



Л.І. Кучеренко<sup>1</sup>, Н.В. Парнюк<sup>1</sup>, Л.І Шаповалова<sup>2</sup>, О.О. Портна<sup>1</sup>, З.Б. Моряк<sup>1</sup>

## Розробка оптимальної методики визначення кількісного вмісту тіотріазоліну

<sup>1</sup>Запорізький державний медичний університет,

НВО «Фарматрон», м. Запоріжжя,

<sup>2</sup>ЦЗЛ ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України, м. Харків

**Ключові слова:** тіотріазолін, неводне титрування, оцтова кислота безводна, мурашина кислота безводна, хлорна кислота.

**Ключевые слова:** тиотриазолин, неводное титрование, уксусная кислота безводная, муравьиная кислота безводная, хлорная кислота.

**Key words:** Thiotriazolin, nonaqueous titration, acetic acid anhydrous, formic acid anhydrous, perchloric acid.

Розроблено удосконалену методику кількісного визначення субстанції тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням у якості розчинника суміші мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом. Розроблену методику запропоновано заводу-виробнику для внесення до нормативних документів на субстанцію тіотріазоліну.

Разработана усовершенствованная методика количественного определения субстанции тиотриазолина методом неводного титрования с использованием в качестве растворителя смеси муравьиной кислоты безводной Р и уксусной кислоты безводной Р с фиксацией точки эквивалентности потенциометрическим методом. Разработанная методика предложена заводу-изготовителю для внесения в нормативные документы на субстанцию тиотриазолина.

Improved technique of Thiotriazolin substance quantitative determination by nonaqueous titration method with the use of mixture of acetic acid anhydrous Р and formic acid anhydrous Р as solvent with the fixation of equivalence point by potentiometry method was worked out. Developed method is proposed to producer factory for introduction into the Thiotriazolin substance regulations.

Тіотріазолін – це вітчизняний лікарський препарат, створений у Запорізькому державному медичному університеті під керівництвом професора І.А. Мазура. Від моменту синтезу до клінічного впровадження його як лікарського препарату минуло вже понад 20 років [1,5,6,12,13].

Його фармакологічний ефект зумовлений протиішемічними, антиоксидантними, мембраностабілізуючими та імуномодельючими властивостями. Препарат запобігає загибелі гепатоцитів, сприяє процесам їх регенерації. Також тіотріазолін збільшує синтез і виділення жовчі, нормалізує її хімічний склад, посилює компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, знижує пригнічення процесів окислення в циклі Кребса зі збереженням внутрішньоклітинного фонду АТФ [7,9].

Препарат активує антиоксидантну систему і гальмує процеси окислення ліпідів в ішемізованих ділянках міокарда, знижує чутливість міокарда до катехоламінів [8]. Тіотріазолін здатний також покращувати реологічні властивості крові шляхом активації фібринолітичної системи. Тіотріазолін є ефективним засобом лікування хронічних захворювань печінки різної етіології, а також дисфункцій жовчного міхура, може сприяти швидкому купіруванню основних клінічних проявів даної патології.

Тіотріазолін поступово посів гідне місце серед фармакологічних препаратів і нині широко застосовується в Україні та країнах СНД. З кожним роком цікавість лікарів до нього зростає [1,11]. На сьогодні тіотріазолін застосовують у медичній практиці у вигляді різних лікарських форм: таблеток, ампульних ін'єкційних розчинів,

очних крапель, мазей, вагінальних супозиторіїв, а також у вигляді комбінованих лікарських засобів [4].

У зв'язку з поширенням сфери застосування препарату, виникла гостра необхідність у розробці нових оптимальних методів аналізу субстанції тіотріазоліну, які б мали значні переваги у порівнянні з методами, що внесені до методик контролю якості (МКЯ).

### Мета роботи

Розробка досконалішої методики кількісного визначення субстанції тіотріазоліну.

