**Предмет:** Фармацевтическая химия 4

**Лекция**: 4

**Тема:** *Производные пиримидин-2,4,6-триона и пиримидин-тиазола.* Производные пиримидин-2,4,6-триона (барбитураты). Производные пиримидин-тиазола. Витамины группы В1. Значение изучения превращений тиамина в организме в создании коферментных препаратов. Кокарбоксилаза, фосфотиамин, бенфотиамин.

**Производные пиримидин-2,4,6-триона (барбитураты).**

Лекарственные вещества данного класса являются производными ге-тероцикла пиримидина − 1,3-диазина:

|  |  |
| --- | --- |
|  | Пиримидин − слабое основание, растворим в |
|  | воде; t0 пл. 22,50 С, t0 кип. 1240 С. В медицине |
| самостоятельного применения не имеет. |
|  |  |

Фрагмент пиримидина является составной частью некоторых жиз-ненно необходимых биологически активных веществ, например, нуклео-тидов, витаминов группы В1. К веществам класса пиримидина относятся и многие синтетические лекарства, не являющиеся копиями природных со-единений, а производных барбитуровой кислоты в природе вообще нет.

**Классификация**

Большинство синтетических лекарственных средств производных пи-римидина можно разделить на следующие подгруппы:

1. производные **(1Н,3Н,5Н)пиримидин-2,4,6-триона** , или барбитура-

ты;

1. производные **пиримидин-4,6-диона** (гексамидин);
2. производные **пиримидин-2,4-диона,** или урацила (метилурацил, фторурацил, фторафур, азидотимидин);
3. производные **пиримидин-2-она,** или цитозина (цитарабин).
4. **ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИМИДИН-2,4,6-ТРИОНА**

По фармакологическому эффекту барбитураты разделяются на ***сно-творные*** (барбитал,барбитал-натрий,фенобарбитал);**наркозные**(гексе-нал, тиопентал-натрий); ***противосудорожные*** (бензонал, фенобарбитал).

1. основе структуры данных лекарственных средств лежит барбиту-ровая кислота, являющаяся продуктом конденсации мочевины и малоно-вой кислоты:
2. 

Барбитуровая кислота является циклическим уреидом, для которого возможны два типа изомерии: 1) кето - енольная и 2) лактим – лактамная:



Лекарственные средства, производные кислоты барбитуровой, пред-ставляют собой ее 5,5- дизамещенные, способные к лактим - лактамной таутомерии. Эта способность позволяет иметь два типа лекарственных ве-ществ данной группы:

1. в кислотной форме (лактамной) и
2. в солевой форме (лактимной, водорастворимой).

**Производные лактамной формы барбитуровой кислоты**

Лекарственные вещества, относящиеся к этой подгруппе имеют об-щую формулу:



Общие свойства лекарственных веществ лактамной формы кислоты барбитуровой представлены в таблице 1.





Препараты лактимной (водорастворимой) формы барбитуратов от-вечают общей формуле:



**Таблица 2. Общие свойства лекарственных веществ лактимной формы барбитуратов**

****



**Физико-химические свойства**

Барбитал, барбитал-натрий, фенобарбитал и бензонал − белые кри-сталлические порошки; гексенал − белая пенообразная масса; тиопентал-натрий − пенообразная масса или порошок желтого или зеленоватого цве-та.

Препараты кислотной (лактамной) формы очень мало или практиче-ски не растворимы в воде; растворимы в спирте, эфире, хлороформе; легко растворимы в разбавленных растворах щелочей и карбонатов.

Лекарства солевой (лактимной) формы легко растворимы в воде. Препараты кислотной формы имеют четкую температуру плавления. Все барбитураты имеют характерные спектры поглощения в УФ- и ИК- областях.

**Общая схема синтеза**

Синтез барбитуратов включает несколько стадий.

1. *Получение диэтилового эфира малоновой кислоты*.

Так как малоновая кислота легко декарбоксилируется, на первой ста-дии получают ее диэтиловый эфир из натриевой соли циануксусной ки-слоты при действии на нее этиловым спиртом в кислой среде:



1. *Введение соответствующих заместителей в метиленовую группу*.

