



## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

Научная статья

УДК 615.07:543.544: 519.876

doi: 10.17308/sorpchrom.2024.24/12128

### Изучение стабильности биологически активного соединения N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина с использованием электрофореза и масс-спектрометрии

Дарья Николаевна Луценко<sup>1</sup>, Евгения Владимировна Компанцева<sup>1✉</sup>,  
Алексей Сергеевич Чиряпкин<sup>1</sup>, Екатерина Робертовна Гарсия<sup>1</sup>,  
Александр Александрович Озеров<sup>2</sup>, Алексей Иванович Сливкин<sup>3</sup>,  
Владимир Федорович Селеменев<sup>3</sup>, Хидмет Сафарович Шихалиев<sup>3</sup>,  
Иван Панайотович Кодониди<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия, dskompanceva@mail.ru✉

<sup>2</sup>Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, Волгоград, Россия

<sup>3</sup>Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Аннотация.** На базе центра инновационных отечественных лекарственных препаратов «Волгоградского государственного медицинского университета» сконструирован и синтезирован ряд пиримидиновых производных гуанидина для исследования их в качестве перспективных ингибиторов натрий-водородного обмена типа 1 (NHE-1), которые полезны для снижения поражения ткани при ишемии. Наиболее фармакологически ценным соединением оказался N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина (VMA-13-15). При создании нормативной документации для нового лекарственного средства одним из критериев качества является показатель «Родственные примеси», которыми могут быть технологические примеси и продукты деструкции действующего вещества. Целью исследования является изучение стабильности биологически активного соединения N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина. Определение предполагаемых продуктов деградации проводили методом стрессовых испытаний, используя методы капиллярного электрофореза и масс-спектрологии. Изучение молекулы исследуемого VMA-13-15 и использование компьютерных технологий позволили спрогнозировать возможные процессы деструкции, среди которых наиболее вероятной может быть реакция гидролиза при термостатировании раствора исследуемого соединения в щелочной среде. In silico оптимизация геометрии рассматриваемых структур проводилась с использованием метода молекулярной механики MM+ в программе HyperChem 8.0.9. Итоговая пространственная оптимизация геометрии моделируемых молекул осуществлялась методом теории функционала плотности *ub3lyp* с базисным набором 6-311G\*\*. Результирующий колебательный анализ термодинамических характеристик проводился в программе Orca, которая позволила получить значения энтальпий и энтропий для изучаемых соединений. Методом капиллярного электрофореза проведен анализ продуктов деградации водного раствора исследуемого вещества посредством «стресс-тестов», которыми изучалось влияние термического воздействия на VMA-13-15 в присутствии 0.1M раствора кислоты хлористоводородной и 0.1M раствора натрия гидроксида. Установлено, что наибольшее влияние на стабильность N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина оказывает щелочная среда, что и следовало из результатов вычислительного эксперимента. Изучен масс-спектр обнаруженного при термостатировании в щелочной среде продукта деградации. По совпадению молярной массы и времени выхода было подтверждено, что примесь на хроматограммах VMA-13-15 является незамещенным хиназолин-4(3H)-оном – исходным продуктом синтеза.

**Ключевые слова:** N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин, компьютерное моделирование, термодинамические расчеты, продукты деградации, капиллярный электрофорез, стресс-испытания, масс-спектрология.

**Для цитирования:** Луценко Д.Н., Компанцева Е.В., Чиряпкин А.С., Гарсия Е.Р., Озеров А.А., Сливкин А.И., Селеменев В.Ф., Шихалиев Х.С., Кодониди И.П. Изучение стабильности биологически активного соединения N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина с использованием электрофореза



Original article

## Study of the stability of the biologically active compound N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine using electrophoresis and mass spectrometry

Daria N. Lutsenko<sup>1</sup>, Eugenia V. Kompantseva<sup>1</sup>✉, Alexey S. Chiriapkin<sup>1</sup>,  
Ekaterina R. Garsiya<sup>1</sup>, Alexander A. Ozerov<sup>2</sup>, Alexey I. Slivkin<sup>3</sup>,  
Vladimir F. Selemenev<sup>3</sup>, Khidmet S. Shikhaliev<sup>3</sup>, Ivan P. Kodonidi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia, [dskompanceva@mail.ru](mailto:dskompanceva@mail.ru) ✉

