

УДК 543.544

## ПЕРЕСМОТРЕННЫЕ ДАННЫЕ О КИСЛОТНО-ОСНОВНЫХ СВОЙСТВАХ АЛЕНДРОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ВОДЕ И ОРГАНИЗОВАННЫХ РАСТВОРАХ И МЕТОДИКА ПРОСТОГО ТИТРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЛЕНДРОНАТА НАТРИЯ

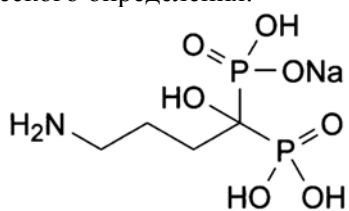
© 2007 Бойченко А.П., Марков В.В., Иващенко А.Л., Спирина Е.Ю., Логинова Л.П.

Получены константы ионизации 4-амино-(1-гидроксибутилиден)дифосфоновой кислоты в водных растворах (0.1 М КСl, 25.0°С) и мицеллярных растворах цетилпиридиний хлорида (0.1 М ЦПХ, 25.0°С). Показано значительное отличие  $pK_{a2}$ , определенного в водных растворах, от значения, полученного в работе Кабачника М.Н. и др. Изв. АН СССР, Сер. хим., 1978, №2, С. 433-437. На основе пересмотренных данных о константах ионизации 4-амино-(1-гидроксибутилиден)дифосфоновой кислоты показана возможность титриметрического определения ее мононатриевой соли (алендроната натрия) в фармацевтических субстанциях.

### 1. Введение

Мононатриевая соль 4-амино-(1-гидроксибутилиден)дифосфоновой кислоты (МК-0217, алендронат натрия) успешно применяется для лечения различных заболеваний костей, таких как остеопороз, болезнь Паджета, метастатические болезни костей и т.д. [1]. Исследование свойств группы фосфоновых кислот начато более 40 лет назад Флейчем, Расселом и Францисом [2,3]. В настоящее время существует огромное количество литературы, посвященной, в основном, изучению действия кислот фосфора на различные процессы в живых организмах, а также их комплексообразующих свойств [4,5], разработке методов их определения в фармацевтических субстанциях, лекарственных препаратах и биологических жидкостях.

На рис. 1 приведена графическая формула алендроната натрия и схема диссоциации 4-амино-(1-гидроксибутилиден)дифосфоновой (алендроновой [6]) кислоты. Разработка методик определения алендроната натрия представляет интересную задачу химического анализа. Для определения алендроната натрия широко используются хроматографические методы, хотя и при этом приходится преодолевать ряд трудностей: 1) в молекуле алендроната натрия отсутствует хромофорная группа, что делает невозможным использование наиболее распространенных хроматографических детекторов – спектрофотометрического или флуоресцентного; 2) алендроновая кислота ионизирована во всем диапазоне рН, пригодном для хроматографических колонок на основе силикагеля, что затрудняет использование обычных колонок для обращено-фазового режима хроматографирования; 3) алендронат натрия недостаточно летуч для газохроматографического определения.



**Рис. 1.** Графическая формула алендроната натрия (мононатриевая соль 4-амино-(1-гидроксибутилиден)дифосфоновой кислоты)

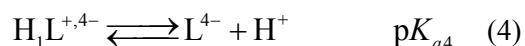
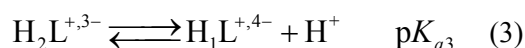
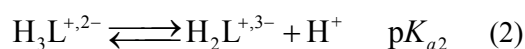
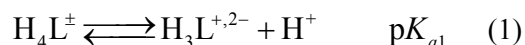


Схема диссоциации алендроновой кислоты

Разработаны методики определения алендроната натрия методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в капсулах, таблетках, субстанциях после предколоночной дериватизации с 9-фторметилхлорформиадом [7]. В работе [8] предложена методика определения алендроната натрия в моче, включающая концентрирование осаждением ионами кальция с последующей автоматической предколоночной дериватизацией с 2,3-нафталин дикарбоксальдегид-цианидным реагентом для получения флуоресцирующей производной. В следующей