Существует несколько способов получения замещенных малоновой кислоты. По одному из них соответствующие алкил- (или арил-) бромиды нагревают с полученным на первой стадии диэтиловым эфиром малоновой кислоты в присутствии натрия. Так, для получения барбитала действуют этилбромидом:





Образующаяся на этой стадии часть моноэтилзамещенной малоновой кислоты может далее конденсироваться с мочевиной с образованием моно-этилбарбитуровой кислоты, наличие которой проверяется в барбитале в соответствии с требованиями НД.

1. *Конденсация с мочевиной:*



Реакция проводится в присутствии метилата натрия, поэтому препарат может содержать в качестве примеси метиловый спирт.

Далее на натриевую соль барбитала действуют разбавленной кисло-той серной, переводя его в кислотную форму.

При получении солевой формы препарата на барбитал действуют раз-бавленным раствором натрия гидроксида. Поэтому в барбитале-натрии и других препаратах лактимной формы определяют в качестве примеси сво-бодную щелочь.

**Химические свойства и характерные типы реакций**

***Кислотные свойства***

Вследствие лактам-лактимной таутомерии барбитураты являются сла-быми кислотами или солями слабых кислот. При образовании солевой формы отрицательный заряд делокализуется с образованием амбидентного иона, так как образующаяся система более выгодна энергетически:



Присоединение катиона металла может происходить как к атому ки-слорода, так и к атому азота. В соответствии с теорией Пирсона жесткие кислоты (Na+, K+, Mg2+), являющиеся акцепторами пары электронов, со-единяются с жесткими основаниями (ОН−, RO−), а мягкие кислоты (Ag+, Cu2+, Hg2+), являющиеся донорами пары электронов, − c мягкими основа-ниями ( атом азота в пиридине или в аминогруппе). Поэтому натриевые соли барбитуратов следует писать связанными через атом кислорода, а в солях серебра или меди атомы металла связаны с атомом азота.

Барбитураты, обладая свойствами NH - кислот, вступают в реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов (Cо2+, Cu2+, Ag2+). Ре-акцию с солями кобальта ГФ использует для установления подлинности всех барбитуратов, кроме тиопентала-натрия. Испытание проводят в спир-товой среде (для предотвращения гидролиза комплексной соли) с добавле-нием хлорида кальция, способствующего образованию более устойчивого комплекса. Препараты лактамной (кислотной) формы предварительно пе-реводят в лактимную (солевую) форму добавлением эквивалентного коли-чества (без избытка!) 0,1 М раствора натрия гидроксида. Данная реакция является общегрупповой, так как все барбитураты образуют одинаково ок-рашенные в сине - фиолетовый цвет комплексные соли.

Взаимодействие барбитуратов с сульфатом меди приводит к различно окрашенным комплексным соединениям, что делает испытание более спе-цифичным. ГФ регламентирует коплексообразование с сульфатом меди для определения подлинности всех лекарственных препаратов группы барбитуратов. Успешное проведение реакций (также, как при получении комплексов с солями кобальта) зависит от тщательного соблюдения усло-вий конкретных методик.

1. солями серебра барбитураты образуют нерастворимые соли белого цвета. Барбитал, барбитал-натрий, фенобарбитал реагируют с нитратом се-ребра в две стадии: 1) образование монозамещенной серебряной соли, растворимой в избытке карбонaта натрия и 2) получение нерастворимой дизамещенной соли при добавлении избытка реактива:



Постепенное прибавление по каплям раствора нитрата серебра при-водит к помутнению, исчезающему при встряхивании. Дальнейшее до-бавление реактива приводит к образованию белого осадка двузамещенной соли:



Бензонал и гексенал образуют монозамещенные нерастворимые се-ребряные соли белого цвета.

