

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ И УСТАНОВЛЕНИЕ СРОКА ГОДНОСТИ СУБСТАНЦИИ МОНОМЕКАИНА

Чекрышкина Л.А.¹, Бабикова Е.А.², Слепова Н.В.¹

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, Пермь, Россия (614990, Пермь, Полевая, 2), e-mail: chekrishkina@mail.ru;

²Фармацевтический филиал ГБОУ СПО «Свердловский областной медицинский колледж», Екатеринбург, Россия (620014, Екатеринбург, Репина 2/а), e-mail: eva2711@mail.ru

В статье приведены результаты исследований стабильности нового продукта органического синтеза – 2-метиланилида N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрата (мономеканин), рассматриваемого как потенциальное лекарственное средство антиаритмического действия. Стабильность субстанции изучена двумя способами: методом «ускоренного старения» при температуре 60 °С и хранением при комнатной температуре в защищенном от света месте. Контроль стабильности осуществляли через 11,5 суток в случае использования метода «ускоренного старения» и 1 год в случае хранения при комнатной температуре по показателям: органолептический контроль, ИК спектрометрия, УФ спектрофотометрия, температура плавления, химические реакции (на амидную группу – реакция образования азокрасителя после кислотного гидролиза; на нитрат-ион – реакция с дифениламино), количественное содержание. Полученные результаты показали, что субстанция мономеканина стабильна в течение 69 суток наблюдения по методу «ускоренного старения», что соответствует 1104 суткам хранения в естественных условиях, а в случае наблюдения за качеством субстанции при комнатной температуре – 4 годам, что свидетельствует о достаточно высокой стабильности исследуемого соединения. Полученные данные использованы при составлении проекта фармакопейной статьи – документа, являющегося государственным стандартом качества каждого лекарственного средства.

Ключевые слова: мономеканин, антиаритмическое действие, стабильность, срок годности.

THE STUDY OF STABILITY AND ESTABLISHMENT OF SHELF-LIFE OF THE SUBSTANCE OF MONOMEKAININE

Chekrishkina L.A.¹, Babikova E.A.², Slepova N.V.¹

¹Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia, chekrishkina@mail.ru;

²Pharmaceutical branch of Sverdlovsk regional medical college, Ekaterinburg, Russia

The results of the researches of stability of a new product of organic synthesis – a 2-methylanilide-N,N- of diethylaminoethanic acid nitrate (monomekain) considered as a potential medicine of antiarrhythmic action are given in the article. Stability of the substance is studied in two ways: by the method of "the accelerated aging" at the temperature of 60 °C and storage at the room temperature in the place protected from the light. The control of stability was exercised in 11,5 days in case of use of the method of "the accelerated aging" and 1 year in case of storage at the room temperature on indicators: organoleptic control, IK spectrometry, UF spektrofotometriya, melting temperature, chemical reactions (on amide group – reaction of formation of azoic dye after acid hydrolysis; on nitrate ion – reaction with biphenyl amine), the quantitative contents. The received results showed that substance of a monomekain is stable within 69 days of supervision on the method of "the accelerated aging" that corresponds to 1104 days of storage under natural conditions, and in case of supervision over quality of substance at the room temperature – to 4 years that testifies to rather high stability of the studied compound. The obtained data are used by drawing up the draft of Pharmacopoeia article – the document which is the state standard of quality of each medicine.

Keywords: monomekaine, antiarrhythmic action, stability, shelf life.

Продукты органического синтеза составляют значительную часть арсенала лекарственных средств современной медицины. Несмотря на значительное число лекарственных средств, используемых в медицинской практике, а это более 20 тысяч наименований, постоянно ведется поиск более эффективных и безопасных. В значительной степени это относится к группам лекарственных средств, используемых для лечения

сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [7]. В этом плане представляют интерес научные исследования, проводимые в Пермской государственной фармацевтической академии [4], направленные на поиск потенциальных лекарственных средств для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. В частности, одно из полученных соединений (2-метиланилид N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат) на стадии скрининговых исследований показало выраженное антиаритмическое действие. Так, в сравнении со структурным аналогом лидокаином, антиаритмический индекс нового биологически активного соединения (БАС) в 9 раз выше при меньшей в 1,6 раза токсичности.

Исследование нового БАС в качестве потенциального лекарственного средства помимо разработки эффективных способов оценки качества на стадии доклинических испытаний включает установление стабильности и сроков годности.

Изучение вышеуказанных нормативных требований необходимо для установления времени, в течение которого вещество сохраняет неизменными физические, химические, биологические свойства, т.е. удовлетворяет всем требованиям нормативной документации. Обоснование установленного срока годности субстанции включается в раздел регистрационного досье, касающегося способов оценки качества.

Целью настоящего исследования является установление срока годности и стабильности БАС из группы анилидов замещенных карбоновых кислот – потенциального лекарственного средства с выраженным антиаритмическим действием.

