

С.І.МЕРЗЛІКІН, д-р фармац. наук, проф., І.С.ГРИЦЕНКО, д-р. хім. наук, проф.,
О.В.СУВОРОВ, аспірант

Національний фармацевтичний університет

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ЯКОСТІ СУБСТАНЦІЇ ГЕМОСТАТИЧНОГО ЗАСОБУ «СУКЦИФЕНАТ»

Ключові слова: стандартизація, ідентифікація, кількісне визначення, сукцифенат, ТШХ

Фармацевтичний ринок сьогодення має велику потребу у фармакологічно активних субстанціях синтетичного походження, що застосовуються у виготовленні лікарських засобів для зупинення капілярних кровотеч [2–4, 7, 8]. Синтезована в Національному фармацевтичному університеті натрієва сіль 4-ацетилсукцинанілової кислоти є активною речовиною розробленого на її основі оригінального гемостатичного фармакологічного засобу «Сукцифенат». Зазначений засіб позитивно впливає на підвищення перебігу трьох фаз гемокоагуляції, а також чинить інгібуючий вплив на фібринолітичну активність крові [5, 6].

Метою наших досліджень була розробка методик стандартизації якості натрієвої солі 4-ацетилсукцинанілової кислоти відповідно до Державної фармакопеї України (ДФУ) [1].

Результати дослідження та їх обговорення

За проведеними дослідженнями фізико-хімічних властивостей субстанції сукцифенату встановлено, що дана речовина є кристалічним порошком білого або майже білого кольору, яка легко розчинна у воді Р, помірно розчинна в метанолі Р, малорозчинна у 96 % спирті Р та практично нерозчинна у хлороформі Р. Згідно з встановленими вимогами та експериментальними дослідженнями вміст натрієвої солі 4-ацетилсукцинанілової кислоти в субстанції має бути не менше ніж 98,5 % і не більше ніж 101,0 % у перерахунку на суху речовину. Температура плавлення становить близько 278 °C.

Для ідентифікації субстанції сукцифенату запропоновано чотири методики: дві методики засновані на використанні ІЧ- та УФ-спектроскопії, а інші – на використанні методу ТШХ та хімічної реакції.

ІЧ-спектр субстанції сукцифенату (рис. 1) має відповідати таким смугам поглинання: $\nu_{\text{C}-\text{O}}$ у ділянці 1635 cm^{-1} (валентні коливання, I – амідна смуга), δ_{NH} у ділянці 1540 cm^{-1} (деформаційні коливання, II – амідна смуга) та $\nu_{\text{C}-\text{O}}$ у ділянці 1675 cm^{-1} (валентні коливання карбонілу карбоксильної групи), а УФ-спектр поглинання розчину сукцифенату (рис. 2) у ділянці від 220 нм до 330 нм повинен мати максимум при довжині хвилі 288 ± 2 нм.

За методом ТШХ на хроматограмі випробуваного розчину В, одержаного при випробуванні «Супровідні домішки», має виявлятися основна пляма на рівні плями розчину стандартного зразка речовини свідка (СЗРС) сукцифенату, відповідна їй за розміром і забарвленням (рис. 3).

Виходячи з методики одержання досліджуваної субстанції, її супровідною домішкою є 4-аміноацетофенон, вміст якого в сукцифенаті за встановленими вимогами має не перевищувати 0,5 %. На хроматограмі випробуваного розчину сукцифенату (100 мкг у пробі), яку переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм, будь-яка пляма, крім основної, не повинна бути інтенсивнішою за пляму на хроматограмі розчину 4-аміноацетофенону (0,5 мкг у пробі) (рис. 3).

