

На правах рукописи

КЛЯШЕВА ОЛЬГА НИКОЛАЕВНА

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИК АНАЛИЗА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ
НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СОЕДИНЕНИЯ
КОН-1, ПРОЯВЛЯЮЩЕГО НООТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Пермь – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

Ярыгина Татьяна Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Кобелева Татьяна Алексеевна доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Тюменский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующая кафедрой аналитической и органической химии

Фомин Анатолий Николаевич доктор фармацевтических наук, доцент, ГБОУ ВПО «Ярославский государственный медицинский университет» Минздрава России, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии

Ведущая организация: государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Барнаул

Защита состоится 06 октября 2015 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2. Тел./факс (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> 11 апреля 2014 г. Дата размещения объявления о повторной защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о повторной защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 208.068.01



Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одной из главных задач фармации является создание и освоение производства новых высокоэффективных лекарственных средств, в том числе и различных психотропных препаратов. В последние годы большой интерес исследователей вызывает группа ноотропов. Указанные средства широко используются в различных областях медицины. Однако все известные препараты этой группы обладают лишь отдельными элементами ноотропной активности или являются недостаточно эффективными, или плохо переносимыми из-за побочных эффектов. Поэтому поиск и внедрение новых наиболее активных и малотоксичных ноотропных средств остается актуальной проблемой.

В настоящее время среди ноотропных препаратов преобладает группа рацетамов - пирацетам, анирацетам, фенилпирацетам, фенотропил и др., обладающая широким спектром фармакологической активности, поэтому представляет интерес направленный поиск новых биологически активных соединений (БАС) в ряду производных пирролин-2-она. В ГБОУ ВПО «ПГФА» на кафедре физической и коллоидной химии под руководством проф. Гейна В.Л. на основе трехкомпонентной реакции разработан простой способ синтеза 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-она (КОН-1). Это соединение показало антиамнестическое действие более высокое, чем у пирацетама, поэтому рекомендовано для доклинических исследований в качестве ноотропного средства (Гейн В.Л., 2009; Шевченко И.А., 2000; Шуклина Н.С., 2001).

В связи с этим встает необходимость всестороннего изучения его физико-химических свойств с использованием как классических, так и современных методов анализа, а также разработки методов контроля качества и стандартизации субстанции и лекарственных форм указанного соединения.

Цель и задачи исследования. На основе комплекса физических, физико-химических и химических методов разработать методики оценки качества соединения КОН-1 и использовать их для стандартизации его субстанции.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить **задачи**:

- проанализировать и обобщить данные литературы, касающиеся поиска соединений, обладающих ноотропным действием; физических и химических свойств производных 1,4,5-тризамещенных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она; применению спектрофотометрии в видимой области в анализе лекарственных препаратов и новых БАС;

- изучить физико-химические свойства субстанции КОН-1; установить научно-обоснованные показатели и нормы качества; предложить реакции подлинности КОН-1;

- исследовать УФ-, ИК-, ПМР-спектры соединения КОН-1, оценить полезность полученных данных для его стандартизации; использовать спектральные методы для подтверждения подлинности соединения;

- изучить кислотно-основные свойства соединения, определить его константу ионизации; разработать титриметрическую методику количественного анализа субстанции КОН-1;

- изучить возможность использования спектрофотометрии в УФ- и видимой областях спектра в количественном определении КОН-1; разработать спектрофотометрические методики анализа соединения;

- разработать инструментальные методики (ВЭЖХ, спектрофотометрия в видимой области) для определения посторонних (специфических) примесей в субстанции КОН-1;
- изучить устойчивость субстанции соединения при хранении, установить научно-обоснованные сроки годности объекта исследования;
- составить проект фармакопейной статьи предприятия (ФСП) на субстанцию КОН-1.

Научная новизна. На основании комплексного химико-фармацевтического исследования нового БАС КОН-1 разработана оптимальная система оценки качества субстанции этого соединения.

Установлены физические константы, УФ-, ИК- и ПМР-спектральные характеристики КОН-1.

Нормированы показатели, характеризующие подлинность и доброкачественность КОН-1, предложены реакции подлинности. Разработаны и валидированы методики количественного определения субстанции БАС.

Найдены оптимальные условия обнаружения возможных посторонних примесей в субстанции исследуемого БАС методами ВЭЖХ и спектрофотометрии в видимой области; определения микробиологической чистоты. Разработаны и валидированы инструментальные методики для определения посторонних (специфических) примесей в субстанции КОН-1.

Изучена стабильность и установлены сроки годности субстанции КОН-1.

Практическая значимость и внедрение результатов исследования.

На основе комплекса химических и инструментальных методов разработаны рациональные методики оценки качества субстанции КОН-1.

Установлены нормы качества исследуемого соединения, разработан проект ФСП.

Способы оценки качества субстанции КОН-1, введенные в ФСП, и унифицированная методика спектрофотометрического определения соединений из группы производных 3-пирролин-2-она с положительной оценкой апробированы на предприятии ЗАО «Медисорб» (г. Пермь).

Стандартизованные в соответствии с требованиями проекта ФСП серии субстанции КОН-1 переданы на кафедры токсикологической химии и физиологии с основами анатомии ГБОУ ВПО ПГФА для проведения фармакокинетических исследований соединения.

Отдельные фрагменты диссертационной работы внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии ФОО ГБОУ ВПО ПГФА; использованы при разработке учебно-методического информационного комплекса «Анализ по функциональным группам (енольный гидроксил)» для дистанционного обучения студентов 3 курса фармацевтических ВУЗов.

Апробация работы. Результаты и основные положения диссертационной работы обсуждены на Российской научно-практической конференции, посвященной 75-летию ПГФА «Актуальные проблемы науки фармацевтических и медицинских вузов: от разработки до коммерциализации», Пермь, 2011 г.; 77 Всероссийской научной конференции студентов и молодых учёных с международным участием «Молодёжная наука и современность», Курск, 18-19 апреля 2012 г.; V международной научно-практической конференции «Фармация и общественное здоровье», Екатеринбург, 2012 г.; Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 75-летию со дня рождения В.В. Кормачева «Современные проблемы

химической науки и образования», Чебоксары, 2012 г.; Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Современные проблемы фармацевтической науки», посвященной 75-летию ПГФА, Пермь, 2012 г.; Молодежной конференции «Международный год химии», Казань, 2011 г.; II Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация - потенциал будущего», Санкт-Петербург, 2012 г.; III Международной студенческой научной конференции «Клинические и теоретические аспекты современной медицины», Москва, 2011 г.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России. Номер государственной регистрации 01.9.50.007417.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта специальности - фармацевтическая химия, фармакогнозия.

Личное участие автора в получении научных результатов. Основные экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены самим автором или при его непосредственном участии. Автором выполнены исследования по установлению физических, физико-химических, химических свойств субстанции КОН-1, на основе которых выполнены реакции подлинности, разработаны методики количественного определения и оценки чистоты, изучены стабильность и установлены сроки годности субстанции, систематизированы полученные результаты, составлен проект ФСП.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 11 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 3, и 4 тезисов докладов.