### Матеріали і методи дослідження

Кількісне визначення субстанцій, похідних триазолів, що використовуються для виготовлення лікарських засобів, згідно до вимог Державної фармакопеї та міжнародних стандартів, здійснюється методом неводного титрування [2,3]. Тому вивчено вже існуючу методику кількісного визначення тіотріазоліну, яку внесено до МКЯ, на її основі розроблено удосконалену методику неводного титрування.

### Результати та їх обговорення

Досліджено 6 серій тіотріазоліну, отриманих з заводу Державного підприємства «Хімічних реактивів корпорації Монокристал».

**Методика.** Близько 0,200 г субстанції поміщають у конічну колбу місткістю 100 мл, додають 25 мл оцтової кислоти безводної Р та нагрівають на гарячій (80–90°C) водяній бані до повного розчинення. Отриманий розчин охолоджують і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти до зеленого забарвлення (індикатор – 0,02 мл розчину кристалічного фіолетового Р).

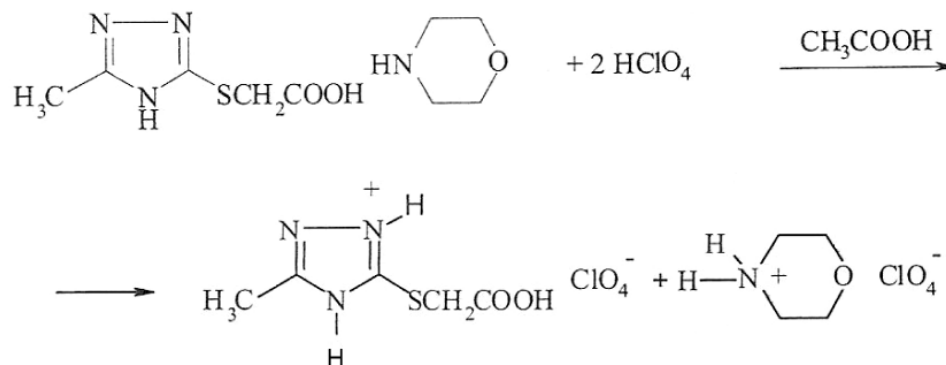


Рис. 1. Ацидиметрія в неводному середовищі, пряме титрування.

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину. Розрахунки проводили згідно до формули:

$$C\% = \frac{(V_1 - V_k) \cdot T \cdot K_1 \cdot 100}{m}$$

де  $V_1$  – кількість титрованого розчину, використаного на титрування наважки (мл);

$V_2$  – кількість титрованого розчину контрольного до-сліду (мл);

$K_1$  – коефіцієнт поправки молярності титрованого розчину;

$T$  – титр речовини, що визначається;

$m$  – наважка субстанції, використаної для аналізу (г).

Результати, отримані при кількісному визначенні тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинника (оцтової кислоти безводної Р), та їх статистична обробка наведені в таблиці 1.

З отриманих результатів видно, що зазначений метод досить точний. Однак необхідно зауважити, що на його застосування необхідно багато часу. Субстанцію

тіотріазоліну спочатку необхідно розчинити у оцтовій кислоті безводній Р. Для цього процес розчинення проводять на гарячій (80–90°C) водяній бані, а потім отриманий розчин необхідно охолодити до кімнатної температури, що значно ускладнює процес аналізу. У зв'язку з цим, розроблено аналіз без названих стадій. Відомо, що субстанції, до складу яких входять похідні тріазолів, розчиняються в мурашиній кислоті безводній Р. Вивчено можливість розчинення в ній тіотріазоліну з подальшим додаванням оцтової кислоти безводної Р та проведенні в отриманому розчині кількісного визначення. Для цього розраховано теоретичну наважку тіотріазоліну, на титрування якої має піти 10 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти. Ця наважка становила 0,1 г. Наважки розчиняли з додаванням мурашиної кислоти безводної Р від 1 до 10 мл. Кислоти оцтової безводної Р використано від 20 до 40 мл. У результаті лабораторного дослідження встановлено оптимальний склад розчинника, що складається з 2 мл кислоти мурашиної безводної Р та 40 мл кислоти оцтової безводної Р. Розроблено методику кількісного визначення тіотріазоліну з використанням зазначених розчинників.