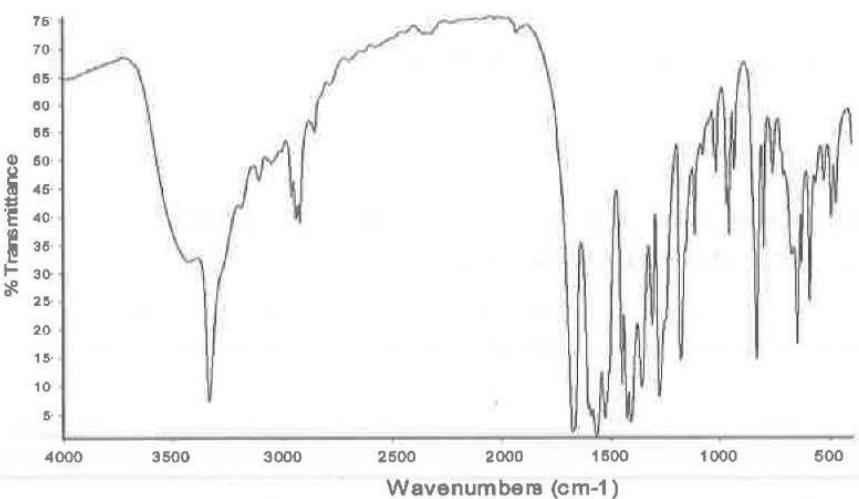


Рис. 1. ІЧ-спектр сукцифенату

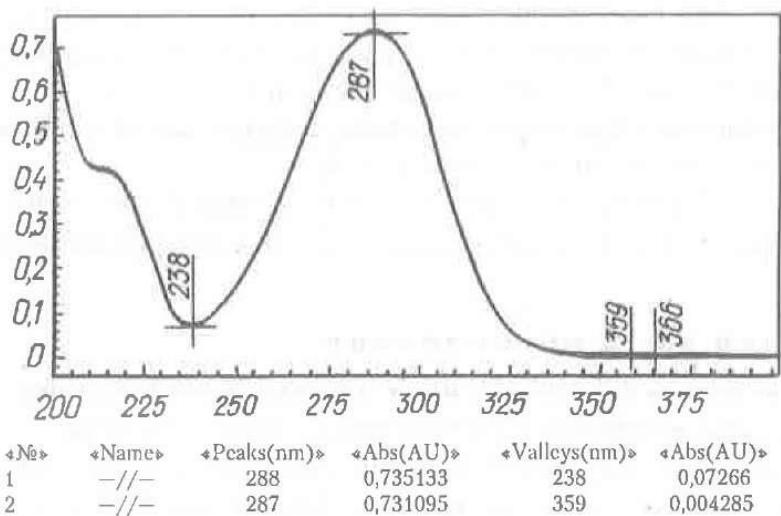


Рис. 2. УФ-спектр розчину сукцифенату ($\omega=0,001\%$)

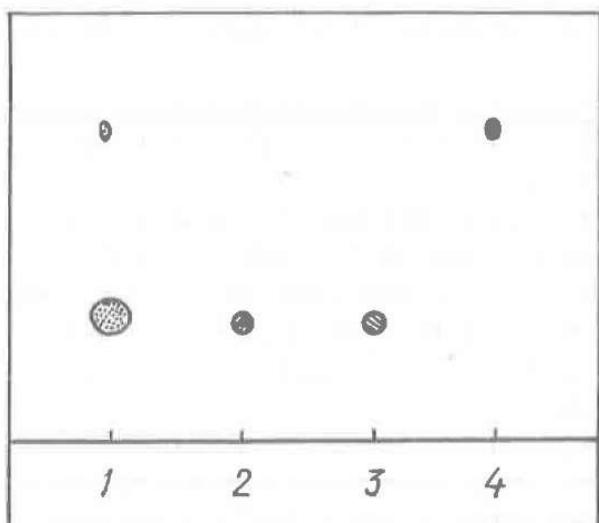


Рис. 3. Схема хроматограм:

1 – хроматограма розчину А (100 мкг сукцифенату); 2 – хроматограма розчину В (10 мкг сукцифенату); 3 – хроматограма розчину СЗРС (10 мкг сукцифенату); 4 – хроматограма розчину Д (0,5 мкг 4-аміноацетофенону)

Для ідентифікації досліджуваної субстанції нами запропоновано реакцію утворення комплексу мідної солі сукцифенату з міді (II) сульфату розчином Р. При додаванні зазначеного реактиву до водного розчину сукцифенату утворюється осад блакитного кольору (реакція на карбоксилат-іон).

За проведеними дослідженнями вміст важких металів у субстанції сукцифенату не перевищує 0,001 %, втрата в масі при висушуванні – 1 %, вміст сульфатної золи – 0,1 % та відсутній вміст бактерій родини Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa і Staphylococcus aureus, що відповідає вимогам ДФУ. pH водного розчину сукцифенату становить від 7,5 до 9,5.

Визначення кількісного вмісту основної речовини в субстанції сукцифенату запропоновано проводити методом pH-потенціометричного титрування. Для цього точну наважку субстанції розчиняли в суміші вода–діоксан (1:3) і одержаний розчин титрували 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої з використанням хлорсрібного електрода (насиченого калію хлоридом) як електрода порівняння.

1 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої відповідає 25,72 мг $C_{12}H_{12}NONa$ (сукцифенату), вміст якого в субстанції має бути не менше ніж 98,5 % і не перевищувати 101 % у перерахунку на суху речовину.

Вміст сукцифенату X у субстанції у %, у перерахунку на суху речовину, вираховують за формулою

$$X = \frac{V \cdot 25,75 \cdot K \cdot 100 \cdot 100}{m_n(100 - \omega)},$$

де: m_n – маса наважки субстанції, г;

V – об’єм 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої Р, використаний на титрування наважки субстанції, мл;

K – поправочний коефіцієнт до полярності 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої Р;

25,72 – кількість сукцифенату, що відповідає 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої Р, мг;

ω – вміст вологи, %.

У табл. 1 наведені результати та метрологічні характеристики кількісного визначення вмісту основної речовини в субстанції сукцифенату.

Експериментальна частина

Ідентифікація. А. Інфрачервоний спектр поглинання (ДФУ, 2.2.24) субстанції має відповідати спектру фармакопейного зразка сукцифенату.

В. 0,1 г субстанції розчиняють у воді Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. 10 мл одержаного розчину доводять водою Р до об’єму 100 мл. Ультрафіолетовий спектр поглинання (ДФУ, 2.2.25) одержаного розчину у ділянці від 220 нм до 330 нм повинен мати один максимум при довжині хвилі 288 нм.

