

На правах рукописи

**Бабикова Евгения Анатольевна**

**РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА И  
СТАНДАРТИЗАЦИЯ МОНОМЕКАИНА, ПРОЯВЛЯЮЩЕГО  
АНТИАРИТМИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени кандидата  
фармацевтических наук

Пермь – 2015

Диссертационная работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

**Чекрышкина Людмила Александровна**

доктор фармацевтических наук, профессор ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России

Официальные оппоненты:

**Кобелева Татьяна Алексеевна**

доктор фармацевтических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия» Минздрава России, заведующая кафедрой аналитической и органической химии

**Фомин Анатолий Николаевич**

доктор фармацевтических наук, доцент, ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава России, заведующий кафедрой фармацевтической и токсикологической химии

**Ведущая организация:** государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Казань.

Защита состоится 24 февраля 2015 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2, тел. (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России по адресу: 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> 19 ноября 2014 г.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России <http://www.pfa.ru> «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2015 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



Н.В. Слепова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** По статистическим данным Министерства здравоохранения Российской Федерации заболевания сердечно-сосудистой системы занимают одно из первых мест в нашей стране, а летальность от них составляет 55 % от общей смертности населения России. За последнее десятилетие этот показатель снижается, но все же остается достаточно высоким.

Первым признаком нарушения работы сердца являются аритмии, т.е. изменение силы и частоты сердечных сокращений. Причину возникновения аритмии часто сложно определить, в связи с тем, что ее могут вызывать сразу несколько факторов, кроме того, она сопровождается рядом других заболеваний сердечно-сосудистой системы. Используемые в настоящее время антиаритмические препараты не всегда эффективны при монотерапии и зачастую требуется их комбинированное применение, врачу для лечения больного приходится выбирать несколько препаратов, механизм действия которых различается. Поэтому врачи и ученые всего мира ищут эффективные способы диагностики и лечения аритмий.

В диагностике и лечении сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе и аритмий, немалую помощь оказывают кардиостимуляторы, которые все чаще применяют кардиологи всего мира. Но при электрокардиостимуляции у пациентов может возникать ряд серьезных осложнений не только физиологического, но и психологического плана.

В связи с этим актуальной является проблема поиска новых более эффективных и безопасных лекарственных средств антиаритмического действия.

Как потенциальное антиаритмическое средство представляет интерес синтезированное в ПГФА (проф. Панцуркин В.И., асп. Гашкова О.В.) соединение – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат, получившее условное название Мономекаин. Как показали скрининговые исследования, Мономекаин в сравнении со своим структурным аналогом Лидокаином проявляет более выраженное антиаритмическое действие. Его антиаритмический индекс превосходит таковой Лидокаина в 5,5 раз, а токсичность меньше в 1,6 раза (проф. Сыропятов Б.Я., доц. Рудакова И.П.). Поэтому необходимы исследования, направленные на разработку способов оценки его качества и стандартизации.

**Цель и задачи.** Разработка способов контроля качества для стандартизации субстанции Мономекаина, проявляющего антиаритмическое действие.

Для реализации поставленной цели следовало решить следующие задачи:

- провести анализ литературных данных, касающихся характеристики антиаритмических ЛС современной медицинской практики;
- в результате изучения физических, физико-химических и химических свойств Мономекаина разработать способы его идентификации с целью формирования основанных на них показателей качества;
- исследовать хроматографические свойства Мономекаина, предложить на основе ТСХ, ВЭЖХ и ГХ методики определения возможных технологических примесей в нем;
- изучить кислотно-основные свойства биологически активного соединения (БАС) и разработать методики его количественного определения;

- изучить стабильность БАС, установить срок годности субстанции;
- на основании проведенных исследований разработать проект фармакопейной статьи.

**Научная новизна.** Выполнен комплекс химико-фармацевтических исследований БАС антиаритмического действия, которые являются необходимым этапом его доклинического изучения как потенциального ЛС. Установлены физические константы исследуемого вещества, его спектральные характеристики; разработаны методики определения чистоты и подлинности физическими, физико-химическими и химическими методами, методики количественного определения, проведена их валидация; установлены стабильность и срок годности данного вещества.

**Практическая значимость.** Результаты проведенных исследований нашли отражение в подготовленном проекте ФС на Мономекаин. Апробация приведенных в нем способов испытаний с положительным результатом выполнена в Испытательной лаборатории ГБУЗ СО «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств», фрагменты диссертационной работы использованы в учебном процессе интернатуры по специальности «Фармацевтическая химия и фармакогнозия» ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России.

**Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук.** Диссертационная работа выполнена в соответствии с тематическим планом научно-исследовательской работы ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50 007417).

**Апробация работы.** Результаты и основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на IV Международной дистанционной научной конференции «Инновации в медицине», г. Курск, 2011; Ежегодной Всероссийской научно-практической конференции «Наука, образование, медицина», г. Самара, 2011; Ежегодной Международной научно-практической конференции «Фармация и общественное здоровье», г. Екатеринбург, 2012; Региональном конкурсе-конференции по органической химии для молодых учёных, Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН, г. Екатеринбург, 2012; Евразийском конгрессе с международным участием «Медицина, фармация и общественное здоровье», г. Екатеринбург, 2013; областном методическом объединении преподавателей по направлению Фармация, г. Екатеринбург, 2013; научно-практической конференции с международным участием «Современные тенденции и перспективы развития фармацевтического образования и науки в России и за рубежом», ПГФА, г. Пермь, 2013; Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Тенденции и инновации современной фармацевтической науки», ПГФА, г. Пермь, 2014; Международной заочной научно-практической конференции «Наука и образование в XXI веке: теория, практика, инновации», г. Москва, 2014; Уральском научном форуме «Современные проблемы органической химии», УрФУ им. Б.Н. Ельцина, г. Екатеринбург, 2014.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, из них 12 статей, в том числе в изданиях Перечня ВАК – 2.

**Личный вклад автора.** Основные экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены самим автором или при его непосредственном участии. Автором проведен анализ, систематизация и интерпретация полученных экспериментальных данных, подготовлены научные публикации и доклады на конференциях, написаны диссертация и автореферат.

**Объем и структура работы.** Диссертация состоит из введения, 6 глав, включающих обзор литературы, характеристику объектов, материалов и методов исследования, 4-х глав экспериментальных исследований и выводов; списка литературы, включающего 160 источников и приложения. Работа изложена на 144 страницах компьютерного текста, включает 36 таблиц, 1 схему, 16 рисунков и 27 страниц приложения.

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности:** научные положения и результаты диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, конкретно пунктам 2 и 3 паспорта указанной специальности.

**Положения, выдвигаемые на защиту:**

- обоснование необходимости химико-фармацевтического изучения Мономекаина как потенциального ЛС антиаритмического действия;
- результаты разработок способов испытаний на подлинность, чистоту и количественного определения Мономекаина как критериев оценки качества;
- результаты исследования стабильности и срока годности Мономекаина;
- обоснование норм качества, включенных в проект ФС.

