

ВОЛОКИТИНА ДАРЬЯ СЕРГЕЕВНА

**РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ АНАЛИЗА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ
НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО СОЕДИНЕНИЯ
ПРОИЗВОДНОГО ХИНАЗОЛИН-4(3H)-ОНА
НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ**

14.04.02 - Фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2019

Диссертационная работа выполнена в Пятигорском медико-фармацевтическом институте – филиале федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук, профессор **Лазарян Джон Седракович**

Официальные оппоненты:

Сенченко Сергей Петрович – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, отдел разработки и актуализации фармакопейных статей на лекарственные средства синтетического происхождения Центра фармакопеи и международного сотрудничества, начальник отдела.

Калёкин Роман Анатольевич – доктор фармацевтических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский центр судебно-медицинской экспертизы» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Курск.

Защита диссертации состоится «___» _____ 2019 г. в ___ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119019, г.Москва, Никитский бульвар, д. 13..

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Zubovskiy bul., d. 37/1 и на сайте организации <http://sechenov.ru/>.

Автореферат разослан «___» _____ 2019 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета Д 208.040.09

доктор фармацевтических наук, профессор

Демина Наталья Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В настоящее время увеличилось число заболеваний, связанных с нарушениями мозгового кровообращения, нарушениями памяти и умственной деятельности головного мозга. Также увеличился объем информации, которую нужно переработать и запомнить, возросла нагрузка на нервную систему.

Несмотря на наличие большого разнообразия ноотропных средств и различие механизмов их действия, эффективность существующих препаратов считается недостаточной. Поэтому активно ведется поиск новых более активных и безопасных соединений с ноотропной активностью.

С этой целью в Волгоградском государственном медицинском университете (ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России) под руководством профессора Озерова А.А. было синтезировано биологически активное соединение производное хиназолина, обладающее выраженным ноотропным и антигипоксическим действием: 3-[2-(2-Метилфениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-он (лабораторный шифр – VMA-10-13).

Для внедрения в медицинскую практику нового БАС необходимо глубокое исследование его физико-химических свойств, обоснование и разработка методик анализа и норм качества для стандартизации субстанции и лекарственной формы VMA-10-13.

Степень разработанности темы исследования. VMA-10-13 – принципиально новое соединение производное хиназолина, фармацевтический анализ и стандартизация субстанции и лекарственной формы (таблеток) VMA-10-13 до настоящего времени не проводились.

Цель исследования. На основе изучения физико-химических свойств разработать методики анализа и нормы качества для стандартизации нового БАС ноотропного действия VMA-10-13 в субстанции и лекарственной форме.

Задачи исследования. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- 1) изучить физико-химические свойства и спектральные характеристики VMA-10-13, определить основные фармакопейные показатели качества субстанции;
- 2) разработать методики идентификации и количественного определения субстанции VMA-10-13 химическими и физико-химическими методами;
- 3) исследовать хроматографические характеристики и разработать методики определения родственных примесей и остаточных органических растворителей в субстанции VMA-10-13;
- 4) определить фармацевтико-технологические показатели качества и разработать методики анализа для стандартизации твердой дозированной лекарственной формы (таблеток) VMA-10-13;

5) исследовать стабильность при хранении в естественных условиях и установить сроки годности субстанции и таблеток VMA-10-13;

б) обосновать нормы качества и разработать нормативную документацию на субстанцию и таблетки VMA-10-13.

Научная новизна. Впервые проведено химико-фармацевтическое изучение нового БАС производного хиназолин-4(3H)-она. Определены физико-химические свойства и спектральные характеристики, разработаны и валидированы методики подтверждения подлинности и количественного определения субстанции VMA-10-13. Найдены оптимальные условия определения возможных родственных примесей в субстанции методом ВЭЖХ. Разработаны методики анализа для стандартизации таблеток VMA-10-13. Установлены нормы качества, исследована стабильность и определены сроки годности субстанции и таблеток VMA-10-13.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты исследования позволяют расширить знания о химических и физико-химических свойствах нового БАС производного хиназолин-4(3H)-она и могут служить теоретической базой для разработки методик анализа других производных хиназолина.

По результатам исследований разработаны методики анализа, обоснованы нормы качества и оформлены проекты нормативной документации на субстанцию и таблетки VMA-10-13.

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты исследования физико-химических свойств, спектральных характеристик и определения основных фармакопейных показателей качества субстанции VMA-10-13;

- обоснование, разработка и валидация методик подтверждения подлинности и количественного определения субстанции VMA-10-13 химическими и физико-химическими методами;

- результаты разработки и валидации методик определения родственных примесей и остаточных органических растворителей в субстанции VMA-10-13;

- обоснование, разработка и валидация методик анализа для стандартизации таблеток VMA-10-13;

- результаты исследования стабильности и установление срока годности субстанции и таблеток VMA-10-13;

- обоснование норм качества и разработка нормативной документации на субстанцию и таблетки VMA-10-13.

Методология и методы исследования. Работа выполнена в соответствии с требованиями ГФ XIV издания, также были учтены рекомендации зарубежных фармакопей и руководства под редакцией Н.В. Юргеля - «Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств». В работе использованы физико-химические (ИК-спектрометрия, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ, ГХ), химические

(кислотно-основное титрование в неводной среде) и фармацевтико-технологические методы исследований. Статистическая обработка полученных результатов проведена в соответствии с требованиями ГФ XIV.

Степень достоверности научных положений и выводов. Работа выполнена на современном научно-методическом уровне. Экспериментальные исследования проведены с использованием современного сертифицированного оборудования, разработанные методики валидированы, анализ экспериментальных данных проведен с использованием методов статистической обработки, что позволяет считать полученные результаты достоверными.

Апробация результатов исследования. Основные положения работы доложены и обсуждены на 47 международной научной конференции Евразийского Научного Объединения: «Наука и современность» (Москва, 2019); IV, V всероссийских научно-практических конференциях с международным участием «Беликовские чтения» (Пятигорск, 2015, 2016); межрегиональном научно-инновационном конкурсе молодых ученых «У.М.Н.И.К.» (Ставрополь, 2015); 74, 75 открытых научно-практических конференциях молодых ученых и студентов ВолгГМУ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Пятигорск, 2016, 2017); научно-практической конференции «Синтез и анализ лекарственных средств синтетического и растительного происхождения» (Пятигорск, 2017).

Апробация работы проведена на расширенном заседании кафедры фармацевтической и токсикологической химии совместно с Проблемной комиссией Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. (Протокол № 2 16.04.2019).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом НИР Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Планируется включение субстанции VMA-10-13 в программу доклинических исследований в рамках Федеральной целевой программы «Развитие медицинской и фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (пункты 2 и 3).

Личное участие автора в получении научных результатов. Основные экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены самим автором или при его непосредственном участии. Личный вклад включает выбор и обоснование диссертационной темы, публикации, выступления на научных конференциях. Автором выполнены исследования по установлению физико-

химических и химических свойств субстанции VMA-10-13, на основе которых разработаны методики подтверждения подлинности, оценки чистоты и количественного определения субстанции и лекарственной формы (таблеток) VMA-10-13. Систематизированы полученные результаты, составлены проекты НД.

