**Pteridin və izoalloksazin törəməli dərman preparatlarıpnın analizi. Fol turşusu və riboflavinin dərman formaları.**

**PTERİN TÖRƏMƏLƏRİ**

Pterin törəmələri iki qrupa bölünür: a) Pterin törəmələri olan vitaminlər: b) fol turşusu törmələri.

**Pterin törəmələri olan vitaminlər**

**Fol turşusu – Acidum folicum**

**(Folic Acid, Vitaminum B, Pteroilqlutamin turşusu)**

Fol turşusu (*folium* – yarpaq mənasını verir və bu vitaminin əsasən toplandığı yeri göstərir) tərəvəz bitkilərində, insan və heyvanların böyrək və qaraciyərində vardır.Bağırsaqların mikroflorası tərəfindən hasil edilir.Tibdə işlənən fol turşusu sintez üsulu ilə alınır.

Fol turşusunun kimyəvi quruluşu 1946-cı ildə müəyyən olunmuşdur. Fol turşusu molekulunun əsasını pteridin heterotsiklik sistemi təşkil edir. Pteridin nüvəsi kondensləşmiş system olub, pirimidin və pirazin heterotsikllərindən ibarətdir:



Pteridin törəməsi olan pterin (2-amin 4-oksipteridin) də pterin turşusu molekulunun əsasını təşkil edir:



pterin pterin turşusu

Pterin, fol turşusu molekulunun tərkib hissəsidir. Odur ki, bu qrup vitaminlər pterinlər adlanır.Fol turşusu molekulunun tərkibinə pteridindən başqa *p*-aminbenzoy turşusu və bir və ya bir neçə molekul qlütamin turşusu qalığı da daxildir. Pterin, metilen qrupu vasitəsilə *p*-aminbenzoy turşusu ilə birləşərək pteroin turşusunu əmələ gətirir:



pteroin turşusu

Beləliklə, fol (pteroilqlütamin) turşusunun kimyəvi quruluşu aşağıdakı kimidir:

*p-aminbenzoilqlutamin turşusu qalığı*

C

O

O

H

6

5

C

H

2

8

9

7

1

0

1

2

3

4

C

H

2

N

2

H

N

O

H

N

N

N

/

1

2

3

4

5

/

/

/

/

6

C

O

O

H

/

C

H

2

N

H

C

O

N

H

C

H

*Pteroil qalığı*

N[4/-[(2-Amin-4-oksi-6-pteridil)-metil]-amin]-benzoil-

-L(+)-qlütamin turşusu

M.k. 441,4

Göründüyü kimi fol turşusunun molekulu 3 hissədən əmələ gəlmişdir: pteridin törəməsi, p-aminbenzoy turşusu və l-qlütamin turşusu. Odur ki, fol turşusu pteroil-*l* (+) qlütamin turşusu da adlanır. Fol turşusu fəallığına malik olan digər maddələr tərkibində 3-dən 7-yə qədər qlütamin turşusu qalıqları saxlayan fol turşusu polipeptidləridir.

Orqanizmdə hüceyrələrdə fol turşusu folatreduktaza fermenti təsirindən kofermentə çevrilir. Bu kofermentlərin əhəmiyyətli nümayəndələrindən 7,8-dihidrofol turşusunu, 5,6,7,8-tetrahidrofol turşusunu, folin turşusunu və digərlərini göstərmək olar.

**Alınması**

Preparatı sintez etmək üçün 2,5,6-triamin-4-oksi-pirimidin, 2,3-dibrompropion aldehidi və p-aminbenzoil –*L* (+) qlütamin turşusu ilə kondensləşdirilərək 5,6-didihidrofol turşusuna çevrilir; axırıncı maddəni dehidrogenləşdirməklə fol turşusu alınır:



2,5,6-triamin- α,β-dibrompropion

4-oksipirimidin aldehidi

C

N

H

C

H

C

O

O

H

C

H

2

C

H

2

C

O

O

H

N

2

H

O

+

p-aminbenzoil L-(+) qlütamin turşusu

C

O

O

H

C

O

O

H

O

H

C

H

2

C

H

2

N

H

N

N

N

H

C

O

N

H

C

H

C

H

2

N

2

H

N

5,6-dihidrofol turşusu

[

O

]

F

o

l

t

u

r

ş

u

s

u

Fol turşusu sarı və ya sarı-narıncı kristal poroşokdur, iysiz və dadsızdır. İşığın təsirindən parçalanır və hiqroskopikdir. Suda, 95%-li spirtdə, asetonda, benzolda, efirdə və xloroformda praktik həll olmur. Duru xlorid turşusunda az, duru sulfat turşusunda orta, qələvi məhlullarında isə asan həll olur.

Turşu və qələvi məhlullarında həll olması fol turşusunun amfoter xassəyə malik olması (amin və karboksil qrupları hesabına) ilə əlaqədardır.

