

DOI: 10.33380/2305-2066-2019-8-1-66-71
УДК 543.89

ИЗУЧЕНИЕ КИСЛОТНО-ОСНОВНЫХ СВОЙСТВ, РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРИГИНАЛЬНОЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ СУБСТАНЦИИ

Г. М. Алексеева¹, В. Ф. Апраксин¹, Ю. Э. Генералова^{1*}

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет», 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 14, лит. А

*Контактное лицо: Генералова Юлия Эдуардовна. E-mail: generalova@anchem.pro

Статья получена: 22.11.2018. Статья принята к печати: 25.01.2019

Резюме

Введение. Объектом анализа являлась вновь синтезированная органическая субстанция, производное 4-аминобензойной кислоты и малонового эфира – 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия, обладающий антистезотным действием. Для количественного определения фармацевтических субстанций предпочтительно использовать титриметрические методы анализа, так как они имеют абсолютный характер и позволяют оценить содержание действующего вещества в субстанции без применения стандартных образцов.

Цель. Задачей работы являлось разработка и валидация методики количественного определения 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия.

Материалы и методы. Анализируемое соединение является солью слабой двухосновной кислоты, которое в водном растворе проявляет основные свойства, поэтому для его количественного определения предложен метод прямого кислотно-основного титрования (ацидиметрия). Методика количественного определения действующего вещества в субстанции 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия в дальнейших исследованиях будет использоваться для рутинного анализа, поэтому выбран визуальный (индикаторный) способ определения конечной точки титрования. Для доказательства пригодности разработанной методики и возможности получения достоверных результатов количественного содержания действующего вещества во вновь синтезированной фармацевтической субстанции с её использованием аналитическая методика была проведена её валидация.

Результаты и обсуждение. Изучение кислотно-основных свойств вновь синтезированной субстанции проводили методом потенциометрического титрования, на основании которого рассчитаны значения констант диссоциации. С помощью электронных таблиц по модели титрования многокислотных оснований рассчитаны значения pK_{a1} и pK_{a2} , значения которых составляют 7,2 и 5,0. Кривая титрования, построенная по экспериментальным данным, и кривая, построенная по рассчитанным значениям констант диссоциации практически полностью накладываются друг на друга. На основании полученных данных для проведения титрования был выбран индикатор 0,1% водно-спиртовой раствор бромкрезоловый зелёный (синий) с $pT=4,6$, интервал перехода окраски которого попадает в скачок титрования определяемого вещества. Проведена валидация разработанной методики согласно требованиям Государственной Фармакопее Российской Федерации XIV издания по показателям: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (сходимость и внутилабораторная воспроизводимость), робастность, аналитическая область.

Заключение. В результате проведённых исследований определены значения констант кислотной диссоциации вновь синтезированной фармацевтической субстанции 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия, разработана и валидирована методика количественного определения методом кислотно-основного титрования.

Ключевые слова: титрование, ацидиметрия, фармацевтическая субстанция, стандартизация, количественное определение, разработка методики, валидация.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Для цитирования: Алексеева Г. М., Апраксин В. Ф., Генералова Ю. Э. Изучение кислотно-основных свойств, разработка и валидация методики количественного определения оригинальной фармацевтической субстанции. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019; 8(1): 66–71.

EXPLORING OF ACID-BASIC PROPERTIES, DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF ORIGINAL PHARMACEUTICAL SUBSTANCE

G. M. Alekseeva¹, V. F. Apraksin¹, Yu. E. Generalova^{1*}

1 – Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, 14A, Professor Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia

*Corresponding author: Julia E. Generalova. E-mail: generalova@anchem.pro

Received: 22.11.2018. Accepted: 25.01.2019

Abstract

Introduction. The object of analysis was a newly synthesized organic substance, a derivative of 4-aminobenzoic acid and malonic ester – 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate, which has an antistezotic effect. For the quantitative determination of pharmaceutical substances, it is preferable to use titrimetric methods of analysis, since they are absolute and allow us to estimate the content of the active compound in the substance without using standard samples.

Aim. The objective of this work was to develop and validate a quantitative determination method for 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate.

