

М. И. Евгеньев¹, С. Ю. Гармонов¹, А. С. Брысаев¹, П. А. Гуревич¹,
И. Н. Насыбуллин¹, Е. В. Дегтерев²

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАМЕЩЕННЫХ ТРИПТАМИНА В ВИДЕ ДИНИТРОБЕНЗ-2,1,3-ОКСАДИАЗОЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ

¹ Казанский государственный технологический университет;
² Центр химии лекарственных средств — ВНИХФИ, Москва

Замещенные производные триптамина (ПТ) имеют большое фармакологическое значение как эндогенные и лекарственные вещества с высокой физиологической активностью [1, 2]. Лекарственные препараты на их основе обладают преимущественным действием на периферические нейромедиаторные процессы, а также геморрагическими, седативными и радиозащитными свойствами. Высокая биологическая активность производных (ПТ) требует применения избирательных и чувствительных методов для мониторинга этих соединений в процессе их промышленного получения и контроле качества лекарственных форм. Для проведения аналитического контроля фармацевтических продуктов на основе ПТ привлекателен простой, адаптированный к производственной практике спектрофотометрический метод анализа, особенно в диодно-матричном исполнении.

Спектрофотометрическое определение ПТ основано на реакциях получения окрашенных продуктов конденсации с карбонильными соединениями — диазо- и других производных [3]. Использование этих приемов дериватизации, однако, часто малоизбирательно из-за сложного состава анализируемой матрицы и характеризуется невысокой чувствительностью определений.

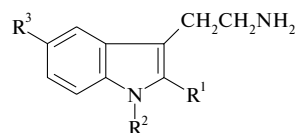
Ранее была показана возможность избирательных определений аминокислотных лекарственных веществ в виде производных хлординитрозамещенных бенз-2,1,3-оксадиазола [4–6].

Целью данной работы является разработка методик спектрофотометрического определения замещенных триптамина при использовании в качестве дериватизирующих реагентов 4-хлор-5,7-динитробензофуразана (БФЗ) и его N-оксида 7-хлор-4,6-динитробензофуросана (БФО).

Экспериментальная часть

Спектрофотометрические измерения проведены на спектрофотометре СФ-26. Потенциометрические измерения выполнены на электронном рН-милливольтметре MV-87S (Германия).

В работе использованы замещенные триптамина, химические названия и обозначение которых представлены в табл.1.



Использованы серотонина адипинат (I) и мексамин (IV) фармакопейной чистоты. Соединения II, III, V, VI, VIII, IX синтезированы по описанной методике [7]. Для получения соединения VII к кипящему раствору 0,05 моль арилгидразина в 50 мл 90 % водного раствора метанола приливали раствор 0,05 моль γ -хлормасляного альдегида в 20 мл метанола в присутствии каталитических количеств ди-(3-индолилдифенил-фосфино)дитиоцианопалладата (II). Реакционную смесь кипятили 2 ч (контроль за полнотой протекания реакции осуществлялся методом ТСХ). После отгонки растворителя на роторном испарителе остаток растворяли в 100 мл 0,1 М соляной кислоты и нейтральные примеси дважды экстрагировали эфиром. Затем раствор фильтровали через 1–2 г активированного угля и после охлаждения подщелачивали. Отделившееся масло экстрагировали бензолом (трехкратно по 50 мл), сушили щелочью и перегоняли при пониженном давлении. Идентификация продуктов синтеза проведена на