работе [9] эта методика была усовершенствована заменой малодоступного цианид-ион на N-ацетил-D-пенициламин, а также использованием электрохимического детектора для регистрации производной. Предколоночную дериватизация с *o*-фталевым альдегидом использовали в хроматографической и спектрофотометрической методике определения алендроната натрия в таблетках и моче [10], дериватизация с 9-фторметилхлорформиатом — для ВЭЖХ определения алендроната в моче [11]. Возможность использования ионной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором для определения алендроната натрия показана в работе [12]. Послеколоночную дериватизацию комплексом  $Al^{3+}$ -морин и детектирование по тушению флуоресценции применили для определения алендроната натрия авторы работы [13]. Различные изотиоционатные производные изучались для разработки методики определения алендроната натрия методом ион-парной хроматографии в работе [14]. Предложена методика определения алендроната методом ионной хроматографии с рефрактометрическим детектором [15]. Аналогичную методику рекомендовано использовать в монографии Британской фармакопеи [16].

Несмотря на значительное количество разработок, определение алендроната натрия требует нестандартного хроматографического оборудования для детектирования, пред- или послеколоночной дериватизации, специальных обращено-фазовых полимерных колонок, устойчивых при рН выше 7 и т.д. В связи с этим возникает необходимость разработки простой и дешевой методики определения алендроната натрия без использования дорогостоящего оборудования и/или реагентов.

Известно, что в мицеллярной среде катионного поверхностно-активного вещества (ПАВ) – цетилпиридиний хлорида (ЦПХ) константы ионизации кислот увеличиваются, причем в разной степени для различных ступеней ионизации. Это может привести к увеличению  $\Delta pK_{2,3}$  алендроновой кислоты, что позволит разработать простую методику определения алендроната натрия методом кислотно-основного титрования. В настоящей работе исследованы протолитические свойства алендроновой кислоты в водных и мицеллярных растворах ЦПХ и обоснована возможность применения кислотно-основного титрования для определения алендроната натрия в фармацевтических субстанциях.

## 2. Экспериментальная часть

### 2.1 Реагенты

Фармакопейный стандарт субстанции алендроната натрия тригидрат был любезно предоставлен АТ «Стома». Стандартный раствор хлороводородной кислоты с концентрацией 0.1 М готовили из стандарт-титра и дополнительно стандартизовали по навескам карбоната натрия. Стандартный, свободный от карбонатов, 0.1 М раствор КОН готовили по методике описанной в работе [17] и стандартизовали по навескам адипиновой кислоты. Рабочие растворы HCl и КОН готовили разбавлением непосредственно перед титрованием. Рабочий раствор тетраэтиламмоний гидроксида готовили из 10 % раствора  $(C_2H_5)_4NOH$ . В качестве фонового электролита использовали KCl «чда» (Донецкий завод химреактивов, перефасовано НПФ «Синбиас»). В качестве катионного поверхностно-активного вещества использовался цетилпиридиний хлорид моногидрат (Merck, Германия).

### 2.2 Аппаратура и условия потенциометрического титрования

Потенциометрические титрования выполнены при температуре  $25.0 \pm 0.1$  °С в ячейке с жидкостным соединением в виде агар-агарового мостика (3 % по массе агар-агара в 2.5 М растворе KCl), стеклянным электродом ЭСЛ-63-07 и электродом сравнения ЭВЛ-1М3. рН-метрическую ячейку градуировали по стандартным буферным растворам с рН 1.68, 3.56 или 3.56, 6.86, 9.18 в зависимости от значений рН при кислотно-основном титровании. Электро-движущую силу (э.д.с.) измеряли по компенсационной схеме (потенциометр Р-307, нуль-инструмент рН-метр рН 121) с погрешностью не выше 0.2 мВ.

Концентрация алендроната натрия в титруемых растворах составляла  $5 \cdot 10^{-3}$  М, объем титруемого раствора 20 мл. Так как алендронат натрия является моновалентной солью алендроновой кислоты, то  $pK_{a1}$  рассчитывали по данным титрования раствора алендроната натрия раствором  $5 \cdot 10^{-3}$  М HCl. Для определения значений  $pK_{a2}$  -  $pK_{a4}$  раствор алендроната натрия титровали раствором  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М КОН. Кривые титрование в первом случае содержали около 20 точек, во

втором около 40 точек. Титрования раствором КОН выполняли как в инертной среде азота, очищенного в соответствии с методикой, приведенной в работе [17], так и на воздухе, при этом результаты титрований значимо не отличались.

