

ISSN 2225-6016

# ВЕСТНИК

*Смоленской государственной  
медицинской академии*

*Том 19, №2*

2020



УДК 615.07:612.17

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

DOI: 10.37903/vsgma.2020:2.25

**ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ НОВОГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ**

© Компанцева Е.В., Луценко Д.Н., Кодониди И.П., Червонная Н.М.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Россия, 357532, Пятигорск, Калинина, 11**Резюме*

**Цель.** Изучение и разработка методик идентификации БАВ N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина (VMA-10-15).

**Методика.** Для проведения химических реакций использовали раствор 0,5 % водный раствор биологически активного вещества. Для определения чувствительности использовали метод последовательных разведений для реакций, протекающих в растворе. Для реакций с порошком БАВ использовали 0,2% спиртовой раствор, алиquotы которого последовательно упаривали досуха. Все реактивы для проведения химических реакций готовили, согласно ОФС.1.3.1.1.0001.15 «Реактивы. Индикаторы» Образцы для записи ИК-спектров готовили методом прямого прессования с оптически чистым бромистым калием и регистрировали с помощью прибора ИК-Фурье в области от 4000 см<sup>-1</sup> до 500 см<sup>-1</sup>, согласно ОФС.1.2.1.1.0002.15 «Спектрометрия в инфракрасной области».

**Результаты.** Обоснованы химические реакции, которые позволяют подтвердить наличие следующих функциональных групп: кетогруппа (раствор 2,4-динитрофенилгидразина); остаток гуанидина (реакции Сакагучи, реактив Несслера); реакции соле- и комплексообразования (железа (III) хлорида раствор 5%, серебра нитрата раствор 2%); амид остатка пропионовой кислоты (щелочной гидролиз.) Полученные ИК-спектры могут быть использованы для подтверждения подлинности БАВ в сравнении со спектром СО или с прилагаемым его рисунком.

**Заключение.** Для подтверждения подлинности нового БАВ (N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина) обосновано использование химических реакций для обнаружения функциональных групп. Предложен метод ИК-спектроскопии в сравнении со спектром СО.

*Ключевые слова:* биологически активное вещество, методики идентификации, химические реакции, ИК-спектроскопия

**STUDY OF THE POSSIBILITY OF IDENTIFICATION OF A NEW BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE OF CARDIOPROTECTIVE ACTION**

Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Kodonidi I.P., Chervonnaya N.M.

*Pyatigorsk medical and pharmaceutical Institute-branch of Volgograd state medical University, 11, Kalinina Av., 357500, Pyatigorsk, Russia**Abstract*

**Objective.** Study and development of methods for identification of BAS N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazoliny]propionyl]-guanidine (VMA-10-15).

**Methods.** For chemical reactions, 0.5% aqueous solution of a biologically active substance was used. To determine the sensitivity, the method of successive dilutions for reactions occurring in the solution was used. For reactions with BAS powder, a 0.2% alcohol solution was used, the aliquots of which were successively evaporated dry. All reagents for chemical reactions were prepared according to the OFS.1.3.1.1.0001.15 "Reagents. Indicators" Samples for recording IR spectra were prepared by direct pressing with optically pure potassium bromide and recorded using the IR-Fourier device in the range from 4000 cm<sup>-1</sup> to 500 cm<sup>-1</sup>, according to the OFS.1.2.1.1.0002.15 "Spectrometry in the infrared region".

**Results.** The chemical reactions that allow to confirm the presence of the following functional groups are justified: keto group (solution of 2,4-dinitrophenylhydrazine); the guanidine residue (Sakaguchi test, Nessler reagent); salt- and complexation reactions (iron (III) chloride solution 5%, silver nitrate solution 2%); amide propionic acid residue (alkaline hydrolysis.)

The obtained IR spectra can be used to confirm the authenticity of the BAS in comparison with the CO spectrum or with its attached drawing.

**Conclusion.** To confirm the authenticity of the new BAS (N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine), the use of chemical reactions for the detection of functional groups is justified. A method of IR spectroscopy was proposed in comparison with the CO spectrum..

*Keywords:* biologically active substance, identification methods, chemical reactions, IR spectroscopy

## Введение

Биологически активное вещество (БАВ) N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин (VMA-10-15) представляет собой порошок белого цвета, со слабым специфическим запахом, который растворим в воде, мало растворим в спирте этиловом и метаноле [5]. Данный объект представляет интерес в качестве фармацевтической субстанции, так как в опытах на кроликах проявил выраженный кардиопротекторный эффект, сравнимый с таким известным препаратом как Зонипорид [3].

Целью исследования явилась разработка методик подтверждения подлинности вещества для контроля его качества и создания проекта нормативной документации.

## Методика

Для исследования в качестве объекта были использованы 2 серии соединения VMA-10-15 (рис. 1), полученные в лабораторных условиях. В качестве стандартного образца (СО) использовали дважды перекристаллизованную и высушенную до постоянной массы субстанцию N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина.

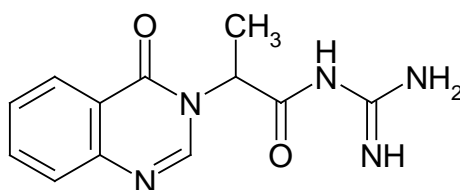


Рис. 1. Структурная формула N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина

Для проведения химических реакций использовали раствор, приготовленный по следующей методике: 0,05 г вещества (точная навеска) растворяли в 10 мл воды очищенной (раствор А). Для определения чувствительности использовали метод последовательных разведений для реакций, протекающих в растворе. Для реакций с порошком БАВ использовали 0,2% спиртовой раствор, алиquotы которого последовательно упаривали досуха. Все реактивы для проведения химических реакций готовили, согласно ОФС.1.3.1.1.0001.15 «Реактивы. Индикаторы» [2].

Реакции соле- и комплексообразования проводили с такими реактивами, как железа (III) хлорида раствор 5%, серебра нитрата раствор 2% и кобальта нитрата раствор 5% по следующей методике. К 2 мл раствора А прибавляли 2-6 капель реактива.

Реакции конденсации проводили по следующей методике: К 2 мл раствора А прибавляли по 1 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина и щелочной раствор гидроксилamina.

Для проведения реакции Сакагучи к 2 мл раствора А, добавили 2 мл 10%-го раствора натрия гидроксида и несколько капель 0,2% спиртового раствора а-нафтола. Содержимое пробирки хорошо перемешивали, приливали 0,5 мл раствора гипобромита и вновь перемешивали.

Реакции с реактивом Несслера проводили по следующей методике: к 2 мл раствора А добавляли 4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, прибавляли реактив Несслера свежеприготовленный.

Для реакции щелочного гидролиза 0,2 г вещества растворили в 5 мл воды очищенной, прибавили 1 мл раствора 1 М натрия гидроксида и нагревали.

Образцы для записи ИК-спектров готовили методом прямого прессования с оптически чистым бромистым калием и регистрировали с помощью прибора ИК-Фурье в области от 4000 см<sup>-1</sup> до 500 см<sup>-1</sup>, согласно ОФС.1.2.1.1.0002.15 «Спектрометрия в инфракрасной области» [2].

## Результаты исследования и их обсуждение

Анализ структурной формулы вещества позволил выявить следующие функциональные группы: третичная аминогруппа, кетогруппа С=О, остаток пропионовой кислоты, остаток гуанидина. Исходя из строения вещества, нами был выбран ряд химических реакции для подтверждения подлинности исследуемой субстанции.

Для доказательства основных свойств БАВ нами были проведены реакции с общеалкалоидными реактивами (реактивы Драгендорфа, Бушарда, Майера, кремневольфрамовая кислота), так как они отличаются высокой чувствительностью (табл. 1).

Таблица 1. Результаты химических реакций с общеалкалоидными реактивами

Реактив	Методика	Аналитический эффект / Предел обнаружения
Реактив Драгендорфа	К 1 мл раствора А прибавляли 3-4 капли соответствующего реактива	осадок темно-коричневого цвета / 0,00005 г/мл
Реактив Майера		Отсутствие эффекта
Реактив Бушарда		Отсутствие эффекта
Кремневольфрамовая кислота		Отсутствие эффекта

Исходя из данных таблицы, положительный эффект обнаружен только при использовании реактива Драгендорфа, самого высокочувствительного общеалкалоидного реактива [1]. Отсутствие положительных реакций с остальными реактивами очевидно можно объяснить слабоосновными свойствами БАВ и наличием амидной группы в строение молекулы VMA-10-15. Кроме основных, третичная аминогруппа проявляет сильные восстановительные свойства, поэтому она может окисляться с образованием окрашенных продуктов. Для этой цели используют специальные алкалоидные реактивы (табл. 2)

Таблица 2. Результаты химических реакций с специальными реактивами

Реактив	Методика	Аналитический эффект / Предел обнаружения
Кислота азотная концентрированная	На фарфоровую чашку помещают 0,03 г вещества в виде порошка и прибавляют 1-2 капли соответствующего реактива	желтое окрашивание / 0,0003 г
Кислота серная концентрированная		Отсутствие эффекта
Реактив Эрдмана		Отсутствие эффекта
Реактив Манделина		Отсутствие эффекта
Реактив Марки		Отсутствие эффекта
Реактив Фреде		Отсутствие эффекта

Отсутствие положительного аналитического эффекта (табл. 2) позволяет предположить, что строение биологически активного вещества N-[2-[4-оксо-3(4H) -хиназолинил]пропионил]-гуанидина не позволяет протекать реакции окисления. Положительный эффект наблюдался только с кислотой азотной концентрированной, что свидетельствует о возможности реакции нитрования бензольного кольца [7].

Для подтверждения кислотных свойств (VMA-10-15) были использованы реакции соле- и комплексобразования с такими реактивами, как железа (III) хлорида раствор 5%, серебра нитрата раствор 2% и кобальта нитрата раствор 5%. Положительный эффект дали реакции с железа (III) хлорида раствор 5% и серебра нитрата раствор 2%, чувствительность которых составила, 0,0005 г/мл и 0,0005 г/мл соответственно. При использовании в качестве реактива раствор кобальта

нитрата появление осадка не наблюдалось. Данная реакция позволяет подтвердить наличие амидной группы в молекуле БАВ [1].

Реактивы раствор 2,4-динитрофенилгидразина и щелочной раствор гидроксилamina использовали для доказательства кетогруппы в N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидине. Положительный аналитический эффект (темно-оранжевое окрашивание) наблюдали с раствором 2,4-динитрофенилгидразина, как с более чувствительным реактивом по сравнению с гидроксилaminом. Чувствительность реакции – 0,001 г/мл. Для обнаружения остатка гуанидина в исследуемом БАВ были предложены две реакции: реакция Сакагучи (наблюдали появление красного окрашивания; чувствительность реакции – 0,001 г/мл.) и реакция с реактивом Несслера (наблюдали изменение окраски в оранжевый цвет, при нагревании выпадал осадок желтого цвета; чувствительность реакции – 0,005 г/мл).

В виду того, что соединение представляет собой амид остатка пропионовой кислоты и гуанидина был проведен щелочной гидролиз. Ощущали запах аммиака, лакмусовая бумага окрасилась в синий цвет. Чувствительность реакции составила 0,002 г/мл. При добавлении кислоты хлористоводородной концентрированной наблюдали выпадение осадка белого цвета, что подтверждает положительный эффект, проведенной реакции гидролиза [6]. Кроме химических реакций для идентификации органических БАВ Государственная Фармакопея рекомендует для установления подлинности физико-химические методы, такие как инфракрасная спектromетрия, абсорбционная спектрофотометрия [2].

Метод ИК-спектроскопии нашел широкое применение для установления подлинности веществ, потому что анализ спектра БАВ позволяет идентифицировать полосы поглощения, соответствующие определенным функциональным группам в структуре соединения. На рис. 2 приведен ИК-спектр поглощения БАВ N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина.

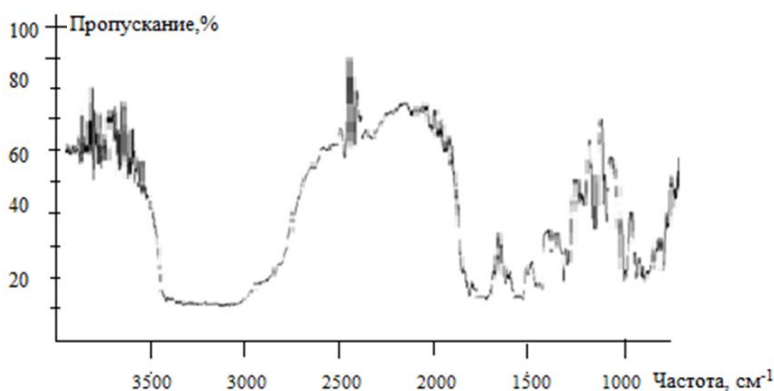


Рис. 2. ИК-спектр субстанции N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина

В соответствии с ОФС.1.2.1.1.0002.15 «Спектрометрия в инфракрасной области» идентификацию проводят в сравнении с измеренным спектром стандартного образца. Поэтому был снят ИК-спектр стандартного образца БАВ, представленный на рис. 3.

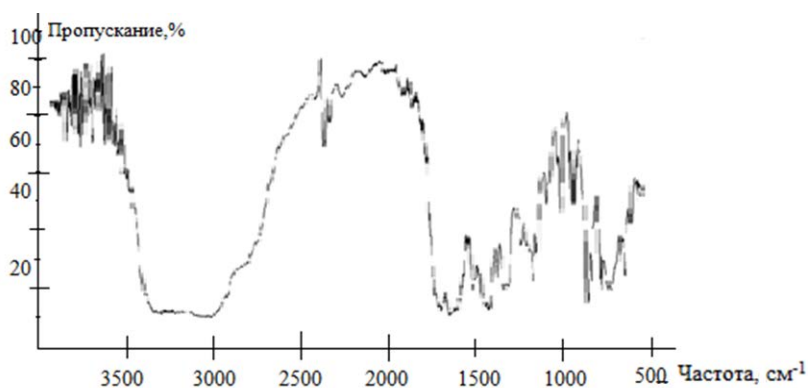


Рис. 3. ИК-спектр стандартного образца БАВ N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина

Приведенные ИК-спектры (рис. 2 и 3) оказались идентичны, что свидетельствует о подлинности исследуемого образца VMA-10-15. На основании анализа полученных ИК спектров и литературных данных составлена таблица отнесения полос поглощения к структурным фрагментам молекулы N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина (табл. 3) [4].

Таблица 3. Отнесение полос поглощения к структурным фрагментам субстанции

Измеренная полоса поглощения, см <sup>-1</sup>	Диапазон частот, см <sup>-1</sup> , интенсивность полос поглощения	Группы и типы колебаний
900,875	900-650	колебания кольца СН
1600	1632-1595	С=C, валентные
1665	1670-1650(сл.)	С=O, деформационные
1594	1660-1590 (ср.)	С=N, деформационные
3500-3000	3500-3300	NH <sub>2</sub> , валентные

## Выводы

1. Проведено обоснование выбора химических реакций, позволяющих провести идентификацию нового биологически активного соединения VMA-10-15 по функциональным группам, входящим в структуру его молекулы.
2. Идентифицированы основные полосы поглощения N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина в ИК-области спектра. Метод ИК-спектроскопии может быть включен в проект нормативной документации для подтверждения подлинности VMA-10-15.

## Литература (references)

1. Арчинова Т.Ю., Гаврилин М.В., Маркова О.М. и др. Качественный анализ лекарственных средств: учебное пособие. – Пятигорск: ГОУ ВПО Пятигорская ГФА Росздрава, 2007. – 181с. [Archinova T.Yu., Gavrilin M.V., Markova O.V. *Kachestvennyy analiz lekarstvennykh sredstv: uchebnoye posobiye*. Qualitative analysis of medicines: textbook. – Pyatigorsk State Pharmacopoeia of Roszdrav, 2007. – P. 15-40. (in Russian)]
2. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. – М., 2018. – Т.1. – 1375 с. – <http://femb.ru/feml> [*Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii XIV izdanie*. Russian Federation State Pharmacopoeia X IV ed. – Moscow, 2018. – V.1. – 1375 p. <http://femb.ru/feml> (in Russian)]
3. Гурова Н.А., Спасов А.А., Вишневская В.В., Озеров А.А. Поиск ингибиторов Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> обменника среди пиримидиновых производных гуанидина // Инновационные технологии в фармации. – 2019. – №6. – С. 408-412. [Gurova N.A., Spasov A.A., Vishnevskaya V.V., Ozerov A.A. *Poisk ingibitorov Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> obmennika sredi pirimidinovykh proizvodnykh guanidina*. Search for Na<sup>+</sup> / H<sup>+</sup> exchanger inhibitors among pyrimidine derivatives of guanidine. – Innovative Technologies in Pharmacy. – 2019. – N6. – P. 408-412. (in Russian)]
4. Ковалев И.П., Титов Е.В. Инфракрасные спектры поглощения некоторых групп природных соединений: атлас спектров. – Харьков: Издательство Харьковского ордена трудового красного знамени государственного университета им. А.М. Горького, 1966. – С. 18-20 с. [Kovalev I.P., Titov Ye.V. *Infrakrasnyye spektry pogloshcheniya nekotorykh grupp prirodnykh soyedineniy: atlas spektrov*. Infrared absorption spectra of some groups of natural compounds: atlas of spectra. – Kharkov: Publishing House of the Kharkov Order of the Red Banner of Labor of A.M. State University Gorky, 1966. – P. 18-20. (in Russian)]
5. Луценко Д.Н., Компанцева Е.В. Изучение физико-химических свойств субстанции нового биологически активного соединения производного хиназолин-4(3H)-она // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции. – Пятигорск: Риа-КМВ, 2018. – С. 24-26. [Lutsenko D.N., Kompantseva E.V. *Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii*. Development, research and marketing of new pharmaceutical products. – Pyatigorsk: Ria-KMV, 2018. – P. 24-26. (in Russian)]
6. Сливкин А.И., Садчикова Н.П. Функциональный анализ органических лекарственных веществ: учебное пособие / под ред. академика РАМН, проф. А.П. Арзамасцева. – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2007. – 76-81 с. [Slivkin A.I., Sadchikova N.P. *Funktsional'nyy analiz organicheskikh lekarstvennykh veshchestv: uchebnoye posobiye*. Functional analysis of organic medicinal substances: a training manual / ed. academician of RAMS, prof. A.P. Arzamastseva. – Voronezh: Voronezh State University, 2007. – P. 76-81. (in Russian)]

7. Salem M.A.I. Synthesis of some new 2-[2-(chlorbenzoyl)vinyl]-4H-3,1-quinazolin-4-one derivatives // Egyptian Journal of Chemistry – 1984. – V.27. – N6. – P. 779-787.

### **Информация об авторах**

*Компанцева Евгения Владимировна* – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета. E-mail: dskomranceva@mail.ru

*Луценко Дарья Николаевна* – аспирант кафедры фармацевтической и токсикологической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета. E-mail: lucenkodasha95@mail.ru

*Кодониди Иван Панайотович* – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета. E-mail: kodonidiip@mail.ru

*Червонная Надежда Михайловна* – кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры органической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала Волгоградского государственного медицинского университета. E-mail: nadezhda.chervonnaya@yandex.ru