

МФБГОУ ВО

«Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

СПЕЦИАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

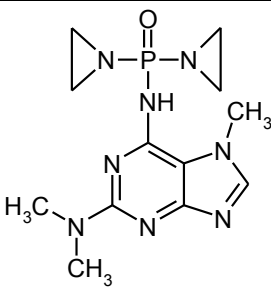
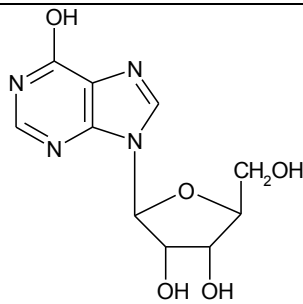
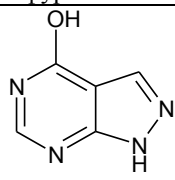
СОЛОДУНОВА Г.Н.

СИНТЕТИЧЕСКИЕ 6,9-ЗАМЕЩЕННЫЕ ПУРИНА
ПРОИЗВОДНЫЕ ГУАНИНА

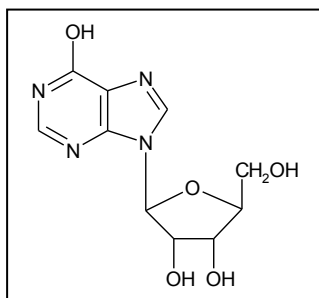
Занятие 10
VIII семестр

Дисциплина
СПЕЦИАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
VIII СЕМЕСТР
ЗАНЯТИЕ № 10
СИНТЕТИЧЕСКИЕ 6,9-ЗАМЕЩЕННЫЕ ПУРИНА

Свойства 6,9-замещенных пурина

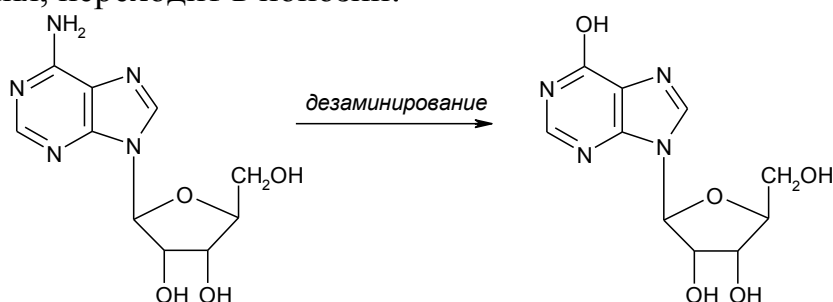
Лекарственное вещество	Химическая структура	Описание
Фопурин - 2-диметиламино-6-диэтилениминофосфамид-до-7-метилпурин		бесцв. кристаллы, раств. в воде, 95%-ном этаноле, легко раств. в хлороформе. Р-ры иногда опалесцируют.
Inosine — инозин (Рибоксин)	 9-β-D-рибофуранозилгипоксантин	Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Удельное вращение от -47° до -54° (1%-ный водный раствор)
Allopurinol — аллопуринол	 4-гидрокси-4Н-пиразоло[3,4-d]пиримидин	Белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок

ИНОЗИН (рибоксин)



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

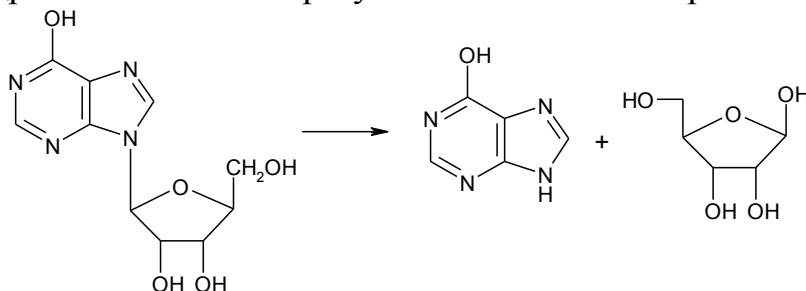
Инозин продуцируют микроорганизмы *Bacillus subtilis*. Его получают микробиологическим синтезом. Затем с помощью физико-химических методов выделяют из нативных растворов. Инозин, посредством дезаминирования, переходит в инозин:



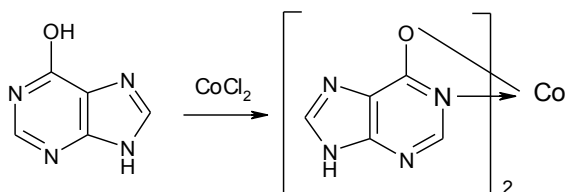
Инозин представляет собой порошок белого с желтоватым оттенком цвета. Инозин в воде медленно и умеренно растворим, очень мало в этаноле.

Подлинность

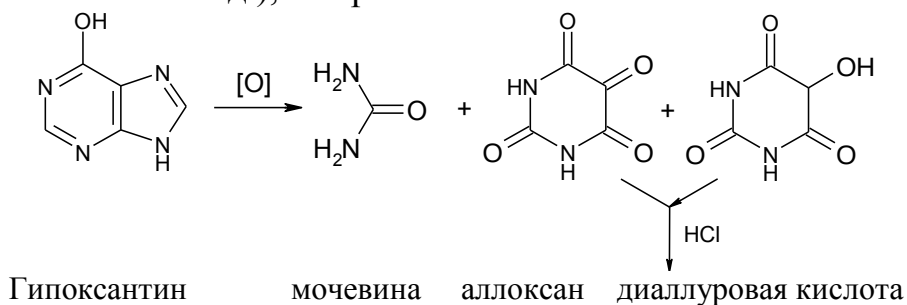
При гидролизе инозина образуется гипоксантин и рибоза.



