

PHARMACEUTICS

Разработка спектрофотометрической методики количественного определения нового биологически активного производного имидазола

С. К. Ордабаева¹, А. Д. Асильбекова¹, Д. Г. Тлеукабыл¹, А. Д. Серикбаева¹, И. М. Шарипов²

¹Южно-Казахстанская медицинская академия, г. Шымкент, Казахстан;

²Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия.

Corresponding author. E-mail: @ordabaeva

Paper received 08.07.21; Accepted for publication 26.07.21.

<https://doi.org/10.31174/SEND-NT2021-255IX32-03>

Аннотация. Целью исследования является разработка воспроизводимого и доступного метода спектрофотометрии для количественного определения нового биологически активного производного имидазола. УФ-спектры поглощения 2,4,5-трибром-имидазола, снятые в зависимости от pH среды в различных растворителях показали, что для количественного анализа наиболее оптимальным условием является кислая среда, созданная раствором 0,01М кислоты хлороводородной при длине волны 229±2нм, при этом величина удельного показателя поглощения составляет 301.

Ключевые слова: производное имидазола, 2,4,5-трибром-имидазол, количественное определение, УФ-спектрофотометрия, валидация.

Введение. Депрессия является распространенным психическим расстройством. По оценкам, во всем мире от нее страдает более 264 миллионов человек из всех возрастных групп. По данным ВОЗ, психические расстройства повышают риск приобретения других болезней, например, сердечно-сосудистые заболевания и диабет. В худших случаях она может приводить к самоубийству. Ежегодно около 800 000 человек погибают в результате самоубийства - второй по значимости причины смерти среди людей в возрасте 15-29 лет. Распространенность депрессий в различных странах имеет большую вариативность, колеблется от 8 до 12% в общей структуре заболеваний, при этом риск развития большого депрессивного эпизода составляет 15-20% [1,2].

Одним из наиболее распространенных методов лечения расстройств депрессивного спектра является применение антидепрессантов. Антидепрессанты - психотропные лекарственные средства, применяемые, прежде всего для лечения депрессии, оказывающие влияние на уровень нейромедиаторов, в частности серотонина, норадреналина и дофамина. У депрессивного больного они улучшают настроение, уменьшают или снимают тоску, вялость, апатию, тревогу, беспокойство, раздражительность и эмоциональное напряжение, повышают психическую активность, нормализуют фазовую структуру и продолжительность сна, аппетит [3,4].

На кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Башкирского государственного медицинского университета (БГМУ, Уфа, Россия) Халиуллиным Ф.А. с соавторами синтезировано новое производное - 2,4,5-трибром-имидазол (2,4,5-Br-I), обладающее антидепрессивным действием [5].

Для внедрения в медицинскую практику новых биологически активных соединений необходимо изучение их физических и химических свойств, стандартизация качественных показателей и разработка проекта временного аналитического нормативного документа (ВАНД). В аналитических нормативных документах для идентификации и количественного определения лекарственных средств чаще всего предлагаются хроматографические, спектрофотометрические методы. Это связано с тем, что

данные методы обладают высокой специфичностью, чувствительностью, точностью, правильностью, повторяемостью [6].

Исследование спектральной характеристики 2,4,5-трибром-имидазола в УФ-области позволило использовать достаточно надежный и доступный метод спектрофотометрии для количественного анализа данного вещества.

Цель исследования. Разработка воспроизводимого и доступного метода спектрофотометрии для количественного определения нового биологически активного производного имидазола.

Материалы и методы. Материалы: лабораторные образцы субстанции 2,4,5-трибром-имидазола (2,4,5-Br-I, CAS: 2034-22-2), полученные на кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии БГМУ (Уфа, РФ); спектрофотометр СФ-2000 (РФ), реактивы и растворители категории «х.ч.» и «ч.д.а.». Методы: УФ-спектрофотометрия, потенциометрия. Статистическая обработка результатов исследования проводилась по программе STATISTICA-Version 10 (компания «Stat-Soft», США).

Результаты и обсуждение. УФ-спектры поглощения 2,4,5-трибром-имидазола, снятые в зависимости от pH среды в различных растворителях показали, что для количественного анализа наиболее оптимальным условием является кислая среда, созданная раствором 0,01М кислоты хлороводородной при длине волны 229±2нм (рисунк 1).

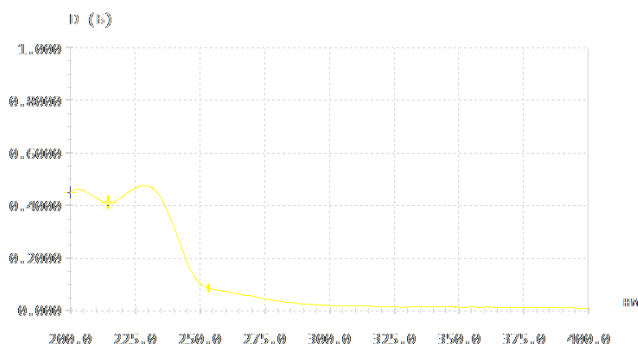


Рисунок 1 – УФ-спектр 2,4,5-трибром-имидазола в 0,01М хлороводородной кислоте

Согласно правилам GMP, важнейшим критерием оценки любой аналитической методики служит доказательство ее валидности, включающей взаимосвязанную систему характеристик - специфичность, линейность, правильность и воспроизводимость.

Методика определения линейности (построения калибровочного графика): 0,0100г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25мл 50%-ного этилового спирта, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают (раствор А).

В мерные колбы вместимостью 50 мл помещают 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; 10.0 мл раствора А, доводят объемы растворов 0,01М хлороводородной кислотой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученных растворов на спектрофотометре при длине волны 229 нм в кювете с толщиной слоя 10мм. В качестве раствора сравнения используют 50% этиловый спирт.

Для исследования линейности был построен калибровочный график, показывающий зависимость оптической плотности от концентрации исследуемой субстанции. Результаты статистической обработки результатов исследования показали, что коэффициент корреляции линейного регрессионного графика r для 2,4,5-трибром-имидазола составляет 0,9995 (таблица 1, рисунок 2).

На основании полученных результатов можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величиной оптической плотности и содержанием 2,4,5-трибром-имидазола в исследуемых растворах в интервале 0,008-0,04мг/мл от декларируемой величины. Этот интервал можно определить как аналитическую область методики.

Таблица 1. - Оценка линейной зависимости методики количественного определения 2,4,5-трибром-имидазола

№	Концентрация субстанции в растворе, С, %	Оптическая плотность, D	Удельный показатель поглощения, $E_{1\%}^{1\text{см}}$	Метрологические характеристики
1	0,0008	0,259	327,75	X = 301,15
2	0,0016	0,498	311,25	S = 13,49
3	0,0024	0,705	293,75	S _x = 5,51
4	0,0032	0,932	291,25	$\Delta x = \pm 14,16$
5	0,0040	1,143	285,75	$\varepsilon = \pm 2,76\%$ $r \approx 0,9995$

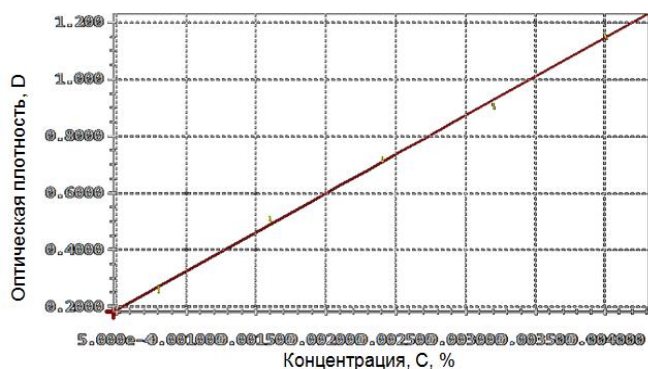


Рисунок 2 - Калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации 2,4,5-трибром-имидазола.

Методика количественного определения 2,4,5-трибром-имидазола в субстанции: 0,0100г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50мл, растворяют в 25мл 50%-ного этилового

спирта, доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают (раствор А). 8мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01М хлороводородной кислотой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 229 нм в кювете с толщиной слоя 10мм. В качестве раствора сравнения используют 50% этиловый спирт.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца (PCO) 2,4,5-трибром-имидазола: 0,0100г (точная навеска) PCO помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл 50%-ного этилового спирта доводят объем раствора растворителем до метки и перемешивают (раствор А). 8 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 0,01М хлороводородной кислотой до метки и перемешивают. Срок годности раствора 1 неделя.

Правильность методики характеризуется близостью полученных результатов испытаний к действительному значению определяемой величины. Она показывает систематические погрешности метода и выражается как процент регенерации точно взвешенного количества анализируемого образца. Данная характеристика валидности установлена по результатам анализа лабораторных образцов субстанции 2,4,5-трибром-имидазола (таблица 2). Средний процент регенерации составляет 98,33%, все полученные данные находятся в интервале 99,6-100,5%. Синтетическая природа субстанции объясняет наличие родственных примесей, что определяет требования к количественному содержанию 2,4,5-трибром-имидазола - не менее 99%. Результаты исследования показывают удовлетворительную точность методики. Относительная ошибка среднего результата составляет $\pm 0,2138\%$

