошок із слабким жовтуватим або зеленуватим відтінком. Легко

розчинний у воді, розчинний в етанолі, ДФА, нерозчинний в ефірі, ацетоні. Температура плавлення препарату - при 103-107°C (плавиться в межах 2°C).

Ідентифікація.

ІЧ-спектр препарату співпадає з ІЧ-спектром стандартного зразка (спектр якого додається, рис. 1).

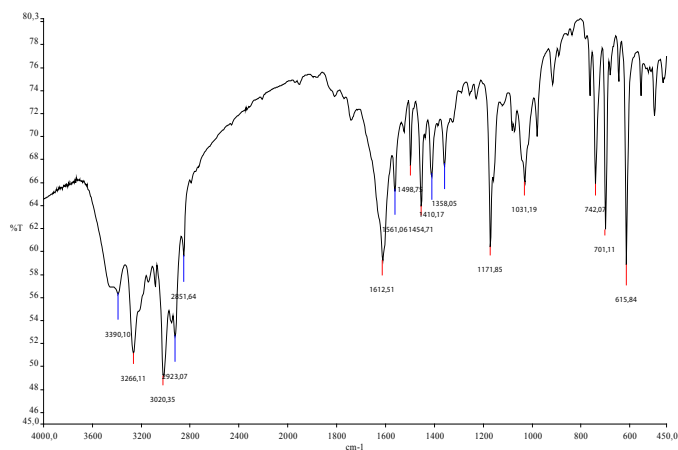


Рис. 1. ІЧ-спектр препарату МТ

Препарат дає реакцію на бромід йон (С) (ДФУ 1.0, 2,3,1). Хроматограма (високоєфективна рідинна хроматографія - ВЕРХ) препарату повинна співпадати з хроматограмою стандартного зразку (рис. 3).

Важливим елементом в якості препарату є його чистота (не перевищення граничного вмісту домішок), особливо технологічних. Це дає можливість контролювати також технологічний процес одержання препарату.

Як технологічні домішки при одержанні та зберіганні препарату можуть бути 4-аміно-1,2,4-триазол та  $\beta$ -брометилбензол.

**Визначення наявності технологічних домішок (4-аміно-1,2,4-триазол та  $\beta$ -брометилбензол) в препараті МТ**

Для визначення домішок 4-аміно-1,2,4-триазолу та  $\beta$ -брометилбензолу нами використана ВЕРХ.

Попередньо проведені аналізи методом ВЕРХ показали, що  $\beta$ -брометилбензол володіє значно більшим утримуючим об'ємом (часом утримання), ніж бромід 1-( $\beta$ -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію і 4-аміно-1,2,4-триазол. Це утруднює одночасне визначення усіх компонентів в умо-



Рис. 2.1.

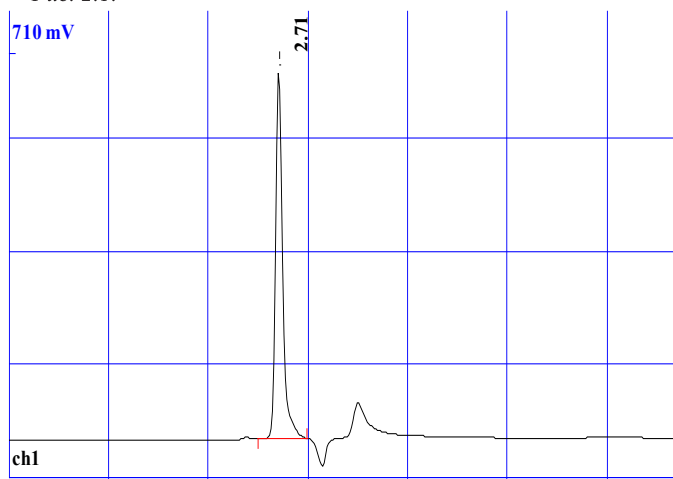


Рис. 2.2.

