



Визначення ізотонічності 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату

Д. Л. Усенко^{id}*A,B,C,D, А. Г. Каплаушенко^{id}C,E,F, Б. О. Варинський^{id}C,E

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Мета роботи – обґрунтувати склад 1 % водного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Матеріали та методи. Дослідження осмоляльності 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату здійснили за Державною фармакопеею України (2.2.35) криоскопічним методом. Розрахунки виконали на підставі вимірювання депресії температури кристалізації 1 % досліджуваного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату, 0,9 % розчину NaCl та води високої якості очистки (Q₃). Температуру кристалізації виміряли за допомогою термометра Бекмана ТЛ-1, який дає змогу здійснювати дослідження з великою точністю (до ±0,005 °C); це робить його корисним і найбільш ефективним при дослідженні ізотонічної концентрації.

Результати. Вимірювання температури кристалізації водних 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату, 0,9 % розчину NaCl, а також води високого ступеня очистки (Q₃) дало змогу розрахувати масу натрію хлориду. Його додавання до 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату дає змогу створити сумарну ізотонічну концентрацію.

Висновки. У результаті дослідження, ґрунтуючись на експериментальних даних щодо депресії температури кристалізації та розрахунках, встановили кількість натрію хлориду, що необхідна для приготування ізотонічного 1 % водного розчину АФІ натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Ключові слова: 1,2,4-тріазоли, активний фармацевтичний інгредієнт, ізотонічна концентрація, осмоляльність, парентеральна лікарська форма.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2024. Т. 17, № 1(44). С. 31-34

Determination of the isotonicity 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate

D. L. Usenko, A. H. Kaplaushenko, B. O. Varynskyi

The aim of the work is to justify the composition of a 1 % aqueous solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate for parenteral use.

Materials and methods. The osmolality study of a 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate was conducted using the cryoscopic method according to the State Pharmacopoeia of Ukraine (2.2.35). The calculations were based on measuring the depression of the crystallization temperature of the 1 % solution of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate, 0.9 % NaCl solution, and high-purity water (Q₃). The measurements of crystallization temperature were performed using a Beckman TL-1 thermometer, which allows for research with high precision up to ± 0.005 °C, making it valuable and most effective for studying isotonic concentration.

Results. Temperature measurements of the crystallization of a 1 % solution under investigation, a 0.9 % NaCl solution, and high-quality purified water were conducted. Calculations of isotonic concentration were performed based on the measurement results.

Conclusions. Based on the obtained experimental data on the depression of the crystallization temperature and the calculations, the amount of sodium chloride necessary for the preparation of an isotonic 1 % aqueous solution of AFI sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetate for parenteral use was established.

Keywords: 1,2,4-triazole, active pharmaceutical ingredient, isotonic concentration, osmolality, parenteral dosage form.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):31-34

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/292556>

UDC 544.352.4:547.792]-047.272
DOI: [10.14739/2409-2932.2024.1.292556](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2024.1.292556)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice. 2024;17(1):31-34

Keywords: 1,2,4-triazole, active pharmaceutical ingredient, isotonic concentration, osmolality, parenteral dosage form.

*E-mail: usenko.d.l@ukr.net

Received: 06.12.2023 // Revised: 26.12.2023 // Accepted: 15.01.2024

Похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону мають різноманітні біологічні властивості. Це обґрунтовує значний науковий інтерес дослідників, які займаються пошуком нових біологічно активних сполук [1,2,3].

Натрій 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат є активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) з експериментально доведеною акто- та стрес-протекторною дією [4]. Раніше здійснили дослідження, де вивчали закономірності утримування АФІ, а також технологічних домішок, як-от 2-(тіофен-2-іл)ацетогідразид, калій 2-(2-(тіофен-2-іл)ацетил)гідразин-1-карбодіонат і 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-тріазол-3-тіон в умовах обернено-фазової хроматографії. Особливу увагу під час цього дослідження приділяли вивченню впливу складу елюенту на характеристики утримування. Крім того, здійснено дослідження термодинамічних функцій хроматографічного утримання АФІ та його домішок, де вдалося теоретично і практично розглянути термодинамічний процес перенесення названих речовин із рухомої фази в стаціонарну та вивчити залежність утримання сполук від температури [5].

Визначення осмоляльності розчинів АФІ – один із ключових етапів під час дослідження та розроблення лікарських форм для парентерального введення. Це важливе завдання забезпечує не лише якісний аналіз медичних засобів, але й гарантує їхню ефективність і безпеку для пацієнтів. Правильно встановлена ізотонічна концентрація є необхідним критерієм під час створення лікарських форм внутрішньовенного та внутрішньом'язового введення тощо.

Для парентерального застосування розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату повинен мати склад, що за показником осмотичного тиску максимально наближений до складу плазми крові та є ізотонічним. Тому визначення ізотонічної концентрації, розроблення умов і технології приготування мають важливе теоретичне і практичне значення для подальшого дослідження, реєстрації та застосування препарату.