Таблица 2 - Оценка правильности методики количественного определения 2,4,5-трибром-имидазола

Взято, в г	Найдено, в %	Метрологические характеристики
0,0100	99,59	n = 5 $x_{cp} = 99,8699$ $\Delta x_{cp} = 0,1923$ $S = 0,0785$ $x_{cp} \pm \Delta x_{cp} = 99,86 \pm 0,1923$ $\varepsilon_{cp}, \% = 0,2138$
0,0100	100,12	
0,0100	99,67	
0,0100	100,45	
0,0100	99,98	

Воспроизводимость аналитической методики характеризуется степенью совпадения результатов индивидуальных определений при многократном использовании. Относительная ошибка среднего результата составляет $\pm 0,38\%$ (таблица 3).

Таблица 3 - Оценка воспроизводимости методики количественного определения 2,4,5-трибром-имидазола

X _i , мг	n	X _{cp}	S	ΔX_{cp}	X _{cp} ± ΔX_{cp}	$\varepsilon_{cp}, \%$
1	2	3	4	5	7	8
100,33	9	99,98	0,3633	0,1483	99,98 ± 0,1483	± 0,3812
99,83						
99,67						
100,12						
99,74						
100,45						
99,98						
99,59						
100,05						

Выводы. По результатам валидации установлено, что разработанная методика является специфичной для определения количественного содержания 2,4,5-трибром-имидазола в субстанции, характеризуется корректной точностью и воспроизводимостью в аналитиче-

ской области по отношению к установленной рабочей концентрации 2,4,5-трибром-имидазола в растворе, что позволяет использовать ее для достоверной оценки качества субстанции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Всемирная организация здравоохранения [Электронный ресурс] / Информационная бюллетень Март 2018г. (22.03.18) - Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>, свободный. (Дата обращения: 17.10.19)
2. Михайлов, Б.В. Депрессии как междисциплинарная проблема современной дисциплины / Б.В. Михайлов // Арх. Психіатрії. - 2004. - Т. 10, №1. - 182-187 с.
3. Кукес В. Г. Клиническая фармакология. - 3-е. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. - 3500 экз. - ISBN 5-9704-0287-7.
4. Александрова, Е.В. Свойства галогенимидазолов (Обзор)/ Е.В. Александрова, А.Н. Кравченко, П.М. Кочергии // Химия гетероцикл. соедин. -2011.- №3 (525) – С. 323-356
5. Шарипов И.М. Синтез и биологическая активность тиетансодержащих производных 4,5-дибромимидазола: автореф. дис. к-да фарм. наук: 14.04.02 / Шарипов Ирик Мунирович - Уфа, 2014. - 163 с.
6. Государственная Фармакопея Республики Казахстан. - Алматы: «Жібек жолы». - 2008. - Т.1. - 6. 592.

REFERENCES.

1. World Health Organization [Electronic resource] / Newsletter March 2018 (22.03.18) - Access mode: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>, free. (Date of request: 17.10.19)
2. Mikhailov, B. V. Depressions as an interdisciplinary problem of modern discipline / B. V. Mikhailov // Arch. Psychiatrii. - 2004. - Vol. 10, No. 1. - 182-187 p.
3. Kukes V. G. Clinical pharmacology. - 3-E.-M.: GEOTAR-Media, 2006. - 3500 copies. - ISBN 5-9704-0287-7.
4. Alexandrova, E. V. Properties of halimidazoles (Review)/ E. V. Alexandrova, A. N. Kravchenko, P. M. Kochergii // Chemistry of heterocycles. soedin. -2011. - No. 3 (525) - pp. 323-356
5. Sharipov I. M. Synthesis and biological activity of thietane-containing derivatives of 4,5-dibromimidazole: abstract. candidate of Pharmaceutical Sciences: 14.04.02 / Sharipov Irik Munirovich-Ufa, 2014. - 163 p.
6. State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan. - Almaty: "Zhibek zholy". - 2008. - Vol. 1. - p. 592.

Development of a spectrophotometric method for the quantitative determination of a new biologically active imidazole derivative S. K. Ordabaeva, A. D. Assilbekova, D. G. Tleukabyl, A. D. Serikbayeva, I. M. Sharipov

Annotation. The aim of the study is to develop a reproducible and accessible spectrophotometric method for the quantitative determination of a new biologically active imidazole derivative. UV absorption spectra of 2,4,5-tribromo-imidazole, taken depending on the pH of the medium in various solvents, showed that the most optimal condition for quantitative analysis is an acidic environment created by a solution of 0.01M hydrochloric acid at a wavelength of 229 ± 2 nm, the value of the specific absorption index is 301.

Keywords: imidazole derivative, 2,4,5-tribromo-imidazole, quantification, UV spectrophotometry, validation.