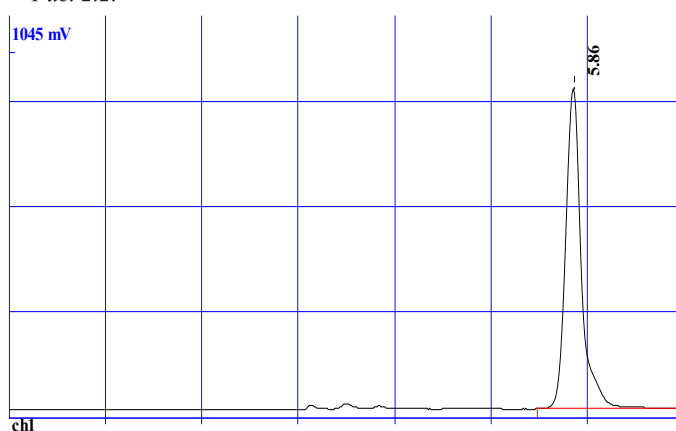


Рис. 2. ВЕРХ

- 4-аміно-1,2,4-триазолу (1)
- Броміду калію (2)

вах ізократичного елюювання: при використанні сильно-го елюенту (40-50% ацетонітрилу у фосфатному буфері). Крім того, 4-аміно-1,2,4-триазол виходить занадто швидко і частково перекривається з піком розчинника, а також не розділяється з основним компонентом.

Застосування градієнтного елюювання в принципі дозволяє визначити усі компоненти. Однак, при зміні елюенту хроматограма спотворюється артефактними піками (в ділянці 7-13 мл), що утруднює проведення кількісного аналізу. Особливо це помітно на малих довжинах хвиль (215-220 нм), вибір яких був обумовлений слабким поглинанням 4-аміно-1,2,4-триазолу.

Тому було вирішено аналіз технологічних домішок проводити окремо, в двох різних умовах ізократичного елюювання:

- 4-аміно-1,2,4-триазол визначати в «слабкому» елюенті (10% ацетонітрилу в фосфатному буфері) при 215 нм для забезпечення більшої чутливості по компоненту, що визначається;

- β-брометилбензол визначати в «сильному» елюенті (50% ацетонітрилу в фосфатному буфері) при 230 нм.

**Визначення вмісту домішки 4-аміно-1,2,4-триазолу в препараті МТ**

Умови аналізу:

- Колонка Hypersil ODS C18, 4.6x250 mm, діаметр частинок 5 мкм.

- Елюент: суміш ацетонітрилу і фосфатного буферу рН=2,70-2.75 (10:90 об.%). 3,6 г Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> і 3,4 г Вu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> розчиняли в 900 мл дистильованої води, доводили до рН 2,7 ортофосфорною кислотою і додавали 100 мл ацетонітрилу.

- Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв.

- Аналітична довжина хвилі детектора: 215 нм.

- Об'єм проби, що вводиться, і розчину стандартного зразка (Б) – 20 мкл.

Точну наважку 0,5009 броміду 1-(β-фенілетил)-4-амінотриазолію розчиняли в мірній колбі на 25 мл в 10 мл дистильованої води і доводили до мітки дистильованою водою.

Приготовлення стандартного розчину броміду 1-(β-фенілетил)-4-амінотриазолію з вмістом 0,5% домішку 4-аміно-1,2,4-триазолу (розчин Б)

Точну наважку 0,0264 г -аміно-1,2,4-триазолу вміщували в мірну колбу на 25 мл і доводили до мітки дистильованою водою (розчин А).

Точну наважку 0,1970 г броміду 1-(β-фенілетил)-4-амінотриазолію вміщували в мірну колбу на 10 мл, розчиняли в 5 мл дистильованої води, додавали 1 мл розчину 4-аміно-1,2,4-триазолу (розчин А) і доводили до мітки дистильованою водою (розчин Б).

Вміст домішку 4-аміно-1,2,4-триазолу обчислюють за формулою:

$$X, \% = \frac{S \cdot m_1 \cdot 100 S_1 \cdot m_1 \cdot 10}{S_1 \cdot m \cdot 25 S_1 \cdot m \cdot 25} \cdot \frac{S \cdot m_1 \cdot 4 S_1 \cdot m_1 \cdot 4}{S_1 \cdot m S_1 \cdot m}$$

S – середнє значення площі піку домішку, розраховане за хроматограмами розчину, що досліджується;

S<sub>1</sub> – середнє значення площі піків домішку, розраховане за хроматограмами стандартного розчину препарату МТ з вмістом домішку 0,5%;

m – наважка препарату МТ, що досліджується;

m<sub>1</sub> – наважка 4-аміно-1,2,4-триазолу в стандартному розчині з вмістом домішку 4-аміно-1,2,4-триазолу 0,5%.