Фоновым электролитом для создания ионной силы (0.1 М) в водных растворах был KCl. Мицеллярные растворы ЦПХ с концентрацией 0.1 М титровали без введения других электролитов.

#### 2.4 Программное обеспечение и расчет констант ионизации

Данные потенциометрических титрований обрабатывались по программе CLINP 2.0 (Холин Ю.В., Мерный С.А., Коняев Д.С. <http://www.bestnet.kharkov.ua/kholin/clinp.html>). Полученные в параллельных титрованиях значения показателей константы ионизации усредняли, используя подход, предложенный в работе [18] и учитывающий корреляцию значений констант, полученных из одного эксперимента, и их погрешности. Подход реализован нами в виде модуля программы MATLAB 7.0 (<http://www.mathworks.com/>). Для получения расчетных значений  $pK_a$  (расч.) в воде использовалась программа ACD/pKa (Advanced Chemistry Development, <http://www.acdlabs.com>).

### 3. Результаты и обсуждение

Данные о кислотно-основных свойствах алендроновой кислоты неоднозначны и являются предметом особого внимания в этой работе. Известна лишь одна работа, в которой экспериментально получены значения констант ионизации алендроновой кислоты, представленные в Таблице 1 (столбец 1). Эти данные вошли в статью обзорного характера [19] и монографию на вещество в справочнике компании Мерк [6]. Интересно, что для аналогов алендроновой кислоты, также исследованных в работе [5],  $pK_{a2}$  находятся в диапазоне от 5.83 до 6.70, в отличие значения 8.73 для алендроновой кислоты.

В работе [15] приведены значения  $pK_a$  для пяти ступеней диссоциации алендроновой кислоты:  $pK_{a1} < 2$ ,  $pK_{a2} < 2$ ,  $pK_{a3} = 6.3$ ,  $pK_{a4} = 9.9$ ,  $pK_{a5} = 10.2$  со ссылкой на неопубликованные данные, полученные в исследовательской лаборатории Мерк [20] титрованием 0.1 М раствором NaOH. Наличие пяти ступеней диссоциации можно объяснить, исходя из представлений о цвиттерионном строении формы  $H_4L^{\pm}$ ; тогда первая константа относится к диссоциации катиона  $H_5L^+$  по фосфатной группе (ионизация геминальной OH группы в соединениях такого типа достоверно не установлена [5,19,21]). Расчетное значение  $pK_{a5}$ , соответствующее геминальной OH группе, составляет порядка 14 (Таблица 1, столбец 2).

**Таблица 1.** Значения показателей констант ионизации алендроновой кислоты в водных растворах и мицеллярных растворах ЦПХ

	1 [5]	2	3	4	$\Delta = pK_a(4) - pK_a(3)$
		$pK_a(\text{РОН}) = 1.1 \pm 0.4$			0.10
$pK_{a1}$	$2.72 \pm 0.05$	$1.7 \pm 0.4$	$2.24 \pm 0.01$	$2.34 \pm 0.02$	
$pK_{a2}$	$8.73 \pm 0.05$	$6.1 \pm 0.5$	$6.38 \pm 0.03$	$5.97 \pm 0.02$	-0.41
$pK_{a3}$	$10.5 \pm 0.1$	$9.9 \pm 0.5$	$10.68 \pm 0.06$	$10.25 \pm 0.03$	-0.43
$pK_{a4}$	$11.6 \pm 0.1$	$10.6 \pm 0.1$	$11.4 \pm 0.2$	$10.5 \pm 0.1$	-0.90
$pK_{a5}$		$14.4 \pm 0.3$			

<sup>1</sup> 0.1 М KCl, 25.0 °С,  $1.0 \cdot 10^{-3}$  М алендроната натрия;

<sup>2</sup> Расчетные значения  $pK_a$  в воде (ACD/  $pK_a$  DB 4.0);

<sup>3</sup> 0.1 М KCl, 25.0 °С,  $5.0 \cdot 10^{-3}$  М алендроната натрия;

<sup>4</sup> 0.1 М ЦПХ, 25.0 °С,  $5.0 \cdot 10^{-3}$  М алендроната натрия.