Результати кількісного визначення тіотріазоліну наведено у таблиці 2.

Таблиця 1

**Дослідження тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинника (оцтової кислоти безводної Р)**

| Сполука      | Серія  | Наважка, г | V, мл | Vк, мл | Кп     | С, %   | Статистична обробка  |
|--------------|--------|------------|-------|--------|--------|--------|--|
| Тіотріазолін | 050510 | 0,1962     | 15,6  | 0,5    | 1,0058 | 100,63 | $X = 100,64$<br>$S^2 = 0,0205$<br>$S = 0,143178$<br>$\Delta X = 0,16456$ |
| Тіотріазолін | 450910 | 0,1953     | 15,5  | 0,5    | 1,0058 | 100,43 |  |
| Тіотріазолін | 621010 | 0,1975     | 15,7  | 0,5    | 1,0058 | 100,63 |  |
| Тіотріазолін | 961110 | 0,1984     | 15,8  | 0,5    | 1,0058 | 100,83 |  |
| Тіотріазолін | 080911 | 0,1961     | 15,6  | 0,5    | 1,0058 | 100,68 |  |

Таблиця 2

**Дослідження тіотріазоліну методом неводного титрування з використанням розчинників: мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р**

| Сполука      | Серія  | Наважка, г | V, мл | Vк, мл | Кп     | С%     | Статистична обробка   |
|--------------|--------|------------|-------|--------|--------|--------|---|
| Тіотріазолін | 050510 | 0,0979     | 7,9   | 0,4    | 1,0058 | 100,17 | $X = 100,31$<br>$S^2 = 0,0268$<br>$S = 0,163707$<br>$\Delta X = 0,188155$ |
| Тіотріазолін | 450910 | 0,0989     | 8,0   | 0,4    | 1,0058 | 100,48 |   |
| Тіотріазолін | 621010 | 0,0991     | 8,0   | 0,4    | 1,0058 | 100,28 |   |
| Тіотріазолін | 961110 | 0,0966     | 7,8   | 0,4    | 1,0058 | 100,14 |   |
| Тіотріазолін | 080911 | 0,0976     | 7,9   | 0,4    | 1,0058 | 100,48 |   |

**Дослідження тіотриазоліну методом неводного титрування з використанням розчинників – мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р – з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом**

| Сполука      | Серія  | Наважка, г | V, мл | Vк, мл | Кп     | С%     | Статистична обробка  |
|--------------|--------|------------|-------|--------|--------|--------|--|
| Тіотриазолін | 050510 | 0,0976     | 7,9   | 0,4    | 1,0058 | 100,48 | X= 100,24<br>S <sup>2</sup> = 0,02435<br>S=0,156045<br>ΔX=0,179348 |
| Тіотриазолін | 450910 | 0,0983     | 7,7   | 0,4    | 1,0058 | 100,16 |  |
| Тіотриазолін | 621010 | 0,0967     | 7,8   | 0,4    | 1,0058 | 100,06 |  |
| Тіотриазолін | 961110 | 0,0978     | 7,9   | 0,4    | 1,0058 | 100,27 |  |
| Тіотриазолін | 080911 | 0,0965     | 7,8   | 0,4    | 1,0058 | 100,23 |  |

Методика. 0,100 г субстанції розчиняють у 2,0 мл мурашиної кислоти безводної Р, додають 40 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти (індикатор – 0,02 мл розчину кристалічного фіолетового Р).

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину.

Згідно до вимог Державної фармакопеї та міжнародних стандартів на субстанції, рекомендується фіксація точки еквівалентності не візуально, а за допомогою інструментальних методів. Тому запропоновано потенціометричний метод, використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів.

Методика. 0,100 г субстанції розчиняють у 2,0 мл мурашиної кислоти безводної Р, додають 40 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти потенціометрично (ДФУ 1.0, 2.2.20), використовуючи систему скляного і хлорсрібного електродів.

Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 13,00 мг  $C_9H_{16}N_4O_3S$ .

Вміст  $C_9H_{16}N_4O_3S$  (морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в субстанції має бути від 98,5% до 101,0% у перерахунку на суху речовину.

