



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

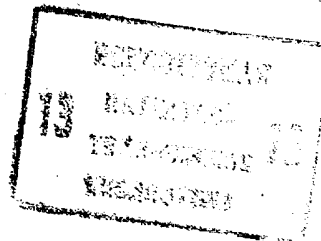
(19) SU (11) 1027608 A

3(5D) G 01 -N 31/08

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 3319830/04
(22) 16.07.81
(46) 07.07.83. Бюл. № 25
(72) В. Г. Великов, Н. Е. Козлов
и В. Г. Сбежнева
(71) Пятигорский фармацевтический
институт
(53) 543.54.42(088.8)
(56) 1. Авторское свидетельство СССР
по заявке № 3216519/04, 15.12.80.
2. Колочевская М. Н. и др. Приме-
нение тонкослойной хроматографии
для анализа некоторых производных
хлорэтиламина. Материалы конферен-
ции молодых ученых. 1ММ, И, М, 1972,
с. 93-94.

(54) (57) СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОИЗВОД-
НЫХ БИС- (β -ХЛОРЕТИЛ)-АМИНА путем
тонкослойной хроматографии в смеси
растворителей с последующей обработ-
кой полученной хроматограммы химичес-
ким реагентом, отличающийся
тем, что, с целью повышения селек-
тивности и чувствительности способа,
в качестве смеси растворителей ис-
пользуют смесь н-бутилового спирта,
уксусной кислоты и воды в соотноше-
нии (1-3): 1:(4-6), в качестве хими-
ческого реагента используют 2-метил-
-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридин
и обработку ведут при 99-100°C и
рН 11-12.

(19) SU (11) 1027608 A

Изобретение относится к аналитической химии, а именно к способам анализа производных бис-(β -хлорэтил)-амина, и может быть использовано в заводских, контрольно-аналитических лабораториях и в аптеках.

Известен способ определения производных бис-(β -хлорэтил)-амина путем обработки анализируемой пробы раствором 1-изониконил-изопропилгидразина при pH 10-11 и 90-100°C [1].

Недостаток способа состоит в его относительно невысокой точности.

Наиболее близким по технической сущности и достигаемому результату является способ определения производных бис-(β -хлорэтил)-амина путем тонкослойной хроматографии анализируемой пробы в смеси растворителей, содержащей хлороформ, метанол с последующим проявлением хроматограммы реактивом Драгендорфа [2].

Недостатком способа является его нелесективность, связанная с тем, что продукты его гидролиза дают аналогичную реакцию, и невысокая чувствительность (0,20-0,28 мг/мл).

Цель изобретения - повышение селективности и чувствительности способа.

Поставленная цель достигается согласно способу определения производных бис-(β -хлорэтил)-амина путем тонкослойной хроматографии анализируемой пробы в смеси растворителей н-бутиловый спирт, уксусная кислота и вода в соотношении 1-3:1:4-6, с последующей обработкой хроматограммы 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридином при 99-100°C и pH 11-12, в качестве смеси растворителей используют смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты и воды в соотношении (1-3):1:(4-6), в качестве реагента используют 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридин и обработку ведут при 99-100°C и pH 11-12.

Пример 1. Определение сарколизина.

Реактивы и растворители: 5% раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида, 20%-ный раствор едкого натра, смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты, воды в соотношении 2:1:5, ацетон, 1%-ные растворы сарколизина, хлорбутина, допана, асалея, циклофосфана в ацетоне.

На линию старта хроматографической бумаги, диаметром 8 см на расстоянии 23 см один от другого наносят 0,5 мл 1%-ного раствора исследуемых препаратов. Высушивают и в подвижную фазу погружают нижний конец жгутика, проходящего через центр круговой хроматограммы.

Через 10-15 мин хроматограмму вынимают из камеры, отмечают положение

растворителя и подсушивают. Высушенные хроматограммы просматривают в УФ-свете и отмечают положение пятен, затем проявляют путем последовательного погружения в 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида и 20%-ный раствор едкого натра на 20-30 с. Хроматограммы высушивают в сушильном шкафу при 100°C и отмечают положение пятна.

На хроматограмме имеется одно пятно, наличие которого подтверждается двумя способами. Элюат имеет полосу поглощения $\lambda_{max}=360$ нм, что соответствует глюконовому альдегиду. Измеряют на спектрометре СФ-4А оптическую плотность при $\lambda_{max}=360$ нм.

Пример 2. Определение хлорбутина.

Реактивы и растворители: 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида, 20%-ный раствор едкого натра, смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты, воды в соотношении 2:1:5, ацетон, 1%-ные растворы сарколизина, хлорбутина, допана, асалея, циклофосфана в ацетоне.

На линию старта хроматографической бумаги диаметром 8 см на расстоянии 23 см один от другого наносят 0,5 мл 1%-ного раствора исследуемых препаратов. Высушивают и в подвижную фазу погружают нижний конец жгутика, проходящего через центр круговой хроматограммы.

Через 10-15 мин хроматограмму вынимают из камеры, отмечают положение растворителя и подсушивают. Высушенные хроматограммы просматривают в УФ-свете и отмечают положение пятен, а затем проявляют путем последовательного погружения в 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида и 20%-ный раствор едкого натра на 20-30 с. Хроматограммы высушивают в сушильном шкафу при 100°C и отмечают положение пятна.

На хроматограмме имеется пятно, наличие которого подтверждается двумя способами. Элюат имеет полосу поглощения $\lambda_{max}=360$ нм, что соответствует глуктаоновому альдегиду. Измеряют на спектрофотометре СФ-4А оптическую плотность при $\lambda_{max}=360$ нм.

Пример 3. Определение допана.

Реактивы и растворители: 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида, 20%-ный раствор едкого натра, смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты, воды в соотношении 2:1:5, ацетон, 1%-ные растворы сарколизина, хлорбутина, допана, асалея, циклофосфана в ацетоне.

На линию старта хроматографической бумаги диаметром 8 см на расстоя-

нии 23 см один от другого наносят 0,5 мл 1%-ного раствора исследуемых препаратов. Высушивают и в подвижную фазу погружают нижний конец жгутика, проходящего через центр круговой хроматограммы.

Через 10-15 мин хроматограмму вынимают из камеры, отмечают положение растворителя и подсушивают. Высушенные хроматограммы просматривают в УФ-свете и отмечают положение пятен, а затем проявляют путем последовательного погружения в 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида и 20%-ный раствор едкого натра на 20-30 с. Хроматограммы высушивают в сушильном шкафу при 100°C и отмечают положение пятен.

На хроматограмме имеется одно пятно, наличие которого подтверждается двумя способами. Элкат имеет полосу поглощения с $\lambda_{\max} = 360$ нм, что соответствует глутаконовому альдегиду. Измеряют на спектрофотометре СФ-4А оптическую плотность при $\lambda_{\max} = 360$ нм.

Пример 4. Определение асалея.

Реактивы и растворители: 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида, 20%-ный раствор едкого натра, смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты, воды в соотношении 2:1:5, ацетон, 1%-ные растворы сарколизина, хлорбутина, допана, асалея, циклофосфана в ацетоне.

На линию старта хроматографической бумаги диаметром 8 см на расстоянии 23 см один от другого наносят 0,5 мл 1%-ного раствора исследуемых препаратов. Высушивают и в подвижную фазу погружают нижний конец жгутика, проходящего через центр круговой хроматограммы.

Через 10-15 мин хроматограмму вынимают из камеры, отмечают положение растворителя и подсушивают. Высушенные хроматограммы просматривают в УФ-свете и отмечают положение пятен, а затем проявляют путем последовательного погружения в 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида и 20%-ный раствор едкого натра на 20-30 с. Хроматограммы высушивают в сушильном шкафу при 100°C и отмечают положение пятен.

На хроматограмме имеется одно пятно, наличие которого подтверждается двумя способами. Элкат имеет полосу поглощения с $\lambda_{\max} = 360$ нм, что соответствует

глутаконовому альдегиду. Измеряют на спектрофотометре СФ-4А оптическую плотность при $\lambda_{\max} = 360$ нм.

Пример 5. Определение циклофосфана.

Реактивы и растворители: 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида, 20%-ный раствор едкого натра, смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты, воды в соотношении 2:1:5, ацетон, 1%-ные растворы сарколизина, хлорбутина, допана, асалея, циклофосфана в ацетоне.

На линию старта хроматографической бумаги диаметром 8 см на расстоянии 2-3 см один от другого наносят 0,5 мл 1%-ного раствора исследуемых препаратов. Высушивают и в подвижную фазу погружают нижний конец жгутика, проходящего через центр круговой хроматограммы.

Через 10-15 мин хроматограмму вынимают из камеры, отмечают положение растворителя и подсушивают. Высушенные хроматограммы просматривают в УФ-свете и отмечают положение пятен, а затем проявляют путем последовательного погружения в 5%-ный раствор 2-метил-3-окси-4,5-ди-(оксиметил)-пиридина гидрохлорида и 20%-ный раствор едкого натра на 20-30 с. Хроматограммы высушивают в сушильном шкафу при 100°C и отмечают положение пятен.

На хроматограмме имеется одно пятно, наличие которого подтверждается двумя способами. Элкат имеет полосу поглощения с $\lambda_{\max} = 360$ нм, что соответствует глутаконовому альдегиду. Измеряют на спектрофотометре СФ-4А оптическую плотность при $\lambda_{\max} = 360$ нм.

Результаты спектрофотометрического определения алкилирующих препаратов приведены в табл. 1.

Данные чувствительности реакций приведены в табл. 2.

Сравнительные данные количественного содержания противоопухолевых препаратов и продуктов из гидролиза при выборе оптимального соотношения растворителей приведены в табл. 3.

Использование предлагаемого способа анализа препаратов противоопухолевого назначения по сравнению с известным способом обладает большей селективностью и чувствительностью.

Т а б л и ц а 1

Препарат	Содержание, %
Сарколизин	98,73
Хлорбутин	97,97
Допан	99,13
Асалея	99,02
Циклофосфан	98,15

Т а б л и ц а 2

Препарат	Чувствительность, по способу, мг/мл	
	известному	предлагаемому
Сарколизин	0,20	0,033
Хлорбутил	0,18	0,040
Допан	0,17	0,010
Асалея	0,28	0,084
Циклофосфан	0,26	0,025

Т а б л и ц а 3

Препарат	Соотноше- ние рас- творите- лей	Количественное содержание при					
		Т не выше 10°C		Т = 20-25°C		с истекшим сро- ком годности	
		активного вещества	продук- та гид- ролиза	активно- го ве- щества	продук- та гид- ролиза	активно- го веще- ства	продук- та гид- ролиза
Сарколизин	1:1:6	91,7	-	80,5	2,7	34,5	17,8
Хлорбутин	1:1:6	90,9	-	90,1	5,3	39,4	21,8
Допан	1:1:6	92,7	-	91,4	3,8	40,2	18,5
Асалея	1:1:6	93,2	-	92,1	5,2	42,4	15,1
Циклофосфан	1:1:6	90,5	-	91,4	6,2	45,3	11,4
Относитель- ная ошибка		±6,4±7,3%		±7,8±8,2%		±9,5±10,6%	
Сарколизин	2:1:5	98,7	-	91,2	7,7	43,9	54,2
Хлорбутин	2:1:5	97,9	-	90,0	8,2	53,7	46,1
Допан	2:1:5	99,1	-	88,8	11,0	59,3	40,2
Асалея	2:1:5	99,0	-	86,2	12,2	60,6	39,1

Продолжение табл. 3

Препарат	Соотноше- ние рас- творите- лей	Количественное содержание при					
		Т не выше 10° С		Т = 20-25° С		с истекшим сро- ком годности	
		активного вещества	продук- тов гид- ролиза	активно- го ве- щества	продук- тов гид- ролиза	активно- го веще- ства	продук- тов гид- ролиза
Циклофосфан	2:1:5	98,1	-	91,2	7,5	53,5	43,2
Относитель- ная ошибка		±2,7±3,2%		±2,8±3,4%		±2,6±3,7	
Сарколизин	3:1:4	92,5	-	83,5	7,4	40,5	40,4
Хлорбутин	3:1:4	96,3	-	84,1	9,2	49,1	35,8
Допан	3:1:4	94,1	-	80,1	11,2	47,2	40,5
Асалея	3:1:4	91,5	-	80,9	12,4	50,8	45,4
Циклофосфан	3:1:4	93,5	-	85,1	10,4	50,3	37,8
Относитель- ная ошибка		±5,8±7,3		±7,5±8,4		±5,7±7,1	

Редактор С. Юско

Составитель С. Хованская
Техред М. Коштура

Корректор А. Повх

Заказ 4730/48

Тираж 873

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4