



О.И. Аскалепова^{1,2}, И.Е. Никанорова¹, В.А. Анисимова³

ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДИГИДРОХЛОРИДА 9-(2-ДИЭТИЛАМИНОЭТИЛ)-2,3 ДИГИДРОИМИДАЗО[1,2-А]БЕНЗИМИДАЗОЛА (ДИАБЕНОЛА)

¹Ростовский государственный медицинский университет,
кафедра химии и фармацевтической химии
Россия, 344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: Nic.Iryna@gmail.com

²Южный федеральный университет,
кафедра аналитической химии

Россия, 344058, г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, 7

³НИИ физической и органической химии Южного федерального университета
Россия, 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/2

Цель: изучение спектральных и физико-химических характеристик ионных ассоциатов и экстракционного равновесия Диабенола и разработка метода определения малых количеств вещества в присутствии других соединений.

Материалы и методы: был выбран экстракционно-фотометрический метод анализа, который широко используется в фармацевтическом анализе и находит применение при химико-токсикологических исследованиях.

Результаты: разработана методика экстракционно-фотометрического определения лекарственных форм, содержащих малые количества диабенола в присутствии веществ, которые мешают его определению титриметрическими методами и методом УФ-спектроскопии. Исследования показали, что наиболее оптимальным является использование хлороформа в качестве экстрагента ионных ассоциатов Диабенола и анионных красителей.

Выводы: методика позволяет определять содержание основного вещества с высокой точностью и воспроизводимостью.

Ключевые слова: Диабенол, физико-химические характеристики, анализ.

O.I.Ascalepova^{1,2}, I.E.Nicanorova¹, V.A. Anisymova³

EXTRACTIONNO-PHOTOMETRIC DETERMINATION OF DIABENOL

¹Rostov State Medical University,
Chemistry and Pharmaceutical Chemistry Department
29 Nakhichevansky st., Rostov-on-Don, 344022, Russia. E-mail: dodohova@mail.ru

²South Federal University,
Analytic Chemistry Department

7 Zorge st., Rostov-on-Don, 344058, Russia

³Research Institute of Physical and Organic Chemistry of South Federal University
194/2 Stachki av., Rostov-on-Don, 344090, Russia

Purpose: To study spectral and physicochemical characteristics Diabenol's ion-associates and extraction equilibria and to develop a method for determination of small amounts of substance in the presence of other compounds.

Materials and Methods: An extraction-photometric method of analysis was chosen because it is widely used in pharmaceutical analysis and find a use in chemico-toxiological researches.

Results: It was developed a method of extraction-photometric detection of dosage forms with small amounts of diabenol in the presence of substance that prevent its detection with the methods of titrimetric analysis and ultraviolet spectroscopy. The investigation showed that the use of chloroform as extraction agent of diabenol ion-associates and anionic dyes is optimal.

Summary: This method makes possible to detect the basic substance with high precision and repeatability of measurements.

Keywords: Diabenol, physicochemical characteristics, analysis.



Введение

Поиск новых оригинальных отечественных лекарственных средств для лечения и профилактики различных заболеваний является актуальной задачей. Среди новых синтетически полученных веществ интерес вызывают производные бензимидазола, проявляющие широкий спектр фармакологической активности [1-3].

В НИИ физической и органической химии ЮФУ в ряду производных бензимидазола (имидазобензимидазола) разработано новое лекарственное средство – Диабенол, обладающее гипогликемическими, антиагрегантными и антиканцерогенными свойствами [4-7]. Лекарственное средство успешно прошло три стадии клинических испытаний.

Для контроля качества основного вещества по показателю «количественное определение» в субстанции Диабенола (дигидрохлорида 9-(2-диэтиламиноэтил)-2,3-дигидроимидазо[1,2-а]бензимидазола) используют методы кислотно-основного и осадительного титрования. Однако эти методы имеют ряд ограничений, они недостаточно чувствительны, на анализ влияют ряд соединений. Совершенствование методов анализа качества лекарственных средств, повышение их надежности является одним из главных направлений фармацевтического анализа.

Цель исследования – изучение спектральных и физико-химических характеристик ионных ассоциатов и экстракционного равновесия Диабенола и разработка на их основе метода определения малых количеств вещества в присутствии других соединений.

Материалы и методы

Для этого был выбран экстракционно-фотометрический метод анализа. Данный метод определения азотсодержащих органических оснований – алкалоидов и синтетических веществ основного характера – широко используется в фармацевтическом анализе и находит применение при химико-токсикологических исследованиях. Особенно экстракционная фотометрия эффективна при анализе многокомпонентных лекарственных препаратов.

Для измерения оптической плотности растворов использовали спектрофотометр СФ-26.

Электронные спектры поглощения получены на регистрирующем спектрофотометре «Specord UV VIS»

Подбор оптимального значения кислотности водной фазы осуществлялся с помощью иономера «И-120М», для калибровки которого использованы стандартные буферные растворы.

В качестве экстрагента применяли хлороформ марки «Х.ч.»

Результаты и обсуждение

Способность отрицательно заряженных ионов кислотных красителей образовывать с ионами противоположного знака интенсивно окрашенные ионные ассоциаты, легко экстрагируемые органическими растворителями, позволяют использовать кислотные красители в качестве реагентов в экстракционно-фотометрическом анализе органических соединений основного характера [8].

В качестве экстракционных реагентов наиболее интересны широкодоступные сульфоталеиновые краси-

тели – производные трифенилметана. Реакции с ними, как правило, протекают быстро, обладают высокой чувствительностью. Известно, что реакционная способность реагентов зависит от гидрофильно-гидрофобных свойств красителя.

Наибольшей гидрофобностью среди сульфоталеиновых красителей должен обладать бромтимоловый синий, в котором соотношение гидрофобных и полярных групп, а также их расположение относительно друг друга обеспечивают высокую степень извлечения в органическую фазу. Кроме бромтимолового синего высокую реакционную способность должны иметь бромпроизводные – бромфеноловый синий, бромкрезоловый зеленый, бромкрезоловый пурпурный, бромфеноловый красный.

Действительно, исследование экстрагируемости ионных ассоциатов Диабенола с сульфоталеиновыми красителями показало, что такие реагенты, как кислотный хром темно-синий, красный пирогаллоловый, бромфеноловый красный, крезоловый красный, феноловый красный, пирокатехиновый фиолетовый, ксиленоловый оранжевый, тимоловый синий в кислой и щелочных средах экстрагируемых соединений не образуют.

Следовательно, для дальнейших исследований целесообразно использовать бромтимоловый синий (БТС), бромкрезоловый зеленый (БКЗ), бромкрезоловый пурпурный (БКП). Интересно также провести сравнительную оценку красителей различной структуры. Для этого выбрали наиболее применяемые красители: ксантенового ряда – эозин (ЭО) и азокраситель метиловый оранжевый (МО).

Известно, что образование ионных ассоциатов и их последующая экстракция в щелочных и кислых средах зависит от кислотности среды. Нами были изучены зависимости оптической плотности ионных ассоциатов Диабенола с красителями от кислотности водной фазы. Исследование показало, что при работе с бромкрезоловым пурпурным и эозином оптимальным является $\text{pH}=6.0-7.5$, с метиловым оранжевым $6.5-8.0$, с бромкрезоловым зеленым $4.0-5.0$, с бромтимоловым синим водорастворимым $4.0-10.5$. С большинством выбранных кислотных красителей нет необходимости в контроле pH водной фазы, так как водный раствор препарата имеет значение $\text{pH}=6.42$, которое попадает в диапазон оптимальных значений. Исключением является бромкрезоловый зеленый. Применение фосфатного, ацетатного буферных растворов нецелесообразно, так как значительно понижает оптическую плотность экстрактов.

Степень связывания в ионный ассоциат в значительной мере зависит от концентрации красителя. При оптимальных времени экстракции и кислотности водной фазы получены зависимости оптической плотности экстракта от концентрации красителей. Для полного извлечения необходимо 25-ти кратный избыток метилового оранжевого, 20-ти кратный избыток бромкрезолового пурпурного и бромтимолового синего водорастворимого, и 15-ти кратный избыток бромкрезолового зеленого.

Методом повторной экстракции рассчитана степень однократной экстракции ($R\%$) и выбрано оптимальное время экстракции. Оптимальные условия экстракционно-фотометрического определения Диабенола представлены в таблице 1.



Таблица 1

Оптимальные условия экстракционно-фотометрического определения

ИА с красителем	ЭО	БКЗ	БТС	БКП	МО
pH	6-7,5	4-5	4-10,5	6-7,5	6,5-8
$V_{\text{красителя}} (C_{\text{красителя}})$	3 мл	0,5 мл	1 мл	2 мл	0,5 мл
Время экстракции, мин	2	1	1	2	2

Ионные ассоциаты с большинством используемых в работе красителей извлекаются на 88–99%. Следовательно, достаточна однократная экстракция в течение 1–2 мин. В случае использования эозина увеличение времени экстрагирования не приводит к увеличению процента извлечения, что требует проведения повторной экстракции.

Данные повторной экстракции использовали для расчета коэффициента распределения (E). Экстракты ионных ассоциатов устойчивы не менее двух часов.

Хлороформные экстракты ионных ассоциатов имеют желтую окраску (исключение – ионные ассоциаты с эозином) и максимум светопоглощения при 420–490 нм, что соответствует поглощению однозарядной анионной формы красителей, диссоциированных по сульфогруппе.

Это, по-видимому, указывает на то, что образование экстрагируемых соединений в слабо кислой среде связано не с фенольным радикалом, а с сульфогруппой.

В электронных спектрах эозина и ионного ассоциата препарата с эозином наблюдается bathochromный эффект при комплексообразовании. Тогда как с бромтимоловым синим, метиловым оранжевым, бромкрезоловым зеленым и бромкрезоловым пурпурным наблюдается гипсохромное смещение (на 10–20 нм) длинноволновой полосы поглощения.

Однако однозначно делать вывод о спектральном эффекте при комплексообразовании трудно, так как электронные спектры красителей записаны для водных растворов, а спектры ионных ассоциатов – для хлороформных растворов. Возможно гипсохромный эффект связан с сольватохромией.

Анализируя спектральные характеристики, можно сделать вывод, что наиболее чувствительными являются бромтимоловый синий, бромкрезоловый пурпурный и бромкрезоловый зеленый.

Для оценки относительной устойчивости ионных ассоциатов был применен метод разбавления Бабко [9], который основан на уменьшении концентрации окрашенного ионного ассоциата при разбавлении за счет увеличения его диссоциации.

Рассчитанные значения констант устойчивости (β), молярного коэффициента поглощения (ϵ) и удельного коэффициента поглощения ($E1\%$) представлены в таблице 2. Оптическая плотность экстрактов ионных ассоциатов устойчива длительное время (более 30 мин.). Однако при разбавлении примерно в 2 раза ионный ассоциат с эозином разрушается практически полностью. Поэтому невозможен расчет константы устойчивости ионного ассоциата с эозином.

Таблица 2

Спектральные и физико-химические характеристики ионных ассоциатов

ИА с красителем	ЭО	БКЗ	БТС	БКП	МО
β	-	$2,2 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$	$4,1 \cdot 10^5$
$\lambda_{\text{макс, нм}}$	583 (630)	465	425	455	490
$\epsilon_{\text{макс}}$	$1,5 \cdot 10^4$	$3,1 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^4$	$3,6 \cdot 10^4$	$2,4 \cdot 10^4$
$E1\%_{1\text{см}}$	566	743	722	710	527

Для полной характеристики ионных ассоциатов, используемых в экстракционно-фотометрическом анализе, необходимо знать соотношение компонентов в образующемся ионном ассоциате. Определение состава ионных ассоциатов было проведено методом изомолярных серий, который основан на определении отношения изомолярных концентраций реагирующих веществ, отвечающего максимальному выходу образующегося ионного ассоциата. Исследования показали, что состав образующихся ионных ассоциатов 1:1.

Сольватные числа были определены по методу сдвига равновесия. В качестве инертного растворителя использовали гексан. Оптическую плотность ионного ассоциата измеряли при оптимальных условиях.

Метод сдвига равновесия позволяет достаточно эффективно определять как состав экстрагирующихся соединений, так и константу экстракции.

Полученные значения сольватных чисел и констант экстракционных равновесий (K_{ex}) представлены в таблице 3.