Объем и структура работы. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы (глава 1), экспериментальной части (главы 2 – 6), общих выводов, списка литературы, включающего 167 наименований, приложения. Работа изложена на 154 страницах машинописного текста (из них 15 страниц – приложения); включает 45 таблиц, 31 рисунок, 2 схемы.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Физико-химические свойства, показатели и нормы качества, микробиологическая чистота, реакции подлинности субстанции КОН-1.
2. Использование спектральных методов для подтверждения подлинности субстанции КОН-1.
3. Результаты изучения кислотно-основных свойств соединения КОН-1; алкалиметрическая методика количественного анализа субстанции КОН-1.
4. Инструментальные методики (спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, ВЭЖХ) для определения посторонних (специфических) примесей и количественного определения субстанции КОН-1.
5. Результаты исследования стабильности и установления срока годности субстанции КОН-1.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

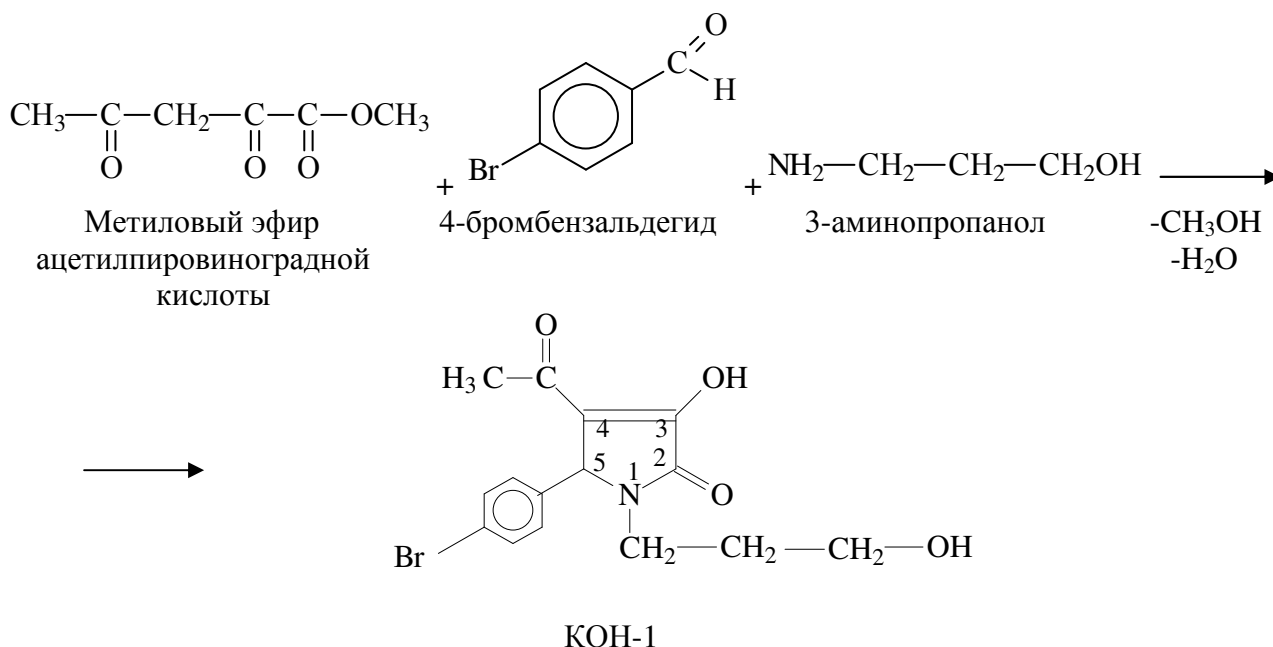
Первая глава представляет собой анализ литературных данных, касающихся характеристики современных ноотропных средств. Показано, что соединения, обладающие ноотропной активностью, обнаружены среди 1,4,5-тризамещенных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она, к числу которых относится КОН-1.

Обзор способов контроля качества соединений, содержащих енольный гидроксил, свидетельствует о возможности использования физических, химических и физико-химических методов в анализе субстанции КОН-1. Установлено, что спектрофотометрия в видимой области спектра широко применяется в фармацевтическом анализе, как для количественного определения лекарственных средств, так и при исследовании их на доброкачественность, благодаря достаточной точности, чувствительности, избирательности и экономичности.

Во второй главе приведены материалы и методы, используемые при проведении экспериментальных исследований. При выборе методов исследования руководствовались требованиями общих фармакопейных статей (ОФС) ГФ XII.

Третья глава посвящена изучению физических свойств лабораторных образцов субстанции КОН-1; нормированию показателей, определяющих доброкачественность соединения; исследованию УФ-, ИК-, ЯМР ¹H-спектров субстанции; разработке ряда цветных реакций, основанных на свойствах функциональной группы и структуры соединения.

7 опытных серий субстанции КОН-1 – (4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он) получены на кафедре физической и коллоидной химии под руководством профессора Гейна В.Л. по схеме:



Все исследования проведены на 5 сериях субстанций: 241109, 100210, 261010, 300311, 270212. Серии субстанции 061209, 150410 использовали только при изучении сроков годности КОН-1.

По внешнему виду все 7 серий субстанции КОН-1 представляют собой белые мелкокристаллические порошки, без запаха. При определении растворимости использовали растворители разной полярности (с различным значением диэлектрической проницаемости - ϵ). Результаты исследования представлены в табл. 1.

Таблица 1 – Растворимость субстанции КОН-1 в некоторых растворителях

Растворитель	ϵ	Растворимость в частях	Растворимость в терминах ГФ XII
Диметилформамид	37,60	1:10	Легко растворим
Спирт 96%	24,30	1:25	Растворим
Ацетон	20,70	1:50	Умеренно растворим
1,4-Диоксан	2,95	1:300	Мало растворим
Хлороформ	4,81	1:400	Мало растворим
1-Бутанол	17,10	1:500	Мало растворим
Кислота уксусная 30%	9,50	1:700	Мало растворим
Гексан	2,22	1:более 10000	Практич. не растворим
Вода очищенная	78,30	1: более 10000	Практич. не растворим

Интервал температуры плавления различных серий субстанции составляет от 212 °С до 214 °С. Реакция среды извлечений, полученных при обработке водой субстанции (рН 5,60-5,80; потенциометрический метод), свидетельствует об отсутствии в соединении примесей кислотного или основного характера. Для проведения испытания «Кислотность или щелочность» использован один из подходов, рекомендованный ГФ XII: полуколичественное индикаторное титрование. Окраска индикатора метилового красного должна измениться от прибавления к водному извлечению из субстанции не более 0,15 мл 0,01 М растворов хлористоводородной кислоты или натрия гидроксида.