С. На хроматограмі випробуваного розчину В (10 мкг сукцифенату), одержаного при випробуванні «Супровідні домішки», має виявлятися основна пляма на рівні плями розчину СЗРС сукцифенату (10 мкг), яка відповідає їй за розміром і забарвленням.

Д. 0,1 г субстанції вміщують у хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 20 мл води Р і перемішують. До одержаного розчину додають 1 мл міді (II) сульфату розчину Р, в результаті утворюється осад блакитного кольору.

Супровідні домішки. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії, використовуючи пластинки «Сорбфіл ПТСХ-АФ-А-УФ» (Росія) розміром 10x15 см.

Розчин А. 0,050 г препарату розчиняють у метанолі Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин В. 0,050 г препарату розчиняють у метанолі Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Розчин С. 0,050 г 4-аміноацетофенону розчиняють в 96 % спирті Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

Розчин Д. 1 мл розчину С доводять 96 % спиртом Р до об’єму 50 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки, попередньо активованої протягом 30 хв при температурі від 100 до 110 °C, наносять 20 мкл розчину А (100 мкг), 4 мкл розчину В (10 мкг), 4 мкл розчину СЗРС сукцифенату (10 мкг) і 5 мкл розчину Д (0,5 мкг). Пластинку сушать на повітрі протягом 20 хв і вміщують у камеру із сумішшю розчинників: 2-пропанол Р – хлороформ Р – розчин аміаку концентрований Р (60:30:10) – і хроматографують методом вертикального елюювання. Коли фронт розчинників пройде до кінця пластинки, її виймають із камери, сушать на повітрі протягом 5 хв і переглядають в УФ-світлі при довжині хвилі 254 нм.

На хроматограмі випробуваного розчину А будь-яка пляма, крім основної, не повинна бути інтенсивнішою за пляму на хроматограмі розчину Д (0,5 % 4-аміноацетофенону).

Примітки: 1. Приготування розчину СЗРС. 0,050 г препарату розчиняють в метанолі Р і доводять об’єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Розчин використовують свіжоприготовленим.

Таблиця 1

Результати кількісного визначення вмісту основної речовини в сукцифенаті за методом pH-потенціометричного титрування (n=5, p=0,95)

\bar{X} , %	S	$S\bar{x}$	$\Delta\bar{x}$	Sr, %	ϵ , %
99,78	0,86	0,38	1,07	0,86	1,07

2. Перевірка придатності хроматографічної системи. Хроматографічна система вважається придатною, якщо на хроматограмі розчину Д чітко видно пляму 4-аміноацетофенону.

Кількісне визначення. У роботі використовували іономер лабораторний I-130. Як електрод порівняння використовували хлорсрібний електрод, насичений калію хлоридом.

0,100 г субстанції розчиняють у 12 мл води Р, додають 35 мл діоксану Р і титують 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої Р потенціометрично.

Висновки

1. Запропоновані методи ідентифікації сукцифенату за допомогою ІЧ- та УФ-спектроскопії, ТШХ та осадової реакції.

2. Розроблено методику кількісного визначення вмісту основної речовини в субстанції сукцифенату за методом pH-потенціометричного титрування.

1. Державна фармакопея України. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
2. Макаров В.А. // Гематол. и трансфузiol. – 1992. – Т. 37, №1. – С. 34–36.
3. Макаров В.А. // Там же. – 1993. – Т. 38, №6. – С. 36–40.
4. Суховий М.В., Вознюк В.П., Томілін В.В. // Укр. журн. гематол. та трансфузіол. – 2002. – Т. 2, № 3. – С. 57–59.
5. Черних В.П., Березнякова А.І., Бризицька О.А. // Клінічна фармація. – 2000. – Т. 4, № 1. – С. 64–67.
6. Черних В.П., Коваленко С.Н., Журавель Н.А. // ЖОФХ. – 2003. – Т. 1, № 1–2. – С. 6–12.
7. Schulman S. // Blood Coag. Fibrin. – 1998. – Suppl. 9. – P. 97–111.
8. Tagariello A. // Haemophilia. – 2002. – Vol. 6. – P. 581–583.

Надійшла до редакції 20.05.2008.

С.И.Мерзлиkin, И.С.Гриценко, А.В.Суворов

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦИИ КАЧЕСТВА СУБСТАНЦИИ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА «СУКЦИФЕНАТ»

Ключевые слова: стандартизация, идентификация, количественное определение, сукцифенат, ТШХ

Разработаны методики идентификации и количественного определения субстанции сукцифената, пригодные для стандартизации качества при промышленном производстве.

S.I.Merzlikin, I.S.Gritsenko, A.V.Suvorov

DEVELOPMENT OF THE METHODS OF THE SUBSTANCE'S QUALITY STANDARTIZATION OF THE HEMOSTATIC MEDICINE SUCCIPHENATE

Key words: standartization, identification, quantitative determination, succiphenate, thin-layer chromatography

SUMMARY

Methods of identification and quantitative determination of the succiphenate substance, that are valid for the quality standartization during the industrial production, are developed.