

С. Е. Милкина¹, О. Б. Степаненко¹, Л. Н. Грушевская¹, Н. И. Авдюнина²,
Б. М. Пятин², В. Л. Багирова¹, Е. Б. Нечаева¹

АНАЛИЗ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ НОВОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО АНКСИОЛИТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА АФОБАЗОЛ

¹ ФГУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения",

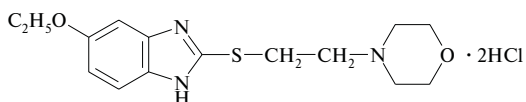
² НИИ Фармакологии РАМН, Москва, Россия.

В статье представлен обзор физических, физико-химических и химических свойств нового анксиолитического средства, производного 2-меркаптобензимидазола — афобазола. Контроль посторонних примесей афобазола предусмотрен хроматографическими методами (ТСХ, ВЭЖХ). Разработаны методы контроля и стандартизации субстанции афобазола и на их основе создан проект ФСП.

Среди производных 2-меркаптобензимидазола известны препараты, обладающие гастропротективным, брадикардическим, адаптогенным, кардиотропным и анксиолитическим действием [1].

В НИИ фармакологии РАМН впервые синтезирован и фармакологически изучен новый оригинальный препарат Афобазол — производное 2-меркаптобензимидазола, — обладающий выраженным анксиолитическим действием, которое не сопровождается побочными эффектами, присущими применяемым в клинической практике транквилизаторам бензодиазепинового ряда [2]. Он не обладает седативным, снотворным и миорелаксантным действием. В настоящее время разрешены клинические испытания афобазола в качестве специфического анксиолитического средства.

По химической структуре афобазол представляет собой 5-этокси-2-[2-(морфолино)этилтио]бензимидазола дигидрохлорид.



5-Этокси-2-[2-(морфолино)этилтио]бензимидазола дигидрохлорид (I) (афобазол) получают алкилированием 5-этоксibenzимидазол-2-тиона N-(2-хлорэтил)-морфолина гидрохлоридом. Реакцию проводят в щелочной водно-спиртовой среде при кипячении. По окончании реакции основание извлекают хлороформом. Добавлением раствора хлористого водорода в абсолютном этаноле к раствору основания в органическом растворителе до значения pH 1–2 получают технический афобазол.

Фармакопейный афобазол получают перекристаллизацией из абсолютного этанола.

Целью настоящих исследований явилось изучение физико-химических свойств, разработка методов анализа, установление срока годности и научно-обоснованных норм качества субстанции I.

Экспериментальная часть

Афобазол — белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок, легко растворим в воде (1 г в 5–8 мл), растворим в спирте (1 г в

13–14 мл), мало растворим в хлороформе (1 г в 275–280 мл), практически нерастворим в эфире (1 г нерастворим в 100000 мл).

Стандартизацию субстанции афобазола по показателям прозрачность, цветность, pH проводили на образцах 1% водного раствора. По цветности 1% водные растворы афобазола были бесцветными или не превышали эталона № 76; по прозрачности водные растворы не превышали эталонного раствора I. Значение pH 1% водных растворов находилось в интервале 2,0–3,0.

Строение афобазола подтверждено аналитическими и спектральными данными. ИК-спектры сняты на спектрофотометре "Perkin Elmer 580" в таблетках калия бромида и вазелиновом масле в области от 4000 до 400 см⁻¹. Так как в таблетках калия бромида полосы поглощения афобазола выражены более четко, идентификацию препарата предлагается проводить в таблетках калия бромида. В ИК-спектре афобазола наблюдается широкая полоса с максимумом при 3240 см⁻¹, характерная для N-H-группы, полоса при 1635 см⁻¹ принадлежит деформационным колебаниям группы N-H-иона аммония, полосы поглощения в области 1615, 1505, 1465 см⁻¹ поглощения C=N и C=C-связей цикла, поглощения при 1450 и 1315 см⁻¹ относятся к деформационным колебаниям протонов C-H-групп, Ag-O-Alk — в области 1180 и 1050 см⁻¹. Спектры ПМР сняты на ЯМР-спектрометре AC-250 (Брукер) с использованием стандартного Брукеровского пакета микропрограмм (внутренний стандарт — ТМС).

В спектре ЯМР ¹H (DMCO d₆, δ, м.д.) присутствуют сигналы всех фрагментов молекулы афобазола: 1,37 (3H, т, CH₃); 3,37 (7H, м, CH₂NCH₂); 3,58 (2H, т, CH₂S); 3,91 (4H, м, CH₂OCH₂); 3,93 (2H, т, CH₂N); 4,08 (2H, кв, CH₂CH₃); 7,04 (1H, дд, H-6); 7,15 (1H, д, H-4); 7,59 (1H, д, H-7).

УФ-спектр 0,0015% раствора афобазола в 0,01 M растворе кислоты хлористоводородной в области длин волн от 210 до 350 нм имеет характерную форму и четкий максимум поглощения при 302 ± 2 нм.

Для идентификации афобазола были предложены ИК- и УФ-спектроскопия и качественная реакция на хлориды.

Образцы субстанции афобазола имели температуру плавления от 190,0 до 196,0 °С. Препарат плавился с разложением, с образованием плава желтого цвета.