Materials and methods. The analyzed compound is a salt of a weak dibasic acid, which exhibits basic properties in an aqueous solution; therefore, for its quantitative determination, a direct acid-base titration method (acidimetry) was proposed. The method of quantitative determination of the active compound in the substance 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate will be used in future studies for routine analysis, therefore a visual (indicator) method for determining the end point of the titration has been chosen. To prove the suitability of the developed method and the possibility of obtaining reliable results of the quantitative content of the active compound in the newly synthesized pharmaceutical substance the used analytical method was validated.

Results and discussion. The study of the acid-base properties of the newly synthesized substance was carried out using the method of potentiometric titration, on the basis of which the values of the dissociation constants were calculated. Using spreadsheets, the pK_{a1} and pK_{a2} values were calculated using a titration model of a multi-basic acid, the pKa values of which are 7.2 and 5.0. The titration curve that was constructed from the experimental data and the curve constructed from the calculated values of the dissociation constants almost completely overlapped with each other. Based on the data obtained, a 0.1% water-alcohol solution of bromocresol green (blue) with $pT=4.6$ was selected for titration, the color transition interval of which falls into the titration jump of the analyte. The developed methodology was validated according to the requirements of the XIV edition State Pharmacopoeia of the Russian Federation by the following indicators: specificity, linearity, accuracy, precision (convergence and internal reproducibility), robustness, analytical domain.

Conclusion. As a result of the performed studies, the values of acid dissociation constants of the newly synthesized pharmaceutical substance 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate were determined, and a method for quantitative determination was developed and validated using acid-base titration.

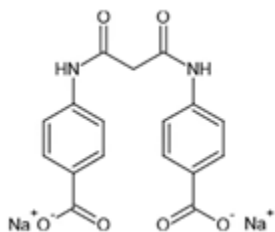
Keywords: titration, acidimetry, pharmaceutical substance, standardization, quantification, method development, validation.

Conflict of interest: no conflict of interest.

For citation: Alekseeva G. M., Apraksin V. F., Generalova Yu. E. Exploring of acid-basic properties, development and validation of the method of quantitative determination of original pharmaceutical substance. *Drug development & registration*. 2019; 8(1): 66–71.

ВВЕДЕНИЕ

Объектом анализа являлась вновь синтезированная органическая субстанция, производное 4-аминобензойной кислоты и малонового эфира – 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия, обладающий антистеатозным действием.

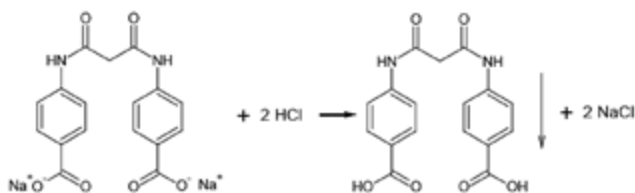


Для количественного определения фармацевтических субстанций (ФС) рекомендовано использовать различные методы анализа (титриметрические, спектральные, хроматографические) [1, с. 102], но большинство из них являются сравнительными методами и требуют использования стандартных образцов (СО), которые недоступны при исследовании вновь синтезированных субстанций. Из перечисленных выше методов анализа только титриметрические имеют абсолютный характер и позволяют оценить содержание действующего вещества в субстанции без применения СО. Титриметрические методы анализа являются наиболее доступными, экспрессными, прецизионными, точными, простыми в аппаратном оформлении.

Цель работы – разработка и валидация методики количественного определения 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом анализа является оригинальная фармацевтическая субстанция 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоат натрия, которая представляет собой белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде. Анализируемое соединение является солью слабой двухосновной кислоты, которое в водном растворе проявляет основные свойства, поэтому для его количественного определения предложен метод прямого кислотно-основного титрования (ацидиметрия). Реакция взаимодействия ФС с титрантом протекает по схеме:



Одним из этапов разработки методики количественного определения методом ацидиметрии является выбор способа индикации конечной точки титрования (КТТ). Существует два основных способа

определения КТТ: визуальный и инструментальный. Визуальная индикация КТТ характеризуется экспрессностью анализа, но оценка перехода окраски индикатора в растворе является субъективной. Инструментальная индикация КТТ позволяет более объективно определить точку эквивалентности, но требует больших трудозатрат.

