

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 547.854

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2021.1.53>

Д. А. Колесник, П. О. Левшукова, Е. В. Куваева, И. И. Тернинко, И. П. Яковлев

РАЗРАБОТКА ПЕРВИЧНОГО СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА 1,2-ДИФЕНИЛ-5-БУТИЛ-6-ОКСО-1,6-ДИГИДРОПИРИМИДИН-4-ОЛЯТА НАТРИЯ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Использование первичных стандартных образцов (СО) является одним из условий, необходимых для осуществления надлежащего уровня контроля качества лекарственных средств. Поэтому их разработка является актуальной проблемой фармацевтической отрасли, особенно для новых биологически активных соединений, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве лекарственных препаратов.

Целью работы является разработка первичного стандартного образца нового 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия. Данная субстанция может быть использована в медицинской практике как противовоспалительное средство. Первичный СО получали доочисткой исходной фармацевтической субстанции троекратной перекристаллизацией из ацетона. Проведена работа по его аттестации: подтверждена структура, определены такие показатели, как потеря в массе при высушивании, неорганические примеси (хлориды, сульфатная зола, тяжелые металлы), родственные примеси. Установлено количественное содержание основного компонента с помощью материального баланса.

Ключевые слова: *первичный стандартный образец, гидрофильное производное пиримидина, биологически активное производное пиримидина, аттестация СО, фармакопея.*

ВВЕДЕНИЕ

Использование первичных стандартных образцов является одним из условий, необходимых для осуществления надлежащего уровня контроля качества лекарственных средств. Поэтому для нового 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия разработка СО является актуальной проблемой, так как данное вещество обладает противовоспалительным действием [1] и потенциально может быть использовано в качестве фармацевтической субстанции для производства (изготовления) лекарственных препаратов.

Целью исследования является создание СО 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия. Для этого необходимо решить следующие задачи: получить первичный СО путём доочистки исходной фармацевтической субстанции; разработать основные параметры его аттестации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первичный СО получали троекратной перекристаллизацией из ацетона (марка х.ч.): в круглодонную колбу на 50 мл помещали 10 г 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия и порциями прибавляли ацетон, каждый раз доводя смесь до кипения. В результате был получен насыщенный раствор. Для сорбции примесей использовали силикагель (в количестве 0,5% от массы вещества). Полученную суспензию отфильтровывали. Маточный раствор охлаждали до полного выпадения осадка, который отделяли фильтрованием при пониженном давлении. Влажный осадок сушили в эксикаторе над хлористым кальцием в течение 2 часов.

При разработке основных параметров аттестации были использованы взаимодополняющие методы анализа.

Структуру подтверждали с помощью

современных физико-химических методов анализа: ЯМР (^1H и ^{13}C), ИК- и масс-спектрометрии.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C растворов веществ в D_2O записаны на спектрометре Bruker AM-500 (рабочая частота 500 МГц), спектральные данные обработаны с помощью программы MestReNova 12.0.0.

Инфракрасный спектр записан на ИК-Фурье спектрометре VERTEX 70v в диске с калия бромидом в области 4000 – 400 cm^{-1} .

Масс-спектр высокого разрешения (HRMS-ESI) был записан с использованием масс-спектрометра с ионизацией ESI Agilent 6538 UHD.

Определение чистоты проводили по показателям: потеря в массе при высушивании (ПМВ), неорганические примеси (хлориды, сульфатная зола, тяжелые металлы).

Потерю в массе при высушивании (ПМВ) определяли согласно общей фармакопейной статье (ОФС) «Потеря в массе при высушивании» Государственной фармакопеи РФ (ГФ РФ) XIV издания по способу № 1. Точная навеска составляла 1,0 грамм [2].

Содержание хлоридов оценивали по модифицированной методике ОФС «Хлориды».

0,1 г субстанции растворяли в 10 мл воды, прибавляли 10 мл 16% раствора кислоты азотной и, после выпадения осадка, фильтровали. Для определения использовали 10 мл фильтрата. К испытуемому (10 мл фильтрата) и эталонному растворам (стандартный раствор 2 мкг/мл хлорид-иона) прибавляли по 0,5 мл кислоты азотной и 0,5 мл серебра нитрата раствора 2%. Перемешивали и помещали пробирки в темное место. Через 5 мин сравнивали опалесценцию растворов.

