

## 4 курс 7 семестр ЛЕКЦИЯ № 6

### Пиримидино-тиазоловые витамины

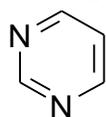
Витамин В<sub>1</sub> был выделен в 1912 г. польским ученым К. Функом из рисовых отрубей. Открытие витамина В<sub>1</sub> было связано с интересным наблюдением. В начале XX века получила широкое распространение, особенно у моряков, заболевание “бери-бери”, что в переводе с индийского языка означает “кожные оковы”. Это заболевание получило такое название потому, что связано оно с поражением двигательных и чувствительных нервов.

Врачи по-разному объясняли причину этого заболевания. Одни связывали с инфекционным началом, другие предполагали употребление очищенного риса. Подобное заболевание было обнаружено у кур, питающихся очищенным рисом, и названо полиневритом. Было установлено, что полиневрит у кур и “бери-бери” у человека – одно и то же заболевание, которое вызывается отсутствием какого-то вещества в очищенном рисе.

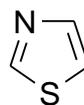
Поскольку полученное вещество в очень малых количествах излечивало голубей от полиневрита, оно вначале было названо *анейрином*. Однако после того как было установлено, что в состав его молекулы входят сера и аминогруппа, этому веществу было дано новое название – *тиамин*.

Витамин В<sub>1</sub> имеет важное значение для животного организма. Он входит в состав кофермента кокарбоксилазы, которая катализирует реакции декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Ее накопление в организме в процессе углеводного обмена нарушает нормальную нервную систему и вызывает полиневрит (“бери-бери”).

Основу химической структуры тиамина составляют два гетероциклических цикла – пиримидиновый и тиазольный:



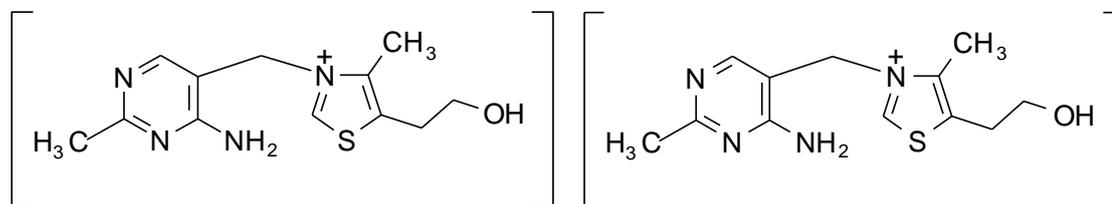
*Пиримидин*



*Тиазол*

В молекуле тиамина они связаны между собой метиленовой группой, поэтому тиамин относят к пиримидинотиазоловым или пиримидил-метилтиазоловым витаминам.

В медицинской практике применяют тиамин в виде двух препаратов: тиамин бромид и тиамин хлорид. Препараты практически идентичны по физическим свойствам. Они представляют собой белые или с желтоватым оттенком кристаллические вещества со слабым характерным запахом. Тиамин хлорид отличается несколько более высокой гигроскопичностью.


 $\text{Br}^- \cdot \text{HBr}$ 
 $\text{Cl}^- \cdot \text{HCl}$ 

Thiamini bromidum - тиамин бромид    Thiamini chloridum - тиамин хлорид

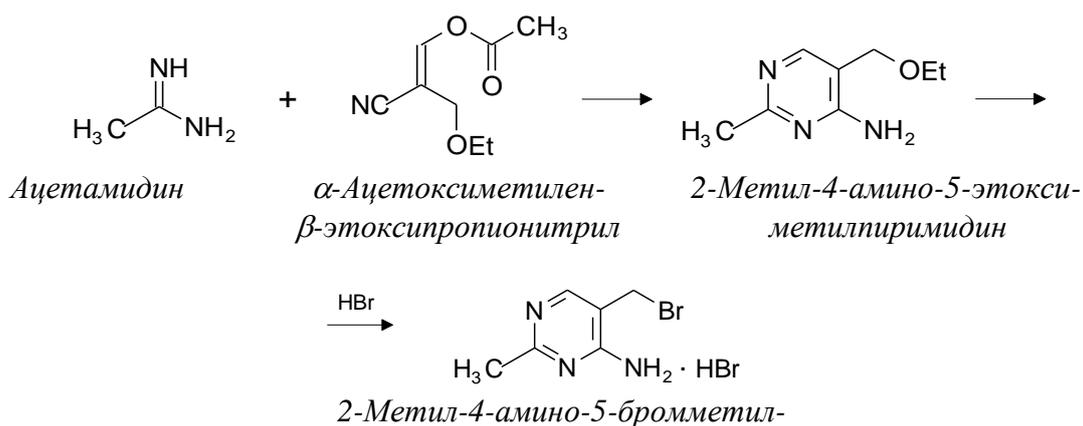
## Получение

Биосинтез тиамин осуществляется в растительных клетках. Организм человека неспособен синтезировать тиамин. Он поступает вместе с пищей, что не всегда может удовлетворить потребность организма.

Тиамин содержится в желтках куриного яйца, дрожжах, в зародышах и оболочках семян злаковых культур (пшеницы, овса, гречихи, кукурузы и т.п.), а также в орехах и арахисе. Эти продукты могут служить источниками получения тиамин. Однако процесс выделения витамина сложен и выход очень мал. Так, из 1 т дрожжей можно получить только 0,25 г тиамин. Поэтому разработано значительное количество методов синтеза тиамин. Из многочисленных методов получения тиамин наибольший интерес представляет способ, состоящий из трех этапов:

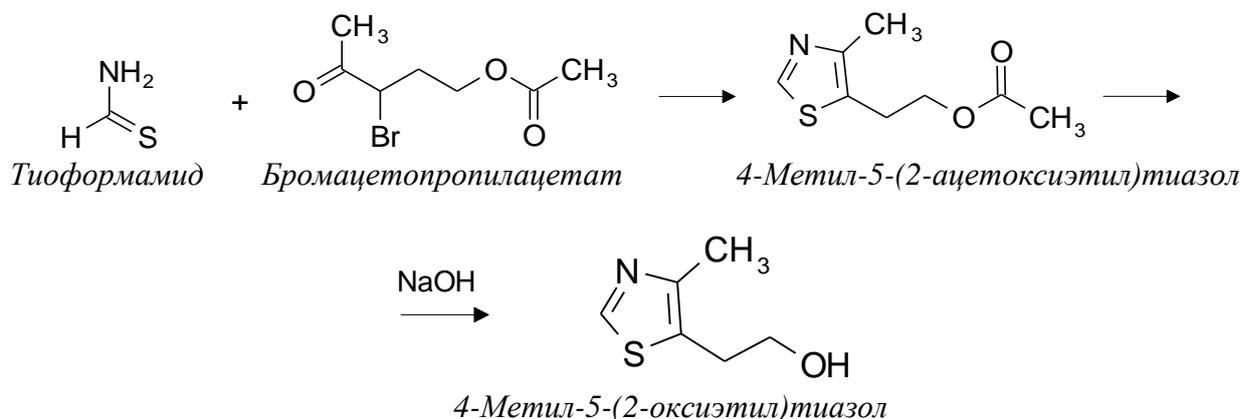
- Синтез пиридинового части молекулы тиамин.
- Синтез тиазольного цикла.
- Связывание пиридинового части молекулы тиамин с тиазольным циклом.

☞ Синтез пиридинового цикла основан на конденсации ацетамидина и *цис*- $\alpha$ -ацетоксиметил- $\beta$ -этоксипропионитрила:

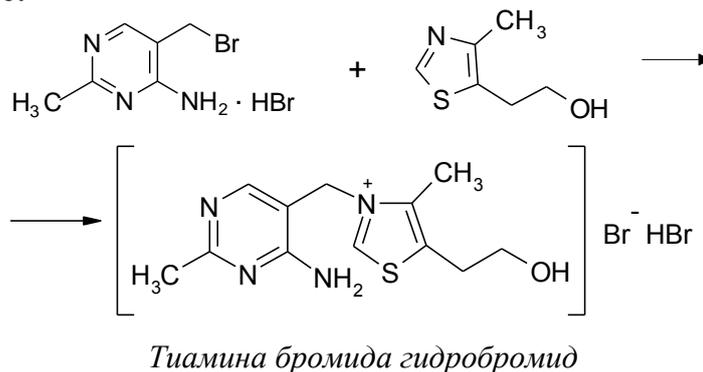


пиримидина гидробромид

⇒ **Тиазольный цикл синтезируют** конденсацией тиоформамида и бромацетопропилацетата:



⇒ **Связывают пиримидиновую и тиазольную части** в одну молекулу сплавлением полученных продуктов при 100-120 °С, либо нагреванием в органическом растворителе, например в бутиловом спирте:



Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым характерным запахом. Легко растворим в воде и метиловом спирте, трудно растворим в этиловом спирте, практически не растворим в эфире, ацетоне, бензоле, хлороформе.

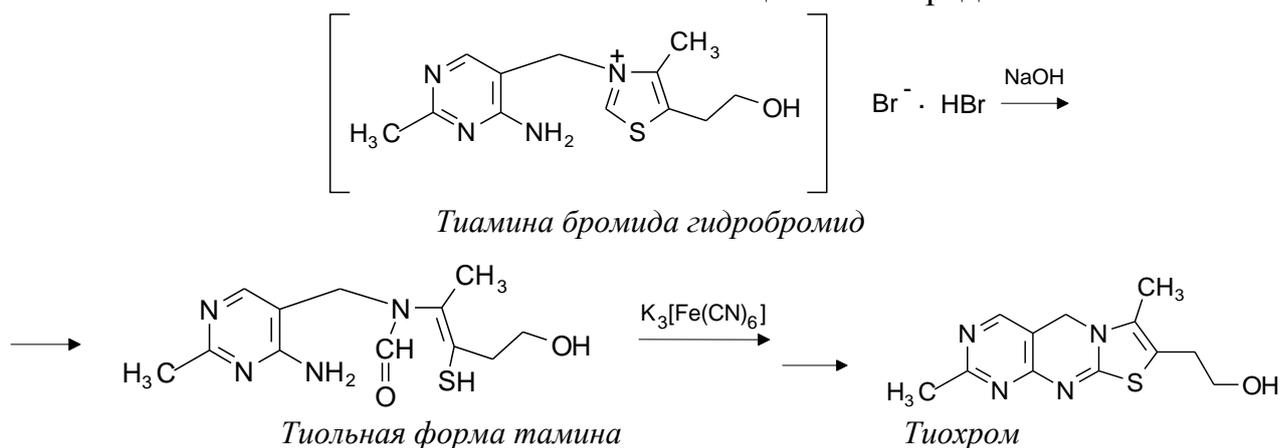
## Подлинность

### 1. УФ спектрометрия

Можно подтвердить по УФ-спектрам. Так, 0,0015 %-ный раствор тиамин бромид в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты имеет максимум поглощения в области 246 нм.

### 2. Тиохромная проба

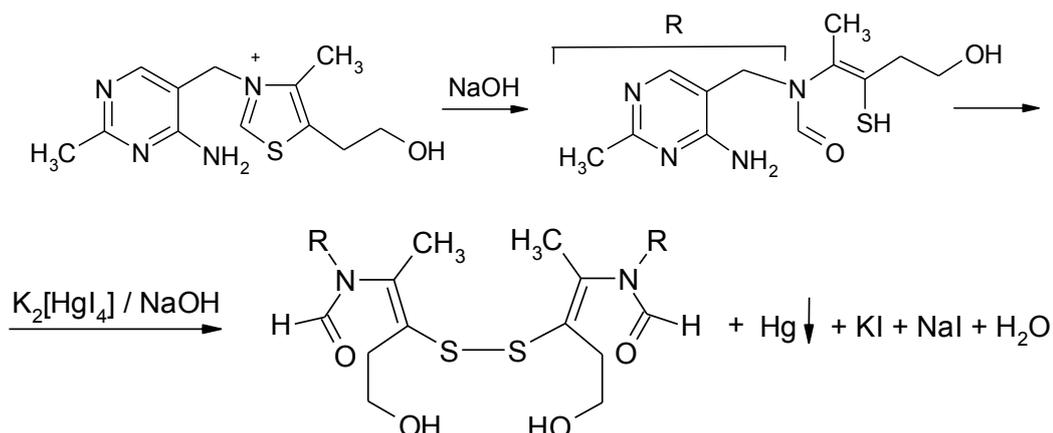
Идентифицируют препараты с помощью реакции, основанной на окислении тиамина в щелочной среде.



Тиохром извлекают из водных растворов бутиловым или изоамиловым спиртом. Полученные спиртовые растворы при УФ-облучении имеют характерную синюю флюоресценцию, которая исчезает при подкислении и вновь возникает при подщелачивании.

### 3. Окисление реактивом Несслера

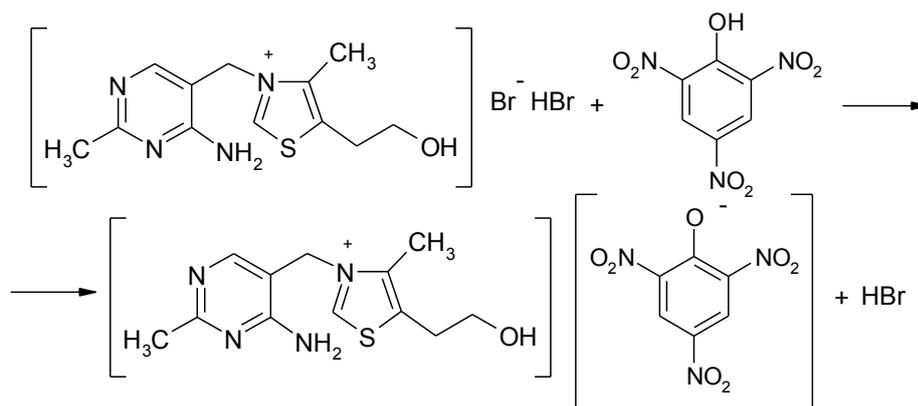
- При прибавлении двух капель 15 %-ного раствора гидроксида натрия к 0,1 %-ному раствору препарата появляется желтое окрашивание.
- При дальнейшем действии реактивом Несслера в щелочной среде появляется желтое окрашивание, которое вследствие восстановления металлической ртути переходит в черное:



### 4. Взаимодействие с общеалкалоидными реактивами

Тиамин можно обнаружить по

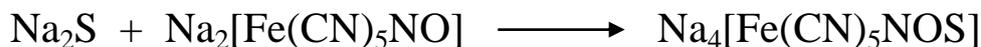
- образованию белого осадка с насыщенным раствором хлорида ртути (II);
- красно-коричневого осадка с 0,02 М раствором иода;
- желтого осадка пикрата с насыщенным раствором пикриновой кислоты ( $T_{\text{плав}} 206-208\text{ }^\circ\text{C}$ ).



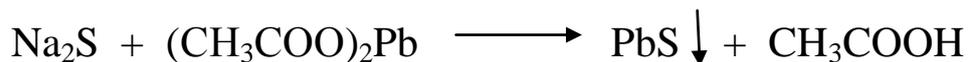
### 5. Сплавление со щелочами.

- При сплавлении с кристаллическими едкими щелочами тиамин разрушается с образованием сульфидов, которые легко обнаружить с помощью раствора нитропруссид натрия:

*К капле раствора, полученного после растворения сплава тиамин со щелочью, прибавить каплю щелочи и каплю раствора нитропруссид натрия. присутствии сульфидов появляется красно-фиолетовое окрашивание:*



- Сульфиды можно обнаружить добавив в раствор, полученный после растворения сплава тиамин со щелочью, ацетат свинца – образуется черный осадок:



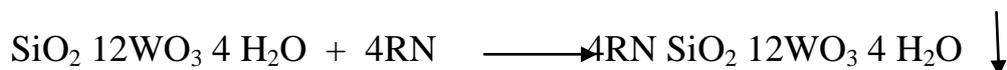
### 6. Определение галогенидов

Тиамин бромид дает характерные реакции на бромиды, а тиамин хлорид – на хлориды. (Определение бромидов в присутствии хлоридов).

### Количественное определение

#### 1. Гравиметрия

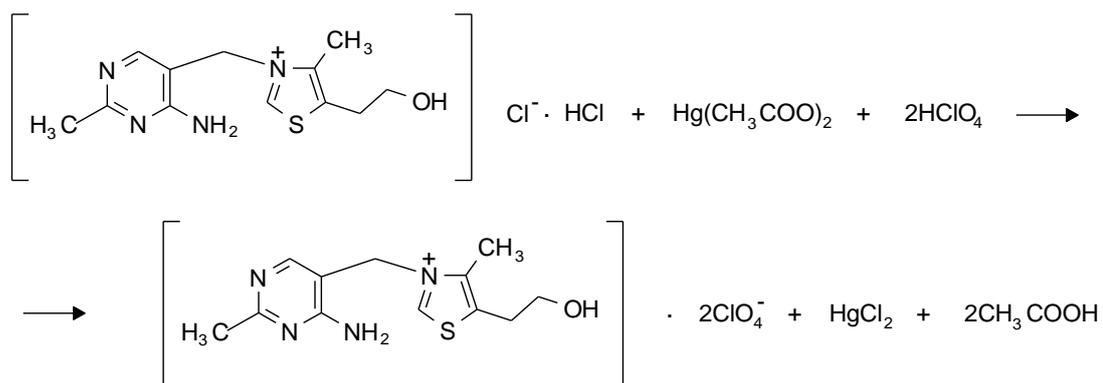
Сущность количественного гравиметрического определения тиамин бромид, рекомендованного ФС, состоит в нагревании смеси водного раствора навески препарата, концентрированной хлороводородной кислоты и 10 %-ного раствора кремневольфрамовой кислоты.



Образовавшийся осадок отделяют, промывают на фильтре последовательно горячей разбавленной хлороводородной кислотой, затем водой и ацетоном. Все операции выполняют на предварительно высушенной до постоянной массы воронке, которую сушат вместе с осадком, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Масса осадка, умноженная на коэффициент 0,25, соответствует количеству тиамина бромид.

## 2. Неводное титрование

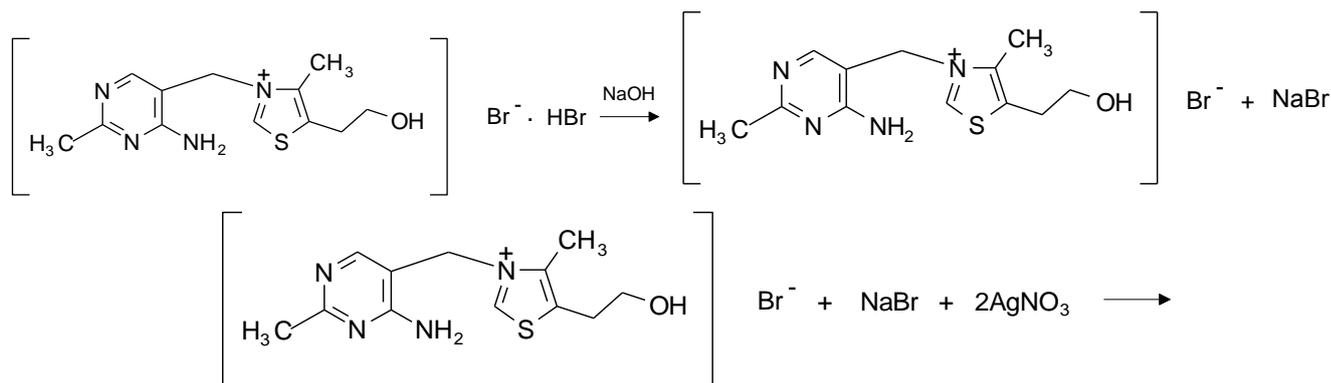
Тиамин хлорид количественно определяют методом неводного титрования. В качестве растворителя используют безводную уксусную кислоту, титрантом служит 0,1 М раствор хлорной кислоты, а индикатором является кристаллический фиолетовый:

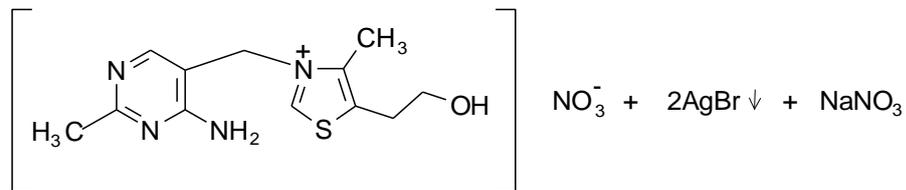


Титруют до перехода окраски от фиолетовой через голубую в синевато-зеленую.

## 3. Аргентометрия

Тиамин бромид количественно определяют способом, основанным на нейтрализации гидробромид и последующем аргентометрическом титровании суммы бромид-ионов (индикатор ЖАК):





#### 4. Алкалиметрическое титрование

Наиболее широко применяется алкалиметрический метод определения тиамин хлорида и тиамин бромид с использованием индикаторов бромтимолового синего или фенолфталеина. Титрант 0,1 М раствор гидроксида натрия (отитровывается галогеноводород).

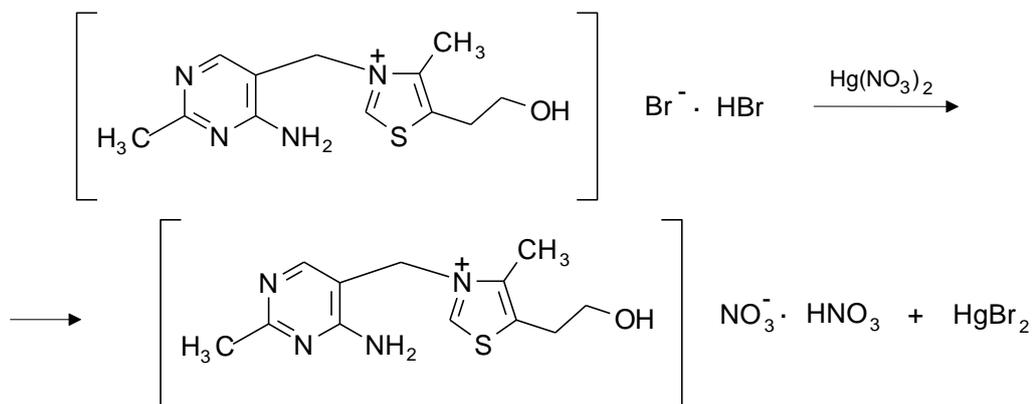
#### 5. Аргентометрия. Метод Фаянса.

Препараты тиамин можно определять по *хлорид-* и *бромид-* иону аргентометрически методом Фаянса с использованием в качестве индикатора бромфенолового синего в присутствии разведенной уксусной кислоты, которую добавляют для создания необходимого рН.

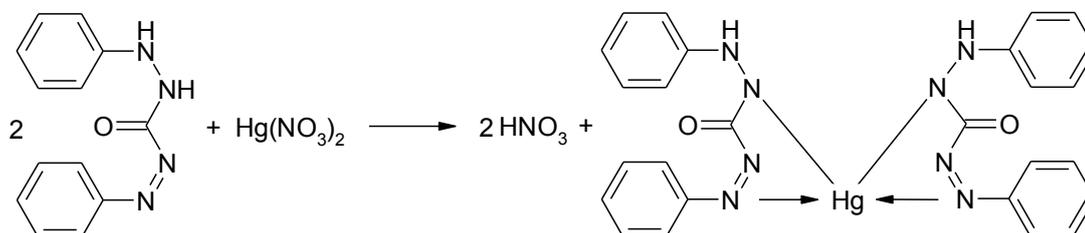
Метод Фаянса - это метод прямого титрования галогенидов 0,1М раствором  $\text{AgNO}_3$  в слабо-кислой среде с применением адсорбционных индикаторов, которые показывают изменение цвета не в растворах, а на поверхности выпавшего осадка.

#### 6. Меркуриметрия

Известен меркуриметрический метод определения препаратов тиамин в азотнокислой среде с индикатором дифенилкарбазидом или дифенилкарбазоном. Титрантом служит 0.1 М раствор нитрата ртути (II):



При титровании нитратом ртути образуется малодиссоциирующая молекула бромида ртути. В точке эквивалентности лишняя капля рабочего раствора нитрата ртути (II) образует прочный комплекс с дифенилкорбазоном, при этом происходит переход окраски раствора от бледно-розового (почти бесцветного) до синего:



### Хранение

Препараты тиамин хранят в герметически закрытой таре, предохраняющей от действия света, исключаяющей контакт с металлами. Беречь от детей.

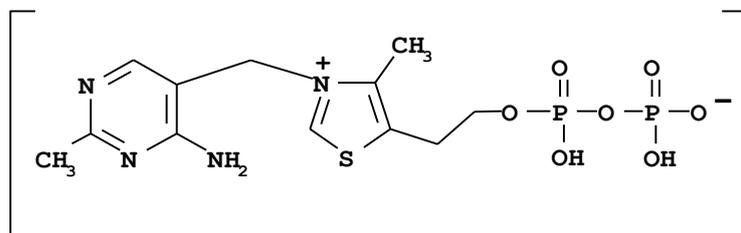
### Применение

Тиамин – витамин В<sub>1</sub> – является водорастворимым витамином. Он представляет собой кофермент энзимов, отвечающих за регуляцию белкового и углеводного обменов. Тиамин обеспечивает проведение нервных импульсов в синапсах (место контакта между двумя нейронами). Также он оказывает антиоксидантный эффект и повышает защиту клеточных мембран от токсического действия продуктов перекисного окисления.

Препараты тиамин назначают при нарушениях функции нервной системы. Вводят внутрь по 0,005 - 0,01 - 0,02 г или внутримышечно по 0,5 - 1,0 мл 2,5 %- или 5 %-ного раствора тиамин хлорида или 3 %- или 6 %-ного раствора тиамин бромида.

При пероральном приеме натощак Тиамин практически полностью абсорбируется из ЖКТ. Перед всасыванием он высвобождается из связанного состояния благодаря пищеварительным ферментам. Через 15 минут после приема витамин В<sub>1</sub> определяется в плазме крови, а через 30 минут – в других тканях. В крови его концентрация остается сравнительно невысокой, причем в плазме обнаруживают преимущественно свободный тиамин, а в лейкоцитах и эритроцитах – его фосфорные эфиры.

## ТЕМА VIII



· HCl

Cocarboxylasum hydrochloridum pro injectionibus –кокарбоксылазы гидрохлорид  
для инъекций

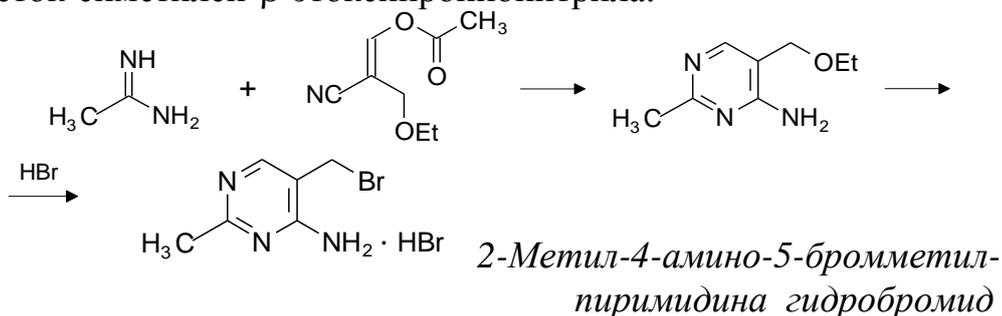
Лиофилизированная сухая пористая масса белого цвета со слабым характерным  
запахом. Гигроскопична.

### Получение

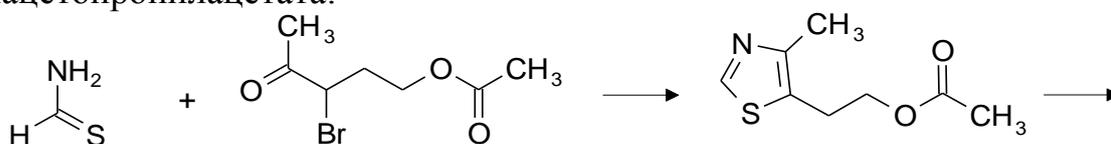
Наличие спиртового гидроксила в молекуле тиамина позволило синтезировать его моно-, ди- и трифосфорные эфиры. Некоторые из этих эфиров, например, тиаминдифосфат (кокарбоксылаза), выделены из дрожжей в 1937 г.

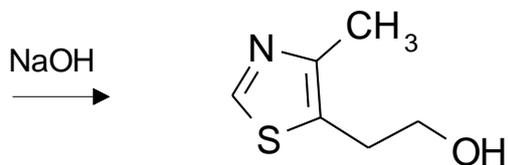
1. Синтез пиримидиновой части молекулы тиамина.
2. Синтез тиазольного цикла.
3. Связывание пиримидиновой части молекулы тиамина с тиазольным циклом.
4. Получение фосфорного эфира.

Синтез пиримидинового цикла основан на конденсации ацетамидина и *цис*- $\alpha$ -ацеток-симетилен- $\beta$ -этоксипропионитрила:



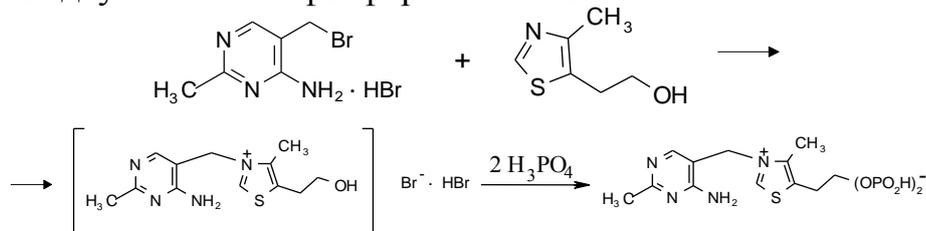
Тиазольный цикл синтезируют конденсацией тиоформамида и бромацетопропилацетата:





4-Метил-5-(2-оксиэтил)тиазол

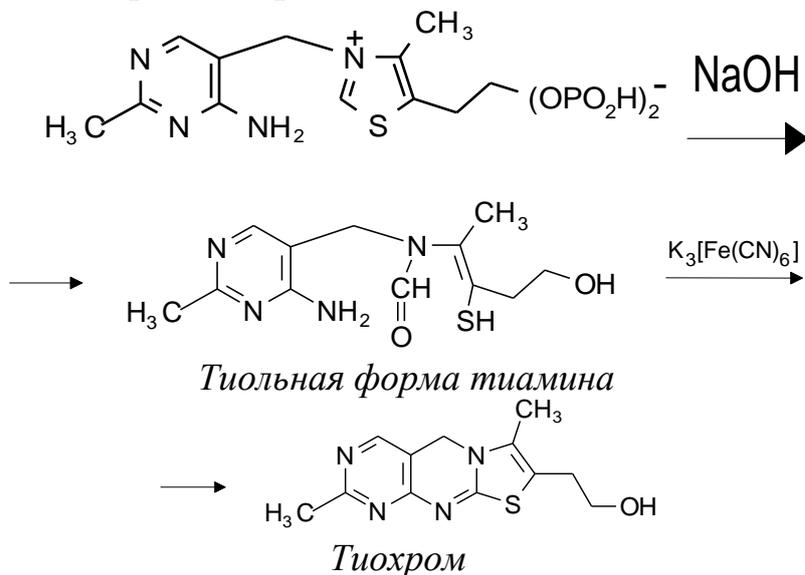
Связывают пиримидиновую и тиазольную части в одну молекулу сплавлением полученных продуктов при 100-120 °С, либо нагреванием в органическом растворителе, например в бутиловом спирте, а далее обрабатывают двумя молями фосфорной кислоты:



Кокарбоксилаза отличается высокой гигроскопичностью. Препарат легко растворим в воде, малорастворим в этиловом спирте и практически не растворим в других органических растворителях. Водные растворы (5-6 %-ные) препарата имеют рН 2,7 - 3,4.

### Подлинность

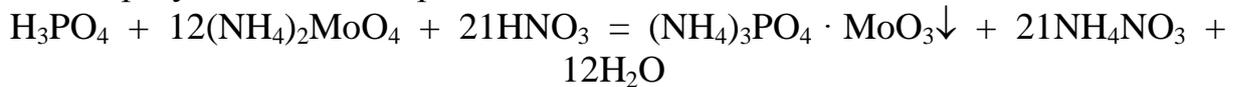
1. ИК-спектроскопия. Фосфорные эфиры тиамин имеют свои четкие характерные полосы.
2. Идентифицируют препараты с помощью реакции, основанной на окислении тиамин в щелочной среде. Эта реакция известна под названием *тиохромной пробы*:



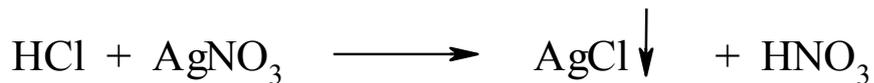
Тиохром извлекают из водных растворов бутиловым или изоамиловым спиртом. Полученные спиртовые растворы при УФ-облучении имеют характерную синюю флюоресценцию, которая исчезает при подкислении и вновь возникает при подщелачивании.

3. Общие реакции подлинности кокарбоксилазы гидрохлорид для инъекций основаны на обнаружении фосфора, содержащегося в составе

молекул. Кокарбоксилаза дает положительную реакцию на фосфат ионы после растворения препарата в разведенной азотной кислоте. Кокарбоксилазы гидрохлорид для инъекций предварительно разрушают кипячением в течение 5 мин в концентрированной азотной кислоте до образования фосфат-ионов. В качестве реактива на фосфатионы используют раствор молибдата аммония, с которым образуется желтый кристаллический осадок:



4. Кокарбоксилазы гидрохлорид дает положительную реакцию на хлориды.



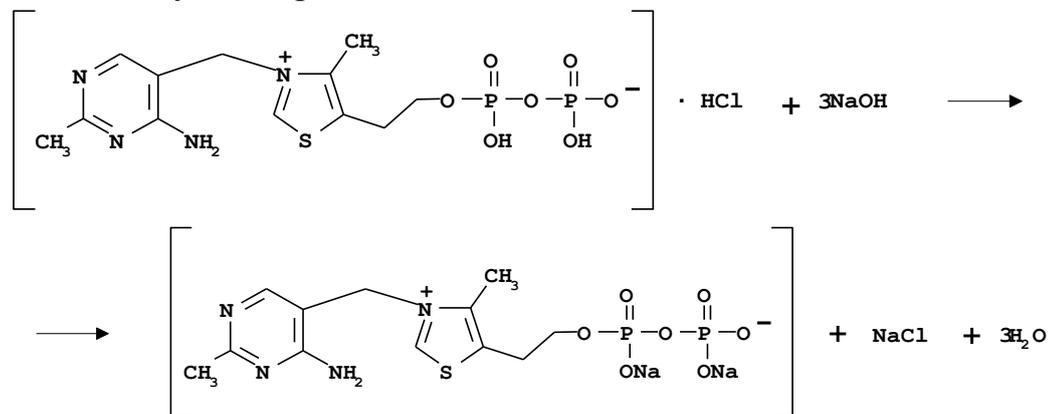
### Доброкачественность

Основными испытаниями на наличие специфических примесей в препаратах является установление содержания фосфотиамин в кокарбоксилазы гидрохлориде (1,5).

### Количественное определение

1. Метод нейтрализации.

Содержание кокарбоксилазы гидрохлорида устанавливают путем нейтрализации навески препарата 0,1 М раствором гидроксида натрия с использованием в качестве индикатора тимолфталейна. Процесс титрования основан на следующей реакции:



2. В фосфотиамине определяют также содержание связанной фосфорной кислоты, которой в пересчете на сухое вещество должно быть 20,5 - 23,5 %.

### Хранение

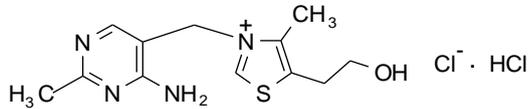
Хранят в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре. Кокарбоксилазы гидрохлорид для инъекций фасуют в ампулы по 0,05 г, которые запаивают и хранят в защищенном от света месте при температуре не выше +5 °С. Предельно допустимый срок хранения один год.

### Применение

Кокарбоксилазы гидрохлорид для инъекций назначают внутримышечно и внутривенно по 0,05 - 0,1 г при нарушениях деятельности сердечно-сосудистой системы и коронарного кровообращения.

### ТЕМА VIII

5



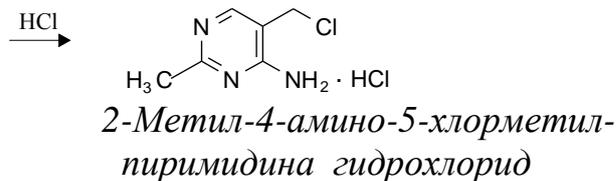
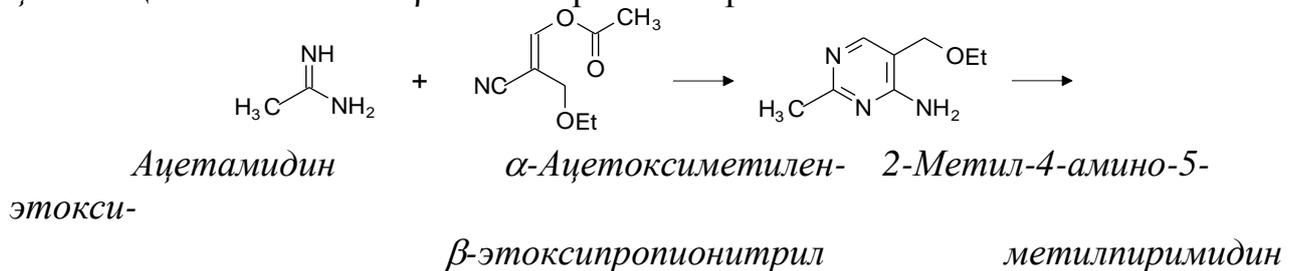
Thiamini chloridum - тиамин  
хлорид

#### Получение

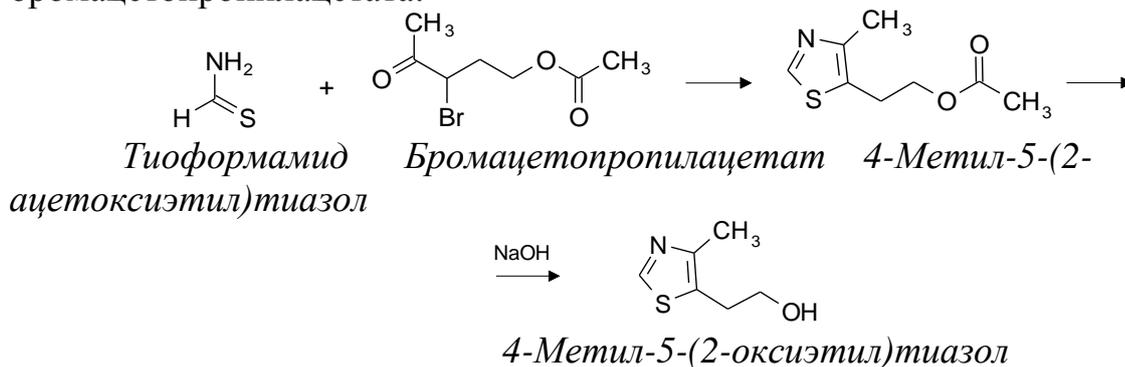
Тиамин содержится в желтках куриного яйца, дрожжах, в зародышах и оболочках семян злаковых культур (пшеницы, овса, гречихи, кукурузы и т.п.), а также в орехах и арахисе. Из 1 т дрожжей можно получить только 0,25 г тиамин. Из многочисленных методов получения тиамин наибольший интерес представляет способ, состоящий из трех этапов:

1. Синтез пиридинового цикла молекулы тиамин.
2. Синтез тиазольного цикла.
3. Связывание пиридинового цикла молекулы тиамин с тиазольным циклом.

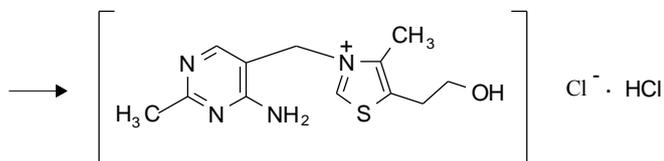
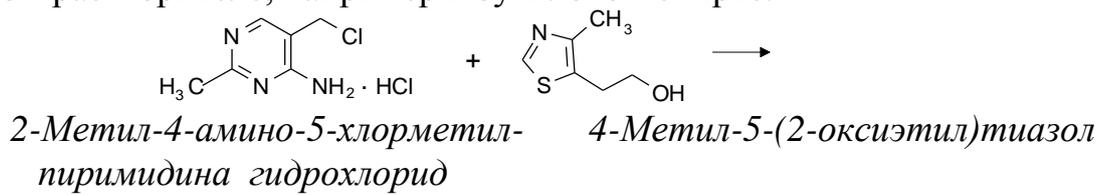
Синтез пиридинового цикла основан на конденсации ацетамидин и *цис*- $\alpha$ -ацетоксиметил- $\beta$ -этоксипропионитрила:



Тиазольный цикл синтезируют конденсацией тиоформамаид и бромацетопропилацетата:



Связывают пиримидиновую и тиазольную части в одну молекулу сплавлением полученных продуктов при 100-120 °С, либо нагреванием в органическом растворителе, например в бутиловом спирте:

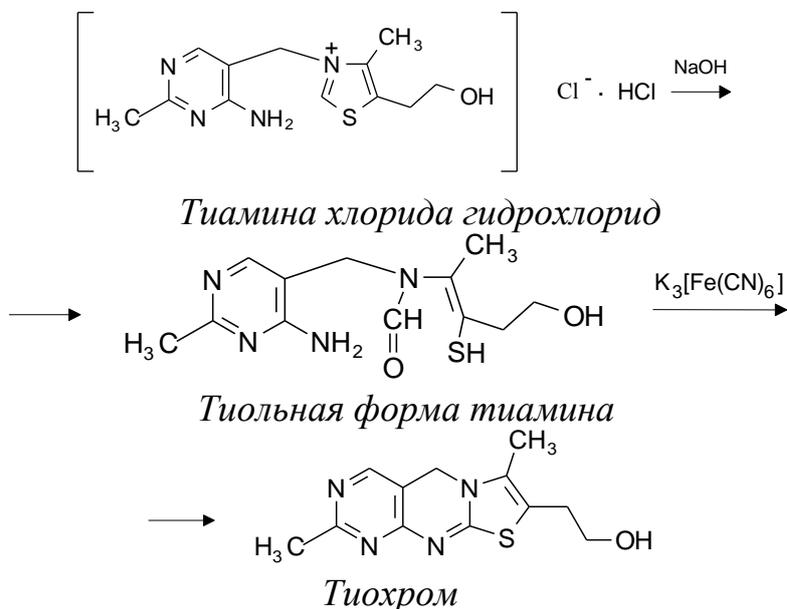


*Тиамин хлорида гидрохлорид*

Тиамин хлорида гидрохлорид представляет собой белые или с желтоватым оттенком кристаллическое вещество со слабым характерным запахом. Тиамин хлорид отличается высокой гигроскопичностью. Препарат легко растворим в воде, малорастворим в этиловом спирте и практически не растворим в других органических растворителях. Водные растворы (5-6 %-ные) препаратов имеет рН 2,7 - 3,4.

**Подлинность**

1. можно подтвердить по *УФ-спектрам*. Так, 0,0015 %-ный раствор тиамин хлорида в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты имеет максимум поглощения в области 246 нм.
2. *тиохромной пробы*: окисления тиамин в щелочной среде.



- спиртовые растворы тиохрома при УФ-облучении имеют характерную синюю флюоресценцию, которая исчезает при подкислении и вновь возникает при подщелачивании.

3. Тиамин хлорид дает характерные реакции хлориды.

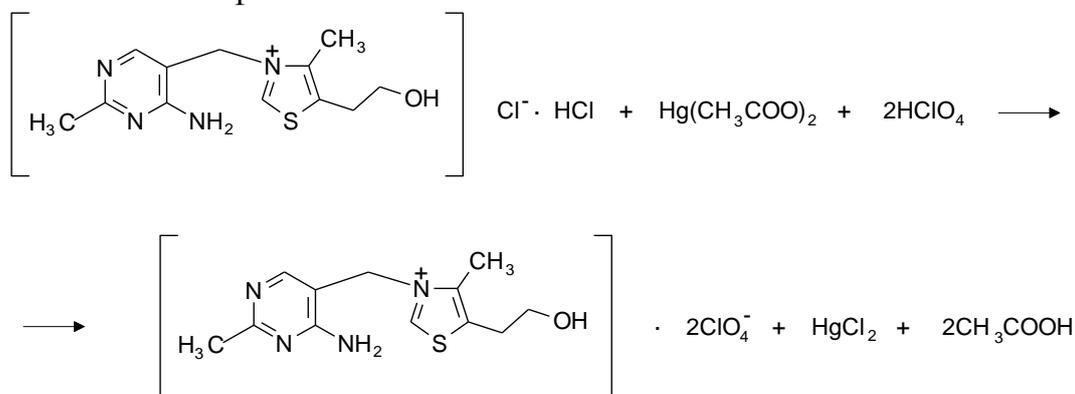
4. При действии на препараты реактива Несслера появляется желтое окрашивание, которое вследствие восстановления металлической ртути переходит в черное.
5. Тиамин можно обнаружить по образованию белого осадка с насыщенным раствором хлорида ртути (II), красно-коричневого осадка с 0,02 М раствором иода, желтого осадка пикрата (температура плавления которого составляет 206-208 °С) с насыщенным раствором пикриновой кислоты.
6. При прибавлении двух капель 15 %-ного раствора гидроксида натрия к 0,1 %-ному раствору препарата появляется желтое окрашивание.
7. При сплавлении с кристаллическими едкими щелочами тиамин разрушается с образованием сульфидов, которые легко обнаружить с помощью раствора нитропруссид натрия. При этом появляется красно-коричневое окрашивание.

Препараты тиамин из растворов количественно осаждаются некоторыми осадительными (общееалкалоидными) реактивами (кремневольфрамовой, фосфорновольфрамовой, пикролоновой кислотами и др.). Реакция осаждения кремневольфрамовой кислотой рекомендуется для гравиметрического и фотонейфелометрического определения препаратов тиамин.

#### Количественное определение

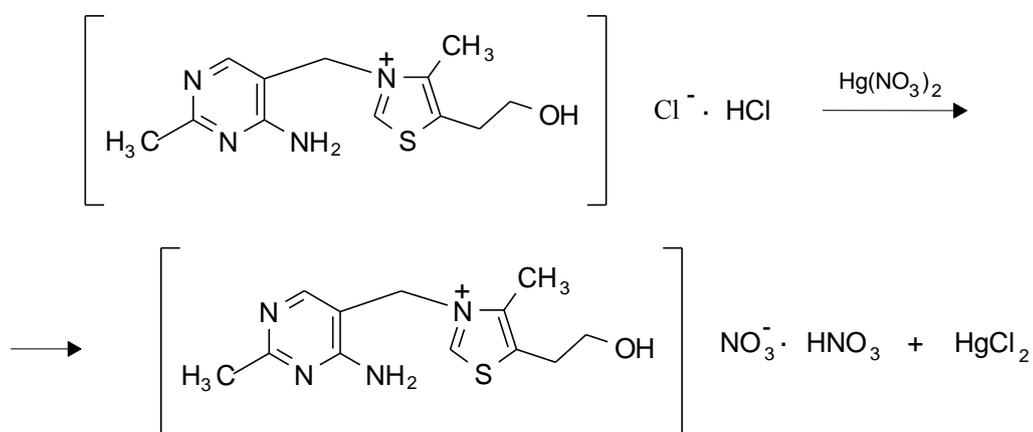
##### 1. Метод неводного титрования.

В качестве растворителя используют безводную уксусную кислоту, титрантом служит 0,1 М раствор хлорной кислоты, а индикатором является кристаллический фиолетовый:



2. Применяется *алкалометрический метод* определения тиамин хлорида с использованием индикаторов бромтимолового синего или фенолфталеина (титрант 0.1 М раствор гидроксида натрия).
3. Препараты тиамин можно определять по хлорид-иону *аргентометрически методом Фаянса* с использованием в качестве индикатора бромфенолового синего в присутствии разведенной уксусной кислоты, которую добавляют для создания необходимого рН.
4. *Меркуриметрический метод*

Определение тиамин хлорида в азотнокислой среде с индикатором дифенилкарбазидом или дифенилкарбазоном. Титрантом служит 0.1 М раствор нитрата ртути (II):



### Хранение

Препараты тиамин хранят в герметически закрытой таре, предохраняющей от действия света, исключаяющей контакт с металлами. Тиамин хлорид в темноте постепенно разлагается, особенно во влажной атмосфере. При повышении температуры разложение препаратов ускоряется.

### Применение

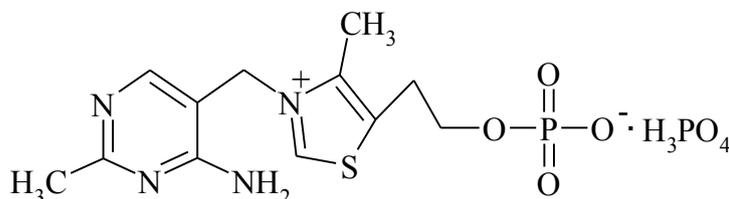
Тиамин хлорид назначают при нарушениях функции нервной системы. Вводят внутрь по 0,005 - 0,01 - 0,02 г или внутримышечно по 0,5 - 1,0 мл 2,5 %- или 5 %-ного раствора.

## ТЕМА VIII



### 8 Пиримидино-тиазоловые витамины - витамины группы В<sub>1</sub>

#### Фосфотиамин Phosphothiaminum



Кристаллический порошок кислого вкуса белого цвета со слабым характерным запахом.

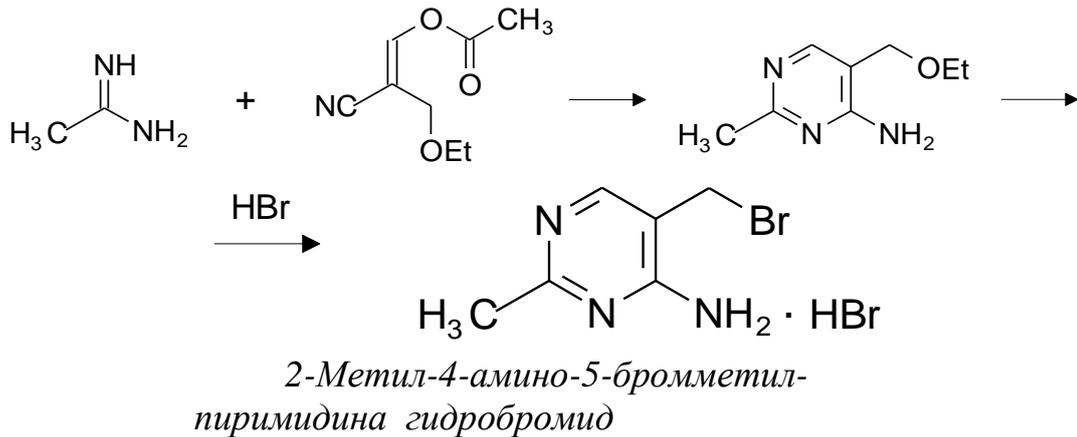
### Получение

Наличие спиртового гидроксила в молекуле тиамин позволило синтезировать его моно-, ди- и трифосфорные эфиры. Некоторые из этих

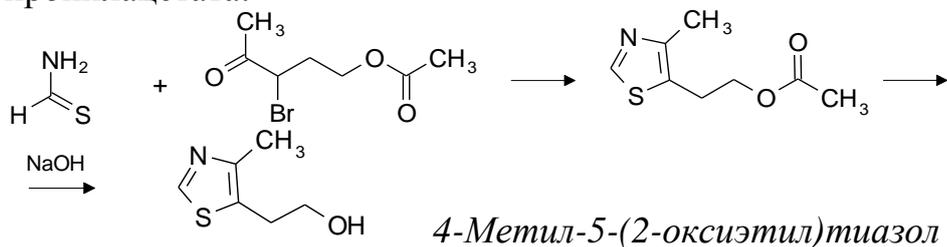
эфиров, например, тиаминдифосфат (кокарбоксилаза), выделены из дрожжей в 1937 г.

1. Синтез пиридинового цикла молекулы тиамина.
2. Синтез тиазольного цикла.
3. Связывание пиридинового цикла молекулы тиамина с тиазольным циклом.
4. Получение фосфорного эфира.

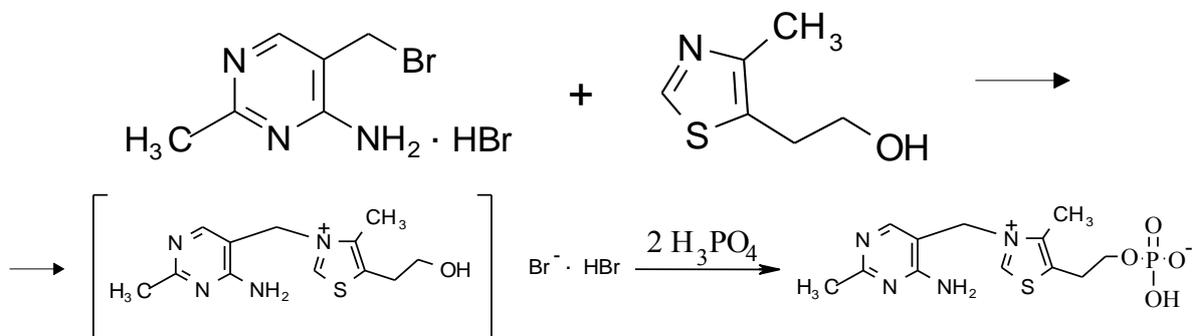
Синтез пиридинового цикла основан на конденсации ацетамида и *цис*- $\alpha$ -ацеток-симетилен- $\beta$ -этоксипропионитрила:



Тиазольный цикл синтезируют конденсацией тиоформамида и бромацетопропилацетата:



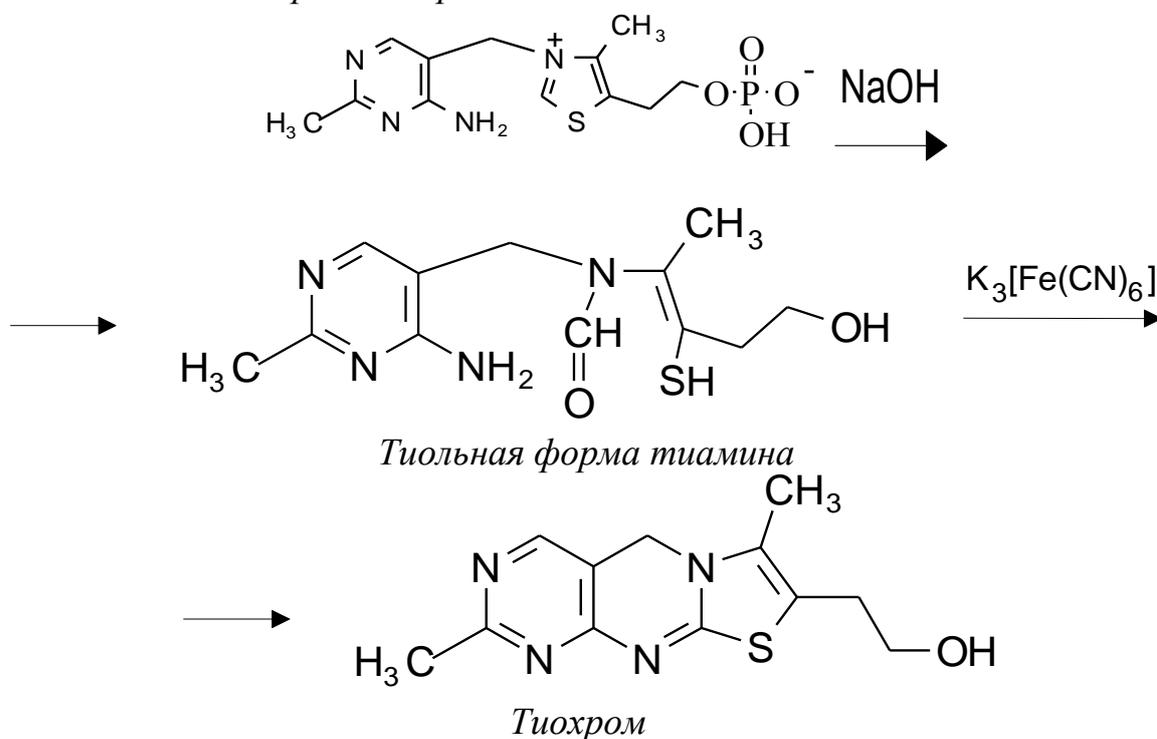
Связывают пиридиновою и тиазольную части в одну молекулу сплавлением полученных продуктов при 100-120 °С, либо нагреванием в органическом растворителе, например в бутиловом спирте, а далее обрабатывают двумя молями фосфорной кислоты:



Фосфотиамин легко растворим в воде, малорастворим в этиловом спирте и практически не растворим в других органических растворителях. Водные растворы препарата имеют слабокислую среду.

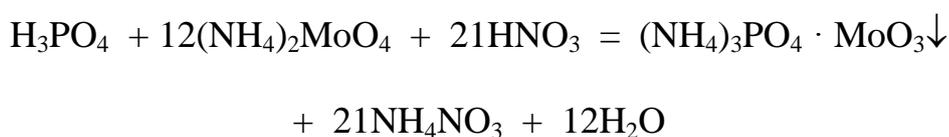
### Подлинность

1. ИК-спектроскопия. Фосфорные эфиры тиамин имеют свои четкие характерные полосы.
2. Идентифицируют препараты с помощью реакции, основанной на окислении тиамин в щелочной среде. Эта реакция известна под названием *тиохромной пробы*:



Тιοхром извлекают из водных растворов бутиловым или изоамиловым спиртом. Полученные спиртовые растворы при УФ-облучении имеют характерную синюю флюоресценцию, которая исчезает при подкислении и вновь возникает при подщелачивании.

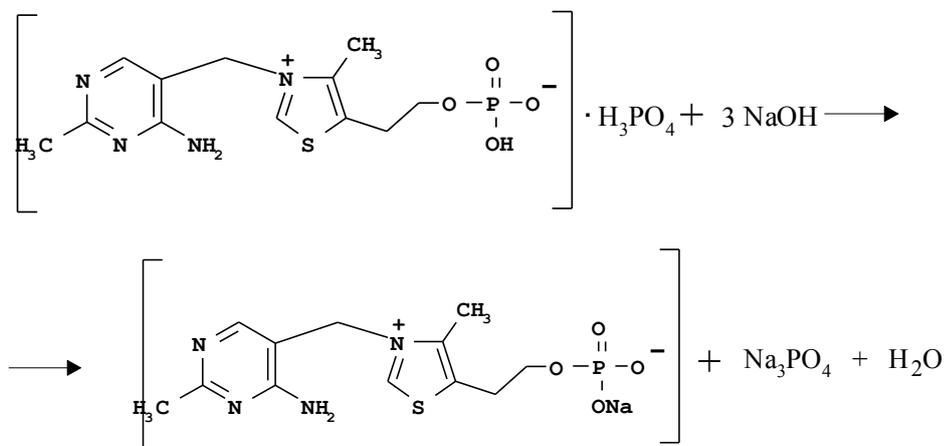
3. Общие реакции подлинности фосфотиамин основаны на обнаружении фосфора, содержащегося в составе молекул. Фосфотиамин дает положительную реакцию на фосфат ионы после растворения препарата в разведенной азотной кислоте. Его предварительно разрушают кипячением в течение 5 мин в концентрированной азотной кислоте до образования фосфат-ионов. В качестве реактива на фосфатионы используют раствор молибдата аммония, с которым образуется желтый кристаллический осадок:



### Количественное определение

### 1. Метод нейтрализации.

Содержание фосфотиамина устанавливают путем нейтрализации навески препарата 0,1 М раствором гидроксида натрия с использованием в качестве индикатора тимолфталеина. Процесс титрования основан на следующей реакции:



### Хранение

Хранят в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре. Кокарбоксылазы гидрохлорид для инъекций фасуют в ампулы по 0,05 г, которые запаивают и хранят в защищенном от света месте при температуре не выше +5 °С. Предельно допустимый срок хранения один год.

### Применение

Кокарбоксылазы гидрохлорид для инъекций назначают внутримышечно и внутривенно по 0,05 - 0,1 г при нарушениях деятельности сердечно-сосудистой системы и коронарного кровообращения.