Содержание летучих веществ и воды во всех сериях субстанции КОН-1 не превышает 0,5 %; субстанция не гигроскопична. Количество общих технологических примесей в субстанции нормировано в пределах: хлориды – не более 0,01 %; сульфаты – не более 0,05 %; сульфатная зола – не более 0,1 %; тяжелые металлы – не более 0,001 %.

В целях всестороннего изучения свойств 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-она были получены и проанализированы его УФ-, ИК- и ЯМР ^1H -спектры; показана возможность использования полученных данных для разработки методик оценки качества субстанции КОН-1.

В ИК-спектре, снятом на ИК-микроскопе IN10 TERMO SCIENTIFIC, присутствуют полосы поглощения лактамной карбонильной группы при 1688-1696 см^{-1} , кетонной карбонильной группы при 1666-1676 см^{-1} , углерод-углеродной связи при 1627 см^{-1} , гидроксильной группы при 3110-3120 см^{-1} . Рекомендовано приоритетное установление подлинности субстанции соединения по ИК спектру.

УФ-спектры КОН-1 в нейтральном растворителе (спирт 96%) и 0,01 М растворе натрия гидроксида (рН 12) (рис. 1) имеют один четко выраженный максимум поглощения при 328 ± 2 нм, минимум – при 283 ± 2 нм. Величина отношения поглощения в максимуме к поглощению в минимуме ($E_{\text{макс}} / E_{\text{мин}}$) составляет 4,5. В 0,01 М растворе кислоты хлористоводородной наблюдается гипсохромный сдвиг

поглощения КОН-1 в область 230-260 нм - «плечо»; при этом отсутствуют выраженные экстремумы поглощения. Поглощение КОН-1 в УФ-области обусловлено электронными переходами внутри пирролинового цикла; изменение положения максимума поглощения в нейтральной и щелочной средах объясняется ионизацией енольной гидроксильной группы.

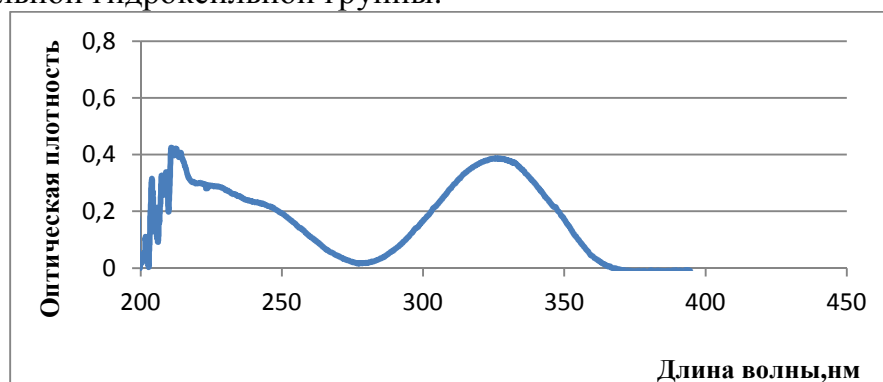


Рисунок 1 - УФ-спектр 0,001% раствора КОН-1 в 0,01 М растворе NaOH

По УФ-спектрам КОН-1 нами рассчитаны оптические характеристики (табл. 2): удельный ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) и молярный (ϵ) показатели поглощения, полуширина полосы поглощения ($\Delta\nu_{1/2}$), фактор асимметрии (ρ), интегральная интенсивность полосы поглощения ($\int_0^{\infty} \epsilon(\nu) d\nu$), сила осциллятора (f), момент электронного перехода (μ), которые дают более полное представление о спектрах поглощения и позволяют отличать КОН-1 от аналогичных производных 3-пирролин-2-она.

Величины полуширины полос поглощения имеют приемлемые значения, что обуславливает воспроизводимость и правильность определения. Сила осциллятора полос спектров поглощения находится в пределах 0,243-0,273, что подтверждает существование $\pi \rightarrow \pi^*$ электронных переходов при поглощении света исследуемым соединением. Для спектра КОН-1 в кислой среде рассчитать оптические характеристики невозможно, т.к. он не имеет четко выраженных полос поглощения.

Таблица 2 - Оптические характеристики УФ-спектров поглощения КОН-1

Среда	λ max, нм	ν max, см^{-1}	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	ϵ	$\Delta\nu_{1/2}$ (см^{-1})	ρ	$\int_0^{\infty} \epsilon(\nu) d\nu$ $\cdot 10^{-8}$	f	$\mu \cdot 10^9$
Щелочная	213	46948	348	12326	-	-	-	-	-
	328	30488	384	13601	4377	0,668	0,633	0,273	9,08
Нейтральная	328	30488	366	12964	4077	0,694	0,562	0,243	8,57
Кислая	200	50000	649	22987	-	-	-	-	-
	233	42918	377	13353	-	-	-	-	-
	254	39370	343	12149	-	-	-	-	-

Спектр ЯМР ^1H исследуемого соединения записан с рабочей частотой 300 МГц в дейтерированном диметилсульфоксиде (ДМСО – d_6), в качестве внутреннего стандарта измерений химических сдвигов использовали тетраметилсилан $\delta(\text{TMS}) = 0,00$ мд. Спектры записаны доц. Вахриным М.И.

В спектре ЯМР ^1H соединения наблюдаются синглет метинового протона в положении 5 гетероцикла при 5,15 м.д., мультиплет ароматических протонов при 7,02-7,46 м.д., синглет протона енольной гидроксильной группы пирролинового цикла и триплет протона гидроксильной группы алифатической цепи при 11,4 и 4,3 м.д. соответственно, синглет протонов метильной группы при 2,24 м.д., два мультиплета протонов метиленовой группы в положении 3 алифатической цепи при 2,61 и 3,45 м.д., дублет протонов метиленовой группы алкильного заместителя в положении 1 и мультиплет протонов метиленовой группы в положении 2 при 3,27 и 1,48 м.д. соответственно. Как видно, спектр ЯМР ^1H подтверждает структуру исследуемого соединения и может быть использован для отличия КОН-1 от близких по химической структуре веществ.

Для идентификации КОН-1 использовали реакции подлинности, обусловленные свойствами енольного гидроксила в его структуре. Указанная функциональная группа придает соединению слабые кислотные свойства, обуславливает взаимодействие с катионами металлов с образованием солей. Наличие бензольного радикала в молекуле КОН-1 позволяет проведение реакций электрофильного замещения. Чувствительность реакций устанавливали методом последовательных разбавлений исходного спиртового раствора субстанции.

Для подтверждения подлинности субстанции КОН-1 предложены следующие реакции с: железа(III) хлоридом (предельное разбавление 1:40000; предел обнаружения 0,05 мг); меди(II) сульфатом (предельное разбавление 1:4000; предел обнаружения 0,5 мг); серной кислотой концентрированной (предел обнаружения 0,1 мг); раствором формальдегида в серной кислоте (предел обнаружения 0,2 мг).