В работе [22] со ссылкой на 12-е издание «The Merck index» указаны значения  $pK_{a1} = 2.72$ ,  $pK_{a3} = 10.5$ ,  $pK_{a4} = 11.6$ , совпадающие с данными [5], и заниженное на единицу значение  $pK_{a2} = 7.73$ . В то же время авторы получили кривые автоматического потенциометрического титрования с хорошо выраженным скачком, используя в качестве титранта растворы NaOH. Наблюдаемые результаты не были соотнесены с данными о константах ионизации алендроновой ки-

слоты. Интересно, что в магистерской работе [23], выполненной, как и предыдущая работа [22], в Бразилии, цитируются данные, полностью совпадающие с данными работы [5], со ссылкой на 13-е издание «The Merck index».

Таким образом, вопрос о значении  $pK_{a2}$  алендроновой кислоты остается открытым.

### 3.1 Определение $pK_{a1}$ алендроновой кислоты

Судя по литературным данным, алендроновая кислота по первой степени диссоциации является кислотой средней силы. При этом экспериментальное определение  $pK_a$  отягощено двумя обстоятельствами. Во-первых, необходимо, чтобы концентрация кислоты была сопоставима со значением константы ионизации. Во-вторых, в уравнении материального баланса необходимо учитывать вклад ионов водорода, оценивая их концентрацию по измеренным значениям pH. Наши исследования проведены при концентрации алендроната натрия  $5.0 \cdot 10^{-3}$  М; для оценки коэффициента активности протонов в водной среде использовали уравнение:

$$\lg \gamma_H = \frac{-0.5\sqrt{I}}{1 + 3.29a\sqrt{I}} - b\sqrt{I}, \quad (5)$$

где  $I$  – ионная сила,  $a$  и  $b$  – коэффициенты, изменяющиеся для различных фоновых электролитов (для KCl  $a = 6.1$ ;  $b = 0.113$  [24]).

Эти же значения коэффициента активности использовали и для мицеллярных растворов ЦПХ. Таким образом, полученные нами значения показателей (Таблица 1, строка 1, столбец 3 и 4) относятся к концентрационным константам ионизации алендроновой кислоты. Полученные значения  $pK_{a1}$  приблизительно на 0.5 ниже, чем в работе [5]. Однако их можно считать более достоверными, так как концентрация алендроновой кислоты в нашей работе в 5 раз выше, чем в работе [5], что позволило повысить выход формы  $H_4L^{\pm}$ . Как показали расчеты равновесного состава доля формы  $H_4L^{\pm}$  от общей концентрации кислоты достигала 30 %.

Интересно, что в мицеллярной среде ЦПХ наблюдается небольшое увеличение  $pK_{a1}$ , что противоречит известному правилу Хартли. Этот эффект вероятно связан с влиянием ионной силы на константу ионизации алендроновой кислоты. Проблема учета вклада мицелл ПАВ в ионную силу раствора еще не решена окончательно, хотя и известно, что ионная сила таких растворов несколько ниже общей концентрации ПАВ [25].

### 3.2 Определение $pK_{a2}$ - $pK_{a4}$ алендроновой кислоты

Значения  $pK_{a2}$  -  $pK_{a4}$  алендроновой кислоты определяли в водных растворах в условиях аналогичных условиям работы [5], но при более высокой концентрации алендроновой кислоты,  $5.0 \cdot 10^{-3}$  М. Полученные  $pK_{a3}$  и  $pK_{a4}$  хорошо согласуются с литературными данными (Таблица 1, столбец 1 и 3), в то время как полученное нами  $pK_{a2}$  существенно ниже значения, приведенного в работе [5].

В мицеллярных растворах ЦПХ, как и следовало ожидать, кислотные свойства алендроновой кислоты усиливаются (Таблица 1), при этом наблюдается одинаковый сдвиг значений  $pK_{a1}$  и  $pK_{a3}$ , и более заметный сдвиг для значения  $pK_{a4}$ . Усиление влияния мицеллярной среды катионного ПАВ на константы ионизации *гем*-дифосфоновых кислот при нарастании отрицательного заряда кислоты наблюдался и в единственной известной нам работе по исследованию протолитических равновесий и комплексообразования кислот фосфора в мицеллярных растворах ПАВ [26].

