

УДК 547.562.4:543.544.943.3

ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ОКИСЛЕНИЯ МЕДИБОРОЛА И РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ЕГО ИДЕНТИФИКАЦИИ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Шелехова Вера Александровна,

аспирант кафедры фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Россия, 634050, Томск, ул. Московский тракт, д. 2. E-mail: v_shelekhova@mail.ru

Краснов Ефим Авраамович,

д-р фармацевт. наук, проф. кафедры фармацевтической химии ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Россия, 634050, Томск, ул. Московский тракт, д. 2. E-mail: krasnov.37@mail.ru

Слепченко Галина Борисовна,

д-р хим. наук, проф. кафедры физической и аналитической химии, научный руководитель лаборатории микропримесей Института природных ресурсов ТПУ, Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 30. E-mail: slepchenkob@mail.ru

Дерябина Валентина Ивановна,

канд. хим. наук, инженер кафедры физической и аналитической химии Института природных ресурсов Томского политехнического университета, Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, д. 30. E-mail: microlab@tpu.ru

Актуальность работы обусловлена необходимостью создания методики качественного определения нейропротектора медиборол в лекарственных препаратах.

Цель работы: исследование реакции окисления пространственно-затрудненного фенола медиборол в присутствии щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия и разработка методики идентификации медиборол в лекарственных препаратах на основе этой реакции.

Методы исследования: для исследования продукта реакции окисления медиборол использованы методы УФ-, ИК-Фурье- и ЯМР-Фурье-спектроскопии, элементного анализа; для идентификации медиборол в лекарственных препаратах – хроматография в тонком слое.

Результаты: исследована реакция окисления медиборол со щелочным раствором калия гексацианоферрата (III). С помощью физико-химических методов установлена структура конечного продукта реакции. Предложен способ идентификации медиборол в лекарственных препаратах на основе данной реакции с использованием метода хроматографии в тонком слое.

Ключевые слова:

Медиборол, раствор в масле для инъекций, суппозитории, реакция окисления, хроматография в тонком слое.

Введение

Одним из пространственно-затрудненных фенолов (ПЗФ), синтезированных в последнее десятилетие, является 2,6-диизоборнил-4-метилфенол или медиборол [1]. Данное соединение проявило себя как перспективное нейропротекторное средство для лечения и профилактики инсульта. Медиборол обладает рядом ценных фармакологических свойств: антиоксидантным, антигипоксическим, антитромбогенным, гемореологическим, нейропротекторным и способностью к улучшению перфузии ишемизированной зоны в сочетании с низкой токсичностью (относится к IV классу опасности). При этом нейропротекторное действие медиборол является комплексным и обусловлено как нейрональным (снижение интенсивности переки-

ного окисления липидов в мозговой ткани), так и экстранейрональными (повышение мозгового кровотока, улучшению реологических свойств крови) эффектами. Антитромбогенное действие медиборол связано с его способностью снижать агрегацию тромбоцитов, повышать антитромбоцитарную активность сосудистой стенки и проявлять эндотелийпротекторный эффект [2]. На основе данного биологически активного вещества была получена инъекционная лекарственная форма на основе растительного масла, а также были разработаны суппозитории [3]. Учитывая перспективы его применения и отсутствие данных по определению медиборол в лекарственных препаратах, возникла необходимость разработки методик определения в данных объектах.

У медиборола, как и у других ПЗФ, проявлению фенольных свойств мешает присутствие объемных групп углеводородов в двух орто-положениях по отношению к гидроксильной группе. Поэтому такие вещества не растворяются в водных растворах щелочей и не реагируют на обычные реакции фенолов, например, взаимодействие с раствором хлорида железа (III) или металлическим натрием [4–6].

Но согласно литературным данным [7–12] ПЗФ способны подвергаться окислению, причем действие окислителей на фенолы может приводить к димеризации с образованием связей С-С между орто- и пара-положениями исходных молекул, окислению до свободных радикалов, гидроксильрованию в ароматическое кольцо, и особенно окислению до хинонов. Например, реакция окисления 2,6-ди-трет-бутилфенола, катализируемая комплексами кобальта, приводит к образованию основного продукта – 3,3',5,5'-тетра-трет-бутилфенохинона и частично к образованию 2,6-ди-трет-бутилбензохинона [13]. В ходе реакций окисления ПЗФ 2,4-ди-трет-бутилфенола, 2,6-диметилфенола и 2,6-ди-трет-бутилфенола, катализируемых комплексом меди (I) на основе м-ксилена, образуются С-С связанные бисфенолы и дифенохиноны [14].

В работах С.Д. Cook [15–19] была описана следующая реакция окисления: под действием щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия или диоксидом свинца образуются феноксильные радикалы, которые на воздухе переходят в окрашенные продукты: от желтого до красного цвета.

С помощью различных окислителей (оксид свинца (IV), оксид серебра (I) и гексацианоферрат (III) калия) было установлено, что феноксильные радикалы, образующиеся при окислении фенолов, обладают разной стабильностью, что связано со строением исходного фенола и определяет их способность к дальнейшим превращениям. Например, окисление 2,4,6-три-трет-бутилфенола приводит к образованию феноксильного радикала, устойчивого в отсутствие кислорода в течение продолжительного времени. В противоположность этому при окислении 2,6-ди-трет-бутил-4-метилфенола (инола) возникает менее стабильный феноксильный радикал, превращения которого дают разнообразные конечные продукты. При окислении фенолов, не содержащих в орто-положениях объемных заместителей, возникают еще менее стабильные радикалы, время жизни которых сокращается до сотых долей секунды [20].