Для установления избирательности (селективности) предлагаемых реакций параллельно проводились исследования (табл. 3) с аналогичными производными 3-пирролин-2-она: ВКВ-1 и ВКВ-2 (отличаются от КОН-1 заместителем в 1 положении цикла – содержат карбоксиалкильную группу).

Таблица 3 - Эффекты реакций КОН-1, ВКВ-1 и ВКВ-2

Реактив	Эффект реакции (окрашивание)		
	КОН-1	ВКВ-1	ВКВ-2
FeCl_3	Красное	Красное	Красное
CuSO_4	Зеленое	Зеленое	Зеленое
H_2SO_4	Красное	Желтое	Желтое
Формальдегид + H_2SO_4	Желтое	Зеленое	Желтое

В проект ФСП на субстанцию КОН-1 включены достаточно чувствительные реакции с раствором железа(III) хлорида (общегрупповая реакция) и серной кислотой концентрированной (избирательная реакция).

По методике ОФС ГФ XII на базе кафедры микробиологии (зав. кафедрой профессор Одегова Т.Ф.) исследована микробиологическая чистота субстанции КОН-1. Установлено, что соединение в условиях опыта не обладает противомикробной активностью. Показано отсутствие бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Содержание аэробных бактерий,

плесневых и дрожжевых грибов соответствует требованиям ГФ XII (категория 2.2 – нестерильные лекарственные средства) в течение предлагаемого срока хранения.

В четвертой главе изложены результаты изучения кислотно-основных свойств КОН-1, разработки и валидации методик количественного определения исследуемого БАС методом алкалиметрического титрования, спектрофотометрии в УФ- и видимой областях.

Рассчитанные по результатам потенциометрического титрования значения pK_a КОН-1 в водно-спиртовом и водно-диметилформамидном растворах составили $3,21 \pm 0,03$ и $4,85 \pm 0,07$, соответственно, что свидетельствует о достаточно сильных кислотных свойствах соединения. На кривых титрования КОН-1 наблюдался один скачок в области рН 6,5-9,4, что полностью согласуется с константами ионизации исследуемой субстанции. При визуальном определении точки эквивалентности рекомендовано использовать фенолфталеин, имеющий четкий переход окраски индикатора. В качестве растворителя субстанции выбран спирт 96%, повышающий кислотные свойства КОН-1.

Для оценки пригодности разработанной методики алкалиметрического определения субстанции КОН-1 проведена её валидация по показателям: линейность результатов, правильность и сходимость в аналитической области методики.

Для установления линейной зависимости осуществляли статистическую обработку выборок, полученных в результате количественного анализа навесок субстанции КОН-1 на трех уровнях концентрации (в диапазоне 80-120% от количества исследуемого вещества, принятого за 100% - 0,2 г). На каждом уровне концентрации КОН-1 и в целом в пределах рекомендуемой аналитической области методики получены сходимые результаты (табл. 4). Линия тренда графика пересекает ось «Объем титранта» в точке 0,001 мл, что свидетельствует о правильности разработанной методики.

Таблица 4 - Метрологическая характеристика алкалиметрической методики определения субстанции КОН-1

Уровень концентрации и КОН-1	Навеска, г	Объем титранта, мл	Содержание КОН-1, %	Метрологические данные					
				n	\bar{X}	S	$S\bar{x}$	ΔX сред	ϵ сред
80 %	0,16117	4,56	100,21	3	100,0	0,1	0,1	0,66	0,65
	0,16075	4,54	100,03						
	0,16235	4,58	99,92						
100 %	0,20525	5,80	100,09	3	99,96	0,1	0,0	0,41	0,40
	0,20381	5,75	99,93						
	0,19790	5,58	99,87						
120 %	0,24236	6,85	100,11	3	100,0	0,2	0,1	1,29	1,26
	0,24027	6,80	100,24						
	0,23935	6,75	99,89						
Вся аналитическая область				9	100,0	0,1	0,1	0,79	0,78
				3	7	2			
Уравнение линии тренда				$Y = 28,263X + 0,001$					

Повторяемость (сходимость) устанавливали по результатам 6 параллельных определений, полученных по предлагаемой методике. Относительная ошибка среднего результата не превышает $\pm 0,20\%$.

Разработанная методика использована для количественного определения пяти серий субстанции КОН-1. Установлено (табл. 5), что содержание исследуемого вещества в субстанции составляет не менее 99%. Методика включена в проект ФСП на субстанцию КОН-1 в раздел «Количественное определение».

Таблица 5 – Результаты количественного определения различных серий субстанции КОН-1 (n=5) алкалиметрическим методом

Серия	$X_{\text{средн}}$	$Sx_{\text{средн}}$	$\Delta X_{\text{средн}}$	$\epsilon_{\text{средн}}$
241109	99,87 (n=6)	0,077	0,20	$\pm 0,20$
100210	99,74	0,093	0,26	$\pm 0,26$
261010	99,85	0,105	0,29	$\pm 0,29$
300311	99,65	0,127	0,35	$\pm 0,35$
270212	99,58	0,095	0,26	$\pm 0,26$

Наличие у КОН-1 четко выраженного максимума поглощения в растворе натрия гидроксида и высокое значение удельного показателя поглощения позволило нам разработать методику его спектрофотометрического определения в УФ-области.

Исследуемое БАС при взаимодействии с солями железа(III) образует устойчивое, интенсивно окрашенное соединение красного цвета. Реакция положена в основу его спектрофотометрического определения в видимой области.

Установлено что, спектр поглощения продукта реакции КОН-1 с 1% раствором железа(III) хлорида в интервале длин волн от 350 до 700 нм характеризуется наличием двух максимумов поглощения при 400 и 480 нм. Первый интенсивный максимум обусловлен поглощением раствора железа(III) хлорида и самого КОН-1. При 480 нм железа(III) хлорид обладает незначительным поглощением — оптическая плотность не превышает 0,03. Поэтому в качестве аналитической длины волны для КОН-1 выбрана 480 нм; в качестве раствора сравнения необходимо использовать раствор железа(III) хлорида соответствующей концентрации.

Изучены состав и оптимальные условия образования продукта реакции КОН-1 – железо(III) методами изомольных серий и мольных отношений. Установлено, что КОН-1 взаимодействует с железом(III) хлоридом в соотношении 2:1. Для полноты протекания реакции КОН-1 – железа(III) хлорид необходим не менее чем 1,5-кратный избыток реактива. Для образования продукта реакции КОН-1 - железо(III) необходимо присутствие воды в реакционной смеси.

Для оценки пригодности разработанных спектрофотометрических методик проведена их валидация по показателям: линейность результатов, правильность и сходимость в аналитической области методики, предел обнаружения, избирательность (табл. 6).

Таблица 6 - Валидация спектрофотометрических методик определения КОН-1

Показатель	Измерение результатов в области	
	УФ	видимая
Длина волны, нм	328	480
Линейность в пределах концентраций КОН-1, мкг/мл	2 – 20	20 – 200
Уравнение графика	$Y = 0,0406 X + 0,0041$	$Y = 0,003035 X - 0,0001$
Коэффициент корреляции	0,999	0,999
Предел обнаружения, мкг/мл	0,617	7,87
Повторяемость результатов (n = 7)	ϵ не превышает $\pm 2,15\%$	ϵ не превышает $\pm 0,91\%$
Правильность результатов (на 3 уровнях концентр.)	Линия тренда пересекает ось «Оптическая плотность» в точке 0	
Избирательность	Вспомогательные вещества не мешают анализу	

Спектрофотометрические методики дают точные (правильные и сходимые) результаты; обладают достаточно высокой чувствительностью и избирательностью; просты в исполнении, не требуют дорогостоящих, токсичных реагентов. Методики рекомендованы для количественного определения КОН-1 в составе гранулята, содержащего лактозу и ПВП.

Пятая глава посвящена разработке методик определения посторонних (специфических) примесей в субстанции КОН-1. В ней представлены экспериментальные исследования по установлению оптимальных условий определения 3-аминопропанола (3-АПР), метилового эфира ацетилпировиноградной кислоты (МЭАПВК) и 4-бромбензальдегида (4-ББА); разработке и валидации методик анализа.

Для определения примеси 3-АПР – выбран спектрофотометрический метод в видимой области как наиболее простой, достаточно точный, не требующий дорогих и токсичных реактивов. Для получения окрашенного продукта использована реакция с нингидрином.

Установлено, что спектры поглощения продукта реакции 3-АПР - нингидрин, полученного при различных значениях рН в интервале от 6,0 до 7,4, характеризуются двумя четко выраженными максимумами поглощения при длине волны 400 ± 2 нм и 568 ± 2 нм, положение которых не зависит от рН буферного раствора. Реакция среды существенно влияет на интенсивность поглощения, максимальная оптическая плотность у 3-АПР достигается при рН 6,8. В качестве аналитической волны для 3-АПР была выбрана 568 нм.

Исследования показали, что введение восстановителя - аскорбиновой кислоты - в реакционную массу не изменяет характера спектра поглощения продукта реакции 3-АПР - нингидрин, но значительно увеличивает интенсивность светопоглощения, придаёт зависимости оптической плотности от концентрации линейный характер

(рис. 2). Область линейности графика составляет 0,75-4,50 мкг/мл. Предел обнаружения для 3-АПП составляет 0,155 мкг/мл.

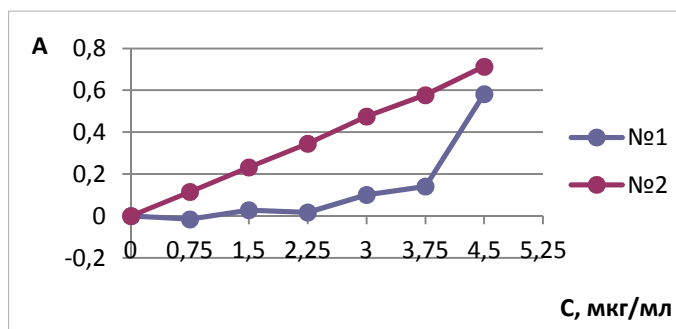


Рисунок 2 - Калибровочный график продукта реакции 3-АПП-нингидрин
 № 1 - без добавления аскорбиновой кислоты;
 № 2 – с добавлением аскорбиновой кислоты

Разработана методика определения примеси 3-аминопропанола в субстанции КОН-1. Методом дифференциальной спектрофотометрии (методом добавок) доказана её избирательность. Относительная ошибка среднего результата не превышает $\pm 5,21\%$, что свидетельствует о повторяемости результатов (табл. 7).

Таблица 7 – Результаты определения примеси 3-АПП в субстанции КОН-1

Оптическая плотность исследуемого раствора	Оптическая плотность стандартного раствора	Определено примеси 3-АПП, %	Метрологическая характеристика методики
0,102	0,480	0,0320	$X_{\text{средн}} = 0,0329$ $S = 0,00138$; $S_{x \text{ средн}} = 0,000617$ $\Delta X = 0,0038$; $\Delta X_{\text{средн}} = 0,0017$ $\varepsilon = \pm 11,70\%$; $\varepsilon_{\text{средн}} = \pm 5,21\%$
0,110		0,0345	
0,107		0,0335	
0,099		0,0310	
0,107		0,0335	
0,107		0,0335	

Методика апробирована на 3 сериях субстанции КОН-1. Полученные результаты, %: $0,035 \pm 0,002$; $0,030 \pm 0,002$; $0,023 \pm 0,003$. Методика высокочувствительна; позволяет определять до $0,02\%$ примеси 3-АПП в субстанции КОН-1. Рекомендуются нормировать содержание примеси в КОН-1 не более $0,05\%$ (оптическая плотность испытуемого раствора не более $0,15$). Методика включена в ФСП на субстанцию КОН-1.

Для определения посторонних примесей МЭАПВК и 4-ББА в субстанции КОН-1 оптимальным явился метод обращённо-фазной ВЭЖХ. Анализ методом ВЭЖХ проводили на базе лаборатории хроматографических методов РИЦ «Фарматест» ПГФА при участии зав. лабораторией доц. Карпенко Ю.Н. (руководитель РИЦ «Фарматест» проф. Малкова Т.Л.).

Изучен характер спектров поглощения КОН-1, МЭАПВК и 4-ББА в подвижных фазах с различными значениями рН. Анализ полученных спектров показал, что состав

подвижной фазы и реакция среды оказывают значительное влияние на характер поглощения исследуемых веществ. Выбраны аналитические длины волн детектирования возможных примесей в КОН-1: МЭАПВК: 284 нм при использовании элюента ацетонитрил - 0,05% раствор трифторуксусной кислоты (рН 3); 306 нм – ацетонитрил – вода (рН 5,8); 310 нм – ацетонитрил - фосфатный буфер (рН 7); 4-ББА: 260 нм (во всех используемых подвижных фазах). Для оптимизации методики в плане экспрессности был применен градиентный режим элюирования, который позволил сократить время анализа до 20 мин.

В результате исследований для определения посторонних примесей в субстанции КОН-1 выбраны следующие хроматографические условия:

- хроматографическая колонка из нержавеющей стали (25 см × 4,6 мм), заполненная обращённо-фазным сорбентом Discovery® C18 5 мкм);
- объем вводимой пробы – 20 мкл;
- температура термостата колонки – 40°C;
- подвижная фаза: фосфатный буфер (рН 7) – ацетонитрил;
- режим элюирования – градиентный (исходная доля ацетонитрила в элюенте – 20% в течение 10 мин, с 10 по 20 мин возрастание доли ацетонитрила до 80%);
- скорость потока подвижной фазы – 1,5 мл/мин.
- длина волны детектирования – 310 нм (для МЭАПВК), 260 нм (для 4-ББА).