Із наведених даних (рис. 3 і табл. 1) видно, що запропонована методика дозволяє в препараті МТ достовірно визначити вміст 4-аміно-1,2,4-триазолу в межах 0,04%, що на порядок менше, ніж допускається за проектом АНД.

Таблиця 1

**Результати визначення вмісту домішки 4-аміно-1,2,4-триазолу в препараті МТ**

№	Зразок	4-аміно-1,2,4-триазол	
		Площа, mV*µL	Вміст, %
1	Препарат МТ, що досліджується	426.878	0,04
2	Стандартний розчин МТ з доданням 0,5% домішку 4-аміно-1,2,4-триазолу	5335,90	0,5

Рис. 3.1.

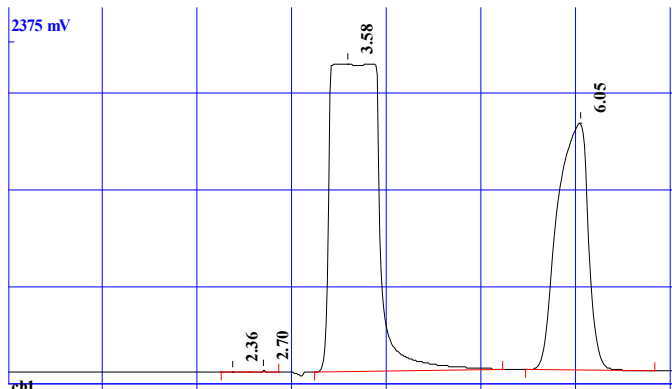


Рис. 3.2.

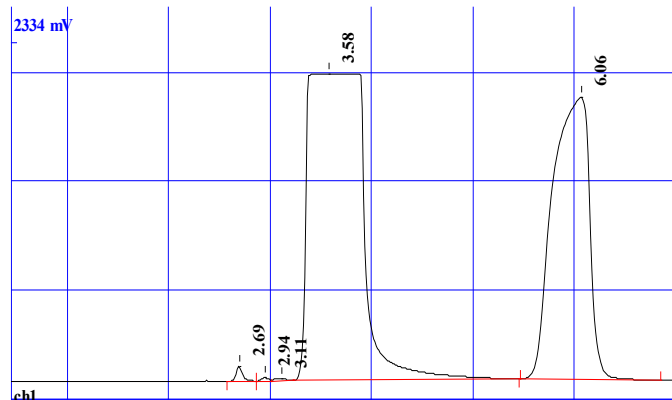


Рис. 3. ВЕРХ

- рис. 3.1. препарату МТ

- рис. 3.2. препарату МТ, який містить 0,5% домішки 4-аміно-1,2,4-триазолу

Визначення вмісту домішки β-брометилбензолу

Умови аналізу:

- Колонка Hypersil ODS C18, 4.6x250 mm, діаметр частинок 5 мкм.

- Елюент: суміш ацетонітрилу і фосфатного буфера pH=2,5-3,0 (50:50 об.%)

3,6 г Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> і 3,4 г Вu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> розчиняли в 500 мл дистильованої води, доводили до pH 2,7 ортофосфорною кислотою і додавали 500 мл ацетонітрилу.

- Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв.

- Аналітична довжина хвилі детектора: 230 нм.

- Об'єм проби, що вводиться, і стандартного розчину Б – 20 мкл.

Результати див. табл. 2, рис. 4.

Таблиця 2

Результати визначення вмісту домішки β-брометилбензолу в препараті МТ

№	Зразок	Брометилбензол	
		Площа, mV*μL	Вміст, мас. %
1	Стандартний зразок препарату МТ	0	0,0
2	Стандартний зразок препарату МТ з вмістом 0,5% β-брометилбензолу	4086,66	0,5

© Л.І. Кучеренко, 2009

Рис. 4.1.