<sup>2</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

<sup>3</sup>Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

**Abstract.** At the Scientific Centre of Innovative Medicines of Volgograd State Medical University, a number of pyrimidine derivatives of guanidine were designed and synthesised to study them as promising inhibitors of sodium-hydrogen exchanger isoform 1 (NHE-1), which can reduce tissue damage during ischemia. N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine (VMA-13-15) proved to be the most pharmacologically valuable compound. When preparing regulatory documentation for a new medicine, one of the quality criteria is the amount of related impurities. They can be technological impurities and degradation products of the active substance. The aim of the research was to study the stability of the biologically active compound N-[2-[4-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine. Anticipated degradation products were determined by stress testing, using capillary electrophoresis and mass spectroscopy. The study of the molecule of VMA-13-15 and the use of computer technologies allowed us to predict possible degradation processes. Among them, the most likely to occur is the hydrolysis reaction during thermostating of the solution of the studied compound in an alkaline medium. In silico optimisation of the geometry of the studied structures was carried out by the MM+ molecular mechanics method using HyperChem 8.0.9. The final spatial optimisation of the geometry of the modelled molecules was carried out by the density functional theory method ub3lyp with 6-311G\*\* basis sets. The resulting vibrational analysis of thermodynamic characteristics was carried out in Orca, which allowed us to obtain enthalpy and entropy values for the studied compounds. By capillary electrophoresis, the degradation products of an aqueous solution of the studied substance were analysed by stress tests. They were used to study the effect of thermal treatment on VMA-13-15 in the presence of 0.1 M hydrochloric acid solution and 0.1 M sodium hydroxide solution. We found that the alkaline environment had the greatest effect on the stability of N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine. It was consistent with the results of the computational experiment. We studied the mass spectrum of the degradation product detected during thermostatic treatment in alkaline medium. Based on its molar mass and release time, it was confirmed that the impurity on the chromatograms of VMA-13-15 is unsubstituted quinazolin-4(3H)-one, the initial product of the synthesis.

**Keywords:** N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine, computer modelling, thermodynamic calculations, degradation products, capillary electrophoresis, stress testing, mass spectroscopy.

**For citation:** Lutsenko D.N., Kompantseva E.V., Chiriapkin A.S., Garsiya E.R., Ozerov A.A., Slivkin A.I., Selemenev V.F., Shikhaliev Kh.S., Kodonidi I.P. Study of the stability of the biologically active compound N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine using electrophoresis and mass spectrometry. *Sorbtionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2024. 24(2): 257-267. (In Russ.). <https://doi.org/10.17308/sorpchrom.2024.24/12128>

### Введение

Актуальной медицинской проблемой является терапия сердечно-сосудистых заболеваний, решение которой, в частности, связано с разработкой новых современных кардиопротекторов. В настоящее

время перспективной группой биологически активных соединений (БАС) с потенциальными кардиопротекторными свойствами могут быть пиримидиновые производные гуанидина. В связи с этим на кафедре фармацевтической и токсикологической химии и в лаборатории син-



теза научного центра инновационных лекарственных средств ВолгГМУ сконструирован и целенаправленно синтезирован ряд пиримидиновых производных гуанидина для исследования их в качестве возможных ингибиторов натрий-водородного обмена 1-го типа (NHE-1) [1-4]. По данным фармакологического скрининга среди синтезированных пиримидиновых производных гуанидина перспективным соединением может быть N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидин (VMA-13-15) [5]. При создании нормативной документации для нового лекарственного средства одним из критериев качества является показатель «Родственные примеси», которыми могут быть технологические реагенты и продукты деструкции действующего вещества [6]. В связи с этим, необходимо получение данных об изменении качества будущего лекарственного средства при его хранении под влиянием различных факторов окружающей среды, которые могут оказать воздействие на его качество, безопасность и/или эффективность [7]. Таким образом, анализ продуктов деградации и технологических примесей представляет собой актуальную задачу в фармацевтическом анализе. Целью исследования является изучение стабильности перспективного биологически активного соединения – N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина.

### Экспериментальная часть

**In silico** исследования. Оптимизация геометрии рассматриваемых виртуальных структур проводилась с использованием метода молекулярной механики MM+ в программе Nucleon 8.0.9 [8]. Далее расчеты осуществлялись неограниченным методом Хартри-Фока в базисе 3-21G\*, а для завершающей пространственной оптимизации геометрии молекул был использован метод теории функционала плотности  $ub3lyp$  [9] с базисным набором 6-311G\*\* [10]. Результирующий

колебательный анализ термодинамических характеристик проводился в программе Orca [11].

Моделирование термодинамических характеристик позволило получить значения энтальпий (H) и энтропий (S) для изучаемых соединений. Далее по этим данным для каждой рассматриваемой реакции согласно следствию закона Гесса был произведен расчет значения энтальпии реакции ( $\Delta H$ ) по формуле  $\Delta H = \sum \Delta H_{\text{(продукты реакции)}} - \sum \Delta H_{\text{(исходных веществ)}}$ . Также было рассчитано значение энтропии реакции ( $\Delta S$ ) по формуле  $\Delta S = \sum \Delta S_{\text{(продукты реакции)}} - \sum \Delta S_{\text{(исходных веществ)}}$ .