Материалы и методы исследования

Субстанция мономекаина – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат. Эксперименты проведены на 5 сериях БАС, полученных в лабораторных условиях по методике [1]. Все образцы БАС предварительно проанализированы в соответствии с требованиями проекта ФС, разработанного автором.

ИК спектры получены на ИК Фурье спектрометре ALPHA-T в виде диска с калия бромидом в соотношении 1:200 мг.

Температура плавления соединения определена на приборе SMP3 (Barloworld Scientific).

Термостат ТСВЛ-80.

УФ спектры получены на спектрометре PerkinElmerLambda 45.

Использованы титрованные растворы, реактивы, растворители, индикаторы, соответствующие требованиям ГФ XII изд. [5]. Потенциометрическое титрование проводили с помощью автоматического титратора Titrolineeasy, снабженного магнитной мешалкой и комбинированным электродом. Методики испытания на подлинность и количественного определения, разработаны ранее авторами [2].

Результаты исследования и их обсуждение

При установлении сроков годности руководствовались требованиями ОФС 42-0075-07 ГФ XII [5] и Временной инструкции И-42-2-82 [3]. Согласно указанным документам установление стабильности возможно с использованием следующих способов:

- испытание в условиях долгосрочного хранения;
- испытание в условиях «ускоренного старения» согласно Временной инструкции И 42-2-82.

Метод «ускоренного старения», основанный на законе Вант-Гоффа, устанавливает зависимость между сроком годности вещества и температурой хранения экспериментальной

серии субстанции: $C = A \frac{t_3 - t_{xp}}{10}$, где

t_3 – температура экспериментального хранения,

t_{xp} – температура хранения,

A – температурный коэффициент скорости химической реакции при увеличении температуры на 10 °С (принят равным 2) [6].

Исследования проводили на 3-х сериях субстанции мономекаина (050713, 080813, 170314) при температуре экспериментального хранения, равной 60 °С. Образцы помещали в склянки темного стекла с притертыми пробками. Контроль качества проводили через временные промежутки (11,5 дней), эквивалентные 6 месяцам хранения в естественных условиях по показателям, приведенным в табл. 1.

Таблица 1

Нормы качества субстанции мономекаина, контролируемые при установлении срока годности

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический ГФ XII, ч. I, с.17, 484	Белый кристаллический порошок без запаха
Температура плавления	ГФ XII, ч. I, с. 29	137 – 139 °С
Подлинность	Инфракрасная спектрометрия ГФ XII, ч. I, с. 62-65	ИК спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом в области от 4000 до 400 см ⁻¹ , по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра Мономекаина
	Ультрафиолетовая спектрофотометрия ГФ XII, ч. I, с. 56-61 ОФС 42-0042-07	УФ спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в спирте этиловом 96 % в области 220–350 нм должен иметь максимум поглощения при 244±1 нм
	Химические реакции ГФ XII, ч. II ОФС 42-0085-08	Образование азокрасителя после кислотного гидролиза – осадок оранжево-красного цвета (амидная группа) С дифениламином – синее окрашивание (нитрат-ион)
Количественное	Ацидиметрическое	Содержание ЛС не менее 99,0 %

содержание	титрование в неводной среде ОФС 42-0080-08	$C_{13}H_{20}N_2O \cdot HNO_3$ в пересчете на сухое вещество
------------	---	--

Результаты эксперимента (табл. 2) показали, что субстанция мономекаина остается стабильной в течение 69 суток экспериментального хранения, что соответствует 1104 суткам хранения в естественных условиях, рассчитанных по правилу Вант-Гоффа: $C = A^{\frac{t_3 - t_{xp}}{10}} = 2^{\frac{60-20}{10}} = 16$ – коэффициент соответствия.

Отсюда срок годности $16 \cdot 69 = 1104$ сут., что составляет 3 года.

Температура хранения, позволяющая обеспечить установленный срок годности, составляет:

$$t_{xp} = t_3 + \frac{10}{\lg A} \cdot \lg \frac{C_3}{C} = 60 + \frac{10}{\lg 2} \cdot \lg \frac{69}{1104} = 20 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Максимально допустимая температура хранения равна:

$$t_{\text{макс. доп.}} = 20 \text{ } ^\circ + \frac{10}{\lg A} \cdot \lg \frac{C_3}{2 \cdot 365} = 20 + \frac{10}{\lg 2} \cdot \lg \frac{1104}{730} = 26 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Таким образом, в результате проведенных исследований методом «ускоренного старения» установлен срок годности и температурный режим хранения субстанции мономекаина.