Методика количественного определения действующего вещества в субстанции 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия будет использоваться для рутинного анализа в дальнейших исследованиях, поэтому должна быть максимально простой и экспрессной. Уменьшить время, затрачиваемое на единичный анализ, позволит использование визуального (индикаторного) способа определения КТТ. Для доказательства пригодности разработанной методики и возможности получения достоверных результатов количественного содержания действующего вещества во вновь синтезированной фармацевтической субстанции с её использованием аналитическая методика была проведена её валидация.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение кислотно-основных свойств вновь синтезированной субстанции проводили методом потенциометрического титрования, на основании которого рассчитаны значения констант диссоциации. По результатам титрования с использованием электронных таблиц (Microsoft Office Excel) построена кривая титрования (рисунок 1), которая характеризуется одним хорошо выраженным скачком в диапазоне рН 3,5–5,5, следовательно, константы диссоциации двух карбоксильных групп близки и титруются совместно.

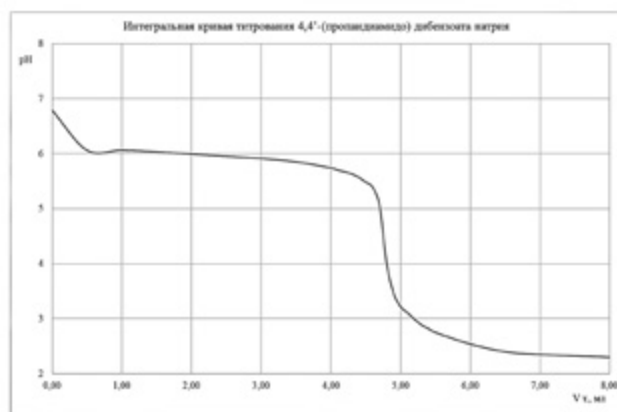


Рисунок 1. Интегральная кривая потенциометрического кислотно-основного титрования 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия

Figure 1. Integral curve of potentiometric acid-base titration of 4,4'-(propanediimido) sodium dibenzoate

Для предварительного расчёта константы диссоциации 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия использована модель титрования одноосновного основания. Потенциометрическое титрование проводили

с использованием рН-метра «Марк-901», в качестве индикаторного использовали стеклянный электрод ЭС-10601/7, в качестве электрода сравнения – хлор-серебряный ЭСР-10101. Измерения проводили при постоянной температуре 25 ± 1 °С и при постоянной ионной силе, которую создавали 0,5 М раствором бромида калия. Готовили раствор анализируемого образца 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия концентрацией 0,05 моль/л (объём раствора 30 мл), титрант – 0,1 М ($K=1,000$) раствор хлороводородной кислоты. Для титрования использовали бюретку объёмом 25 мл, 1 класса точности, погрешность измерения которой составляет $\pm 0,05$ мл [2, с. 2]. Результаты титрования, рассчитанные значения отрицательного логарифма константы диссоциации 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия в диапазоне фактора оттитрованности 30–80% [3, с. 30], статистическая обработка полученных результатов приведены в таблице 1 (в расчёт вошли 8 измерений из 30).

Таблица 1. Результаты титрования, рассчитанные значения pK_a 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия и статистическая обработка полученных результатов ($n=8$, $P=95\%$)

Table 1. Titration results, calculated pK_a values of 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate and statistical processing of the obtained results ($n=8$, $P=95\%$)

№ п/п	V_t	pH	pK_a	Статистическая обработка полученных результатов
6	5,00	6,15	5,85	$\overline{pK_a} = 6,171$ $s_x = 0,2174$ $s_x = 0,07684$ $\Delta pK_a = 0,19$ $\delta pK_a = 3\%$
7	6,00	6,13	5,95	
8	7,00	6,11	6,05	
9	8,00	6,08	6,13	
10	9,00	6,05	6,22	
11	10,00	6,01	6,30	
12	11,00	5,96	6,39	
13	12,00	5,89	6,48	

На основании данных, приведённых в таблице 1, рассчитанное значение отрицательного логарифма константы кислотной диссоциации (pK_a) 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия составляет $6,2 \pm 0,2$. На основании рассчитанного значения pK_a и построены кривые титрования, наложение экспериментально полученной и модельных кривых приведены на рисунке 2.