Внедрение результатов исследования. Разработанные методики анализа субстанции и таблеток, нашли практическое применение и внедрены в работу аналитической группы химико-фармацевтического и научно-производственного отделов НИИ фармакологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Фрагменты диссертационной работы внедрены в учебный процесс аспирантуры по специальности 14.04.02 «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 185 страницах машинописного текста, содержит 46 таблиц, 32 рисунка. Работа состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, главы «Объекты и методы исследования», двух глав экспериментальной части, общих выводов, списка литературы и приложений. Список литературы включает 139 источников, в том числе 61 – на иностранных языках.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, в том числе 4 из Перечня ВАК Минобрнауки РФ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являлись образцы пяти опытных (лабораторных) серий субстанции VMA-10-13, синтезированные в НИИ фармакологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (патент № 2507198 от 20.02.2014 г.). Также в нашем распоряжении имелись образцы исходных продуктов синтеза VMA-10-13: незамещенный хиназолин-4(3H)-он и 2-хлор-N-(2-метилфенил) ацетамид.

Пять лабораторных серий таблеток VMA-10-13 были изготовлены в лаборатории твердых лекарственных форм кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России.

В качестве стандартного образца использовалась дважды перекристаллизованная из диметилформамида субстанция VMA-10-13. Хроматографическая чистота СО была установлена в ходе разработки методики определения родственных примесей методом ВЭЖХ, количественное содержание VMA-10-13 в СО было определено методом кислотно-основного титрования в неводных средах.

При проведении исследований использовали методы анализа описанные в общих фармакопейных статьях ГФ XIV физико-химические (ИК-спектрометрия, УФ-

спектрофотометрия, ВЭЖХ, ГХ), химические (кислотно-основное титрование в неводной среде) и фармацевтико-технологические.

Результаты исследования

В первой главе представлен обзор зарегистрированных в Российской Федерации ЛС ноотропного действия и дана их химическая классификация. Обоснована актуальность внедрения в фармацевтическую практику нового эффективного и безопасного ЛС ноотропного действия производного хиназолина – VMA-10-13. Обобщены данные нормативной документации, а также отечественной и зарубежной литературы по методам фармацевтического анализа лекарственных средств производных хиназолина.

Третья глава посвящена изучению физико-химических свойств, разработке и валидации методик фармацевтического анализа, нормированию показателей качества и установлению срока годности субстанции VMA-10-13.

Результаты определения основных физико-химических показателей качества субстанции VMA-10-13 приведены в таблице 1.

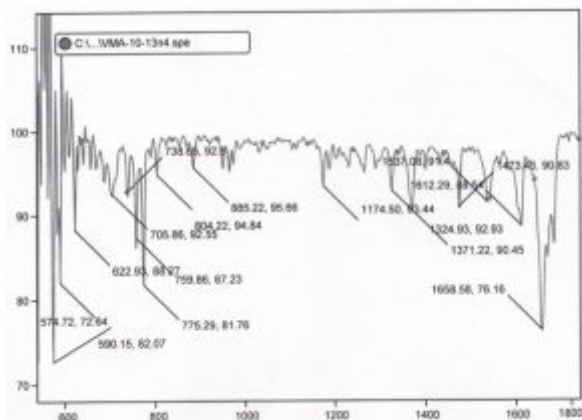
Таблица 1 – Результаты определения физико-химических показателей качества субстанции VMA–10–13

Показатель	Результат
Растворимость (ОФС.1.2.1.0005.15) - вода очищенная - спирт 96% - диметилформамид - диметилсульфоксид - хлороформ - ацетон - ацетонитрил	1:10000 (очень мало растворим) 1:1000 (мало растворим) 1:90 (умеренно растворим) 1:100 (умеренно растворим) 1: более 10000 (практически нерастворим) 1: более 10000 (практически нерастворим) 1: более 10000 (практически нерастворим)
Температура плавления (ОФС.1.2.1.0011.18)	от 257 °С до 261 °С (с разложением)
Кислотность или щелочность индикатор – феноловый красный (переход окраски от желтой к красной в интервале рН 6,8-8,4)	Не более 0,1 мл 0,01 М раствора NaOH Не более 0,1 мл 0,01 М раствора HCl
Потеря в массе при высушивании (ОФС.1.2.1.0010.15)	Не более 0,5%.
Сульфатная зола (ОФС.1.2.2.2.0014.15)	Не более 0,1%.

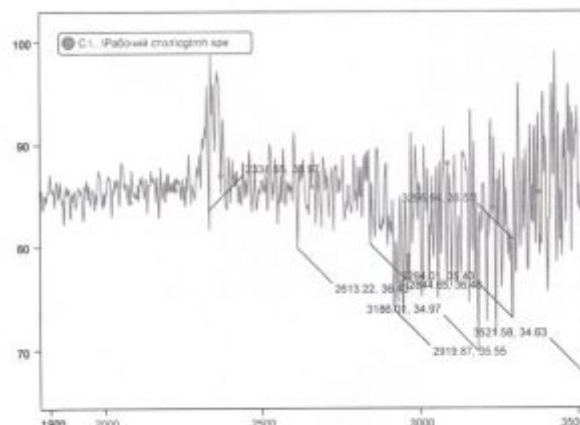
Так как одно из важнейших мест при подтверждении подлинности и количественном определении ЛС занимают спектроскопические методы, были исследованы спектры поглощения изучаемого соединения в ИК- и УФ-области.

ИК-спектры поглощения (ОФС.1.2.1.1.0002.15), измеренные для дисков содержащих 1 мг СО VMA-10-13 и 200 мг калия бромида (рисунок 1), позволили идентифицировать основные полосы поглощения: вторичной амидной группы при

1680 - 1630 cm^{-1} ; в области 1658 cm^{-1} группы C=N в цикле; в области 1174 cm^{-1} 1,2-замещенного бензольного кольца; пиримидиновой группы в области 1580 – 1520 cm^{-1} ; при 759 cm^{-1} относящиеся к конденсированным ароматическим группам 4-аминохиназолина; в области 1324 cm^{-1} относящиеся к азотсодержащим группам у бензольного кольца; слабые полосы в области 1100-1200 cm^{-1} , которые являются следствием деформационных колебаний C-N связей; в области 2849 cm^{-1} валентных колебаний C-H связи в CH_3 -, CH_2 - и CH -группах; в области 3186 – 3295 cm^{-1} валентных колебаний меж- и внутримолекулярных связей NH-групп.



1



2

Рисунок 1 – ИК-спектры VMA-10-13 в области 600–1800 cm^{-1} (1) и 1900–3500 cm^{-1} (2)

Результаты исследования УФ-спектров поглощения (ОФС.1.2.1.1.0003.15) спиртовых, нейтральных и щелочных растворов VMA-10-13 показали наличие четырех полос светопоглощения с максимумами при 226 ± 1 нм, 265 ± 1 нм, 302 ± 1 нм и 313 ± 1 нм (рисунок 2). УФ-спектр поглощения в кислой среде отличается батохромным сдвигом полос с максимумами 226 и 265 нм и отсутствием полос поглощения с максимумами при 302 нм и 313 нм, что является следствием протонирования атома азота хиназолиновой системы.

Для подтверждения правильности определения максимумов поглощения и выявления возможного перекрытия нескольких полос в УФ-спектрах были исследованы вторые производные от исходных спектров (рисунок 3). При этом, в УФ-спектрах поглощения спиртового, водного и щелочного растворов в области 220–240 нм и 260–280 нм обнаружены по две скрытые полосы при 233 и 275 нм. В УФ-спектре поглощения кислого раствора также выявлены две скрытые полосы поглощения при 226 нм и 234 нм. Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что УФ-спектры поглощения VMA-10-13 представляют собой суммарный контур поглощения, объединяющий несколько индивидуальных полос.

Таким образом, наличие в ультрафиолетовой области характерных максимумов поглощения позволило рекомендовать метод УФ-спектрофотометрии для подтверждения подлинности и количественного определения субстанции VMA-10-13.