**Eyniliyinin təyini**

Preparatın eyniliyinin təyini üçün oksidləşmə, kompleks əmələ gətirmə, eləcə də fol turşusu məhlullarının amfoter xassələrinə əsaslanan reaksiyalardan istifadə olunur.

1) 0,1 qr preparatı 5 ml 0,1 M NaOH məhlulunda həll edir, üzərinə 5 ml 0,1 M xlorid turşusu və 1 ml kalium-permanqanat məhlulu əlavə edirlər. Məhlulu 3 dəqiqə müddətində temperaturu 80-850C olan su hamamına yerləşdirirlər. Kalium- permanqanatın artıq miqdarını zərərsizləşdirmək məqsədilə, soyudulmuş məhlula damcı-damcı 0,2 ml hidrogen-peroksid məhlulu əlavə edib süzürlər. Filtrat ultrabənövşəyi işıqda mavi fluoressensiya verir. Buna səbəb, fol turşusunun oksidləşmə məhsulu olan p-aminbenzoilqlütamin və pterin turşularının əmələ gəlməsidir:

F

o

l

t

u

r

ş

u

s

u

K

M

n

O

4

O

H

N

2

H

N

N

N

N

C

O

O

H

+

pterin turşusu



2) UB-spektrofotometriya: *p*-aminbenzoilqlütamin turşusu preparatın 0,1 M NaOH-də olan 0,001%-li məhlulu 256, 283 və 365 nm dalğa uzunluğunda 3 səciyyəvi maksimum, 235, 265 və 332 nm d.u.-da isə 3 səciyyəvi minimum udma verir. 1-ci və 3-cü d.u.-da optik sıxlıqların (D) nisbəti, yəni = 2,8-3,0

3) 0,02 preparatı 2-3 ml 0,1 M NaOH məhlulu ilə 2-3 dəqiqə çalxalayıb süzürlər. Alınmış filtratdan hər dəfə 2-3 damcı saat şüşəsinə yerləşdirib üzərinə 1-2 damcı ağır metal duzu əlavə edirlər. Bu zaman qurğuşun-asetatla limonu, kobalt-nitratla tünd sarı, gümüş-nitratla sarı-narıncı, mis 2-sulfatla yaşıl, dəmir 3-xloridlə qırmızımtıl-sarı rəng alınır. Qələvi əlavə etdikdə metal hidroksidlərinin əmələ gəlməsinin qarşısını almaq üçün qarışığı filtrləyir və sınaqlar saat şüşəsi üzərində damcı üsulundan istifadə olunmaqa yerinə yetirilir. Suda həll olmayan rəngli daxili kompleks duzların ümumi formulu belədir:



Kompleks birləşmələr molekulun pterin qalığında olan hidroksil qrupunun mütəhərrik hidrogen atomu və 5-ci vəziyyətdə olan üçlü azot atomunun varlığı hesabına əmələ gəlir.

4) 0.01 qr preparatı 1 ml 0.1 M natrium-hidroksid məhlulunda həll edib üzərinə 0,02-0,03 qr sink tozu əlavə edirlər, qarışığı 2-3 dəqiqə çalxalayıb süzürlər və sonra məhlulu xlorid turşusu ilə turşulaşdırıb, bir neçə damcı natrium-nitrit məhlulu əlavə edirlər. Alınmış məhlulu β-naftolun (a) qələvidəki məhlulu üzərinə əlavə etdikdə qırmızı rəngli azoboya əmələ gəlir. Azoboya almaq üçün N-(1-naftil) -etilendiamin-dihidro-xlorid (b), N-fenil-α-naftilamin (C) və N-fenil β-naftilamin (Ç) məhlullarından da istifadə etmək olar.

***Qeyd.*** Nitrit turşusunun artığını yox etmək üçün ammonim-sulfamin turşusu və ya karbamid məhlulu götürülür ).

C

O

N

H

2

+

2

H

C

l

2

H

N

+

2

O

N

a

N

2

2

N

2

+

C

O

2

+

2

N

a

C

l

+

3

H

2

O

F

o

l

t

u

r

ş

u

s

u

K

M

n

O

4

+

C

O

O

H

N

H

2

+

q

l

ü

t

a

m

i

n

t

u

r

ş

u

s

u

R

p

-

a

m

i

n

b

e

n

z

o

y

t

u

r

ş

u

s

u

N

2

H

C

O

N

H

p

-

a

m

i

n

b

e

n

z

o

i

l

q

l

ü

t

a

m

i

n

C

H

C

O

O

H

C

H

2

C

H

2

C

O

O

H

t

u

r

ş

u

s

u

+

K

2

H

P

O

4

H

C

l

+

Z

n

R

+ *0*-metilpterin

*0*-metilpterin

N

a

N

O

2

+

2

H

C

l

-

(

N

a

C

l

+

2

H

2

O

)

R

N

N

R

+

C

l

N

N

R

+

C

l

O

a

N

+

N

a

O

H

-

(

N

a

C

l

+

H

2

O

)

a)

-naftol

O

a

N

N

N

R

azoboya (qırmızı)

N

N

R

+

C

l

+

N

H

C

H

2

C

H

2

N

H

2

2

H

C

l

.