Для уточнения констант диссоциации, характеризующих две карбоксильные группы исследуемого соединения, с помощью электронных таблиц по модели титрования многокислотных оснований рассчитаны значения pK_{a1} и pK_{a2} , значения которых составляют 7,2 и 5,0. На рисунке 3 представлены кривая титрования, построенная по экспериментальным данным, и кривая, построенная с использованием рассчитанных значений констант диссоциации, которые практически

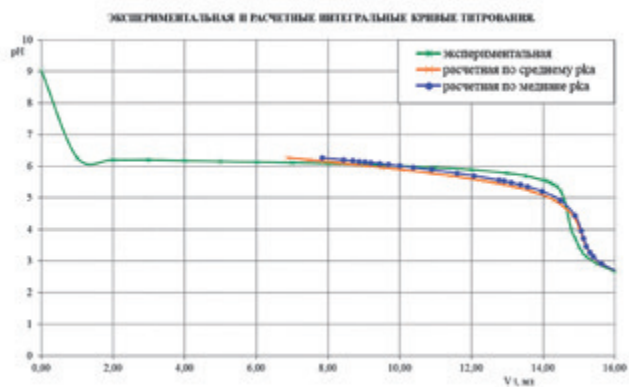


Рисунок 2. Экспериментальная (зелёная линия), рассчитанная по среднему значению константы диссоциации (оранжевая линия) и рассчитанная по медиане кривые титрования 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия

Figure 2. Experimental (green line) calculated by the average value of the dissociation constant (orange line) and median titration curves of 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate calculated

полностью накладываются друг на друга. На основании полученных данных для проведения титрования был выбран индикатор 0,1% водно-спиртовой раствор бромкрезоловый зелёный (синий) с $pT=4,6$ [4, с. 1424], интервал перехода окраски которого попадает в скачок титрования определяемого вещества (рисунок 3). Для приготовления раствора индикатора брали навеску 0,1 г индикатора, растворяли в 50 мл 96% спирта, доводили объём раствора водой до 100,0 мл.

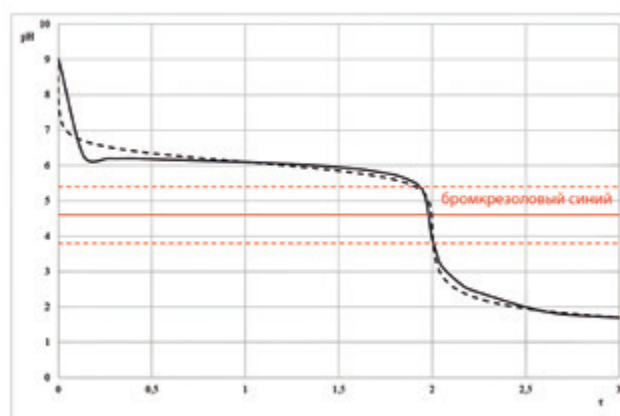


Рисунок 3. Экспериментальная (сплошная линия) и рассчитанная (штриховая линия) кривые титрования 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия

Figure 3. Experimental (solid line) and calculated (dashed line) titration curves of 4,4'-(propandiamido) sodium dibenzoate

Таким образом, на основании экспериментально полученных данных кислотно-основных свойств 4,4'-(пропандиамидо)дibenзоата натрия рекомендована методика количественного определения.

Описание методики: Около 0,15 г (точная навеска) субстанции растворяют в 20 мл воды очищенной, перемешивают до полного растворения субстанции, до-

бавляют 0,1 мл бромкрезолового зелёного (синего). Полученный раствор титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты от синего до жёлтого окрашивания раствора.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1000 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 19,31 мг $C_{17}H_{12}N_2O_6Na_2$.

Расчёт количественного содержания действующего вещества в ФС (Р, %) проводят по формуле (1):

$$P = \frac{T \times K \times (V_m^o - V_m^k) \times 100 \times 100}{a \times (100 - W)}, \quad (1)$$

где T – титр хлористоводородной кислоты по определяемому веществу, мг/мл; K – поправочный коэффициент концентрации титранта; V_m^o – объём титранта, пошедший на титрование образца, мл; V_m^k – объём титранта, пошедший на титрование контрольного опыта, мл; a – масса навески фармацевтической субстанции, мг; W – потеря в массе при высушивании, %.