- Гипоксантин можно определить по получению окрашенных **солей тяжёлых металлов:**

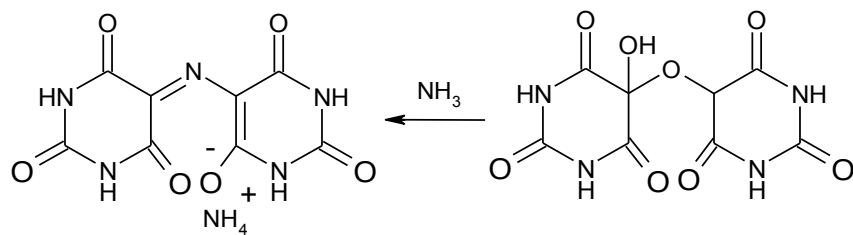


- Общей реакцией подлинности, рекомендуемой ГФ для испытания препаратов пуриновых алкалоидов, является **мурекидная проба**. Она основана на разрушении молекулы пурина при нагревании с окислителем (например, с пероксидом водорода, бромной водой, азотной кислотой и т.д.), с образованием:



Взаимодействуя между собой, они образуют производные аллоксантина, которые под действием избытка раствора аммиака

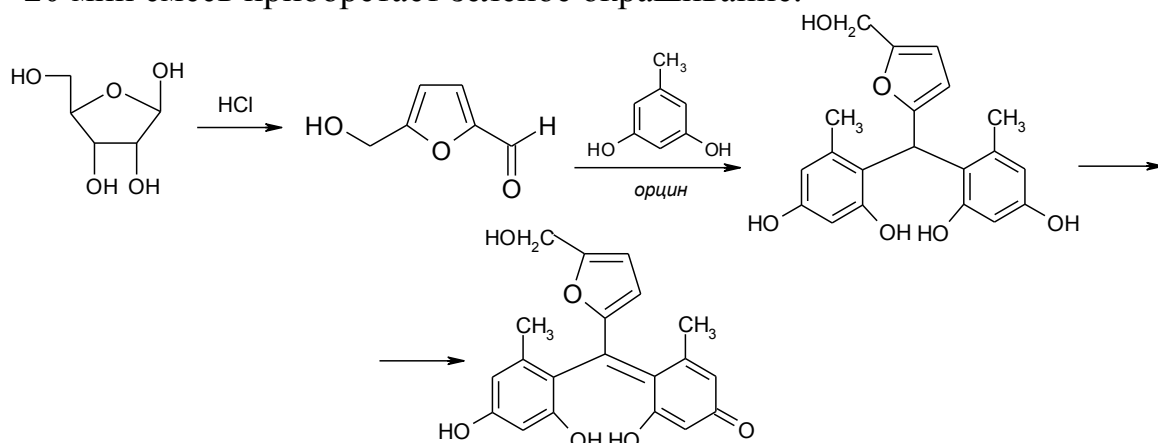
приобретают пурпурно-красное окрашивание. Окраска обусловлена появлением аммонийной соли пурпуровой кислоты.



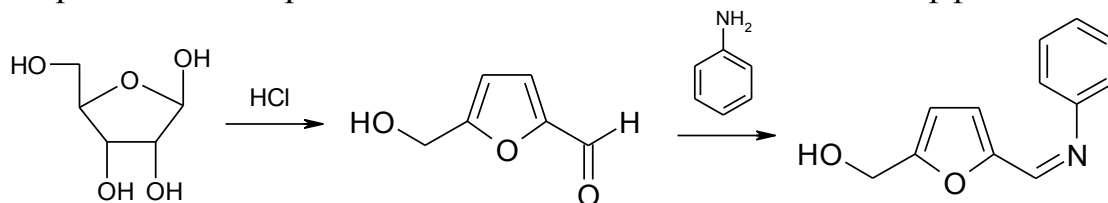
аллоксантин

Пурпурно-красное окрашивание аммониевой соли диаллуровой кислоты исчезает при добавлении нескольких капель гидроксида натрия.

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



- Остаток рибозы можно обнаружить реакцией **конденсации с анилином** с образованием окрашенного соединения – основания Шиффа:



- УФ-спектроскопия. Инозин (рибоксин) – УФ-спектр водного раствора имеет максимум поглощения при длине волны 249 нм, а щелочного раствора – при 253 нм.
- Удельное вращение рибоксина $[\alpha]_{47-54^\circ\text{C}}$ (1%, вод).