Проаналізувавши джерела фахової літератури, що присвячена визначенню ізотонічної концентрації АФІ [6,7,8,9], встановили: під час такого дослідження використовують різні методи й підходи, але всі вони передбачають застосування високоточних технік і сучасних технологій. Зазвичай методи передбачають дослідження різних хімічних і фізичних процесів: хроматографії, спектроскопії та спектрофотометрії. Найбільш доступними і точними є методики, що засновані на вимірюванні депресії температури плавлення та передбачають використання термометра Бекмана (відхилення отриманих даних щодо температури відповідає $\pm 0,005$ °C). У таких експериментах термометр Бекмана використовують для вимірювання температури кристалізації досліджуваних розчинів. Потім, ґрунтуючись на результатах вимірювання, розраховують ізотонічні концентрації. Зазначимо, що Державна фармакопея

України (2.2.35) [10] рекомендує використання саме криоскопічного методу.

Наведені дослідження відіграють ключову роль у фармацевтичній індустрії, допомагаючи визначити оптимальні концентрації електроліту, що забезпечує ізотонічність за умови попередньо визначеної терапевтичної ефективності АФІ.

Мета роботи

Обґрунтувати склад 1 % водного розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування.

Матеріали і методи дослідження

Температури вимірювали згідно з вимогами, що наведені в Державній фармакопеї України (2.2.35), за допомогою термометра Бекмана ТЛ-1, який є метрологічно повіреним і дає змогу здійснювати дослідження з високою точністю (похибка до $\pm 0,005$ °C). За допомогою термометра Бекмана ТЛ-1 реєструють депресію температури плавлення досліджуваного розчину АФІ, ізотонічного розчину натрію хлориду та води високого ступеня очистки (Q_3) за допомогою шкали температури.

Виготовлення розчинів. Розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату встановили з концентрацією 1 % (попередньо встановлена ефективна концентрація [1]) у воді високої чистоти Q_3 .

Реактиви. Натрій 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат синтезовано на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету. Кількісний вміст основної речовини визначено методом високоефективної рідинної хроматографії, застосували робочий фармацевтичний зразок; методика є запатентованою [11] (пріоритет належить Запорізькому державному медико-фармацевтичному університету).

Для виготовлення води високої чистоти (18 М Ω , 25 °C) використали систему Direct Q 3UV (Millipore, Мольсайд, Франція). Під час досліджень використовували розчин натрію хлориду 0,9 % 100 мл (Labesfal, Португалія, серія № 18T2102).

Результати

Осмоляльність – показник, що дає змогу оцінити сумарний внесок різних розчинених інгредієнтів в осмотичний тиск розчину. Одиницею осмоляльності є осмоль на кілограм розчинника (осмоль/кг), але на практиці зазвичай використовують міліосмоль на кілограм розчину. Осмоляльність визначають за зниженням температури замерзання розчину. Для визначення ізотонічної концентрації використано криоскопічний метод за Державною фармакопеєю України (2.2.35).

Для цього дослідження встановили 1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату та 0,9 % розчин натрію хлориду. Депресію

Таблиця 1. Температура кристалізації води, 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату

| Температура кристалізації (за термометром Бекмана) | | | |
|--|------|-----------------------------|---|
| № | Вода | 0,9 % розчин натрію хлориду | 1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату |
| 1 | 5,10 | 4,55 | 4,93 |
| 2 | 5,10 | 4,53 | 4,91 |
| 3 | 5,10 | 4,54 | 4,92 |
| 4 | 5,09 | 4,50 | 4,93 |
| 5 | 5,12 | 4,49 | 4,90 |
| 6 | 5,11 | 4,57 | 4,92 |
| 7 | 5,10 | 4,54 | 4,87 |
| 8 | 5,08 | 4,58 | 4,90 |
| 9 | 5,12 | 4,54 | 4,87 |
| 10 | 5,10 | 4,50 | 4,91 |
| \bar{x} | 5,10 | 4,53 | 4,91 |

температури замерзання цих розчинів порівняно з температурою замерзання води очищеної Q_3 виміряли за допомогою термометра Бекмана, який здатний реєструвати навіть незначні зміни температури за допомогою умовної шкали.

Результати визначення температури замерзання води очищеної Q_3 , 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату наведено в таблиці 1. Реєстрували температуру утворення перших кристалів, не допускаючи повного замерзання рідин.

Середнє значення температури кристалізації для води очищеної Q_3 , 0,9 % розчину натрію хлориду та 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату наведено, враховуючи статистичний t-критерій Стьюдента, $n = 10$.