Результаты и их обсуждение

Для оценки чистоты субстанции афобазола использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинках Кизельгель 60F₂₅₄ (Merk). Возможными примесями в препарате могут быть промежуточные и побочные продукты синтеза: 5-этокси-2- меркаптобензимидазол (R_f 0,54) (II) и хлорэтилморфолин (R_f 0,62) (III), а также продукты окисления афобазола. В качестве растворителя выбрана смесь хлороформ – диэтиламин (9:1). Обнаружение зон адсорбции проводили в УФ-свете при длине волны 254 нм. R_f основного пятна на хроматограмме испытуемого раствора находится в пределах 0,23 – 0,32.

При подборе состава подвижной фазы нами было изучено и установлено, что наилучшее разделение достигается в системах основного характера. Наилучшее разделение афобазола, исходных соединений и неидентифицированных примесей были получены в системе: ацетон — гексан — концентрированный раствор аммиака (20:20:0,5). При хроматографировании в данной системе происходит четкое разделение пятен афобазола и промежуточных продуктов синтеза, применяемых на последней стадии синтеза (II и III).

При хроматографическом анализе серийных образцов субстанции афобазола примеси (III) ни в одном образце обнаружено не было.

При просмотре пластинки в УФ-свете в некоторых образцах субстанции были обнаружены неидентифицированные примеси с R_f 0,40 и 0,18. Содержание каждой из них не превышало 0,15 %, а сумма примесей составляла не более 0,3 %.

Исходя из полученных экспериментальных данных, нормировалось содержание индивидуальной примеси не более 0,2 %, а суммы примесей — не более 0,5 %.

Наилучшее разделение афобазола и его примесей достигалось при использовании колонки “Диасфер-110-С₁₈” 7 мкм, размер 150 × 4,0 мм. При выборе подвижной фазы изучалось разделение афобазола и его примесей в элюентах различного состава: метанол — вода (50:50), ацетонитрил — вода (50:50), метанол — вода pH 7,6 (50:50).

Оптимальное разделение афобазола и его примесей наблюдалось в подвижной фазе метанол — вода pH 7,6 при скорости потока 1 мл/мин. Детектирование проводили с помощью УФ-детектора при длине волны 302 нм.

В качестве веществ свидетелей использовали полу-продукты синтеза афобазола: 5-этокси-2-меркаптобензимидазол и 4-(2-хлорэтил)морфолина гидрохлорид. При хроматографическом анализе серийных образцов субстанции афобазола примеси III ни в одном образце обнаружено не было.

В некоторых образцах субстанции афобазола были обнаружены примесь II (содержание – не более 0,2 %) и неидентифицированные примеси, которые, по всей вероятности, являются продуктами окисления афобазола (содержание — не более 0,6 %). Суммарное содержание примесей не превышало 1 %.

Потеря в массе при высушивании свежеприготовленных образцов афобазола различных серий, определенная при 130 °С, составляла от 0,7 до 1,07 %, но при хранении препарата в естественных условиях в стеклянных банках с пластмассовыми навинчиваемыми крышками показатель потери в массе увеличился до 1,93 – 4,02 %.

Было проведено изучение гигроскопичности препарата. Содержание влаги в насыщенном водой препарате определяли методом высушивания при 130 °С (содержание влаги 11,2 %) и титрованием по К.Фишеру (около 12 %).

Количественное определение основного вещества в афобазоле определяли методом неводного кислотно-основного титрования в среде муравьиной кислоты и уксусного ангидрида. Конечную точку титрования определяли потенциометрически и по переходу окраски индикатора кристаллического фиолетового.

Содержание основного вещества находилось в интервале 98,5 – 100,5 % в пересчете на сухое вещество.

Стабильность афобазола изучали методом “ускоренного старения” при температуре 60 °С и при хранении препарата в обычных условиях. Исследуемые образцы по истечении срока годности выдерживали испытания по всем показателям качества.

На основании полученных результатов установлен предварительный срок годности афобазола — 2 года.

Разработанные методы анализа и нормы качества положены в основу проекта ФСП на субстанцию афобазол.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Медицина, Москва (1993), т. 1, с. 517.
2. С. Б. Середенин, А. Ю. Бледнов, В. Л. Савельев и др., Патент РФ 2061686; *Бюл. изобрет.*, № 16 (1996).

Поступила 27.09.05

ANALYSIS AND STANDARDIZATION OF THE NEW ANXIOLYTIC DRUG AFOBAZOLE

S. E. Milkina¹, O. B. Stepanenko², L. N. Grushevskaya², N. I. Avdyunina², B. M. Pyatin², V. L. Bagirova¹, and E. B. Nechaeva¹

¹ Institute for Drug Standardization, State Scientific Center for Drug Expertise and Control, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

Physicochemical properties of the new anxiolytic drug afobazole, which belongs to the group of 2-mercaptobenzimidazole derivatives, have been studied with a view to its pharmacopoeial standardization. It is suggested to check afobazole for the presence of impurities by means of TLC and HPLC. Methods for the standardization of afobazole are developed and a project of the pharmacopoeial article of manufacturer for this drug is formulated.