Таблица 1

Анализируемые замещенные триптамина

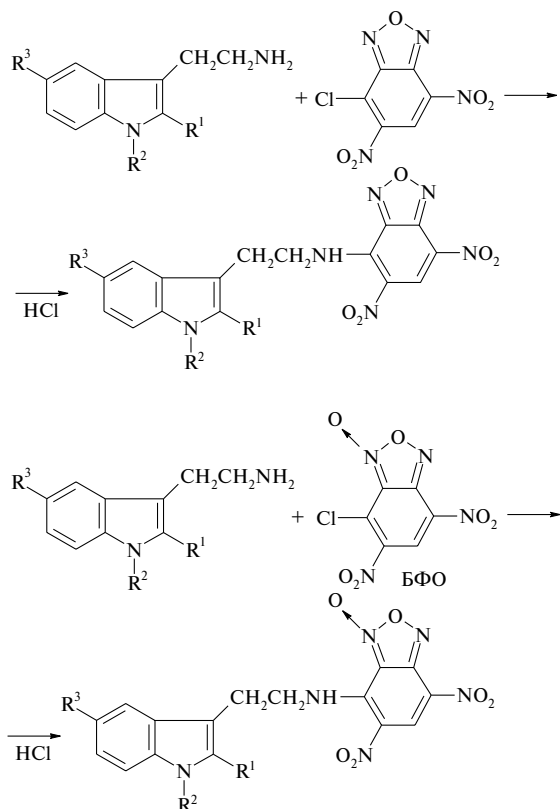
Соединение	Название	R ¹	R ²	R ³
I	2-(5-Гидроксииндолил-3)этанамин-1	H	H	OH
II	3-(2-Аминоэтил)-5-метоксииндолкарбоновая-2-кислота	COOH	H	OCH ₃
III	2-(5-Бензилоксииндолил-3)этанамин-1	H	H	OCH ₂ C ₆ H ₅
IV	2-(5-Метоксииндолил-3)этанамин-1	H	H	OCH ₃
V	3-(2-Аминоэтил)-5-бензилоксииндолкарбоновая-2-кислота	COOH	H	OCH ₂ C ₆ H ₅
VI	2-(Индолил-3)этанамин-1	H	H	H
VII	2-(1-Бензил-2-метилиндолил-3)этанамин-1	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	H
VIII	2-(1-Бензил-2-метил-5-метоксииндолил-3)этанамин-1	CH ₃	CH ₂ C ₆ H ₅	OCH ₃
IX	2-(1-Бензилиндолил-3)этанамин-1	H	CH ₂ C ₆ H ₅	H

основе данных элементного анализа, ИК- и ПМР-спектроскопии.

Органические растворители при необходимости очищали по известным методикам [8, 9]. БФЗ и БФО синтезированы по методикам, описанным в работах [10, 11].

Результаты и их обсуждение

В полярных водно-органических средах взаимодействие БФО и БФЗ с ПТ протекает с образованием интенсивно окрашенных продуктов реакции:



Для выбора оптимальных условий определений ПТ изучены спектральные характеристики их динитробенз-2,1,3-оксадиазольных производных, а также влияние на спектральные свойства образующихся производных природы растворителя и компонентов реакционной среды, устойчивости продуктов аналитических реакций во времени.

В электронных спектрах динитробензфуоксановых и динитробензфуразановых производных I – IX в полярных неводных средах и их водных смесях регистрируются интенсивные полосы поглощения в видимой области спектра (рис. 1, 2). Максимумы поглощения соответствующих производных находятся в интервале 470 – 500 нм, при этом положение и интенсивность полос их поглощения определяются природой используемого реагента — электрофила, растворителем. Наибольшие значения молярных коэффициентов поглощения наблюдаются в ацетонитриле, спиртах и их водных смесях, что позволяет использовать эти среды в качестве аналитических. Кроме того, эти среды обеспечивают хорошую растворимость

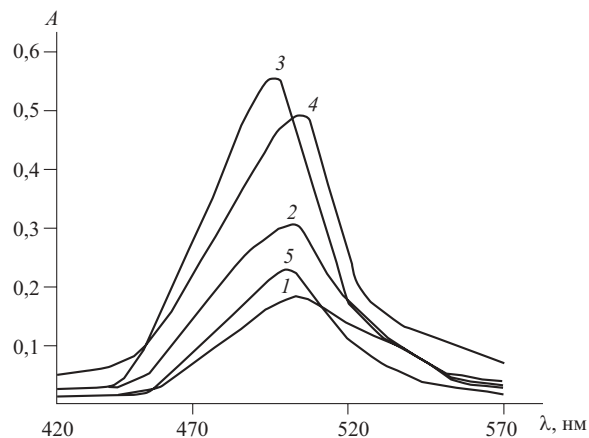


Рис. 1. Спектры поглощения 4,6-динитробензфуоксановых (1, 2, 3) и 5,7-динитробензфуразановых (4, 5) производных 2-(5-метоксииндолил-3)этанамин-1 ($5 \cdot 10^{-5}$ M): 1 — в смеси метанол — вода (70:30, об.), pH 6,8; 2 — в смеси метанол — вода (50:50, об.), pH 6,8; 3 — в смеси ацетонитрил — вода (70:30, об.), pH 6,8; 4 — в смеси метанол — вода (50:50, об.), pH 6,8; 5 — в смеси метанол — вода (70:30, об.), pH 6,8