Депресія температури кристалізації 0,9 % розчину натрію хлориду щодо води очищеної Q_3 дорівнює $0,57^\circ\text{C}$, а 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату щодо відповідного показника для води очищеної Q_3 становить $0,19^\circ\text{C}$. Здійснили розрахунки, встановили, що ізотонічна концентрація розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату дорівнює:

$$C (\%) = (0,57 \times 1,0) / 0,19 = 3,0.$$

Отже, 3,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату формують ізотонічну концентрацію в 100 мл розчину.

Відповідно, потрібно встановити кількість натрію хлориду, необхідного для ізотонування 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату. Визначили, що 3,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату відповідають 0,9 г натрію хлориду (у 100 мл розчину),

а 1,0 г натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату – X г натрію хлориду:

$$X (\text{г}) = (0,9 \times 1,0) / 3,0 = 0,3.$$

Обговорення

Отже, кількість натрію хлориду, необхідна для ізотонування 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату становить: $0,9 \text{ г} - 0,3 \text{ г} = 0,6 \text{ г}$ натрію хлориду на 100 мл 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату.

Відповідна кількість натрію хлориду дає змогу зробити 1 % розчин натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату ізотонічним і за показником осмотичного тиску максимально наближеним до складу плазми крові.

Висновки

Згідно з експериментальними даними, для отримання ізотонічного 1 % розчину натрію 2-((4-аміно-5-тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетату для парентерального застосування необхідно взяти 1 г АФІ, 0,6 г натрію хлориду на 100 мл води очищеної.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest.

Відомості про авторів:

Усенко Д. Л., аспірант каф. фізіологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0001-7593-5482

Каплаушенко А. Г., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. фізіологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

ORCID ID: 0000-0003-3704-5539

Варинський Б. О., д-р фарм. наук, доцент каф. фізколоїдної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна. ORCID ID: 0000-0002-1551-8879

Information about authors:

Usenko D. L., PhD-student of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Kaplaushenko A. H., PhD, DSc, Head of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

Varynskyi B. O., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Physical and Colloidal Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

References

1. Safonov AA. [Synthesis, transformation, physicochemical and biological properties of 1,2,4-triazole derivatives, which form a thiophen-2-ylmethyl substituent] [dissertation] doctor of pharmaceutical sciences. Zaporizhzhia, (UA): Zaporizhzhia State Medical University; 2023. Ukrainian.
2. Usenko D, Varynskyi B, Kaplaushenko A. Thermodynamic Functions of Chromatographic Retention of Sodium 2-((4-Amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate and its Impurities. *Pharmakeftiki*. 2023;35(2):32-41. Available from: https://www.hsmc.gr/wp-content/uploads/2015/12/farmakeftiki_2_2023.pdf
3. Scatchard G, Hamer WJ, Wood SE. Isotonic Solutions. I. The Chemical Potential of Water in Aqueous Solutions of Sodium Chloride, Potassium Chloride, Sulfuric Acid, Sucrose, Urea and Glycerol at 25°. *J Am Chem Soc*. 1938;60(12):3061-70. doi: 10.1021/ja01279a066
4. Scatchard G, Breckenridge RC. Isotonic solutions. II. The chemical potential of water in aqueous solutions of potassium and sodium phosphates and arsenates at 25°. *J Phys Chem*, 1954;58(8):596-602. doi: 10.1021/j150518a005
5. Cadwallader de Jr, Husa WJ. Isotonic solutions. VI. The permeability of red corpuscles to various salts of organic acids. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1958;47(10):705-11. doi: 10.1002/jps.3030471008
6. Goyan FM, Reck D. A study of thermoelectric methods for determining isotonicity. *J Am Pharm Assoc Am Pharm Assoc*. 1955;44(1):43-7. doi: 10.1002/jps.3030440117
7. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy [The State Pharmacopoeia of Ukraine]. Kharkiv, (UA): State Enterprise Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center of Medicines Quality; 2001. Ukrainian.
8. Usenko DL, Safonov AA, Varynskyi BO, Kaplaushenko AH, inventors; Zaporizhzhia State Medical University, assignee. [Method for quantitative determination of sodium 2-((4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate]. Ukrainian patent UA 127442. 2021 Aug 9.
9. Varynskyi B, Kaplaushenko A. Metabolism study of morpholinium 2-((4-(2-methoxyphenyl)-5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio) acetate. *current issues in pharmacy and medical sciences*. 2020;33(2):72-5. doi: 10.2478/cipms-2020-0014
10. Varynsky BO, Parchenko VV, Knysh EH, Panasenko OY, Kaplaushenko AH. Development and validation method for determination of the active ingredient of the drug "a vesstym" in the poultry eggs. *Azerbaijan pharmaceutical and pharmacotherapy journal*. 2017;17(2):10-7.
11. Shcherbyna R, Parchenko V, Varynskyi B, Kaplaushenko A. The development of HPLC-DAD method for determination of active pharmaceutical ingredient in the potassium 2-((4-amino-5-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetate substance. *Current issues in pharmacy and medical sciences*. 2019;32(1):5-9. doi: 10.2478/cipms-2019-0001