В результате проведенных исследований по разработке методики количественного содержания $C_{17}H_{12}N_2O_6Na_2$ установлены следующие допустимые значения содержания действующего вещества в фармацевтической субстанции 4,4'-(пропандиамидо)дибензоата натрия – от 99,0 до 101,0% $C_{17}H_{12}N_2O_6Na_2$ в пересчете на сухое вещество.

Валидацию методики проводили согласно требованиям Государственной Фармакопее Российской Федерации XIV издания по показателям: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (сходимость и внутилабораторная воспроизводимость), робастность, аналитическая область [4, с. 276].

Специфичность

Специфичность подтверждена отсутствием влияния растворителя на результаты титрования испытуемого раствора (таблица 2).

Таблица 2. Результаты титрования для доказательства специфичности разработанной методики (n=3, P=95%)

Table 2. The results of the titration to prove the specificity of the developed method (n=3, P=95%)

m, мг	V _{титранта} , мл	P, %	Стат.обработка
Холостой опыт (титрование воды очищенной)			
0,0	0,01	0,18	$s_x=0,1137$ $P=0,2\pm 0,3\%$
0,0	0,02	0,28	
0,0	0,01	0,18	
Результаты титрования образца ФС			
152,8	7,72	99,57	$s_x=0,3106$ $P=99,9\pm 0,7\%$
157,4	8,00	99,99	
148,6	7,54	100,17	

Как видно из данных таблицы 2, используемый растворитель не искажает результаты количественного определения ФС, следовательно, валидируемая методика специфична.

Линейность

Исследование линейной зависимости проводили между массой вещества и расходом титранта в диапазоне 80–120% от номинальной концентрации исследуемого образца в растворе. График зависимости представлен на рисунке 4. Результаты статистической обработки полученных данных приведены в таблице 3.

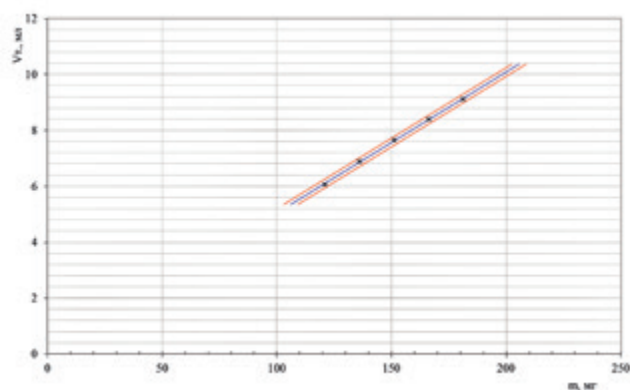


Рисунок 4. График линейной зависимости объема титранта от массы ФС

Figure 4. Graph of linear dependence of titrant volume on FS mass

Таблица 3. Статистическая обработка результатов, полученных при исследовании линейности валидируемой методики

Table 3. Statistical processing of the results obtained in the study of the linearity of the validated method

n	5	Доверит. вероятность	95%
Коэф. Стьюдента	3,18	Предел обнаружения	43,801
(b) Наклон	0,050	Ст.откл.наклона	0,0007
(a) Отрезок	-0,006	Ст.откл.отрезка	0,1097
(r) Коэф.коррел.	0,99970	Дов.инт.наклона	0,0023
Ст.откл.прямой	0,034	Дов.инт.отрезка	0,3492

Таким образом, доказана линейная зависимость в диапазоне концентраций от 80 до 120% анализируемого вещества с высоким значением коэффициента корреляции 0,9997. Пересечение с осью Y составляет 0,08% отклика номинальной концентрации, что удовлетворяет критериям приемлемости.

Правильность

Для исследования правильности аналитической методики количественного определения ФС использовали данные, полученные при проверке линейности методики (таблца 3). Рассчитанное абсолютное зна-

чение свободного члена уравнения линейной регрессии 0,006 не превышает свой доверительный интервал 0,3492, следовательно, методика свободна от систематической погрешности и даёт правильные результаты.