определяемых веществ и их производных. Наличие N-оксидного фрагмента в БФО повышает поляризуемость фуоксанового цикла, участвующего в сопряжении с ароматическим кольцом, что приводит к некоторому повышению контрастности полосы поглощения производных ПТ по сравнению с бензфуразановыми производными ($\Delta\lambda_m = 10$ нм) (рис. 1). При дериватизации первичных ариламинов вследствие более высокой реакционной способности БФО достигается более высокая чувствительность и избирательность их аналитических определений [5, 12]. Однако для аналитических реакций 7-хлор-4,6-динитробензфуоксана с замещенными триптамина (соединения I – IX) характерна более низкая скорость образования соответствующих продуктов реакции и меньшая интенсивность полос поглощения их производных, чем для реакций 5,7-динитробензфуразановых производных веществ. Так, если с БФЗ образование окрашенных производных происходит практически при сливании растворов изученных ПТ с реагентом, то в случае БФО для количественного завершения реакции необходимо 15 и более минут. Такое обращение реакционной способности БФО было зафиксировано ранее при аналитических определениях 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина, дифениламина, других замещенных вторичных, третичных ариламинов и подтверждено кинетическими исследованиями этих реакций [12, 13]. По всей видимости, причиной обращения реакционной способности БФО по сравнению с БФЗ при взаимодействии с ПТ служат, как и в случае замещенных вторичных и третичных ариламинов, стерические затруднения, связанные с наличием N-оксидного кислорода в электрофиле. Наличие этого фрагмента в реагенте может вызывать необходимость определенной пространственной ориентации нуклеофила, имеющего соответствующий набор заместителей или даже структурную перестройку взаимодействующих частиц в ходе образования про-

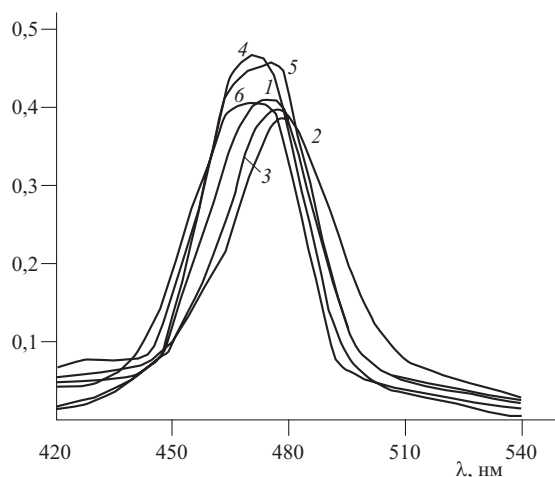


Рис 2. Спектры поглощения 5,7-динитробензофурановых производных в смеси ацетонитрил - вода (70:30 % об.): 1 – 2-(5-гидроксииндолил-3)этанамин-1 (10^{-5} М); 2 – 2-(5-метоксииндолил-3)этанамин-1 (10^{-5} М); 3 – 3-(2-аминоэтил)-5-бензилоксииндолкарбоновой-2-кислоты (10^{-5} М); 4 – 2-(1-бензил-2-метилиндолил-3)этанамин-1 ($2 \cdot 10^{-6}$ М); 5 – 2-(1-бензил-2-метил-5-метоксииндолил-3)этанамин-3 ($2 \cdot 10^{-6}$ М); 6 – 2-(1-метилиндолил-3)этанамин-1 ($2 \cdot 10^{-6}$ М)

межучточных σ -комплексов. Таким образом, при определении ПТ применение БФЗ по сравнению с БФО предпочтительнее как по реакционной способности реагентов, так и по спектрально-аналитическим характеристикам образующихся производных. Следует отметить, что благодаря спектральным характеристикам образующихся продуктов реакции спектрофотометрическому определению ПТ не мешают избыток реагентов и их гидролизованных форм.