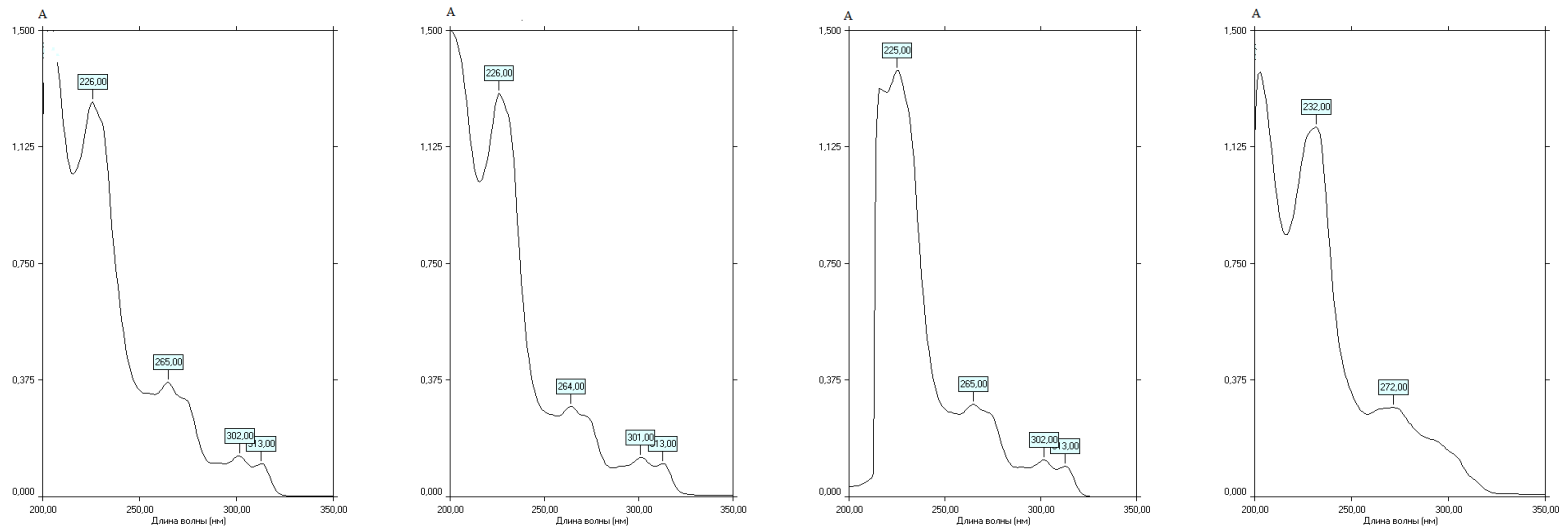


Рисунок 2 – УФ-спектры VMA-10-13 в спирте 96% (1), воде (2), 0,1 М растворе NaOH (3) и 0,1 М растворе HCl (4)

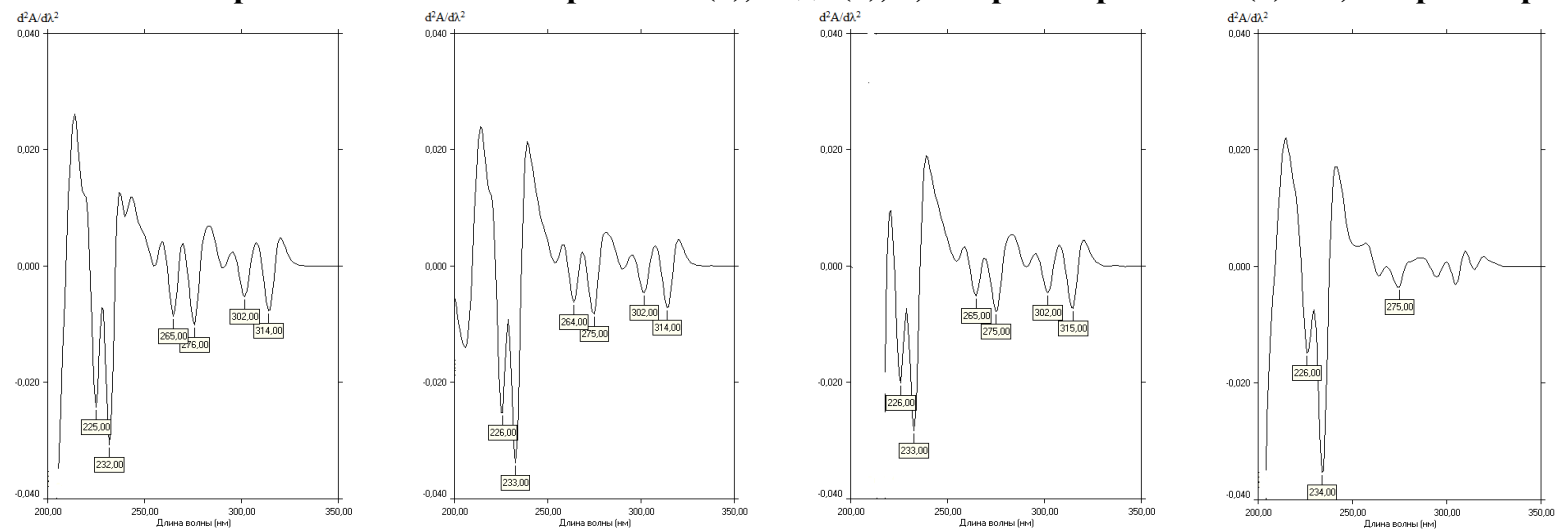


Рисунок 3 – Вторые производные УФ-спектров поглощения VMA-10-13 в спирте 96% (1), воде (2), 0,1 М растворе NaOH (3) и 0,1 М растворе HCl (4)

Помимо спектроскопических методов для идентификации VMA-10-13 в субстанции был предложен ряд химических реакций окисления и соле-комплексообразования, основанных на химических свойствах функциональных групп и фрагментов структуры исследуемого вещества. Реакции окисления проводили со специальными реактивами на алкалоиды: азотной кислотой концентрированной, реактивом Манделина, реактивом Марки, реактивом Фреде. Реакции соле-, комплексообразования – с солями железа(III), кобальта и серебра. Результаты определения чувствительности проведенных реакций и их аналитические эффекты приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты определения чувствительности химических реакций на субстанцию VMA-10-13

Реактив	Чувствительность	Аналитический эффект
Реакции со специальными реактивами на алкалоиды		
Реактив Манделина	0,5 мкг	малиновое окрашивание
Реактив Марки	2 мкг	розовое окрашивание
Реактив Фреде	5 мкг	розовое окрашивание
Азотная кислота концентрированная	10 мкг	желтое окрашивание
Реакции соле-, комплексообразования		
Кобальта нитрата раствор 5%	5 мг/мл	творожистый осадок розового цвета
Железа(III) хлорида раствор 3%	8 мг/мл	творожистый осадок желтого цвета
Серебра нитрата раствор 2%	2 мг/мл	творожистый осадок белого цвета

В проект НД на субстанцию VMA-10-13 были включены наиболее чувствительные реакции: с реактивом Манделина и раствором серебра нитрата.

Из схемы синтеза VMA-10-13 (рисунок 4) следует, что вероятными родственными примесями являются исходные вещества - незамещенный хиназолин-4(3H)-он и алкилирующий агент – 2-хлор-N-(2-метилфенил) ацетамид. При этом примесь алкилирующего агента маловероятна, так как это соединение легко растворимо в диметилформамиде и остается в фильтрате при перекристаллизации VMA-10-13.