Вычисления энергии Гиббса реакции ( $\Delta G$ ) производилось по формуле  $\Delta G = \Delta H - \Delta S \cdot T$ , где значение температуры (T) принимали за 273 градуса Кельвина [9]. Константу равновесия реакции (K) рассчитывали по формуле  $K = \exp \frac{-\Delta G}{RT}$ , где  $\Delta G$  – энергия Гиббса реакции; T – температура при 273 градусах Кельвина; R – универсальная газовая постоянная, равная  $8.31 \cdot 10^{-3}$  кДж/(моль×К) [12, 13].

**Фармацевтические исследования.** Получение предполагаемых продуктов деградации проводили методом стрессовых испытаний [7]. Для этого готовили растворы по методике: 0.01 г (точная навеска) образца N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина помещали в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, добавляли 30 см<sup>3</sup> воды очищенной, взбалтывали до полного растворения и доводили этим же растворителем до метки (раствор А). К 2.5 см<sup>3</sup> раствора А прибавляли равные объемы воды или 0.1 М раствора кислоты хлористоводородной или 0.1 М натрия гидроксида, перемешивали и помещали в термостат при температуре 60°C. По окончании процесса термостатирования (через 5, 10 и 15 часов соответственно) растворы охлаждали, далее при помощи микропипетки отбирали 1000 мкл, переносили в пробирки типа Эппендорф и центрифугировали при 12000 мин<sup>-1</sup> в течение 5 мин. Полученные растворы

декантировали и подвергали анализу с использованием капиллярного электрофореза, методика которого описана в ранее опубликованной нами работе [14].

ВЭЖХ-МС анализ проводили при помощи хроматографа Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, США). Использовали колонку Phenomenex Luna C18/2 (5 мкм, 150x4.6 мм, Phenomenex, США). Подвижная фаза представляла собой смесь ацетонитрила и 0.5% муравьиной кислоты в соотношениях 20:80. Скорость потока составила 0.5 см<sup>3</sup>/мин, объем пробы 20 мкл. МС-детектирование осуществляли методом ионизации электрораспылением (ESI) с использованием спектрометра Bruker Amazon SL (Bruker, США). Масс-спектр регистрировали в режиме положительной ионизации в диапазоне 50-300 m/z. Напряжение на капилляре 4.5 кВ, температура интерфейса 250°C, скорость газа-осушителя 10 дм<sup>3</sup>/мин, газ ионной ловушки – гелий (давление 30 psi). Для анализа использовался раствор БАС (раствор А), смешанный с 0.1 М раствором натрия гидроксида после термостатирования в течении 10 часов.

### Обсуждение результатов

Изучение молекулы исследуемого БАС с использованием компьютерных технологий позволило предположить возможные процессы деструкции (рис.1-4).

Очевидно, что соединение VMA-13-15 устойчиво в кислой среде. При невысоких значениях температур оно образует дизамещенную соль. На рис.1 приведена реакция образования соли дигидрохлорида на примере взаимодействия VMA-13-15 с хлористоводородной кислотой. Так как хлористоводородная кислота является сильной, то согласно протеолитической теории Бренстеда, она существует в водной среде в виде аниона хлора и гидроксония [12], который и участвует в протонировании соединения VMA-13-15.

При длительном воздействии кислой среды и повышении температуры проис-

ходит реакция гидролиза с участием хлористоводородной кислоты в протонировании продуктов гидролиза с образованием солей (рис. 2).

В слабо щелочной среде (реакция III) прогнозируется, что соединение также подвергается гидролизу с образованием соли (рис. 3). Кроме того, известно, что производные гуанидина могут в щелочной среде конденсироваться до производного бигуанида (реакция VI). Примеры предполагаемого радикального окисления VMA-13-15 приведены на рис. 4.

Для расчета значения энтальпии и энтропии для рассматриваемых вариантов деструкции соединения VMA-13-15 (реакции I-VI, рис.1-4), использовали данные *in silico* моделирования. Результаты, приведенные в табл. 1, свидетельствуют, что все реакции, кроме IV, являются экзотермическими.

С целью выяснения возможности протекания изучаемых реакций была рассчитана энергия Гиббса ( $\Delta G$ ) с использованием приведенных значений энтальпии и энтропии для реакций при нормальных условиях (табл. 1). В случае, если энергия Гиббса реакции меньше нуля, то можно говорить о возможности протекания химического взаимодействия между участниками химического процесса. Из данных, приведенных в табл. 1, следует, что экспериментально осуществима деструкция соединения VMA-13-15 по всем предполагаемым реакциям кроме IV. Реакция разложения VMA-13-15 в щелочной среде с конденсацией двух молекул VMA-13-15 до производного бигуанида в предложенном стехиометрическом виде невозможна. Наиболее легко протекаемой является реакция III –  $\Delta G = -354.967$  кДж/моль. В результате квантово-химических расчетов подтверждается предположение о наличии у соединения VMA-13-15 антирадикальной активности за счет наличия в  $\alpha$ -положении пропионо-