Сходимость

Сходимость результатов методики количественного определения 4,4'-(пропандиамидо)добензоат натрия в ФС устанавливали по результатам титрования 6 проб для испытуемых образцов ФС номинальной концентрации. По результатам анализа рассчитывали величину относительного стандартного отклонения выборки, которое не должно превышать 0,33%. Результаты исследования сходимости валидируемой методики приведены в таблице 4.

Таблица 4. Результаты исследования сходимости методики количественного определения ФС и статистическая обработка полученных результатов (P=95%, n=6)

Table 4. The results of the study of the convergence of the method of quantitative determination of FS and statistical processing of the results obtained (P=95%, n=6)

№ пробы	а, мг	V _r , мл	P, %	Стат. обработка
1	157,4	7,95	99,8	$\bar{P}=100,1\%$ $SD=0,2980$ $RSD=0,30\%$
2	148,6	7,54	100,3	
3	159,4	8,10	100,4	
4	142,9	7,26	100,4	
5	145,5	7,35	99,8	
6	152,8	7,72	99,9	

Относительное стандартное отклонение полученных результатов количественного определения вещества в ФС составило 0,30%, что удовлетворяет критерию приемлемости валидируемой методики.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность

Для проверки внутрилабораторной прецизионности результатов количественного определения основного вещества в ФС анализ проводили разные аналитики, в разные дни, на разном оборудовании, используя разные растворы титранта. Для двух полученных выборок рассчитывали F-критерий Фишера и t-критерий Стьюдента, которые не должны превышать табличные значения. Результаты приведены в таблице 5.

Результаты проверки внутрилабораторной прецизионности показали воспроизводимость полученных результатов валидируемой методики, рассчитанные критерии Фишера и Стьюдента не превышают табличные значения, отклонение содержания основного вещества в ФС в обобщённой выборке удовлетворяет критериям приемлемости.

Таблица 5. Результаты проверки внутрилабораторной прецизионности валидируемой методики, статистическая обработка результатов (P=95%, n=6)

Table 5. Results of checking the laboratory precision of the validated method, statistical processing of the results (P=95%, n=6)

Аналитик 1 (K=1,020)			Аналитик 2 (K=1,000)		
а, мг	V _r , мл	P, %	а, мг	V _r , мл	P, %
157,4	7,95	99,8	158,7	8,15	99,5
148,6	7,54	100,3	143,7	7,45	100,5
159,4	8,10	100,4	150,3	7,76	100,1
142,9	7,26	100,4	157,7	8,13	99,9
145,5	7,35	99,8	148,7	7,67	100,0
152,8	7,72	99,9	149,2	7,69	99,9
		$\bar{P}=100,1\%$ $SD=0,2980$ $RSD=0,30\%$			$\bar{P}=100,0\%$ $SD=0,3065$ $RSD=0,31\%$
Критерий Фишера: $F_{\text{расч}} = 1,06 < F_{\text{табл}} = 5,05$					
Критерий Стьюдента: $t_{\text{расч}} = 0,061 < t_{\text{табл}} = 2,23$					
$P_{1,2} = 100,0 \pm 0,4\%$ $SD_{1,2} = 0,3023$ $RSD_{1,2} = 0,30\%$					

Робастность методики, стабильность растворов

Робастность валидируемой методики оценивали по её способности давать правильные результаты при небольших, контролируемых изменениях в валидируемой методике, а именно: изменении количества индикатора (0,05 мл, 0,1 мл, 0,15 мл или 1, 2, 3 капли соответственно). Стабильность испытуемого раствора изучали через 24, 48, 72 часа хранения после приготовления. При точном воспроизведении описанной методики, полученные результаты количественного определения должны попадать в заданной допустимый диапазон 99–101%.

Результаты исследования робастности валидируемой методики и стабильности анализируемых растворов приведены в таблице 6.

На основании данных, приведённых в таблице 7 можно заключить, что:

- увеличение количества индикатора увеличивает расход титранта, поэтому с целью уменьшения погрешности титрования не рекомендуется добавлять более 0,1 мл (2 капли) индикатора;
- анализируемый раствор устойчив в течение 72 часов при хранении в тёмном, защищённом от света месте при комнатной температуре.

Таким образом, на основании полученных результатов составлено валидационное заключение, представленное в таблице 7.

