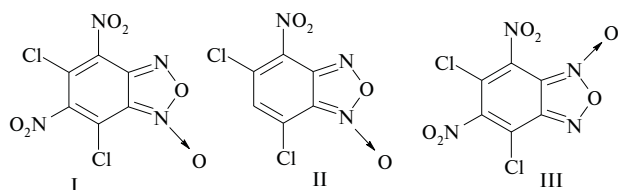


С. Ю. Гармонов, Л. М. Юсупова, А. С. Якупова, И. Ф. Фалыхов,
В. Ф. Сопин

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 4,6-ДИНИТРО-5,7-ДИХЛОРБЕНЗОФУРОКСАНА В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ СМЕСИ

Казанский государственный технологический университет

Ранее было показано, что смеси 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофураксана (I), 4-нитро-5,7-дихлорбензофураксана (II) и 5-нитро-4,6-дихлорбензофураксана (III) обладают широким спектром биологического действия: высокой акарицидной, бактерицидной, вирулицидной, фунгицидной, спороцидной активностью и могут быть использованы для лечения, профилактики паразитарных болезней животных и человека [1 – 6].



Для оптимизации технологии получения этих соединений и различных лекарственных форм на их основе необходима разработка методов контроля качества конечного продукта как при получении биологически активной смеси, так и при изготовлении лекарственных смесей. Актуальность разработки методики избирательного определения I в биологически активных смесях с II и III также обусловлена проявлением синергических эффектов, наблюдающихся при смешении компонентов лекарственных форм в различных соотношениях [1 – 6].

Настоящая работа посвящена разработке спектрофотометрической и хроматографической (ТСХ) методики определения I в его смеси с II и III, а также лекарственных формах на этой основе.

Таблица 1
Влияние мешающих компонентов на результаты спектрофотометрического определения 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофураксана в биологически активных смесях ($n = 4$, $P = 0,95$)

Состав смеси (масс. %)	Введено 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофураксана, %	Найдено 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофураксана, %	S_r
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (30)	20,0	20,5 ± 1,3	0,04
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (50)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (60)	10,0	10,4 ± 0,6	0,04
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (30)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (80)	5,0	4,9 ± 0,3	0,04
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (15)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан(93)	2,0	2,05 ± 0,16	0,05
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (5)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (0,28)	0,12	0,12±0,01	0,05
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (0,20)			
Полиэтиленгликоль 400 (79,7)			
Полиэтиленгликоль 1500(16,9)			
Диметилсульфоксид (2,8)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (0,45)	0,55	0,57 ± 0,05	0,05
Полиэтиленгликоль 400 (80)			
Полиэтиленгликоль 1500 (16,2)			
Диметилсульфоксид (2,8)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (0,25)	0,55	0,58 ± 0,05	0,06
4-Нитро-5,7-дихлорбензофураксан (0,20)			
Неонол (1,5) Вазелиновое масло (97,5)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (0,45)	0,55	0,56 ± 0,04	0,05
Стеарокс 6 (1,0)			
Персиковое масло (98)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан(0,5)	0,1	0,105 ± 0,008	0,05
Моноалкилфениловые эфиры полиэтиленгликоля ОП-7, ОП-10 (1,4)			
Дистиллированная вода (98)			
5-Нитро-4,6-дихлорбензофураксан (0,35)	0,15	0,145 ± 0,012	0,05
Этанол (95)			

Экспериментальная часть

I, II и III были получены по методикам, описанным в [1 – 6]. Спектрофотометрические измерения выполнены на спектрофотометре СФ-26 в кюветках с толщиной слоя 1 и 2 см. Для тонкослойной хроматографии использовали пластинки Силуфол УФ-254. Органические растворители при необходимости очищены по известным методикам [7].

Результаты и их обсуждение

Для выяснения возможности спектрофотометрического определения компонентов биологически активной смеси изучены спектры поглощения I, II и III в различных растворителях. Нами было показано, что в этаноле и ацетонитриле спектры поглощения характеризуются максимумами в области 380 нм для II, III (ϵ составляет 7000 – 7200 л · моль⁻¹ см⁻¹ для II, III в этаноле и ацетонитриле) и 400 нм для I ($\epsilon = 5000$ л · моль⁻¹ см⁻¹). При этом для I характерно поглощение при аналитических длинах волн 430 – 470 нм, тогда как II и III в этой области не поглощают. В более полярных средах наблюдается батохромный сдвиг полосы поглощения I. Так, в диметилсульфоксиде (ДМСО) контрастность полосы поглощения I ($\epsilon_{470} = 6800$ л · моль⁻¹ см⁻¹) по отношению к полосе поглощения II ($\epsilon_{390} = 7500$ л · моль⁻¹ см⁻¹) явно выражена и $\Delta\lambda_{\text{макс}}$ достигает 80 нм. Такие различия в спектральных свойствах биологически активных соединений в ДМСО были

Таблица 2
Состав элюирующих смесей и значения R_f I, II и III

Элюирующая смесь (об.ч.)	R_f		
	I	II	III
Толуол – гептан (2:1)	0,45	0,55	0,65
Диоксан – гептан (1:3)	0,15	0,20	0,30
Гексан – хлороформ (1:2)	0,33	0,43	0,52
Гексан – хлороформ (2:1)	0,14	0,20	0,32
Гексан – хлороформ (1:1)	0,80	0,87	0,90

положены нами в основу методики количественного спектрофотометрического определения I в его смесях с II или III.