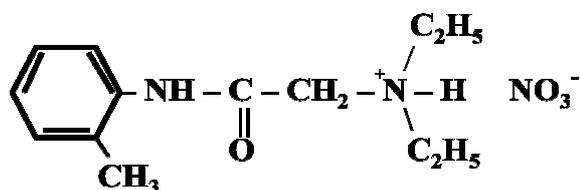
## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** представлен анализ источников информации, касающихся заболеваний сердечно-сосудистой системы сопровождающихся аритмиями, и современных антиаритмических препаратов. Рассмотрены классификации антиаритмических препаратов, предложенные разными авторами, с характеристиками групп и механизмами действия. Представлены сведения о новых антиаритмических препаратах, только появившихся на фармацевтическом рынке, и находящихся на разных стадиях испытаний БАС, проявляющих антиаритмическую активность.

В обзоре литературы рассмотрены также современные методы анализа, применяемые для контроля качества ЛС, являющихся солями органических азотсодержащих оснований.

**Во второй главе** представлены объекты, материалы и методы исследования, используемое оборудование и реактивы, схема синтеза Мономекаина. Описаны методики определения ряда показателей качества вещества, изучения стабильности, установления сроков годности методом «ускоренного старения».

*Мономекаин* – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат



М.м. 283,33

$C_{13}H_{20}N_2O \cdot HNO_3$

Для проведения экспериментальных исследований в лабораторных условиях по усовершенствованной нами методике получены 10 серий Мономекаина.

**Третья глава** посвящена изучению физико-химических свойств исследуемого БАС, разработке способов испытаний на подлинность и определения содержания общих примесей. Субстанция Мономекаина, полученная в лабораторных условиях, представляет собой белый кристаллический порошок, без запаха. Он легко растворим в воде очищенной и спирте этиловом, умеренно растворим в ацетоне, растворим в гексане и хлороформе.

Температура плавления Мономекаина 137-139 °С (без разложения). Установленное значение рН для 1% водного раствора составляет 4,90-5,70.

Содержание летучих веществ и воды, определенное в трех сериях Мономекаина, не превышает 0,1 %, субстанция не гигроскопична. Количество общих примесей: сульфатной золы – не более 0,04 %, тяжелых металлов – не более 0,005 %, хлоридов – не более 0,02 %, сульфатов – не более 0,03 %.

Изучены спектральные характеристики Мономекаина с целью их применения при контроле качества исследуемого БАС.

Поглощение в **УФ области спектра** изучено в различных растворителях (вода, спирт этиловый, хлороформ и 0,1 М раствор азотной кислоты) и концентрациях (0,0001 % – 0,1 %). Для оценки качества БАС получение спектра рекомендовано в следующих условиях: 0,001 % раствор в спирте этиловом, толщина слоя 1 см,  $\lambda = 220-350$  нм. При этом максимум находится при  $\lambda = 244 \pm 1$  нм, что соответствует поглощению хромофора – замещенного ароматического радикала (сопряженная  $\pi$ -электронная система) (рис. 1). Характеристика Мономекаина по максимуму поглощения при  $\lambda = 244 \pm 1$  нм внесена нами в проект ФС.

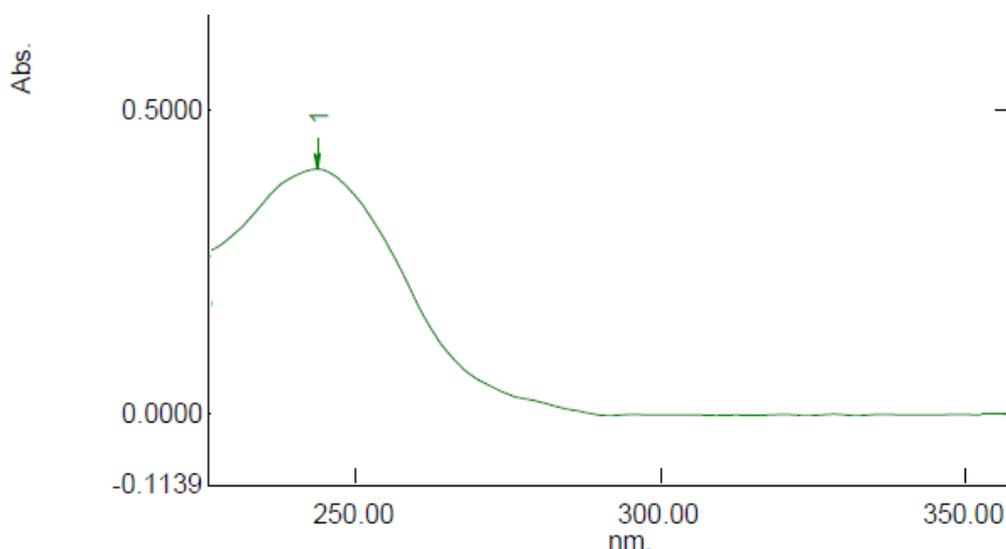


Рис. 1. УФ спектр 0,001% раствора Мономекаина в спирте этиловом 96 %

В указанных условиях наблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации БАС (0,0002 – 0,001 %), на основании чего рассчитано значение удельного показателя поглощения –  $A_{1\text{ см}}^{1\%} = 429,45$ . Согласно результатам статистической обработки, возможно нормирование этого показателя в пределах значений 424-434. Значение удельного показателя

поглощения может быть использовано как при установлении подлинности, так и при количественном определении Мономекаина, например, в случае оценки количественного содержания его в лекарственных формах (раствор для инъекций, таблетки).

**ИК спектр** Мономекаина снят в виде диска с калия бромидом (1:200) в области  $4000-400\text{ см}^{-1}$  на приборе ИК Фурье спектрометре ALPHA-T с приставкой НПВО. ИК спектр подтверждает строение Мономекаина: полосы поглощения при  $3240-3110\text{ см}^{-1}$  обусловлены валентными колебаниями N-H связей;  $3030\text{ см}^{-1}$  – C-H связи ароматического кольца;  $1690\text{ см}^{-1}$  – «амид-I»;  $1537\text{ см}^{-1}$  – NH и OCN (полоса амид-II). К валентным колебаниям C-N связи относится полоса при  $1261\text{ см}^{-1}$  (полоса амид-III); валентные колебания нитрат-иона проявляются в виде интенсивной полосы  $1384\text{ см}^{-1}$  и более слабых при  $1040\text{ см}^{-1}$  и  $825\text{ см}^{-1}$  (рис. 2).

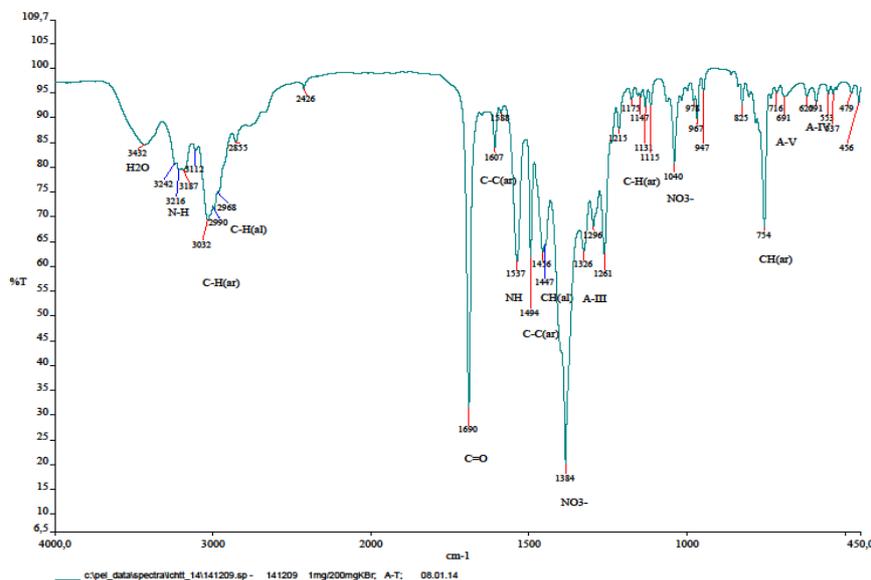


Рис. 2. ИК спектр Мономекаина

ИК спектр является индивидуальной характеристикой БАС и включен нами в проект ФС на Мономекаин.