Образующиеся производные устойчивы в разбавленных растворах, оптическая плотность остается постоянной, по крайней мере, в течение суток.

При уменьшении pH реакционной среды наблюдается уменьшение интенсивности длинноволновых полос поглощения динитробензофурановых производных I – IX. Это, очевидно, обусловлено уменьшением полноты протекания аналитической реакции в кислой среде. Максимальные значения молярных коэффици-

ентов поглощения изученных 4,6- динитробензофурановых и 5,7-динитробензофурановых производных I – IX зафиксированы в нейтральных средах. Поэтому аналитические определения ПТ необходимо проводить в интервале pH 6,5 – 7,5. В щелочных средах определения ПТ осложняются процессами гидролиза БФО и БФЗ, приводящими к снижению эффективной концентрации аналитического реагента в реакционной смеси.

БФЗ и БФО в спиртовых, диметилсульфоксидных, диметилформамидных и других неводных средах претерпевают гидролитические превращения с образованием неактивного гидроксипроизводного [13]. В связи с этим раствор реагента для аналитических определений готовили в ацетонитриле, в котором достигается достаточная устойчивость аналитического реагента к гидролизу. В смешанных средах гидролиз БФЗ и БФО не оказывал существенного влияния на полноту завершения реакций образования производных из-за различий в нуклеофильных свойствах определяемых аминосоединений и воды, а также из-за заведомого избыт-

Таблица 3
Результаты определения замещенных триптамина в виде динитробензофурановых производных

Состав среды (мк/л)	Соединение	Введено определяемого вещества (мкг/мл)	Найдено определяемого вещества (мкг/мл)	S_r
Стандарт аминокислот (6,11)	I	1,1	$1,15 \pm 0,06$	0,06
	V	5,12	$4,80 \pm 0,38$	0,05
	IV	1,3	$1,40 \pm 0,13$	0,06
	III	1,8	$1,80 \pm 0,14$	0,05
	VII	4,30	$3,90 \pm 0,31$	0,05
Сахароза (5,5)	I	0,55	$0,60 \pm 0,06$	0,06
	IV	0,85	$0,90 \pm 0,09$	0,06
	III	3,0	$2,9 \pm 0,2$	0,05
Глюкоза (4,5)	VII	10,25	10 ± 1	0,05
	II	1,02	$1,06 \pm 0,06$	0,06
	V	2,5	$2,6 \pm 0,2$	0,05
Аскорбиновая кислота (7,5)	IX	6,1	$6,0 \pm 0,5$	0,05
	VI	15,5	16 ± 1	0,04
	I	1,0	$1,10 \pm 0,1$	0,06
Фенол	IV	2,8	$2,87 \pm 0,23$	0,05
	VI	7,0	$7,70 \pm 0,1$	0,06
	VIII	20,2	20 ± 2	0,06
Уксусная кислота	I	3,0	$2,9 \pm 0,2$	0,06
	IV	3,2	$3,1 \pm 0,3$	0,06
	V	5,8	$5,5 \pm 0,4$	0,05
	IX	6,1	$6,0 \pm 0,5$	0,06
Метиламин	I	4,30	$3,90 \pm 0,31$	0,05
	IV	5,15	$4,80 \pm 0,39$	0,05
	IX	16,5	16 ± 1	0,05
Метиламин	I	28,1	28 ± 2	0,06
	IV	0,55	$0,60 \pm 0,06$	0,06
	IV	0,85	$0,90 \pm 0,09$	0,06
Метиламин	III	1,1	$1,15 \pm 0,06$	0,06
	VII	1,3	$1,35 \pm 0,11$	0,06

Таблица 2
Аналитические характеристики методик спектрофотометрического определения замещенных триптамина