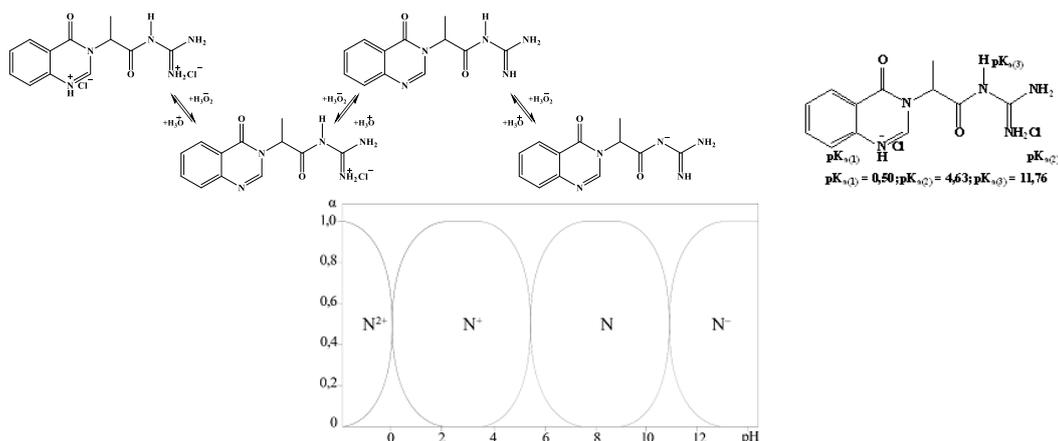


Рис. 1. Схема образования дизаминозамещенной соли соединения VMA-13-15 в слабо-кислой среде (I)

Fig. 1. Scheme of the formation of the dizamino-substituted salt of VMA-13-15 in weakly acidic medium (I)

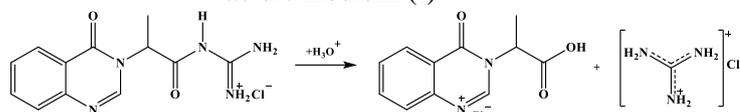


Рис. 2. Схема гидролиза соединения VMA-13-15 в сильнокислой среде (II)

Fig. 2. Scheme of hydrolysis of the compound VMA-13-15 in a strongly acidic medium (II)

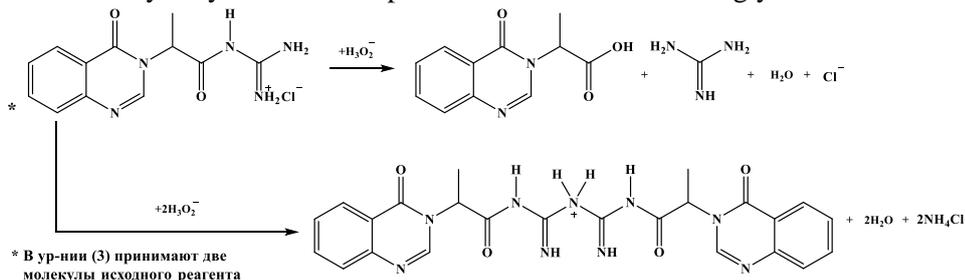


Рис.3. Схема гидролиза (III) и конденсации (IV) соединения VMA-13-15 в слабо и сильнощелочной среде

Fig. 3. Scheme of hydrolysis (III) and condensation (IV) of the VMA-13-15 compound in a weakly and strongly alkaline medium

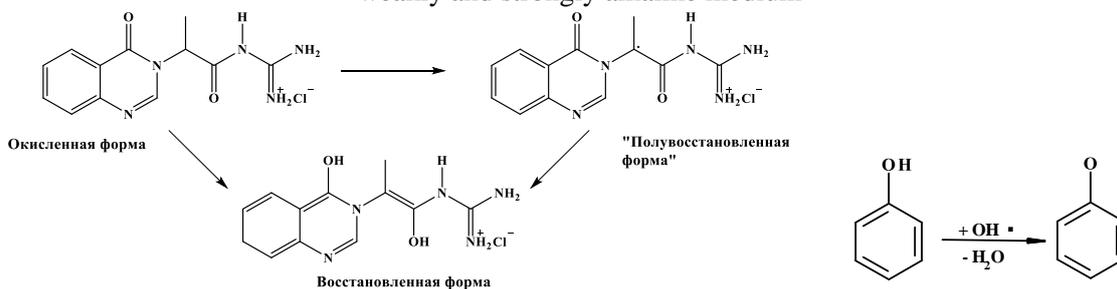


Рис. 4. Схемы радикального окисления соединения VMA-13-15 (V) и фенола (VI)

Fig. 4. Schemes of radical oxidation of the compound VMA-13-15 (V) and phenol (VI)

вого фрагмента. Для сопоставления предполагаемой выраженности антирадикальных свойств соединения VMA-13-15 рассмотрена реакция антирадикальной активности на примере фенола (реакция

VI). Очевидно, что соединения без гидроксильного заместителя уступает фенолу почти в два раза по возможной антирадикальной активности.