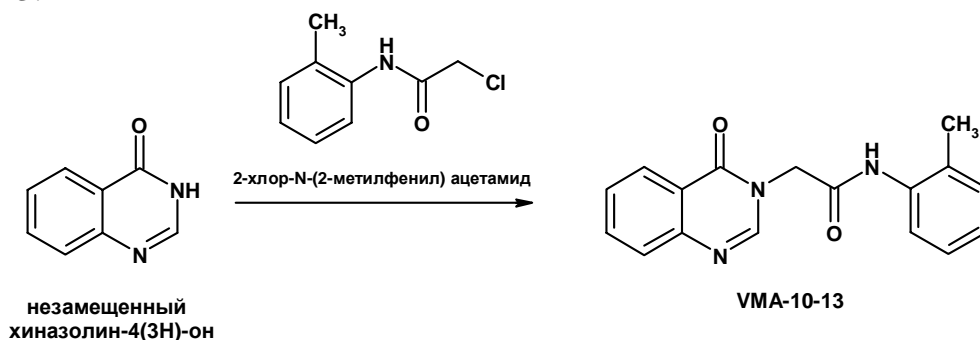


Рисунок 4 –Схема синтеза субстанции VMA-10-13

Для определения примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она в субстанции VMA-10-13 был использован метод ВЭЖХ (ОФС.1.2.1.2.0005.15). Были определены условия проведения анализа: колонка Luna C-18, 4,6x150 мм с размером частиц 5 мкм, подвижная фаза – ацетонитрил (А) - кислота фосфорная 0,05М (Б), режим элюирования градиентный, скорость потока подвижной фазы – 1,0 мл/мин, длина волны детектирования – 226 нм, температура колонки – 25 ± 2 °С.

Специфичность разработанной методики была доказана путем анализа модельных смесей. На рисунке 5 приведена хроматограмма модельной смеси, на которой видно четкое разделение пиков анализируемых веществ. Время удерживания VMA-10-13 составило 18,5 мин, незамещенного хиназолин-4(3H)-она – 6,2 мин, коэффициент разделения пиков составил 80,48, коэффициент асимметрии пика незамещенного хиназолин-4(3H)-она – 1,13, относительное стандартное отклонение площадей пиков составило не более 2%.

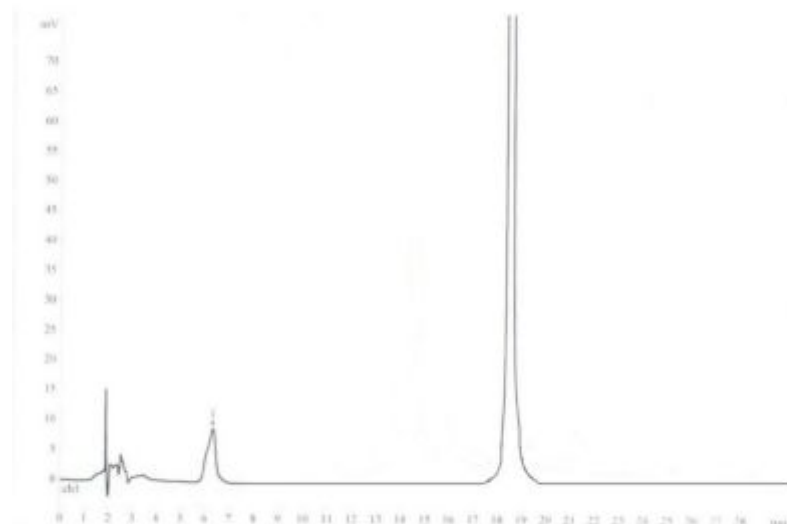


Рисунок 5 – Хроматограмма раствора модельной смеси VMA-10-13 и незамещенного хиназолин-4(3H)-она

Линейность методики определяли на 7 уровнях концентраций незамещенного хиназолин-4(3H)-она в подвижной фазе (0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,6; 0,8 и 1,0 мкг/мл). Доказаны (таблица 3) отсутствие систематической погрешности методики ($|a| \leq \Delta a$), а также жесткая линейная связь между величинами X и Y ($r \geq 0,9980$).

Таблица 3 – Результаты определения линейной зависимости ($y = bx + a$) площадей пика от концентрации незамещенного хиназолин-4(3H)-она

Параметры линейной зависимости	Критерии приемлемости	Полученные значения	Вывод
$b = 185,1$; $S_b = 2,49$; $\Delta b = 6,4$ $a = 0,73$; $S_a = 1,42$; $\Delta a = 3,65$ $r = 0,9995$	$ a \leq \Delta a$	$0,73 < 3,65$	Выполняется
	$r \geq 0,9980$	$0,9995 > 0,9980$	Выполняется

При определении прецизионности (сходимости) на трех уровнях концентраций определяемой примеси (таблица 4) было установлено, что методика корректна при использовании как в предельных, так и в количественных тестах определения примесей.

Таблица 4 – Результаты определения сходимости методики определения примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она в модельных смесях

Уровень	Взято примеси, мкг/мл	Площадь пика, mV·сек	Найдено примеси, мкг/мл	Найдено примеси, %	Метрологические характеристики
1	0,0994	18,09	0,0958	96,35	$\bar{X} = 96,95$ $S = 1,57$ $\Delta X = 3,75$
		18,72	0,0991	99,70	
		17,85	0,0945	95,07	
2	0,2028	37,15	0,1967	96,98	
		36,34	0,1924	94,87	
		36,84	0,1950	96,17	
3	0,3012	55,57	0,2942	97,67	
		56,12	0,2971	98,64	
		55,24	0,2924	97,09	
Критерии приемлемости прецизионности (сходимости)					
Тест	(max Δ_{As}), %		$\Delta X \leq \max\Delta_{As}$		Вывод
Предельные тесты	16		3,75 < 16		Выполняется
Количественные тесты	5		3,75 < 5		Выполняется

При проведении анализа пяти лабораторных серий субстанции VMA-10-13 была обнаружена лишь одна примесь – незамещенного хиназолин-4(3H)-она, содержание которой в отдельных образцах не превышало 0,1% (в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0023.18). Никаких других примесей на полученных хроматограммах не наблюдалось.

В соответствии с технологией синтеза и очистки субстанции VMA-10-13, возможной примесью в ее серийных образцах является остаточный растворитель – диметилформамид. Для определения диметилформамида использовали метод газовой хроматографии (ОФС.1.2.1.2.0004.15). Был выбран метод извлечения – газовая экстракция динамического парофазного анализа, определены условия проведения. В лабораторных образцах исследуемой субстанции содержание примеси диметилформамида в отдельных образцах не превышало нормируемого содержания (в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0023.18) – 880 ppm (0,088%).

Количественное определение субстанции VMA-10-13 было проведено с помощью методов кислотно-основного титрования в неводных средах (ОФС.1.2.3.0014.15) и спектрофотометрии в УФ-области (ОФС.1.2.1.1.0003.15).

Наличие в химической структуре VMA-10-13 гетероциклических атомов азота обуславливает его слабые основные свойства. Значение pK_A VMA-10-13 составляет 4,73 (по данным <http://www.chemicalize.org>), что позволяет сделать вывод о его слабо выраженные основных свойствах и возможности использования для его количественного определения метода неводной ацидиметрии в среде протогенных растворителей. Так как исследуемая субстанция нерастворима в безводной уксусной кислоте и уксусном ангидриде, взятую для титрования навеску сначала растворяли в муравьиной кислоте, а затем добавляли безводную уксусную кислоту или уксусный ангидрид. При этом смесь муравьиная кислота – уксусный ангидрид давала более выраженный скачок потенциала на кривой потенциометрического титрования, что является следствием увеличения ионной активности хлорной кислоты.

Руководствуясь принципом параллельного определения валидационных характеристик, линейность, правильность и сходимость оценивали одновременно по 9 точкам на трех уровнях в пределах аналитической области изучаемой методики (таблица 5). Точные навески СО VMA-10-13 растворяли в 1 мл муравьиной кислоты, прибавляли 30 мл уксусного ангидрида и титровали 0,1 М раствором хлорной кислоты. Конечную точку титрования определяли потенциометрически. Параллельно проводили контрольный опыт с 0,05 г (точная навеска) СО VMA-10-13.