Таблица 7. Валидационное заключение о пригодности аналитической методики «количественное определение» титриметрическим методом фармацевтической субстанции 4,4' – (пропандиамидо)добензоат натрия, субстанция

Table 7. Validation conclusion on the suitability of the analytical method «quantitative determination» by the titrimetric method of the pharmaceutical substance 4,4' – (propandiamido) sodium dibenzoate, substance

№п/п	Валидационная характеристика	Критерий приемлемости	Результат испытаний	Соответствует/ не соответствует
1	Специфичность	<ul style="list-style-type: none"> растворитель, используемый для подготовки пробы, не искажает результат содержания ФС 	Растворитель не искажают результаты определения	Соответствует
2	Линейность	<ul style="list-style-type: none"> коэффициент корреляции $\geq 0,990$; для количественного определения основного вещества пересечение с осью Y – не более 2% отклика номинальной концентрации 	0,9997 0,08%	Соответствует Соответствует
3	Сходимость	<ul style="list-style-type: none"> RSD должно быть не более значения, определённого в соответствии с таблицей 6.1 для кислотно-основного титрования – 0,33% 	RSD=0,30%	Соответствует
4	Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность	<ul style="list-style-type: none"> RSD результатов второго аналитика должно быть не более 0,33%; рассчитанные значения критерий Фишера должно быть не больше табличного значения; рассчитанное значение критерия Стьюдента должно быть менее табличного значения 	RSD=0,31% $F_{\text{расч}}=1,06 < F_{\text{табл}}=5,05$ $t_{\text{расч}}=0,061 < t_{\text{табл}}=2,23$	Соответствует Соответствует Соответствует
5	Правильность	<ul style="list-style-type: none"> абсолютное значение свободного члена в уравнении линейной регрессии должно быть меньше его доверительного интервала 	0,006 < 0,3492	Соответствует
6	Робастность	<ul style="list-style-type: none"> результаты содержания действующего вещества, полученные по методике при изменении количества добавляемого индикатора, должны составлять 99–101%; результаты содержания действующего вещества, полученные по методике при хранении испытуемого раствора в течение 72 часов, должны составлять 99–101% 	Рекомендуется добавление не более 0,1 мл (2 капли) индикатора бромкрезолового зелёного (синего) 99,6%	Соответствует Соответствует

Примечание: все параметры, указанные в протоколе валидации, удовлетворяют критериям приемлемости. Результаты валидационных испытаний подтверждают пригодность аналитической методики «Количественное определение» 4,4'-(пропандиамидо)добензоат натрия, субстанция.

Таблица 6. Результаты исследования устойчивости методики количественного определения ФС

Table 6. The results of the study of the stability of the method of quantitative determination of FS

Условия титрования	V_r , мл	P, %	Допустимый диапазон P
Количество индикатора			
0,05 мл (1 капля)	7,70	99,4	99–101%
0,1 мл (2 капли)	7,73	99,8	
0,15 мл (3 капли)	7,79	100,5	
Стабильность испытуемого раствора			
0 часов	7,73	99,8	99–101%
24 часа	7,71	99,5	
48 часов	7,69	99,2	
72 часа	7,73	99,8	

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведённых исследований определены значения констант кислотной диссоциации вновь синтезированной фармацевтической субстанции

4,4'-(пропандиамидо)добензоата натрия, разработана и валидирована методика количественного определения методом кислотно-основного титрования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Миронов А. Н. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. II. М.: *Гриф и К.* 2013; 280 с.
2. Межгосударственный стандарт ГОСТ 29251-91. Посуда лабораторная стеклянная. Бюретки. Часть 1. Общие требования.
3. Альберт А., Сергент Е. Константы ионизации кислот и оснований. М.-Л.: *Химия.* 1964; 180 с.
4. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 1. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.

REFERENCES

1. Mironov A. N. Guidelines for the examination of medicines. V. II. M.: *Grief and K.* 2013; 280 p.
2. Interstate standard GOST 29251-91. Laboratory glassware. Burettes. Part 1. General requirements.
3. Albert A., Sergeant E. Ionization constants of acids and bases. M.-L.: *Chemistry.* 1964; 180 p.
4. State Pharmacopoeia of the Russian Federation XIV edition. V. 1. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>.