

РАЗДЕЛЕНИЕ ПОЛУПРОДУКТОВ СИНТЕЗА ТЕТРАХЛОРСАЛИЦИЛАНИЛИДА, СОДЕРЖАЩЕГО КАРБОКСИМЕТИЛЬНУЮ ГРУППУ, МЕТОДОМ КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

Т. Г. Никитина, В. А. Белова, В. Г. Дударев, М. И. Васендин,
Д. С. Лисовский, Н. В. Колотилова

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет»
Поступила в редакцию 08.02.2023 г.

Аннотация. Салициланилиды – известная группа антигельминтных лекарственных веществ, спектр действия которых часто ограничен только кишечными гельминтозами, что можно объяснить малой растворимостью в воде и биодоступностью при приёме внутрь. В связи с этим актуален синтез новых водорастворимых производных салициланилида, содержащих гидрофильную группу, например карбоксиметильную. В качестве такого соединения нами предложена [2,4-дихлор-5-(3,5-дихлор-2-гидроксibenзамидо)фенокси]уксусная кислота, для синтеза которой необходимы 3,5-дихлорсалициловая кислота и 2,4-дихлор-5-нитрофеноксиуксусная кислота. Контроль синтеза этих промежуточных соединений с помощью хроматографии, в частности тонкослойной, часто связан с трудностями разделения основных и побочных продуктов. В настоящей работе для решения данной задачи использован метод капиллярного электрофореза, позволяющий разделять заряженные компоненты сложных проб. Для подбора оптимальных условий разделения были использованы модельные смеси, состоящие из исходных веществ и продуктов реакций хлорирования салициловой и феноксиуксусной кислот, а также нитрования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Для разделения продуктов хлорирования салициловой и феноксиуксусной кислот и методом капиллярного электрофореза успешно использован электролит, состоящий из 0.05 М боратного буфера. Для удовлетворительного разделения продуктов нитрования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты в данный буферный раствор необходимо вводить добавку не менее 0.35 % γ -циклодекстрина, увеличение концентрации которого улучшает большинство электрофоретических параметров - число теоретических тарелок, площадь и симметрию пика, коэффициенты разделения. Разработанные методики позволяют разделять и идентифицировать некоторые полупродукты синтеза салициланилида, являющиеся карбоновыми кислотами, а также проводить их количественное определение и анализ чистоты.

Ключевые слова: салициланилиды, салициловая кислота, феноксиуксусная кислота, хлорирование, нитрование, капиллярный электрофорез.

Галогенированные салициланилиды – известная группа лекарственных веществ, которые используются в медицине и ветеринарии как антигельминтные средства. Недавние исследования показали способность салициланилидов блокировать ферменты, ответственные за развитие опухолей [1,2] и воспалительных процессов [3], а также эффективность в отношении микобактерий туберкулеза [4], бактерий ботулизма [5], коронавируса [6], вирусов иммунодефицита человека и гепатита [7].

Антигельминтные лекарственные средства, используемые на сегодняшний день в медицине и ветеринарии, имеют один или несколько недо-

статков: сложный синтез, малую биодоступность, высокую токсичность и побочные эффекты, узкий спектр действия, развитие резистентности [8]. Вещества из группы галогенированных салициланилидов имеют потенциал для создания новых и совершенствования уже известных антигельминтных средств. Исследования "структура-активность", ранее проведённые в данной химической группе, показали перспективность ряда алкил- и алкоксипроизводных хлор- или бромзамещенного салициланилида [9]. Перечисленные соединения получают несложным четырёхстадийным синтезом из доступного сырья [10], однако имеют недостаточно широкий спектр антигельминтной активности при некоторых внекишечных гель-

минтозах, в частности описторхозе [11] и действуют в сравнительно высоких дозах. Это можно объяснить очень малой растворимостью в воде и малой биодоступностью перечисленных соединений. Ранее начатые исследования продолжают по пути синтеза алкоксипроизводного салициланилида, содержащего карбоксиметильную группу, придающую растворимость в водно-щелочных растворах. Для синтеза [2,4-дихлор-5-(3,5-дихлор-2-гидроксибензамидо)феноксид]уксусной кислоты (рис. 1) необходимы в качестве полупродуктов 3,5-дихлорсалициловая кислота и 2,4-дихлор-5-нитрофеноксиуксусная кислота.

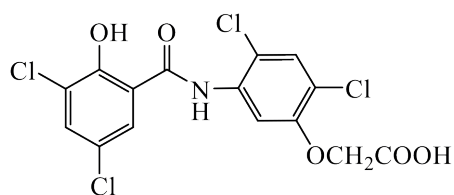


Рис. 1.

Контроль синтеза и чистоты этих соединений методом тонкослойной хроматографии дает не всегда удовлетворительные результаты, и близкие по строению продукты реакции не разделяются. Поскольку изучаемые соединения являются карбоновыми кислотами, которые в слабощелочной среде существуют в виде анионов, в качестве альтернативы представляет интерес метод капиллярного электрофореза, получивший большое развитие в последние два десятилетия [12, 13]. Он является экспрессным, простым и достаточно надежным, однако уступает газовой и высокоэффективной жидкостной хроматографии по селективности. Использование макроциклических соединений (краун-эфиров, циклодекстринов) как добавок в ведущий электролит позволяет управлять селективностью разделения сложных смесей органических и неорганических соединений, в первую очередь, за счет уникальной способности макроциклов образовывать комплексы включения с анализируемыми веществами по типу гость-хозяин [14].

Целью настоящей работы является выбор оптимальных условий разделения продуктов хлорирования салициловой кислоты и феноксиуксусной кислоты и нитрования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты методом капиллярного электрофореза со спектрофотометрическим детектированием.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве стандартов использовали кислоты: салициловую кислоту (СК) х. ч., «Вектон», 5-хлор-

салициловую кислоту (5-ХСК), 3,5-дихлорсалициловую кислоту (3,5-ДХСК), 3,5,6-трихлорсалициловую кислоту (3,5,6-ТХСК), феноксиуксусную кислоту (ФУК), 4-хлорфеноксиуксусную кислоту (4-ХФУК), 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-ДХФУК), 2,4-дихлор-5-нитрофеноксиуксусную кислоту (2,4-ДХ-5-НФУК), 2,4-дихлор-6-нитрофеноксиуксусную кислоту (2,4-ДХ-6-НФУК), 2,4-дихлор-5,6-динитрофеноксиуксусную кислоту (2,4-ДХ-5,6-ДНФУК). Все кислоты кроме СК получали известными методами [15,16,17,18,19] и очищали перекристаллизацией из водного ацетона. Применяли макроциклические добавки α -, β - и γ -циклодекстринов (α -ЦД, β -ЦД и γ -ЦД соответственно) (Sigma Aldrich, $\geq 98.0\%$).

Для исследования были выбраны три реакции:

1. Окислительное хлорирование салициловой кислоты проводили по методике [16].

2. Окислительное хлорирование феноксиуксусной кислоты. К смеси 15.2 г (0.1 моль) феноксиуксусной кислоты, 30 мл уксусной кислоты и 43 мл (0.5 моль) соляной кислоты добавляли при перемешивании 25 мл (0.25 моль) 30 % раствора пероксида водорода, поддерживая температуру 30-35 °С. Через 2 ч выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой и сушили на воздухе. Выход 85 %, белый кристаллический порошок, $t_{пл}$ 138-139 °С, лит. 139-140 °С (CAS 94-75-7).

3. Нитрование 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты проводили по модифицированной методике [19]. К охлажденной до (3...5) °С смеси 100 мл 94 %-ной серной кислоты и 30 мл воды при активном перемешивании прибавляли 22.1 г (0.1 моль) мелко измельченной 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и затем 9.5 мл (0,15 моль) 70 %-ной азотной кислоты, поддерживая температуру (3...5) °С. Через 3 ч реакционную массу выливали на лёд, осадок отфильтровывали, промывали водой, кристаллизовали из 50 %-ного водного ацетона и сушили на воздухе. Выход 18.9 г (71 %). $t_{пл}$ 163-164 °С, лит. 158.5-159.0 °С [19].

Капиллярно-электрофоретическое определение анионных форм производных салициловой и феноксиуксусной кислот проводили на приборе капиллярного электрофореза «Капель-105» производства НПП АФ «Люмэкс», снабженным кварцевым капилляром с внешним полиамидным защитным покрытием (внутренний диаметр 75 мкм, внешний 365 мкм, общая длина капилляра – 60 см, длина капилляра до детектора – 50 см). Все эксперименты проводили при напряжении 20 кВ, длина волны спектрофотометрического детектирования – 227 и 272

нм, ввод пробы осуществляли давлением 30 мбар в течение 5 с. Для регистрации электрофореграмм использовали компьютерную программу «Мультихром для Windows». Для разделения аналитов использовались: 0.05 М боратный буферный раствор (pH=9.18), 0.05 М боратные буферные растворы с добавкой α -, β - или γ -ЦД (pH=9.18) в диапазоне концентраций 0.1–0.35% для улучшения разделения замещенных феноксиуксусных кислот. Расчет электрофоретических подвижностей осуществляли по формулам, приведенным в работе [20].

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Анализ продуктов хлорирования салициловой кислоты

Промежуточным продуктом получения ряда салициланилидов является 3,5-ДХСК, которую получают хлорированием СК смесью перекиси водорода и соляной кислоты в среде уксусной кислоты (схема 1). Поскольку введение в молекулу второго атома хлора проходит более медленно, основной примесью в препаратах 3,5-ДХСК является 5-ХСК [16]. Введение третьего атома хлора проходит в более жестких условиях в среде олеума, а получаемая при этом 3,5,6-ТХСК используется для синтеза антигельминтного лекарственного вещества «Оксиклозанид».

В соответствии с поставленной целью были получены электронные спектры поглощения модельных веществ, выбрана аналитическая длина волны – 227 нм и проведено изучение электрофоретической подвижности в 0,05 М боратном буферном растворе pH 9,18 в анионной схеме анализа без обращения электроосмотического потока. Установлено, что все соединения присутствуют в растворе в форме соответствующих анионов и имеют различные электрофоретические подвижности, что позволяет их разделить методом капиллярного электрофореза (табл. 1). Маркером электроосмотического

потока был этанол, используемый в качестве растворителя модельных веществ.

Для оценки содержания 5-ХСК в синтезируемой 3,5-ДХСК были получены градуировочные графики, которые линейны в диапазоне концентраций 0.075 – 0.30 мг/мл ($h = 5.65 \cdot C + 0.118$, $r = 0.998$) и 0.08 – 0.032 мг/л ($h = 3.32 \cdot C + 0.085$, $r = 0.999$) для 5-ХСК и 3,5-ДХСК, соответственно.

При выбранных экспериментальных условиях было проведено определение содержания примеси 5-ХСК в синтезированных образцах 3,5-ДХСК. В образце неочищенной 3,5-ДХСК примесь 5-ХСК составляла 18 %, однако перекристаллизация из водного 2-пропанола уменьшила долю 5-ХСК до 0,5 %, что является удовлетворительным показателем для дальнейших синтезов. Электрофореграммы анализа синтезированных образцов до и после очистки представлены на рис. 2.

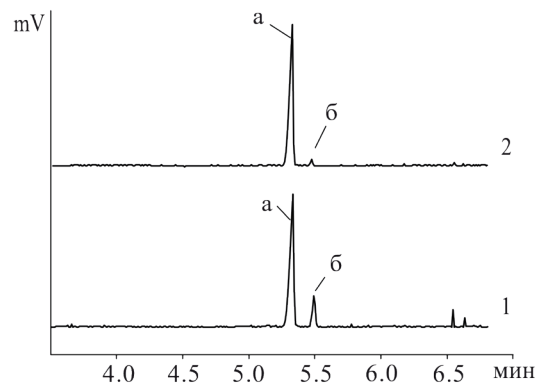


Рис. 2. Электрофореграммы анализа технической 3,5-ДХСК до очистки (1) и после очистки (2) из водного 2-пропанола. Обозначения: а – пик 3,5-ДХСК, б – пик 5-ХСК

2. Анализ продуктов реакции окислительного хлорирования феноксиуксусной кислоты

Согласно уравнениям реакции хлорирования ФУК до 2,4-ДХФУК среди побочных продуктов может присутствовать в основном 4-ХФУК (схема 2).

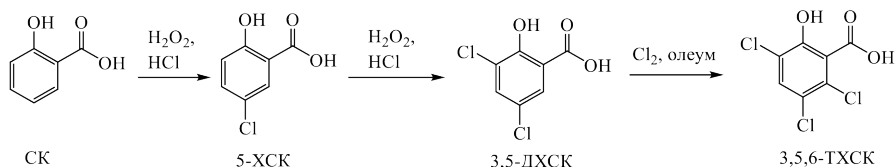


Схема 1.

Таблица 1

Времена миграции и электрофоретические подвижности анионов хлорсалициловых кислот

Вещество	Время миграции маркера электроосмотического потока, $t_{\text{пор}}, \text{с}$	Время миграции аналита, $t_{\text{ан}}, \text{с}$	Электрофоретическая подвижность, $\mu_a^0, \text{см}^2/\text{кВ} \cdot \text{с}$
СК	231.5	419.0	- 0.290
5-ХСК	228.0	394.0	- 0.277
3,5-ДХСК	225.4	372.7	- 0.263
3,5,6-ТХСК	227.7	536.0	- 0.274

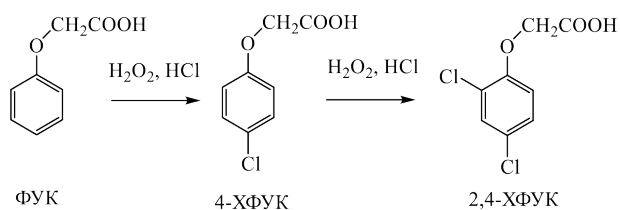


Схема 2.

Анализ проходил аналогично исследованию производных салициловой кислоты. Изучены стандартные образцы – ФУК, 4-ХФУК, 3,5-ДХФУК, найдены времена миграции и электрофоретические подвижности (таблица 2). Условия анализа были теми же, за исключением длины волны детектирования – 272 нм.

Типичная электрофореграмма разделения модельной смеси хлорзамещенных феноксиуксусных кислот представлена на рис. 3.

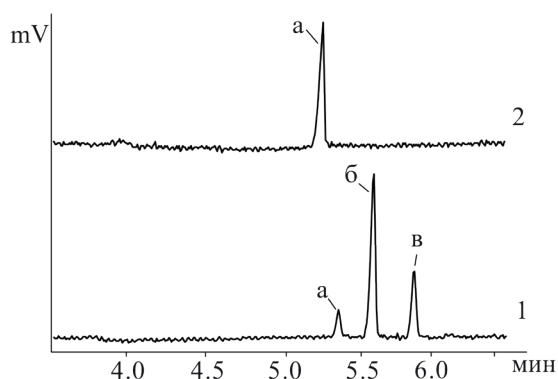


Рис. 3. Электрофореграммы разделения модельной смеси хлорзамещенных феноксиуксусных кислот (1) и анализа образца 2,4-ДХФУК (2). Обозначения: а – 2,4-ДХФУК, б – ФУК, в – 4-ХФУК

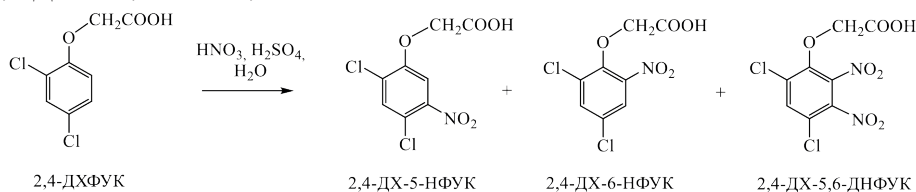


Схема 3.

Для количественного анализа технической ДХФУК использовался метод внешнего стандарта. Электрофореграмма образца синтезированной 2,4-ДХФУК представлена на рис. 3. В результате синтеза был получен однородный образец.

3. Анализ продуктов нитрования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты

Нитрование 2,4-ДХФУК идёт преимущественно в положение 5, в меньшей степени образуется 2,4-ДХ-6-НФУК, и при избыточном нитровании – 2,4-ДХ-5,6-ДНФУК [19] (схема 3). Нами были исследованы стандартные образцы этих веществ и исходной 2,4-ДХФУК, условия анализа и электролит остались теми же (0.05 М боратный буферный раствор рН 9.18). Длина волны детектирования – 272 нм. Полученные данные представлены в таблице 3.

Далее следовало убедиться, что все 4 соединения можно идентифицировать и разделить при совместном присутствии, поэтому была приготовлена модельная смесь, содержащая 2,4-ДХФУК, 2,4-ДХ-5-НФУК, 2,4-ДХ-6-НФУК, 2,4-ДХ-5,6-ДНФУК. При анализе смеси изучаемые аналиты разделить не удалось (рис. 4).

С целью повышения селективности разделения нитрозамещенных 2,4-ФУК в модельной смеси было изучено влияние добавок циклодекстринов (ЦД) к 0.05 М боратному буферному раствору с рН 9,18. Полученные экспериментальные данные представлены в таблице 4. Использование добавок α -циклодекстрина не позволило добиться разделения пиков всех аналитов. По-видимому, это связано с малым разме-

Таблица 2

Времена миграции и электрофоретические подвижности феноксиуксусных кислот.

Вещество	Время миграции маркера электроосмотического потока, $t_{пор}$, с	Время миграции аналита, $t_{ан}$, с	Электрофоретическая подвижность, μ_a^o , см ² /кВ·с
ФУК	204.1	321.8	-0.269
4-ХФУК	198.6	314.4	-0.278
2,4-ДХФУК	206.9	323.4	-0.261

Таблица 3

Времена миграции и электрофоретические подвижности нитропроизводных 2,4-ДХФУК.

Вещество	Время миграции маркера электроосмотического потока, $t_{пор}$, с	Время миграции аналита, $t_{ан}$, с	Электрофоретическая подвижность, μ_a^o , см ² /кВ·с
2,4-ДХФУК	206.9	323.4	-0.261
2,4-ДХ-5-НФУК	208.0	316.9	-0.247
2,4-ДХ-6-НФУК	208.6	313.3	-0.240
2,4-ДХ-5,6-ДНФУК	207.0	307.3	-0.237

ром внутренней полости α -циклодекстрина, что затрудняет комплексообразование с аналитами, имеющими большое количество заместителей в ароматическом кольце. Полученные данные находятся в соответствии с результатами о влиянии добавок α - и β -циклодекстринов на повышение селективности разделения позиционных изомеров нитро-, amino-, хлор-, гидроксипроизводных бензойной кислоты [21].

При добавлении в буферный раствор β -циклодекстрина в концентрации 0.1 % достигается разделение 2,4-ДХ-5,6-ДНФУК и 2,4-ДХФУК, а мононитропроизводные сомигрируют (рис. 4).

Добавка γ -ЦД в боратный буферный раствор позволяет улучшить разрешение пиков 2,4-ДХ-5-НФУК, 2,4-ДХ-6-НФУК, причем наилучшие результаты достигаются при использовании буферного раствора, содержащего 0.35% γ -ЦД (рис. 4). Дальнейшее увеличение концентрации γ -ЦД приводит к уменьшению эффективности анализа и увеличению асимметрии пиков.

При оптимизированных условиях достигается высокая эффективность и селективность разделения (табл. 4), время анализа составляет 5,5 мин. Вследствие этого данный раствор использовался в качестве электролита для проведения анализа синтезированной 2,4-ДХ-5-ФУК.

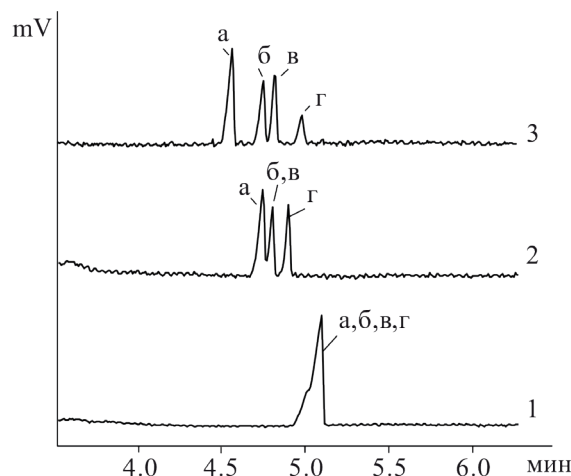


Рис. 4. Электрофореграммы смеси нитропроизводных 2,4-ДХФУК в боратном буферном растворе (1) и с добавкой: 0.1% β -ЦД (2), 0.35% γ -ЦД (3). Обозначения: а – 2,4-ДХ-5,6-ДНФУК, б – 2,4-ДХ-6-НФУК, в – 2,4-ДХ-5-НФУК, г – 2,4-ДХФУК

Согласно методике нитрования 2,4-ФУК проводился отбор проб для оценки степени нитрования. По методу внешнего стандарта с использованием площадей соответствующих пиков было вычислено количественное соотношение целевого продукта и примесей как 96:4.

Таблица 4

Основные параметры электрофоретического разделения нитропроизводных ФУК при использовании 0,05 М боратного буферного раствора с добавками циклодекстринов.

Номер пика	Аналит	Время миграции аналита, $t_{ан}$, с	N*, тыс. шт	Асимметрия пика	Разрешение пиков, R_s^{**}
Боратный буферный раствор с добавкой 0,1 % α -циклодекстрина					
1	2,4-ДХ-6-НФУК и 2,4-ДХ-5,6-ДНФУК	286.2	144	0.39	1.11
2	2,4-ДХ-5-НФУК	288.6	265	0.39	2.26
3	2,4-ДХФУК	293.4	306	0.40	-
Боратный буферный раствор с добавкой 0,1 % β -циклодекстрина					
1	2,4-ДХ-5,6-ДНФУК	273.0	185	0.29	3.08
2	2,4-ДХ-5-НФУК и 2,4-ДХ-6-НФУК	281.4	127	0.29	1.35
3	2,4-ДХФУК	285.6	244	0.43	-
Боратный буферный раствор с добавкой 0,1 % γ -циклодекстрина					
1	2,4-ДХ-5,6-ДНФУК	279.5	183	0.32	2.47
2	2,4-ДХ-6-НФУК	285.3	201	0.61	1.13
3	2,4-ДХ-5-НФУК	287.8	350	0.56	3.70
4	2,4-ДХФУК	295.3	227	0.42	-
Боратный буферный раствор с добавкой 0,35 % γ -циклодекстрина					
1	2,4-ДХ-5,6-ДНФУК	277.2	183	0.30	3.59
2	2,4-ДХ-6-НФУК	285.6	231	0.33	1.41
3	2,4-ДХ-5-НФУК	288.6	315	0.52	3.13
4	2,4-ДХФУК	295.2	261	0.65	-

*Эффективность анализа, **разрешение рассчитано для соседних пиков

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подобраны условия для разделения методом капиллярного электрофореза хлорзамещенных салициловых кислот и хлорзамещенных феноксиуксусных кислот и продуктов нитрования 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Установлено, что для разделения хлорированных салициловых кислот данным методом необходимо использование электролита, состоящего из 0.05 М боратного буфера. Для удовлетворительного разделения дихлорнитрофеноксиуксусных кислот в данный буферный раствор необходимо вводить добавку не менее 0.35 % γ -циклодекстрина, увеличение концентрации которого улучшает большинство электрофоретических параметров – число теоретических тарелок, площадь и симметрию пика, коэффициенты разделения.

Разработанные методики позволяют не только разделять и идентифицировать некоторые полупродукты синтеза хлорированных салициланилидов, являющихся карбоновыми кислотами, но позволяют проводить их количественное определение и анализ чистоты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Deng W., Guo Z., Guo Y., Feng Z., Jiang Y., Chu F. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006. Vol. 16. P. 469–472.
2. Gargantilla M., Persoons L., Kaueroová T., del Río N., Daelemans D., Priego E.-M., Kollar P., Pérez-Pérez M.-J. // *Pharmaceuticals*. 2022. Vol. 15. P. 835.
3. Brown M. E., Fitzner J. N., Stevens T., Chin W., Wright C. D., Boyce J. P. // *Bioorg. Med. Chem.* 2008. Vol. 16. P. 8760–8764.
4. Imramovský A., Pauk K., Pejchal V., Hanusek J. // *Mini-Rev. Org. Chem.* 2011. Vol. 8. P. 211–220.
5. Patel E.N., Lin L., Sneller M.M., Eubanks L.M., Tepp W.H., Pellett S., Janda K.D. // *ACS Infect. Dis.* 2022. Vol. 8. N 8. P. 1637–1645.
6. Blake S., Shaabani N., Eubanks L.M., Maruyama J., Manning J.T., Beutler N., Paessler S., Ji H., Teijaro J.R., Janda K.D. // *ACS Infect. Dis.* 2021. Vol. 7. P. 2229–2237.
7. Krátký M. and Vinšová J. // *Mini-Rev. Med. Chem.* 2011. Vol. 11. P. 956–967.
8. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y., Katokhin A.V., Khvostov M.V., Varlamova A.I., Glamazdin I.I., Khalikov S.S., Polyakov N.E., Arkhipov I.A., Tolstikova T.G., Mordvinov V.A., Dushkin A.V. and Lyakhov N.Z. // *Curr. Drug Deliv.* 2015. Vol. 12. Iss. 5. P. 477–490.
9. Гицу Г. А., Сафарова А. Я., Михайлицин Ф. С., Дударев В. Г., Трусов С. Н. // *Мед. паразитол. и паразит. бол.* 2015. № 1. С. 42–43.
10. Дударев В. Г., Малахова А. Ю., Севбо Д. П., Михайлицин Ф. С., Фридман И.А. Патент РФ №2615760, 2015.
11. Августинович Д. Ф., Вишневская Г. Б., Пирожкова Д. С., Цыганов М. А., Вавилин В. А., Пахарукова М. Ю., Шилов А. Г., Дударев В. Г., Мордвинов В. А. // *Сиб. научн. мед. ж.* 2017. Т. 37. №3. С. 17–26.
12. Капиллярный электрофорез (под ред. д.х.н. Л.А. Карцовой) в серии Проблемы аналитической химии. Т. 18. М., Наука. 2014. 444 с.
13. Карцова Л. А., Макеева Д. В., Бессонова Е. А. Современное состояние метода капиллярного электрофореза // *Журнал аналитической химии.* 2020. Т.75. № 12. С. 1059–1079.
14. Комарова Н.В., Карцова Л.А. // *Журнал прикладной химии.* 2003. Т.76. №2. С.246–251.
15. Красюк И.И., Литвин Б.Л. Патент РФ № 2053217, 1990.
16. Дударев В. Г., Кузьминых М. Р., Алексева Г. М. // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2018. Т. 7. №3. С. 86–91.
17. Hanna D. L. Патент США № 3062877, 1959.
18. Białek A, Moszczyński W. // *Pol. J. Chem. Tech.* 2009. Vol. 11. No. 2. P. 21–30.
19. Cavill G.W.K.; Ford, D.L. // *J. Chem. Soc.* 1954. P. 565–568.
20. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» — СПб.: ООО «Веда», 2006 — 212 с.
21. Карцова Л.А., Комарова Н.В. // *Журнал аналитической химии.* 2003. Т. 58. № 10. С. 1085–1092.

Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет

* Никитина Т. Г., кандидат химических наук, доцент кафедры аналитической химии

E-mail: tatiana.nikitina@pharminnotech.com

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

* Nikitina T. G., PhD., Associate Professor, Department of Analytical Chemistry

E-mail: tatiana.nikitina@pharminnotech.com

Никитина Т. Г., Белова В. А., Дударев В. Г., Васендин М. И., Лисовский Д. С., Колотилова Н. В.

Белова В. А., магистрант кафедры химической технологии лекарственных веществ
E-mail: vlada.belova@spcpu.ru

Belova V. A., Master's student of the Department of Chemical Technology of Medicinal Substances
E-mail: vlada.belova@spcpu.ru

Дударев В. Г., кандидат химических наук, доцент кафедры химической технологии лекарственных веществ
E-mail: vladimir.dudarev@pharminnotech.com

Dudarev V. G., PhD., Associate Professor of the Department of Chemical Technology of Medicinal Substances
E-mail: vladimir.dudarev@pharminnotech.com

Васендин М. И., магистрант кафедры химической технологии лекарственных веществ
E-mail: vasendin.maksim@spcpu.ru

Vasendin M. I., Master's student of the Department of Chemical Technology of Medicinal Substances
E-mail: vasendin.maksim@spcpu.ru

Лисовский Д. С., магистрант кафедры химической технологии лекарственных веществ
E-mail: lisovskij.dmitrij@pharminnotech.com

Lisovsky D. S., Master's student of the Department of Chemical Technology of Medicinal Substances
E-mail: lisovskij.dmitrij@pharminnotech.com

Колотилова Н. В., кандидат химических наук, доцент кафедры химической технологии лекарственных веществ
E-mail: nina.kolotilova@pharminnotech.com

Kolotilova N. V., PhD., Associate Professor, Department of Chemical Technology of Medicinal Substances
E-mail: nina.kolotilova@pharminnotech.com

SEPARATION OF INTERMEDIATES OF TETRACHLOROSALICYLANILIDE SYNTHESIS CONTAINING A CARBOXYMETHYL GROUP BY CAPILLARY ELECTROPHORESIS

T. G. Nikitina, V. A. Belova, V. G. Dudarev, M. I. Vasendin,
D. S. Lisovsky, N. V. Kolotilova

St. Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Abstract. Salicylanilides are a well-known group of anthelmintic drugs, the spectrum of action of which is often limited only to intestinal helminthiases, which can be explained by low solubility in water and bioavailability when ingested. In this regard, the synthesis of new water-soluble derivatives of salicylanilide containing a hydrophilic group, for example, carboxymethyl, is relevant. As an example of such a compound, we provide [2,4-dichloro-5-(3,5-dichloro-2-hydroxybenzamido)phenoxy] acetic acid, the synthesis of which requires 3,5-dichlorosalicylic acid and 2,4-dichloro-5-nitrophenoxyacetic acid. Controlling the synthesis of these intermediates by chromatography, in particular thin-layer chromatography, is often associated with difficulties in separating the main and by-products. In the present work, a capillary electrophoresis method is used to solve this problem, which allows separating charged components of complex samples. To select the optimal separation conditions, model mixtures consisting of starting materials and reaction products of chlorination of salicylic and phenoxyacetic acids, as well as nitration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid were used. To separate the products of chlorination of salicylic and phenoxyacetic acids and by capillary electrophoresis, an electrolyte consisting of 0.05 M of borate buffer was successfully used. For satisfactory separation of the nitration products of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, an additive of at least 0.35% γ -cyclodextrin must be added into this buffer solution, an increase in the concentration of which improves most of the electrophoretic parameters – the number of theoretical plates, the area and symmetry of the peak, separation coefficients. The developed techniques allow to separate and identify some intermediates of the synthesis of salicylanilide, which are carboxylic acids, as well as to carry out their quantitative determination and analysis of purity.

Keywords: salicylanilides, salicylic acid, phenoxyacetic acid, chlorination, nitration, capillary electrophoresis.

REFERENCES

- Deng W., Guo Z., Guo Y., Feng Z., Jiang Y., Chu F., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2006, Vol. 16, pp. 469–472. doi 10.1016/j.bmcl.2005.06.088. Available at <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16275081> (accessed 31.01.2023).
- Gargantilla M., Persoons L., Kaueroová T., del Río N., Daelemans D., Priego E.-M., Kollar P., Pérez-Pérez M.-J., *Pharmaceuticals*, 2022, Vol. 15, pp. 835. doi 10.3390/ph15070835. Available at <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/7/835>. (accessed 31.01.2023).
- Brown M. E., Fitzner J. N., Stevens T., Chin W., Wright C. D., Boyce J. P., *Bioorg. Med. Chem.*, 2008, Vol. 16, pp. 8760–8764. doi 10.1016/j.bmc.2008.07.024. Available at <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18715785/> (accessed 31.01.2023).
- Imramovský A., Pauk K., Pejchal V., Hanusek J., *Mini-Rev. Org. Chem.*, 2011, Vol. 8, pp. 211–220. doi: 10.2174/157019311795177808. Available at <http://www.eurekaselect.com/article/32663>. (accessed 31.01.2023).
- Patel E.N., Lin L., Sneller M.M., Eubanks L.M., Tepp W.H., Pellett S., Janda K.D., *ACS Infect. Dis.*, 2022, Vol. 8, No 8, pp. 1637–1645. doi 10.1021/acsinfecdis.2c00230. Available at <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsinfecdis.2c00230>. (accessed 31.01.2023).
- Blake S., Shaabani N., Eubanks L.M., Maruyama J., Manning J.T., Beutler N., Paessler S., Ji H., Teijaro J.R., Janda K.D., *ACS Infect. Dis.*, 2021, Vol. 7, pp. 2229–2237. doi 10.1021/acsinfecdis.1c00253. Available at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsinfecdis.1c00253>. (accessed 31.01.2023).
- Krátký M. and Vinšová J., *Mini-Rev. Med. Chem.*, 2011, Vol. 11, pp. 956–967. doi 10.2174/138955711797068382. Available at <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21762100/> (accessed 31.01.2023).
- Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y., Katokhin A.V., Khvostov M.V., Varlamova A.I., Glamazdin I.I., Khalikov S.S., Polyakov N.E., Arkhipov I.A., Tolstikova T.G., Mordvinov V.A., Dushkin A.V., Lyakhov N.Z., *Curr. Drug Deliv.*, 2015, Vol. 12, Iss. 5, pp. 477–490. doi: 10.2174/1567201812666150518094739. Available at <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25981412/> (accessed 31.01.2023).
- Gicu G. A., Safarova A. Ja., Mihajlicyn F. S., Dudarev V. G., Trusov S. N., *Med. parazit. i parazit. Bolezni*, 2015, No 1, pp. 42–43.
- Dudarev V. G., Malahova A. Ju., Sevbo D. P., Mihajlicyn F. S., Fridman I. A. Patent RF N2615760, 2015.
- Avgustinovich D. F., Vishneveckaja G. B., Pirozhkova D. S., Cyganov M. A., Vavilin V. A., Paharukova M. Ju., Shilov A. G., Dudarev V. G., Mordvinov V. A., *Sib. nauchn. med. zh.*, 2017, Vol. 37. No 3, pp. 17–26.
- Kapilljarnyj jelektroforez (pod red. d.h.n. L. A. Karcovoj) v serii Problemy analiticheskoj himii. Vol. 18. M., Nauka. 2014, 444 s.
- Kartsova L. A., Makeeva D. V., Bessonova E. A., *J. Analytical Chemistry*, 2020, Vol.75, No 12, pp. 1497–1513.
- Komarova N. V., Kartsova L. A., *Russ. J. Appl. Chem.*, 2003, Vol. 76. No 2, pp. 238–243.
- Krasjuk I. I., Litvin B. L., Patent RF N2053217, 1996.
- Dudarev V.G., Kuzminykh M.R., Alekseeva G.M., *Drug development & registration*, 2018, No 3, pp. 82–87.
- Hanna D. L. Patent USA 3062877, 1962.
- Białek A, Moszczyński W., *Pol. J. Chem. Tech.*, 2009, Vol. 11, No. 2, pp. 21–30. doi 10.2478/v10026-009-0019-9.
- Cavill G.W.K.; Ford, D.L., *J. Chem. Soc.*, 1954, pp. 565–568. doi: 10.1039/JR9540000565. Available at <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/1954/jr/jr9540000565> (accessed 31.01.2023).
- Komarova N. V., Kamencev Ja. S. *Prakticheskoe rukovodstvo po ispol'zovaniju sistem kapilljarnogo jelektroforeza «KAPEL'»* — SPb.: OOO «Veda», 2006 212 s.
- Komarova N.V, Kartsova L. A., *J. Analytical Chemistry*, 2002, Vol. 57, No 10, pp. 644–650.