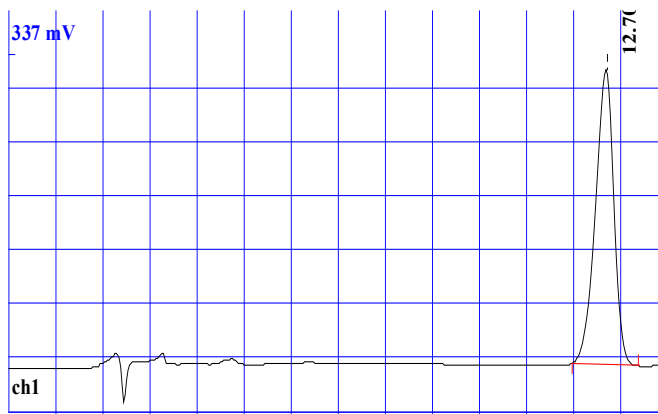


Рис. 4.2.

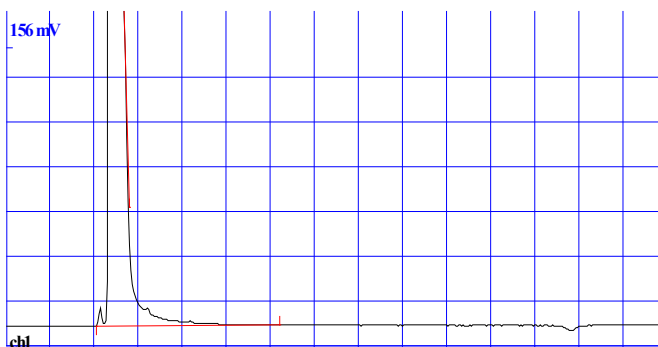


Рис. 4.3.

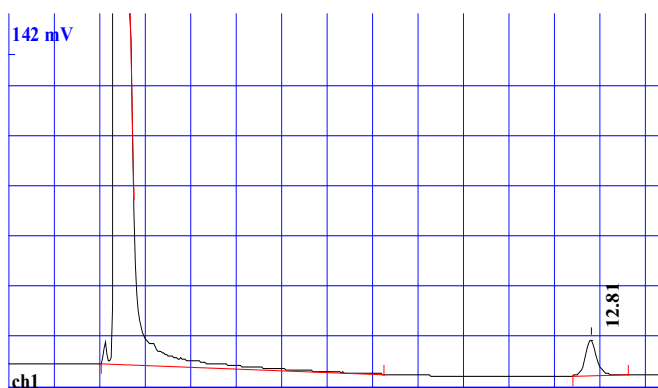


Рис. 4. ВЕРХ

- 4.1. - β-брометилбензолу

- 4.2. - препарату МТ

- 4.3. - препарату МТ, який містить 0,5% домішки β-брометилбензолу

Визначення вмісту домішок в броміді 1-(β-фенилетил)-4-амінотриазолію проводили методом стандартної добавки. Враховуючи, що брометилбензол практично нерозчинний у воді, його розчиняли в ацетонітрилі.

Приготування розчинів

а) Приготування розчину препарату, що досліджується

0,2009 г препарату МТ поміщують в мірну колбу на 10 мл, розчиняють в 4 мл дистильованої води і доводять до мітки дистильованою водою. 5 мл отриманого розчину переносять до мірної колби на 10 мл і доводять до мітки ацетонітрилом.



Результати кількісного визначення препарату МТ

№№ дослідю	Наважка, в мг	$V_K$ в мл	$V_r$ в мл	K	Вміст препа- рату, в %	Статистичне опрацювання
1	2039	0,045	7,48	1,0184	99,98	$\bar{X}$ =99,99833 $S^2=0,000217$ $S=0,01472$ $\Delta \bar{X} =0,014723$
2	2033	0,045	7,46	1,0184	99,99	
3	2049	0,045	7,52	1,0184	100,00	
4	$\bar{X}$ 2052	0,045	7,53	1,0184	100,01	
5	2057	0,045	7,55	1,0184	100,02	
6	$\bar{X}$ 2033	0,045	7,46	1,0184	99,99	

б) Приготування стандартного розчину препарату МТ з вмістом 0,5% 4-аміно-1,2,4-триазолу

Точну наважку 0,0251 г β-брометилбензолу поміщають в мірну колбу на 25 мл і доводять до мітки ацетонітрилом (розчин А). Наважку 0,1001 г препарату МТ поміщають в мірну колбу на 10 мл, розчиняють в 5 мл дистильованої води, додають 0,5 мл розчину А і доводять до мітки ацетонітрилом. Отримують розчин Б.

