Предмет «Фармацевтическая химия-4»

 Лекция № 5 “ПРОИЗВОДНЫЕ ПУРИНА”

В основе лекарственных препаратов производных гетероциклической системы, названной пурином, лежит конденсированная гетероциклическая система, состоящая из двух циклов: пиримидина и имидазола.

  

 **Пиримидин имидазол**

Химическую формулу этого гетероцикла изображают в виде изомеров 9Н- пурина и 7Н - пурина.

 

 **9Н – пурин 7Н – пурин**

Встречается также написание формулы пурина, предложенный Э.Фишером в 1898 году:



Если в ядре пурина атомы водорода в пиримидиновом цикле заменить на гидроксилы получится ксантин:

 

 Ксантин (2,6-диоксипурин)

Ксантин как таковой в медицине не применятся, но его метилированные производные являются ценными лекарственными веществами. К ним относятся алкалоиды: кофеин, тефиллин, теобромин:

 

Основными природными источниками пуриновых алкалоидов являются растительные продукты, которые применяются для приготовления напитков – листья чая, зерна кофе, бобы какао. Медицинское применение алкалоидов производных пурины основаны на их стимулирующем действии на центральную нервну систему и сердце. Действие на сердце и скелетные мышцы сильно выражено у кофеина, который используется в медицине как тонизирующее средство. Теобромин и теофиллин являются мочегонными и расширяющими коронарные сосуды средствами. Они входят в состав антигипертонических, антиастматических и других средств. Большое практическое значение пуриновых алкалоилдов, а также сложность получения их из растительного сырья и небольшое количество в нем алкалоидов, обусловили широкую разработку синтетических методов их получения.

Пурин и его производные являются структурными фрагментами нуклеиновых кислот, алкалоидов, коферментов и играют важную роль в жизнедеятельности всех организмов. Именно на этом основывается их широкое применение в медицине.

Пуриновые алкалоиды являются производными ксантина (2,6-диокси-пурина), который может существовать в виде енольной и кетонной 7Н-форм:



Общая формула пуриновых алкалоидов:

 

 где R1 – СН3, Н; R2 – СН3, Н.

К производным пурина также относятся пуриновые основания: аденин и гуанин которые являются составной частью многих препаратов.

 

 **Аденин Гуанин**

 **(6-аминопурин) (2-амино-6-оксипурин)**

Работы по синтезу лекарственных препаратов производных пурина продолжались после смерти А.Н.Вышнеградского (1887 г) и основывались на него выводах о проведенных исследованиях, после чего последовали синтезы теофиллина, кофеина, теобромина, атропина, никотина, кокаина и др. Однако промышленный синтез алкалоидов встречал много затруднений. Из всех синтезированных алкалоидов промышленное производство было налажено лишь для очень немногих алкалоидов: кофеина, теобромина и немногих других.

Кофеин, теобромин и теофиллин по химической структуре родственны естесственным метаболитам животного организма – производным пурина (например, мочевой кислоте – триоксипурину). Этим родством можно обьяснить некоторые характерные фармакологические черты алкалоидов группы кофеина, одной из которых является большая широта терапевтического действия кофеина. Близостью к естественным продуктам обмена можно также обьяснить сравнительно быстрое разрушение кофеина, теобромина, теофиллина в организме и отсутствие кумуляции при длительном их применении. Наряду с многосторонностью действия кофеин оказывает избирательное, возбуждающее действие на центральную нервную систему и в первую очередь на кору головного мозга. По силе этого центрального действия кофеин значительно превосходит теобромин и теофиллин.

Кофеин нередко применяется как средство при головной боли, чаще всего в комбинации с анальгезирующими средствами из группы жаропонижающих. ***Препараты, производные пурина.***

К производным пурина относятся следующие препараты.

**КОФЕИН (Coffeinum).**

1,3,7-Триметилксантин.



Синонимы: Caffeine, Guaranin, Theinum.

Алкалоид, содержащийся в листьях чая (около 2 %), семенах кофе (1-2%), орехах кола. Получают также синтетическим путем.

Белые шелковистые игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок горьковатого вкуса, без запаха.

Медленно растворим в воде (1:60), легко - в горячей (1:2), трудно растворим в спирте (1:50). Растворы имеют нейтральную реакцию; стерилизуют при + 100ºС в течение 30 мин.

По строению и фармакологическим свойствам кофеин близок к теобромину и теофиллину; все три алкалоида относятся к группе метилксантинов. Из этих алкалоидов наиболее сильное возбуждающее влияние на ЦНС оказывает кофеин. Меньшее действие оказывает теофиллин, еще меньшее - теобромин; теофиллин сильнее стимулирует сердечную деятельность и диурез, меньше действует теобромин, затем кофеин. В связи с этими различиями в силе действия кофеин используется преимущественно как стимулятор ЦНС, а теофиллин и теобромин - в качестве сердечно-сосудистых средств. Таблетки «Кофетамин» (Tabulettae «Coffetaminum»). Содержит кофеина 0,1 г и эрготамина тартрата 0,001 г (1 мг). Применяют при мигрени (вазопаралитическая форма), артериальной гипертензии, а также как средство, понижающее внутричерепное давление при сосудистых, травматических, инфекционных поражениях ЦНС. Эффект связан с сосудосуживающим действием эрготамина и улучшением под влиянием кофеина функций головного мозга.

**КОФЕИН-БЕНЗОАТ НАТРИЯ - (Coffeinum-natrii benzoas).**

 

Синоним: Соffeinum natrio-benzoicum.

Белый порошок слабогорького вкуса, без запаха. Легко растворим в воде (1:2), трудно - в спирте (1:40). Содержит 38-40% кофеина.

Растворы (рН 6,8-8,5) стерилизуют при + 100ºС в течение 30 мин. По фармакологическим свойствам, показаниям и противопоказаниям к применению аналогичен кофеину; лучше растворяется в воде и быстрее выделяется из организма, чем кофеин. Назначают внутрь в порошках и таблетках 2-3 раза в день взрослым обычно по 0,1-0,2 г на прием; под кожу по 1 мл 10 % или 20 % раствора; детям внутрь - по 0,025-0,1 г на прием, под кожу по 0,25-1 мл 10% раствора в зависимости от возраста. Дозы должны подбираться индивидуально.

Высшие дозы для взрослых внутрь: разовая 0,5 г, суточная 1,5 г; под кожу: разовая 0,4 г, суточная 1 г. Формы выпуска: порошок и таблетки по 0,1 и 0,2 г (для взрослых) и по 0,075 г (для детей); 10 % и 20 % растворы в ампулах по 1 и 2 мл и в шприц-тюбиках по 1 мл.

Кофеин-бензоат натрия входит также в состав различных комбинированных таблеток и порошков. Выпускаются таблетки, содержащие кофеин-бензоата натрия 0,05 г и натрия бромида 0,1 г. Назначают при неврозах по 1 таблетке 2-3 раза в день.

Хранение: список Б. В хорошо укупоренной таре и в запаянных ампулах.

**ТЕОБРОМИН (Тheobrominum).**

3,7-Диметилксантин.



Синонимы: Тheostenе, Тhesal.

Алкалоид, добываемый из шелухи семян какао (Semina Сасао). Получают также синтетическим путем.

Белый кристаллический порошок горького вкуса. Очень мало растворим в холодной воде (1: 700), мало - в горячей, легко - в разведенных щелочах и кислотах. По химическому строению и фармакологическим свойствам близок к другим алкалоидам пуринового ряда. Оказывает стимулирующее влияние на сердечную деятельность, несколько расширяет коронарные сосуды сердца и бронхи, усиливает мочеотделение. Диуретический эффект связан преимущественно с уменьшением канальцевой реабсорбции воды, ионов натрия и хлора. Входит в состав ряда комбинированных таблеток. Ранее выпускавшийся препарат "Темисал" (Тhemi-salum; синоним - Дауретин), являющийся сочетанием теобромина с салицилатом натрия и применявшийся в качестве умеренно действующего мочегонного и сосудорасширяющего средства, в последнее время исключен из номенклатуры лекарственных средств (в связи с малой эффективностью и с недостаточной стабильностью).

Формы выпуска: порошок; таблетки по 0,25 г; комбинированные таблетки, содержащие: а) теобромина 0,25 г и дибазола 0,02 г; б) теобромина 0,25 г и фенобарбитала 0,02 г, а также таблетки "Теминал ", "Теоверин", "Теодибаверин".

Таблетки "Теоверин" (Таbulettae "Тhеоvеrinum") содержат теобромина 0,25 г, папаверина гидрохлорида 0,03 г и барбамила 0,075 г. Таблетки "Теодибаверин" (Таbulettae "Тheodibaverinum") содержат теобромина 0,15 г, папаверина гидрохлорида и дибазола по 0,02 г. Все таблетки назначают 2-3 раза в день (по 1 таблетке на прием).

**ТЕОФИЛЛИН (Тhеоphyllinum).**

**1,3-Диметилксантин.**



Синонимы: Aqualin, Asmafil, Lanophyllin, Optiphyllin, Oralphyllin, Teolix, Theocin, Theofin и др.

Алкалоид, содержащийся в чайных листьях и в кофе. Получают также синтетическим путем.

Белый кристаллический порошок. Малорастворим в холодной воде, легко - в горячей, растворим в кислотах и щелочах. Теофиллин влияет на различные функции организма. Он оказывает стимулирующее действие на ЦНС, хотя и менее выраженное, чем кофеин; усиливает сократительную деятельность миокарда. Несколько расширяет периферические, коронарные и почечные сосуды, оказывает умеренное диуретическое действие, ингибирует агрегацию тромбоцитов, тормозит высвобождение из тучных клеток медиаторов аллергии. Особенно важной является способность теофиллина оказывать бронхорасширяющий эффект. Теофиллин в "чистом" виде применяют в настоящее время ограниченно. Формы выпуска: порошок; свечи по 0,2 г (Suppositoria cum Тhеорhyllino 0,2).

Теофиллин является основной составной частью эуфиллина. Входит в состав некоторых комбинированных таблеток (Теофедрин и др.). Иногда готовят ех tempore сочетания теофиллина с димедролом, эфедрином, спазмолитическими и другими препаратами.

В последнее время стали сочетать теофиллин с современными бронхорасширяющими препаратами. Так, препарат "Тео-Астхалин" (Тhео-Аsthalin, Индия) содержит в 1 таблетке О,1 г теофиллина и 0,002 (2 мг) сальбутамола, а "Тео-Астхалин форте" - соответственно 0,2 г теофиллина и 0,004 г (4 мг) сальбутамола.

Применяют как лечебное и профилактическое средство при бронхиальной астме.

По составу и действию "Теофедрин" близок к зарубежному препарату "Антастман" (Аntasthman); не имеющему в настоящее время широкого применения. В последнее время разработаны специальные лекарственные формы теофиллина пролонгированного действия, имеющие преимущества перед "чистым" теофиллином. Медленное высвобождение теофиллина из этих препаратов обеспечивает его равномерное поступление в ток крови (при приеме внутрь), более медленное нарастание концентрации в плазме крови и более длительный эффект (до 12 ч и более), лучшую переносимость.

**ЭУФИЛЛИН (Еuphyllinum).**

Теофиллин с 1,2-этилендиамином.



Содержание теофиллина составляет около 80 %, этилендиамина - 20 %.

Синонимы: Aminocardol, Aminophyllinum, Ammophyllin, Diaphyllin, Genophyllin, Methaphyllin, Neophyllin, Novphyllin, Synthophyllin, Theophyllamin, Theophylline ethylendiamine и др.

Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым запахом аммиака. Растворим в воде. Водные растворы (рН 9,0 9,7) готовят асептически. Действие эуфиллина обусловлено в первую очередь содержанием в нем теофиллина. Этилендиамин усиливает спазмолитическую активность и способствует растворению препарата.

Хранение - в хорошо укупоренной таре, предохраняющей от действия света.

Выпускаемый за рубежом (Венгрия) препарат "Диафиллин 24%" (Diaphyl-linum) содержит в 1 ампуле 1 мл 24% раствора (0,24 г) эуфиллина и 0,01 г анестезина; вводят только внутримышечно.

**ПЕНТОКСИФИЛЛИН (Реntoxуphyllin).**

3,7-Диметил-1-(5-оксогексил)-ксантин или 1-(5-оксогексил) теобромин.



Синонимы: Агапурин, Трентал, Аgapurin, Охреntifyllinе, Реntохifyllin, Rаlоfekt, Теrеntаl, Тоrеntal, Тrеntal.

Белый кристаллический порошок. Растворим в воде.

По химической структуре близок к теофиллину и теобромину. Препарат улучшает микроциркуляцию и реологические свойства крови. Оказывает сосудорасширяющее действие и улучшает снабжение тканей кислородом. Применяют пентоксифиллин при нарушениях периферического кровообращения (эндартериит, болезнь Рейно и др.), цереброваскулярной патологии (атеросклеротические нарушения, ишемические состояния, после перенесенного инфаркта и др.), сосудистой патологии глаз, диабетической нефроангиопатии и других диабетических ангиопатиях, функциональных нарушениях слуха. Препарат эффективен при ИБС, сочетающейся с микроангиопатией склеротического или диабетического происхождения. Назначают пентоксифиллин внутрь, внутривенно и внутриартериально.

Формы выпуска: таблетки (драже розового цвета) по 0,1 г в упаковке по 60 штук; 2 % раствор в ампулах по 5 мл в упаковке по 5 ампул.

**ДИПРОФИЛЛИН (Diprophyllinum).**

7-(2,3-Диоксипропил)-теофиллин.

 

Cинонимы: Aristophyllin, Astrophyllin, Coronal, Coronarin, Corphyllamin-Neutral, Didrofillina, Diprophyllin, Dyphylline, Glyfyllin, Glyphyllin, Isophyllin, Neutraphyllin, Solufyllin, Thefylan, Teofene и др.

Белый мелкокристаллический порошок горького вкуса. Медленно растворим в воде (1:10). Растворы (рН 5,5-6,5) стерилизуют при +100 С в течение 30 мин. По фармакологическим свойствам близок к теофиллину и эуфиллину, оказывает бронхорасширяющее и умеренное коронарорасширяющее действие, несколько усиливает диурез; на ЦНС выраженного возбуждающего влияния не оказывает, несколько улучшает мозговое кровообращение. По сравнению с теофиллином менее токсичен, а по сравнению с эуфиллином обладает менее сильным действием, но менее токсичен и не оказывает раздражающего действия на ткани.

Формы выпуска: порошок; таблетки по 0,2 г; 10% раствор в ампулах по 5 мл; свечи, содержащие по 0,5 г препарата.

Хранение: список Б. В прохладном, защищенном от света месте.

 **КСАНТИНОЛА НИКОТИНАТ (Хаntinoli niсоtinas).**

**7-[2-Окси-3-(N-метил-b-оксиэтиламино)-пропил]-теофиллина никотинат.**



Белый кристаллический порошок, легко растворим в воде, мало - в спирте.

Синонимы: Компламин, Ксавин, Садамин, Теоникол, Angioamin, Complamex, Complamin, Contamex, Mehemin, Sadamin, Teonicol, Vedrin, Xantinol nicotinate, Xavin и др.

Препарат сочетает свойства веществ группы теофиллина и никотиновой кислоты. Расширяет периферические сосуды, улучшает периферическое коллатеральное кровообращение, мозговое кровообращение и уменьшает явления церебральной гипоксии, улучшает микроциркуляцию в сосудах сетчатой оболочки глаза.

В последнее время предложено применять ксантинола никотинат в качестве одного из средств для рефлекторного лечения алкоголизма. Основанием для этого служат вызываемые препаратом побочные явления (эффекты никотиновой кислоты).

 **.**

 **МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ.** Раньше все пуриновые алкалоиды получались исключительно из природных источников. Но поскольку содержание алкалоидов в природных источниках невелико, изыскивали пути синтетического получения данных алкалоидов.

Природным источником получения пуриновых алкалоидов служат отходы чайной промышленности (чайная пыль, обрезки листьев и т. д.), содержащие 1-3% кофеина; бобы какао, в которых находится 1,5-2% теобромина.

 Известно несколько способов получения кофеина. Один из них основан на противоточной экстракции. Водный экстракт очищают от примесей, осаждают балластные вещества с помощью солей свинца, кальция, магния. Фильтрат затем выпаривают. Перекристаллизацию кофеина производят из холодной воды. Аналогичным способом выделяют из бобов какао теобромин либо в виде основания, либо в виде кальциевой соли (растворимой в воде).

Существующие пути синтеза пуриновых алкалоидов могут быть условно разделены на две группы. К первой группе относятся полусинтетические методы, в которых исходят из готовой пуриновой системы, чаще всего мочевой кислоты или гуанина, добываемых из природных веществ (птичьего помета – гуано, являющегося отходом птицеводческих ферм).

 

 мочевая кислота аллоксан мочевина

Вторая группа предусматривает полный химический синтез, где исходными продуктами служат доступные вещества, ничего общего не имеющие с пуринами.

 Сущность полусинтетических методов получения пуриновых алкалоидов сводится к введению N-метильных групп в необходимое положение исходного пуринового производного.

Наибольшее распространение из полусинтетических методов получил метод, разработанный О. Ю.Магидсоном и Е. С.Головчинской, в котором исходным продуктом служит мочевая кислота.

Метод сводится к нагреванию мочевой кислоты с формамидом. Реакция протекает через промежуточное раскрытие имидазольного цикла в пуриновой системе, декарбоксилирование и отщепление уксусной кислоты, по схеме:

H

N

H

O

N

H

N

H

O

N

H

N

H

O

N

H

N

O

N

O

H

C

O

N

H

2

formamid

 sidik turşusu ksantin



Из известных методов полного химического синтеза пуриновых алкалоидов давно известен классический метод Траубе, в котором исходными продуктами служат диалкилмочевина и циануксусная кислота. Синтез Траубе удобен тем, что, используя различные алкилпроизводные мочевины, можно получить любое производное ксантина.

Метод этот в дальнейшем совершенствовался и в настоящее время в промышленности используется модифицированный метод Траубе. Исходными веществами являются алкильные (моно- или ди-) производные мочевины и циануксусная кислота:

N

H

3

C

C

N

H

3

H

C

O

+

C

C

H

2

C

N

O

O

H

-

H

2

O

C

O

N

3

H

C

O

N

H

C

H

3

C

N

H

 dimetil sidik sianasetat sian-asetildimetil

 cövhəri turşusu sidik cövhəri

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

C

H

2

N

H

N

O

H

O

-

H

2

O

 1,3-dimetil-4-imin-urasil

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

H

(

C

H

3

)

2

S

O

4

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

C

H

3

 1,3-dimetil-4-imin- 1,3-dimetil-4,5-

 -5-izonitrozourasil diaminurasil

H

C

O

O

H

-

H

2

O

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

H

2

N

H

C

O

H

N

a

O

H

-

H

2

O

1-3-dimetil-4-amin-

-5-formil aminurasil

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

H

(

C

H

3

)

2

S

O

4

C

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

C

H

3

 teofillin kofein

В последние годы разработаны методы получения пуриновых алкалоидов путем непосредственного метилирования ксантина. Установлено, что выход кофеина при метилировании ксантина диметилсульфатом в значительной мере зависит от рН среды. В щелочной среде (рН 8,0-9,0) происходит полное метилирование ксантина, т.е. образуется кофеин. При рН 4,0-7,0 замещение происходит в положениях 3 и 7, что приводит к образованию теобромина.

Тибб тяжрцбясиндя пурин групу алкалоидляринин ашаьыдакы препаратларынын синтези апарылыр.

Дипрофиллинин вя пентоксифиллинин алынмасы мянбяляри кими тябии алкалоидлярдян – теофиллиндян вя теоброминдян истифадя олунур.

Дипрофиллинин синтези теофиллинин натриум дузунун глисеринин α-монохлор-щидринля гаршылыглы тясири нятижясиндя апарылыр:



Теофиллинин натриум дузу дипрофиллин

Пентоксифиллинин синтези цчцн теоброминдян вя йа ксантиндян истифадя олунур:



 ксантин

 

 пентоксифиллин

**МЕТОДЫ АНАЛИЗА**

Кофеин, теобромин и теофиллин представляют собой амфотерные соединения, образующие как с кислотами, так и основаниями очень нестойкие соли. Исключение составляет кофеин, который не образует соли в виду отсутствия в его молекуле незамещенных кислотных атомов водорода. Основные свойства теофиллина и теобромина обусловлены присутствием азота в положении 9, кислые свойства теофиллина обусловлены водородом в положении 7, а у теобромина водородом имидной группы в положении 1, который может претерпевать енолизацию с рядом стоящим кислородом.

Теофиллин и теобромин, обладая кислыми свойствами, могут давать соли с металлами. Интерес представляют серебряные соли, подтверждающие подлинность этих препаратов. Серебряная соль теофиллина образуется нахолоду и выпадает в виде белого кристаллического осадка. Серебряная соль теофиллина образуется нахолоду и выпадает в виде белого кристаллического осадка. Серебряная соль теобромина получается при нагревании и имеет вид желатинообразной массы.

Общей реакцией для испытания подлинности препаратов пуриновых алкалоидов и их двойных солей, является мурексидная проба. Она основана на разрушении молекулы пурина при нагревании с окислителем (пероксидом водорода, бромной водой, азотной кислотой и т.д.) до образования смеси метилированных производных аллоксана и его изомера диалуровой кислоты. Взаимодействуя между собой, они образуют метилированные производные аллоксантина, которые под действием избытка раствора аммиака приобретают пурпурно-красное окрашивание. Окраска обусловлена появлением аммонийной соли тетраметилпурпуровой кислоты.

Кофеин дает мурексидную пробу по схеме:

C

H

3

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

H

2

O

2

C

O

N

2

H

N

H

C

H

3

+

 **Кофеин метилмочевина**

O

O

O

O

N

N

3

H

C

C

H

3

+

O

C

H

3

O

O

N

N

3

H

C

O

H

H

C

l

 **1,3-диметилаллоксан 1,3-диметилдиалуровая кислота**

O

C

H

3

O

O

N

N

3

H

C

O

H

O

C

H

3

O

O

N

N

C

H

3

O

N

H

3

 **тетраметилаллоксантин**

O

C

H

3

O

O

N

N

3

H

C

N

O

C

H

3

O

C

H

3

N

N

O

4

H

N

 **Аммонийная соль тетраметилпурпуровой кислоты**

Аналогичная схема лежит в основе мурексидной пробы на теофиллин, теобромин и другие производные пурина.

При окислении пуриновых алкалоидов всегда получается два вещества разлоичной степени метилирования: аллоксан и метилмочевина (в случае окисления теофиллина – мочевина).

Соответственно при окислении теобромина получаются монометилаллоксан и метилмочевина; при окислении теофиллина - диметилаллоксан и мочевина.

Мурексидная проба обычно считается специфичной для пуриновых производных, однако в последние годы появились работы, свидетельствующие о применении этой реакции и к ряду других соединений, не имеющих в молекуле пуриновой системы. Например, она положительная для аллоксана, диалуровой, барбитуровой, виолуровой кислот.

Мурексид, как известно, является металлоиндикатором, применяемым в трилонометрии при определении кальция, меди, никеля и других металлов.

Препараты алкалоидов, производных пурина представляют собой белые кристаллические вещества без запаха, горького вкуса. Кофеин на воздухе выветривается, при нагревании возгоняется. Препараты отличаются друг от друга по растворимости. Все пуриновые алкалоиды плохо растворяются в воде. Кофеин и теофиллин легко растворим, а теобромин очень мало растворим. Кофеин в отличие от теофиллина и теобромина легко растворим в хлороформе. Теофиллин и теобромин растворимы в разведенных растворах кислот и щелочей. Ввиду наличия незамещенных атомов водорода в положении 1 или 7 при растворении теофиллина и теобромина в щелочах происходит образование солей.

Для идентификации препаратов пуриновых алкалоидов и их солей могут быть использованы различные осадительные (общеалкалоидные) реактивы. Государственная Фармакопея Х рекомендует подлинность кофеина устанавливать с помощью 0,1%-ного раствора танина и 0,1 Н раствора йода.

Для качественного анализа теофиллина и теобромина могут быть использованы реакции, основанные на образовании солей за счет замещения атомов водорода в положении 1 или 7. Препараты в начале превращают в натриевые соли, действуя раствором гидроксида натрия. В качестве реактива, позволяющего отличать друг от друга кофеин, теофиллин и теобромин, Государственная Фармакопея Х рекомендует раствор хлорида кобальта. Теобромин образует осадок серовато-голубого цвета:





Теофиллин в тех же условиях образует белый с розоватым оттенком осадок:

 



Кофеин с хлоридом кобальта положительной реакции не дает.

Подлинность теофиллина, теобромина можно также установить по образованию характерных осадков солей серебра. Кофеин не образует осадка с раствором нитрата серебра.

Перед добавлением нитрата серебра теобромин и теофиллин действием раствора гидроксида натрия превращают в натриевые соли. Серебряная соль теобромина выпадает в виде белого студенистого осадка:



Серебряная соль теофиллина представляет собой полупрозрачный студенистый осадок, разжижающийся при нагревании и вновь застывающий при охлаждении:



Теофиллин в отличие от других пуриновых алкалоидов образует со щелочным раствором нитропруссида натрия характерное зеленое окрашивание, исчезающее после добавления избытка кислоты.

Для испытания подлинности препаратов двойных солей пуриновых алкалоидов Государственная Фармакопея Х рекомендует обнаруживать ионы натрия и анионы соответствующих кислот: бензоаты – в кофеине-бензоате натрия.

При реакции на бензойную кислоту с раствором хлорида окисного железа выпадает осадок розовато-желтого цвета:

6C6H5COONa + 2FeCl3 + 10H2O→ 6NaCl + 3C6H5COOH +

+ (C6H5COO)3Fe ⋅ Fe(OH)3⋅ 7H2O↓

При этом образуется сине-фиолетовое окрашивание, исчезающее при добавлении минеральной кислоты. При добавлении же органической кислоты окраска не исчезает.

Этилендиамин в эуфиллине открывают с помощью раствора сульфата меди (фиолетовое окрашивание). Этилендиамин можно подтвердить и другой реакцией с 2,4-динитрохлорбензолом. При этом выпадает осадок желтого цвета:

H

2

N

H

2

N

H

2

3

+

C

u

S

O

4

C

H

2

N

H

2

C

H

2

N

H

2

C

u

3

S

O

4

Алкалоиды в препаратах двойных солей обнаруживают мурексидной пробой, а также извлекают хлороформом (кофеин-бензоат натрия) или осаждают (эуфиллин) при определенных значениях рН, а затем очищают и проверяют температуру плавления.

Доброкачественность препаратов по Государственной Фармакопее Х проверяют, устанавливая допустимые пределы примесей посторонних алкалоидов. При испытании кофеина примеси алкалоидов обнаруживают с помощью реактива Майера, который не дает положительный реакции с самим препаратом.

В теофиллине регламентируется содержание примеси других пуриновых оснований, а в теобромине – примеси кофеина (не более 0,5%) и 3-метил-ксантина.

Теофиллин после щелочного гидролиза (в 30%-ном растворе гидроксида натрия при нагревании) превращается в теофиллидин, который вступает во взаимодействие с солью диазония, образуя азокраситель красного цвета:

 



Аналогичный азокраситель образует в тех же условиях пентоксифиллин.

Общей для кофеина, теобромина и теофиллина является реакция с хлоридом ртути (II). Образуется белый кристалли­ческий осадок, представляющий собой комплексное соединение, включающее оба вещества в эквимолекулярном соотно­шении, например у кофеина C8H10N4O2 ■ HgCl. Поэтому данная реакция использована и для их косвенного комплексонометрического определения.

Дипрофиллин при кипячении с раствором гидроксида натрия выделяет аммиак, который обнаруживают по запаху или изменению окраски красной лакмусовой бумаги. При нагревании смеси порошков дипрофиллина и гидросульфата калия в пробирке, накрытой фильтровальной бумагой, смоченной раствором нитропруссида натрия и каплей пиперидина, на бумаге появляется синее пятно, которое переходит в розовое после добавления 2-3 капель 1 М раствора гидроксида на­трия. Реакция основана на образовании летучих альдегидов в результате дегидратирующего действия на дипрофиллин ги­дросульфата калия. Окрашивание возникает при взаимодействии альдегидов с реактивом.

Пентоксифиллин идентифицируют также методом ТСХ на пластинках с силикагелем G восходящим методом в смеси растворителей метанол-этилацетат (3:17). Проявляют хроматограмму, нагревая со смесью анисового альдегида, ледяной уксусной и серной кислот. Пятно окрашивается в желтый цвет, переходящий в темно-фиолетовый.

Пуриновое ядро в молекулах двойных солей обнаруживают с помощью мурексидной пробы. Кофеин из подщелочен­ного водного раствора кофеина-бензоата натрия извлекают хлороформом. Хлороформ отгоняют, остаток сушат (при 80°С) и устанавливают температуру плавления кофеина (234-237°С). Присутствие кофеина в кофеина-бензоате натрия подтвер­ждают также положительной реакцией с йодом в присутствии хлороводородной кислоты (образование периодида). Для испытания подлинности двойных солей пуриновых алкалоидов ФС рекомендует обнаруживать ион натрия и бензоат-ион в кофеине-бензоате натрия. Этилендиамин в аминофиллине открывают с помощью раствора сульфата меди (фио­летовое окрашивание).

**Подлинность аминофиллина можно установить путем осаждения теофиллина из водного раствора (полученного при нагревании) с помощью хлороводородной кислоты. Промытый и высушенный теофиллин должен иметь температуру плавления 269-274°С. Из фильтрата с помощью бензоилхлорида в щелочной среде осаждают дибензоилэтилендиамин:**



Осадок отфильтровывают, промывают водой, перекристаллизовывают из этанола, промывают, сушат. Его температура плавления должна быть 250-251 °С.

Наличие кислоты никотиновой в двойной соли ксантинола никотинате устанавливают методом ТСХ на пластинках Силуфол УФ-254, сравнивая со свидетелем. Пластинку с пробами испытуемого вещества и свидетеля (кислоты никотино­вой) хроматографируют в системе н-бутанол-метанол-раствор аммиака-хлороформ (8:9:6:14). Высушенную хроматограмму просматривают в УФ-свете. Должно быть одно пятно ксантинола и одно пятно кислоты никотиновой.

Испытания на чистоту производных ксантина и их двойных солей выполняют, устанавливая допустимые пределы при­месей посторонних алкалоидов. При испытании кофеина примеси других алкалоидов обнаруживают с помощью реакти­ва Майера, который не дает положительной реакции с самим кофеином. В теофиллине регламентируется содержание при­месей других пуриновых оснований, а в теобромине - примеси кофеина. Обнаружение указанных примесей в теофилли­не и теобромине обусловлено некоторым различием кислотных свойств, так как рКа теобромина и теофиллина соответ­ственно равны 9,9 и 8,8. Благодаря этому теофиллин в отличие от теобромина растворяется в растворе аммиака.

Наряду с использованием указанных химических свойств основным методом, применяемым для обнаружения посто­ронних примесей, в т. ч. иных пуриновых алкалоидов в производных ксантина, является ТСХ. Испытания выполняют на пластинках Силуфол УФ-254 или пластинках, покрытых слоем силикагеля F254. Хроматографируют восходящим методом в системах растворителей различного состава. Детектируют, как правило, в УФ-свете при длине волны 254 нм и оценива­ют содержание примесей по величине и интенсивности пятен на хроматограммах, сравнивая их со свидетелями. Кофеин, согласно требованиям ФС, может содержать примеси теобромина и теофиллина (не более 0,5%). Суммарное содержание примесей в пентоксифиллине не должно превышать 1%, в аминофиллине - не более 0,5%. Наличие примеси теофилли­на (не более 0,5%) в ксантинола никотинате устанавливают в той же системе, что и при испытании его на подлинность.

Для количественного определения производных ксантина и их двойных солей использу­ют особенности кислотно-основных свойств.

Кофеин в водных растворах проявляет очень слабые основные свойства, практически его растворы имеют нейтральную ре­акцию. С минеральными кислотами кофеин солей не образует (они сразу же гидролизуются). Поэтому метод нейтрализации в водных растворах для кофеина неприменим. В неводной среде (хлороформ, уксусный ангидрид, бензол) кофеин проявляет выраженные основные свойства и его можно оттитровать хлорной кислотой (индикатор кристаллический фиолетовый).

**Кофеин и теобромин имеют электронодонорную метальную группу в положении 7, благодаря чему усиливается отри­цательный заряд атома азота в положении 9. Кофеин кроме того имеет две метальные группы в пиримидиновом кольце. В связи с этим наблюдается увеличение отрицательных зарядов в циклах молекулы, следовательно, у атома азота в поло­жении 9 заряд у кофеина наибольший. Вот почему основные свойства у всех трех алкалоидов обусловлены наличием ато­ма азота в положении 9, причем** **кофеин - наиболее сильное основание, а теофиллин - наиболее слабое. Процесс титро­вания кофеина в неводной среде (смесь хлороформа и уксусного ангидрида) протекает по следующей схеме:**

C

H

3

O

N

3

H

C

O

N

C

H

3

N

N

C

l

O

4

.

+

K

o

f

e

i

n

+

H

C

l

O

4

H

**Пентоксифиллин определяют в смеси уксусного ангидрида и бензола (10:20) с тем же титрантом и индикатором. При количественном определении по ФС теобромина в качестве неводного растворителя используют муравьиную кисло­ту и уксусный** **ангидрид (1:10), индикатором служит раствор Судана III. Ксантинола никотинат количественно определя­ют в смеси ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида (2:18), эквивалентную точку устанавливают потенциометрически со стеклянным индикаторным электродом.**

Теофиллин, теобромин обладают амфотерными свойствами. Но ни по кислотным, ни по основным свойствам их тит­рование в водной среде невозможно, так как эти свойства очень слабы.

**Способность кофеина и теобромина образовывать периодиды** в кислой среде использована для обратного **йодометрического определения. Избыток титрованного раствора йода, содержащего** йод **ид** калил, осаждает из раствора **кофеин в ви­де периодида. Йодометрическое** определение используют (ФС) для **количественного опре­деления кофеина в кофеине-бензоате натрия. Титрантом** служит 0,1 **М** раствор йода, Периодид кофеина осаждают, **осадок отделяют, пропуская смесь через вату в сухую** колбу. В аликвотной части фильтрата определяют избыток титранта с помо­**щью 0,1 М раствора тиосульфата натрия (индикатор** крахмал). Параллельно **проводят контрольный опыт.**

 **кофеин кофеина перйодид**

Для количественного определения кофеина в смесях используют гравиметрический метод, основанный на его извле­чении с помощью хлороформа. **Бензоат натрия в кофеине**-бензоате натрия определяют **нейтрализацией 0,5 М раствором хлороводородной кислоты в присутствии** **смешанного** индикатора (растворы метилового **оранжевого и метиленового синего в соотношении 1:1):**

Для извлечения выделяющейся бензойной кислоты определение проводят в присутствии эфира. Кофеин-бензоат на­трия должен содержать 38-40% кофеина и 58-62% бензоата натрия.

**Кофеин, теобромин и теофиллин можно количественно определить цериметрическим методом. Избыток сульфата це­рия, используемого в качестве титранта, при нагревании окисляет их в кислой среде до образования аллоксанов (1,3-диметилаллоксан образуется при окислении кофеина, 3-метилаллоксан - при окислении теобромина).** **На примере кофеи­на процесс можно представить следующим образом:**

Kofein + 4Ce(SO4)2 + H2O → NH2–CO–NHCH3+ 2Ce2(SO4)3 + 2H2SO4 +

 (metil karbamid)

O

O

O

O

N

N

3

H

C

C

H

3

+

 1,3-dimetilalloksan

2Ce(SO4)2 + 2KI → Ce2(SO4)3 + I2 + 2K2SO4

I2 + 2Na2S2O3→ 2NaI + Na2S4O6

Избыток сульфата церия устанавливают йодометрическим методом после добавления 10%-ного раствора йодида калия и хлороформа. В качестве титранта используют тиосульфат натрия.

**Для количественного определения теобромина и теофиллина используют сочетание аргентометрии и кислотно-основ­ного титрования (метод косвенной нейтрализации). Метод основан на образовании солей серебра и выделении эквива­лентного** **количества азотной кислоты. Ее титруют 0,1 М раствором гидроксида натрия (индикатор феноловый красный):**

C

H

3

OAg

N

N

C

H

3

N

O

N

T

e

o

b

r

o

m

i

n

+

A

g

N

O

3

-

H

N

O

3

HNO3 + NaOH → NaNO3 + H2O

Известны различные варианты такого определения. Один из них (прямой) основан на потенциометрическом титрова­нии выделившейся кислоты, другой (обратный) - на определении избытка титрованного раствора нитрата серебра по Фольгарду.

С целью исключения расхода нитрата серебра разработан способ количественного определения теофиллина, основан­ный на его взаимодействии с нитратом кадмия. Электронное строение катионов кадмия и серебра сходно. В результате ре­акции одна молекула нитрата кадмия взаимодействует с двумя молекулами теофиллина, замещая атом водорода в положе­нии 7 имидазольного цикла. Происходит выделение двух молекул азотной кислоты, которую оттитровывают 0,1 М раство­ром гидроксида натрия (индикатор феноловый красный). Образующийся вблизи точки эквивалентности белый осадок не мешает титрованию.

Количественное определение теофиллина в аминофиллине выполняют после нагревания (для удаления этилендиами­на) в течение 2,5 ч при 125-130°С, используя метод косвенной нейтрализации.

Этилендиамин в отдельной навеске титру­ют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты в присутствии индикатора метилового оранжевого:

C

H

2

C

H

2

N

H

2

N

H

2

+

2

H

C

l

N

H

2

H

C

l

C

H

2

C

H

2

N

H

2

H

C

l

.

.

Аминофиллин должен содержать 80-85% теофиллина и 14-18% этилендиамина.

Теофиллин в аминофиллине можно определить аргентометрическим методом с использованием в качестве индикато­ра амидопирина. Освобождающаяся при титровании азотная кислота нейтрализуется этилендиамином и не мешает тит­рованию. В эквивалентной точке раствор приобретает синеватое окрашивание.

Предложен экспресс-метод определения теофиллина в аминофиллине в смеси растворителей диметилформамид-вода с помощью титранта 0,1 М водного раствора гидроксида натрия (индикатор тимоловый синий). В этой среде кислотные свойства теофиллина усиливаются настолько, что становится возможным его титрование как кислоты. Содержание воды в точке эквивалентности достигает 20-25% и не оказывает влияния на результаты титрования.

Алкалиметрический метод определения теофиллина и аминофиллина основан на образовании натриевой соли теофил­лина. В качестве растворителя используют этанол (при нагревании на водяной бане). Раствор охлаждают и титруют 0,1 М раствором гидроксида натрия (индикатор тимолфталеин).

Количественное определение дипрофиллина может быть вы­полнено методом Кьельдаля.

Спектрофотометрическое определение кофеина и кофеина-бензоата натрия выполняют, используя в качестве раство­рителя воду (272 нм), теобромина и теофиллина - 0,1 М раствор гидроксида натрия (272 нм), дипрофиллин определя­ют в водных растворах (273 нм). Описаны также фото колориметрические и фототурбидиметрические методики определе­ния пуриновых алкалоидов в лекарственных формах. Содержание теофиллина в аминофиллине определяют фотоколори­метрическим методом на основе цветной реакции с нитропруссидом натрия и гексацианоферратом (Ш) калия. Для фото­метрического определения этилендиамина в аминофиллине в качестве реактива используют нингидрин.

Хранение и применение. Те­офиллин предохраняют от действия света. Учитывая способность аминофиллина поглощать углекислый газ из воздуха, его необходимо хранить в заполненной доверху таре, предохраняя от действия света и влаги. Кофеин-бензоат натрия хранят в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +25°С.

Кофеин и кофеин-бензоат натрия применяют внутрь по 0,05-0,1 г 2-3 раза вдень в качестве стимулятора центральной нервной системы, кардиотонического средства, при спазмах сосудов. Последние исследования показали, что кофеин мо­жет предохранять организм от вредного воздействия радиации. Кофеин-бензоат натрия лучше растворим в воде, поэтому его можно использовать в виде растворов для инъекций.

Теобромин и теофиллин применяют в качестве спазмолитических (сосудорасширяющих, бронхорасширяющих) и диу­ретических средств. Назначают теобромин по 0,25-0,5 г, а теофиллин - по 0,1-0,2 г. Аминофиллин назначают при тех же показаниях, что и теофиллин. Хорошая растворимость в воде позволяет вводить его не только внутрь (0,1-0,15 г), но и вну­тримышечно (12%-ные и 24%-ные растворы), а также внутривенно (2,4%-ные растворы).

Пентоксифиллин - вазодилатирующее, ангиопротекторное, антиагрегантное, антитромботическое средство. Его на­значают при нарушениях периферического кровообращения, цереброваскулярной патологии, в офтальмологии и отори­ноларингологии в виде таблеток (драже) по 0,1 г и 2%-ных растворов в ампулах по 5 мл для инъекций.

Дипрофиллин назначают при спазмах коронарных сосудов, сердечной и бронхиальной астме, гипертонической болез­ни. Вводят внутрь (0,2-0,5 г 3-4 раза в день), внутримышечно (3-5 мл 10%-ного раствора), внутривенно (5-10 мл 2,5%-но- го раствора). Ксантинола никотинат является средством, улучшающим периферическое и церебральное кровообращение. Он выпускается в виде таблеток «Теоникол», а также 15%-ного раствора ксантинола никотината для инъекций.

Производные гуанина

Гуанин (2-амино-6-оксипурин) содержится в экскрементах птиц, чешуе рыб и рептилий. Образуется при гидролизе нуклеиновых кислот или из 2,8-дихлоргипоксантина при действии на него аммиаком с последующим гидрированием:

 

 гуанин (2-амино-6-оксипурин)



 

 гуанин (кето-форма) гуанин (енольная форма)

Применяемые в медицинской практике противовирусные средства ацикловир и ганцикловир имеют общую формулу:



Они очень сходны по химической структуре и отличаются только числом оксиметильных групп в алифатической цепи (R). Ганцикловир представляет собой натриевую соль.

O

N

N

R

N

N

2

H

N

H

1

2

3

4

5

6

7

8

9

=

R

O

2

H

C

C

H

2

O

H

C

H

2

O

H

C

**Atsiklovir: Qantsiklovir:**

R= – CH2O – CH2 – CH2OH

9-(2-Hidroksi-etoksimetil)-quanin (1,3-Dihidroksi-2-propoksimetil)-quanin natrium

**Исходными продуктами синтеза ацикловира служат гуанин или 2,6-дихлорпурин.**

**Их подвергают алкилированию I -хлорметил-2-бензоилэти­ленгли­ко­ем. Затем атомы хлора действием спиртового раствора аммиака замещают на амино­группы, одну из которых через соль диазония превращают в гидроксигруппу. Конечной стадией является снятие бензоль­ной защиты у** **этиленгликолевого заместителя:**



 ацикловир

Ацикловир и ганцикловир - белые кристаллические вещества. Ацикловир очень мало растворим в воде и этаноле, практически нерастворим в эфире, растворим в растворах щелочей и кислот. Ганцикловир мало растворим в во­де, он представляет собой полярное гидрофильное соединение - водные растворы имеют рН 11,0.

Для испытания на подлинность производных гуанина используют ИК- и УФ-спектры, которые должны соответство­вать спектрам стандартных образцов. ИК-спектр ацикловира снимают после прессования в таблетках бромида калия в об­ласти 4000-400 см-1. На тонкослойной хроматограмме ацикловира пятно основного вещества должно быть на уровне пят­на стандартного образца. Устанавливают подлинность также методом ВЭЖХ (фармакопея США) по времени удержива­ния основных компонентов ацикловира с использованием гуанина в качестве внутреннего стандарта. Подвижной фазой служит ледяная уксусная кислота и вода (1:1000).

В ацикловире методом ТСХ устанавливают наличие примеси гуанина (не более 0,7%) и других примесей (0,8%). По­движной фазой служит система растворителей хлороформ-метанол-раствор аммиака (78:20:2). В ганцикловире посторон­ние примеси определяют методом ВЭЖХ (не более 2%).

Количественное определение ацикловира и ганцикловира выполняют методом ВЭЖХ. Ацикловир хроматографируют на колонке с обращенной фазой. Подвижная фаза включает 0,01 М раствор натрия дигидрофосфата и ацетонитрил. Де­тектируют при длине волны 254 нм.

Хранят ацикловир по списку Б при температуре не выше 25°С, ганцикловир при той же температуре в прохладном, защищенном от света месте. Готовые растворы хранят в холодильнике до 24 часов.

Применяют ацикловир и ганцикловир в качестве противовирусных средств. Ацикловир особенно эффективен в отно­шении вирусов простого и опоясывающего герпеса, ветряной оспы. Его применяют внутрь в виде таблеток по 0,2 г, внут­ривенно до 0,25 г в сутки, наружно в виде 3%-ной глазной мази и 5%-ного крема для кожи. Ганцикловир назначают при инфекциях, вызванных цитомегаловирусом внутривенно (до 10 мг/кг в сутки), внутрь в капсулах по 0,25 г.

Пуриновые нуклеозиды

**Adenozin-fosfat – Adenosine phosphate**

**(Phosphaden, AMP, Adenil) və**

**Adenozintrifosfat turşusu – Acidum adenosintriphosphoricum**

**(Fosfobion, ATP)**

N

N

N

N

O

H

O

H

C

H

2

O

R

O

N

H

2

/

/

/

/

5

4

3

2

1

/

Adenozin-fosfat (AMF)

P

O

H

O

H

O

=

R

Adenozintrifosfat; (ATF)

P

O

H

=

R

O

O

P

O

P

O

H

O

O

H

(

N

a

)

O

H

(

N

a

)

O

 Adenozin-5/-monofosfat turşusu (adenozinmonofosfat) və

Adenozin-5/-trifosfat turşusu (adenozin-trifosfat)

**Riboksin – Riboxinum**

**(İnosie-F, İnosine)**

O

N

N

8

N

9

N

H

1

2

3

4

5

6

7

O

C

H

2

O

H

O

H

O

H

9-β-D-Ribofuranozilhipoksantin və ya hipoksantinribozid

Инозин - природное рибофуранозильное производное гипоксантина. Он является естественным метаболитом орга­низма человека, поэтому используется как средство метаболической терапии в кардиологии.

Инозин продуцируют микроорганизмы Bacillussubtilis. Его получают микробиологическим синтезом. Затем с помощью физико-химических методов выделяют из нативных растворов.

Антиметаболиты производные пурина

Из большого числа производных 6,9-замещенных пурина применяются меркаптопурин, азатиоприн, инозин (рибоксин).

**Merkaptopurin – Mercaptopurine**

**(Mercaptopurinum)**

N

N

N

N

1

2

3

4

5

S

H

H

H

C

2

H

O

2

.

C

6

Purin-6-tiol, monohidrat

Синтез меркаптопурина можно осуществить из гипоксантина, действуя на него пентасульфидом дифосфора в среде безводного пиридина:



**Azatioprin – Azathioprine**

**(Imuran)**

7

N

N

6

N

9

N

8

1

2

3

4

5

S

H

N

O

2

N

C

H

3

N

/

1

2

3

4

5

/

/

/

/

6-(1/-Metil-4/-nitroimidazolil-5)-mürkaptopurin

**Pumitepa – Pumitepa**

**(Phopurin)**

N

N

N

C

H

3

N

C

3

H

C

3

H

N

N

H

P

O

N

N

C

C

C

C

H

2

H

2

H

2

H

2

6-Dietilenimidfosfamid-2-dimetilamin-7-metilpurin

Производные пурина представляют собой кристаллические вещества желтого (меркаптопурин), светло-желтого (азатиоприн), белого с желтоватым оттенком (инозин) цвета (табл. 67.4).

В воде и этаноле меркаптопурин и азатиоприн практически нерастворимы, инозин в воде медленно и умеренно раство­рим, в этаноле очень мало растворим. Растворимы или легко растворимы меркаптопурин и азатиоггрин в растворах щело­чей и мало растворимы в разведенных кислотах. Азатиоприн и инозин практически нерастворимы в хлороформе, а ино­зин - в эфире.

Подлинность инозина и азатиоприна подтверждают с помощью ИК-спектров, полученных после прессования в таб­летках из калия бромида или в вазелиновом масле в области от 4000 до 600 см-1 (азатиоприна в области 3500-1650 см-1 и 1650-400 см-1). Они должны иметь такие же характеристические полосы, что и прилагаемый к ФС рисунок спектра аза­тиоприна и соответственно спектр ГСО инозина. Методом ВЭЖХ определяют время удерживания пика инозина на хроматограмме. Оно должно быть аналогичным его ГСО.

Для установления подлинности используют УФ-спектры поглощения. Раствор 0,0004%-ного меркаптопурина в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты имеет максимум поглощения около 325 нм, а в 0,1 М растворе гидроксида натрия - два максимума (23! и 310 нм). Азатиоприн в виде 0,001%-ного раствора в том же растворителе: максимум поглощения - при 280 нм и минимум - при 242 нм. Водный 0,001 %-ный раствор инозина имеет максимум поглощения при 249 нм, в ще­лочной среде - 253 нм. Отношение оптических плотностей водного раствора при 250 и 260 нм должно быть 1,60-1,80.

Подлинность меркаптопурина можно подтвердить не только указанными физическими, но и химическими методами, основанными на реакциях окисления, солеобразования, обнаружения в молекулах третичного азота, меркаптогруппы, ос­татка рибозы. При использовании в качестве реактива свежеприготовленного раствора нитропруссида натрия в щелочном растворе меркаптопурина появляется желтовато-зеленое окрашивание, переходящее при подкислении в темно-зеленое. Из меркаптопурина, растворенного в растворе аммиака, выпадает под действием хлорида меди (II) и гидроксиламина ги­дрохлорида оранжево-желтый осадок. Из растворов меркаптопурина в этаноле при добавлении насыщенного спиртового раствора ацетата ртути (II) выпадает белый осадок, а под действием спиртового раствора ацетата свинца - желтый осадок. Идентифицировать меркаптопурин можно также с помощью селенистой кислоты (красный осадок), концентрированной азотной кислоты (желтое окрашивание), концентрированной серной кислоты в присутствии этанола и сахарозы (корич­невое окрашивание).

**Для подтверждения наличия нитрогруппы в молекуле азатиоприна (R**-NO2) **выполняют процесс гидрирования цинко­вой пылью в присутствии хлороводородной кислоты. Через 5 мин раствор желтеет. Затем фильтруют и после добавления мочевины проводят реакции диазотирования и азосочетания в фильтрате с помощью нитрита натрия и щелочного раство­ра β-нафтола; образуется розовый осадок:**

Остаток рибозы в молекуле инозина обнаруживают, добавляя к водному раствору 0,1%-ный раствор хлорида железа (III) в концентрированной хлороводородной кислоте и 10%-ный спиртовый раствор орцина. После нагревания на кипя­щей водяной бане в течение 20 мин смесь приобретает зеленое окрашивание.

При испытании на чистоту обнаруживают наличие примесей других производных пурина, являющихся источниками получения лекарственных веществ или продуктами разложения.

В меркаптопурине определяют наличие примеси гипоксантина методом УФ-спектрофотометрии, используя раствор меркаптопурина в 0,1 М хлороводородной кислоте. Измеряют оптическую плотность этого раствора при 255 и 325 нм от­носительно растворителя. Отношение удельных показателей поглощения при 255 нм и 325 нм не должно быть более 0,08. В азатиоприне методом ТСХ на пластинках Силуфол УФ-254 устанавливают наличие примеси 6-меркаптопурина (не бо­лее 1%), используя его СОВС. Хроматографируют восходящим методом в системе растворителей и-бутанол-этанол-вода (4:1:1). Проявляют парами йода.

В инозине содержание гипоксантина и гуанозина не должно превышать 2,5%, а неидентифицированных примесей - 0,5%. Их содержание определяют методом ВЭЖХ, используя в качестве подвижной фазы 0,02 М раствор гидрофосфата ди- натрия и детектируя при длине волны 254 нм. Расчеты выполняют по площадям пиков указанных примесей. Этот же ме­тод используют (по ФС) для количественного определения инозина относительно его ГСО (сравнивая площади пиков).

Меркаптопурин количественно определяют (по ФС) йодометрическим методом в смеси воды и 30%-ного раствора ги­дроксида натрия, устанавливая эквивалентную точку потенциометрическим методом.

Количественное определение меркаптопурина обратным аргентометрическим методом основано на образовании двузамещенной соли серебра. Навеску растворяют в растворе аммиака и выполняют определение обратным аргентометриче­ским методом, оттитровывая избыток 0,1 М раствора нитрата серебра раствором тиоцианата аммония той же концентра­ции (индикатор железоаммониевые квасцы):



AgN03 + NH4NCS > AgNCS+ NH4NO3

3NH4NCS + FeNH4(S04)2 > Fe(NCS)3 + 2(NH4)2S04

Определение меркаптопурина может быть выполнено методом обратного меркуриметрического титрования. Действу­ют избытком 0,05 М раствора нитрата ртути (II). Выпавший осадок фильтруют и избыток титранта оттитровывают, как и в случае аргентометрического определения, раствором тиоцианата аммония (индикатор - железоаммониевые квасцы).

Количественное определение азатиоприна может быть выполнено методом неводного титрования, подобно барбитура­там. В качестве растворителя используют диметилформамид, усиливающий кислотные свойства азатиоприна.

Титрант - гидроксид трибутиламмония. Эквивалентную точку устанавливают потенциометрическим методом. Меркаптопурин так­же количественно определяют (МФ) в среде диметилформамида, используя в качестве титранта метилат натрия и индика­тор тимоловый синий.

Содержание азатиоприна и инозина (по ФС) определяют спектрофотометрическим методом. В качестве растворителя для определения азатиоприна используют 0,1 М раствор хлороводородной кислоты, оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при 280 нм по отношению к растворителю. Расчет выполняют по удельному показателю поглощения (600). Инозин определяют при 249 нм. Берут на анализ навеску инозина и растворитель (вода) в соотношении, соответ­ствующем 0,001%-ной концентрации. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца ино­зина в тех же условиях.

Хранят меркаптопурин и азатиоприн по списку А в хорошо укупоренной таре, а азатиоприн - в защищенном от света, сухом месте. Следует соблюдать осторожность при работе с меркаптопурином, избегая его попадания на кожу и в дыха­тельные пути. Инозин следует хранить по списку Б в сухом, защищенном от света месте, при комнатной температуре.

Меркаптопурин - антилейкемическое средство, его назначают внутрь в виде таблеток по 0,05 г при остром лейкозе, хроническом миелолейкозе и других злокачественных заболеваниях. Азатиоприн оказывает иммунодепрессивное дей­ствие, он используется для подавления тканевой несовместимости при пересадке органов. Выпускают таблетки по 0,05 г. Инозин применяют для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ишемия, инфаркт миокарда, нарушение ритма и др.) в виде таблеток, покрытых оболочкой, по 0,2 г

 **Производные пиразолопиримидина**

Это гетероциклическая система, схожая по химическому строению с 9H-пурином:



 Другими словами, производные 4H-пиразоло [3,4-d] пиримидина являются изостерами 9H пурина. В результате проводенных исследований был синтезирован аллопуринол.

**Allopurinol – Allopurinolum**

**(Milurit, Allopur)**

7

N

N

6

O

H

N

H

N

1

2

3

4

5

7

N

N

6

O

N

H

N

1

2

3

4

5

H

 1H-пиразоло [3,4-d] 1,5-дгидро-4H-пиразоло-

 пиримидин-4-ол [3,4-d]пиримидин-4-он