Таблица 3

Физико-химические характеристики экстракционного равновесия

ИА с красителем	ЭО	БКЗ	БТС	БКП	МО
R, % t= 1 мин	82	92	98	88	85
R, % t= 2 мин	-	-	-	99	94
R, % t= 3 мин	80	-	-	-	-
E	4,5	11,5	49	7,7	15,6
K_{ex}	$6,3 \cdot 10^{-9}$	$4,5 \cdot 10^{-6}$	$2,8 \cdot 10^{-10}$	$3,7 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-6}$
Сольватное число	3	6	3	5	5

Разработанные оптимальные условия использованы для экстракционно-фотометрического определения Диабенола. Проверка правильности и воспроизводимости разработанных условий проведена с использованием модельного раствора, содержащего 0,5% вещества и 0,9% NaCl.

Ход определения:

В делительную воронку наливали 10 мл воды с оптимальным значением pH (таблица 1), добавляли аликвотный объем модельного раствора, 2-3 мл красителя, 10,0 мл хлороформа и экстрагировали.

Для расчета содержания вещества в модельном растворе использовали калибровочные зависимости:

для ЭО $y=0,118+1,88 \cdot 10^4 \cdot x$ ($\rho=0,991$)

для БКП $y=0,070+2,36 \cdot 10^4 \cdot x$ ($\rho=0,969$)

для БКЗ $y=0,013+2,40 \cdot 10^4 \cdot x$ ($\rho=0,937$)

для МО $y=-0,005+1,75 \cdot 10^4 \cdot x$ ($\rho=0,991$)

для БТС $y=0,016+2,47 \cdot 10^4 \cdot x$ ($\rho=0,998$),

где y – оптическая плотность, x – концентрация Диабенола, моль/л.

Наиболее правильные и воспроизводимые результаты (таблица 4) получены при применении бромтимолового синего водорастворимого, метилового оранжевого и бромкрезолового пурпурного.

Таблица 4

Метрологические характеристики анализа модельного раствора (n=5)

Краситель	Среднее значение, %	Относительное стандартное отклонение, S_r	Доверительный интервал, $\delta_{0,95}$	Относительная погрешность, %	Вероятная относительная погрешность, %
БКЗ	0,54	0,028	0,019	7,4	3,7
МО	0,51	0,020	0,014	2,0	2,7
БТС	0,51	0,032	0,03	1,2	4,4
ЭО	0,45	0,023	0,011	10	3,5
БКП	0,52	0,011	0,008	4,0	1,5

Закключение

На основании установленных оптимальных условий экстракции разработана экстракционно-фотометрическая методика определения нового лекарственного средства –

Диабенола. Методика характеризуется достаточно хорошей точностью и воспроизводимостью. Преимуществом метода является возможность определения Диабенола в растворах с низкой концентрацией, а также его определение в многокомпонентных смесях.



ЛИТЕРАТУРА

1. А.А.Спасов, И.Н.Иёжица, Л.И.Бугаева, В.А.Анисимова. Спектр фармакологической активности и токсикологические свойства производных бензимидазола //Химико-фармацевтический журнал. – 1999. - №5. - С. 6-17.
2. А.А.Спасов, Л.А.Смирнова, И.Н. Иёжица, С.А.Сергеева, А.А.Озеров. Фармакокинетика некоторых производных бензимидазола //Вопросы медицинской химии. – 2001. - Том 47, №4. - С.233-258.
3. M.A.Samotrueva, S.A. Khivrina, A.B.Matveev. Some Aspects of Immunomodulatory Effects of New Benzimidazole Derivatives// Bulletin of Experimental Biology and Medicine. - Vol.139, No. 1. – 2005.
4. I.G. Popovich, M.A. Zabezhinski, P.A. Egormin, et al. Insulin in aging and cancer: antidiabetic drug diabenol as geroprotector and anticarcinogen //The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2005. – №37. – P. 1117-1129.
5. Патент RU 2061481 C1. Средство, обладающее антиагрегационной активностью. Анисимова В.А.
6. Патент FR 2 691 462-A1.Nouveaux derives du benzimidazole, leur procede de preparation et les compositions pharmaceutiques qui les contiennent. Anisimova V.A.
7. Патент US 5623073. Benzimidazole compounds. Anisimova V.A.
8. Коренман И.М. Экстракция в анализе органических веществ. - М., 1977.
9. Булатов М.И., Калинин И.П. Фотометрические методы анализа. – М., 1986. - 432с.

ПОСТУПИЛА: 18.12.2009