Полноту протекания предложенных реакций деструкции соединения VMA-

Таблица 1. Значения энтальпии, энтропии, энергии Гиббса и константы равновесия моделируемых реакций при нормальных условиях для предложенных реакций деструкции (рис. 1-4)

Table 1. Enthalpy, entropy, Gibbs energy, and equilibrium constants of modelled reactions under normal conditions for the proposed degradation reactions (Fig. 1-4)

Номер реакции	Энтальпия $\Delta H$ , кДж/моль	Энтропия $\Delta S$ , кДж/моль·К	Энергия Гиббса ( $\Delta G$ ), кДж/моль	Константа равновесия (K)
I	-148.078	-0.05	-146.74	$1.23 \cdot 10^{28}$
II	-201.639	0.041	-212.941	$5.81 \cdot 10^{40}$
III	-354.967	-0.269	-281.503	$7.75 \cdot 10^{53}$
IV	24.417	-0.013	27.966	$4.43 \cdot 10^{-6}$
V	-69.839	-0.012	-66.7	$5.87 \cdot 10^{12}$
VI	-120.51	0.017	-125.233	$9.41 \cdot 10^{23}$

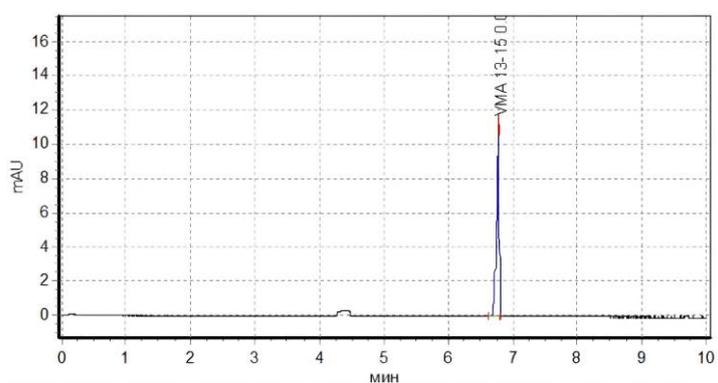


Рис. 5. Электрофореграмма водного раствора N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина после термостатирования в течении 15 часов

Fig. 5. Electropherogram of aqueous solution of N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine after thermostating for 15 hours

13-15 определяют также по значению константы равновесия (K) при нормальных условиях (табл. 1). При высоких значениях константы равновесия химическое равновесие смещено в сторону продуктов реакции, а при малых - в обратную сторону. Таким образом, наиболее полно протекает реакция образования кислоты соединения VMA-13-15 в щелочной среде – реакция III. Химическое равновесие реакции IV смещено в сторону исходных соединений реакции, что согласуется с полученным значением энергии Гиббса.

Для оценки химической стабильности соединения VMA-13-15 были проведены стрессовые испытания с целью выявления процесса деградации и установления продуктов разложения потенциального лекарственного средства [11]. В связи с тем, что соединения VMA-13 можно отнести к классу амидов, оно, как показали

результаты компьютерного прогноза, подвергается гидролитическому расщеплению. Чаще всего этот процесс катализируют ионы гидроксония и гидроксид-ионы [15].

Возможные продукты деструкции из предложенных нами реакций изучались методом капиллярного электрофореза. Для проведения анализа использовали водный раствор БАС. Первым на процесс деградации было исследовано влияние температуры. Водный раствор VMA-13-15 выдерживали в термостате при температуре 60°C. Анализ раствора проводили через 5, 10 и 15 часов термического воздействия (рис.5), по ранее описанной методике [14, 16]. Из представленной электрофореграммы (рис. 5) следует, что при термическом воздействии на водный раствор БАС в течение 15 часов не наблюдается появление дополнительных

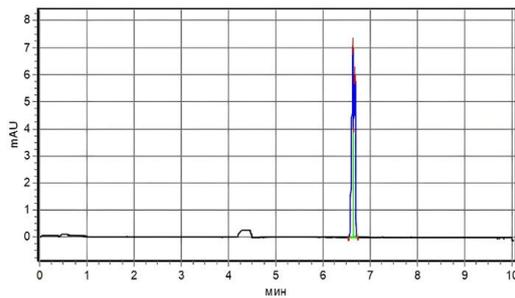


Рис. 6. Электрофореграмма водного раствора N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина с 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной через 10 часов термического воздействия

Fig. 6. Electropherogram of aqueous solution of N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine with 0.1 M hydrochloric acid solution after 10 hours of thermal treatment

пиков, относящихся к продуктам де- струкции VMA-13-15.

При воздействии на БАС кислоты хлористоводородной 0.1 М раствора через 10 часов термостатирования на электрофореграмме при времени миграции в интервале от 6.58 до 6.62 мин наблюдается появление неразделенного пика VMA-13-15 (рис. 6).