-

H

C

l

b)

N-(1-naftil)-etilendiamin-

dihidroxlorid

N

H

C

H

2

C

H

2

N

H

2

N

N

R

azoboya (bənövşəyi)

N

N

R

+

C

l

+

N

H

C

6

H

5

-

H

C

l

c)

N-fenil- -naftilamin

N

N

R

N

H

C

6

H

5

azoboya (bənövşəyi)

N

N

R

+

C

l

+

N

H

C

6

H

5

-

H

C

l

ç)

N-fenil--naftilamin

N

H

N

R

N

C

6

H

5

Azoboya (qırmızı-bənövşəyi)

Qeyd etmək lazımdır ki, bu reaksiyanın birinci mərhələsi-preparatın hidrolizi mərhələsinin sink tozu ilə duru xlorid turşusu mühitində aparılması beynəlxalq Farmakopeya tərəfindən tövsiyyə olunur.

5) NTX ilə təyin olunur. Tədqiq olunan və standart nümunənin məhlulları etanol-propanol-ammonyak məhlulu (60:20:20) həllediciləri sistemində xromatoqrafiya edilir. Ləkələrin ölçüsü və yerləşmə vəziyyəti eyni olmalıdır.

**Təmizliyinin təyini**

Preparatda sərbəst aminlərin qatışıqları 91%-dən çox olmamalıdır) yoxlanılır.

**Miqdarı təyini**

Bir neçə üsulla aparıla bilər:

2) Polyaroqrafiya üsulu. Burada təyinat ona əsaslanır ki, Na2CO3 iştirakı olduqda fol turşusu asanlıqla 7,8 dihidrofol turşusuna reduksiya olunur. Prosesin əksi hətta havanın oksigeni təsirindən baş verir:



fol turşusu 7,8-dihidrofol turşusu

3) Neytrallaşma üsulu. 0,15 qr-a yaxın preparatı artıq miqdarda (20 ml) 0,1 M NaOH məhlulunda həll edir və 0,1 M xlorid turşusu ilə titrləyirlər. İndikator olaraq 4 damcı fenolftalein və 2 damcı metilen göyü qarışığı götürülür. Titrləmə göy-bənövşəyi rəngdən yaşıl rəngə kimi aparılır. İndikator olaraq 5-6 damcı timolftaleindən də istifadə etmək olar. Bu zaman titrləmə göyümtül-qırmızı rəngdən sarı-yaşıl rəngə kimi aparılır.

Paralel olaraq sərbəst para-aminbenzoilqlütamin turşusu təyin olunur. Bu məqsədlə 0,15 qr fol turşusunun (d.k.) 5 ml fenolftaleinə görə neytrallaşdırılmış spirtlə 2 dəfə 5 dəqiqə müddətində çalxalayırlar. Spirtlə çıxarışları birləşdirib süzürlər və 0,01 M NaOH məhlulu ilə titrləyirlər (indikator-fenolftalein). 0,01 M-a dan 0,1 M keçmək üçün bu titrləməyə sərf olunan NaOH məhlulunun həcmi 10 dəfə fol turşusunun titrlənməsinə sərf olunan 0,1 M NaOH-a müvafiqdir.

Preparatla birləşən hər 1 ml 0,1 M NaOH məhlulu 0,01471 qr fol turşusuna müvafiqdir (E=M.k/3).

4) Azoboyanın alınmasına əsaslanan fotokolorimetriya üsulu. Təyinatın mahiyyəti ondan ibarətdir ki, fol turşusu zəif qələvi mühitdə KMnO4 təsirindən p-aminbenzoilqlütamin turşusuna çevrilir, o isə diazolaşdırılır və azoboyanın alınma reaksiyası aparılır. Alınan rəngin intensivliyi fotokolorimetrdə ölçülür (4-cü eynilik təyini reaksiyasına bax).

İstehsal olunan fol turşusunun tərkibində az miqdarda sərbəst p-aminbenzoilqlütamin turşusu olduği üçün təyinat zamanı preparatın məhlulunun bir hissəsini KMnO4 –la işləmədən diazolaşdırır və azoboya alırlar. İşin tam gedişi “laboratoriya məşğələlərinə rəhbərlik”də göstərilmişdir.

1) Spektrofotometriya üsulu. Təyinat preparatın 0,1 M NaOH-da olan məhlulunun 365 nm dalğa uzunluğunda və ya 5 ml sulfat turşusunda olan məhlulunun 320 nm dalğa uzunluğunda optik sıxlıqlarının ölçülməsinə əsaslanır.

Fol turşusu B12 vitamini ilə birlikdə eritropoezi (eritrositlərin əmələ gəlmə prosesi) sürətləndirir, aminturşuların, nuklein turşularının, purin və pirimidin törəmələrinin sintezində və xolin mübadiləsində iştirak edir. Fol turşusu 0,001 qr-lıq tabletlərdə daxilə qanyaradıcı orqanların fəaliyyətini artırıcı kimi, anemiyalarda və xroniki mədə-bağırsaq xəstəliklərində tətbiq edilir. Fol turşusu (0,0008 qr), askorbin turşusu (0,1 qr) ilə birlikdə tabletlərdə və polivitaminli preparatlarda da buraxılır.

Preparat möhkəm bağlı qablarda, quru, qaranlıq yerdə, işıq şüası təsirindən qorunmaqla saxlanılır. Saxlanma şəraitinə əməl edilmədikdə, preparat işıq təsirindən, xüsusilə də turş mühitdə UB-şüalar təsirindən 365 nm d.u.-da sürətlə parçalanır. Parçalanma nəticəsində *p*-aminbenzoilqlütamin turşusu və 6-formilpterin əmələ gəlir ki, sonuncu da havanın oksigeni təsirindən pterin turşusuna qədər oksidləşir:



6-formilpterin pterin turşusu

Bu proses nəticəsində fol turşusu fəallığını itirir.

**Fol turşusu törəmələri**

Fol turşusunun kimyəvi quruluşu anemiya əleyhinə bioloji fəallıq üçün səciyyəvidir. Maddənin molekul quruluşunda baş verən cuzi dəyişikliklər onun vitamin fəallığının itməsinə, hətta vitamin əleyhinə təsirin yaranmasına səbəb olur.

Fol tuşusu metabolitlərindən biri olan metotrksat şiş əleyhinə vasitə kimi istifadə olunur. Quruluşca fol turşusunun oxşarı, təsircə onun antaqonisti olan metotreksatın yaradılmasında təbii metabolitlərə bənzər şiş əleyhinə maddələrin axtarılması prinsipiindən istifadə edilmişdir.

**Metotreksat – Methotrexate**

**(Trixylem)**

C

H

3

6

5

C

H

2

8

9

7

1

0

1

2

3

4

C

H

2

N

2

H

N

N

H

2

N

N

N

O

C

H

2

C

C

O

O

H

C

H

N

H

N

6'

5'

1'

3'

4'

2'

4-amin-4-dezoksi-10-metilpteroil L-qlütamin turşusu və ya 4-dezoksi-

-4-amin-N10-metilfol turşusu.

Metotreksat, 4-dezoksi-4-amin-N-10-metilfol turşusu ilə digər pterin birləşmələrinin qarışığından ibarətdir.

**Alınması**

Metotreksatın əsas tərkib hissəsinin sintezi fol tuşusunun sintezinə oxşardır. Sintez məqsədilə tetraaminpirimidin, trixloraseton və N-[4-(N-metilaminbenzoil)] barium-qlütamat kondensləşdirilir:

 tetraaminpirimidin N-[4-(Nmetilaminbenzoil)]- trixloraseton

barium-qlütamat



4-dezoksi-4-amin-N-10-metilfol turşusu

Sarı və ya narıncı-sarı narın kristal poroşokdur. Praktik olaraq suda, dixloretanda və spirtdə həll olmur. Qələvilərdə və karbonatlarının duru məhlullarında asan həll olur.

**Eyniliyinin təyini**

1) UB-spektrofotometriya: preparatın 0,1 M NaOH-də olan 0,001%-li məhlulu 258±1 nm, 303±1 nm və 370±2 nm dalğa uzunluğunda üç maksimum udma verir. 303 nm və 370 nm d.u.-da müəyyən olunan optik sıxlıqların nisbəti 2,8-3,3 olmalıdır.

2) Kağız üzərində xromatoqrafiya aparılır. Preparatın 0,05 M Na2CO3-da olan 1%-li məhlulu ləkəsi xromatoqrafiya üçün kağızda start xəttinə yerləşdirilir və qalxan üsulla xromatoqrafiya aparılır. Həlledici kimi pH-ı 5,8 olan fosfat buferi götürülür. Xromatoqrammada Rf-i 0,63-0,75 olan metotreksatın ləkəsi və flüoressensiya verən daha 3 ləkə (pterinlər) olmalıdır.

3) İQ-spektroskopiya: metotreaksatın İQ-spektri NS-də verilən spektrlərlə eyni olmalıdır.

4) Kalium-permanqanat ilə oksidləşərək UB-işıqda mavi flüoressensiya verir (fol turşusunda 1-ci eynilik reaksiyasına bax). Oksidləşdirici kimi kalium – xlorat da istifadə oluna bilər.

**Miqdarı təyini**

1. Spektrofotometriya üsulu ilə apaılır. Bunun üçün əvvəl fol turşusunun və

metotreksatın kağız üzərində xromatoqrafiyası aparılır (2-ci eynilik təyininə bax); onlara məxsus ləkələr 0,1 M NaOH məhlulu ilə yuyulur və optik sıxlıqları ölçülür. Optik sıxlığın nəticəsinə əsasən metotreksatın miqdarı hesablanır.

1. Beynəlxalq Farmakopeyaya əsasən YEMX üsulu ilə aparılır. Hərəkətli

faza kimi asetonitril-fosfat-sitrat buferi (8:92) sistemindən istifadə olunur. Hesablamalar standart və tədqiq olunan məhlulların zirvə sahəsinə görə aparılır.

Fol turşusunun analoqu olan antimetabolitlərdəndir.

Bədxassəli şişlərin inkişafını dayandırır, leykemiya (ağ qanlıq) xəstəliyinin müalicəsində tətbiq olunur. Preparat 0,0025; 0,05; 0,01 qr-lıq tabletlərdə, natrium duzu isə 0,02; 0,05; 0,1 qr miqdarında flakonlarda infuziya üçün 1; 2; 4; 8; 10; 20; 40; 200 ml buraxılır.

Preparat möhkəm bağlı qablarda, quru yerdə, işıqdan qorunmaqla +5-yə qədər temperatur şəraitində saxlanılır.

**İZOALLOKSAZİN TÖRƏMƏLƏRİ**

İzoalloksazin heterotsiklik sistemi kimyəvi quruluşca pteridinə oxşar olaraq iki heterotsikldən: pirazin və pirimidindən, eləcə də əlavə olaraq benzol nüvəsindən ibarət olub, başqa sözlə benzpteridinin qismən hidrogenləşmiş törəməsidir. Izoalloksazin molekulunda olan pirimidin nüvəsi laktam xarakterlidir:



Izoalloksazin Benzpteridin

Izoalloksazin törəmələri olan dərman maddələrinə B2 vitamini (riboflavin) fəallığına malik təbii birləşmələr aiddir. B2 vitaminləri flavin (“*flavum*”-“sarı”) vitaminləri də adlanır. Süddən alınan *laktoflavin*, yumurtanın ağından alınan *ovoflavin*, limondan alınan *sitroflavin* maddələri kimyəvi quruluşca eyni olub, izoalloksazin heterotsiklindən və riboza qalıqlarından ibarət olan *riboflavin*dir.

**Riboflavin**

**(Vitaminum B2)**

3

H

C

3

H

C

N

N

O

O

N

H

N

C

H

2

(

C

H

O

H

)

3

C

H

2

O

H

4

6

5

3

8

9

7

2

1

6,7-Dimetil-9-(D-1-ribitil-izoalloksazin)

M.k.376,37

B2 vitamini bitki və heyvan aləmində geniş yayılmışdır. İnsan bu vitamini süd və ət məhsulları ilə qəbul edir. Bəzi ərzaq məhsulları riboflavinlə rəngindir, məsələn süd məhsulları, yumurta sarısı, qaraciyər, böyrəklər, dənli bitkilərin (arpa, buğda) rüşeymi və qabığı, noxud, tərəvəz (ispanaq, tomat) və b.

Riboflavin orqanizmdə flavin fermentlərinin tərkibində olub, dehidrogenləşmə reaksiyalarının yerinə yetirilməsini təmin edir. Orqanizmdə riboflavin azlığı (hipovitaminoz) və çatışmazlığı (avitaminoz) ariboflavinoza səbəb olur ki, bu zaman ağız ətrafındakı dəri, ağır hallarda gözlər də zədələnir. Bundan əlavə bədənin çəkisi azalır, iştahsızlıq baş verir, görmə prosesi pozulur. Riboflavin gözə düşən UB və göy şuaları gözün daha həssas olduğu zaman uzun dalğalı şüalara çevirir. Beləliklə, o görmədə batoxrom effekt yaradaraq sensibilizator (işığa həssaslığı artırır) rolu ifadə edir. Bəzi heyvanların (balıq, meymun) gözünün tor qişasında riboflavin vardır. Orqanizmə daxil olan riboflavin ATF təsirindən fosfatlaşır (ribitil qalığındakı birli spirt –CH2OH qrupu hesabına) və iki koferment forma-flavinmononukleotid (FMN) və flavinadenindinukleotid (FAD) əmələ gəlir. Riboflavinin vitaminlik aktivliyi onun molekulunda labil azadein qruplaşmasının və ribitil radikalının olması ilə əlaqədardır. Azadein qruplaşması ona oksidləşmə-reduksiya xassəsi verir. Məhz bu xüsusiyyətlərinə görə flavinlər şəkərlər, lipidlər və zülalların metabolizm reaksiyalarında iştirak edərək, orqanizmdə rəngarəng bioloji funksiyaları yerinə yetirirlər. Riboflavin reduksiya olunaraq öz sarı rəngini itirir və rəngsiz leykoriboflavinə çevrilir:



riboflavin (sarı) leykoriboflavin (rəngsiz)

və ya

C

C

N

N

C

C

N

H

H

N

oksidləşmə forma reduksiyaolunmuş

forma

İzoalloksazin törəmələrinin rəngli olmasına səbəb xromoforazometin (=C=N–) qruplaşmasıdır. Riboflavinin səciyyəvi xassələrindən biri, onun işığa qarşı həsas olmasıdır. Işığın təsiri ilə riboflavinin kimyəvi quruluşu dəyişilir və bu dəyişiklik mühitin pH-ı, eləcə də işığın intensivliyindən asılıdır. İşıq təsirindən neytral və ya zəif turş mühitdə riboza qalığı ayrılır, nəticədə sarı rəngli flüoressensiya verməyən *lümixrom* alınır. Qələvi mühitdə riboflavini şüalandırdıqda *lümiflavin* alınır. *Lumiflavin* məhlulları sarı rənglidir və sarı-yaşıl flüoressensiya verir:

3

H

C

3

H

C

N

N

H

O

O

N

H

N

R

i

b

o

f

l

a

v

i

n

N

N

O

C

H

3

N

H

N

l

ü

m

i

x

r

o

m

(

6

,

7

-

d

i

m

e

t

i

l

a

l

l

o

k

s

a

z

i

n

)

l

ü

m

i

f

l

a

v

i

n

(

6

,

7

,

9

-

t

r

i

m

e

t

i

l

i

z

o

a

l

l

o

k

s

a

z

i

n

)

p

H

<

6

p

H

>

9

H3C

H3C

Lümixrom və lümiflavin vitamin fəallığı göstərmir.

Riboflavindən fərqli olaraq lümiflavin xloroformda həll olur. Onun bu xassəsindən istifadə edərək riboflavində və riboflavin mononukleotiddə qarışıq kimi lümiflavinin olmasını təyin edirlər:

**Alınması**

Riboflavini bitki və yaxud heyvan mənşəli xammallardan almaq olar. Lakin bu proses ağır zəhmət tələb edir və alınan məhsulun çıxımı çox azdır. Belə ki, 1 qr riboflavin almaq üçün 5,4 ton süd zərdabını emal etmək lazımdır.

Sənaye miqyasında riboflovin sintez üsulu ilə alınır. Riboflavini sintez etmək üçün 3,4-dimetilanilin *D*-riboza ilə kondensləşdirilir, nəticədə alınan imin hidridləşdirilir və azobirləşmə reaksiyası (azoqrupun reduksiyası) nəticəsində əmələ gələn arilribamin, alloksanla kondensləşdirilərək riboflavinə çevrilir:





Hal-hazırda riboflavinin alınmasında ən əlverişli üsul *mikrobioloji sintez*dir. Burada mikroorqanizmlərin fiziologiyası və gen mühəndisliyi əsas götürülür ki, nəticədə riboflavinin çıxımı 4-5 min dəfə artır.

Riboflavin sar-narıncı kristal poroşokdur, zəif səciyyəvi iyli və acı dadlıdır. İşığın təsirinə davamsızdır. Suda az, qələvilərdə həll olur, 95%-li spirtdə, efirdə, asetonda, benzolda və xloroformda praktik həll olmur.

**Eyniliyinin təyini**

İzoalloksazin törəmələri, o cümlədən də riboflavinin eyniliyinin təyini məqsədilə ikiqat rabitələrə əsaslanan oksidləşmə-reduksiyaya, molekulun ribitil hissəsinin oksidləşməsi və efirləşməsinə, kompleks əmələgətirmə və hidrolizə, molekulda yerləşən üçlü azot atomu, natrium ionu və fosfat qalığının varlığına əsaslanan kimyəvi reaksiyalardan istifadə olunur.

1) *Flüoressensiya:* 0,01 qr preparatı 100 ml suda həll edirlər, məhlul açıq yaşılımtıl-sarı rəngdə olur. UB şualar altında baxdıqda yaşıl fluoressensiya müşahidə olunur. Xlorid turşusu və qələvi məhlulu əlavə etdikdə fluoressensiya itir, natrium-hiposulfit əlavə etdikdə həm flüoressensiya, həm də rəng itir. Buna səbəb riboflavinin leykoriboflavinə çevrilməsidir (səh. 22-yə bax).

2) 0,001 qr preparatın üzərinə 2-3 damcı qatı sulfat turşusu əlavə etdikdə qırmızı rəng əmələ gəlir; bir neçə damcı su əlavə etdikdə rəng sarıya keçir.

3) Preparatın üzərinə 3-4 damcı AgNO3 məhlulu əlavə etdikdə narıncı-qırmızı-qırmızı rəngli kompleks birləşmə əmələ gəlir (riboflavin gümüş ionları ilə 1:1 nisbətində birləşir; birləşmə 3-cü vəziyyətdə imid qrupunda gedir).

4) Riboflavin məhluluna Denije reaktivi (0,5 qr sarı civə oksidi+2 ml qatı H2SO4 + 10 ml su) ilə təsir etdikdə narıncı rəng alınır:

N

O

N

A

g

O

4

v

ə

N

O

N

3

O

N

O

O

N

H

g

3

5) 0,001 qr preparatı suda həll dirlər, alınmış məhlulun üzərinə 1-2 damcı 0,1 M NaOH məhlulu və 3-4 damcı 0,25%-li ninhidrin məhlulu əlavə edib qaynayana kimi qızdırırlar; yaşıl rəng əmələ gəlir.

6) Riboflavin, tərkibində azot olan üzvi birləşmə kimi Dragendorf reaktivi və digər çökdürücü ümumialkaloid reaktivlərlə reaksiya verir.

7) Preparatın xüsusi fırlatması -1100-dən-1300-yə qədər olmalıdır. 0,125 qr preparatı (d.k.) 25 ml həcmi olan ölçülü kolbada kalium-hidroksidin spirtdə olan 0,1 M məhlulunun 5 ml-də həll edirlər. Məhlulun həcmini su ilə ölçüyə çatdırırlar və fırlatma bucağını təyin edirlər. Sonra düsturuna əsasən xüsusi fırlatmasını hesablayırlar.

8) İQ-spektroskopiya: riboflavinin İQ-spektri NS-də verilən spektrlərlə eyni olmalıdır.

9) UB-spektrofotometriya: riboflavinin suda məhlulu 223, 267, 370 və 445 nm d.u.-da 4 maksimum udma verməlidir.

**Təmizliyinin təyini**

Lumiflavin qatışığı olmamalıdır. Bunu təyin etmək üçün 0,025 qr preparatı 5 dəqiqə müddətində 10 ml təmiz xloroformla çalxalayıb süzürlər. Filtratın rəngi kalium-bixromatın etanol məhlulunun rəngindən tünd olmamalıdır. Etalon məhlulu hazırlamaq üçün 3 ml 0,0167 M kalium-bixromat məhlulunu 1l-ə qədər su ilə durulaşdırırlar.

**Miqdarı təyini**

Bir neçə üsulla aparılır.

1) UB-spektrofotometriya üsulu. 0,06 qr (d.k.) preparatı 1000 ml-lik ölçülü kolbada su hamamı üzərində qızıdırmaqla 2 ml buzlu asetat turşusu və 500 ml su qarışığında həll edirlər. Məhlulu soyudur və həcmini su ilə ölçüyə çatdırırlar. Həmin məhluldan 10 ml götürüb, 100 ml həcmi olan ölçülü kolbaya yerləşdirir və üzərinə 3,5 ml 0,1 M natrium-asetat məhlulu əlavə edib həcmini su ilə ölçüyə çatdırırlar. Alınmış məhlulun optik sıxlığını spektrofotometrdə 267 nm dalğa uzunluğunda qatının qalınlığı 1 sm olan küvetdə ölçürlər. Riboflavinin faizlə miqdarı (x) aşağıdakı düstura əsasən hesablanır:

Burada,

D – yoxlanan məhlulun optik sıxlığı;

a – qr-la n.k.;

850 – təmiz riboflavinin 267 nm d.u. xüsusi udma göstəricisidir.

Preparatda quru maddəyə görə hesablandıqda 98,0-102% riboflavin olmalıdır.

2) Gümüş-nitratla reaksiya əsasında əmələgələn HNO3-nun neytrallaşmasına (alkalimetriya) əsaslanan üsul.

Preparatın 10 ml (d.h.) 0,02%-li məhlulu üzərinə 5-10 damcı 0,02 M AgNO3 məhlulu, 3-4 damcı bromtimol abısı əlavə edib 0,01 M NaOH məhlulu ilə kərpici-qırmızı rəngə kimi titrləyirlər (T=0,0037637 qr/ml).

Paralel olaraq kontrol təcrübə qoyulur.

3) Flüorimetriya üsulu ilə aparılır.

4) Ribitil qalığına görə təyinat.

Riboflavini otaq temperaturunda, neytral mühitdə 0,02 M kalium peryodat məhlulu ilə oksidləşdirirlər (Malaprad reaksiyası); nəticədə qarışqa turşusu alınır ki, onu da alkalimetriya ilə təyin edirlər:



6,7-dimetil-9-izoalloksazin-

asetaldehid

+

2

H

C

O

O

H

+

C

H

O

H

+

3

K

I

O

3

2HCOOH + 2NaOH → 2HCOONa + 2H2O

Riboflavinin ribitil qalığının miqdarı təyinini qatı sulfat turşusu ilə efirləşmə reaksiyasına əsasən də aparmaq olar. Sulfat turşusunun artığı kalium-hidroksidlə titrlənir.

Riboflavin şəkər, zülal və yağların mübadiləsində, hemoqlabinin sintezində iştirak edişr. Müalicəvi məqsədlər üçün riboflavin hipo-və ariboflavinozlarda, göz xəstəliklərində (0,01%-li məhlulu) işlənir. Daxilə poroşok, tablet (0,002; 0,005 və 0,01 qr-lıq) formasında təyin olunur. Bəzi polivitaminli preparatların tərkibinə daxildir.

Riboflavin preparatları möhkəm bağlı qablarda, işıqdan qorunmaqla saxlanılır.

**Riboflavin-mononukleotid – Riboflavin mononucleotide**

**(Riboflavinfosfat)**



Riboflavin-5'-monofosfat-natrium

Sarı-narıncı kristal poroşokdur, iysiz və acı dadlıdır. Suda orta həll olur, spirtdə praktik həll olmur. İşıq təsirindən parçalanır. Suda məhlulları UB şuaları təsirindən fluoressensiya verir.

**Eyniliyinin təyini**

1) Preparatın 0,02:20 nisbətində hazırlanmış məhlulunun 10 ml-inə UB şüalar altında baxdıqda sarı yaşıl fluoressensiya müşahidə olunur. Qələvi və turşu təsirindən fluoressensiya itir (riboflavin).

2) Şüşə çubuğu preparatın məhluluna batırıb rəngsiz alova tutduqda onu sarı rəngə boyayır (natrium).

3) Fosfat ionuna aid reaksiya: 1-ci təyinatdakı məhlulun 5 ml-i üzərinə 3 ml qatı HNO3 əlavə edib 5 dəqiqə müddətində qaynadırlar, soyudurlar, 10 ml su, 0,5 qr ammonium-nitrat və 2 ml ammonium-molibdat məhlulu əlavə edib qızdırırlar; məhlul sarı rəngə boyanır, sonra isə sarı kristal çöküntü əmələ gəlir:

H3PO4 + 12(NH4)2MoO4 + 21HNO3 → 21NH4NO3 + 12H2O +

+ (NH4)3PO4 · 12MoO3↓

4) UB-spektrofotometriya: preparatın miqdarı təyini üçün hazırlanmış məhlulunun 266, 373 və 445 nm dalğa uzunluğunda, qatının qalınlığı 1 sm olan küvetdə optik sıxlıqları təyin olunur. Optik sıxlıqların (D) nisbəti aşağıda göstərilən hüdudda olmalıdır:

**Təmizlyinin təyini**

Lumiflavin qatışığı olmamalıdır (riboflavinə bax).

**Miqdarı təyini**

Spektrofotometriya üsulu ilə 445 nm dalğa uzunluğu ilə aparılır. (Preparatın 1%-li inyeksiya məhlulu üçün verilmişdir). 1 ml (d.h.) preparatı 250 ml həcmi olan ölçülü kolbaya yerləşdirib 0,5 ml buzlu asetat turşusu əlavə edirlər və həcmini su ilə ölçüyə çatdırırlar. Bu məhluldan 10 ml götürüb 25 ml həcmi olan ölçülü kolbaya yerləşdirirlər. 9 ml 0,1 M natrium-asetat məhlulu ə.e. edib həcmini su ilə ölçüyə çatdırırlar. Alınmış məhlulun optik sıxlığını spektrofotometrdə 445 nm dalğa uzunluğuenda küvetin qatının qalınlığı 1 sm olmaqla ölçürlər. Riboflavin-mononukleotidin 1 ml preparatda olan miqdarı aşağıdakı düstura əsasən hesablanır:

Burada,

D – yoxlanan məhlulun optik sıxlığı;

323;

1,2709 – riboflavin-mononukleotidə keçmək üçün əmsaldır.

Riboflavin mononukleotidin miqdarı 0,0095-0,0105 qr olmalıdır.

Riboflavin-mononukleotid koferment preparatdır, orqanizmdə riboflavindən əmələ gəlir. Zülalla birləşmiş halda oksidləşmə-reduksiya proseslərində iştirak edən fermentlərin tərkibinə daxildir. Riboflavinlə birlikdə hipo-və avitaminozlarda, dermatozlarda, xroniki ekzemada, neyrodermitdə, keratitdə və b. Hallarda işlənir. Preparat dərialtına və əzələyə vurulur. 1%-li məhlulu 1 ml miqdarında inyeksiya üçün buraxılır. Polivitamin preparatı olan “**Komplivit**”in tərkibinə daxildir.

Preparat işıqdan qorunmaqla, quru yerdə saxlanılır.