Сульфатную золу определяли согласно ОФС «Сульфатная зола» Государственной фармакопеи РФ XIV издания. Точная навеска составляла 1,0 г [2].

Определение тяжёлых металлов проводили в соответствии с ОФС «Тяжелые металлы» в зольном остатке, полученном после сжигания 1,0 г субстанции (точная навеска), с использованием эталонного раствора 1 [2].

Родственные примеси определяли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Flexar, оснащённом диодно-матричным детектором (Perkin Elmer). В качестве под-

вижной фазы (ПФ) использовали Ацетонитрил – 0,1% фосфорную кислоту 35:65; для приготовления испытуемого раствора в мерную колбу вместимостью 20 мл помещали 10,0 мг (точная навеска) фармацевтической субстанции, растворяли в подвижной фазе (ПФ) и доводили объём раствора ПФ до метки.

Хроматографические условия

Колонка: 15 × 0,46 см силикагель октилсилильный эндкепированный для хроматографии, размер частиц 5 мкм.

Температура колонки: 25 °С.

Скорость потока: 1,0 мл/мин.

Детектор: спектрофотометрический, 240 нм.

Объём пробы: 10 мкл.

Время хроматографирования: двукратное от времени удерживания основного пика.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C (D_2O) 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия (рисунок 1) представлены на рисунках 2 и 3 соответственно. Их характеристики представлены в таблице 1 и таблице 2 соответственно.

Строение фармацевтической субстанции дополнительно подтверждено с помощью ИК-спектроскопии (ν , (KBr), cm^{-1}), в частности, идентифицируются группа «C=O» по полосе поглощения при 1663 cm^{-1} , фрагмент «C=N» при 1523 cm^{-1} , фрагмент «C-O» при 1256 cm^{-1} . ИК-спектр представлен на рисунке 4.

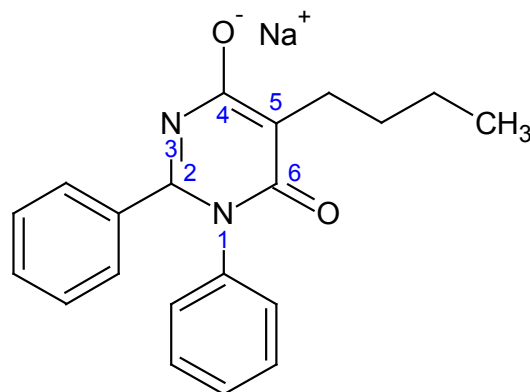


Рисунок 1. – Структурная формула 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

