

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ РОДСТВЕННОЙ ПРИМЕСИ В НОВОМ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОМ СОЕДИНЕНИИ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

© Компанцева Е.В.¹, Луценко Д.Н.¹, Гарсия Е.Р.¹, Озеров А.А.², Дементьева Т.М.³

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета (ПМФИ – филиал ВолгГМУ)

Россия, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

² Волгоградский государственный медицинский университет (ВолгГМУ)

Россия, 400131, Волгоградская область, г. Волгоград, площадь Павших Борцов, д. 1

³ Дальневосточный государственный медицинский университет (ДВГМУ)

Россия, 680000, Хабаровский край, г. Хабаровск, ул. Муравьева-Амурского, д. 35

На базе ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ было синтезировано оригинальное биологически активное соединение (БАС) N-[2-[4-оксо-3(4Н)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин (VMA-13-15), обладающее кардиопротекторной и нейропротекторной активностью. В соответствии с ГФ РФ XIV одним из критериев контроля качества фармацевтических субстанций является показатель «Родственные примеси». Исходя из схемы синтеза и структуры анализируемого БАС в качестве технологической примеси, можно предположить наличие исходного соединения – незамещенного хиназолин-4(3Н)-она, из-за возможной неполноты протекания реакции.

Цель исследования: разработка и валидационная оценка методики определения технологической примеси (хиназолин-4(3Н)-он) для включения ее в проект нормативного документа на предлагаемое в качестве фармацевтической субстанции БАС VMA-13-15.

Материалы и методы. Для проведения анализа были выбраны капиллярно-электрофоретические условия, предложенные ранее нами для определения изучаемого БАС, при использовании которых исследуемые соединения хорошо разделяются в виде четких пиков со временем миграции 6,59 мин для N-[2-[4-оксо-3(4Н)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина и 4,37 мин для хиназолин-4(3Н)-она.

Результаты. В результате проведенных исследований разработана методика определения показателя «Родственные примеси» в БАС VMA-13-15 с помощью системы капиллярного электрофореза. Разработанная методика валидирована в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания и оказалась приемлемой для определения идентифицированной технологической примеси хиназолин-4(3Н)-он.

Заключение. Разработанная методика позволяет обнаружить примесь в содержании 0,1 % и более.

Ключевые слова: биологически активное соединение; анализ; родственные примеси; методика; капиллярный электрофорез.

Компанцева Евгения Владимировна – д-р фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической химии, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0002-0534-1651. E-mail: dskompanceva@mail.ru

Луценко Дарья Николаевна – преподаватель кафедры фармацевтической химии, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0001-9682-9283. E-mail: Lucenkodasha95@mail.ru

Гарсия Екатерина Робертовна – канд. фарм. наук, преподаватель кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов, ПМФИ – филиал ВолгГМУ, г. Пятигорск. ORCID iD: 0000-0003-3217-0680. E-mail: x-pharm@mail.ru

Озеров Александр Александрович – д-р хим. наук, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии, ВолгГМУ, г. Волгоград. ORCID iD: 0000-0001-8407-694X. E-mail: ozerov@vlink.ru

Дементьева Татьяна Михайловна – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармации и фармакологии, ДВГМУ, г. Хабаровск. ORCID iD: 0000-0002-7332-0094. E-mail: tmdeментьева@mail.ru (автор, ответственный за переписку)

На базе ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ акад. Петровым В.И. с соавторами (Тюренков И.Н., Озеров А.А. и др.) в 2017 году было синтезировано оригинальное соединение N-[2-[4-оксо-3(4Н)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин (VMA-13-15). Проведенные доклинические исследования биологически активного соединения (БАС) выявили выраженную кардиопротекторную и нейропротекторную активность [1]. Синтезированное БАС оказалось, что по интенсивности фармакологической активности не уступает зарубежным аналогам [2, 3].

В соответствии с требованиями ГФ РФ XIV [4] и фармакопеи США [5], одним из основных критериев контроля качества фармацевтических

субстанций является показатель «Родственные примеси».

Использование данного испытания основано на обнаружении различных видов примесей: продуктов деструкции и технологических примесей. Это могут быть соединения, как с установленным химическим строением, так и строение которых не установлено [4, 5]. Исходя из схемы синтеза и структуры анализируемой субстанции, в качестве технологической примеси можно предположить наличие исходного соединения – незамещенного хиназолин-4(3Н)-она, из-за возможной неполноты протекания реакции. Данная примесь относится к идентифицированным примесям, так как известно ее химическое строение [1]. Метод капиллярного

электрофореза в настоящее время находит широкое применение в фармацевтическом анализе [6, 7], в частности для определения родственных примесей [8], и включен в ГФ РФ XIV [4] и ряд зарубежных фармакопей [5].

Целью данного исследования явилась разработка и валидационная оценка методики установления содержания технологической примеси (хиназолин-4(3H)-он) для включения ее в проект нормативного документа на субстанцию VMA-13-15.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на лабораторных образцах БАС N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина (рис.1).

В качестве стандартного образца (СО) был использован лабораторный образец субстанции VMA-13-15, дважды перекристаллизированный из метанола и имеющий на электрофореграмме в описанных ниже капиллярно-электрофоретических условиях один пик (время миграции 6,78 мин) [9] при полном отсутствии дополнительных пиков. Также имелся образец исходного продукта синтеза – незамещенный хиназолин-4(3H)-он.

Для оценки чистоты N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина была разработана методика анализа родственных примесей методом капиллярного электрофореза. Исследования проводили на системе капиллярного электрофореза «Капель – 105М» (ОАО «Люмэкс-маркетинг», Россия) с кварцевым капилляром (параметры капилляра Лэфф/Лобщ=50/60 см, ID=75 мкм). Для проведения анализа были выбраны капиллярно-электрофоретические условия, предложенные нами для определения БАС VMA-13-15 [3]: гидродинамический ввод пробы, 30 мбар, электрофоретическое разделение с боратным буфером (pH 9,2, прилагаемое напряжение + 20кВ), спектрофотометрическое детекти-

рование пиков при длине волны 254 нм, время проведения анализа 15 минут [9].

Электрофоретическое разделение проводили в среде 0,01 М боратного буферного раствора с pH 9,2±0,02, приготовленного согласно ГОСТ 4919.2-2016 «Реактивы и особо чистые вещества». Методы приготовления буферных растворов». Значение pH буферного раствора контролировали на pH-метре Hanna Edge 2002-02 (HANNA Instruments Inc., Hungary). Навески субстанции отвешивали на аналитических весах ЛВ 210-А (ООО «Сартогосм», Россия).

Модельные растворы готовили следующим образом: точную навеску (0,0200 г) незамещенного хиназолин-4(3H)-она помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл воды очищенной для полного растворения вещества. Далее объем раствора доводили водой очищенной до метки и перемешивали (раствор А).

Точную навеску (0,2000 г) СО N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 80 мл воды очищенной для полного растворения субстанции. Далее в эту мерную колбу вносили 1 мл раствора А, доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали (раствор Б). При помощи микропипетки отбирали 1 мл раствора Б, переносили в микроцентрифужную пробирку типа Эппендорф и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 5 мин. Полученный раствор содержал 0,1% примеси по отношению к исходной навеске исследуемой субстанции.

Для построения градуировочного графика растворы готовили следующим образом: в пять мерных колб вместимостью 100 мл помещали по 0,2000 г (точная навеска) СО N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина растворяли в 80 мл воды очищенной, в каждую колбу вносили по 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 и 2,5 мл раствора А, доводили объем растворов водой очищенной до метки и перемешивали.

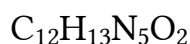
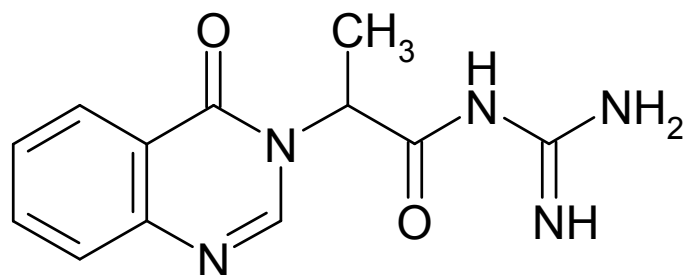


Рис. 1. Химическая структура N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина.

Fig. 1. Chemical structure of N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Идентификация и пределы контроля родственных примесей для фармацевтических субстанций зависят от максимальной суточной дозы лекарственного средства [4]. По предварительным данным рекомендуемая разовая доза будет находиться в пределах 50 мг, поэтому мы посчитали возможным определять содержание родственной примеси в пределах 0,1%.

Пригодность предложенной методики устанавливали по следующим параметрам: специфичность, линейность, прецизионность и правильность, предел обнаружения и предел количественного определения.

Специфичность методики подтверждали, вводя в хроматографическую систему приготовленные растворы примеси *незамещенного хиназолин-4(3H)-она (раствор А) и модельной смеси*. Полученные электрофореграммы представлены на рисунках 2 и 3.

На электрофореграмме (рис. 2) получен симметричный пик со временем миграции в пределах 4,8 мин, что является оптимальным для экспресс-анализа. На электрофореграмме модельной смеси (рис.3) установлено четкое разделение пиков анализируемых веществ,

а именно пика примеси со временем миграции 4,37 мин и пика исследуемого вещества, со временем миграции 6,59 мин.

Нами оценены следующие параметры разработанной методики: время миграции, коэффициент разделения пиков (R_n , $n+1$), коэффициент асимметрии пиков ($As(0.1)$), число теоретических тарелок (ТТ), относительное стандартное отклонение площадей пиков (RSD, %), значения которых рассчитаны по результатам 6 электрофореграмм с использованием программного обеспечения «Эльфوران» (табл. 1) [4].

Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о пригодности используемой хроматографической системы, так как коэффициент разделения (R_s) пика примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она и СО N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина составил 5,8, что говорит о достаточном разделении пика основной субстанции и ее примеси (рекомендуемое значение R_s при определении содержания примесей ≥ 2). Относительное стандартное отклонение (RSD) площадей пиков на 6 электрофореграммах примеси и СО БАС составило не более 2%. Число теоретически тарелок так же укладывается в требуемый показатель ≥ 1500 [4].

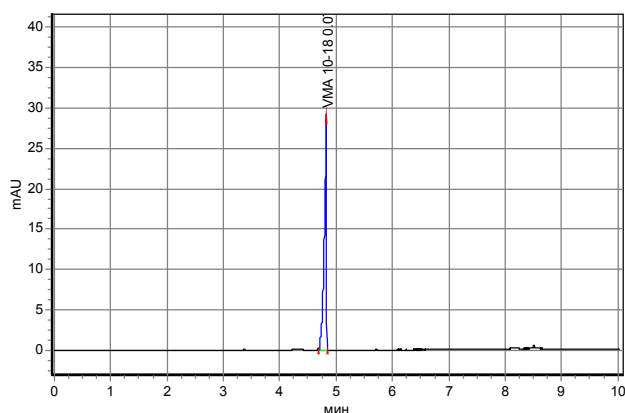


Рис. 2. Электрофореграмма раствора незамещенного хиназолин-4(3H)-она.

Fig. 2. Electrophoregram of a solution of unsubstituted quinazoline-4(3H)-one.

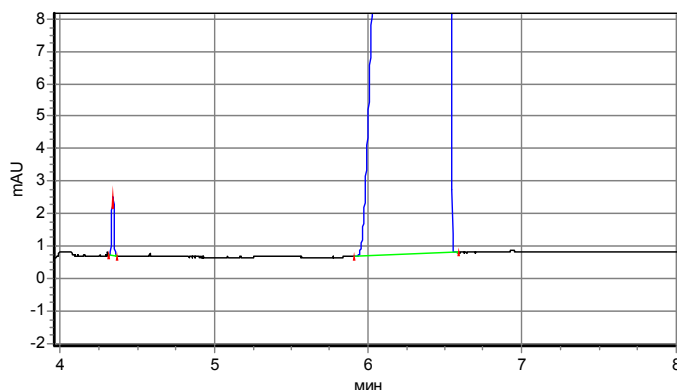


Рис. 3. Электрофореграмма раствора модельной смеси.

Fig. 3. Electrophoregram of the solution of the model mixture.

Линейность методики устанавливали при анализе растворов пяти концентраций незамещенного хиназолин-4(3H)-она (0,05; 0,1; 0,15; 0,2 и 0,25%) от содержания N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина. Полученные растворы анализировали в трех повторностях, затем рассчитывали средние значения площадей пиков и строили график зависимости площади пика от концентрации примеси в растворе. В табл. 2 приведены результаты установленной линейной зависимости.

Из полученных данных (табл. 2) следует, что методика соответствует параметру «линейность». Аналитической областью методик испытаний на чистоту является диапазон 50-120%, то есть при определении незамещенного хиназолин-4(3H)-эти значения должны находиться в пределах от 0,05 до 0,12 %.

Параметр «прецизионность» устанавливали на первого уровня - повторяемость (сходимость). Для определения прецизионности готовили растворы Б в 6 повторностях (табл. 3). Расчет содержания примеси (мкг/мл) в растворе проводили по формуле:

$$X = \frac{S_x \times S_{cm}}{C_{cm}}$$

где S_x – площадь пика испытуемого образца;
 S_{cm} – площадь пика стандартного образца;
 C_{cm} – концентрация стандартного раствора, мкг/мл.

Как следует из данных таблицы 3, методика количественного определения примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она соответствует параметру «прецизионность» [4].

Правильность методики оценивали при анализе растворов на трех уровнях концентраций незамещенного хиназолин-4(3H)-она от содержания VMA-13-15 в трех повторностях каждый. Для этого по 0,2000 г (точная масса) СО VMA-13-15 помещали в 9 мерных колб вместимостью 100 мл, добавляли по 80 мл воды очищенной для полного растворения СО, вносили аликвоты раствора А (по 0,5; 1,0 и 1,5 мл) и доводили объем колб водой очищенной до метки. Далее при помощи микропипетки отбирали полученный раствор, переносили в микроцентрифужную пробирку типа Эппендорф, и центрифугировали при 8000 об/мин в течение 5 мин. Результаты анализа растворов на трех уровнях концентраций представлены в таблице 4.

Результаты таблицы 4 свидетельствуют, что на каждом уровне концентраций получены сопоставимые результаты и стандартное отклонение не превышает 3%.

Таблица 1

Table 1

Параметры пригодности хроматографической системы

Suitability parameters of the chromatographic system

Вещество Substance	Время миграции, мин Migration time, min	Rs	As	ТТ	RSD, %
Хиназолин-4(3H)-он Quinazoline-4(3H)-one	4.37	5.8	0.2	160329	1.47
VMA-13-15	6.59		0.1	102974	1.07

Таблица 2

Table 2

Результаты определения линейной зависимости площадей пика от концентрации хиназолин-4(3H)-она

Results of determining the linear dependence of peak areas on the concentration of quinazoline-4(3H)-one

Концентрация примеси, мкг/мл Impurity concentration, mcg/ml	Количество примеси, % от содержания Amount of impurity, % of the content VMA-13-15	Площадь пика Peak Area, mAU×c	Параметры линейной зависимости Parameters of linear dependence Y=bx+a
1.0	0.05	8.70	b=95.49 S _b =3.05 Δb=9.69 a=0.21 S _a =1.01 Δa=3.21 r=0.9970
2.0	0.10	19.35	
3.0	0.15	28.73	
4.0	0.20	39.27	
5.0	0.25	49.53	

Из данных, полученных в таблице 4, следует, что рассчитанная величина t-критерия Стьюдента составляет 0,23, при этом полученная величина меньше теоретического значения критерия Стьюдента ($0,23 < 2,31$) и можно говорить о том, что методика не отягощена систематической ошибкой [10].

Подобранные оптимальные условия анализа позволили предложить методику определения родственных примесей в следующей редакции:

Испытуемый раствор. Около 200 мг (точная масса) субстанции N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолин-нил]пропионил]гуанидина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 80 мл воды очищенной для полного растворения субстанции. Далее объем раствора доводят водой очищенной до метки.

Раствор сравнения А. 20 мг примеси (хиназолин-4(3H)-он) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл. Аликвоту полученного раствора объемом 1,0 мл переносят в мерную колбу вместимостью 100,0 мл и доводят объем раствора до метки водой очищенной.

Допустимое содержание примесей. На электрофореграмме испытуемого раствора площадь пика примеси должна быть не более площади пика хиназолин-4(3H)-он (0,1%).

Разработанную методику использовали для анализа 5 лабораторных серий VMA-13-15. В одном из образцов была обнаружена анализируемая примесь (время удерживания около 4,8 минут), содержание которой не превышало 0,1%, а именно площадь пика примеси (2,53) была в 7,7 раза меньше площади пика (19,4) на хроматограмме раствора сравнения хиназолин-4(3H)-она.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработана методика определения показателя «Родственные примеси» в БАС VMA-13-15 с помощью системы капиллярного электрофореза. Разработанная методика валидирована в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV издания и оказалась приемлемой для определения идентифицированной технологической примеси хиназолин-4(3H)-он.

Таблица 3

Table 3

Результаты определения повторяемости (сходимости) методики определения примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она в модельных смесях ($S_{ст} - 19,31$; $C_{ст} - 2$ мкг/мл)

Results of determining the repeatability (convergence) of the method for determining the impurity of unsubstituted quinazoline-4(3H)-one in model mixtures ($S_{st} - 19.31$; $S_{st} - 2$ µg/ml)

Площадь пика, мВ Peak area, mv	Найдено, мкг/мл Found, mcg/ml	Метрологические характеристики Metrological characteristics
19.44	2.014	$\bar{R} = 1.996$ $SD = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{(n-1)}} = 0.0022$ $RSD = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% = 1.10\%$
19.23	1.991	
19.40	2.009	
18.99	1.966	
19.52	2.021	
19.12	1.980	

Таблица 4

Table 4

Результаты установления правильности методики определения примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она в модельных смесях ($S_{ст} - 19,31$)

Results of establishing the correctness of the methodology for determining the impurity of unsubstituted quinazoline-4(3H)-one in model mixtures ($S_{st} - 19.31$)

Уровень Level	Взято, мкг/мл Taken, µg/ml	Площадь пика, мВ Peak area, mV	Найдено, мкг/мл Found, µg/ml	R, %	Метрологические характеристики Metrological characteristics
1	1.0	9.52	0.974	97.40	$\bar{R} = 99.79$ $SD = 2.57$ $RSD = 2.58\%$ $t_{exp} = \frac{ 100 - R \times \sqrt{n}}{RSD} = 0.23$ $t_{табл} = 2.31$
		9.84	1.007	100.71	
		10.11	1.036	103.60	
2	2.0	19.44	2.014	100.10	
		19.40	2.009	99.85	
		19.23	1.991	98.95	
3	3.0	27.58	2.866	95.18	
		28.80	2.993	99.40	
		29.81	3.099	102.92	

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Компанцева Е.В. – разработка концепции и дизайна, обоснование рукописи; Луценко Д.Н. – сбор данных, анализ и интерпретация полученных данных, подготовка черновика рукописи; Гарсия Е.Р. – получение экспериментальных данных; Озеров А.А. – проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи; Дементьева Т.М. – анализ литературы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Петров В.И., Тюренков И.Н., Озеров А.А., Новиков М.С., Перфилова В.Н., Куркин Д.В., Волотова Е.В. авторы, патентообладатели. *Производные хиназолин-4(3H)-она, обладающие нейро- и кардиопротекторной активностью*. Российская Федерация RU 2622638. [Petrov V.I., Tyurenkov I.N., Ozerov A.A., Novikov M.S., Perfilova V.N., Kurkin D.V., Volotova E.V. authors, patent holders. *Derivatives of quinazoline-4(3H)-oh, possessing neuro- and cardioprotective activity*. Russian Federation RU 2622638].
2. Tracey WR, Allen MC, Frazier DE, Fossa AA, Johnson CG, Marala RB, Knight DR, Guzman-Perez A. Zoniporide: a potent and selective inhibitor of the human sodium-hydrogen exchanger isoform 1 (NHE-1). *Cardiovasc Drug Rev*. 2003;21(1):17–32. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2003.tb00103.x.
3. Boscia F., Pignataro G., Sirabella O., Casamassa A., Glial L. Na⁺-dependent ion transporters in pathological physiological conditions. *Glia*. 2016;64(10):1677–1697. DOI: 10.1002/glia.23030
4. *Государственная фармакопея РФ*. Т. 1. Изд. 14-е. Москва, 2018. [*State Pharmacopoeia of the Russian Federation*. Vol. 1. 14th Ed.. Moscow, 2018 (in Russ.)]. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/175/>
5. *The United States Pharmacopeial Convention*. Washington: D.C. 2009.
6. Marsh A., Broderick M., Altria K., Power J., Donegan S., Clark B. Capillary electrophoresis for pharmaceutical analysis. *Methods Mol Biol*. 2008;384: 205–45. DOI: 10.1007/978-1-59745-376-9_10.
7. Zhu Y, Wang F, Li Q, Zhu M, Du A, Tang W, Chen W. Amlodipine metabolism in human liver microsomes and roles of CYP3A4/5 in the dihydropyridine dehydrogenation. *Drug Metab Dispos*. 2014;42(2):245–249. DOI: 10.1124/dmd.113.055400
8. Helali N., Tran N.T., Moncer L., Taverna M. Capillary zone electrophoresis method for the determination of famotidine and related impurities in pharmaceuticals. *Talanta*. 2008;74(4):694–698. DOI: 10.1016/j.talanta.2007.06.036
9. Компанцева Е.В., Луценко Д.Н., Гарсия Е.Р. Определение биологически активного соединения N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]гуанидина методом капиллярного электрофореза. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2020;23(10):40–45 [Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Garcia E.R. Determination of biologically active compound N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazoliny]propionyl]-guanidine by capillary electrophoresis. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2020;23(10):40–45 (in Russ.)]. DOI: 10.29296/25877313-2020-10-06.
10. Daksh S., Goyal A., Chakshu K. Pandiya. Validation of analytical methods – Strategies & Singficance. *International Journal of Development in Pharmacy and Life Sciences*. 2015;4(3):1489–1497.

Поступила в редакцию 27.12.2022

Подписана в печать 26.06.2023

Для цитирования: Компанцева Е.В., Луценко Д.Н., Гарсия Е.Р., Озеров А.А., Дементьева Т.М. Разработка методики определения родственной примеси в новом биологически активном соединении кардиопротекторного действия методом капиллярного электрофореза. *Человек и его здоровье*. 2023;26(2):73–79. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/09. EDN: MAKQOQ.

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR DETERMINING RELATED IMPURITIES IN A NEW BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUND OF CARDIOPROTECTIVE ACTION BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

© Kompantseva E.V.¹, Lutsenko D.N.¹, Garcia E.R.¹, Ozerov A.A.², Dementieva T.M.³

¹Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University (PMPI – branch of VolgSMU)

11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Stavropol Krai, 357532, Russia

²Volgograd State Medical University (VolgSMU)

1, Pavshykh Bortsov Sq., Volgograd, Volgograd oblast, 400131, Russia

³Far Eastern State Medical University (FESMU)

35, Muravyov Amursky Str., Khabarovsk, Khabarovsk Krai, 680000, Russia

The original biologically active compound (BAS) N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine (VMA-13-15), which has cardioprotective and neuroprotective activity, was synthesized on the basis of the FSUE at VolgSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation. In accordance with the XIV State Pharmacopoeia of the Russian Federation, one of the criteria for quality control of pharmaceutical substances is the indicator "Related Impurities". Based on the synthesis scheme and the structure of the analyzed BAS as a technological impurity, we can assume the presence of the initial compound - - unsubstituted quinazoline-4(3H)-one, due to the possible incomplete flow of the reaction.

Objective: the development and validation evaluation of the methodology for determining the technological impurity (quinazoline-4(3H)-one) to include it in the draft regulatory document for the proposed BAS VMA-13-15 as a pharmaceutical substance.

Materials and methods. The capillary electrophoretic conditions proposed earlier by us for the determination of the BAS under study were chosen for the analysis, under which the compounds in question are well separated as clear peaks with a migration time of 6.59 min for N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine and 4.37 min for quinazoline-4(3H)-one.

Results. As a result of this research, the methodology for determining the indicator "Related Impurities" in BAS VMA-13-15 using capillary electrophoresis system was developed. The developed technique was validated in accordance with the requirements of SF RF of the XIV edition and proved to be acceptable for determination of the identified technological impurity quinazoline-4(3H)-one.

Conclusion. The developed technique makes it possible to detect an impurity in the content of 0.1% or more.

Keywords: biologically active compound; analysis; related impurities; technique; capillary electrophoresis.

Kompantseva Evgeniya V. – Dr. Sci. (Pharm.), Professor at the Department of Pharmaceutical Chemistry, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 000-0002-0534-1651. E-mail: dskompanceva@mail.ru

Lutsenko Darya N. – Lecturer at the Department of Pharmaceutical Chemistry, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-9682-9283. E-mail: Lucenkodasha95@mail.ru

Garcia Ekaterina R. – Cand. Sci. (Pharm.), Lecturer at the Department of Pharmacognosy, Botany and Technology of Phytopreparations, PMPI – branch of VolgSMU, Pyatigorsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-3217-0680. E-mail: x-pharm@mail.ru

Ozerov Alexander A. – Dr. Sci. (Chem.), Head of the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry, VolgSMU, Volgograd, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-8407-694X. E-mail: ozarov@vlink.ru

Dementieva Tatiana M. – Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor at the Department of Pharmacy and Pharmacology, FESMU, Khabarovsk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-7332-0094. E-mail: tmdementieva@mail.ru (corresponding author)

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

AUTHORS CONTRIBUTION

Kompantseva E.V. – development of the concept and design, justification of the manuscript; Lutsenko D.N. – data collection, analysis and interpretation of the received data, preparation of a draft manuscript; Garcia E.R. – obtaining experimental data; Ozerov A.A. – verification of critical intellectual content; final approval for publication of the manuscript; Dementieva T.M. – literature analysis.

Received 27.12.2022

Accepted 26.06.2023

For citation: Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Garcia E.R., Ozerov A.A., Dementieva T.M. Development of a method for determining related impurities in a new biologically active compound of cardioprotective action by capillary electrophoresis. *Humans and their health*. 2023;26(2):73–79. DOI: 10.21626/vestnik/2023-2/09. EDN: MAKQOQ.