Таблица 5 – Результаты количественного определения VMA-10-13 методом неводного титрования

Уровень	№	Навеска, г	Объем титранта, мл	Найдено, г	Найдено, %
1	1	0,1583	5,38	0,1586	100,17
	2	0,1727	5,84	0,1718	99,46
	3	0,1815	6,17	0,1819	100,20
2	4	0,1919	6,51	0,1917	99,92
	5	0,2004	6,79	0,1999	99,76
	6	0,2093	7,11	0,2095	100,11
3	7	0,2196	7,44	0,2191	99,76
	8	0,2318	7,84	0,2308	99,55
	9	0,2427	8,22	0,2421	99,74
$a_0 = 0,0503; V_0 = 1,71; K = 1,005$					
Параметры линейной зависимости «навеска – объем титранта»			Метрологическая характеристика результатов определений		
$b = 33,68$ $S_b = 0,15$ $\Delta b = 0,37$ $a = 0,045$ $S_a = 0,031$ $\Delta a = 0,074$ $r = 0,99993$			$\bar{X} = 99,85$ $S = 0,27$ $\Delta X = 0,61$ $\delta = \bar{X} - 100 = 0,15$		

Выполнение критериев приемлемости методики, приведены в таблице 6, из которой следует, что методика линейна, правильность методики подтверждается

критериями статистической и практической незначимости, также методика имеет достаточную сходимость полученных результатов.

Таблица 6 – Выполнение критериев приемлемости методики количественного определения VMA–10–13 методом неводного титрования

Допуск содержания, %	Критерий приемлемости	Полученные значения	Вывод
Линейная зависимость ($y = bx + a$)			
± 1%	$ a \leq \Delta a$	$0,045 < 0,074$	Выполняется
	$r \geq 0,99926$	$0,99993 > 0,99926$	Выполняется
Правильность			
± 1%	$\delta < (\Delta X/\sqrt{9})$	$0,15 < 0,20$	Выполняется
	$\delta < (0,32 \cdot \max \Delta_{As})$	$0,15 < 0,32$	Выполняется
Прецизионность (сходимость)			
± 1%	$\Delta X \leq \max \Delta_{As}$	$0,61 < 1,0$	Выполняется

Оценку внутрилабораторной (промежуточной) прецизионности методики (таблица 7) проводили в течение двух дней с использованием F-критерия Фишера и t-критерия Стьюдента, а также путем сравнения максимального различия относительных средних результатов анализа Δ_{\max} с максимально допустимой относительной неопределенностью анализов $\max \Delta_{As}$.

Таблица 7 – Определение внутрилабораторной прецизионности методики количественного определения VMA–10–13 методом неводного титрования

№ п/п	Найдено, % (1-й день)	Найдено, % (2-й день)	Выполнение критериев приемлемости	
			Критерий	Результат
1	99,80	99,50	$F < F(P, f_1, f_2)$ $t < t(P, f)$ $\Delta_{\max} \leq \max \Delta_{As}$	$1,50 < 5,05$ $0,58 < 2,23$ $0,79 < 1$
2	99,64	99,52		
3	99,80	100,29		
4	99,35	99,73		
5	100,23	99,81		
6	99,66	100,28		
\bar{X}	99,75	99,86		
S	0,29	0,36		
S^2	0,08	0,13		
$\Delta \bar{X}$	0,31	0,37		
Δ_{\max}	0,79			

С помощью разработанной методики нами было проведено количественное определение пяти лабораторных серий субстанции VMA-10-13 (таблица 8), количественное содержание составило от 99,71 до 99,95%, относительная погрешность среднего результата, не превышала 0,5%.

Таблица 8 - Результаты количественного определения субстанции VMA-10-13 методом неводного титрования

Номер серии	001	002	003	004	005
Метрологическая характеристика (P = 95%; f = 6)	$\bar{X} = 99,83$	$\bar{X} = 99,95$	$\bar{X} = 99,71$	$\bar{X} = 99,86$	$\bar{X} = 99,81$
	$S = 0,303$	$S = 0,348$	$S = 0,281$	$S = 0,296$	$S = 0,364$
	$S_{\bar{X}} = 0,114$	$S_{\bar{X}} = 0,132$	$S_{\bar{X}} = 0,106$	$S_{\bar{X}} = 0,112$	$S_{\bar{X}} = 0,137$
	$\Delta\bar{X} = 0,28$	$\Delta\bar{X} = 0,32$	$\Delta\bar{X} = 0,26$	$\Delta\bar{X} = 0,27$	$\Delta\bar{X} = 0,34$
	$\bar{\varepsilon} = 0,28\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,32\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,26\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,27\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,34\%$

Таким образом, разработанная методика позволяет с достаточной точностью провести количественное определение субстанции VMA-10-13 с нормированным содержанием 99,0 - 101,0 %. Методика рекомендована для включения в проект НД.

Помимо титриметрического метода была исследована возможность использования для количественного определения исследуемой субстанции метода УФ-спектрофотометрии. С целью выбора оптимального значения аналитической длины волны было изучено подчинение испытуемых растворов основному закону светопоглощения в области концентраций 0,005–0,04 мг/мл (для длины волны 265 нм) и 0,001–0,008 мг/мл (для длины волны 226 нм). Для этого готовили по 7 растворов в области указанных концентраций путем разведения 0,05% спиртового раствора СО VMA-10-13. Метрологическая характеристика результатов определений и критерии приемлемости параметров линейной зависимости приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Результаты определения линейной зависимости ($y = bx + a$) оптической плотности от концентрации VMA-10-13

Длина волны	Метрологическая характеристика	Критерий приемлемости	Полученные значения	Вывод
226 нм	$b = 95,07; S_b = 4,38;$ $\Delta b = 11,24$ $a = 0,056; S_a = 0,024;$ $\Delta a = 0,062$ $r = 0,99475$	$ a \leq \Delta a$	$0,056 < 0,062$	Выполняется
		$r \geq 0,99702$	$0,99475 < 0,99702$	Не выполняется
265 нм	$b = 33,58; S_b = 0,31;$ $\Delta b = 0,79$ $a = -0,0011; S_a = 0,0068;$ $\Delta a = 0,0174$ $r = 0,99979$	$ a \leq \Delta a$	$0,0011 < 0,0174$	Выполняется
		$r \geq 0,99702$	$0,99979 > 0,99702$	Выполняется

Из данных таблицы 9 следует, что требование линейности выполняется для длины волны 265 нм и не выполняется для 226 нм.

Результаты определения удельного показателя поглощения при длине волны 265, приведенные в таблице 10, позволили нормировать данный показатель в пределах $334,5 \pm 4,5$ с относительной погрешностью 1,3%.

Таблица 10 – Результаты определения удельного показателя поглощения ($A_{1\text{см}}^{1\%}$) VMA-10-13 при длине волны 265 нм

№ п/п	Концентрация, мг/мл	Оптическая плотность (A)	Удельный показатель поглощения ($A_{1\text{см}}^{1\%}$)	Метрологическая характеристика
1	0,00495	0,165	333,3	$\bar{X} = 334,5$ $S = 4,85$ $S_{\bar{X}} = 1,83$ $\Delta\bar{X} = 4,5$ $\bar{\varepsilon} = 1,3\%$ $A_{1\text{см}}^{1\%} = 334,5 \pm 4,5$
2	0,00990	0,323	326,3	
3	0,01485	0,498	335,4	
4	0,01980	0,679	342,9	
5	0,02475	0,828	334,5	
6	0,02970	0,994	334,7	
7	0,03465	1,159	334,5	

При валидации спектрофотометрической методики количественного определения VMA-10-13 в субстанции (таблица 11) было установлено, что методика не имеет статистически значимой систематической погрешности. В тоже время, для субстанции с нормированным допуском содержания основного вещества $\pm 1\%$ критерий приемлемости сходимости не выполняется. Для субстанции с допуском содержания $\pm 2\%$ методика характеризуется достаточной сходимостью.