Доброкачественность

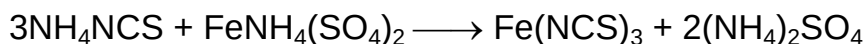
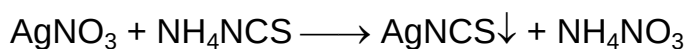
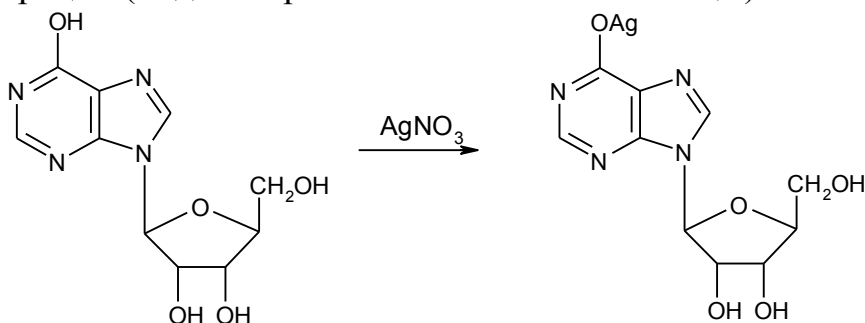
- В инозине содержание гипоксантина и гуанозина не должно превышать 2,5%, а неидентифицированных примесей — 0,5%. Их содержание определяют методом ВЭЖХ, используя в качестве подвижной фазы

0,02 М раствор гидрофосфата динатрия. Расчеты выполняют по площадям пиков указанных примесей.

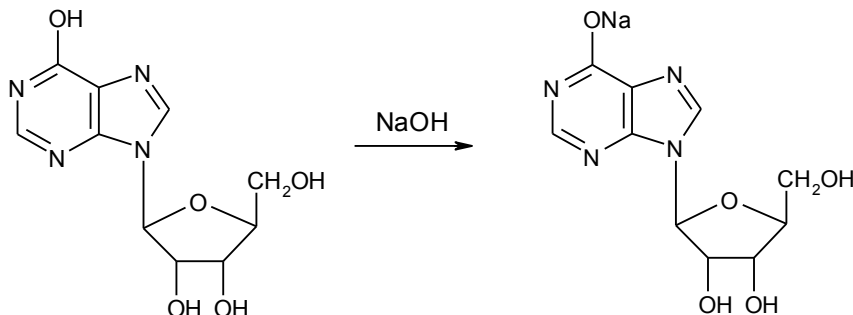
- Величина pH водного раствора рибоксина должна быть от 4,5 до 6,0 (потенциометрически),
- Содержание воды в рибоксине (метод Фишера) не более 1,5 %.

Количественное определение

1. Количественное определение инозина **обратным аргентометрическим методом** основано на образовании однозамещенной 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):



2. Количественное определение инозина выполняют методом неводного титрования, используя в качестве растворителя диметилформамид. Титрантом служит 0,1 М раствор гидроксида натрия в смеси метанола и бензола. Индикатором является тимоловый синий. Конечную точку можно устанавливать потенциометрическим методом. Образуется натриевая соль инозина:



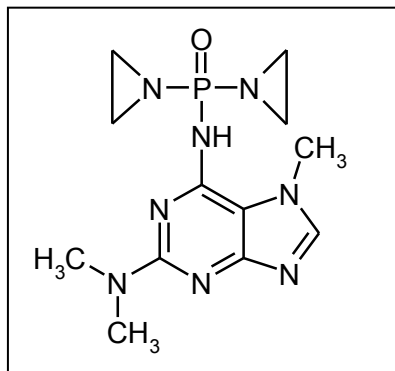
Хранение применение

Инозин следует хранить по списку Б, в сухом, защищенном от света месте, при комнатной температуре.

Инозин применяют для лечения сердечно-сосудистых заболеваний (ишемия, инфаркт миокарда, нарушение ритма и др.) в виде таблеток, покрытых оболочкой по 0,2 г.

ФОПУРИН

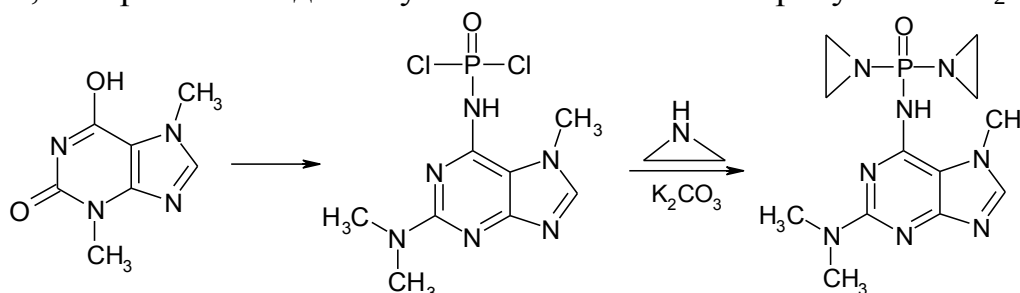
2-диметиламино-6-диэтилениминофосфами-до-7-метилпурин



Фопурин – белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок, Фопурин растворим в воде, этаноле и нерастворим в спирте, эфире и хлороформе.

Получение

Получают фопурин многостадийным синтезом из теобромина через промежуточное образование дихлорангидрида 2-диметиламино-7-метилпури-нил-6-амидофосфорной кислоты, которая взаимодействует с этиленимином в присутствии K_2CO_3 :