Валидацию методики проводили по параметрам: специфичность, линейность, предел обнаружения и предел количественного определения, повторяемость (сходимость), правильность.

Методика специфична, т.к. на хроматограммах модельной смеси КОН-1 и возможных примесей, снятых при 260 и 310 нм, наблюдается четкое разделение пиков анализируемых веществ (рис. 3 и 4). При анализе модельной смеси оценены параметры, характеризующие пригодность хроматографической системы (табл. 8). Полученные данные свидетельствуют о приемлемом разрешении и воспроизводимости хроматографической системы.

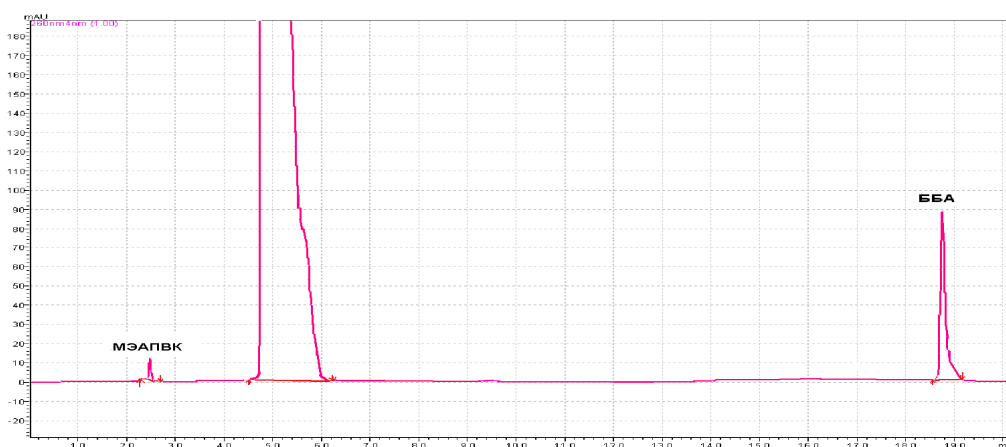


Рисунок 3 - Хроматограмма модельной смеси КОН-1 и примесей (МЭАПВК и 4-ББА) в метаноле (длина волны детектирования – 260 нм)

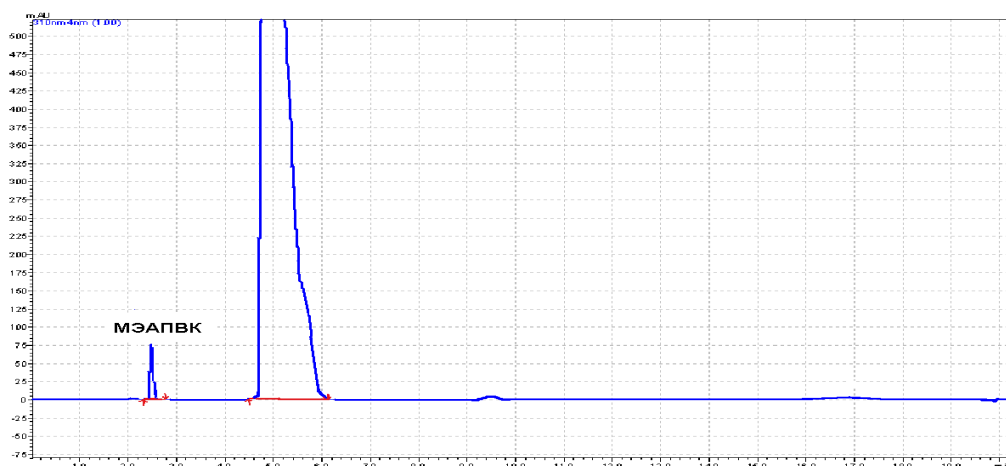


Рисунок 4 - Хроматограмма модельной смеси КОИ-1 и примеси (МЭАПВК) в метаноле (длина волны детектирования – 310 нм)

Таблица 8 - Параметры пригодности хроматографической системы

Вещество	Время удерживания, мин*	Коэффициент разделения пиков R_s	Коэффициент асимметрии	Эффективность колонки (N), тт	RSD площади пика, % *
МЭАПВК	2,40 ± 0,02		1,21	4020	0,55
КОИ-1	5,45 ± 0,02	6			
4-ББА	18,78 ± 0,03	17	1,35	8900	0,32
<i>Критерий приемлемости:</i>					
		не менее 2	0,8 – 1,5	более 2000	не более 2

*- расчет проводился по 5 хроматограммам раствора

Доказана линейность разработанной методики в пределах концентраций соединений 2-20 мкг/мл; коэффициент корреляции 0,998. Предел обнаружения МЭАПВК – 0,8 мкг/мл (0,04% от содержания в субстанции КОИ-1); предел количественного определения – 1,5 мкг/мл (0,075% от содержания в субстанции КОИ-1). Предел обнаружения 4-ББА – 0,3 мкг/мл (0,015% от содержания в субстанции КОИ-1); предел количественного определения – 0,5 мкг/мл (0,025% от содержания в субстанции КОИ-1).

Оценку внутрилабораторной повторяемости разработанной методики проводили на модельных растворах. Относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 10,0%, что свидетельствует об удовлетворительной сходимости результатов на всех уровнях рассматриваемых концентраций для обоих веществ.

При определении правильности методики оценивали открываемость известного количества посторонних примесей, введенных в плацебо (субстанцию КОИ-1). Исследования проведены на трех уровнях содержания примесей (табл. 9 и 10). Границы открываемости МЭАПВК и ББА не выходят за пределы 75–125%,

рекомендованные при количественном определении примесей с нормой содержания от 0,1 до 1%.

Таблица 9 – Оценка правильности методики определения МЭАПВК

Содержание МЭАПВК в модельной смеси, мкг/мл	Открываемость (R), %	Метрологические характеристики (P =0,95; n=6)				
		n	R ср.	SD	RSD	ΔR
2	79,2; 82,5; 88,6; 77,2; 101,5; 86,2	6	89,2	8,47	9,50	9,00
10	100,1; 87,4; 94,2; 103,6; 89,1; 97,8	6	95,4	6,23	6,54	6,64
15	102,1; 98,9; 100,5; 97,3; 99,1; 97,8	6	98,8	2,61	2,65	2,78

Таблица 10 – Оценка правильности методики определения 4-ББА

Содержание 4-ББА в модельной смеси, мкг/мл	Открываемость (R), %	Метрологические характеристики (P =0,95; n=6)				
		n	R ср.	SD	RSD	ΔR
2	99,7; 105,1; 93,4; 97,1; 102,7; 90,9	6	98,15	4,36	4,44	5,70
10	102,5; 95,6; 100,8; 95,2; 92,0; 98,1	6	97,37	3,87	3,97	4,07
15	96,2; 102,8; 100,3; 92,8; 98,4; 94,3	6	97,47	3,48	3,58	3,94

Анализ пяти серий субстанции КОН-1 показал, что содержание в них посторонних примесей МЭАПВК и 4-ББА не превышает 0,1%. Разработанная методика включена в проект ФСП на субстанцию КОН-1.