Якщо прийняти площу піку, що мінімально визначається, 400 mV\*μL, то видно, що дана методика дозволяє визначати домішок β-брометилбензолу в препараті МТ в концентраціях, на порядок менших за ті, що допускаються.

Кількісне визначення препарату МТ

Відомо, що в більшості випадків, для визначення вмісту діючої речовини в лікарських субстанціях використовують хімічні (об'ємні та гравометричні) методи аналізу.

Нами для кількісного визначення субстанції препарату МТ розроблені ацидиметричний метод визначення в неводному середовищі. Як розчинник запропоновано використати суміш безводної мурашиної кислоти та оцтового ангідриду.

**МЕТОДИКА АНАЛІЗУ**

Точну наважку препарату МТ (біля 150 мг) розчиняють у 2 мл кислоти мурашиної, безводної, додають 40 мл оцтового ангідриду і титрують 0,1 М розчином кислоти хлорної потенціометрично, використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів (ДФУ, 2001, 2.2.20).

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину кислоти хлорної відповідає 26,92 мг C<sub>10</sub>H<sub>13</sub>BrN<sub>4</sub> препарату МТ.

Кількісний вміст препарату (X) в процентах вираховують за формулою:

$$X, \% = \frac{(V - V_K) \cdot T \cdot K \cdot 100}{m}$$

Як видно з таблиці 3, розроблений метод кількісного визначення відзначається високою точністю, надійністю та відтворюваністю результатів.

**ЛІТЕРАТУРА**

1. Агеев Ф.Т. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН // Сердечная недостаточность. – 2005. - № 2. – С. 52-58.
2. Рылова А.К., Розанов А.В. Терапия бета-блокаторами в специальных группах пациентов, страдающих ХСН (обзор результатов анализа в подгруппах исследований CIBIS 11, COMET, COPER-NICUS, MERIT HF) // Сердце. – 2003. - № 4. – С.190-196.
3. Кушаковский М.С., Трешкур Т.В. Желудочковая парасистолия как фактор риска развития угрожающих аритмий у больных ишемической болезнью сердца // Материалы 1-й Северо-зап. конф. по проблеме внезапной смерти. – СПб., 1996. – С. 84.
4. Трешкур Т.В. Клинико-электрокардиографическая характеристика ишемических желудочковых аритмий // Вестн. аритмологии. – 2002. - № 30. – С. 31-39.
5. Коняхин А.Ю. Современные патогенетические подходы к коррекции ишемии миокарда: Автореф. дис... д. мед. н. – М., 2007. – 47 с.
6. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики артеріальної гіпертензії: Посібник з Національної програми профілактики артеріальної гіпертензії. – 2004. – 83 с.
7. Bakris G.L. Metabolic effects of carvedilol and metoprolol in patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension // JAMA. – 2008. – Vol. 292, № 11. – P. 2227-2236.
8. Expert consensus document on β-adrenergic receptor blockers. The task force on beta-blockers of European Society of Cardiology // Eur. Heart. J. – 2007. - Vol. 25, – P. 1341-1362.
9. Packer M. Effect of carvedilol on survival in severe chronic heart failure // N. Engl. J. Med. – 2001. – Vol. 31, № 344 (22). – P. 1651-1658.
10. Shaddy R. Carvedilol for Children and Adolescents With Heart Failure // JAMA. – 2007. – Vol. 298, № 9. – P. 1171-1179.
11. White W. Blood pressure monitoring in cardiovascular medicine and therapeutics. – New Jersey: Humana Press, 2001. – 308 p.

**Відомості про автора:**

Кучеренко Людмила Іванівна, кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Адреса для листування: 69035 м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, кафедра фармацевтичної хімії, тел. (0612) 224-69-25