Соединение	Уравнение регрессии (C_x , мкг/мл)	Коэффициент корреляции	Предел обнаружения, мкг/мл	Интервал определяемых содержаний, мкг/мл
I	$A = 0,31C_x - 0,005$	0,998	0,177	0,241 – 2,887
II	$A = 0,20C_x + 0,007$	0,999	0,335	0,435 – 4,535
III	$A = 0,51C_x - 0,009$	0,998	0,10	0,139 – 1,747
IV	$A = 0,49C_x + 0,009$	0,999	0,140	0,181 – 1,855
V	$A = 0,20C_x - 0,006$	0,999	0,27	0,37 – 4,47
VI	$A = 0,25C_x + 0,005$	0,998	0,26	0,34 – 3,62
VII	$A = 0,73C_x - 0,005$	0,999	0,075	0,102 – 1,226
VIII	$A = 0,27C_x + 0,006$	0,998	0,244	0,318 – 3,355
IX	$A = 0,26C_x - 0,002$	0,999	0,223	0,3 – 3,453

ка реагентов в реакционной смеси (30 кратный и более).

Аналитические характеристики спектрофотометрических определений исследуемых ПТ представлены в табл. 2. Результаты демонстрируют линейность градуировочных зависимостей в интервале определяемых концентраций 0,1 – 4,5 мкг/мл. Значения пределов обнаружения, определенных в соответствии с 3S-критерием, представлены в табл. 2.

Изучено влияние на результаты аналитических определений ПТ потенциальных компонентов анализируемых смесей. Спектрофотометрическому детектированию продуктов реакции БФЗ с ПТ не мешают фенолы, карбоновые кислоты, спирты, другие органические соединения, неорганические соли. Производные аминокислот, имеющие гипсохромно сдвинутые в область 400 – 440 нм полосы поглощения по сравнению с аналогичными производными ПТ, также не влияют на результаты спектрофотометрических определений.

Методики определения

Анализируемые растворы разбавляют смесью ацетонитрил – вода (70:30, об. %) до содержания аналита в интервале 0,5 – 3,0 мкг/мл, далее аликвоту раствора помещают в мерную колбу на 25 мл, добавляют 1 мл фосфатного буферного раствора с рН 6,86 – 7,10 (0,06 М), 2 мл 0,01 М раствора 4-хлор-5,7-динитробензофуразана в ацетонитриле, доводят водой до метки и спектрофотометрируют при длине волны 490 нм. Содержание определяемого вещества рассчитывают по градуировочному графику, построенному в этих же условиях.

При анализе таблеток к растертому их порошку (0,5 г, точная навеска) прибавляют 20 мл ацетонитрила и встряхивают 10 мин. Повторяют извлечение. Раствор переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят ацетонитрилом до метки. Далее проводят анализ как описано выше.

Таким образом, экспериментальные данные показывают возможность применения 4-хлор-5,7-динитробензофуразана для избирательных спектрофотометрических определений замещенных триптамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Ч. I, II, Медицина, Москва (1993).
2. А. А. Семенов, *Очерк химии природных соединений*, Наука, Новосибирск (2000).
3. И. М. Коренман, *Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений*, Химия, Москва (1970).
4. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, Л. Ш. Шакирова, *Ж. аналит. химии*, **58**(12), 1290 – 1295 (2002).
5. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, Л. Ш. Шакирова, Е. В. Дегтерев, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(10), 34 – 39 (2002).
6. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, Л. Ш. Шакирова, *Ж. аналит. химии*, **55**(8), 888 – 895 (2000).
7. И. И. Грандберг, И. И. Боброва, *Химия гетероцикл. соед.*, **2**, 213 – 218 (1973).
8. А. С. (СССР) 657025, *Бюл. изобрет.*, № 14 (1979).
9. A. S. Bailey, J. R. Case, *Tetrahedron*, **3**, 113 – 131, (1958).
10. А. В. Вайсберггер, Э. Проскауэр, Дж. Риддик, Э. Тупс, *Органические растворители*, Иностранная литература, Москва (1958).
11. А. Гордон, Р. Форд, *Спутник химика*, Мир, Москва (1976).
12. М. И. Евгеньев, С. Ю. Гармонов, И. И. Евгеньева и др., *Ж. аналит. химии*, **53**(2), 175 – 186 (1998).
13. М. И. Евгеньев, И. И. Евгеньева, С. М. Горюнова и др., *Ж. аналит. химии*, **53**(4), 432 – 437 (1998).

Поступила 12.11.02