Изучение стабильности мономекаина проводили также по способу долгосрочного хранения. Для этого мономекаин серий 141209 и 290110 хранили в сухом, защищенном от света месте в склянках оранжевого стекла с притертыми пробками при комнатной температуре. Контроль качества проводили по основным показателям, через промежутки времени, равные 1 году хранения. Проведенные исследования (табл. 3) показали, что стабильность субстанции мономекаина в условиях долгосрочного хранения сохраняется не менее 4-х лет. Таким образом, может быть установлен предварительный срок годности – 4 года.

Заключение

1. Найдено, что стабильность и срок годности исследуемого БАС, установленные методом «ускоренного старения» при температуре 60 °С, составляют не менее 3-х лет, а температурный режим хранения – от 20 до 26 °С. Испытания по исследованию стабильности продолжаются.

2. Установлено, что субстанция мономекаина в условиях долгосрочного хранения при комнатной температуре в защищенном от света месте составляет не менее 4-х лет.

3. На основании проведенных исследований в проект ФС на мономекаин субстанцию введен срок годности – 3 года.

Таблица 2

Результаты исследований по изучению стабильности субстанции Мономекаина методом «ускоренного старения»

Серия	Срок хранения, сут	Описание	Подлинность				Температура плавления, °С	Количественное содержание, %
			ИК-спектр	УФ спектр	Реакция образования азокрасителя	Реакция с дифениламином		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	137 – 139	не менее 99,0
050713	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	138,2	99,99
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,6	99,83
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,6	99,87
	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,83
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,1	99,95
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,9	99,76
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,70
80813	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	138,9	99,96
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,96
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,83
	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,8	99,87
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,2	99,83
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,70
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,74
170314	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок оранжево-красного цвета	Синее окрашивание	137,7	99,90
	11,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,9	99,83
	23	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,9	99,80

	34,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,6	99,90
	46	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,4	99,90
	57,5	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,3	99,71
	69	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	137,4	99,69

Таблица 3

Результаты исследований по изучению стабильности субстанции Мономекаина в естественных условиях

Серия	Срок хранения, лет	Описание	Подлинность				Температура плавления, °С	Количество содержание, %
			ИК-спектр	УФ спектр	Реакция образования азокрасителя	Реакция с дифениламином		
1	2	3	4	5	6	7	8	9
		Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	137–139	не менее 99,0
141209	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	138,2	99,81
	1	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,2	99,78
	2	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,1	99,73
	3	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,0	99,69
	4	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,0	99,65
290110	0	Белый кристаллический порошок без запаха	Совпадение полос с рисунком спектра	Максимум при 244±1 нм	Осадок красно-оранжевого цвета	Синее окрашивание	139,0	99,87
	1	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	139,0	99,81
	2	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,9	99,78
	3	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,8	99,75
	4	- // -	- // -	- // -	- // -	- // -	138,7	99,73

Список литературы

1. Бабилова, Е.А. Синтез и оценка качества Мономекаина / Е.А. Бабилова, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова, А.М. Демин // Современные проблемы в органической химии: Уральский научный форум в рамках XVIII молодежной школы-конференции по органической химии (Екатеринбург, 8–12 июня 2014 г.). – Екатеринбург, 2014. – С. 53.
2. Брылина Е.А. Обоснование способов контроля качества мономекаина – потенциального антиаритмического средства / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова, И.П. Рудакова // Медицинский альманах. – 2014. – № 1 (31) – С. 91-94.
3. Временная инструкция по проведению работ для определения сроков годности лекарственных средств на основе метода ускоренного старения при повышении температуры (И-42-2-82). Введена приказом № 430/224 от 18.04.1983 Министерством здравоохранения СССР и Министерством медицинской промышленности.
4. Гашкова, О.В. Синтез и антиаритмическая активность четвертичных производных и минеральных солей орто-толуидинадиэтиламиноуксусной кислоты / О.В. Гашкова, В.И. Панцуркин, И.П. Рудакова [и др.] // Хим.-фармац. журн. – 2008. – Т. 42. – № 12. – С. 8-10.
5. Государственная фармакопея Российской Федерации – 12-е изд. / Минздравсоцразвития России. – Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008. – 704 с.
6. Сакаева, И.В. Основные подходы к изучению стабильности лекарственных средств: отечественный и международный опыт / И.В. Сакаева, Н.Д. Бутянян, Е.Л. Ковалева, Е.И. Саканян, Л.И. Митькина, И.А. Прокопов, Е.С. Шелехина, Ю.В. Митькина // Ведомости научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2013. – № 3. – С. 8-11.
7. Шилов, А.М. Лечение сердечно-сосудистых заболеваний в практике врача первичного звена здравоохранения: место препаратов калия и магния (Панангин) / А.М. Шилов, М.В. Мельник, А.О. Осия, С.А. Князева // Русский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 102-106.

Рецензенты:

Гейн В.Л., д.х.н., профессор, заведующий кафедрой общей и органической химии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь;

Алексеева И.В., д.фарм.н., доцент, профессор кафедры фармацевтической технологии ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь.