

ВИВЧЕННЯ УМОВ ЕКСТРАКЦІЇ АГОМЕЛАТИНУ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ

*Вивчено ефективність екстракції агомелатину хлороформом, 1,2-дихлоретаном, гексаном та сумішшю розчинників хлороформ–бутанол (1:1) із водних розчинів при різних значеннях рН середовища. Запропоновано методику кількісного визначення агомелатину на основі реакції з *n*-диметиламінобензальдегідом у середовищі концентрованої сульфатної кислоти. Результати досліджень можуть бути використані при хіміко-токсикологічному аналізі агомелатину.*

КЛЮЧОВІ СЛОВА: агомелатин, екстракція, кількісне визначення, хіміко-токсикологічний аналіз.

ВСТУП. Агомелатин (N-[2-(7-метоксинафтален-1-іл)етил]ацетамід) – один із найефективніших лікарських засобів для терапії депресивних розладів. Агомелатин має інноваційний механізм дії, оскільки він є агоністом мелатонінергічних рецепторів MT_1 і MT_2 та антагоністом серотонінових 5-HT_{2C}-рецепторів, не впливає на захоплення моноамінів, не має спорідненості до альфа- і бета-адренергічних, гістамінергічних та бензодіазепінових рецепторів, не впливає на концентрацію внутрішньоклітинного серотоніну, підсилює вивільнення дофаміну і норадреналіну. За фармакологічною дією даний препарат не має аналогів [1, 2].

Крім безперечного терапевтичного ефекту, при прийманні великої дози агомелатину спостерігаються побічні та токсичні ефекти, які іноді стають причиною смертельних отруень [4, 5].

Тому з метою розробки оптимальних умов ізолювання агомелатину з біологічного матеріалу ми провели дослідження з вивчення впливу рН середовища і природи органічних розчинників на ступінь однократної екстракції агомелатину, а також розробили просту та експресну методику кількісного визначення досліджуваної сполуки, що ґрунтується на реакції агомелатину з *n*-диметиламінобензальдегідом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При вивченні умов екстракції готували розчин агомелатину в етанолі, в 1 мл якого містилось 100 мкг препарату (в перерахунку на основу). Для екстракції використовували такі свіжоперегнані органічні розчинники: хлороформ, 1,2-дихлоретан, гексан та суміш хлороформу з бутанолом (1:1).

© Н. М. Дармограй, 2012.

Для створення необхідного значення рН розчину застосовували універсальну буферну суміш. Значення рН буферних розчинів контролювали потенціометрично за допомогою рН-метра ОР-110 фірми "Radelkis" (Угорщина). Використовували буферні розчини зі значеннями рН від 2,5 до 11,0.

Екстракцію агомелатину проводили таким чином: у ділительні лійки вносили по 9,0 мл універсальної буферної суміші з відповідним значенням рН (від 2,5 до 11,0), по 1,0 мл етанольного розчину агомелатину (100 мкг/мл) і по 10,0 мл одного із вказаних вище органічних розчинників. Вміст ділительних лійок збовтували 2 хв і залишали на 5 хв для розділення фаз. Фазу органічних розчинників відділяли від водних фаз. Органічні розчинники випаровували в потоці азоту, а сухі залишки розчиняли в 5,0 мл метанолу.

Кількість агомелатину в досліджуваних пробах визначали спектрофотометрично за реакцією з *n*-диметиламінобензальдегідом. Для цього використовували по 1,0 мл метанольних розчинів. Методику кількісного визначення агомелатину в розчинах наведено нижче.

Залежність ступеня екстракції (R, %) агомелатину від рН середовища і природи органічних розчинників показано на рисунку 1.

У ході попередніх експериментальних досліджень було встановлено, що агомелатин утворює забарвлену сполуку з *n*-диметиламінобензальдегідом у середовищі концентрованої сульфатної кислоти. Інтенсивність забарвлення цієї сполуки стабільна протягом 60 хв.

Для побудови градувального графіка готували розчин агомелатину в метанолі (100 мкг/мл) та 10 % розчин *n*-диметиламіно-

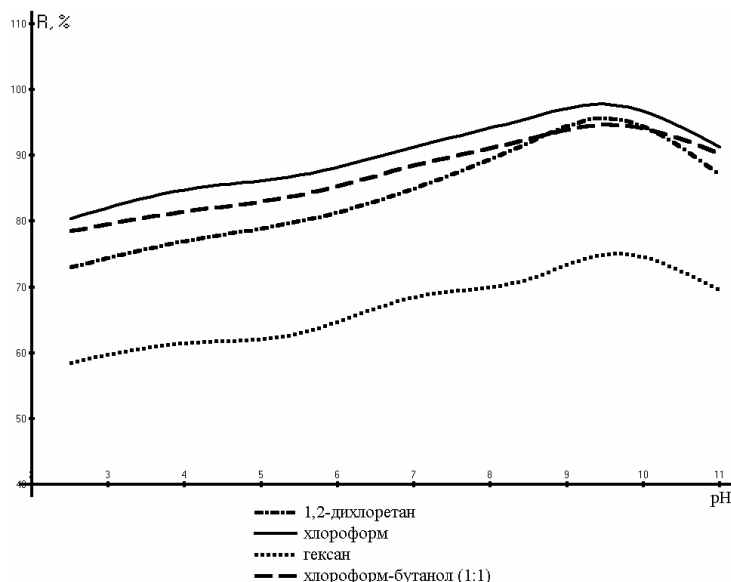


Рис. 1. Залежність ступеня екстракції агомелатину (R , %) від рН середовища та природи органічного розчинника.

бензальдегіду (ч.д.а.) в концентрованій сульфатній кислоті.

Побудова градуовального графіка. В ряд градуюваних пробірок місткістю 10,0 мл вносили по 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 та 0,7 мл стандартного розчину агомелатину в метанолі (100 мкг/мл) та по 0,4 мл 10 % розчину *n*-диметиламінобензальдегіду. Через 5 хв у кожную пробу вносили концентровану сульфатну кислоту до об'єму 5,0 мл. Паралельно готували розчин порівняння шляхом змішування 0,1 мл метанолу, 0,4 мл 10 % розчину *n*-диметиламінобензальдегіду і 4,5 мл концентрованої сульфатної кислоти.

Оптичну густина забарвлених розчинів вимірювали за допомогою спектрофотометра СФ-56 при довжині хвилі 505 нм ($l=1$ см) відносно розчину порівняння.

За одержаними даними будували градуовальний графік (рис. 2) та розраховували рівняння прямої, користуючись методом найменших квадратів [3], яке має вигляд: $A=0,016C-0,008$, де A – оптична густина; C – концентрація агомелатину, мкг/мл. Встановлено, що оптична густина забарвлених розчинів підпорядковується основному закону світлопоглинання в межах концентрацій від 5 до 70 мкг у 5,0 мл кінцевого об'єму.

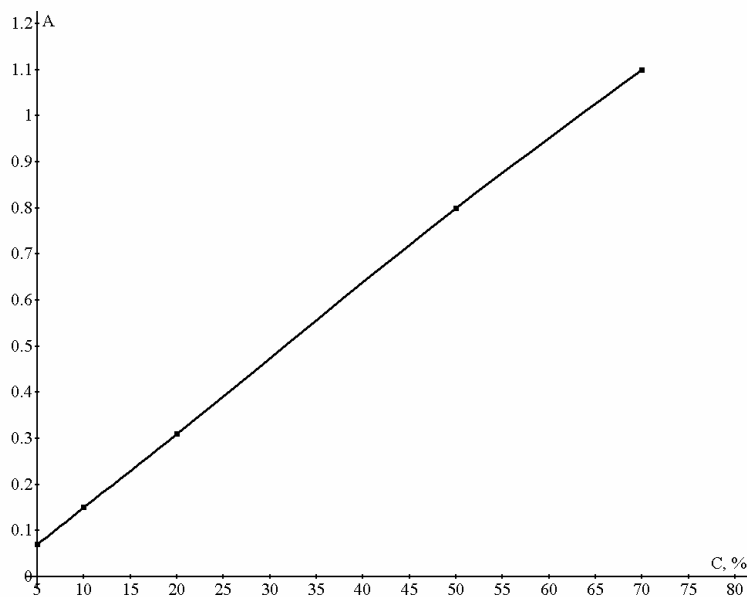


Рис. 2. Градуовальний графік кількісного визначення агомелатину за реакцією з *n*-диметиламінобензальдегідом.

Достовірність результатів методики кількісного визначення агомелатину вивчали на метанольних розчинах препарату з концентрацією від 5 до 70 мкг в 1,0 мл розчину. Для цього в ряд градуйованих пробірок вносили по 1,0 мл розчину, в якому містилося від 5 до 70 мкг агомелатину, по 0,4 мл розчину *n*-диметиламінобензальдегіду і через 5 хв вносили концентровану сульфатну кислоту до об'єму 5,0 мл та вимірювали оптичну густину цих розчинів (спектрофотометр СФ-56, $\lambda=505$ нм, $l=1$ см).

Кількісний вміст препарату в пробі розраховували, використовуючи рівняння прямої. Результати кількісного визначення агомелатину в розчинах на основі реакції з *n*-диметиламінобензальдегідом наведено в таблиці.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Характер кривих екстракції свідчить про те, що агоме-

латин екстрагується хлороформом, гексаном, 1,2-дихлоретаном та сумішшю хлороформу з бутанолом (1:1) як із кислих, так і з лужних розчинів. Ділянка максимуму екстракції всіма розчинниками спостерігається в лужному середовищі.

Зокрема, хлороформом при рН 9,0–10,0 екстрагується до 97,8 % агомелатину. Сумішшю хлороформу з бутанолом (1:1) вдається виєкстрагувати до 94,7 % агомелатину при рН 8,5–9,5, а 1,2-дихлоретаном при рН 9,0–10,0 екстрагується до 95,7 % даної сполуки. Дещо менша кількість агомелатину екстрагується гексаном при рН 9,0–10,0 (до 75 %).

З даних, які наведено в таблиці, видно, що відносна похибка методики кількісного визначення агомелатину в розчинах складає $\pm 1,1$ %. Усі результати досліджень є надійними, оскільки вкладаються в межі довірчого інтервалу.

Таблиця – **Результати кількісного визначення агомелатину в розчинах (середнє з п'яти паралельних визначень)**

Взято агомелатину, мкг	Оптична густина	Знайдено агомелатину		Метрологічна характеристика
		мкг	%	
5	0,07	4,91	98,2	$\bar{X}=99,3$
10	0,15	9,9	99,0	$S=1,09$
20	0,31	19,9	99,5	$S_x=4,8$
50	0,8	50,2	100,4	$\bar{X} \pm \Delta X = 99,3 \pm 1,09$
70	1,1	69,3	99,0	$\varepsilon = \pm 1,1 \%$

ВИСНОВКИ. 1. Вивчено залежність ступеня однократної екстракції агомелатину з водних розчинів від рН середовища та природи органічного розчинника. Встановлено, що найоптимальнішим розчинником є хлороформ, яким при рН 9,0–10,0 екстрагується до 97,8 % агомелатину.

2. Для кількісного визначення агомелатину в пробах запропоновано методику, яка ґрунтується на реакції з *n*-диметиламінобензаль-

дегідом у середовищі концентрованої сульфатної кислоти. Оптична густина забарвлених розчинів підпорядковується основному закону світлопоглинання в межах концентрацій від 5 до 70 мкг агомелатину в пробі. Межа кількісного визначення становить 5 мкг агомелатину в 5,0 мл кінцевого об'єму. Відносна похибка кількісного визначення агомелатину в розчинах становить $\pm 1,1$ %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Амон М. Перспективы в изучении патогенеза и терапии аффективных расстройств: роль мелатонина и серотонина / М. Амон, П.-А. Буае, Е. Моке // Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2007. – № 11. – С. 77–84.
2. Волель Б. А. Вальдоксан (агомелатин): инновационный механизм действия / Б. А. Волель // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2008. – **10**, № 3. – С. 35–39.
3. Чарыков А. К. Математическая обработка ре-

зультатов химического анализа / А. К. Чарыков. – Л. : Химия, 1984. – С. 168.

4. Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT_{2C} receptor blockade / M. J. Millan, M. Brocco, A. Gobert [et al.] // Psychopharmacology. – 2007. – **177**, № 5. – P. 448–458.

5. Fornaro M. Agomelatine in the treatment of panic disorder / M. Fornaro // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. – 2011. – **35**. – P. 286–287.

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ЭКСТРАКЦИИ АГОМЕЛАТИНА ОРГАНИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ

Резюме

Изучена эффективность экстракции агомелатина хлороформом, 1,2-дихлорэтаном, гексаном и смесью растворителей хлороформ-бутанол (1:1) из водных растворов при различных значениях pH среды. Предложена методика количественного определения агомелатина на основе реакции с *p*-диметиламинобензальдегидом в среде концентрированной сульфатной кислоты. Результаты исследований могут быть использованы при химико-токсикологическом анализе агомелатина.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: агомелатин, экстракция, количественное определение, химико-токсикологический анализ.

N. M. Darmohrai
DANYLO HALYTSKYI LVIV NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

INVESTIGATION CONDITIONS OF EXTRACTION OF AGOMELATINE BY ORGANIC SOLVENTS

Summary

The efficiency of agomelatine extraction by chloroform, 1,2-dichloroethane, hexane and a mixture of solvents chloroform-butanol (1:1) from aqueous solutions at different meanings of medium pH was investigated. The method of quantitative determination of agomelatine was proposed. This method is based by reaction with *p*-dimethylaminobenzaldehyde in an environment of concentrated sulfate acid. The research results can be used in chemical and toxicological analysis of agomelatine.

KEY WORDS: agomelatine, extraction, quantitative determination, chemical and toxicological analysis.

Отримано 06.03.12

Адреса для листування: Н. М. Дармограй, вул. Некрасова, 47/32, Львів, 79014, Україна, e-mail: snowfun@mail.ru