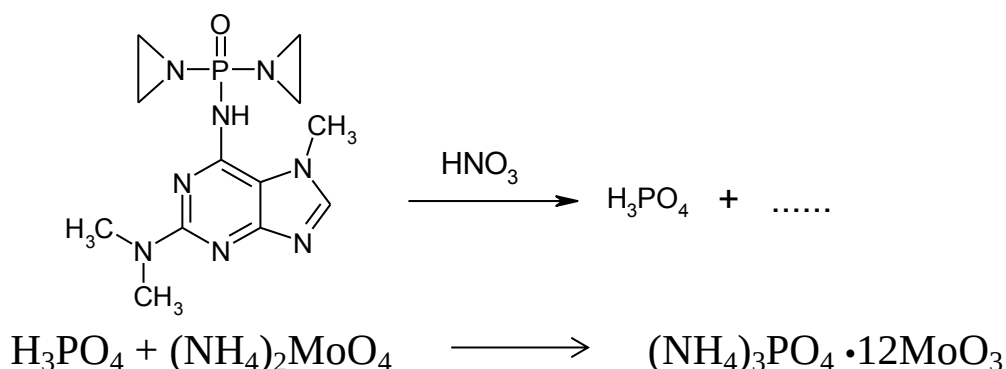
Подлинность

1. Обнаружение диметиламина после щелочного гидролиза

При нагревании с 30% раствором натрия гидроксида фопурин выделяет диметиламина $NH(CH_3)_2$, открываемый по запаху или по посинению мокрой красной лакмусовой бумажки.

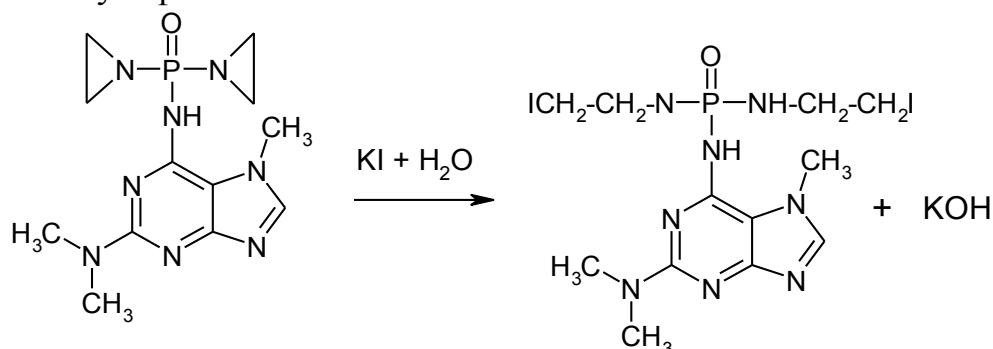
2. Обнаружение фосфорной кислоты

Фопурин открывают реакцией на фосфорную кислоту, которая выделяется при нагревании препарата с кислотой азотной разведённой, и при последующем осаждении раствором аммония молибдата; образуется осадок жёлтого цвета:



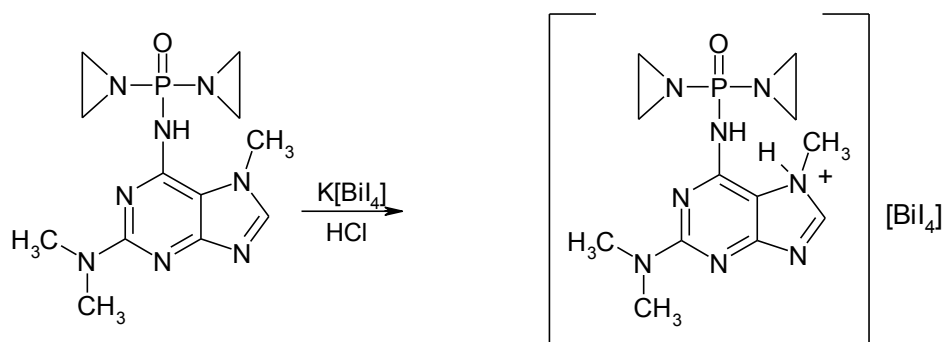
3. Реакция на этиленимино-группы

Присутствие этиленимино-группы в фопурине устанавливают реакцией с окисленным натрием нитропруссидом, по окрашиванию фильтровальной бумаги, смоченной морфолином или пиперидином, а также по щелочной реакции с раствором калия йодида или калия тиоцианата, либо натрия тиосульфата.



4. Взаимодействие с общеалкалоидными реактивами

При взаимодействии с общеалкалоидными реактивами в кислой среде (Майера, драгендорфа, кислоты пикриновой...) образуются разноокрашенные осадки:

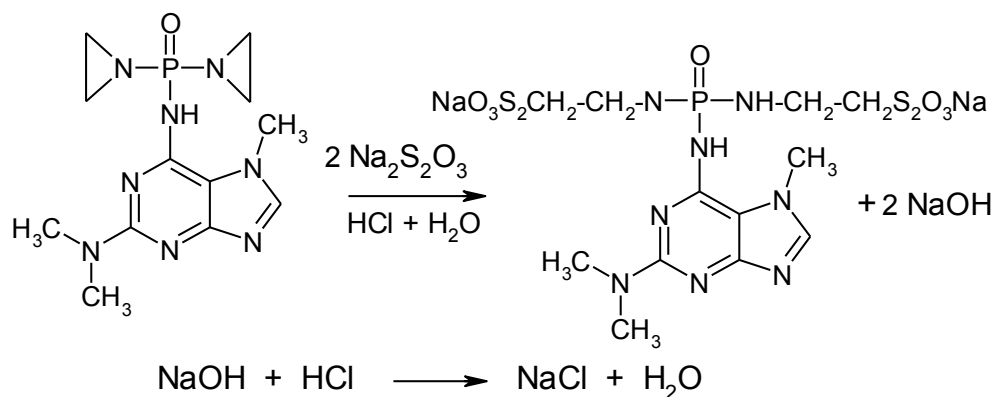


Количественное определение

1. Спектрофотометрическое определение.