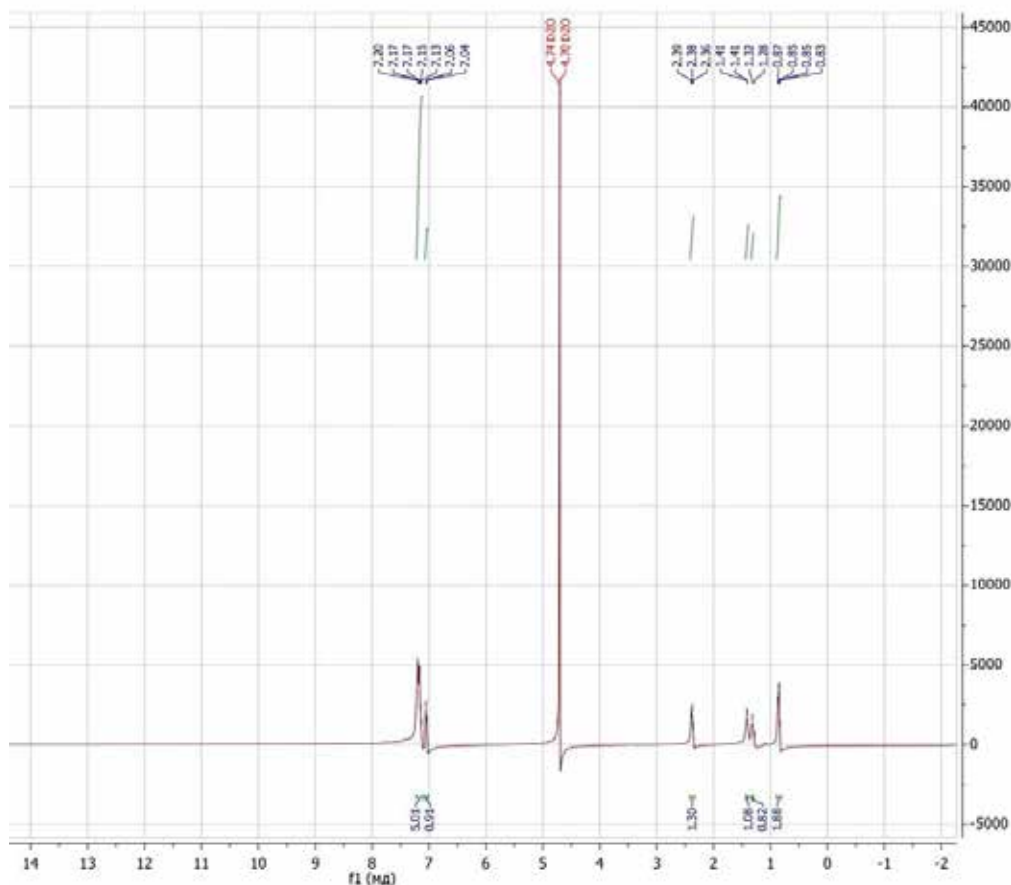


Рисунок 2. – Спектр ЯМР ^1H (D_2O) 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

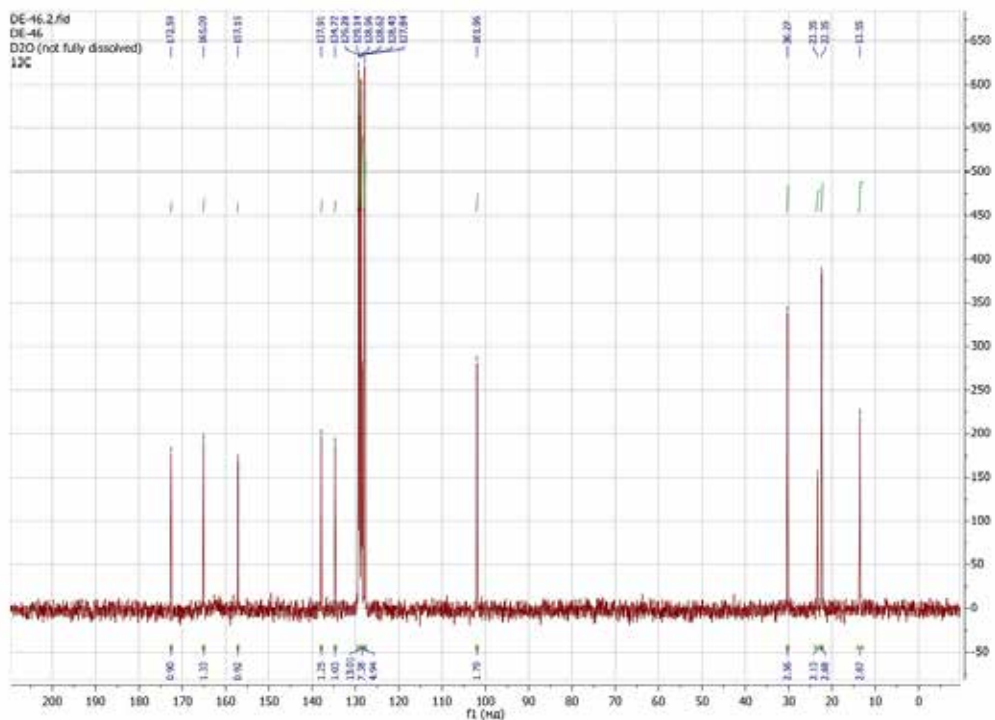


Рисунок 3. – Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O) 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

Таблица 1. – Данные спектра ЯМР ^1H (D_2O) 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

Спектр ЯМР ^1H (D_2O), δ , м.д.			
CH_3	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	CH_2-C_5	Ar
0,89–0,81 (m, 3H)	1,42 (t, 2H); 1,32 (q, 2H)	2,39 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H)	7,22–7,11 (m, 8H); 7,05 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H)

Таблица 2. – Данные спектра ЯМР ^{13}C (D_2O) 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

Спектр ЯМР ^{13}C (D_2O), δ , м.д.						
CH_3	CH_2	Ar	C_2	C_4	C_5	C_6
13,55	22,35–30,27	127,84–137,91	157,15	172,59	101,96	165,09