Критерием выбора растворителя при проведении аналитических определений является также растворимость определяемого вещества и компонентов лекарственных форм. Если в спиртах составные компоненты смесей I с II или III, а также лекарственных форм на этой основе имеют ограниченную растворимость, то в ДМСО все анализируемые смеси на основе биологически активных соединений хорошо растворимы. В связи с этим в качестве растворителя при проведении спектрофотометрических определений целесообразно использовать ДМСО.

Была определена зависимость оптической плотности от концентрации I в ДМСО, которая подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера, хорошо воспроизводима и описывается уравнением регрессии:

$$A = 0,04C_x (\text{мкг/мл}) + 0,004 (r = 0,999, n = 14), \lambda = 470 \text{ нм.}$$

Изучено влияние на результаты спектрофотометрических определений I сопутствующих ему в анализируемых смесях компонентов — II и III. Как было установлено, на параметры градуировочной зависимости не влияет присутствие II и III в 40 кратном и более избытке по отношению к I (табл. 1). Это позволяет проводить избирательные аналитические определения I в смеси с II и III.

Экспериментально возможность спектрофотометрического определения I в анализируемых матрицах проверена на примере различных модельных лекарственных форм на основе смеси лекарственных веществ (табл. 1). Результаты показывают, что такие вспомогательные вещества, как полиэтиленгликоли, моноалкилфениловые эфиры полиэтиленгликоля, неонол, минеральные и растительные масла, входящие в состав лекарственных форм, определениям не мешают. Экспериментальные данные, приведенные в табл. 1, удовлетворительны по метрологическим характеристикам, относительная ошибка определения I не превышает обычных ошибок, допустимых в спектрофотометрическом методе анализа.

В тонкослойной хроматографии подбирались оптимальные условия разделения биологически активных соединений. В результате были предложены системы растворителей (табл. 2), позволившие достичь удов-

летворительного разделения компонентов лекарственной смеси с хорошей воспроизводимостью результатов. При этом предел обнаружения лекарственных веществ в УФ-свете при длине волны 254 нм составляет 2 мкг. Это привело к необходимости разработки более чувствительного метода детектирования анализируемых соединений. Для этого в качестве реагентов для обнаружения зон разделенных соединений были выбраны амины различной степени замещения, образующие интенсивно окрашенные продукты реакций с различными нитропроизводными бенз-2,1,3-оксадиазола [8]. При использовании для этих целей 0,5 %-ных растворов *n*-толуидина, *o*-нитродифениламина, *n*-аминобензойной кислоты, *n*-нитробензгидразида в ацетоне разделенные компоненты мгновенно обнаруживаются на силикагеле в виде пятен бордового или оранжевого цвета. Предел визуального детектирования при этом достигает 0,5 мкг.

Таким образом, экспериментальные данные показывают возможность применения предложенных методик для экспрессного и чувствительного контроля качества биологически активной смеси и готовых лекарственных форм на их основе. Разработанные методики включены в нормативную документацию, стандартизирующую качество и лекарственных форм на их основе.

Методики определения

Для построения градуировочного графика в мерную колбу вместимостью 25 мл помещают аликвоты 1 – 10 мл рабочего стандартного раствора I (0,6 мг/мл) в диметилсульфоксиде, доводят растворителем до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность раствора при длине волны 470 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве раствора сравнения диметилсульфоксид.

Жидкие лекарственные формы разбавляют диметилсульфоксидом до содержания 4,6-динитро-5,7-дихлорбензофуросана в интервале 0,1 – 0,5 мг/мл, далее аликвоту раствора помещают в мерную колбу на 25 мл и поступают, как описано при построении градуировочного графика. Содержание лекарственного вещества рассчитывают по градуировочному графику.

При анализе субстанции и мазей к 0,5 г образца (точная навеска) прибавляют диметилсульфоксид и взбалтывают до полного растворения. Далее проводят анализ как описано выше.

ЛИТЕРАТУРА

1. Патент РФ 2032678, *Бюл. изобрет.*, № 10 (1995).
2. Патент РФ 2058141, *Бюл. изобрет.*, № 11 (1996).
3. Патент РФ 2051913, *Бюл. изобрет.*, № 1 (1996).
4. Патент РФ 2067863, *Бюл. изобрет.*, № 29 (1996).
5. Патент РФ 2076803, *Бюл. изобрет.*, № 10 (1997).
6. Патент РФ 2169564, *Бюл. изобрет.*, № 5 (2001).
7. А. Гордон, Р. Форд, *Спутник химика*, Мир, Москва (1976).
8. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, И. И. Евгеньева и др., *Журн. аналит. химии*, 53(2), 175 – 186 (1999).

Поступила 21.10.02