2. Косвенная нейтрализация.

Методом косвенной нейтрализации на основе реакции с раствором натрия тиосульфата в кислой среде:



К эквивалентному количеству выделившегося натрия гидроксида прибавляют избыточное количество кислоты хлороводородной, избыток которой затем оттитровывают натрия гидроксидом с индикатором метиловым-оранжевым.

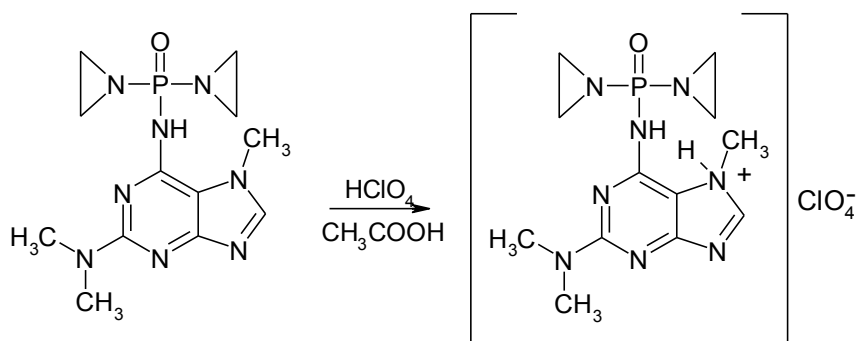
3. Титрование в неводной среде.

Фопурин – определяются кислотно-основным титрованием в неводной среде по основным свойствам (т.к. они преобладают).

Растворителем может быть:

- ледяная CH_3COOH ;
- ледяная CH_3COOH + бензол;
- уксусный ангидрид;
- смесь уксусного ангидрида и CH_3COOH ;
- муравьиная к-та.

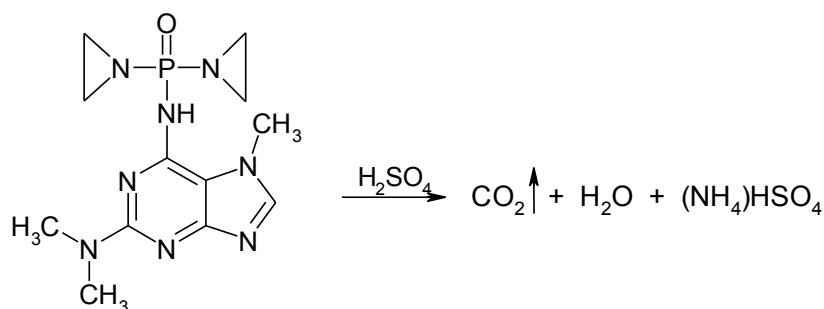
Рабочий раствор – кислота хлорная HClO_4 , которая готовится на ледяной CH_3COOH .



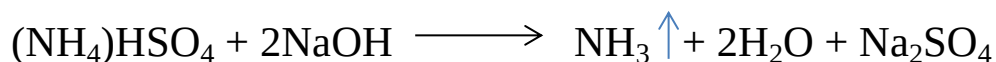
Индикатор - кристаллический фиолетовый, который тоже готовится на CH_3COOH .

4. Метод Кьельдаля.

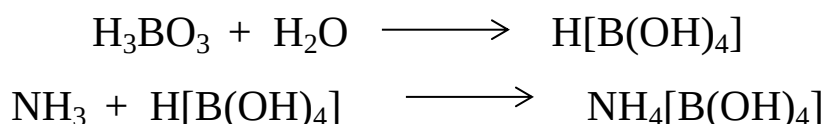
Метод включает несколько последовательно выполняемых стадий. Вначале осуществляют минерализацию образца нагреванием с концентрированной серной кислотой:



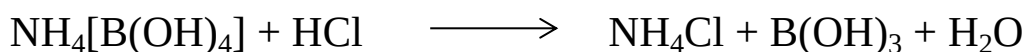
Далее идет разложение $(\text{NH}_4)\text{HSO}_4$ гидроксидом натрия и отгонка образующегося аммиака в приемник:



Затем образовавшийся аммиак взаимодействует в приемнике с борной кислотой с образованием тетрагидроксидбората аммония:



Далее собранный отгон, содержащий весь образовавшийся аммиак в виде тетрабората аммония, титруют 0,1 М раствором соляной кислоты:



Индикатор – метиловый оранжевый. В точке эквивалентности жёлтая окраска титруемого раствора переходит в красную. Для повышения точности анализа параллельно выполняют контрольный опыт.

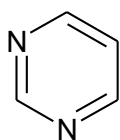
Хранение применение

Фопурин хранят по списку А, в сухом, защищённом от света месте, при температуре не выше $+10^\circ\text{C}$, в хорошо укупоренной таре тёмного стекла, в защищённом от света месте, так как легко окисляется под действием УФ-света.

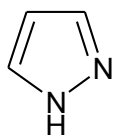
Фопурин содержит алкилирующие группы и, в то же время, близок по строению к антиметаболитам пуринового обмена. Благодаря алкилирующей и антиметаболитной активности фопурин влияет на клетки на всех стадиях клеточного цикла и является противоопухолевым препаратом широкого спектра действия. Малотоксичен. Применяется при остром и хронических лейкозах, кожных ретикулезах (обозначение опухолей системы крови), ретинобластоме (редкий вид рака глаза), псориазе.

ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗОЛОПИРИМИДИНА АЛЛОПУРИНОЛ

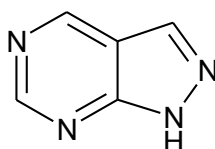
Пиразолопиримидин представляет собой гетероциклическую систему, очень близкую по химическому строению с 9Н-пурином:



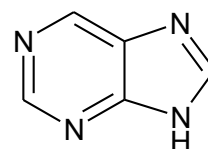
пиримидин



пиразол



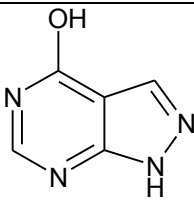
4Н-пиразоло[3,4-*d*]
пиримидин



9Н-пурин

Иными словами, производные 4Н-пиразоло [3,4-*d*] пиримидина являются изостерами 9Н-пурина. Исследования в этом ряду привели к созданию лекарственного вещества аллопуринола (табл. 67.5).

Свойства аллопуринола

Лекарственное вещество	Химическая структура	Описание
Allopurinol — аллопуринол	 4-гидрокси-4Н-пиразоло[3,4- <i>d</i>]пиримидин	Белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок

Аллопуринол очень мало растворим в воде и этаноле, практически нерастворим в хлороформе и эфире, умеренно растворим в диметилсульфоксиде, легко растворим в растворах гидроксидов щелочных металлов.

Подлинность аллопуринола устанавливают

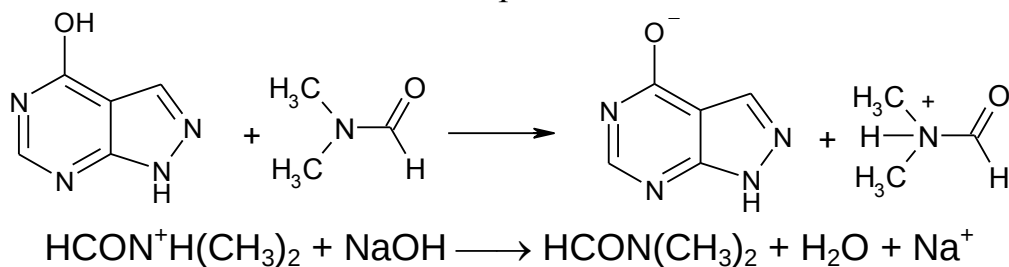
- по ИК-спектру, снятому после прессования в таблетках с бромидом калия в области $4000-400\text{ см}^{-1}$, сравнивая его с прилагаемым к ФС рисунком спектра.
- УФ-спектр поглощения 0,001%-ного раствора в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты должен иметь максимум светопоглощения при 250 нм и минимум — при 231 нм. Отношение оптических плотностей при 231 и 250 нм должно быть в пределах от 0,52 до 0,62. По указанным характеристикам устанавливают наличие светопоглощающих примесей. УФ-спектр 0,001%-ного раствора аллопуринола в 0,1 М растворе гидроксида натрия должен иметь максимум поглощения при 242 нм и плечо — от 276 до 280 нм.
- С реактивом Несслера в щелочной среде аллопуринол после нагревания до кипения образует желтый хлопьевидный осадок соли ртути (писать).
- Подлинность аллопуринола устанавливают аналогично гипоксантину — образование солей тяжёлых металлов, мурексидная проба. (писать) (см. инозин).

Наличие посторонних примесей (не более 0,2%) устанавливают методом ТСХ на пластинках со слоем силикагеля F_{254} восходящим методом в системе растворителей вода-*n*-бутанол-уксусная кислота (5:4:1), проявляют в УФ-свете при 254 нм.

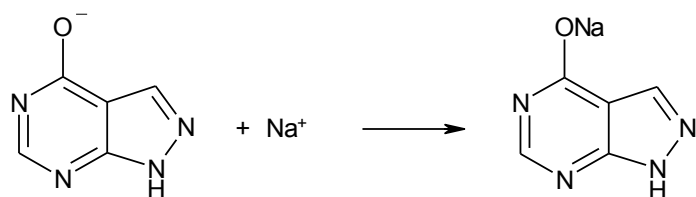
Количественное определение

1. Метод нейтрализации в неводной среде.

Количественное определение выполняют подобно барбитуратам (см.) методом неводного титрования, используя в качестве растворителя диметилсульфоксид или диметилформамид. ДМФА усиливает кислотные свойства аллопуринола. Титрантом служит 0,1 М раствор гидроксида натрия в смеси метанола и бензола. Индикатором является тимоловый синий.



Так же, как при титровании барбитуратов, образуется натриевая соль аллопуринола:



Конечную точку можно устанавливать потенциометрическим методом.

Применение

Лечение и профилактика подагры и гиперурикемии различного генеза (в т.ч. в сочетании с нефролитиазом, почечной недостаточностью, уратной нефропатией). Повышенное образование уратов вследствие ферментных нарушений. Профилактика острой нефропатии при цитостатической и лучевой терапии опухолей и лейкозов, а также при полном лечебном голодании.

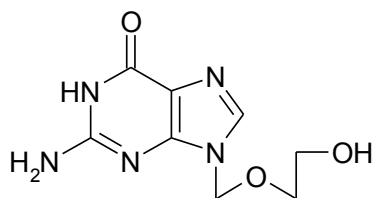
Назначают в виде таблеток по 0,1 г для профилактики и лечения подагры.