***Гидролитическое расщепление***

Общим свойством барбитуратов, как циклических уреидов, является также их способность к гидролитическому расщеплению в различных ус-ловиях. Так, в относительно мягких условиях (например, при длительном хранении в присутствии влаги и повышенной температуре), возможен раз-рыв амидных связей в положениях 1-2 и 1-6 с образованием уровых кислот:



1. жестких условиях, например, при сплавлении барбитурата с кри-сталлической щелочью, происходит более полная деструкция молекулы:



Добавление к продуктам реакции избытка соляной кислоты приводит образованию углекислого газа и дизамещенной уксусной кислоты, обла-дающей характерным запахом.

**Конденсация с ароматическими альдегидами**

Барбитураты способны также к конденсации с альдегидами в при-сутствии концентрированной серной кислоты как водоотнимающего и окислительного реагента. При выборе соответствующего альдегида и ус-ловий можно получить специфически окрашенные продукты, позволяю-щие идентифицировать отдельные лекарственные вещества:



Фенобарбитал с формальдегидом образует продукт розового цвета, а барбитал − желтого. В качестве реагента используют также различные ароматические альдегиды, например, *пара*-диметиламинобензальдегид.

Фенильный радикал в фенобарбитале обнаруживают по об-разованию нитросоединений, окрашенных в желтый цвет. Реакция происхо-дит при действии смесью концентрированных азотной и серной кислот. По-

явление желтого окрашивания обусловлено образованием *м*-нитропроизводного фенобарбитала:



Эту реакцию дает также бензонал. Подлинность фенобарбитала можно уста-новить также по образованию соли с ионом ртути (II) в щелочной среде. Об-разуется белый осадок, растворимый в избытке раствора аммиака. Фенобар-битал дает цветную реакцию с нитритом натрия в присутствии серной кисло-

ты. При нагревании на водяной бане в течение 10 мин появляется оранжево-желтое с коричневым оттенком окрашивание. Специфичной для бензонала является реакция с хлоридом железа (III). Предварительно препарат взбалты-вают в течение 1-2 мин с 0,1 М раствором гидроксида натрия и фильтруют. Образующийся при гидролизе бензонала бензоат-ион переходит в фильтрат. Он образует с ионом железа (III) розовато-желтый осадок.

***Частные реакции***

Частные реакции обусловлены особенностями химического строения отдельных лекарственных веществ группы барбитуратов, главным обра-зом, наличием заместителей в положениях 1 и 5.

Фенобарбитал имеет в положении 5 фенильный радикал, по которому возможны реакции SE, например, нитрование с последующим вос-становлением нитрогруппы, диазотированием и азосочетанием:



Фрагмент бензойной кислоты в бензонале открывают после гидролиза взаимодействием с солями трехвалентного железа (появляется осадок оранжево-желтого цвета). По амидной группе препарат вступает в реакцию гидроксамовой пробы:



Гидроксаматы железа представляют собой растворы красно-фиоле-тового цвета, а гидроксаматы Cu2+ − осадки бирюзового цвета.

**Гексенал**,имеющий в молекуле фрагмент циклогексена,способен креакциям присоединения и, поэтому, обесцвечивает бромную воду:

1. 
2. Тиопентал-натрий, содержащий атом серы в молекуле, при нагревании в присутствии гидроксида натрия и ацетата свинца образует черный осадок сульфида свинца:
3. 

Подлинность гексамидина устанавливают по УФ-спектру раствора в этаноле (растворяют при нагревании). Он имеет три максимума поглощения — при 252, 258 и 264 нм. При нагревании гексамидина в пробирке с кристал-лическим гидроксидом натрия образуется аммиак, карбонат натрия, натрие-вая соль фенилэтилуксусной кислоты и в отличие от барбитуратов — фор-мальдегид:



Аммиак обнаруживают по посинению красной лакмусовой бумаги. При ки-пячении смеси растворов препарата, хлорамина Б и сульфата меди появляет-ся ароматный запах, выпадает синий осадок, а раствор окрашивается в крас-но-фиолетовый цвет. С хромотроповой кислотой гексамидин при нагревании на сетке в течение 3 мин в присутствии концентрированной серной кислоты приобретает сиреневое окрашивание. Окраска обусловлена взаимодействием с хромотроповой кислотой формальдегида, выделяющегося при гидролизе  гексамидина.

У препаратов лактимной (солевой) формы определяют ионы натрия и температуру плавления кислотных форм после осаждения последних рас-твором соляной кислоты.

***Контроль чистоты***

Испытания на чистоту препаратов группы барбитуратов обусловлены их химическими свойствами и способами синтеза. Определение прозрач-ности проводят как для солевых, так и для кислотных форм барбитуратов. При испытании прозрачности кислотных форм используют их раствори-мость в карбонате натрия. Некоторые полупродукты синтеза и сопутст-вующие вещества не растворяются в карбонатах.

Изменение этого показателя для солевых форм обусловлено их воз-можным взаимодействием с оксидом углерода (IV) и влагой воздуха с об-разованием при этом нерастворимой кислотной формы:



1. барбитала и фенобарбитала проверяют наличие моноалкилзаме-щенных производных барбитуровой кислоты (соответственно, этилбар-битуровой и фенилбарбитуровой). При наличии этих примесей, обладаю-щих более выраженными кислотными свойствами, чем лекарственные ве-щеста группы барбитуратов, изменяются значения рН.

Возможную (допустимую до регламентированного ГФ) примесь сво-бодной щелочи определяют титрованием в определенных условиях у пре-паратов солевой формы.

1. гесенале и тиопентал-натрии определяют допустимую до опреде-ленного предела примесь метанола. Метанол попадает в препарат при син-тезе на стадии конденсации мочевины с дизамещенной малоновой ки-слотой, где в качестве катализатора используют метилат натрия. При оп-ределении примеси метанол окисляют перманганатом калия до формаль-дегида, который далее конденсируют с кислотой хромотроповой. Интен-сивность окраски образовавшегося продукта сравнивают с окраской эта-лонного раствора.

***Методы количественного определения***

Препараты лактамной (кислотной) формы количественно определяют методом кислотно-основного титрования. В качестве протофильного рас-творителя используют диметилформамид. Титрант − 0,1 М раствор натрия гидроксида в смеси метанола и бензола; индикатор − тимоловый синий:



По методике ФС на фенобарбитал лекарственное вещество растворя-ют в ацетоне или спирте, прибавляют необходимое количество воды и титруют 0,1М раствором натрия гидроксида в присутствии индикатора ти-молфталеина. Применение данной методики показывает, что фенобарбитал обладает достаточно выраженными кислотными свойствами и может дос-товерно количественно определяться и в водной среде. Ацетон (или спирт) препятствуют гидролизу образующейся при титровании соли.

Препараты солевой формы количественно определяют ацидиметри-чески. Навеску препарата растворяют в свежепрокипяченной воде (для удаления следов углекислоты) и титруют 0,1 М раствором хлороводород-ной кислоты в присутствии индикатора метилового оранжевого до розо-вого окрашивания. При наличии в препарате свободной щелочи (определяемой при испытании на чистоту) из найденного процентного содержания вычитают процентное содержание свободной щелочи, умноженное на соответствующий для каждого препарата коэффициент.

Другими методами количественного определения барбитуратов явля-ются аргентометрия (в прямом и обратном вариантах), гравиметрия. Гек-сенал можно определить количественно броматометрически по фрагменту циклогексена.

Для количественного определения индивидуальных препаратов груп-пы барбитуратов и, особенно, для их лекарственных форм применяют фи-зико-химические методы анализа (ВЭЖХ, спектрофотметрия).

Количественное определение бензонала выполняют в спиртовом растворе, титруя его 0,1 М раствором гидроксида натрия до синего окрашивания (ин-дикатор тимоловый синий). Реакцию взаимодействия производных барбиту-ровой кислоты с ионом ртути (II), в результате которой образуются нерас-творимые в воде соединения, используют для меркуриметрического опреде-ления. Кислотные формы барбитуратов растворяют в этаноле, натриевые со-ли - в воде, добавляют 10% -ный раствор ацетата натрия и избыток 0,1 М раствора нитрата ртути (II). Осадок барбитурата ртути (II) отфильтровывают,

* в фильтрате комплексонометрическим методом (титрант 0,05 М раствор трилона Б, индикатор ксиленоловый оранжевый) в присутствии гексамети-лентетрамина оттитровывают избыток нитрата ртути (II). В основе меркури-метрического определения лежит реакция между барбитуратом и нитратом ртути (II):



При титровании избытка нитрата ртути (II) раствором трилона Б (ЭДТАNa2)

образуется комплексное соединение ртути:



Точку эквивалентности устанавливают по изменению окраски индикатора. Количественное определение барбитуратов и их натриевых солей можно вы-полнить и аргентометрическим методом, основанным на образовании одно- и двузамещенных солей серебра. Препараты натриевых солей барбитуратов по ГФ титруют в водной среде 0,1 М раствором соляной кислоты (индикатор метиловый оранжевый). Процесс основан на гидролизе водных растворов на-триевых солей:



1. **Производные пиримидино-тиазола**

Термин *“витамин*» (буквально “амин жизни”) предложен Функом, выделившим фракцию из водного экстракта рисовых отрубей, обладаю-щую выраженными основными свойствами (1911-1912 г). В 1934 г. Виль-ямс из 1 тонны рисовых отрубей выделил несколько граммов витамина **В1**, а в 1936 г. доказал его строение.

Организм животных и человека нуждается в поступлении витамина **В1** (тиамина) извне с продуктами питания. Тиамин содержится в отрубях хлебных злаков (особенно, в рисовых отрубях), дрожжах.

Тиамин, всасываясь из кишечника, фоcфорилируется и превращается тиамин-пирофосфат (дифосфат). В этой форме он является коферментом декарбоксилаз, участвующих в окислительном декарбоксилировании кето-кислот (пировиноградной, α -кетоглугаторовой).

Недостаток тиамина ведет к нарушению углеводного обмена, а затем и к другим нарушениям метаболизма (в результате которого в мышечных тканях накапливаются пировиноградная и молочная кислоты), нарушению функции нервной системы (проявляющихся в полиневритах и мышечной слабости), заболеванию “бери-бери”, парезам, параличам, кожным заболе-ваниям.

Применяют препараты тиамина при невритах, невралгиях, радику-лите, кожных заболеваниях, а также для профилактики и лечения авитаминоза **В1**.

Потребность человека в тиамине составляет примерно 1 мг в день.

Препараты витамина **В1**: тиамина бромид (хлорид) и его кофермент-ные формы − кокарбоксилазы гидрохлорид, фосфотиамин и бенфотиамин (см. таблицу 1).

В настоящее время препараты тиамина получают синтетически.



****

**ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА**

**Общие физико-химические свойства**

Тиамин является двукислотным основанием и поэтому образует два рода солей − хлориды и гидрохлориды (бромиды и гидробромиды). Фос-фотиамин и кокарбоксилаза − сложные эфиры тиамина и фосфорной ки-слоты, т.е. коферменты.

Эти препараты − белые порошки с характерным запахом, хорошо рас-творимы в воде, имеют кислую реакцию среды (как соли слабых органиче-ских оснований с сильными минеральными кислотами).

Бенфотиамин − синтетический лекарственный препарат, близкий по строению к тиамину и его коферментным формам. В отличие от препара-тов - предшественников, практически нерастворим в воде.

**Стабильность**

Тиамин и его производные принадлежат к числу очень неустойчивых соединений витаминов. Так тиамин под действием кислорода воздуха пре-вращается в тиохром и тиаминдисульфид.

Разрушение тиамина вызывают также восстановители, сильно кислая или щелочная среда, свет (особенно ультрафиолетовый), повышение тем-пературы. В растворах тиамина значение рН не должно превышать 4. За пределами оптимальной области рН повышение температуры больше спо-собствует разложению препарата, чем присутствие кислорода.