### 3.3 Влияние мицеллярной среды ЦПХ на протолитические свойства алендроновой кислоты

Мицеллярные растворы ПАВ можно рассматривать как двухфазную систему, в которой динамические микроагрегаты мицелл ПАВ представляют псевдофазу. Тогда константы ионизации, определяемые в такой системе, являются «кажущимися» ( $pK_a^{app}$ ):

$$pK_a^{app} = pN_w + \lg \frac{[HA]_w + [HA]_m}{[A]_w + [A]_m}, \quad (6)$$

где  $pH_w$  - значение pH, измеренное в мицеллярном растворе ПАВ и относящееся к объему водной фазы;  $[HA]_w$ ,  $[HA]_m$  и  $[A]_w$ ,  $[A]_m$  — равновесные концентрации протонированной и депротонированной форм, находящихся в водной и мицеллярной фазе, соответственно.

Эффект мицеллярной среды можно описать в терминах констант связывания отдельных протолитических форм мицеллами ПАВ. Так, связывание мицеллами формы А можно представить реакцией:



которой соответствует константа равновесия

$$K_{b,A} = \frac{[AMic]}{[A][Mic]} = \frac{[AMic]}{[A](c_s - cmc)}. \quad (8)$$

где А – вещество, Mic – мицелла ПАВ, AMic – мицеллярно связанное вещество,  $c_s$  – общая концентрация ПАВ,  $cmc$  – критическая концентрация мицеллообразования.

Значения  $pK_a$ , определенные в водных растворах, связаны со значениями  $pK_a^{app}$ , определенными в мицеллярных растворах ПАВ:

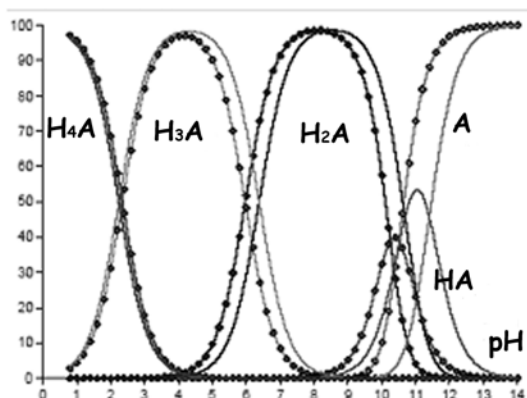
$$pK_a^{app} = pH_w + \lg \frac{[HA]_w (1 + K_{b,HA} (c_s - cmc))}{[A]_w (1 + K_{b,A} (c_s - cmc))}, \quad (9)$$

$$pK_a^{app} = pK_a + \lg \frac{(1 + K_{b,HA} (c_s - cmc))}{(1 + K_{b,A} (c_s - cmc))}. \quad (10)$$

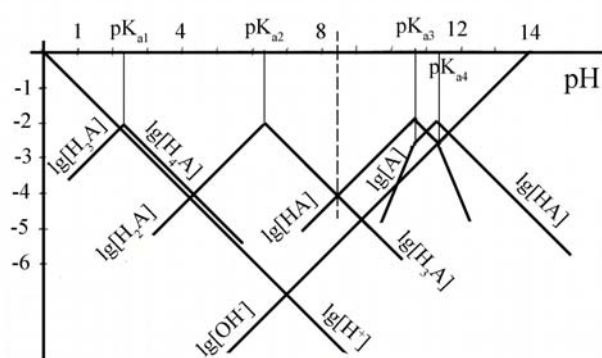
Связывание отдельных форм микроагрегатами ПАВ может быть обусловлено гидрофобными и/или электростатическими взаимодействиями. Из уравнения (10) очевидно, что влияние мицеллярной среды ПАВ на значение константы ионизации зависит от соотношения между константами связывания двух протолитических форм мицеллами ПАВ. На основании того, что  $pK_{a1}$  алендроновой кислоты практически не изменилось при переходе из водной среды в мицеллярную среду ЦПХ, можно заключить, что формы  $H_4L^{\pm}$  и  $H_3L^{+,2-}$  (уравнение (1)) плохо связываются мицеллами ЦПХ. Для  $pK_{a2}$  и  $pK_{a3}$  решающим является соотношение между связыванием протолитических форм  $H_3L^{+,2-}$ ;  $H_2L^{+,3-}$  и  $H_2L^{+,3-}$ ;  $H_1L^{+,4-}$ , соответственно. Поскольку,  $\Delta pK_{a2}$  и  $\Delta pK_{a3}$  равны между собой, то можно сделать вывод, что электростатическое связывание анионов алендроновой кислоты катионными мицеллами ЦПХ растет пропорционально увеличению отрицательного заряда иона. Резкое уменьшение  $pK_{a4}^{app}$  обусловлено, скорее всего (Таблица 1, рис. 2), исчезновением положительного заряда в ионе алендроновой кислоты, что усиливает электростатическое взаимодействие между анионом алендроновой кислоты и мицеллами ЦПХ, а также открывает возможность проникновения хвоста кислоты внутрь мицелл ЦПХ за счет гидрофобных взаимодействий.