**Спектр ЯМР  $^1\text{H}$**  снят в растворе  $\text{DMCO-D}_6$  (внутренний стандарт TMC) на приборе AVANCE II с частотой 400 МГц. Количество сигналов, значения химических сдвигов и их интегральные интенсивности подтверждают предложенную структуру и свидетельствуют об индивидуальности образца, исходя из чего получение ЯМР  $^1\text{H}$  спектра использовано нами как способ контроля чистоты синтезируемых экспериментальных образцов субстанции исследуемого БАС.

**Дериватографическое исследование** проводили на приборе TGA/DSC1 METTLER TOLEDO в интервале  $30-500\text{ }^\circ\text{C}$ , в среде воздуха, скорость повышения температуры равна  $3\text{ }^\circ\text{C}/\text{мин}$ . Плавная потеря массы (1,5 %) образца наблюдается в интервале температур  $139,97-141,05\text{ }^\circ\text{C}$ . Этап плавления и потери массы образца сопровождается эндотермическим эффектом, что отражается на дериватограмме. Поскольку дериватограмма показывает процесс разложения вещества при его нагревании, на ее основе возможно прогнозирование

температуры, при которой возможно применение термического способа уничтожения некачественных серий БАС.

Выбор **реакций идентификации** проводили, исходя из структуры Мономекаина, содержащего следующие основные функциональные группы: третичную аминогруппу, амидную группу, замещенный ароматический радикал, анион кислоты, солью которой является анализируемое БАС. Исходя из этого, предложен комплекс осадительных и цветных реакций, отражающих химические свойства Мономекаина (Табл. 1). Чувствительность реакций устанавливали методом последовательного разбавления водного раствора Мономекаина.

Таблица 1

**Реакции подлинности мономекаина**

Реактив	Эффект	Чувствительность, мг
Драгендорфа	Кристаллический осадок красно-оранжевого цвета (кристаллы кубической формы)	0,4
Бушарда-Вагнера	Кристаллический осадок красно-бурого цвета (кристаллы пирамидальной формы)	1,5
Пикриновая кислота	Кристаллический осадок желтого цвета (кристаллы в виде тонких веточек)	2,5
Дифениламин	Синее окрашивание	0,05
Хлористоводородная кислота (> t <sup>0</sup> ), натрия нитрит, β-нафтол	Азокраситель красно-оранжевого цвета	0,5
Хлористоводородная кислота (> t <sup>0</sup> ), <i>n</i> -диметиламино-бензальдегид	Основание Шиффа ярко-желтого цвета	0,2
Щелочной раствор гидроксиламина гидрохлорида, хлористоводородная кислота, железа (III) хлорид	Комплекс красно-бурого цвета	5,0

Исходя из приведенных в этом разделе исследований, мы сочли возможным включить в проект ФС на Мономекаин в раздел, касающийся испытаний на подлинность, реакцию образования азокрасителя после предварительного гидролиза БАС в среде хлористоводородной кислоты, а также реакцию окисления дифениламина нитрат-ионом.

**В четвертой главе** представлены результаты исследования Мономекаина на посторонние примеси с использованием методов хроматографии: тонкослойной (ТСХ), газовой (ГХ) и высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ).

При изучении метода **ТСХ** применительно к указанному испытанию решали задачи выбора оптимального состава подвижной фазы, способов детектирования и установления их чувствительности.

Для выбора подвижной фазы исследовали 49 известных из литературы составов, для чего на линию старта хроматографической пластинки «Сорбфил»

ПТСХ-АФ-А размером 10 x 10 наносили 100 мкг Мономекаина. Для его обнаружения на хроматограмме апробировали следующие виды детектирования: облучением хроматограмм УФ светом ( $\lambda = 254$  нм), реактивом Драгендорфа и обработкой парами йода. Установлено, что Мономекаин не флуоресцирует в УФ свете, а изучение чувствительности детектирования химическими реагентами показало, что минимальное обнаруживаемое количество Мономекаина на хроматограмме составляет: с помощью реактива Драгендорфа – 1 мкг, обработка парами йода – 5 мкг.

При оценке хроматограмм по форме зон исследуемых веществ и их расположению выбраны 6 подвижных фаз, при использовании которых на хроматограмме образуются компактные четкие пятна с отсутствием «хвостов», а значение коэффициента хроматографической подвижности оптимально: спирт этиловый : вода : аммиака раствор 25 % (94 : 3 : 3); хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (6 : 1 : 0,1); хлороформ : спирт метиловый : аммиака раствор 25 % (2 : 1 : 0,1); бензол : этилацетат : диизопропилэтиламин (DIPEA) (7 : 3 : 0,1); бензол : этилацетат : DIPEA (9 : 1 : 0,1); бензол : DIPEA (3 : 0,05). В указанных системах нами предприняты исследования для обнаружения и установления предельного содержания специфической примеси *o*-толуидина в субстанции.

В процессе эксперимента установлено, что все системы на основе спирта этилового, воды, спирта метилового, хлороформа и этилацетата признаны непригодными для этой цели, поскольку коэффициенты подвижности ( $R_f$ ) обоих анализируемых веществ оказывались довольно близкими и имели значения в интервале 0,7-0,9. Оптимальной является система бензол : DIPEA (3 : 0,05), а для хроматографического разделения рекомендованы пластинки с УФ индикатором ПТСХ-АФ-В-УФ, что не требует применения детектирующего реагента. В зонах расположения анализируемых веществ на хроматограмме после их облучения УФ светом ( $\lambda = 254$  нм) наблюдаются темные пятна (зоны) на флуоресцирующем фоне, значения хроматографической подвижности составляют 0,28-0,30 для Мономекаина и 0,40-0,42 для *o*-толуидина. Предел обнаружения Мономекаина на хроматограмме составляет 0,2 мкг, *o*-толуидина – 0,1 мкг.

Для проведения эксперимента с целью установления предельного содержания *o*-толуидина в Мономекаине готовили модельную смесь, содержащую 0,2 % *o*-толуидина по отношению к содержанию Мономекаина. На линию старта наносили 0,01 мл раствора модельной смеси (100 мкг Мономекаина и 0,2 мкг *o*-толуидина), в две другие точки 0,02 мл (0,2 мкг) и 0,01 мл (0,1 мкг) 0,01 % раствора *o*-толуидина в спирте этиловом (СОВС). Установлено, что количество *o*-толуидина, равное 0,2 мкг в 100 мкг Мономекаина, достоверно обнаруживается. Зона *o*-толуидина, соответствующая содержанию 0,1 мкг (предельно обнаруживаемому количеству *o*-толуидина), едва заметна.