**Реакции подлинности**

Cпецифическая общегрупповая реакция подлинности тиамина и его препаратов − образование тиохрома. Сущность испытания заключается в постепенном окислении тиамина в щелочной среде (всего затрачивается три эквивалента щелочи) с образованием трициклического производного тиамина (тиохрома), способного давать синюю флуоресценцию в среде бу-танола или изоамилового спирта при УФ - освещении.

Реакция идет в несколько стадий. На первой стадии происходит час-тичная нейтрализация препарата, как соли галогеноводородной кислоты (первый эквивалент щелочи):



На второй стадии образовавшийся тиамин хлорид нейтрализуется (вторым эквивалентом щелочи) как соль четвертичного аммониевого осно-вания до тиамина гидроксида:



Образовавшийся тиамина гидрокисид изомеризуется в псевдооснова-ние тиамина:





При действии третьего эквивалента щелочи происходит раскрытие тиазолового кольца с образованием тиольной формы тиамина, которая при дегидратации превращается в циклическую форму тиаминтиола. Окисле-ние последнего приводит к образованию тиохрома:





Тиохром образуют также фосфотиамин и кокарбоксилаза, но не бенфотиамин.

Как соли азотистых оснований, препараты тиамина взаимодействуют

1. общеалкалоидными осадительными реактивами (реактивы Вагнера, Дра-гендорфа, Майера, гетерополикислотами − кремневольфрамовой, пикри-новой, танином и др.) с образованием характерно окрашенных осадков.

**Методы количественного определения**

Химическая структура лекарственных веществ производных витамина **В1** позволяет применить различные методы их химического и физико-хи-мического количественного определения:

1. Кислотно-основное титрование (в водной и неводной средах);
2. Осадительное титрование (аргентометрия);
3. Физико-химические методики (спектрофотометрические, фотоэлек-троколориметрические, нефелометрические);
4. Гравиметрия.

По ГФ Х тиамина бромид количественно определяют гравиметриче-ски в виде комплекса препарата с кремневольфрамовой кислотой.

Для количественного определения тиамина бромида применяют также аргентометрическую методику. Определение проводят в четыре стадии. На 1-й стадии проводят нейтрализацию тиамина бромида как NH- кислоты 0,1 М раствором натрия гидроксида:



Далее (2-я стадия) готовят индикатор − железа (III) тиоцианат. Для этого к определенному объему 0,1М раствора аммония тиоцианата добавляют раствор железоаммониевых квасцов:

3 NH4SCN + NH4Fe(SO4)2 → Fe(SCN)3красный + 2 (NH4)2SO4

На третьей стадии сумму бромидов оттитровывают 0,1М раствором серебра нитрата:



На заключительной (четвертой) стадии оттитровывают полученный на 2-й стадии железа (III) тиоцианат 0,1 М раствором серебра нитрата:

Fe(SCN)3 красный + 3 AgNO3 → 3 AgSCN↓ белый + Fe(NO3)3

Объем 0,1 М раствора серебра нитрата, пошедшего на титрование не-посредственно тиамина бромида рассчитывают по разнице между общим объемом титранта и объемами растворов натрия гидроксида и аммония тиоцианата.

Количественное определение тиамина хлорида по ГФ Х проводят ме-тодом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты как соли двукислотного основания. Для связывания галогенид-иона до-бавляют ртути (II) ацетат:



Кокарбоксилазы гидрохлорид количественно определяют ал-калиметрически (титрант − 0,1 M раствор натрия гидроксида):



Характеристические полосы в УФ-спектре: водная кислота – 246 нм, водная щелочь – 232, 336 нм.

Характеристические полосы в ИК-спектре: 1660, 1618, 1595, 1237, 1228, 1048 см-1.



**Фосфотиамин -** является фосфорным эфиром тиамина и по основнымсвойствам не отличается от других синтетических препаратов витамина В1. По сравнению с тиамина хлоридом и бромидом больше депонируется в тка-нях организма, в меньшей степени разрушается ферментом тиаминазой, лег-че переходит в активную форму — кокарбоксилазу, несколько менее токси-чен. Применяют фосфотиамин в качестве лечебного средства при невритах, полиневритах, астенических состояниях, в качестве дополнительного средст-ва при хронической недостаточности кровообращения, при хронических га-стритах, сопровождающихся двигательными и секреторными нарушениями желудка, и при других заболеваниях, при которых показано применение тиа-мина.