При изучении электрофореграмм водного раствора БАС с раствором натрия гидроксида при термическом воздействии следует, что через 5 часов появился пик со временем удерживания 4.46. Через 10 часов, кроме основного пика со временем миграции 6.72 и пика со временем миграции 4.44, появились дополнительные пики со временем миграции 8.1 и 9.6 мин. (рис.7). Через 15 часов термостатирования наблюдали появление четырех не идентифицированных пиков со временем миграции 4.49, 8.23, 8.40 и 9.94 мин. Таким образом, при использовании стресс тестов наибольшее влияние на процесс деградации БАС в водном растворе оказывает щелочная реакция среды. Эти данные подтверждают результаты прогнозирования возможных путей разложения исследуемого соединения с помощью компьютерных технологий, в которых отмечено, что наиболее легко и

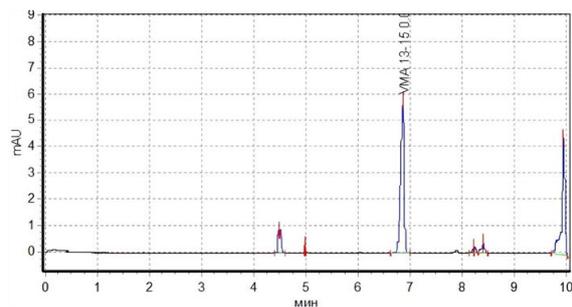


Рис. 7. Электрофореграмма водного раствора N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина с натрия гидроксида 0,1 М раствором через 10 часов термического воздействия

Fig. 7. Electropherogram of aqueous solution of N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine with 0.1 M sodium hydroxide solution after 10 hours of thermal treatment

полно может протекать реакция в щелочной среде – реакция III (наибольшее значение энергии Гиббса).

При изучении возможных родственных примесей исследуемого БАС методом капиллярного электрофореза в одном из лабораторных образцов были обнаружены следовые количества соединения со временем миграции пика 4.52 мин, который оказался идентичным по времени миграции исходному веществу синтеза VMA-13-15 – незамещенного хиназолин-4(3H)-она (рис. 8, VMA-10-18) [16].

Аналогичный пик был обнаружен нами уже после 5 часов термостатирования при использовании щелочной среды в стрессовых испытаниях. Как следует из представленной схемы деградации VMA-13-15 (рис. 3), данный пик можно отнести к 2-[хиназолин-3(4H)-ил]пропионовой кислоте или дальнейшему предполагаемому продукту деградации – незамещенного хиназолин-4(3H)-она. Его присутствие можно отнести как продукту деградации, так и к технологической примеси (исходное вещество, используемое для синтеза БАС) [6]. В связи с этим представляет интерес проведение идентификации возможного продукта деградации, который может появляться в БАС в первую очередь.

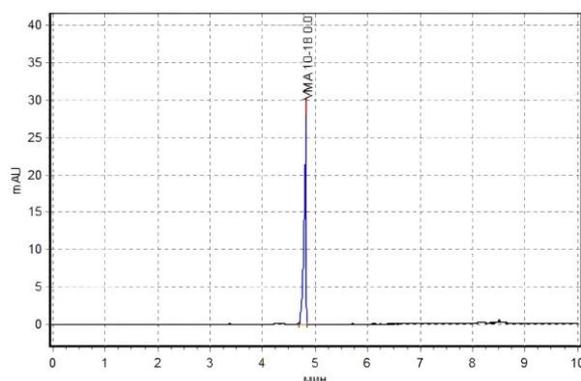


Рис. 8. Электрофореграмма раствора незамещенного хиназолин-4(3H)-она  
Fig. 8. Electrophoregram of a solution of unsubstituted quinazolin-4(3H)-one

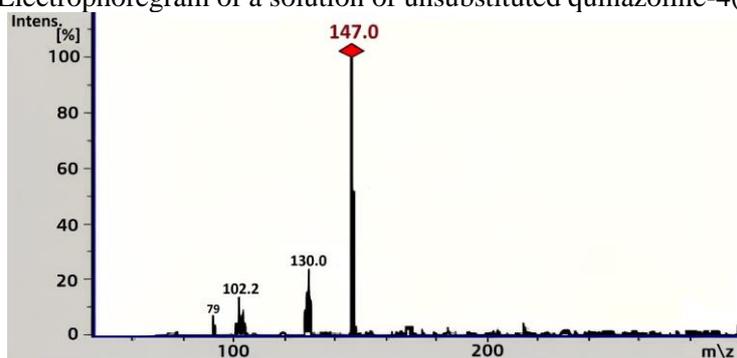


Рис. 9. Масс-спектр предполагаемой примеси незамещенного хиназолин-4(3H)-она  
(Характеристичные m/z (интенсивность): 147(100),130(25),102(18),79(8))

Fig. 9. Mass spectrum of the anticipated impurity of unsubstituted quinazolin-4(3H)-one  
(characteristic m/z (intensity): 147(100),130(25),102(18),79(8))

Для подтверждения структуры примеси проводили анализ с помощью метода ВЭЖХ-МС. Идентификацию незамещенного хиназолин-4(3H)-она подтверждали по значениям времени удерживания и данным pubchem.ncbi.nlm.nih.gov [17, 18] Обработку первичных данных проводили в программе CompassDataAnalysis.

В результате совпадения времени удерживания (4.46 мин) и характеристикам масс-спектра (М.м 147) (рис. 9) продукт деградации, образующийся при термостатировании в щелочной среде, был идентифицирован как незамещенный хинолин-4(3H)-он (М.м 146.146).

Параллельно были проверены лабораторные образцы N-[2-[4-оксо-3(4H)-хинолинил]пропионил]-гуанидина, полученные в 2017, 2019, 2021, 2022 годах на возможность появления примесей при их хранении в хорошо закупоренных склян-

ках темного стекла при комнатной температуре [16]. Как указывалось выше, только в одном образце 2017 года нами был обнаружен дополнительный пик со временем миграции 4.5 мин. Таким образом, можно предположить, что при хранении исследуемого БАС в твердом состоянии он может быть стабилен в течении 3-5 лет. А особое внимание к его стабильности следует обращать при создании лекарственных препаратов в виде растворов с целью обоснования и выбора соответствующего стабилизатора и условий хранения.

### Заключение

С помощью компьютерных технологий спрогнозированы возможные процессы деградации N-[2-[4-оксо-3(4H)-хинолинил]пропионил]-гуанидина и рассчитаны термодинамические характеристики химических реакций. Показано,



что наиболее легко и полно может протекать реакция гидролиза при термостатировании раствора исследуемого соединения в щелочной среде.

Методом капиллярного электрофореза и хромато-масс-спектрометрии проведен анализ деградации водного раствора БАС с помощью «стресс-тестов» путем изучения влияния термического воздействия в присутствии 0.1M растворов кислоты хлористоводородной и натрия гидроксида. Установлено, что наибольшее влияние на стабильность N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина оказывает щелочная среда.

С использованием масс-спектрометрии установлено, что при термостатиро-

вании в щелочной среде образуются продукт деградации (время миграции 4.5 мин). По совпадению молярной массы и времени выхода было подтверждено, что эта примесь на хроматограммах N-[2-[4-оксо-3(4H)-хиназолинил]пропионил]-гуанидина является незамещенным хиназолин-4(3H)-оном – исходным продуктом синтеза БАС.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет известных финансовых конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в этой статье.

### Список литературы/References

1. Gurova N.A., Ozerov A.A., Gurova V.V. Search and study of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger inhibitors among quinazoline derivatives containing a free guanidine group. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 2018; 81(S): 66.

2. Linz W.J., Busch A.E. NHE-1 inhibition: from protection during acute ischaemia/reperfusion to prevention/reversal of myocardial remodelling. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2003; 368(4): 239-246. <https://doi.org/10.1007/s00210-003-08-2>

3. Hu Y., Lou J., Jin Z., Yang X., Shan W., Du Q., Liao Q., Xu J., Xi, R. Advances in research on the regulatory mechanism of NHE1 in tumors (Review). *Oncology Letters*, 2021; 21(4): 273. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.12534>

4. Karmazyn M., Pierce G.N., Fliegel L. The Remaining Conundrum of the Role of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger Isoform 1 (NHE1) in Cardiac Physiology and Pathology: Can It Be Rectified? *Rev. Cardiovasc. Med*, 2022; 23(8): 284. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2308284>.

5. Petrov V.I. [et al]. Patent of the Russian Federation, No. 2622638, 2017. (In Russ.)

6. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. Moscow: Ministry

of Health of the Russian Federation; 2023. OFS.1.1.0023. Related impurities in pharmaceutical substances and medicines. (In Russ.)

7. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. OFS.1.1.0009 Stability and shelf life of medicines. (In Russ.)

8. Teppen B.J. HyperChem, release 2: molecular modeling for the personal computer. *J. Chem. Inf. Comput Sci*, 1992; 32: 757-759.

9. Stephens P.J., Devlin F.J., Chabalowski C.F., Frisch M.J. Ab Initio Calculation of Vibrational Absorption and Circular Dichroism Spectra Using Density Functional Force Fields. *J. Phys*, 1994; 98(45): 11623-11627. <https://doi.org/10.1021/j100096a001>.

10. Minkin V.I., Simkin B.Ya., Minyaev R.M. The structure of molecules. Rostov N/D: Phoenix, 1997. 560 p. (In Russ.)

11. Neese Fr., Wennmohs Fr., Becker Ute, Riplinger Ch. The ORCA quantum chemistry program package. *J. Chem. Phys*, 2020; 152(22): 224108. <https://doi.org/10.1063/5.0004608>

12. Zuev A.Yu., Tsvetkov D.S. Chemical thermodynamics. Yekaterinburg: Ural Publishing House. unita, 2020. 183 p. (In Russ.)