Таблица 11 – Результаты количественного определения VMA-10-13 методом спектрофотометрии в ультрафиолетовой области

Уровень, %	Найдено VMA-10-13, %	Метрологическая характеристика	
80	99,40; 99,77; 100,63	$\bar{X} = 99,79$ $S = 0,62$ $\Delta X = 1,42$ $\varepsilon = 1,43\%$ $\delta = X - 100 = 0,21$	
100	99,45; 99,05; 100,43		
120	99,73; 100,56; 99,08		
Выполнение критериев приемлемости			
Допуск содержания, %	Критерий приемлемости	Полученные значения	Вывод
Правильность			
$\pm 1\%$	$\delta < (\Delta X / \sqrt{9})$	$0,21 < 0,47$	Выполняется
	$\delta < (0,32 \cdot \max \Delta_{As})$	$0,21 < 0,32$	Выполняется
$\pm 2\%$	$\delta < (\Delta X / \sqrt{9})$	$0,21 < 0,47$	Выполняется
	$\delta < (0,32 \cdot \max \Delta_{As})$	$0,21 < 0,64$	Выполняется
Прецизионность (сходимость)			
$\pm 1\%$	$\Delta X \leq \max \Delta_{As}$	$1,42 > 1,0$	Не выполняется
$\pm 2\%$	$\Delta X \leq \max \Delta_{As}$	$1,42 < 2,0$	Выполняется

При определении внутрилабораторной прецизионности методики было доказано, что расчетные значения F-критерия Фишера меньше его табличного ($1,28 < 5,05$), поэтому дисперсии результатов двух серий анализов статистически эквивалентны. Расчетное значение t-критерий Стьюдента также меньше табличного ($0,91 < 2,23$), поэтому различие средних результатов двух серий анализов статистически незначимо.

С помощью разработанной методики нами было проведено количественное определение пяти лабораторных серий субстанции VMA-10-13 (таблица 12), количественное содержание составило от 99,71 до 99,95%, относительная погрешность среднего результата, не превышала 1,0%.

Таблица 12 - Результаты количественного определения субстанции VMA-10-13 методом УФ-спектрофотометрии

Номер серии	001	002	003	004	005
Метрологическая характеристика (P = 95%; f = 6)	$\bar{X} = 99,96$	$\bar{X} = 100,27$	$\bar{X} = 99,83$	$\bar{X} = 100,07$	$\bar{X} = 99,89$
	$S = 0,500$	$S = 0,716$	$S = 0,535$	$S = 0,679$	$S = 0,352$
	$S_{\bar{X}} = 0,189$	$S_{\bar{X}} = 0,271$	$S_{\bar{X}} = 0,202$	$S_{\bar{X}} = 0,257$	$S_{\bar{X}} = 0,133$
	$\Delta\bar{X} = 0,46$	$\Delta\bar{X} = 0,66$	$\Delta\bar{X} = 0,49$	$\Delta\bar{X} = 0,63$	$\Delta\bar{X} = 0,33$
	$\bar{\varepsilon} = 0,46\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,66\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,50\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,63\%$	$\bar{\varepsilon} = 0,33\%$

Таким образом, была установлена возможность использования метода УФ-спектрофотометрии для количественного определения содержания VMA-10-13 в субстанции с нормированным содержанием 98,0 – 102,0 %. Методика рекомендована для включения в проект НД, как альтернативная методике неводного титрования.

При установлении срока годности субстанции VMA-10-13 руководствовались требованиями ОФС.1.1.0009.18. Изучение стабильности субстанции при хранении проводили в сухом защищенном от света месте в склянках оранжевого стекла с притертыми пробками, при комнатной температуре. Проведенные исследования показали, что стабильность основных показателей качества субстанции VMA-10-13 в условиях долгосрочного хранения сохраняется не менее 2-х лет. При этом, результаты определения родственных примесей показали отсутствие посторонних пиков на полученных хроматограммах, что свидетельствует о стабильности субстанции в процессе хранения. Таким образом, может быть установлен предварительный срок годности – 2 года.

В четвертой главе определены основные фармацевтико-технологические показатели твердой дозированной лекарственной формы (таблеток) VMA-10-13, разработаны методики анализа, нормированы показатели качества и установлен срок годности таблеток.

Твердая дозированная лекарственная форма – условное название таблетки «Хиназотроп» (содержание VMA-10-13 - 25 мг, средняя масса таблетки - 200 мг) была разработана в лаборатории твердых лекарственных форм кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ под руководством профессора А.М. Шевченко.

Результаты определения основных фармацевтико-технологических показателей качества пяти опытных (лабораторных) серий таблеток «Хиназотроп» приведены в таблице 13.

Таблица 13 – Результаты определения основных фармацевтико-технологических показателей качества таблеток «Хиназотроп»

Номер серии	Средняя масса, г	Однородность массы, %	Распадаемость, мин
001	0,1997	+4,36; -3,45	6; 7; 6; 5; 7; 6
002	0,2001	+3,31; -3,14	5; 6; 7; 5; 6; 6
003	0,2000	+3,76; -3,46	6; 7; 6; 7; 7; 7
004	0,1999	+2,89; -3,78	5; 5; 7; 6; 5; 6
005	0,1998	+3,68; -2,67	6; 7; 6; 7; 7; 6

Для подтверждения подлинности и количественного определения таблеток «Хиназотроп» были использованы методы УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ.

При выборе условий определения подлинности с помощью УФ-спектрофотометрии, были использованы данные полученные при исследовании УФ-спектров поглощения субстанции VMA-10-13. С целью оценки влияния вспомогательных веществ, входящих в состав таблеток, на поглощение VMA-10-13 были измерены УФ-спектры модельной смеси таблеток в области 210-350 нм. Было установлено, что собственное поглощение вспомогательных веществ таблеток оказывает влияние на местоположение коротковолнового максимума при 226 нм, сдвигая его в область 232 нм. Таким образом, метод УФ-спектрофотометрии можно использовать для идентификации таблеток «Хиназотроп» по максимумам поглощения при 265, 302 и 313 нм.

Совместно с УФ-спектрофотометрией для идентификации VMA-10-13 в таблетках «Хиназотроп» был использован метод ВЭЖХ. Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора модельной смеси таблеток «Хиназотроп» соответствовало пику VMA-10-13 на хроматограмме раствора стандартного образца ($18,5 \pm 0,05$ мин). Отклонения во времени удерживания при анализе пяти лабораторных серий таблеток в разное время разными исполнителями не превышали $\pm 1\%$.

При разработке методики количественного определения VMA-10-13 в таблетках «Хиназотроп» методом УФ-спектрофотометрии было установлено, что при аналитической длине волны 265 нм на результаты измерений значительное влияние оказывает аналитический сигнал плацебо, что приводит к систематической погрешности при определении действующего вещества. Поэтому для количественного определения VMA-10-13 в таблетках нами был использован метод производной спектрофотометрии. Так как зависимость поглощения раствора плацебо от длины волны в районе 265 нм имеет линейный характер, её вторая производная при указанной длине волны равна нулю (рисунок 6).