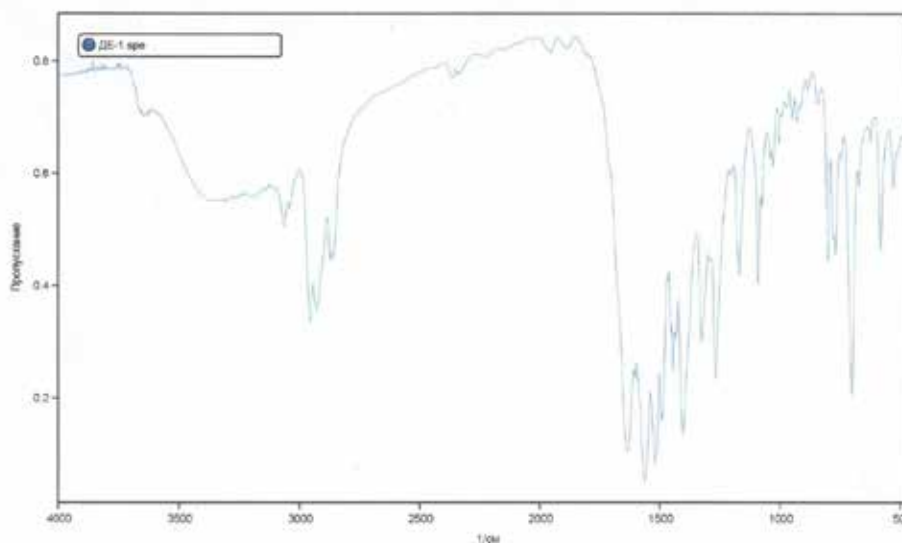


Рисунок 4. – ИК-спектр 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия

Значение m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ молекулярного иона соответствует массе молекулярного иона – 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят-иона. m/z $[\text{M}+\text{H}]^+$ вычислено для $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_2^-$: 319,37;

найдено: 319,27. Масс-спектр представлен на рисунке 5.

Учитывая, что ацетон, который использовался для очистки фармацевтической субстанции, относится к 3-му классу

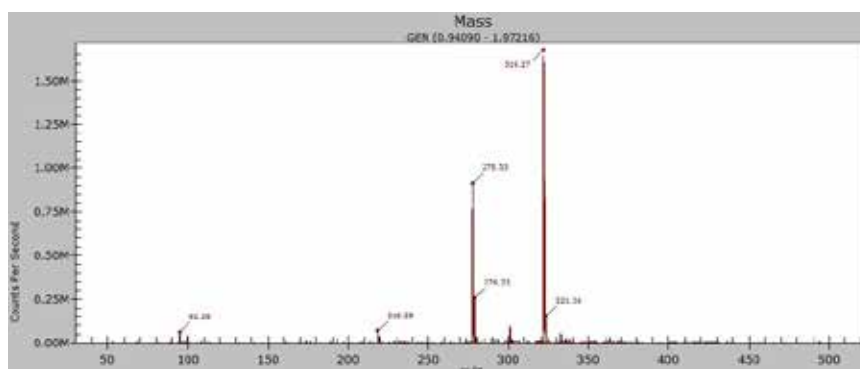


Рисунок 5. – Масс-спектр 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят-иона

токсичности, ГФ РФ позволяет контролировать содержание веществ данного класса по неспецифическому показателю – ПМВ – в том случае, если данный показатель не превышает 0,5%. Потеря в массе при высушивании составила $0,08 \pm 0,01\%$. Следовательно, данный показатель может заменить определение остаточных растворителей.

Поскольку на одной из стадий синтеза используется 25% раствор кислоты хлористоводородной, необходимо контролировать остаточное содержание хлорид-ионов и вводить испытание по показателю «Хлориды». При его проведении опалесценция, появившаяся в испытуемом растворе, не превысила опалесценцию эталонного раствора. Следовательно, можно установить следующую норму для данного показателя – не более 0,0002%.

Содержание сульфатной золы составило $0,09 \pm 0,01\%$, что не превышает 0,1%.

В результате проведения испытания показателя «Тяжёлые металлы» интенсивность окраски испытуемого раствора не превысила интенсивность окраски эталонного раствора 1. Следовательно, можно установить следующую норму для данного показателя – не более 0,0005%.

Родственные примеси, а именно технологические, и их содержание оценили с помощью метода ВЭЖХ. ПФ и хроматографические условия, используемые при определении примесей в субстанции «тиопентал натрия» (как структурного аналога исследуемого соединения), были адаптированы под аналогичное испытание для 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия.

Время удерживания пика основного вещества (1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия) – около 15 минут. Время удерживания пика неидентифицированной примеси составило около 7 минут. Установлено, что процентное содержание неидентифицированной примеси составляет $0,3 \pm 0,06\%$.

Количественное содержание основного компонента установлено с помощью материального баланса: $X\% = 100\% - (\text{ПМВ}, \%) - (\text{сульфатная зола}, \%) - (\text{родственные примеси}, \%)$.

Процентное содержание 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия в первичном стандартном образце составило $99,53 \pm 0,5\%$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате работы получен первичный стандартный образец 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-дигидропиримидин-4-олята натрия и разработаны основные параметры его аттестации: подтверждена структура, определены такие параметры, как потеря в массе при высушивании, неорганические примеси (хлориды, сульфатная зола, тяжелые металлы), родственные примеси. Установлено количественное содержание основного компонента с помощью материального баланса.

SUMMARY

D. A. Kolyesnik, P. O. Levshukova,
Ye. V. Kuvayeva, I. I. Tyerninko,
I. P. Yakovlev

SODIUM 1,2-DIPHENYL-5-BUTYL-6-OXO-1,6-DIHYDROPYRIMIDINE-4-OLATE PRIMARY REFERENCE SAMPLE DEVELOPMENT

The primary reference sample (RS) use is one of the conditions necessary for conducting pharmaceuticals appropriate quality control. Therefore, their development is an urgent problem for the pharmaceutical industry, especially for new biologically active compounds that can be further used as pharmaceuticals.

The aim of the work is to develop a primary standard sample of new sodium 1,2-diphenyl 1-5-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidine-4-olate. This substance can be used in medical practice as an anti-inflammatory agent. Primary RS was obtained by additional purification of the additional pharmaceutical substance by threefold recrystallization of acetone. The work on its certification was the following: the structure was confirmed, such indicators as weight loss on drying, inorganic impurities (chlorides, sulphated ash, heavy metals), related impurities were determined. The main component quantitative content has been established using the material balance.

Keywords: primary reference sample, pyrimidine hydrophilic derivative, biologically active pyrimidine derivative, RS certification, pharmacopoeia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Противовоспалительное средство на основе 1,2-дифенил-5-бутил-6-оксо-1,6-

дигидропиримидин-4-олята натрия и способ его получения : заявка RU 2021104636 А Рос. Федерация / Д. А. Колесник, Е. В. Куваева, П. О. Левшукова, Д. Ю. Ивкин, И. П. Яковлев, Е. Н. Кириллова ; заявитель ФГБОУ ВО СПХФУ Министерства здравоохранения России. – № 2021104636 ; заявл. 26.02.2021.

2. Государственная фармакопея Российской Федерации : введ. в действие с 1 дек. 2018 г. приказом М-ва здравоохранения РФ от 31 окт. 2018 г. № 749 / М-во здравоохранения РФ. – 14-е изд. – Т.1. – Москва, 2018 – 1814 с.

REFERENCES

1. Kolesnik DA, Kuvaeva EV, Levshukova PO, Ivkin DIu, Iakovlev IP, Kirillova EN, izobretateli; FGBOU VO SPKhFU Ministerstva zdravookhraneniia Rossii, pravopreemnik. Anti-inflammatory agent based on sodium 1,2-diphenyl-

5-butyl-6-oxo-1,6-dihydropyrimidin-4-olate and method for its preparation. Zaiavka na patent RU 2021104636 A Rossiiskaia Federatsiia. 2021 Fevr 26. (In Russ.)

2. Ministerstvo zdravookhraneniia Rossiiskoi Federatsii. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14-e izd. T. 1. Moskva, RF; 2018. 1814 s. (In Russ.)

Адрес для корреспонденции:

197376, Российская Федерация,
г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д.14,
ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский
государственный химико-фармацевтический
университет» Министерства здравоохранения
Российской Федерации,
тел.: 8 (812) 499-39-00 доб. 4200,
e-mail: denis.kolesnik@spcpu.ru,
Колесник Д. А.

Поступила 10.03.2021 г.