13. Kodonidi I.P., Chiriapkin A.S., Morozov A.V., Smirnova L.P., Ivchenko A.V.,



Zhilina O.M. Synthesis and thermochemical modeling of reaction mechanism for producing N-acyl derivatives of 2-(2-oxo-1-pyrrolidine-1-yl) – acetamide. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol. [Russ. J. Chem. & Chem. Tech.]*. 2020; 63(2): 38-44. <https://doi.org/10.6060/ivkkt.20206302.6080>. (In Russ.)

14. Kompantseva E.V., Lutsenko D.N., Garcia E.R. Determination of biologically active compounds N-[2-[4-oxo-3(4H)-quinazolinyl]propionyl]-guanidine by capillary electrophoresis. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*, 2020; 23(10): 40–45. <https://doi.org/10.29296/25877313-2020-10-06>. (In Russ.)

15. The State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 15th ed. Moscow: Ministry of Health of the Russian Federation; 2023. OFS.1.1.0026 Aspects of drug stability. (In Russ.)

16. 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. <https://doi.org/10.21626/vestnik/2023-2/09> (In Russ.)

17. Kim S., Bolton E.E. PubChem: A Large-Scale Public Chemical Database for Drug Discovery. In Daina A, Przewosny MT, Zoete V, eds. Open Access Databases and Datasets for Drug Discovery. *Methods and Principles in Medicinal Chemistry*, 2023; 83: 41-66. <https://doi.org/10.1002/9783527830497.ch2>

18. Palm E.H., Chirsir P., Krier J., Thiesen P.A., Zhang J., Bolton E.E., Schymanski E.L. ShinyTPs: Curating Transformation Products from Text Mining Results. *Environ Sci Technol Lett*, 2023; 10(10): 865-871. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-xm41h>

### Информация об авторах / Information about the authors

**Д.И. Луценко** – учебный мастер кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия

**Е.В. Компанцева** – д.фарм.н., профессор, профессор кафедры фармацевтической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия

**А.С. Чиряпкин** – преподаватель кафедры фармацевтической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия

**Е.Р. Гарсия** – к.фарм.н., преподаватель кафедры фармакогнозии, ботаники и технологии фитопрепаратов ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолгГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия

**D.I. Lutsenko** – educational master of the department of pharmacology with a course in clinical pharmacology of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: [lucenkodasha95@mail.ru](mailto:lucenkodasha95@mail.ru)

**E.V. Kompantseva** – grand Ph.D (pharmacy), professor, professor of the department of pharmaceutical chemistry of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: [dskompanceva@mail.ru](mailto:dskompanceva@mail.ru)

**A.S. Chiriapkin** – lecturer of the department of pharmaceutical chemistry of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: [alexey.chiriapkin@yandex.ru](mailto:alexey.chiriapkin@yandex.ru)

**E.R. Garsiya** – Ph.D (pharmacy), lecturer of the department of pharmacognosy, botany and technology of phytopreparations of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: [x-pharm@mail.ru](mailto:x-pharm@mail.ru)



**А.А. Озеров** – д.х.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России, Волгоград, Россия, e-mail: ozerov@vlink.ru

**А.И. Сливкин** – д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**В.Ф. Селеменев** – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии, Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

**Х.С. Шихалиев** – д.х.н., профессор, зав. кафедрой органической химии, Воронежский государственный университет, e-mail: shikh1961@yandex.ru

**И.П. Кодониди** – д.фарм.н., доцент, зав. кафедрой фармацевтической химии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО «ВолГМУ» Минздрава России, Пятигорск, Россия

**A.A. Ozerov** – grand Ph.D (chemistry), professor, manager chair of pharmaceutical and toxicological chemistry of Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Volgograd, Russian Federation. E-mail: ozerov@vlink.ru

**A.I. Slivkin** – grand Ph.D (pharmacy), professor, Head of the Department of pharmaceutical chemistry and pharmaceutical technology, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation, e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

**V.F. Selemenev** – grand Ph.D (chemistry), Professor of the Department of Analytical Chemistry, Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

**Kh.S. Shikhaliev** – grand Ph.D (chemistry), Professor, Head of the Department of Organic Chemistry, Voronezh State University, e-mail: shikh1961@yandex.ru

**I.P. Kodonidi** – grand Ph.D (pharmacy), docent, Head of the Department of pharmaceutical chemistry of Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volga State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Pyatigorsk, Russian Federation, e-mail: kodonidiip@mail.ru

*Статья поступила в редакцию 29.02.2024; одобрена после рецензирования 3.04.2024; принята к публикации 17.04.2024.*

*The article was submitted 29.02.2024; approved after reviewing 3.04.2024; accepted for publication 17.04.2024.*