Хранение

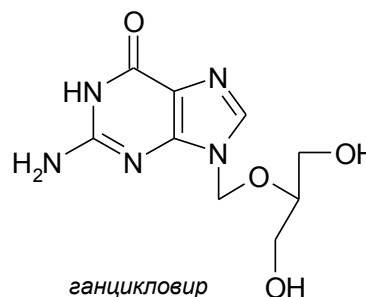
Хранят аллопуринол по списку Б, в хорошо укупоренной таре, в защищенном от света месте.

ПРОИЗВОДНЫЕ ГУАНИНА

АЦИКЛОВИР ГАНЦИКЛОВИР

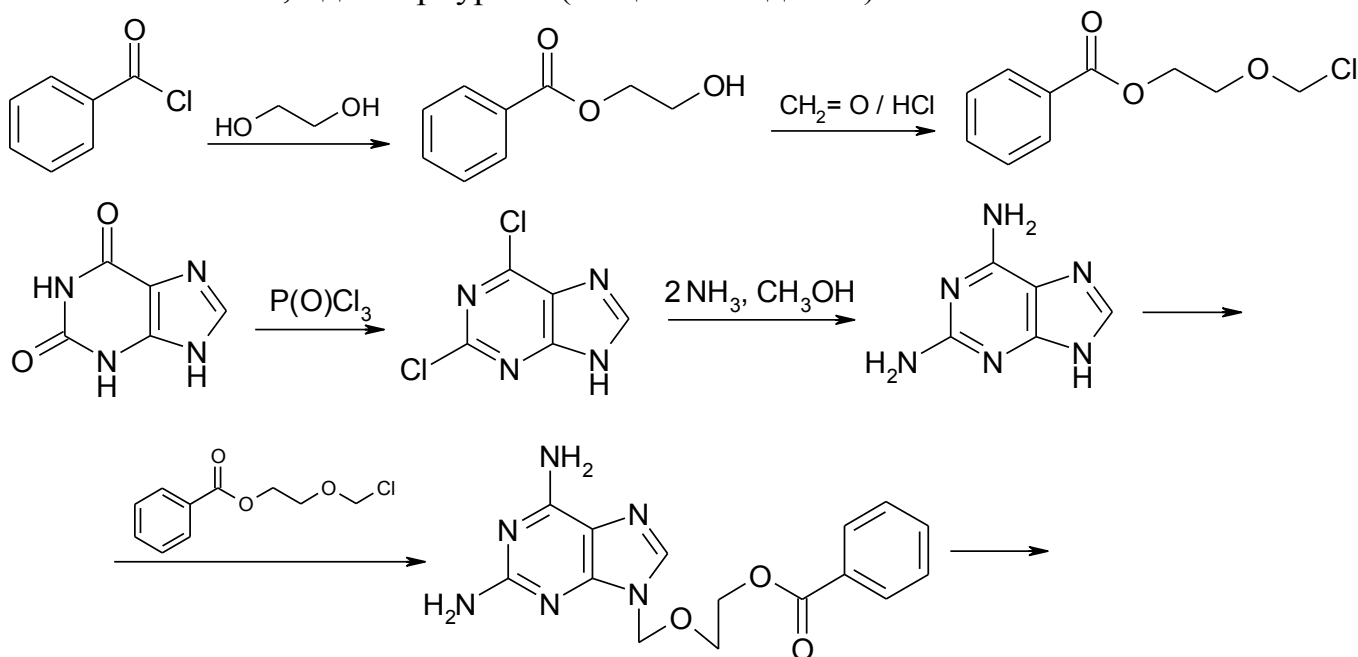


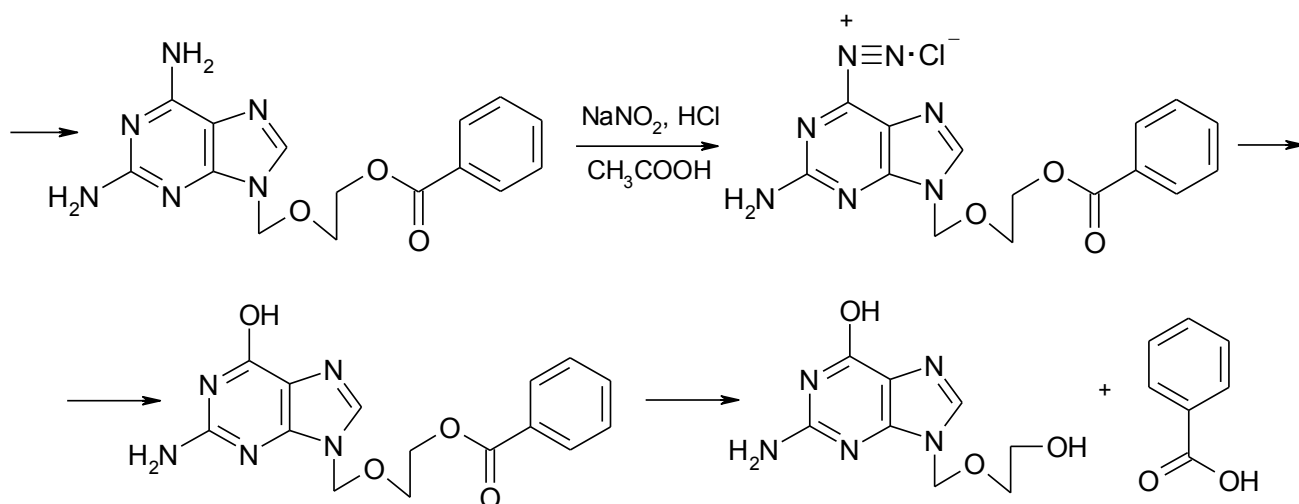
ацикловир



ганцикловир

Первый опубликованный метод синтеза ацикловира был основан на использовании 2,6-дихлорпурина (общий выход 12%).