В шестой главе изложен эксперимент и приведены результаты изучения стабильности исследуемого соединения в естественных условиях.

Образцы 5 опытных серий субстанции КОН-1 хранили в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре в банках оранжевого стекла с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчивающимися пластмассовыми крышками по ОСТ 64-2-87-81.

Контроль качества изучаемых образцов проводили по основным показателям (описание, подлинность, температура плавления, посторонние примеси, 3-аминопропанол, микробиологическая чистота, количественное определение), которые определяли через промежутки времени, соответствующие году хранения.

Проведенные исследования позволили сделать вывод о стабильности КОН-1 в течение не менее 3 лет. Таким образом, предварительно установлен 3-х летний срок годности субстанции нового БАВ. Изучение стабильности субстанции КОН-1 при хранении в естественных условиях продолжаются.

На основании диссертационных исследований разработан проект ФСП (табл. 11).

Таблица 11 – Спецификация. КОН-1, субстанция

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический. ГФ XII, ч.1, с. 17, 484	Белый кристаллический порошок, без запаха
Растворимость	ГФ XII, ч. 1, с. 92	Легко растворим в диметилформамиде, мало растворим в спирте 96%, практически не растворим в воде
Подлинность	Инфракрасная спектроскопия	Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом, в области от 4000 до 400 см ⁻¹ по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра КОН-1 (Приложение).
	Ультрафиолетовая спектрофотометрия	Ультрафиолетовый спектр поглощения 0,001% раствора субстанции в области от 220 до 350 нм должен иметь максимум при 328 ± 1 нм.
	Качественная реакция с 3% раствором железа(III) хлорида	Появление красного окрашивания.
	Качественная реакция с кислотой серной концентрированной	Появление красного окрашивания.
Температура плавления	ГФ XII, ч.1, с. 29, метод 1	От 212 до 214 °С
Кислотность или щелочность	ГФ XII, ч. 1	Окраска метилового красного должна измениться от прибавления не более 0,15 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты или 0,01 М раствора натрия гидроксида.
Посторонние примеси	ВЭЖХ	Любая единичная неидентифицированная примесь - не более 0,25%; сумма примесей - не более 0,5%.
3-Аминопропанол	Спектрофотометрия	Не более 0,05%
Хлориды	ГФ XI, вып. 1, с. 165	Не более 0,01%
Сульфаты	ГФ XI, вып. 1, с. 165	Не более 0,05%
Сульфатная зола	ГФ XII, ч. 1, с. 115	Не более 0,1%
Тяжелые металлы	ГФ XII, ч. 1, с. 121; метод 1	Не более 0,001%

Потеря в массе при высушивании	ГФ XI, вып. 1, с. 176	Не более 0,5%
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ч. 1, с. 160	Категория 2.2
Количественное определение	Титриметрический метод	Не менее 99,0% $C_{15}H_{16}NO_4Br$ в пересчете на сухое вещество
Упаковка	По 1 кг в банки из стекломассы оранжевого цвета с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками и прокладками по ОСТ 64-2-87-81. На банки наклеивают этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86	
Маркировка	Соответствует ФС	
Транспортирование	ГОСТ 17768-90	
Хранение	В сухом защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С.	
Срок годности	3 года	

ВЫВОДЫ

1. В результате химико-фармацевтических исследований субстанции КОН-1 (4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он) нормированы показатели, характеризующие её подлинность и доброкачественность: описание, растворимость, температура плавления, кислотность и щелочность раствора; потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, предельное содержание хлоридов и сульфатов, микробиологическая чистота. Для идентификации КОН-1 использованы реакции подлинности, обусловленные свойствами енольного гидроксила и бензольного радикала в его структуре. В проект ФСП на субстанцию КОН-1 включены реакции с раствором железа(III) хлорида (общегрупповая реакция) и серной кислотой концентрированной (избирательная реакция), предел обнаружения составил соответственно 0,05 и 0,1 мг.

2. Исследованы спектральные характеристики КОН-1 в УФ- и ИК-областях. Рекомендовано приоритетное установление подлинности субстанции соединения по ИК-спектру. Рассчитанные оптические параметры электронных спектров (удельный и молярный показатели поглощения; полуширина полосы поглощения; фактор асимметрии; интегральная интенсивность полосы поглощения; сила осциллятора; момент электронного перехода), имеющие индивидуальные значения, позволяют их использовать для дополнительной идентификации КОН-1 (для отличия от аналогичных производных 3-пирролин-2-она). Показана возможность использования метода H^1 ЯМР для отличия от близких по химической структуре веществ.

3. Рассчитанные по результатам потенциометрического титрования КОН-1 значения pK_a в водно-спиртовом и водно-диметилформамидном растворах составили $3,21 \pm 0,03$ и $4,85 \pm 0,07$ соответственно, что свидетельствует о достаточно сильных кислотных свойствах КОН-1. На кривых титрования КОН-1 наблюдался один скачок в области pH 6,5-9,4. Разработана методика алкалиметрического определения субстанции КОН-1 (в среде спирта 96%, индикатор – фенолфталеин). Пригодность методики доказана её валидацией по показателям: линейность результатов, правильность и сходимость в аналитической области. Относительная ошибка среднего

результата не превышает $\pm 0,20\%$. Методика включена в проект ФСП на субстанцию КОН-1.

4. Разработаны и валидированы спектрофотометрические методики количественного определения КОН-1 в УФ- и видимой области (на основе реакции с железа(III) хлоридом). Графики зависимости оптической плотности от концентрации раствора КОН-1 имеют линейный характер в области 2-20 мкг/мл и 0,02-0,2 мг/мл соответственно. Исследования, проведенные на трех уровнях концентрации КОН-1, свидетельствует о точности методик. Методики избирательны и могут быть использованы для количественного определения соединения КОН-1 в составе гранулята, содержащего лактозу и ПВП.

5. Разработана спектрофотометрическая методика определения примеси 3-АПР в субстанции КОН-1 (на основе реакции с нингидрином). Предел обнаружения примеси составляет 0,155 мкг/мл; относительная ошибка среднего результата не превышает $\pm 5,50\%$. Для определения примесей МЭАПВК и 4-ББА в субстанции КОН-1 предложен метод ВЭЖХ (обращённо-фазный вариант). Валидация разработанной методики по параметрам специфичность, линейность, предел обнаружения и предел количественного определения, повторяемость, правильность показала её приемлемость для определения 0,05-0,75% примесей МЭАПВК и 4-ББА в субстанции КОН-1.

6. Установлена стабильность субстанции КОН-1 в условиях естественного хранения при температуре 20°C в сухом, защищенном от света месте (период наблюдения три года).