Линейная зависимость между величиной второй производной спектра поглощения при 265 нм и концентрацией VMA-10-13 соответствовала критериям приемлемости (таблица 14) в области концентраций 0,005 - 0,04 мг/мл.

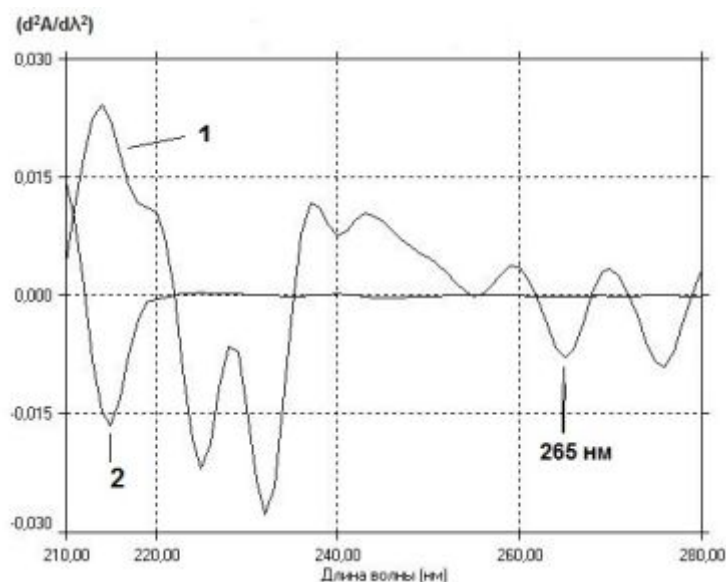


Рисунок 6 – Вторые производные УФ-спектров VMA-10-13 (1) и плацебо (2)

В результате валидации установлено, что методика количественного определения VMA-10-13 в таблетках с допуском содержания основного вещества $\pm 5\%$ ($\max \Delta A_s = 1,6\%$) не имеет статистически значимой систематической погрешности и характеризуется достаточной сходимостью (таблица 14).

Таблица 14 – Выполнение критериев приемлемости методики количественного определения VMA-10-13 в модельных смесях таблеток «Хиназотроп» методом производной спектрофотометрии

Допуск содержания, %	Критерий приемлемости	Полученные значения	Вывод
Линейная зависимость ($y = bx + a$)			
$\pm 5\%$	$ a \leq \Delta a$	$0,030 < 0,095$	Выполняется
	$r \geq 0,9981$	$0,9990 > 0,9981$	Выполняется
Правильность			
$\pm 5\%$	$\delta < (\Delta X / \sqrt{9})$	$0,23 < 0,37$	Выполняется
	$\delta < (0,32 \cdot \max \Delta A_s)$	$0,23 < 0,51$	Выполняется
Прецизионность (сходимость)			
$\pm 5\%$	$\Delta X \leq \max \Delta A_s$	$1,11 < 1,6$	Выполняется

Была доказана внутрилабораторная прецизионность валидируемой методики - расчетное значения F-критерия Фишера меньше его табличного ($1,32 < 5,05$), расчетное значение t-критерий Стьюдента меньше табличного ($0,58 < 2,23$).

Для количественного анализа таблеток «Хиназотроп» также был использован метод ВЭЖХ. Подтверждена пригодность хроматографической системы. Установлено, что вспомогательные вещества таблеток «Хиназотроп» не оказывают влияния на результаты исследования – при анализе раствора плацебо на хроматограмме не наблюдались пики посторонних веществ.

В результате валидации методики установлено, что методика линейна, не имеет статистически значимой систематической погрешности и характеризуется достаточной сходимостью (таблица 15). Также была доказана внутрилабораторная прецизионность методики - расчетные значения F-критерия Фишера меньше его табличного ($1,21 < 5,05$), расчетное значение t-критерий Стьюдента меньше табличного ($0,94 < 2,23$).

Таблица 15 – Выполнение критериев приемлемости методики количественного определения VMA–10–13 в модельных смесях таблеток «Хиназотроп» методом ВЭЖХ

Допуск содержания, %	Критерий приемлемости	Полученные значения	Вывод
Линейная зависимость площади пика от концентрации растворов VMA-10-13			
± 5%	$ a \leq \Delta a$	108 < 604	Выполняется
	$r \geq 0,9981$	0,9995 > 0,9981	Выполняется
Правильность			
± 5%	$\delta < (\Delta X/\sqrt{9})$	0,14 < 0,45	Выполняется
	$\delta < (0,32 \cdot \max \Delta_{As})$	0,14 < 0,51	Выполняется
Прецизионность (сходимость)			
± 5%	$\Delta X \leq \max \Delta_{As}$	1,36 < 1,6	Выполняется

Методики ВЭЖХ и производной спектрофотометрии рекомендованы для включения в проект НД, как альтернативные.

Метод производной спектрофотометрии был использован при определении «Однородности дозирования» таблеток «Хиназотроп» (таблица 16) и теста «Растворение» (рисунок 7).

Таблица 16 – Результаты определения «Однородности дозирования» лабораторных серий таблеток «Хиназотроп»

Серия - 001	Серия - 002	Серия - 003	Серия - 004	Серия - 005
$\bar{X} = 99,7$	$\bar{X} = 100,4$	$\bar{X} = 100,3$	$\bar{X} = 99,5$	$\bar{X} = 100,5$
$S = 2,8$	$S = 3,1$	$S = 2,6$	$S = 2,5$	$S = 2,0$
$AV = 6,8$	$AV = 7,5$	$AV = 6,3$	$AV = 5,9$	$AV = 4,8$

Степень высвобождения действующего вещества из таблеток через 45 мин составила более 80%, что соответствует установленным требованиям не менее 75+5% от заявленного содержания действующего вещества.

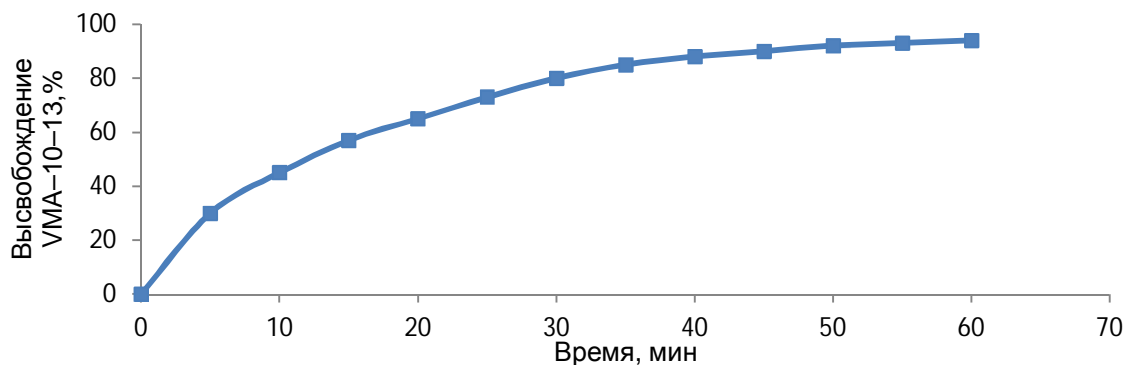


Рисунок 7 – График зависимости степени высвобождения VMA-10-13 из таблеток от времени отбора проб

Проведенные исследования по изучению стабильности таблеток «Хиназотроп» при хранении в естественных условиях показали, что стабильность основных показателей качества таблеток в условиях долгосрочного хранения сохраняется не менее 2-х лет. Таким образом, был установлен предварительный срок годности – 2 года.

На основании результатов проведенных испытаний, а также на основе существующих требований нами были установлены нормы качества и разработаны проекты НД на субстанцию VMA-10-13 и таблетки «Хиназотроп».