Поэтому реакция окисления представляет интерес для изучения химических свойств нового ПЗФ – медиборола, и для его идентификации в лекарственных препаратах, в таких как раствор в масле для инъекций и суппозитории. Целью данной работы явилось исследование реакции окисления медиборола в присутствии щелочного раствора калия гексацианоферрата (III) и разработка на ее основе методики идентификации медиборола в лекарственных препаратах методом тонкослойной хроматографии.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использовали субстанцию медиборола, синтезированную в Институте химии Коми НЦ УрО РАН, и лекарственные формы медиборола (раствор медиборола 2 % в масле для инъекций и суппозитории с медиборолом 0,05 г), полученные в ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России [3]. В работе также использовали образцы примесей медиборола: *n*-крезол (Fluka, Германия) и 2-изоборнил-4-метилфенол, синтезированный в Институте химии Коми НЦ УрО РАН.

Получение продукта реакции окисления медиборола осуществляли по методике, согласующейся с работами С.Д. Cook [15, 16, 18]: 0,5 г медиборола растворяли в 50 см³ гексана, а 2,5 г гидроксида калия и 7,5 г гексацианоферрата (III) калия – в 50 см³ воды в конической колбе вместимостью 250 см³. Затем раствор медиборола прибавляли по каплям к щелочному раствору гексацианоферрата (III) калия в течение 4-х часов при постоянном перемешивании на магнитной мешалке, при этом верхний гексановый слой постепенно окрашивался в ярко-оранжевый цвет. Полученный раствор переносили в делительную воронку и отделяли нижний водный слой. Затем гексановый раствор промывали водой до нейтральной реакции по универсальному индикатору и отрицательной реакции образования «турнбулевой сини» с сульфатом железа (II) (FeSO₄·2H₂O) в промывных водах. Гексановый раствор концентрировали досуха под вакуумом при 30 °С. Для отделения медиборола от полученного продукта в колбу постепенно добавляли этанол до объема 100 см³. При этом колбу, соединенную с обратным холодильником, нагревали на водяной бане при температуре 80...85 °С. Поскольку продукт реакции значительно хуже растворялся в этаноле, чем медиборол, горячий раствор фильтровали через стеклянный фильтр ВФ-2-16-ПОР и остаток на фильтре высушивали в эксикаторе. Отсутствие медиборола подтверждали методом ТСХ на пластинках «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ» в системе растворителей гексан–этилацетат в соотношении 95:5.

При исследовании продукта реакции медиборола со щелочным раствором гексацианоферрата (III) калия использовали следующую приборную базу. УФ-спектры снимали с использованием спектрофотометра СФ-2000-02 (Россия) в кварцевых кюветках с толщиной поглощающего слоя 1 см.

ИК-спектры получали с помощью прибора ИК-Фурье спектрометр Nicolet 5700 (США) в диапазоне 4000...400 см⁻¹ в таблетках калия бромид (1 мг/300 мг KBr).

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали с использованием ЯМР-Фурье-спектрометра AVANCE AV 300 (Bruker, Германия) при 300 К и при рабочей частоте 300 и 75 МГц, соответственно. В качестве внутреннего стандарта применяли тетраметилсилан (ТМС). Образцы готовили путем растворения вещества в дейтерохлороформе (CDCl₃). Все значения химических сдвигов выражены в м.д. (δ-шка-

ла) по отношению к ТМС. Элементный анализ выполняли с помощью анализатора CHNS, O «Vario EL Cube» (Elementar, Германия).

Хроматографирование в тонком слое (ТСХ) выполняли в восходящем токе заданной системы растворителей при комнатной температуре в герметически закрытых стеклянных камерах, предварительно насыщенных заданной системой, используя хроматографические пластины марки «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ» (Россия). Приготовление раствора образца медиборола заключалось в следующем: навеску образца субстанции медиборола массой от 0,04 до 0,06 г, взятой с точностью до 0,001 г, помещали в мерную колбу вместимостью 10 см³, прибавляли 5 см³ хлороформа, перемешивали до полного растворения и доводили хлороформом до метки. Аликвоту полученного раствора объемом 2 см³ переносили в мерную колбу вместимостью 10 см³ и доводили хлороформом до метки. Нанесение растворов исследованных образцов на хроматографические пластины осуществляли при помощи калибровочной микропипетки. Время хроматографирования составляло 20...30 мин. Все величины положения пятен веществ по окончании хроматографирования (Ratio of fronts, R_f) являются средними из 5-ти измерений.

Результаты и их обсуждение

ПЗФ могут вступать в реакцию под действием щелочного раствора калия гексацианоферрата (III) по двум механизмам (рис. 1), так как феноксильные радикалы, образующиеся при окислении фенолов, обладают разной стабильностью, что определяет их способность к дальнейшему превращению. Поэтому для выделения продукта взаимодействия медиборола со щелочным раствором калия гексацианоферрата (III) и подтверждения его структуры была проведена реакция окисления по методике, согласующейся с работами С.Д. Cook [15, 16, 18].

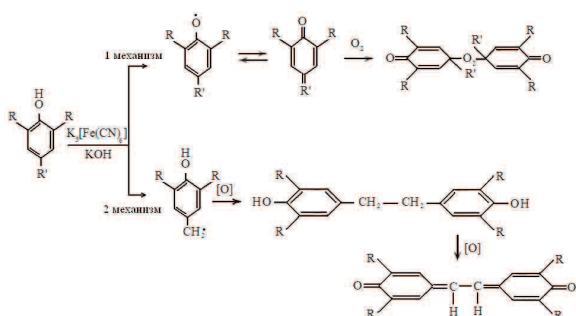


Рис. 1. Взаимодействие пространственно-затрудненных фенолов со щелочным раствором гексацианоферрата (III) калия [15, 16, 18]

В результате было получено однородное вещество, растворы которого в гексане в зависимости от концентрации имеют цвет от желтого до оранжевого. Поэтому данные растворы в видимой области поглощают максимально свет в синей зоне спектра

(400...500 нм), и в УФ-спектре наблюдаются два максимума поглощения: слабо выраженный при 302±2 и высокоинтенсивный 465±2 нм, а также плечо в области 434 нм (рис. 2). Выход продукта реакции составил 61,9 % по отношению к массе медиборола.