### 3.4 Определение алендроната натрия в фармацевтических субстанциях методом кислотно-основного титрования

Пересмотренные данные о константах ионизации алендроновой кислоты позволили теоретически обосновать возможность определения алендроната натрия при помощи кислотно-основного титрования по второй ступени диссоциации в водных растворах. На рис. 3 представлена концентрационно-логарифмическая диаграмма раствора алендроновой кислоты. Разность между  $pK_{a2}$  и  $pK_{a3}$  равна 4.3, что является достаточным даже для визуальной индикации конечной точки титрования. В соответствии с рис. 3 и расчетами равновесного состава, точка стехиометричности при титровании алендроната натрия раствором щелочи будет соответствовать значению pH 8.56. Для визуальной фиксации конечной точки титрования пригодны такие индикаторы как тимоловый синий, ксиленоловый синий [27], а также фенолфталеин при фиксации появления бледно-розовой окраски индикатора [28]. Однако наиболее четкий переход окраски наблюдался при использовании смешанного индикатора: тимоловый синий (0.1 % раствор в 50 % спирте) – фенолфталеин (0.1 % раствор в 50 % спирте) в соотношении 1 : 3 [27].



**Рис. 2.** Долевые диаграммы распределения протолитических форм алендроновой кислоты в водных растворах и мицеллярных растворах (точками обозначены кривые для мицеллярных растворов ЦПХ)



**Рис. 3.** Концентрационно-логарифмическая диаграмма алендроновой кислоты с общей концентрацией 0.01 М

Известно, что многие производные фосфорной кислоты образуют комплексы даже с ионами щелочных металлов [29], что может сместить точку стехиометричности в сторону завышенных значений содержания алендроната натрия. Чтобы исключить комплексообразование в качестве титрантов рекомендуют использовать растворы тетраалкиламмоний гидроксидов. Результаты потенциометрических титрований раствора алендроната натрия с концентрацией  $1.5 \cdot 10^{-2}$  М раствором  $(C_2H_5)_4NOH$  мы сопоставили с титрованием, где в качестве титранта использовался стандартизованный раствор NaOH, который гораздо легче приготовить свободным от карбонатов (Таблица 2). Полученные данные указывают на отсутствие систематической погрешности при использовании раствора NaOH в качестве титранта. Этот вывод полностью согласуется с результатами работы [22], подтвержденными в работе [23].

**Таблица 2.** Анализ фармакопейного стандарта алендроната натрия  
 Массовая доля алендроната натрия (%) в пересчете на сухое вещество:

титрование раствором NaOH	титрование раствором $(C_2H_5)_4NOH$	аттестованное значение Фармакопеи [16]
83.4±0.5	83.6±0.6	83.3

#### 4. Выводы

Таким образом, в этой работе впервые получены достоверные данные о константах ионизации 4-амино-(1-гидроксипропилиден)дифосфоновой кислоты в водных растворах. На этом основании теоретически обоснована возможность применения кислотно-основного титрования для количественного определения основного компонента в фармацевтических субстанциях алендроната натрия. Показано отсутствие систематических погрешностей при титровании алендроната натрия раствором гидроксида натрия. Впервые полученные данные о влиянии мицеллярной среды цетилпиридиний хлорида на константы ионизации алендроновой кислоты обсуждены на основании представлений о связывания различных протолитических форм алендроновой кислоты мицеллами цетилпиридиний хлорида.