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ

1. Изучены физико-химические свойства и спектральные характеристики в ИК- и УФ-областях спектров поглощения субстанции VMA-10-13. Определены и нормированы основные фармакопейные показатели качества субстанции VMA-10-13: растворимость (в растворителях с широким диапазоном полярности: воде, спирте 96% и хлороформе), температура плавления (от 257 до 261 °С), кислотность или щелочность, потеря в массе при высушивании (не более 0,5%), сульфатная зола (не более 0,1%). Установлена возможность использования методов ИК-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии (наличие полос поглощения с максимумами при 226±2 нм, 265±2 нм, 302±2 нм и 313±2 нм) для подтверждения подлинности субстанции.

2. Для подтверждения подлинности субстанции VMA-10-13 разработан ряд химических реакций окисления и соле- комплексобразования, основанных на химических свойствах функциональных групп и фрагментов структуры исследуемого вещества. В проект НД включены наиболее чувствительные реакции с реактивом Манделина (0,5 мкг/пробу) и раствором серебра нитрата (2 мг/мл). Разработаны и валидированы методики количественного определения субстанции VMA-10-13 методами неводного титрования и УФ-спектрофотометрии. Обе методики включены в проект НД как альтернативные для субстанции с нормированным содержанием действующего вещества 98,0 – 102,0 %.

3. Изучены хроматографические характеристики VMA-10-13 и возможных примесей методом ВЭЖХ. Определены условия проведения анализа, разработана и

валидирована методика определения родственной примеси (незамещенный хиназолин-4(3*H*)-он) в субстанции VMA-10-13 методом ВЭЖХ, которая позволяет обнаружить определяемую примесь в количестве не более 0,1%. Методом газовой хроматографии определено содержание остаточного органического растворителя (диметилформамида) не превышающее установленную норму 880 ppm (0,088%).

4. Определены основные фармацевтико-технологические показатели качества лабораторных образцов таблеток «Хиназотроп». Изучено влияние вспомогательных веществ при идентификации VMA-10-13 в таблетках методами УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ, разработаны методики подтверждения подлинности. Разработаны и валидированы методики количественного определения VMA-10-13 в таблетках методами ВЭЖХ и производной спектрофотометрии. Методом производной спектрофотометрии проведено определение «Однородности дозирования» и показателя «Растворение» таблеток.

5. Исследована стабильность при хранении в естественных условиях, установлено, что стабильность основных показателей качества субстанции и таблеток VMA-10-13 сохраняется в течение 2-х лет. Результаты определения родственных примесей показали отсутствие посторонних пиков на полученных хроматограммах, что свидетельствует о стабильности субстанции и таблеток VMA-10-13 в процессе хранения. Установлен предварительный срок годности субстанции и таблеток VMA-10-13 – 2 года.

6. На основании результатов проведенных исследований и существующих требований установлены нормы качества и оформлены проекты НД на субстанцию и таблетки VMA-10-13.

Практические рекомендации

Разработанные в результате проведенных исследований аналитические методики и нормы качества могут быть использованы для контроля производства и качества фармацевтической субстанции и таблеток VMA-10-13.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Дальнейшие исследования могут быть направлены на разработку методик анализа и нормативной документации других лекарственных препаратов VMA-10-13, а также лекарственных средств содержащих другие производные хиназолина.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Определение физико-химических свойств новой биологически активной субстанции обладающей ноотропной активностью / Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин, О. М. Маркова // Беликовские чтения: материалы 4 Всерос. науч. – практ. конф. – Пятигорск, 2015. – С. 14-16.
2. Способы идентификации новой биологически активной субстанции, обладающей ноотропной и противогипоксической активностью / Д.С. Волокитина,

Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин, О.М. Маркова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. – Пятигорск, 2016. – Вып. 71. – С. 142-145.

3. **Волокитина, Д.С.** Разработка способов определения подлинности БАС производного хиназолина / **Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин** // **Здоровье и образование в XXI веке.** – 2017. – Т. 19, № 6. – С. 142-145.

4. Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения субстанции нового биологически активного соединения производного хиназолин-4(3H)-она / **Д.С. Волокитина, А.А. Озеров, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин** // **Вестн. Волгоград. гос. мед. ун-та.** – 2017. – Т. 62, № 2. – С. 35-38.

5. **Волокитина, Д.С.** Применение производной спектрофотометрии для определения нового биологически активного соединения производного хиназолина в таблетках / **Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин** // **Здоровье и образование в XXI веке.** – 2017. – Т. 19, № 9. – С. 215-218.

6. **Волокитина, Д.С.** Разработка и валидация методики количественного определения субстанции нового биологически активного соединения производного хиназолин-4(3H)-она методом кислотно-основного титрования в неводной среде / **Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин** // **Евразийский Союз Ученых.** – 2018. – № 56, ч. 3. – С. 39-42.

7. Разработка и валидация методики определения родственных примесей в субстанции нового биологически активного соединения ноотропного действия – VMA-10-13 / **Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин, А.В. Морозов** // **Здоровье и образование в XXI веке.** – 2018. – Т. 20, № 12. – С. 184-188.

8. Разработка и валидация методики количественного определения в таблетках нового вещества ноотропного действия методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / **Д.С. Волокитина, Д.С. Лазарян, С.В. Волокитин, А.В. Морозов** // Сб. науч. работ 47й Меж. науч. конф. Евразийского Научного Объединения. - Москва: ЕНО, - 2019. – Т. 47, № 1. – 133 – 135.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

БАС – биологически активное соединение

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ГХ – газовая хроматография

ИК-область – инфракрасная область спектра

ИК-спектр – спектр поглощения в инфракрасной области

ИК-спектрометрия – спектрометрия в инфракрасной области

ЛС – лекарственное средство

НД – нормативный документ

СО – стандартный образец

УФ-область – ультрафиолетовая область спектра

УФ-спектр – спектр поглощения в ультрафиолетовой области

УФ-спектрофотометрия – спектрофотометрия в ультрафиолетовой области

Волокитина Дарья Сергеевна (Россия)

Разработка способов анализа и стандартизация нового биологически активного соединения производного хиназолин-4(3H)-она ноотропного действия

Проведено химико-фармацевтическое исследование нового биологически активного соединения: 3-[2-(2-Метилфениламино)-2-оксоэтил]-хиназолин-4(3H)-она (лабораторный шифр – VMA-10-13), обладающего выраженным ноотропным и антигипоксическим действием. Исследованы физико-химические свойства, определены основные фармакопейные показатели качества, разработаны методики определения подлинности, примесей и количественного содержания субстанции VMA-10-13.

Определены фармацевтико-технологические показатели качества твердой дозированной лекарственной формы (таблеток) VMA-10-13, разработаны методики анализа для их стандартизации. Установлены сроки годности, обоснованы нормы качества и разработан проект нормативной документации на субстанцию и таблетки VMA-10-13.

Volokitina Darya Sergeevna (Russia)

Development of methods for the analysis and standardization of a new biologically active compound derived quinazolin-4(3H)-one nootropic action

Conducted chemical and pharmaceutical research of new biologically active compound: 3-[2-(2-Methylphenylamino)-2-oxoethyl]-quinazolin-4(3H)-one (laboratory code – VMA-10-13), which has a pronounced nootropic and antihypoxic effect. The physicochemical properties were investigated, the main pharmacopoeial quality indicators were determined, the methods for determining the authenticity, impurities and quantitative content of the substance VMA-10-13 were developed.

Pharmaceutical and technological indicators of the quality of solid dosage form (tablets) VMA-10-13 have been determined, analytical methods have been developed for their standardization. The expiration dates have been established, the quality standards have been substantiated and a draft of the regulatory documentation for the substance and tablets VMA-10-13 have been developed.