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 pH 11,0.

СВОЙСТВА АЦИКЛОВИРА:

Температура плавления: 256,5 – 257 °C.

Растворимость: 0,2% в воде и 0,1н HCl при 20 °C.

Стабильность: в воде и 0,1н HCl при 37 °C не образует продуктов разложения в течение недели.

В 1н HCl при 37 °C происходит полный гидролиз в течение недели.

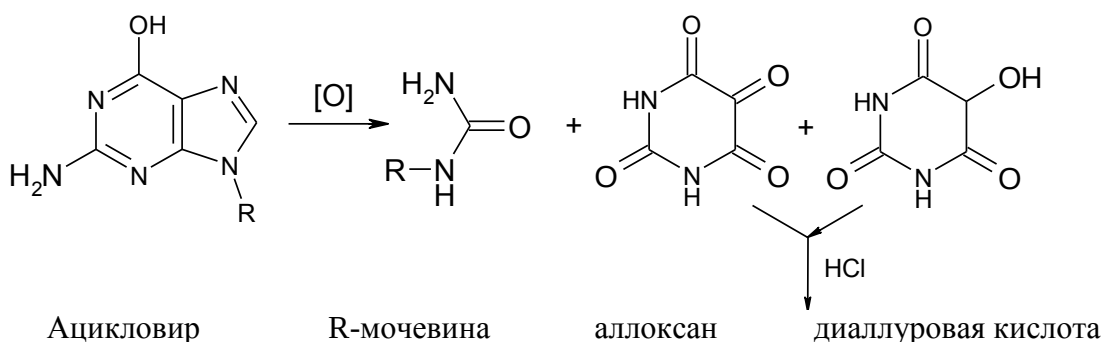
Подлинность

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.

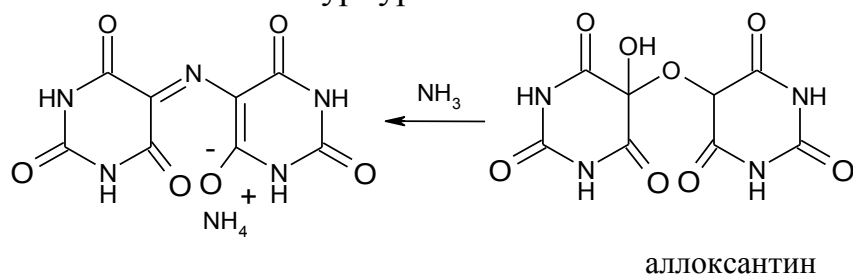
На тонкослойной хроматограмме ацикловира пятно основного вещества должно быть на уровне пятна стандартного образца. $R_f = 0,44$ (Silufol UV-254, хлороформ – метанол – вода = 20 : 14 : 1).

➤ Мурексидная проба

Реакция основана на разрушении молекулы ацикловира при нагревании с окислителем (например, с пероксидом водорода, бромной водой, азотной кислотой и т.д.), с образованием:



Взаимодействуя между собой, они образуют производные аллоксантина, которые под действием избытка раствора аммиака приобретают пурпурно-красное окрашивание. Окраска обусловлена появлением аммонийной соли пурпуровой кислоты.

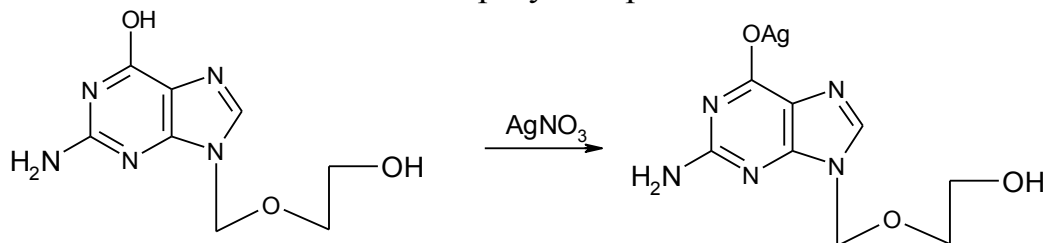


Пурпурно-красное окрашивание аммониевой соли диаллуровой кислоты исчезает при добавлении нескольких капель гидроксида натрия.

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%).

➤ Образование солей тяжёлых металлов

С солями тяжёлых осадков образует окрашенные осадки



Количественное определение

1. Количественное определение ацикловира и ганцикловира выполняют методом ВЭЖХ. Ацикловир хроматографируют на колонке с обращенной фазой.
2. Количественное определение ацикловира выполняют методом неводного титрования, используя в качестве растворителя диметилформамид. Титрантом служит 0,1 М раствор гидроксида

натрия в смеси метанола и бензола. Индикатором является тимоловый синий. Конечную точку можно устанавливать потенциометрическим методом. Образуется натриевая соль ацикловира (реакцию писать).

Хранение, применение

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.