Після кількісного визначення субстанції тіотриазоліну за зазначеними методиками встановлено, що титрування з використанням у якості суміші розчинників мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р значно скорочує час проведення аналізу за рахунок прискорення розчинення речовини.

Титрування з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом є найбільш зручним, досконалим і відповідає всім вимогам Державної фармакопеї та міжнародним стандартам [2,3].

#### Висновки

Розроблено методику кількісного визначення тіотриазоліну методом неводного титрування з використанням суміші розчинників – мурашиної кислоти безводної Р та оцтової кислоти безводної Р – з фіксацією точки еквівалентності потенціометричним методом, що значно зменшує час аналізу у порівнянні з існуючою.

Розроблену методику запропоновано заводу-виробнику для внесення в МКЯ на субстанцію тіотриазолін.

#### Список літератури

1. Волошин Н.А. Тиотриазолін, тиоацетам, тиодарон в практиці врача / Волошин Н.А., Визир В.А., Волошина И.Н. – Запоріжжя: ЗГМУ, 2008. – 224 с.
2. Державна Фармакопея України: Доповнення 1 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1 вид. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.
3. Державна Фармакопея України: Перше видання / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 1 вид. – Х.: РІРЕГ, 2001.
4. Демчук М.Б. Досвід створення комбінованих препаратів на основі Тиотриазоліну / Демчук М.Б., Тригубчак О.В., Васенда М.М., Кучеренко Л.І., Грошовий Т.А. – Х., 2010. – Т. 1. – С. 469.
5. Мазур І.А. Тиотриазолін / Мазур І.А., Волошин Н.А., Чекман І.С. – Запоріжжя, Львов: Наутилус, 2005. – 156 с.
6. Мазур І.А. Метаболитотропные препараты / Мазур І.А., Чекман І.С., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя, 2007. – 309 с.
7. Мазур І.А. Тиотриазолін, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии / Мазур І.А., Волошин Н.А., Визир В.А., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя: Печатный мир, 2011
8. Метаболические кардиопротекторы / Визир В.А., Волошин Н.А., Мазур І.А., Беленичев І.Ф. – Запоріжжя, 2006. – 34 с.
9. Cardoni A. Insight into cytoprotection with metabolic agents / Cardoni A., Pasini E. // Eur. Heart J. – 1999. – Vol. 1. – P. 40–48.
10. Ihor Belenichev Effect of the Spin Trapping Compound PBN and Thiotriazoline on the Outcome from Experimental Middle Cerebral Artery Occlusion in Rats / Ihor Belenichev, Sergej Pavlov, Elena Sokolik, Ivan Mazur, Nina Buhtiyarova, Lyudmila Kucherenko // Molecular Pharmacology. – 2010. – Vol. 1, Issue 3. – С. 90–95.
11. Roman I. Zubatyuk Crystal. Molecular structure and tautomerism of (5-methyl -1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid / Roman I. Zubatyuk, Svetlana V. Shichkina, Ivan A. Mazur // Struct. Chem. – 2008. – Vol. 19. – P. 407–412.
12. Svetlana V. Shichkina Two polymorphs of morpholin-4-ium 2-(5-methyl-1H-1,2,4triazol-3ylsulfanyl) acetate / Svetlana V. Shichkina, Roman I. Zubatyuk, Ivan A. Mazur. // Crystal Struct. Communications – 2009. – Vol. C65. – P. o24–o26.

#### Відомості про авторів:

Кучеренко Л.І., д. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Парнюк Н.В., студентка 4 курсу фармацевтичного факультету ЗДМУ.

Шаповалова Л.І., начальник ЦЗЛ ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України.

Портна О.О., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

Моряк З.Б., к. фарм. н., доцент каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ.

#### Адреса для листування:

Кучеренко Людмила Іванівна. 69035, м. Запоріжжя, пр-т Маяковського, 26, каф. фармацевтичної хімії ЗДМУ. Тел.: (0612) 224 69 25.

Надійшла в редакцію 22.03.2012 р.