Исходя из полученных результатов разработана следующая методика испытания Мономекаина на содержание примеси *o*-толуидина:

На линию старта пластинки Сорбфил ПТСХ-АФ-В-УФ наносят 0,01 мл (100 мкг) испытуемого раствора (0,1 г субстанции в 10 мл спирта этилового 96 %) и 0,01 мл (0,2 мкг) раствора сравнения (1 мкл *o*-толуидина растворяют в 50 мл спирта этилового 96 %). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе,

помещают в камеру с подвижной фазой состава: бензол : DIPEA (3 : 0,05) и хроматографируют восходящим способом. После достижения фронтом подвижной фазы линии финиша, пластинку извлекают из камеры, сушат на воздухе и просматривают в УФ свете при 254 нм.

Пятно посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности окраски не должно превышать пятна СОВС *o*-толуидина (не более 0,2 %). Результаты считаются достоверными, если на хроматограмме раствора сравнения четко видно пятно.

По разработанной методике проведен анализ 5 серий Мономекаина (Табл. 2), при этом для дополнительного контроля на линию старта наносили также 200 мкг испытуемого БАС.

Таблица 2

**Результаты исследования субстанции Мономекаина на содержание примеси *o*-толуидина (система бензол : DIPEA (3 : 0,05) при детектировании УФ светом)**

Серия	Нанесено Мономекаина, мкг	Значения R <sub>f</sub> (n = 3)		
		Мономекаина	<i>o</i> -толуидина	
			СОВС	в исследуемом образце
141209	100	0,30-0,31	0,40-0,42	Не обнаружен
	200	0,28-0,29	0,39-0,40	
290110	100	0,31-0,32	0,41-0,42	Не обнаружен
	200	0,30-0,31	0,40-0,42	
190210	100	0,30-0,31	0,40-0,41	Не обнаружен
	200	0,29-0,31	0,39-0,40	
250712	100	0,32-0,33	0,42-0,43	Не обнаружен
	200	0,31-0,32	0,42-0,43	
170314	100	0,29-0,31	0,40-0,41	Не обнаружен
	200	0,28-0,30	0,39-0,41	

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что *o*-толуидин в анализируемых образцах отсутствует или его содержание менее 0,2 % (ниже предела, обнаруживаемого применяемым в методике способом обнаружения). Методика введена нами в проект ФС на Мономекаин в раздел «Посторонние примеси».

Для контроля содержания примеси *o*-толуидина нами использован также метод ВЭЖХ. Подход к разработке методики анализа Мономекаина и возможной посторонней примеси основывался на физико-химических свойствах анализируемых веществ. Мономекаин является полярным соединением, обладающим достаточно высокой гидрофильностью, что обусловило выбор обращенно-фазного варианта ВЭЖХ, где в качестве элюента используются водно-органические смеси с буферными растворами.

Что касается *o*-толуидина, то он хорошо растворяется в спирте этиловом, но не растворим в воде, которая используется в качестве основной части подвижной фазы в обращенно-фазной ВЭЖХ, поэтому оптимальным вариантом является его перевод в солевую форму с помощью кислоты.

Поскольку исследуемое БАС и примесь обладают различными физико-химическими свойствами стало очевидным применение градиентного варианта элюирования для проведения хроматографического анализа.

В качестве подвижной фазы исследованы системы, содержащие: ацетонитрил – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты; ацетонитрил – муравьиную кислоту; спирт метиловый – муравьиную кислоту. По результатам испытаний системы, содержащие муравьиную кислоту, признаны непригодными из-за возможной реакции с нитрат-ионом, поэтому для дальнейшего исследования принята система ацетонитрил – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты.

Для выполнения эксперимента подготовлены образцы растворов исходных веществ с концентрацией 1 мг/мл: мономекаина – в 0,1 % водном растворе трифторуксусной кислоты, *o*-толуидина – в спирте этиловом 96 %.

Анализ проводили на приборе – жидкостном хроматографе «Agilent-1100» с 4-х канальным градиентным насосом, автосамплером для ввода образцов и диодно-матричным детектором.

*Условия хроматографирования:* колонка «Kromasil 100-5 C 18» производства фирмы ЕКА (Швеция) размером 250 × 4,6 мм, размер частиц сорбента 5 мкм; подвижная фаза: А – 0,1 % водный раствор трифторуксусной кислоты; Б – ацетонитрил; режим элюирования: 0-3 мин 95 % фазы А – 5 % фазы Б; от 3-20 мин изменение состава фазы Б от 5 % до 60 %; 20-23 мин 40 % фазы А и 60 % фазы Б; скорость потока подвижной фазы 0,8 мл/мин; объем вводимой пробы 20 мкл; длина волны детектирования 240 нм, щель 8 нм.

В указанных условиях время удерживания Мономекаина составляет 14,668 мин, *o*-толуидина – 11,735 мин. (Рис. 3, 4, соответственно).

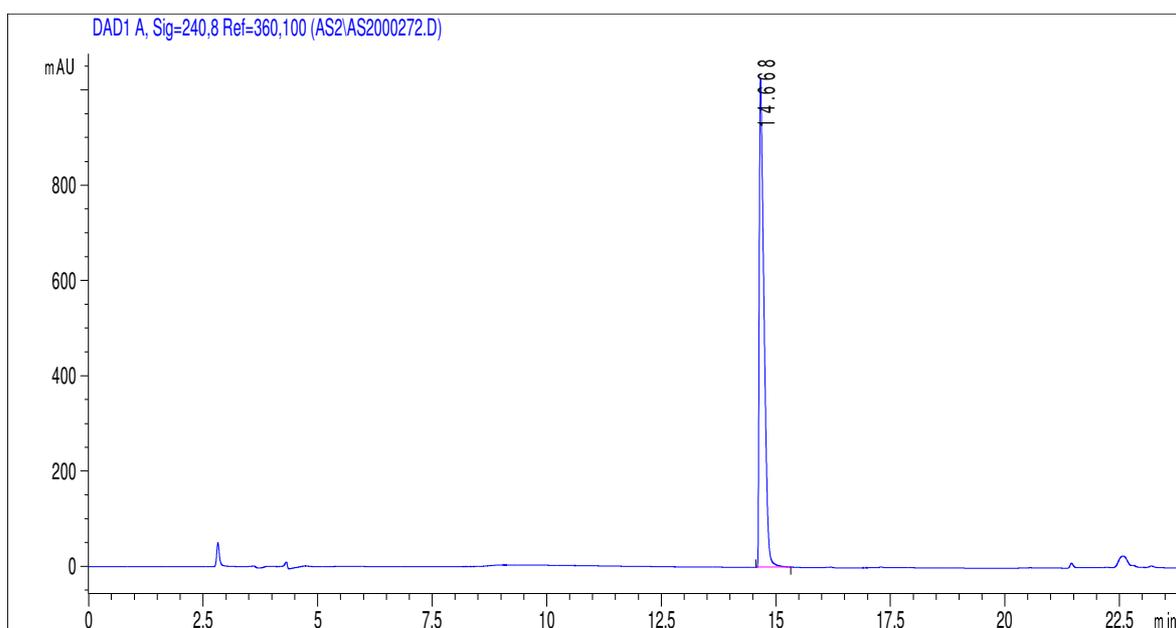


Рис. 3. Хроматограмма Мономекаина (время удерживания 14,67 мин)

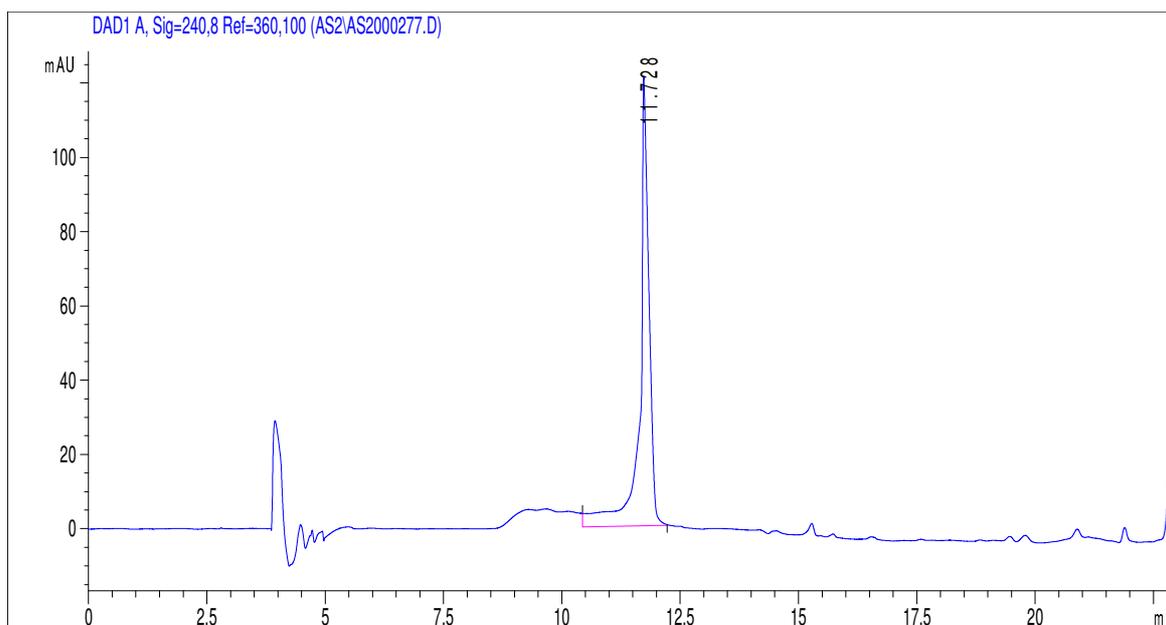


Рис. 4. Хроматограмма *o*-толуидина (время удерживания 11,73 мин)

Затем был проведен анализ модельной смеси, состоящей из 10 мл раствора Мономекаина и 10 мкл раствора *o*-толуидина. Содержание примеси составляет 0,1 % по отношению к Мономекаину.

Для оценки пригодности хроматографической системы с целью проведения анализа рассчитан коэффициент разделения компонентов между их пиками в модельной смеси по формуле:

$$R = \frac{2 \times (t_2 - t_1)}{W_1 + W_2}, \text{ где}$$

$t_2, t_1$  – время удерживания соответствующего пика, мин;

$W_1, W_2$  – ширина соответствующего пика у основания, мин.

$$R = \frac{2 \cdot (14,752 - 11,959)}{0,0886 + 0,543} = 8,8$$

При  $R \geq 1,5$  компоненты разделены полностью, соответственно, данная методика пригодна для определения примеси *o*-толуидина в образцах Мономекаина.

Анализ модельной смеси показал, что пик *o*-толуидина не виден вследствие его малой интенсивности поглощения, поэтому его содержание в модельной смеси было увеличено до 0,2 %, а объем вводимой пробы также увеличили с 20 до 50 мкл. В этих условиях пик *o*-толуидина удалось идентифицировать. Следовательно, предел обнаружения *o*-толуидина составляет 0,2 % в пробе.

По разработанной методике проведен анализ 4-х серий Мономекаина. Как показали полученные результаты (Табл. 3), ни в одном из исследуемых образцов пик *o*-толуидина обнаружен не был, следовательно, *o*-толуидин отсутствует или его содержание составляет менее 0,2 %.

Таблица 3

**Результаты анализа Мономекаина на содержание примеси *o*-толуидина**

Серия	Площадь пика и время удерживания	
	Мономекаина	<i>o</i> -толуидина
170314	S = 54378, t <sub>уд.</sub> = 14,67 мин	Не обнаружен
	S = 56541, t <sub>уд.</sub> = 14,75 мин	
	S = 55998, t <sub>уд.</sub> = 14,61 мин	
010212	S = 54872, t <sub>уд.</sub> = 14,76 мин	Не обнаружен
	S = 56039, t <sub>уд.</sub> = 14,41 мин	
	S = 54988, t <sub>уд.</sub> = 14,58 мин	
141209	S = 54526, t <sub>уд.</sub> = 14,80 мин	Не обнаружен
	S = 55392, t <sub>уд.</sub> = 14,78 мин	
	S = 55678, t <sub>уд.</sub> = 14,79 мин	

Методика ВЭЖХ включена нами в раздел проекта ФС «Посторонние примеси».

Для определения остаточных органических растворителей бензола и ацетона, применяемых в процессе синтеза Мономекаина, нами использован метод ГХ.

Прибор – газовый хроматограф CG-2010 (Shimadzu, Япония), оборудованный пламенно-ионизационным детектором.

*Условия хроматографирования:* капиллярная колонка длиной 30 м, диаметром 0,25 мм; толщина пленки неподвижной фазы на колонке 0,25 мкм; газ-носитель – азот, соотношение 1:30; скорость газового потока через колонку 1,0 мл/мин; температура инжектора 250 °С, детектора – 300 °С; температура колонки (изотерма) 40 °С (выдержано 5 мин), программирование температуры со скоростью 10 °С/мин до 280 °С; время анализа 6 мин; на поддув детектора расход водорода 40 мл/мин, воздуха 400 мл/мин, азота 30 мл/мин. Время удерживания бензола – 4,675 мин., ацетона – 2,973 мин.

По полученным хроматограммам (Рис. 5) проведен расчет количественного содержания остаточных органических растворителей методом абсолютной градуировки с использованием водных растворов бензола и ацетона (Табл. 4).

Таблица 4

**Результаты анализа Мономекаина на содержание бензола и ацетона (n = 3)**

№ п/п	Исследуемые серии мономекаина	Содержание	
		Бензол, ppm	Ацетон, %
1	141209	-	0,0199
2	290110	0,3	0,0910
3	190210	-	0,0550
4	161211	0,04	0,0958
5	010212	0,63	0,1165
6	130612	0,52	0,0928
7	230712	0,14	0,3993
8	250712	1,38	0,1275