*Авторы выражают благодарность доктору Леонардо Пецца за любезно предоставленный оттиск публикации [22].*

#### Литература

1. Rondeau J.-M., Bitsch F., Bourgien E., Geiser M., Hemmig R., Kroemer M., Lehmann S., Ramage P., Rieffel S., Strauss A., Green J.R., Jahnke W. Structural basis for the exceptional in vivo efficacy of bisphosphonate drugs // ChemMedChem — 2006. — Vol. 1. — P. 267-273.

2. Fleisch H., Russell R.G.G., Francis D. Diphosphonates inhibit hydroxyapatite dissolution in vitro and bone resorption in tissue culture and in vivo // *Science* — 1969. — Vol. 165. — P. 1262-1264.
3. Francis D., Russell R.G.G., Fleisch H. Diphosphonates inhibit formation of calcium phosphate crystals in vitro and pathological calcification in vivo // *Science* — 1969. — Vol. 165. — P. 1264-1266.
4. Burgada R., Bailly T., Prange T., Lecouvey M. Synthetic strategy of new powerful tris-bisphosphonic ligands for chelating of uranyl, iron, and cobalt cations // *Tetrahedron Letters* — 2007. — Vol. 48. — P. 2315-2319.
5. Кабачник М.Н., Медведь Т.Я., Дятлова Н.М., Поликарпов Ю.М., Щербаков Б.К., Бельский Ф.К. Синтез, кислотнo-основные и комплексообразующие свойства аминoзамещенных  $\alpha$ -оксиалкилидендифосфоновых кислот // *Изв. АН СССР, Сер. хим.* — 1978. — № 2. — С. 433-437.
6. The Merck Index, Monograph number: 00229, 14th edition, Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, New Jersey, USA.
7. Marco J.D., Biffar S.E., Reed D.G., Brooks M.A. The determination of 4-amino-1-hydroxybutane-1,1-diphosphonic acid monosodium salt trihydrate in pharmaceutical dosage forms by high-performance liquid chromatography // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 1989. — Vol. 7. — P. 1719-1727.
8. Kline W.F., Matuszewski B.K., Bayne W.F. Determination of 4-amino-1-hydroxybutane-1,1-bisphosphonic acid in urine by automated pre-column derivatization with 2,3-naphthalene dicarboxyaldehyde and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection // *J. Chromatogr.* — 1990. — Vol. 534. — P. 139-149.
9. Kline W.F., Matuszewski B.K. Improved determination of the bisphosphonate alendronate in human plasma and urine by automated precolumn derivatization and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and electrochemical detection // *J. Chromatogr.* — 1992. — Vol. 583. — P. 183-193.
10. Deeb S.K., Hamdan I.I., Najjar S.M. Spectroscopic and HPLC methods for the determination of alendronate in tablets and urine // *Talanta* — 2004. — Vol. 64. — P. 695-702.
11. Apostolou C., Dotsikas Y., Kousoulos C., Tsatsou G., Colocouri F., Soumelas G.-S., Loukas Y.L. Application of semi-automated 96-well format solid-phase extraction, column switching, fluorescence detection protocol for the determination of alendronate in human urine samples obtained from bioequivalence study // *J. Pharm. Biomed. Anal.* — 2007. — Vol. 43. — P. 1151-1155.
12. Qin X.-Z., Tsai E.W., Sakuma T., Ip D.P. Pharmaceutical application of liquid chromatography-mass spectrometry II. Ion chromatography-ion spray mass spectrometric characterization of alendronate // *J. Chromatogr. A* — 1994. — Vol. 686. — P. 205-212.
13. Lovdahl M.J., Pictrzyk D.J. Anion-exchange separation and determination of bisphosphonates and related analytes by post-column indirect fluorescence detection // *J. Chromatogr. A* — 1999. — Vol. 850. — P. 143-152.
14. Sparidans R.W., Hartigh J., Beijnen J.H., Vermeij P. Derivatization of pamidronate and other amino(bis)phosphonates with different isothiocyanates prior to ion-pair liquid chromatography // *J. Chromatogr. A* — 1997. — Vol. 782. — P. 211-217.
15. Han Y.-H.R., Qin X.-Z. Determination of alendronate sodium by ion chromatography with refractive index detection // *J. Chromatogr. A* — 1996. — Vol. 719. — P. 345-352.
16. British pharmacopoeia 2005 (electronic edition, [www.pharmacopoeia.co.uk](http://www.pharmacopoeia.co.uk)). The stationery office. British pharmacopoeia Volume I and II. Monographs: Medical and pharmaceutical substances. Sodium Alendronate.
17. Альберт А., Сергент Е. Константы ионизации кислот и оснований. — Л.: Химия, 1964.
18. Бугаевский А.А., Никишина Л.Е., Мутин А.В., Холин Ю.В., Решетняк Е.А., Рубцов М.И., Лукацкая Л.Л. // *Укр. хим. журн.* — 1990. — Т. 56. №7. — С. 775-778.
19. Пасечник М.П., Матвеева А.Г., Матвеев С.В. Аминозамещенные гем-дифосфоновые кислоты: строение комплексов с катионами двухвалентных металлов в водных растворах // *Изв. АН, Сер. хим.* — 2001. — № 4. — С. 669-676.
20. Merck Research Lab., unpublished data.

21. Матвеев С.В., Бельский И.В., Матвеева А.Г., Гукасова А.Ю., Поликарпов Ю.М., Кабачник М.И. N-замещенные 2-аминоэтилидендифосфоновые кислоты как комплексоны // Изв. АН СССР, Сер. хим. — 1998. — № 9. — С. 1784-1788.
22. Moreno A.H., Pezza H.R., Pezza L. Potentiometric determination of alendronate in pharmaceutical formulations // Chem. Anal. — 2004. — Vol. 49. — P. 1-7.
23. Ribeiro A.F. Analise titulometrica e chromatographica de alendronato de sodio – material-prima e producto acabado / Rio de Janeiro: UFRG / Faculdade de Farmacia, 2005. — 125 p.
24. Комарь Н.П. Химическая метрология. Гомогенные ионные равновесия. — Харьков: Вища школа, 1983.
25. Jalsenjak N. Contribution of micelles to ionic strength of surfactant solutions // J. Coll. Inter. Sci. — 2006. — Vol. 293 — P. 230-239
26. Логинова Л.П., Левин И.В., Матвеева А.Г., Писарева С.А., Нифантьев Э.Е. Кислотно-основные и комплексообразующие свойства *гем*-дифосфоновых и *гем*-дифосфиновых кислот в водных растворах и мицеллярных средах поверхностно-активных веществ // Изв. АН, Сер. хим. — 2004. — № 9. — С. 1919-1925.
27. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. — М.: Химия, 1989.
28. Бишоп Э. Индикаторы. Т. 1. — М.: Мир, 1976.
29. Wada H., Fernando Q. Interaction of methanhydroxyphosphonic acid and ethane-1-hydroxy-1,1-diphosphonic acid with alkali and alkaline earth metal ions // Anal. Chem. — 1972. — Vol. 44. — P. 1640-1643.

*Поступила в редакцию 30 мая 2007 г.*

Kharkov University Bulletin. 2007. №770. Chemical Series. Issue 15(38). A.P. Boichenko, V.V. Markov, A.L. Iwashchenko, E.Yu. Spirina, L.P. Loginova Re-evaluated data of acid-base properties of alendronic acid as a basis for developing the method of simple titrimetric determination of sodium alendronate.

The ionization constants of 4-amino-(1-hydroxybutyliden)diphosphonic acid in aqueous solutions (0.1 M KCl, 25.0°C) and micellar solutions of cetylpyridinium chloride (0.1 M CPC, 25.0°C) were determined. The significant difference between  $pK_{a2}$  determined in aqueous solutions from the value received in the work of Kabachnik M.N. et al Bull. Acad. Sci. USSR, Div. Chem. Sci., 1978, №2, P. 433-437 was observed. The possibility of titrimetric determination of 4-amino-(1-hydroxybutyliden)diphosphonic acid sodium salt (sodium alendronate) was shown on the basis of re-evaluated data of ionization constants of 4-amino-(1-hydroxybutyliden)diphosphonic acid.