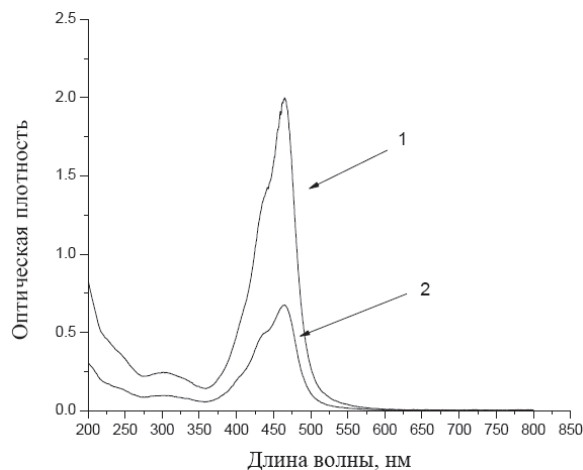


Рис. 2. Ультрафиолетовые спектры растворов продукта реакции окисления медиборола в гексане с концентрациями: 1) 0,0025; 2) 0,001 %

Для установления структуры полученного вещества – продукта превращения медиборола – были сняты его спектры ИК- и ЯМР ¹³C и ¹H.

Для ИК-спектра исследуемого вещества характерно наличие интенсивных полос поглощения в области 2800...3000 см⁻¹, отвечающих валентным колебаниям С-Н-связей в -СН₂- и СН₃- группах. В диапазоне 1340...1480 см⁻¹ полосы поглощения соответствуют деформационным колебаниям С-Н-связи в этих группах. Полоса поглощения 1605 см⁻¹ свидетельствует о наличии в структуре исследуемого вещества карбонильной группы (С=О), 1572 см⁻¹ – о сопряженных двойных связях (С=С). Обертон валентных колебаний карбонильной группы лежит в области 3550...3200 см⁻¹ (рис. 3).

Согласно полученным спектрам ЯМР ¹H и ¹³C исследуемое вещество представляет собой соединение, структура которого представлена на рис. 4.

Отсутствие пероксидной группы в продукте реакции окисления медиборола подтвердилось качественной реакцией на данную группу с 2 % раствором иодида калия, подкисленным разбавленной хлористоводородной кислотой, так как не наблюдалось окрашивания хлороформного слоя в фиолетовый цвет за счет выделения йода и не появлялось синее окрашивание при добавлении раствора крахмала. В то же время данное соединение вступало в реакцию восстановления в присутствии разбавленной хлористоводородной кислоты и цинка, при этом наблюдалось исчезновение окраски, что указывает на наличие двойных связей в веществе.

Полученные значения элементного анализа исследуемого вещества, % : С 85,60, Н 9,72, О 4,38 соответствовали брутто-формуле С₅₄Н₇₄О₂ (вычисленные соотношения, % : С 85,89, Н 9,88, О 4,23).

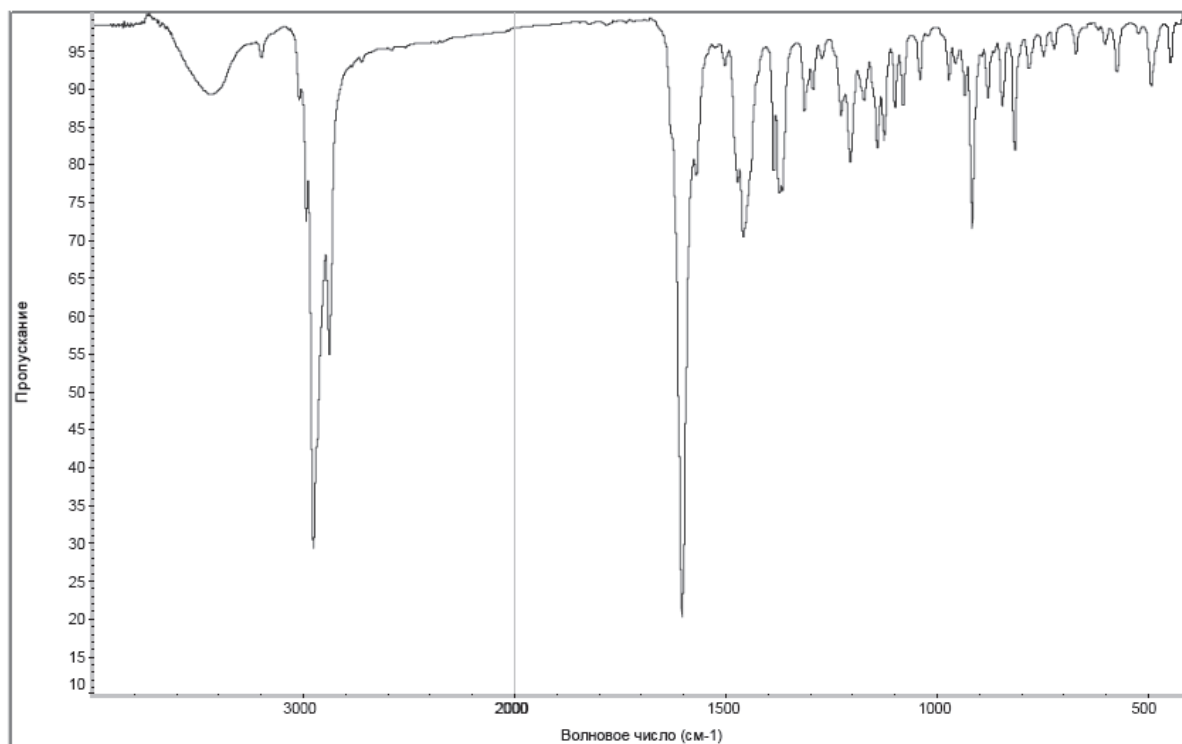


Рис. 3. Инфракрасный спектр продукта реакции окисления медиборола

На основании вышеизложенного можно заключить, что продуктом реакции окисления медиборола в присутствии щелочного раствора гексацианоферрата (III) калия является 3,5,3',5'-тетраизоборнилстильбен-4,4'-хинона, а реакция окисления медиборола проходит по второму механизму.

Метод ТСХ позволяет отделить определяемое вещество от матрицы лекарственных форм: растительных масел и твердого жира, которые препятствуют окислению медиборола. Поэтому для идентификации медиборола в лекарственных формах (раствор в масле для инъекций и суппозитории) был выбран указанный метод с использованием в качестве проявителя щелочной раствор гексацианоферрата (III) калия.

В качестве системы растворителей была выбрана смесь гексана и этилацетата в объемном соотношении 95:5, достоинством которой является отделение медиборола от его возможных примесей [4], а также способность отделения вспомогательных компонентов лекарственных форм.

Для идентификации медиборола в лекарственных формах методом ТСХ необходимо было подобрать оптимальные концентрации растворов гексацианоферрата (III) калия и гидроксида калия и их соотношения с целью наилучшего проявления медиборола на хроматограммах. Для этого проводили серию определений на пластинках марки «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ», используя 0,1 % хлороформные растворы медиборола, а в качестве проявителя – 0,5, 1, 2, 5 и 10 % растворы гексацианоферрата (III) калия и 1 % раствор гидроксида калия в различных соотношениях.

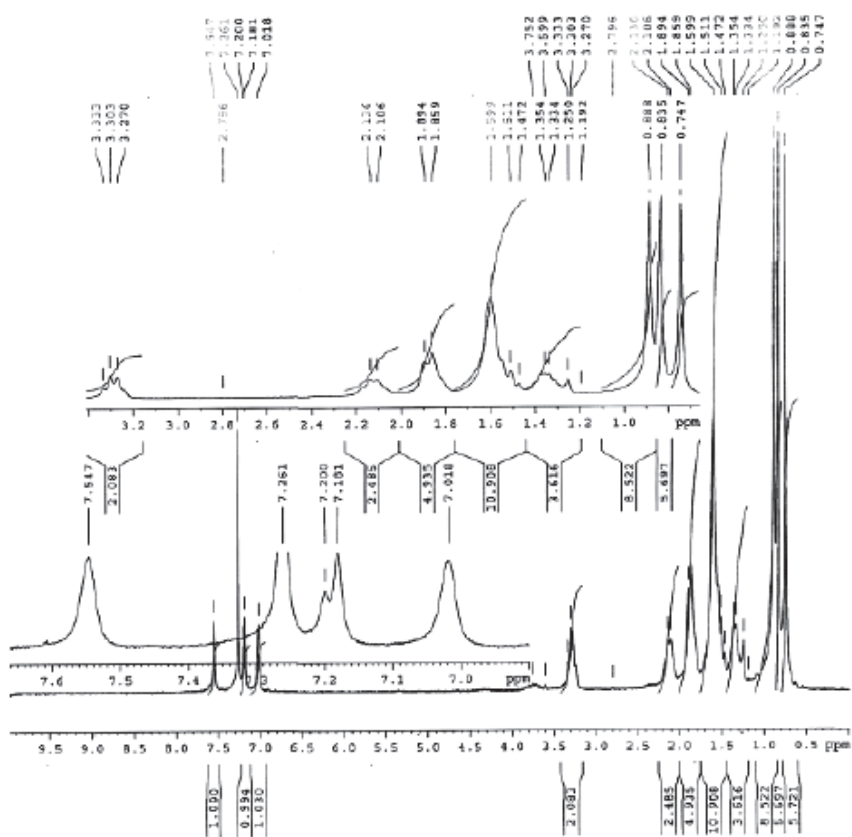
Наиболее интенсивные пятна медиборола наблюдались при проявлении 1 % растворами гексацианоферрата (III) калия и гидроксида калия в соотношениях 4:1.

Для ускорения протекания реакции окисления медиборола после проявления щелочным раствором гексацианоферрата (III) калия методом «погружения» пластинки нагревали в сушильном шкафу при 80 °С в течение 5 мин.

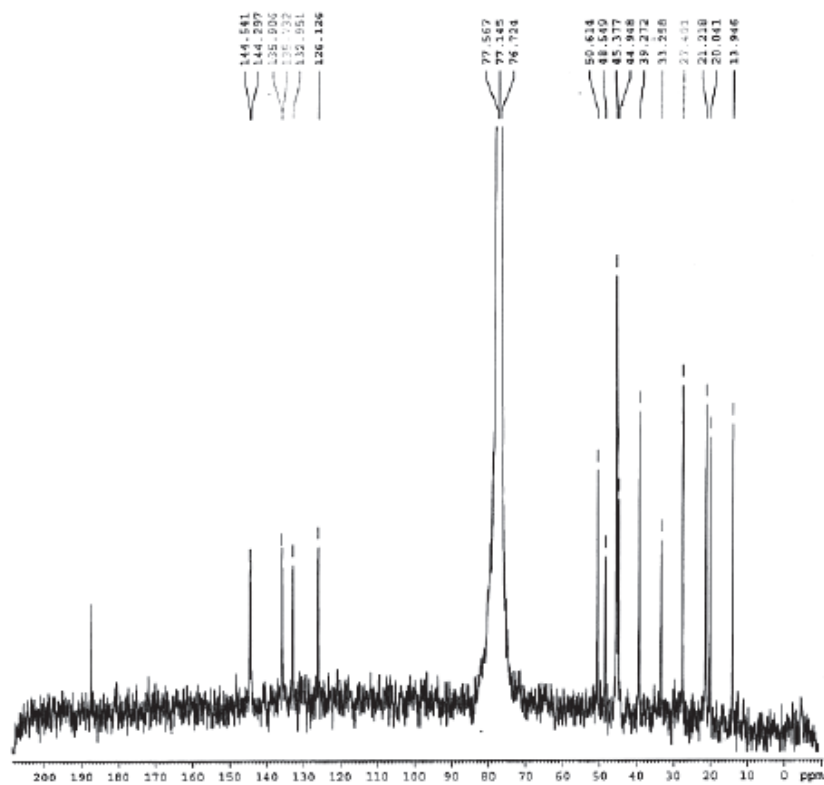
Для подтверждения специфичности щелочного раствора калия гексацианоферрата (III) использовали пластинки марки «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ». На пластики наносили следующие хлороформные растворы: медиборола, его лекарственных форм (2 % раствор медиборола в персиковом и оливковом маслах и суппозитории), масел персикового и оливкового, суппозиторной основы, а также возможных примесей медиборола (*n*-крезола и 2-изоборнил-4-метилфенола).

Пластинки с нанесенными пробами хроматографировали в выбранной системе растворителей гексан-этилацетат (95:5). Первую хроматограмму проявляли насыщенным раствором перманганата калия, вторую – 1 % растворами гексацианоферрата (III) калия и гидроксида калия в соотношениях 4:1. Схемы хроматограмм представлены на рис. 5.

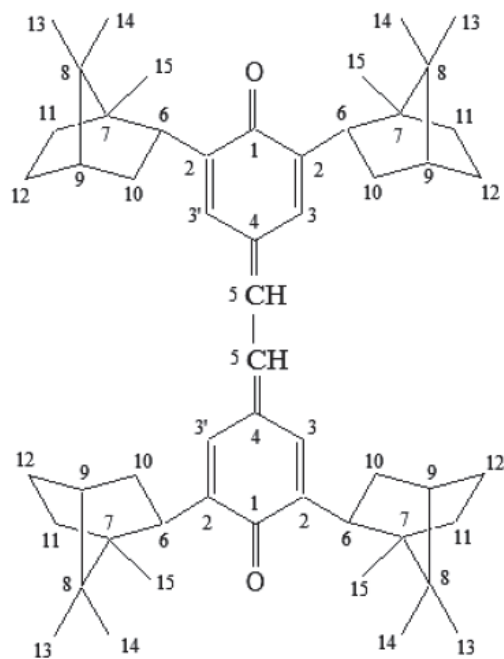
Из рис. 5 видно, что преимуществом выбранного проявителя перед классическим является специфичность по отношению к замещенным фенолам. Поэтому щелочной раствор калия гексацианоферрата (III) следует использовать в качестве проявителя для идентификации медиборола в лекарственных формах методом ТСХ.



1



2



Атом	δ , (ЯМР ^{13}C)	м.д.	δ , м.д. (ЯМР ^1H)
1	187,50	-	-
2	144,42	-	-
3	132,95	-	7,02
3'	-	-	7,20
4	135,82	-	-
5	126,13	-	7,55
6	50,61	-	3,30
7	48,55	-	-
8	45,38	-	-
9	44,95	-	2,12
10	39,27	-	1,88
11	33,26	-	1,51
12	27,40	-	1,34
13	21,21	-	0,89
14	20,01	-	0,84
15	13,95	-	0,75

3

Рис. 4. Спектры ядерного магнитного резонанса ^1H (1) и ^{13}C (2) продукта реакции окисления медиборола, структура и величина химических сдвигов атомов углерода и водорода исследуемого вещества (3)

В результате проведенных исследований создана методика идентификации медиборола в масле 2 % для инъекций, которая заключается в следующем: навеску пробы 2 % раствора медиборола в масле массой от 0,20 до 0,30 г, взятой с точностью до 0,001 г, помещают в коническую колбу вместимостью 25 см³, прибавляют 10 см³ хлороформа, взбалтывают в течение 2...3 мин до полного растворения. Из полученного раствора берут аликвоту объемом 0,004 см³ и наносят на линию старта пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ» размером 5×10 см. При этом содержание лекарственного вещества в исследуемой пробе составляет в среднем 2 мкг в зависимости от плотности масляного раствора. Использование большей навески масляного раствора медиборола может привести к тому, что компоненты масла будут препятствовать разделению веществ на пластинке, и в результате будет наблюдаться меньшее значение R_f медиборола в испытуемом растворе, по сравнению с R_f стандартного образца. Рядом наносят 0,002 см³ 0,1 % раствора образца медиборола в хлороформе, что соответствует содержанию медиборола в данном объеме 2 мкг. Для подтверждения наличия медиборола в суппозиториях: одну свечу с медиборолом помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 50 см³, прибавляют 25 см³ хлороформа, взбалтывают до полного растворения. Аликвоту полученного раствора объемом 0,002 см³ наносят на линию старта пластинки «Сорбфил ПТСХ-АФ-УФ» размером 5×10 см. При этом содержание лекарственного вещества в исследуемой пробе составляет в среднем 4 мкг в

зависимости от массы суппозитория. Рядом наносят 0,004 см³ 0,1 % раствора образца медиборола в хлороформе, что соответствует содержанию лекарственного вещества в данном объеме 4 мкг. Для проведения анализа исследуемые растворы и раствор образца медиборола наносятся на пластинку в близких количествах по содержанию медиборолу, чтобы на пластинках пятна медиборола исследуемых растворов и раствора образца не отличались по форме и размерам.

Пластинки с нанесенными пробами хроматографируют в системе растворителей гексан-этилацетат (95:5). После прохождения фронтом растворителя около 8,5 см пластинки вынимают из камеры, высушивают на воздухе в течение 5 мин, пропускают через раствор 1 % гексацианоферрата (III) калия и 1 % гидроксида калия в соотношениях 4:1 и нагревают в сушильном шкафу при 80 °С в течение 5 мин. После проявления на хроматограммах должны наблюдаться оранжевые пятна медиборола, находящиеся на уровне пятна стандартного образца.

Было определен предел обнаружения медиборола щелочным раствором гексацианоферрата (III) калия согласно данной методики. Он составил 0,06 мкг или 0,00003 мг/дм³ медиборола, содержащегося в анализируемой пробе.

Для установления правильности разработанной методики на пластинки наносили хлороформные растворы, представленные в таблице. Как видно из таблицы, матрица лекарственных форм не оказывает влияния на определение медиборола в данных препаратах.

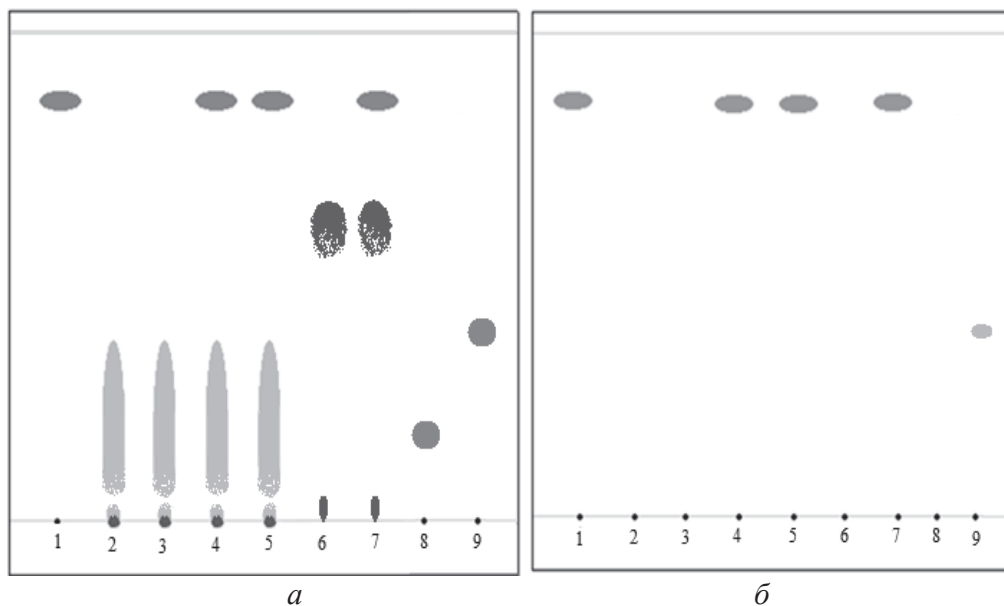


Рис. 5. Хроматограммы с использованием в качестве проявителя насыщенного раствора перманганата калия (а) и смесь 1 % раствора гексацианоферрата (III) калия и 1 % раствора гидроксида калия (4:1) (б), с нанесенными хлороформными растворами: медиборола (1), масел персикового (2) и оливкового (3), 2 % растворов медиборола в персиковом (4) и оливковом (5) маслах, суппозиторной основы (6) и суппозиториях с медиборолом (7), п-крезола (8) и 2-изоборнил-4-метилфенола (9)

Таблица. Проверка правильности методики идентификации медиборола в лекарственных препаратах методом ТСХ

Проба	Содержание медиборола в анализируемой пробе, наносимой на пластинку, мг/дм ³	Результат детектирования хроматограмм
Модельный раствор, состоящий из масла растительного (персикового/оливкового) и медиборола	0,00003	+
Модельный раствор, состоящий из основы суппозитория и медиборола	0,00003	+
Раствор, полученный путем растворения 2 % масляного раствора медиборола в хлороформе	0,0005	+
	0	-
Раствор, полученный путем растворения суппозитория в хлороформе	0,001	+
	0	-

«+» – наличие, «-» – отсутствие медиборола в анализируемой пробе.

Таким образом, разработанная методика идентификации обладает высокой чувствительностью и селективностью, что позволит контролировать качество выпускаемых препаратов медиборола в

контрольно-аналитических лабораториях, а также выявлять фальсифицированные лекарственные средства. Данная методика не требует много времени для проведения анализа, что свидетельствует об ее экспрессности. Кроме того, она обладает такими достоинствами, как простота определения медиборола в лекарственных препаратах и доступность реактивов, что также важно для практического применения.

Выводы

1. Медиборол способен вступать в окислительно-восстановительную реакцию с гексацианоферратом (III) калия в щелочной среде. С помощью физико-химических методов установлено, что конечным продуктом реакции является 3,5,3',5'-тетраизоборнилстильбен-4,4'-хинон.
2. Впервые разработана чувствительная методика идентификации медиборола в лекарственных формах (раствор в масле 2 % для инъекций и суппозитории) методом ТСХ на основе окислительно-восстановительной реакции. В качестве проявителя был подобран щелочной раствор гексацианоферрата (III) калия, являющийся специфичным по отношению к лекарственному веществу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Чукичева И.Ю., Федорова И.В., Кучин А.В. Исследование алкилирования *p*-крезола камфеном в присутствии кислотных катализаторов // Химия растительного сырья. – 2009. – № 3. – С. 63–68.
2. Иванов И.С. Нейропротекторная и антитромбогенная активность 4-метил-2,6-диизоборнилфенола: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Томск, 2009. – 23 с.
3. Шелехова В.А., Краснов Е.А., Степанова Э.Ф. Разработка технологии и оценка качества суппозитория с медиборолом // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7 (ч. 2). – С. 445–448.
4. Назмутдинова Е.Е. Физико-химические свойства нового пространственно-затрудненного фенола и разработка параметров стандартизации его таблетированной формы: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Самара, 2011. – 23 с.
5. Полещук О.Х., Краснов Е.А. Исследование медиборола на основании теории функционала плотности // Бутлеровские сообщения. – 2012. – Т. 30. – № 6. – С. 37–40.
6. Stillson G.H., Sawyer D.W., Hunt C.K. The hindered phenols // J. Am. Chem. Soc. – 1945. – V. 67. – № 2. – P. 303–307.
7. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты. Реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
8. Спектры ЭПР феноксильных радикалов из 2,6-диизоборнил-4-метилфенола / Р.А. Садыков, Г.Д. Сафина, И.Ю. Чукичева, Р.Р. Кинзябулатов, А.В. Кучин // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2012. – № 8. – С. 1650–1651.
9. Стригун Л.М., Варганян Л.С., Эмануэль Н.М. Окисление пространственно-затрудненных фенолов // Успехи химии. – 1968. – Т. 37. – № 6. – С. 969–997.
10. Cook C.D., Butler L.C. The dimerization of 2,4-di-*t*-butyl-6-ethyl-quinone methide. A possible diels-alder mechanism // J. Org. Chem. – 1969. – V. 34. – № 1. – P. 227–229.
11. Coppinger G.M., Campbell T.W. Reaction between 2,6-di-*t*-butyl-*p*-cresol and bromine // J. Am. Chem. Soc. – 1953. – V. 73. – № 3. – P. 734–736.
12. Hudlický M. Oxidation in organic chemistry. – Washington, DC: Am. Chem. Soc., 1990. – 433 p.
13. Bedell S.A., Martell A.E. Oxidation of 2,6-di-*tert*-butylphenol by molecular oxygen. 2. Catalysis by Cobaltous polyamine chelates through their (μ -peroxo)- and (μ -peroxo)(μ -hydroxo) dicobalt (III) complexes // J. Am. Chem. Soc. – 1985. – V. 107. – № 26. – P. 7909–7913.
14. Gupta R., Mukherjee R. Catalytic oxidation of hindered phenols by a copper (I) complex and dioxygen // Tetrahedron Lett. – 2000. – V. 41. – P. 7763–7767.
15. Cook C.D., Kuhn D.A., Fianu P. Oxidation of hindered phenols. IV. Stable phenoxy radicals // J. Am. Chem. Soc. – 1956. – V. 78. – № 9. – P. 2002–2005.
16. Cook C.D., Norcross B.E. Oxidation of hindered phenols. V. The 2,6-di-*t*-butyl-4-isopropyl and -4-*sec*-butylphenoxy radicals // J. Am. Chem. Soc. – 1956. – V. 78. – № 15. – P. 3797–3799.
17. Cook C.D., Woodworth R.C., Fianu P. The thermal decomposition of two bis-(tri-alkylcyclohexadienone) peroxides // J. Am. Chem. Soc. – 1956. – V. 78. – № 16. – P. 4159–4160.
18. Cook C.D., Woodworth R.C. Oxidation of hindered phenols. II. The 2,4,6-tri-*t*-butylphenoxy radical // J. Am. Chem. Soc. – 1953. – V. 75. – № 24. – P. 6242–6244.
19. Somers B.G., Cook C.D. The preparation of 2,4,6-tri-*t*-butylphenol // J. Chem. Educ. – 1955. – V. 32. – № 6. – P. 312–313.
20. Походенко В.Д., Хижный В.А., Бидзиля В.А. Стабильные феноксильные радикалы // Успехи химии. – 1968. – Т. 37. – № 6. – С. 998–1024.

Поступила 12.02.2014 г.

UDC 547.562.4:543.544.943.3

INVESTIGATION OF MEDIBOROL OXIDATION AND DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR ITS IDENTIFICATION IN THE DOSAGE FORMS BY THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

Vera A. Shelekhova,

Siberian State Medical University, Russia, 634050, Tomsk, Moscovski Trakt Street, 2. E-mail: v_shelekhova@mail.ru

Efim A. Krasnov,

Dr. Sc., Siberian State Medical University, Russia, 634050, Tomsk, Moscovski Trakt Street, 2. E-mail: krasnov.37@mail.ru

Galina B. Slepchenko,

Dr. Sc., Tomsk Polytechnic University, Russia, 634050, Tomsk, Lenin avenue, 30. E-mail: slepchenkobj@mail.ru

Valentina I. Deryabina,

Cand. Sc., Tomsk Polytechnic University, Russia, 634050, Tomsk, Lenin avenue, 30. E-mail: microlab@tpu.ru

The urgency of the discussed issue is caused by the need to carry out a qualitative analysis of the method of mediborol neuroprotective agents in the dosage forms.

The main aim of the study is to investigate the oxidation of hindered phenol mediborol in the presence of alkaline solution of potassium hexacyanoferrate (III) and to develop the method for identifying mediborol in the dosage forms using this reaction.

The methods used in the study: To investigate the product of mediborol oxidation the authors have used the methods of UV, IR and NMR spectroscopy, elemental analysis, to analyze mediborol in the dosage forms the thin layer chromatography was applied.

The results: The authors studied mediborol oxidation with an alkaline solution of potassium hexacyanoferrate (III). The reaction final product structure was found using physical and chemical methods. The authors developed the method for identifying mediborol in the dosage forms based on this reaction using the thin layer chromatography.

Key words:

Mediborol, oily solution for injections, suppositories, reaction of oxidation, thin layer chromatography.

REFERENCES

1. Chukicheva I.Yu., Fedorov I.V., Kuchin A.V. Issledovanie alkilirovaniya p-krezola kamfenom v prisutstvii kislotnykh katalisatorov [Study of p-cresol alkylation with camphene in the presence of acid catalyzers]. *Khimiia rastitelnogo syria*, 2009, no. 3, pp. 63–68.
2. Ivanov I.S. *Neyroprotektornaya i antitrombogennaya aktivnost 4-metil-2,6-diiisobornilfenola. Avtoref. Kand. Diss.* [Neuroprotective and antithrombogenic activity of 4-methyl-2,6-diiisobornylphenol. Abstract of Cand. Diss.]. Tomsk, 2009. 23 p.
3. Shelekhova V.A., Krasnov E.A., Stepanova E.F. Razrabotka tekhnologii i otsenka kachestva suppozitoriev s mediborolom [Development of technology and quality evaluation of mediborol's suppositories]. *Fundamentalnye issledovaniya – Fundamental research*, 2012, no. 7, pp. 445–448.
4. Nazmutdinova E.E. *Fisiko-khimicheskie svoystva novogo prostranstvenno-zatrudnennogo fenola i razrabotka parametrov standartizatsii ego tabletirovannoy formy. Avtoref. Kand. Diss.* [Physical and chemical properties of the new hindered phenol and development of standardization parameters for its tablet form. Abstract of Cand. Diss.]. Samara, 2011. 23 p.
5. Poleshchuk O.Kh., Krasnov E.A. Issledovanie mediborola na osnovanii teorii funktsionala plotnosti [Study of mediborol based on functional density theory]. *Butlerovskie soobshcheniya – Butlerov Communications*, 2012, vol. 30, no. 6, pp. 37–40.
6. Stillson G.H., Sawyer D.W., Hunt C.K. The hindered phenols. *J. Am. Chem. Soc.*, 1945, vol. 67, no. 2, pp. 303–307.
7. Roginskiy V.A. *Fenolnye antioksidanty. Reaktsionnaya sposobnost i effektivnost* [Phenolic antioxidants. Reactivity and efficiency]. Moscow, Nauka, 1988. 247 p.
8. Sadykov R.A., Safina G.D., Chukicheva I.Yu., Kinzyabulov R.R., Kuchin A.V. Spektiry EPR fenoksilnykh radikalov is 2,6-diiisobornil-4-metilfenola [EPR spectra of phenoxyl radicals from 2,6-diiisobornyl-4-methylphenol]. *Izvestiya akademii nauk. Seriya Khimicheskaya – Proceedings of the Academy of Sciences. Chemical series – Russian Chemical Bulletin*, 2012, no. 8, pp. 1650–1651.
9. Strigun L.M., Vartanyan L.S., Emanuel N.M. Okislenie prostranstvenno-zatrudnennykh fenolov [Oxidation of hindered phenols]. *Uspekhi Khimii – Russian Chemical Reviews*, 1968, vol. 37, no. 6, pp. 969–997.
10. Cook C.D., Butler L.C. The dimerization of 2,4-di-t-butyl-6-ethenyl-quinone methide. A possible diels-alder mechanism. *J. Org. Chem.*, 1969, vol. 34, no. 1, pp. 227–229.
11. Coppinger G.M., Campbell T.W. Reaction between 2,6-di-t-butyl-p-cresol and bromine. *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, vol. 73, no. 3, pp. 734–736.
12. Hudlický M. *Oxidation in organic chemistry*. Washington, DC: Am. Chem. Soc., 1990. 433 p.
13. Bedell S.A., Martell A.E. Oxidation of 2,6-di-tert-butylphenol by molecular oxygen. 2. Catalysis by Cobaltous polyamine chelates through their (μ-peroxo)- and (μ-peroxo)(μ-hydroxo) dicobalt (III) complexes. *J. Am. Chem. Soc.*, 1985, vol. 107, no. 26, pp. 7909–7913.
14. Gupta R., Mukherjee R. Catalytic oxidation of hindered phenols by a copper (I) complex and dioxygen. *Tetrahedron Lett.*, 2000, vol. 41, pp. 7763–7767.
15. Cook C.D., Kuhn D.A., Fianu P. Oxidation of hindered phenols. IV. Stable phenoxy radicals. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, vol. 78, no. 9, pp. 2002–2005.
16. Cook C.D., Norcross B.E. Oxidation of hindered phenols. V. The 2,6-di-t-butyl-4-isopropyl and -4-sec-butylphenoxy radicals. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, vol. 78, no. 15, pp. 3797–3799.
17. Cook C.D., Woodworth R.C., Fianu P. The thermal decomposition of two bis-(tri-alkylcyclohexadienone) peroxides. *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, vol. 78, no. 16, pp. 4159–4160.
18. Cook C.D., Woodworth R.C. Oxidation of hindered phenols. II. The 2,4,6-tri-t-butylphenoxy radical. *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, vol. 75, no. 24, pp. 6242–6244.
19. Somers B.G., Cook C.D. The preparation of 2,4,6-tri-t-butylphenol. *J. Chem. Educ.*, 1955, vol. 32, no. 6, pp. 312–313.
20. Pokhodenko V.D., Khizhny V.A., Bidzilya V.A. Stabilnye fenoksilnye radikaly [Stable phenoxyl radicals]. *Uspekhi Khimii – Russian Chemical Reviews*, 1968, vol. 37, no. 6, pp. 998–1024.