7. На основании проведённых исследований составлен проект ФСП на субстанцию КОН-1.

Основные положения диссертации опубликованы в работах:

1. Шестакова, Т.А. Изучение реакции КОН-1 с раствором железа(III) хлорида в применении к его количественному определению / Т.А. Шестакова, О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, В.Л. Гейн // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – Научно-практический журнал.- № 6. – Пермь: 2010 г. – С. 134-135.

2. Кляшева, О.Н. Спектрофотометрия в видимой области в количественном анализе новых биологически активных соединений из группы производных 3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, К.В. Ван, Т.И. Ярыгина // Молодежная конференция «Международный год химии»: сборник материалов. – Казань, 2011 г. – С. 61-62.

3. Кляшева, О.Н. Разработка унифицированной титриметрической методики количественного определения новых биологически активных соединений из группы производных 3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, К.В. Ван, Т.И. Ярыгина // Молодежная конференция «Международный год химии»: сборник материалов. – Казань, 2011 г. – С. 63-64.

4. Кляшева, О.Н. Разработка унифицированных методик количественного определения новых биологически активных соединений из группы производных 3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, К.В. Ван, Т.И. Ярыгина // Сборник научных трудов и тезисов: РУДН. – Москва: 2011 г. – С. 123-124.

5. Кляшева, О.Н. Разработка алкалиметрического метода определения 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-она / О.Н.

Кляшева, Т.И. Ярыгина, В.Л. Гейн // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии.– Научно-практический журнал.- № 8. – Пермь: 2011 г. – С. 116-117.

6. Кляшева, О.Н. Разработка спектрофотометрической методики определения 3-амино-1-пропанола в применении к анализу 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, Г.П. Кальченко, Ю.Н. Карпенко // Актуальные проблемы науки фарм. и мед ВУЗов: от разработки до коммерциализации. Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвящённой 75-летию Перм. гос. фарм. академии. – Пермь, 2011 г. – С. 94-97.

7. Кляшева, О.Н. Выбор условий хроматографического разделения специфических примесей в субстанциях соединений из группы производных 3-гидрокси-3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, Ю.Н. Карпенко, Т.И. Ярыгина, И.И. Селенова, Я.С. Новоселова, К.В. Ван // Актуальные проблемы науки фарм. и мед ВУЗов: от разработки до коммерциализации. Материалы научно-практической конференции с международным участием, посвященной 75-летию Перм. гос. фарм. академии. –Пермь, 2011 г.– С. 97-101.

8. Кляшева, О.Н. Разработка методик определения доброкачественности нового биологически активного соединения КОН-1 / О.Н. Кляшева // 77 Всероссийская научная конференция студентов и молодых ученых с международным участием «Международная наука и современность». – Курск , 2012 г. – С. 333.

9. Кляшева, О.Н. Разработка методик доказательства подлинности и определения доброкачественности нового биологически активного соединения КОН-1 / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, В.Л. Гейн // Материалы 5 международной научно-практической конференции «Фармация и общественное здоровье». – Екатеринбург: 2012 г. – С. 91-92.

10. Кляшева, О.Н. Разработка методик доказательства подлинности производных 3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, К.В. Ван, В.Л. Гейн // Сборник материалов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 75-летию со дня рождения В. В. Кормачева «Современные проблемы химической науки и образования» – Т 2. – Чебоксары: 2012 г. – С. 140-142.

11. Кляшева, О.Н. Разработка методов оценки качества субстанции нового биологически активного соединения КОН–1 / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, В.Л. Гейн, Т.Ф. Одегова, О.Е. Саттарова, Ю.Н. Карпенко // Фармация № 5, 2012. – Москва. – С. 8-10.

12. Кляшева, О.Н., Определение нового биологически активного соединения КОН-1 алкалометрическим и спектрофотометрическим методами / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина // Тезисы II Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация - потенциал будущего» – Ч.1. – Санкт-Петербург 2012 г. – С. 58-59

13. Кляшева, О.Н. Разработка методик доказательства подлинности производных 3-пирролин-2-она / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. – Научно-практический журнал. – № 9. – Пермь: 2012 г. - С. 131-132.

14. Кляшева, О.Н. Использование реакции с нингидрином в количественном определении алифатических аминов / О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина, С.М. Басс, К.В. Ван // Электронный научный журнал ISSN 1817-6321 «Современные проблемы науки и образования» № 3, 2013.

15. Карпенко, Ю.Н. Разработка и валидация методики определения посторонних примесей в субстанции биологически активного соединения КОН-1 / Ю.Н. Карпенко, О.Н. Кляшева, Т.И. Ярыгина // Электронный научный журнал ISSN 1817-6321 «Современные проблемы науки и образования» № 3, 2013.

Кляшева Ольга Николаевна (Россия)

Разработка методик анализа и стандартизация нового биологически активного соединения КОН-1, проявляющего ноотропное действие

Проведено химико-фармацевтическое исследование нового биологически активного соединения 4-ацетил-5-(4-бромфенил)-3-гидрокси-1-(3-гидроксипропил)-3-пирролин-2-он (с условным названием КОН-1), как необходимого этапа доклинического изучения его в качестве потенциального ноотропного средства. С этой целью установлены физические константы, УФ- и ИК-спектрофотометрические характеристики, разработаны нормы качества и способы идентификации субстанции. На основе методов спектрофотометрии в видимой области и ВЭЖХ предложены способы обнаружения посторонних примесей в субстанции. Разработаны и валидированы методики количественного определения (алкалометрическая и спектрофотометрические) исследуемого соединения; установлены его стабильность и срок годности. Составлен проект ФСП на субстанцию КОН-1.

Klyasheva Olga (Russia)

Development of methods of analysis and standardization of new biologically active compounds KON-1, showing nootropic effect

A chemical and pharmaceutical study of new bioactive connection of 4-acetyl-5-(4-bromophenyl)-3-hydroxy-1-(3-gidroxypropil)-3-pyrroline-2-on (with the conditional name KON-1), as necessary stage of its preclinical studying as potential nootropic means is conducted. Physical constants, UV- and IR-spektrphotometric characteristics are for this purpose established, standards of quality and ways of identification of substance are developed. On the basis of spectrophotometry methods in the visible range and HPLC ways of detection of foreign impurity in substance are offered. Developed and validated techniques of the quantitative determination (alkalimetric and spektrphotometric) studied connection; its stability and period of validity are established. The FSP project on KON-1 substance is made.

Автор выражает глубокую благодарность и признательность ректору ПГФА, заведующему кафедрой микробиологии профессору Татьяне Федоровне Одеговой; заведующему кафедрой общей и органической химии профессору Владимиру Леонидовичу Гейну; руководителю РИЦ «Фарматест» профессору Тамаре Леонидовне Малковой; заведующей лабораторией хроматографических методов РИЦ «Фарматест» доценту Юлии Николаевне Карпенко.