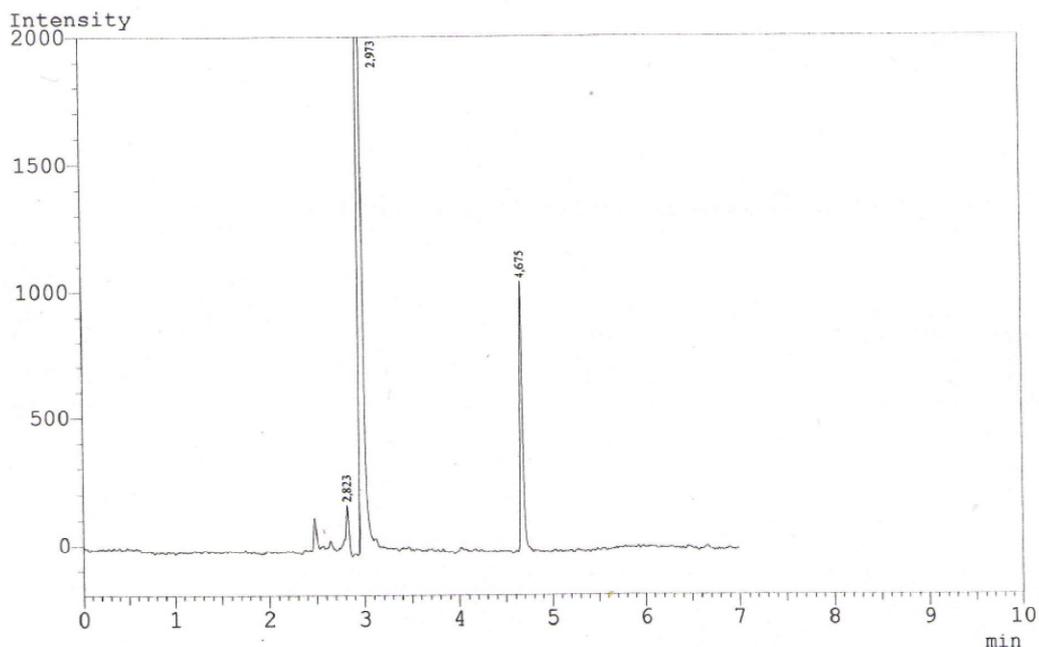


Рис. 5. Хроматограмма паровоздушной фазы водного раствора Мономекаина серии 010212

В результате проведенных исследований установлено, что содержание остаточного количества растворителей (бензола и ацетона) в субстанции не превышает предельно допустимые нормы, регламентированные ОФС 42-0057-07.

Разработанная методика введена в проект ФС для установления предельного содержания остаточных органических растворителей в процессе контроля качества Мономекаина.

**В пятой главе** представлены результаты разработки методик количественного определения Мономекаина и их валидация. Мономекаин является солью, образованной органическим азотсодержащим основанием и минеральной кислотой. Для количественного определения соединений подобной структуры в фармацевтическом анализе, как правило, рекомендуется метод кислотно-основного титрования. Для выбора его варианта необходимо знать значение  $pK_a$ . Константа ионизации исследуемого БАС определена нами методом потенциометрического титрования водного раствора и составила 7,5, что свидетельствует о его слабых основных свойствах. Исходя из этого, целесообразным является разработка методики его количественного определения на основе метода неводной ацидиметрии.

При разработке методики количественного определения методом ацидиметрии в неводной среде, применяли различные комбинации уксусной кислоты ледяной и уксусного ангидрида. Навеску исследуемого вещества титровали 0,1 М раствором хлорной кислоты в уксусной кислоте ледяной до появления скачков ЭДС. Установлено, что оптимальной для титрования является смесь уксусная кислота ледяная – уксусный ангидрид (5:10) при использовании которой наблюдался наиболее четкий скачок на кривой титрования (Рис. 6).

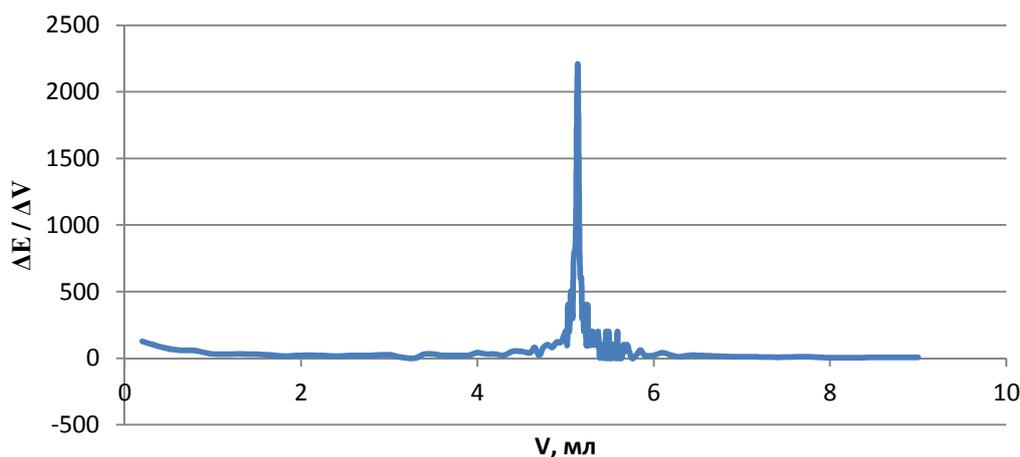


Рис. 6. Дифференциальная кривая титрования Мономекаина в смеси растворителей уксусная кислота ледяная – уксусный ангидрид 5:10

На основании полученных результатов нами предложена следующая методика ацидиметрического титрования Мономекаина в неводной среде:

Около 0,15 г (точная навеска) исследуемого вещества, предварительно высушенного до постоянной массы, растворяют в 5 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 10 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты. 1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 28,33 мг  $C_{13}H_{20}ON_2 \cdot HNO_3$ . Точку эквивалентности определяют потенциометрически.

Для подтверждения пригодности разработанной методики проведена ее валидация по показателям: линейность, сходимость и правильность результатов.

Для установления линейной зависимости осуществляли статистическую обработку выборки, полученной в результате количественного определения навесок на семи уровнях концентрации (в диапазоне 70-130 % от количества исследуемого вещества, принятого за 100 % – 0,15 г). Уравнение линейной регрессии имеет вид:  $y = 34,63x - 0,1139$ , а значение коэффициента корреляции ( $r$ ) составило 0,9998, что подтверждает пригодность методики для количественного определения Мономекаина в широком диапазоне концентраций.

Сходимость (повторяемость) результатов оценивали путем статистической обработки данных, полученных в ходе количественного определения исследуемого БАС на трех уровнях концентрации в пределах рекомендуемой аналитической области методики (80, 100, 120 % от количества вещества, принятого за 100 % – 0,15 г.) (Табл. 5).

Таблица 5

**Оценка сходимости результатов титрования (серия БАС 250712)**

Уровень содержания БАС, %	Метрологические характеристики (P = 95 %, f = 6)			
	R <sub>ср</sub> , %	SD	RSD, %	ΔR
80	99,99	0,042	0,042	0,08
100	99,87	0,035	0,035	0,07
120	99,97	0,039	0,039	0,06

Как следует из представленных данных, относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 0,042 %, что свидетельствует об

удовлетворительной сходимости результатов титрования на всех изученных уровнях содержания анализируемого вещества в пробе и соответствии методики критерию приемлемости (не более 1,3 %) при содержании вещества в исследуемом объекте, близком к 100 %.

Методика использована для количественного определения трех серий БАС (Табл. 6).

Таблица 6

**Результаты количественного определения субстанции (P = 95 %; f = 6)**

Серия исследуемого БАС	$\bar{x}$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$	$\bar{\varepsilon}, \%$
080813	99,88	0,090	0,034	0,084	0,084
080114	99,88	0,075	0,029	0,070	0,070
170314	99,87	0,083	0,031	0,070	0,077

Как следует из представленных в таблице 5 и 6 данных, разработанная методика дает правильные с хорошей сходимостью результаты, на основании чего она рекомендована для включения в проект ФС.

Исследуемое БАС имеет достаточно высокое значение молекулярной массы (283,3 г/моль) и, как показали предварительные исследования, образует ассоциат с натрия лаурилсульфатом (ЛСН), извлекающийся в органическую фазу. Исходя из этого, для количественного определения возможно применение метода двухфазного титрования.

Определены оптимальные условия титрования ЛСН: рН среды водной фазы, соотношение водной и органической фаз, индикатор для установления конца титрования.

По результатам проведенных исследований установлено, что оптимальное значение рН среды при титровании Мономекаина должно находиться в интервале 2,18 – 2,60, что соответствует исходной концентрации хлористоводородной кислоты 0,01-0,02 моль/л. Исходя из этого в дальнейших исследованиях нами использован 0,02 М раствор хлористоводородной кислоты.

Установлено оптимальное соотношение водной и органической фаз, сделан вывод о возможности использования соотношения водной и органической фазы (хлороформ) 1:1 или 1:2.

При выборе индикатора показано, что состав индикаторов практически не влияет на результаты титрования, что позволяет использовать любой из вариантов смешанного индикатора диметиловый желтый : метиленовый синий 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1. При использовании смешанного индикатора диметиловый желтый : метиленовый синий в соотношении 5:1 переход окраски хлороформного слоя от светло-желтой до голубой в точке эквивалентности визуально наиболее четко фиксируется.

Исходя из вышеизложенного предложена следующая методика титрования: около 0,03 г БАС (точная навеска), предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100 °С, помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 10 мл 0,02 М раствора хлористоводородной кислоты,

добавляют 10 мл хлороформа, 2 капли раствора смешанного индикатора (диметиловый желтый : метиленовый синий (5:1)) и титруют при энергичном встряхивании 0,01 М раствором ЛСН до изменения желтой окраски хлороформного слоя до голубой. Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика валидирована по показателям линейность, сходимоссть и правильность результатов титрования. Полученные результаты свидетельствуют о пригодности разработанной методики для аналитических целей.

**Глава шестая** посвящена изучению стабильности и установлению срока годности субстанции Мономекаина. Исследование стабильности проводили методом «ускоренного старения» при температуре 60 °С на 3-х лабораторных сериях субстанции Мономекаина (050713, 080813, 170314) по показателям: описание, подлинность, температура плавления, количественное содержание. Контроль качества проводили через временные промежутки (11,5 дней), эквивалентные 6 месяцам хранения в естественных условиях.

Результаты эксперимента показали, что субстанция Мономекаина остается стабильной в течении 69 суток экспериментального хранения, что соответствует 1104 суткам (3 года) хранения в естественных условиях. Таким образом, в результате проведенных исследований методом «ускоренного старения» установлен срок годности и температурный режим хранения (20-26 °С) субстанции Мономекаина.

На основании диссертационных исследований разработан проект ФС, включенные в него способы испытаний Мономекаина представлены в таблице 7.

Таблица 7

### СПЕЦИФИКАЦИЯ Мономекаин, субстанция

Показатели	Методы	Нормы
1	2	3
Описание	Органолептический ГФ XII, ч. I, с. 17, 484	Белый кристаллический порошок без запаха
Растворимость	ГФ XII, ч. I, с. 92	Легко растворим в воде и спирте этиловом 96 %, растворим в хлороформе, умеренно растворим в ацетоне
Подлинность	Инфракрасная спектрометрия	ИК спектр субстанции, снятый в диске с калия бромидом в области от 4000 до 400 см <sup>-1</sup> по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра Мономекаина
	Ультрафиолетовая спектрофотометрия	УФ спектр 0,001 % спиртового раствора в области 220-350 нм должен иметь максимум при 244±1 нм
	Качественная реакция – образование азокрасителя после кислотного гидролиза (амидная группа) Качественная реакция на нитраты	Осадок красно-оранжевого цвета  Синее окрашивание

1	2	3
Температура плавления	ГФ XII, ч. I, с. 29	137 – 139 °С
Прозрачность раствора	ГФ XII, ч. I, с. 98	1 % раствор должен быть прозрачным
Цветность раствора	ГФ XII, ч. I, с. 93	1 % раствор должен быть бесцветным
рН раствора	ГФ XII, ч. I, с. 89 потенциометрически	От 4,90 до 5,70 (1 % водный раствор)
Хлориды	ГФ XII, ч. II	не более 0,02 %
Сульфаты	ГФ XII, ч. II	не более 0,03 %
Посторонние примеси (о-толуидин)	ТСХ	Пятно посторонней примеси на хроматограмме испытуемого раствора по совокупности величины и интенсивности поглощения не должно превышать пятно на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %); суммарное содержание примесей – не более 0,5 %
	ВЭЖХ	не более 0,2 %; суммарная площадь пиков посторонних примесей – не более 0,5 %
Потеря в массе при высушивании	ГФ XII, ОФС 42-0087-08	Не более 0,5 %
Остаточные органические растворители	ГФ XII, ч. I, с. 115	Бензол не более 2 ppm, ацетон не более 0,5 %
Тяжелые металлы	ГФ XII, ч. I, с. 121 (метод 1)	Не более 0,001 %
Сульфатная зола	ГФ XII, ч. I, с. 115	Не более 0,04 %
Микробиологическая чистота	ГФ XII, ч. I, с. 160	Категория 2.2
Количественное определение	Титриметрический метод	Содержание ЛС не менее 99,0 % $C_{13}H_{20}N_2O$ • $HNO_3$ в пересчете на сухое вещество
Упаковка		По 1000 г в банки из стекломассы оранжевого цвета с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками и прокладками по ОСТ 64-2-87-81. На банки наклеивают этикетки из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86
Маркировка		Соответствует ФС
Транспортирование		ГОСТ 17768-90
Хранение		В сухом, защищенном от света месте в хорошо укупоренной таре при температуре 20-26 °С
Срок годности		3 года

## ВЫВОДЫ

1. Анализ литературных источников, касающийся проблемы лечения аритмий, позволяет сделать вывод об актуальности исследований по созданию новых эффективных и безопасных антиаритмических средств. Поиск ведется среди БАС различного химического строения, в т.ч. в ряду анилидов аминокарбоновых кислот, представителем которых является Мономекаин – 2-метиланилид-N,N-диэтиламиноэтановой кислоты нитрат.
2. На основании проведенных исследований субстанции Мономекаина установлены показатели качества, характеризующие ее подлинность и чистоту: описание, растворимость, температура плавления, потеря в массе при высушивании, сульфатная зола, тяжелые металлы, хлориды, сульфаты и микробиологическая чистота. С целью установления подлинности Мономекаина изучены реакции на амидную группу, третичную аминогруппу и нитрат-анион. В проект фармакопейной статьи включены реакции образования азокрасителя после предварительного кислотного гидролиза (амидная группа), чувствительность которой 0,5 мг, и реакция окисления дифениламина (нитрат-анион) с чувствительностью 0,05 мг.
3. Исследованы УФ, ИК и ЯМР  $^1\text{H}$  спектры БАС. ИК спектр включен как индивидуальная характеристика субстанции в проект ФС на Мономекаин. В УФ области спектра для 0,001 % спиртового раствора исследуемого вещества определен максимум поглощения при  $\lambda = 244 \pm 1$  нм, значение которого введено в проект ФС, и удельный показатель поглощения в интервале 424-434. ЯМР  $^1\text{H}$  спектр использован для подтверждения строения и чистоты образцов Мономекаина, синтезированных для экспериментальных исследований.
4. С целью испытания Мономекаина на предельное содержание специфических примесей применены хроматографические методы: для определения примеси *o*-толуидина использованы методы ТСХ и ВЭЖХ, его содержание нормировано – не более 0,2 %. Остаточные органические растворители: ацетон (не более 0,5 %) и бензол (не более 2 ppm) определены методом ГХ, их содержание в анализируемых образцах Мономекаина не превышает норм, установленных ГФ XII.
5. Разработаны и валидированы методики количественного определения Мономекаина титриметрическими методами: ацидиметрии в неводной среде и экстракционного титрования. Проведена валидация методик по показателям: линейность, сходимость и правильность результатов. Результаты валидации показали пригодность разработанных методик для аналитических целей. Методика ацидиметрии в неводной среде включена в проект ФС.
6. Установлена стабильность Мономекаина при хранении в условиях комнатной температуры в защищенном от света месте – не менее 4-х лет. Согласно результатам испытания Мономекаина методом «ускоренного старения» (69 суток при температуре 60 °С), рассчитанный срок его годности при температуре 20-26 °С составляет не менее 3-х лет. Испытания по установлению стабильности продолжаются.

7. На основании проведенных исследований составлен проект ФС на субстанцию Мономекаина, который апробирован с положительным результатом в Испытательной лаборатории государственного бюджетного учреждения здравоохранения Свердловской области «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» г. Екатеринбург. Представленные в проекте ФС способы испытаний будут использованы при оценке качества синтезируемых образцов Мономекаина, предназначенных для углубленных фармакологических исследований и разработки лекарственной формы.

### Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Брылина, Е.А. Тонкослойная хроматография в исследовании БАВ, проявляющего антиаритмическую активность / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина // Вестн. Перм. гос. фармацевт. акад. – 2010. – № 7. – С. 259-260.
2. Чекрышкина Л.А. Инновационные проекты в области создания лекарственных средств сердечно-сосудистого действия / Л.А. Чекрышкина, Е.А. Непогодина, Е.А. Брылина и др. // Инновации в медицине: материалы IV международной дистанционной научной конференции (Курск, 2011 г.). – Курск, 2011. – С. 117-119.
3. **Высокоэффективная жидкостная хроматография в анализе Мономекаина [Электронный ресурс] / Л.А. Чекрышкина, Е.А. Брылина, Н.В. Слепова. - Электрон. дан. // Медицина и образование в Сибири. – 2011. – № 5. – Режим доступа: [http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text\\_full.php?id=531](http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=531).**
4. Брылина, Е.А. Исследование потенциального антиаритмического средства из группы анилидов аминокарбоновых кислот / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Наука, образование, медицина: материалы ежегодной Всероссийской научно-практической конференции (Самара, 5-6 декабря 2011 г.). – Самара, 2011. – С. 483-484.
5. Брылина, Е.А. Инструментальные методы анализа в оценке качества Мономекаина / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Фармация и общественное здоровье: материалы V междунар. конф. (Екатеринбург, 18 апреля 2012 г.). – Екатеринбург, 2012. – С. 77-80.
6. Брылина, Е.А. Способы установления подлинности и чистоты БАС – потенциального антиаритмического средства / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Актуальные проблемы органического синтеза и анализа. – Екатеринбург: УрО РАН; Изд. АМБ, 2012. – С. 222-234.
7. Брылина, Е.А. Спектральные характеристики Мономекаина и их использование в контроле качества / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Современные проблемы фармацевтической науки: материалы Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 75-летию ПГФА. – Вестник Перм. гос. фармацевт. акад. – 2012. – № 9. – С. 119-121.
8. Брылина, Е.А. Определение остаточных растворителей в мономекаина нитрате // Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Медицина, фармация и общественное здоровье: материалы Евразийского Конгресса с международным участием (Екатеринбург, 21-23 мая 2013 г.). – Екатеринбург, 2013. – С. 13-18.

9. Чекрышкина, Л.А. Антиаритмические средства современной медицины: проблемы и перспективы / Л.А. Чекрышкина, Е.А. Брылина, Б.Я. Сыропятов, Н.В. Слепова, И.П. Рудакова // Современные тенденции и перспективы развития фармацевтического образования и науки в России и за рубежом: материалы научно-практической конференции с международным участием (21-23 ноября 2013 г.). – Вестник Перм. гос. фармацев. акад. – 2013. – № 11. – С. 168-170.
10. **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.**
11. Брылина, Е.А. Дериватографическое исследование Мономекаина нитрата / Е.А. Брылина, Л.А. Чекрышкина, Н.В. Слепова // Тенденции и инновации современной фармацевтической науки: материалы Российской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Пермь, 23 апреля 2014 г.). – Вестник Перм. гос. фармацев. акад. – 2014. – № 12 – С. 105-106.
12. Чекрышкина, Л.А. Доклиническое исследование биологически активного соединения – потенциального антиаритмического средства / Л.А. Чекрышкина, Е.А. Бабилова, Н.В. Слепова, И.П. Рудакова // Наука и образование в XXI веке: теория, практика, инновации: сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции (Москва, 02 июня 2014 г.). – Москва, 2014. – ч. 1. – С. 49-51.
13. 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.

**Автор выражает благодарность** за консультационную помощь в выполнении отдельных фрагментов диссертационной работы заведующему химическим отделением Бюро судебно-медицинской экспертизы г. Екатеринбурга Т.В. Макаренко; сотрудникам ИОС им. И.Я. Постовского УрО РАН А.М. Демину, М.Г. Перовой, О.В. Коряковой, М.С. Валовой; ст.н.с. лаборатории комплексных исследований и экспертной оценки органических материалов при ФГАОУ ВПО УрФУ им. первого Президента России Б.Н. Ельцина Т.С. Шуткиной; сотрудникам Испытательной лаборатории ГБУЗ СО «Центр контроля качества и сертификации лекарственных средств» г. Екатеринбурга провизору-аналитику Л.А. Никулиной, старшему провизору-аналитику И.В. Бабкиной, врачу-бактериологу Е.И. Брацлавской.

**Бабикова Евгения Анатольевна (Россия)**

**Разработка способов оценки качества и стандартизация Мономекаина, проявляющего антиаритмическую активность**

Проведено химико-фармацевтическое исследование Мономекаина как потенциального лекарственного средства антиаритмического действия. Разработаны способы испытаний на подлинность и чистоту, методики количественного определения субстанции Мономекаина титриметрическими методами и посторонних примесей методами ТСХ, ВЭЖХ и ГХ. Проведена валидация методик количественного определения. Установлены сроки годности субстанции. На основе результатов исследования подготовлен проект ФС на Мономекаин субстанцию.

**Babikova Evgeniya (Russia)**

**Development of methods for assessing the quality and standartization of Monomekaine (2-methylanilide-N,N-diethylaminoethanic acid nitrate) exerting antiarrhythmic action**

Carried out chemical-pharmaceutical research of Monomekaine as a potential antiarrhythmic drug. Developed methods for testing on authenticity and purity, quantification techniques of the substance Monomekaine of titrimetric methods and impurities by TLC, HPLC and GC. Carried out validation of techniques of quantitative determination. Set the shelf life of the substance. Based on the results of the study was prepared the project of Pharmacopeia article for Monomekaine as a substance.