**Кокарбоксилаза - д**ифосфорный эфир тиамина.Биологические свойствакокарбоксилазы не совпадают полностью со свойствами тиамина, и для ле-чения авитаминоза и гиповитаминоза В1 кокарбоксилазу не применяют. По-казаниями к ее назначению служат: ацидоз диабетического происхождения, печеночная и почечная недостаточность, дыхательный ацидоз при хрониче-ском легочно-сердечном синдроме, диабетическая и печеночная кома, недос-таточность коронарного кровообращения, периферические невриты, различ-ные патологические процессы, требующие улучшения углеводного обмена.

Кокарбоксилаза приближается по биологическому действию к витами-нам и ферментам. Является простетической группой (коферментом) фермен-тов, участвующих в процессах углеводного обмена. В соединении с белком и ионами магния входит в состав фермента карбоксилазы, катализирующего карбоксилирование и декарбоксилирование α-кетокислот. Тиамин (витамин В1), введенный в организм для участия в указанных выше биохимических процессах, предварительно должен фосфорилироваться и превратиться в ко-карбоксилазу. Последняя, таким образом, является готовой формой кофер-меита, образующегося из тиамина в процессе его превращения в организме.

**Бенфотиамин** является синтетическим соединением,близким по строе-нию и действию к тиамину и кокарбоксилазе. Препарат обладает В1-витаминной активностью, хорошо всасывается при приеме внутрь. Приме-няют при гиповитаминозе и авитаминозе В1 и при других показаниях к при-менению витамина В1, а также кокарбоксилазы (дерматозы, хронический ге-патит, функциональные расстройства нервной системы и др.).

Наиболее объективная идентификация, позволяющая не только давать групповую оценку, но и отличить друг от друга тиамин, кокарбоксилазу, фосфотиамин и бенфотиамин, может быть достигнута с помощью ИК-спектроскопии. ИК-спектры этих препаратов характеризуются наличием се-ми основных полос в области 3500—2500 см-1, причем у тиамина хлорида и тиамина бромида они существенно различаются по интенсивности, а фос-форные эфиры имеют свои четкие характерные полосы. Общее испытание подлинности препаратов основано иа обнаружении фосфора, содержащегося их молекулах. Фосфотиамин дает положительную реакцию на фосфат-ионы после растворения препарата в разведенной азотной кислоте. Бенфотиамин и кокарбоксилазы гидрохлорид предварительно разрушают кипячением в тече-ние 5 мин в концентрированной азотной кислоте до образования фосфат-ионов. В качестве реактива на фосфат-ионы используют раствор молибдата аммония, с которым образуется желтый кристаллический осадок:

H3PO4 + 12 (NH4)2MoO4 + 21 HNO3 →

(NH4)3PO4\*12 MoO3 ↓ + 21 NH4NO3 + 12 H2O

Подлинность кокарбоксилазы гидрохлорида и фосфотиамина подтверждают также, обнаруживая тиамин по реакции образования тиохрома. Эта же хими-ческая реакция лежит в основе установления подлинности бенфотиамина, однако ее выполняют после предварительного нагревания препарата в тече-ние 20 мин на кипящей водяной бане. Кокарбоксилазы гидрохлорид дает по-ложительную реакцию на хлориды. Количественное определение бенфотиа-мина и фосфотиамина выполняют спектрофотометрическим методом. В ка-честве растворителя используют фосфатный буферный раствор с рН раствора 4,95-5,05 для определения бенфотиамина (при 244 нм) и тот же буферный раствор с рН 6,95-7,05 для определения фосфотиамина (при 268 нм). Содер-жание кокарбоксилазы гидрохлорида устанавливают путем нейтрализации навески препарата 0,1 М раствором гидроксида натрия (индикатор тимол-фталеин). Процесс титрования основан на химической реакции:

