

МФБГОУ ВО

«Волгоградский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

СПЕЦИАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

СОЛОДУНОВА Г.Н.

ПУРИНОВЫЕ АЛКАЛОИДЫ

Занятие 13

VIII семестр

Дисциплина
СПЕЦИАЛЬНАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
VIII СЕМЕСТР

ЗАНЯТИЕ № 13

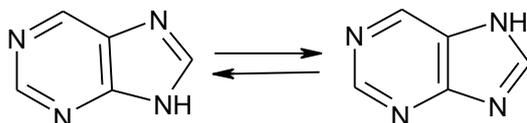
ПУРИНОВЫЕ АЛКАЛОИДЫ

ВОПРОСЫ К ЗАНЯТИЮ

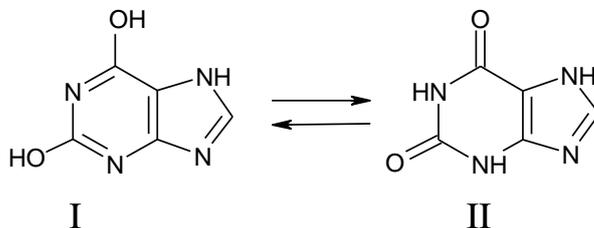
1. Общая характеристика пуриновых алкалоидов. Выделение пуриновых алкалоидов из природного сырья.
2. Синтетические способы получения пуриновых алкалоидов и их солей.
3. Подлинность пуриновых алкалоидов и их солей.
4. Доброкачественность и количественная оценка пуриновых алкалоидов.
5. Хранение, применение.

1. Общая характеристика пуриновых алкалоидов
Выделение алкалоидов из природного сырья

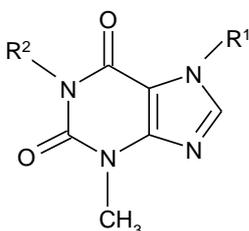
Пурин – конденсированная гетероциклическая система, состоит из циклов: пиримидина и имидазола. Химическую формулу этого гетероцикла изображают в виде изомеров 9Н-пурина и 7Н-пурина:



Пуриновые алкалоиды являются производными ксантина (2,6-дигидроксипурина), который существует в лактимной (I) и лактамной (II) форме:



В медицинской практике наиболее широко применяются пуриновые алкалоиды: кофеин, теобромин, теofilлин. Общая формула пуриновых алкалоидов:



Где R^1 и $R^2 = H$ или CH_3 .

Кофеин впервые был открыт Рунге в 1819г. Он содержится в зёрнах кофе (*Coffea arabica*), листьях чая (*Thea sinensis*) и других растениях. В небольших количествах в чае содержится теофиллин, который был открыт Косселем в 1889г. Теобромин впервые выделен и изучен русским ученым А.А. Воскре-сенским в 1842г.

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

Выделение из природного сырья

Известно несколько способов получения кофеина.

Выделение кофеина из природного материала.

Один из методов основан на противоточной экстракции. Водный раствор очищают от примесей, осаждают балластные вещества с помощью солей свинца, кальция, магния. Фильтрат выпаривают, полученный кофеин перекристаллизовывают из водных растворов.

Аналогичным способом выделяют из бобов какао теобромин либо в виде основания, либо в виде кальциевой растворимой в воде соли.

Значительно больший выход дают способы выделения пуриновых алкалоидов, основанные на использовании *адсорбционной хроматографии*. Один из таких способов получения кофеина разработан в 1952 г. Н.А. Измайловым, Ю.В. Шостенко, В.Д. Безуглым. Сущность его заключается в адсорбции кофеина из водных растворов с последующей десорбцией хлороформом или дихлорэтаном.

Способ 1. Получение кофеина из чая.

К тонко измельченному чаю (50,0 чайной пыли) прилить взвесь (25,0 г MgO в 150 мл воды), 250 мл воды и кипятить в течение 10-15 минут. Водный раствор декантировать через тампон ваты, кипятить еще 2 раза с новыми порциями воды по 150 мл. Объединенную водную вытяжку подкисляют 25 мл разбавленной H₂SO₄ (проверить на бумаге конго кислотность среды, pH = 3) и концентрируют в выпарительной чашке на водяной бане до 1/3 объема.

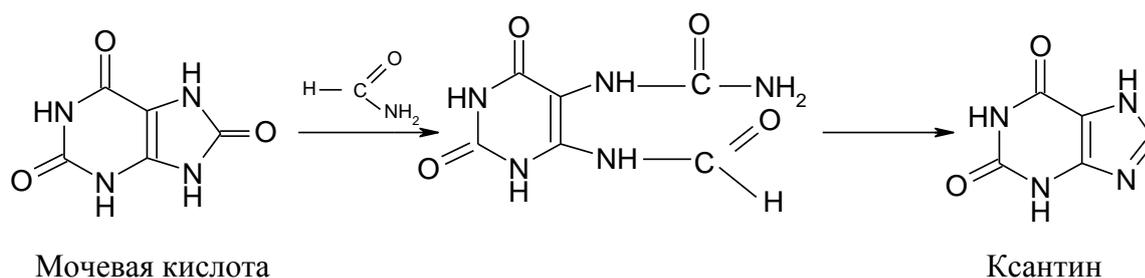
Горячий раствор профильтровать через складчатый фильтр и 5 раз экстрагировать хлороформом, расходуя на каждое экстрагирование по 30 мл хлороформа, хлороформную вытяжку промыть сначала 25 мл 5% раствора щелочи, а затем водой. Растворитель отгоняют на водяной бане. При t = 61° начинает кипеть хлороформ (в воздухе появляется характерный запах хлороформа); при t = 100°C начинает испаряться вода. Сухой остаток растворяем в 50 мл кипящей воды, раствор фильтруем и опять ставим выпаривать (кофеин очень легко растворим в кипящей воде). Кофеин перекристаллизовывают из 8-10 мл горячей воды. Выход 0,8 -1,0 г. При контроле качества особое внимание уделяется проверке на кислотность и щелочность, посторонние алкалоиды и органические смеси.

Способ 2. Получение кофеина из чая.

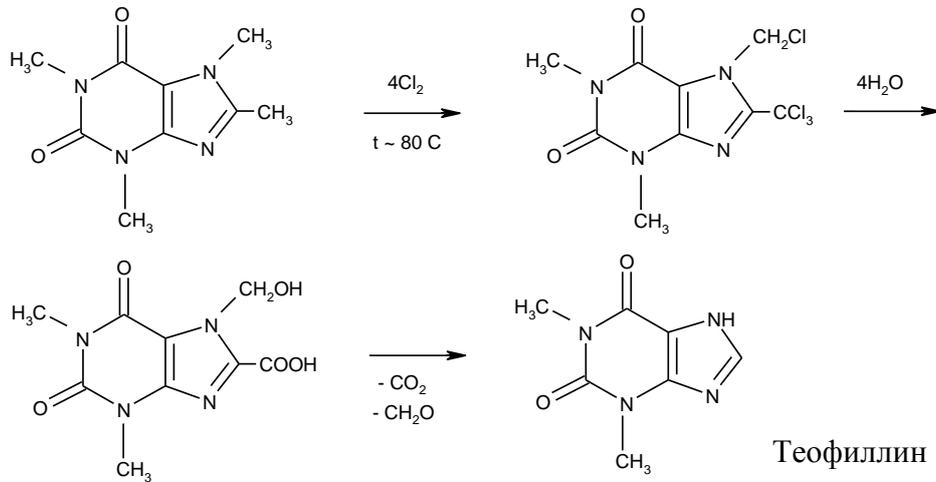
В насадку аппарата Сокслета с колбой емкостью 250—300 мл помещают 50—70 г тонко измельченного чая, завернутого в 3 слоя марли. В колбу помещают примерно 100 мл этилового спирта (в зависимости от объема насадки Сокслета и количества чая). Экстракцию при кипячении («кипелки»!) проводят до тех пор, пока спиртовой экстракт, стекающий из насадки Сокслета в колбу, не станет почти бесцветным (8—10 циклов). Полученный экстракт упаривают на ротационном испарителе до сиропообразной консистенции. К остатку прибавляют суспензию 40 г MgO в 200 мл воды, тщательно всё перемешивают и выливают в фарфоровую чашку для выпаривания жидкостей. Чашку помещают на плитку, нагревательная поверхность которой накрыта асбестовыми одеялом или шнуром, и упаривают воду, периодически помешивая содержимое шпателем. Оставшуюся густую массу переносят в стакан, прибавляют 200 мл воды и кипятят 20 мин. Полученную смесь охлаждают до $\sim 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера. Процедуру кипячения осадка с водой и последующую фильтрацию повторяют еще два раза, после чего осадок отбрасывают. Объединенный водный фильтрат упаривают в фарфоровой чашке примерно до 1/3—1/4 от его начального объема. Если при упаривании наблюдается образование хлопьевидного осадка, его отфильтровывают на воронке Бюхнера. После охлаждения водного раствора до комнатной температуры, его помещают в делительную воронку и экстрагируют хлороформом или хлористым метиленом (5 × 25 мл). Объединенный экстракт, окрашенный в светло- или темно-желтый цвет, промывают в делительной воронке 15 мл 5 %-го водного раствора NaOH, затем 30 мл воды и сушат безводным Na₂SO₄. Осушитель отфильтровывают, раствор упаривают и получают 1—2 г технического кофеина, который очищают перекристаллизацией из спирта или воды. Для этого на 1 г кофеина берут 10 мл спирта или воды.

2. Синтетические способы получения Пуриновых алкалоидов и их солей

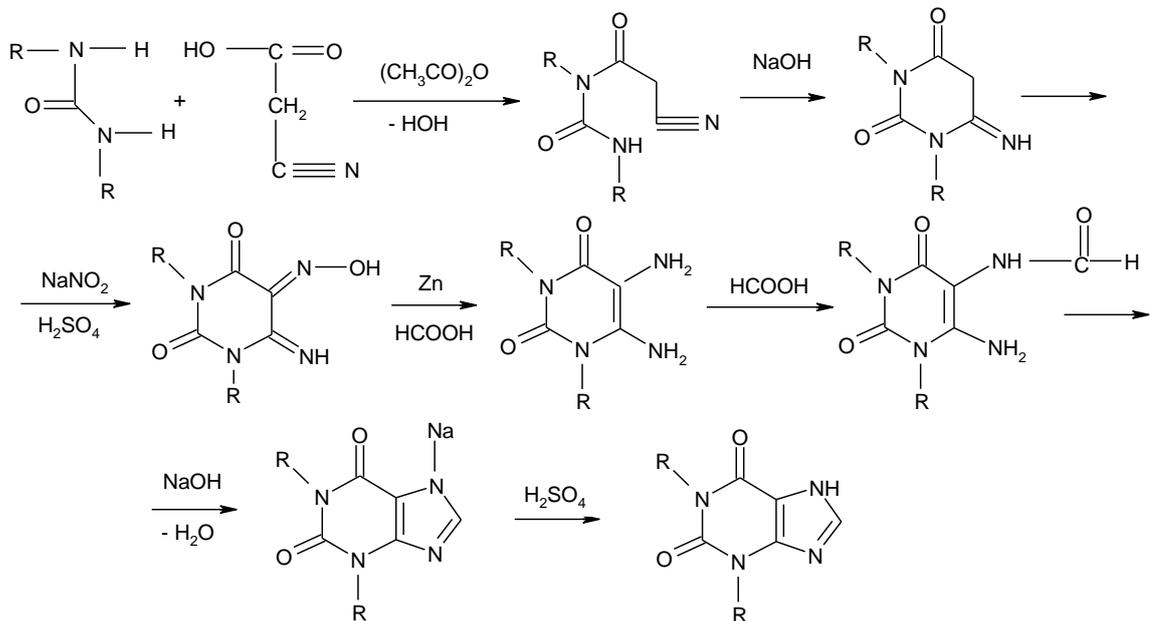
Получения пуриновых алкалоидов отличаются более высокой экономичностью и доступностью исходного сырья. Таким сырьём является мочева кислота, которую предварительно синтезируют или извлекают водой из экскрементов птиц (гуано), где её количество достигает до 25%. Для того, чтобы получить кофеин и теобромин, предварительно из мочева кислоты при действии формамида синтезируют ксантин:



При получении теофиллина промежуточным продуктом является тетрахлорпроизводное 8-метилкофеина:



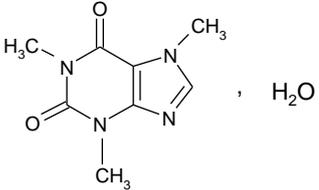
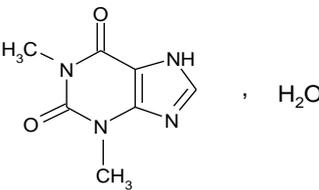
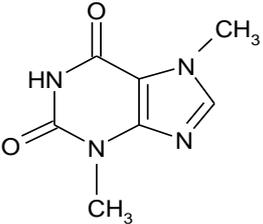
Способ, основанный на использовании циануксусной кислоты, разработан Траубе и заключается в полном синтезе пуриновых алкалоидов. Из многочисленных вариантов наиболее экономичным является использование циануксусной кислоты и 1,3-диметилмочевины (теофиллин, кофеин), метилмочевины (теобромин). Схема синтеза теофиллина и кофеина заключается в следующем:



В ГФ включены три препарата пуриновых алкалоидов: **кофеин, теобромин и теофиллин** (см. табл.1).

Таблица №1.

Свойства препаратов пуриновых алкалоидов.

Препарат	Химическая формула	Описание
Coffeinum – кофеин	 1,3,7-Триметилксантин	Белые игольчатые кристаллы или белый порошок без запаха. T _{пл} 234-238 °С
Theophyllinum – теofilлин	 3,7-Диметилксантин	Белый кристаллический порошок без запаха
Theobrominum – теобромин	 1,3-Диметилксантин	Белый кристаллический порошок без запаха. T _{пл} 271-274 °С

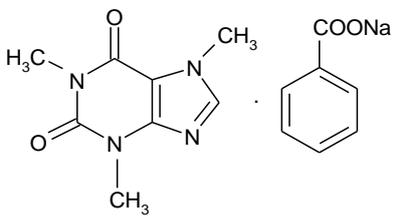
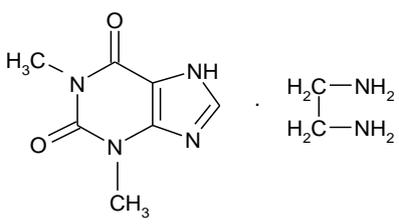
Препараты пуриновых алкалоидов представляют собой белые кристаллические вещества без запаха. Кофеин на воздухе выветривается, а при нагревании возгоняется.

Препараты отличаются друг от друга по растворимости. Все пуриновые алкалоиды плохо растворимы в воде. Кофеин в холодной воде медленно растворим (1:60), теofilлин – мало растворим, теобромин – практически нерастворим. В горячей воде кофеин и теofilлин легко растворимы, теобромин – мало растворим. В этаноле кофеин трудно растворим. Теofilлин в этаноле, хлороформе – мало растворим, а теобромин практически нерастворим. Теofilлин и теобромин растворимы в разведённых растворах кислот и щелочей. Ввиду наличия незамещённых атомов водорода в положении 1 и 7 растворении в щелочах при происходит образование солей.

В ГФ включены также препараты двойных солей пуриновых алкалоидов: кофеин-бензоат натрия и эуфилин (табл. 2)

Таблица №2.

Свойства препаратов двойных солей пуриновых алкалоидов.

Препарат	Химическая формула	Описание
Coffeinum-natrii benzoas – кофеин-бензоат натрия	 1,3,7-триметилксантин с натрия бензоатом	Белый порошок без запаха, слабогорького вкуса
Euphellinum -эуффелин	 1,3 диметилксантин с 1,2 этилендиамином	Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым аммиачным запахом

Получение кофеин-бензоат натрия обусловлено способностью кофеина образовывать стойкие двойные соли с солями органических кислот. Последние, в отличие от кофеина, легко растворяются в воде. Кофеин-бензоат натрия получают смешением водных растворов, содержащих 40% кофеина и 60% бензоата. Затем раствор упаривают досуха. Аналогичный способ лежит в основе получения эуфиллина (соль теофиллина с 1,2-этилен-диамином).

По физическим свойствам препараты двойных солей пуриновых алкалоидов это белые порошки. Эуфиллин имеет аммиачный запах, обусловленный наличием этилендиамина. Эуфиллин на воздухе способен поглощать углекислый газ, вследствие чего его растворимость при этом уменьшается. Препараты отличаются лучшей растворимостью в воде, чем соответствующие им алкалоиды. Кофеин-бензоат натрия легко растворим, Эуфиллин – растворим в воде. Водный раствор препаратов имеют щелочную реакцию. Кофеин-бензоат натрия трудно растворим в этаноле, практически нерастворим в эфире и хлороформе.

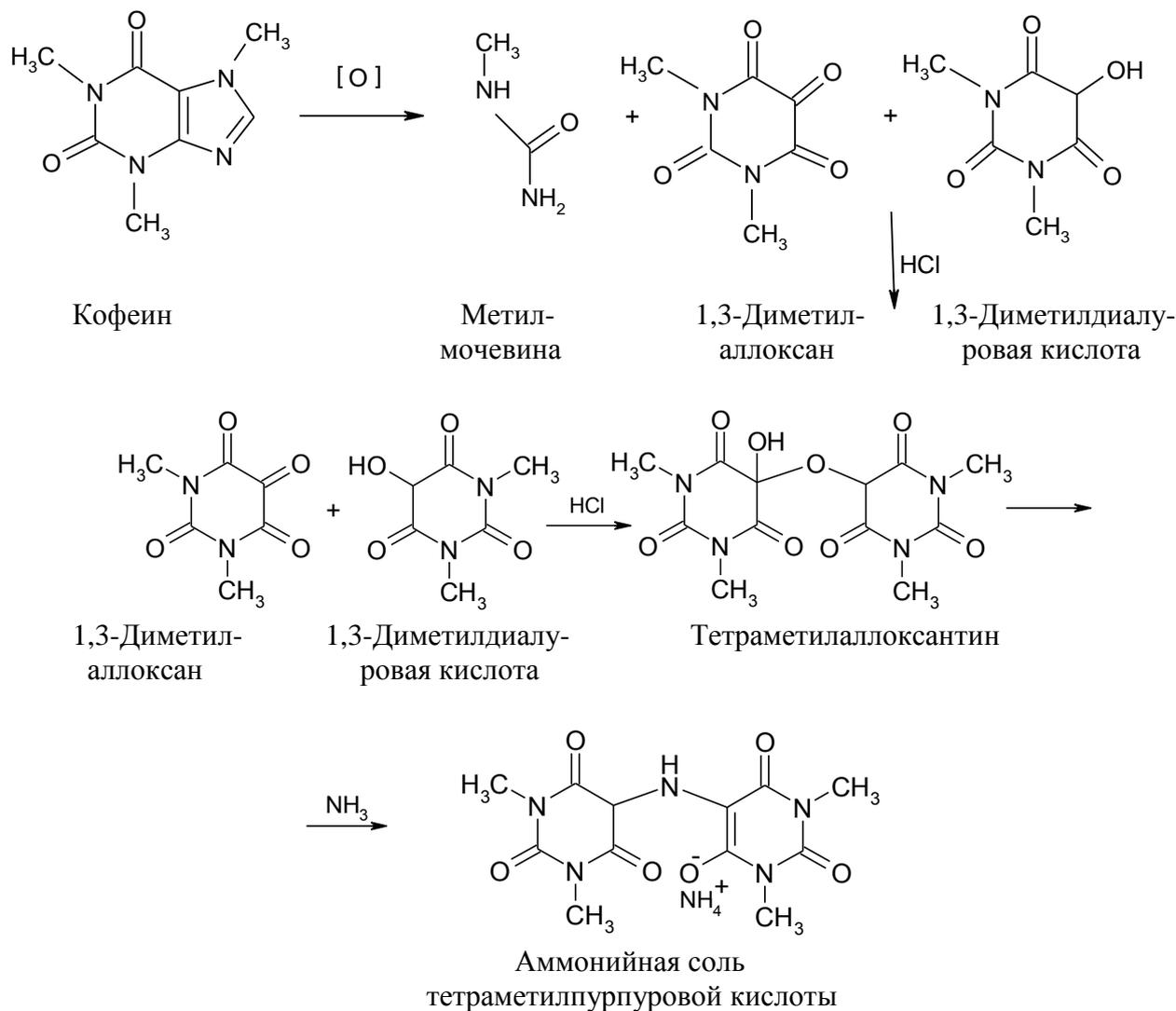
3. Подлинность пуриновых алкалоидов и их солей

1. Мурексидная проба.

Общей реакцией подлинности, рекомендуемой ГФ для испытания препаратов пуриновых алкалоидов и их двойных солей, является мурексидная проба. Она основана на разрушении молекулы пурина при нагревании с

окислителем (например, с пероксидом водорода, бромной водой, азотной кислотой и т.д.) до образования смеси метилированных производных аллоксана и диалуровой кислоты. Взаимодействуя между собой, они образуют метилированные производные аллоксантина, которые под действием избытка раствора аммиака приобретают пурпурно-красное окрашивание. Окраска обусловлена появлением аммонийной соли тетраметилпурпуровой кислоты.

Кофеин дает мурексидную пробу по схеме:



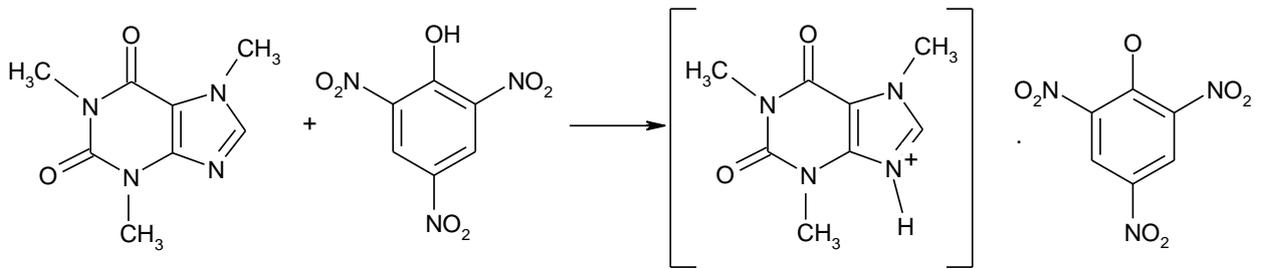
Аналогичная схема лежит в основе мурексидной пробы на теофиллин, теобромин и другие производные пурина. Пурпурно-красное окрашивание исчезает при добавлении нескольких капель гидроксида натрия.

2. Спектрофотометрический метод.

Подлинность пуриновых алкалоидов подтверждают спектрофотометрическим методом. УФ-спектр раствора кофеина в 0,1 М растворе соляной кислоты имеет максимум поглощения при 273 нм.

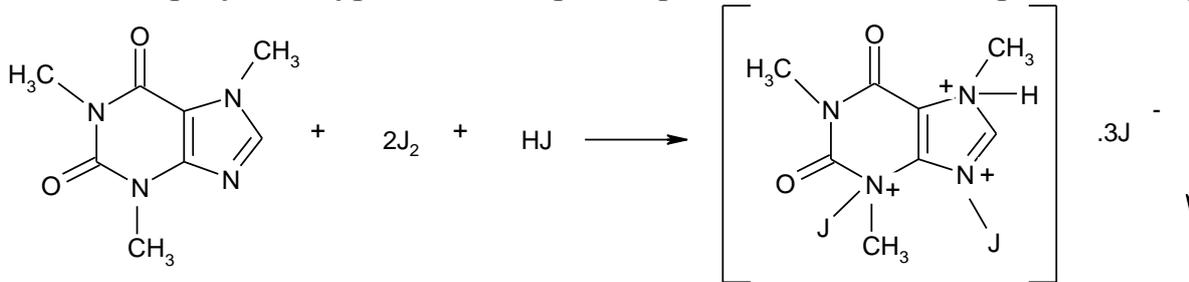
3. Образование четвертичных аммониевых солей

Реакцией подлинности является образование четвертичных аммониевых солей (общеалкалоидные реакции), например, с раствором танина кофеин образует белый осадок таната кофеина, а с реактивом пикриновой кислотой желтый осадок пикрата:



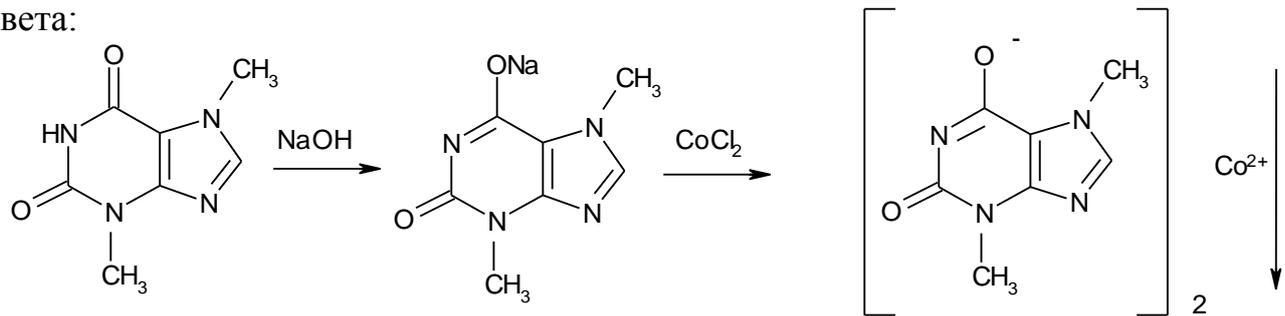
4. Образование полииодидов.

Раствор кофеина в горячей воде при добавлении 0,1 М раствора йодида остаётся прозрачным, но при добавлении еще и нескольких капель соляной кислоты, образуется бурый осадок, растворимый в избытке гидроксида натрия:

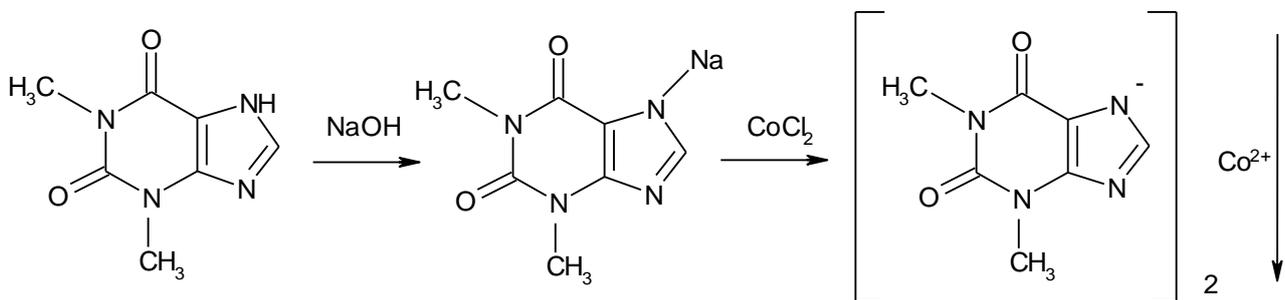


5. Образование солей тяжелых металлов.

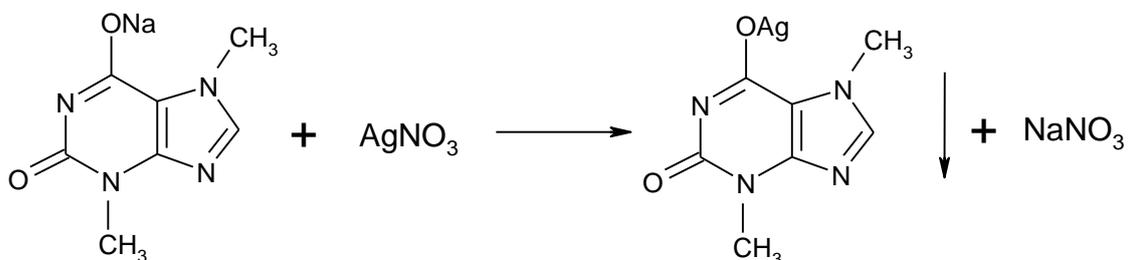
С раствором хлорида кобальта теобромин образует осадок серо-голубого цвета:



Теofilлин в тех же самых условиях образует белый с розоватым оттенком осадок:



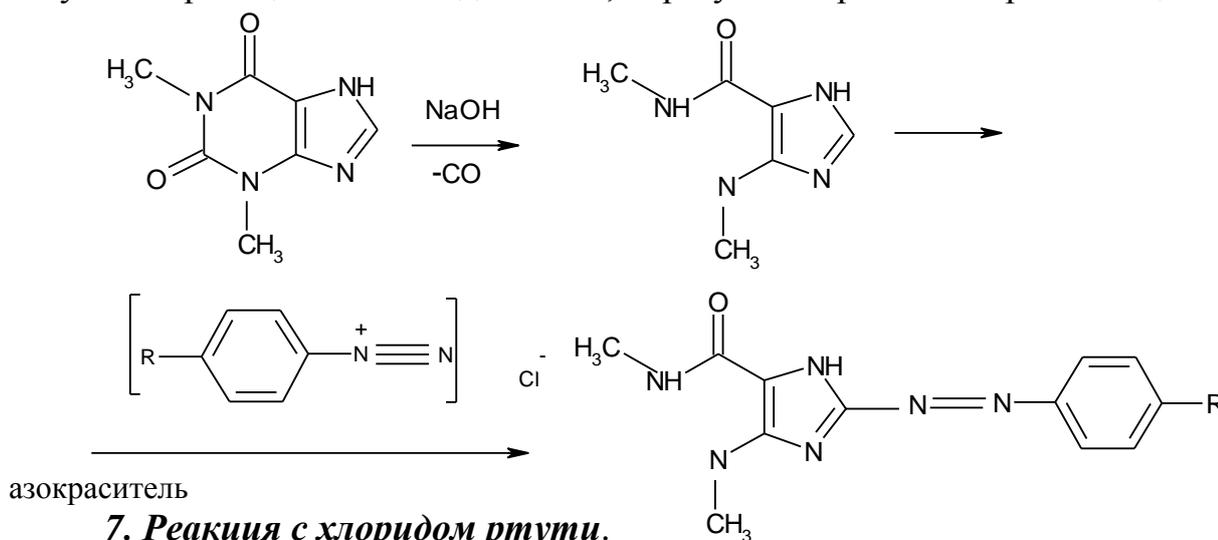
Подлинность теofilлина и теобромина можно установить по образованию характерных осадков солей серебра. Серебряная соль теобромина при нагревании на водяной бане по 60°C образует коричневую желатинообразную массу.



Серебряная соль теофиллина представляет полупрозрачный студенистый осадок, разжижающийся при нагревании и вновь застывающий при охлаждении (соли записываются аналогично солям кобальта). Кофеин не образует солей.

6. Образование азокрасителя.

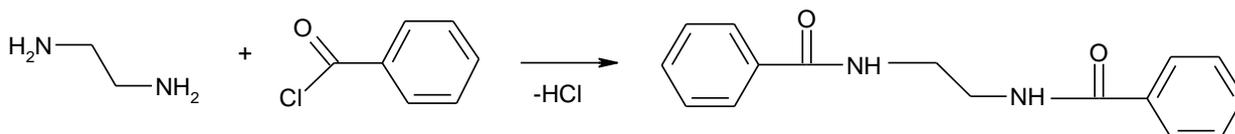
Теофиллин после щелочного гидролиза образует теофиллин, который вступает в реакции с солью диазония, образуя азокраситель красного цвета:



Общей для кофеина, теофиллина и теобромина является реакция с хлоридом ртути (II). Белый кристаллический осадок, представляет собой комплексное соединение, включающее эквимольное количество веществ, например для кофеина $C_8H_{10}N_4O_2 \cdot HgCl_2$. Поэтому эта реакция используется для комплексного комплексонометрического определения этих препаратов.

8. Определение этилендиамина в эуфиллине.

Подлинность эуфиллина можно установить путём осаждения из водного раствора с помощью соляной кислоты. Промытый и высушенный теофиллин должен иметь температуру плавления 271-274 °С. Из фильтрата с помощью бензоилхлорида в щелочной среде осаждают дибензоилэтилендиамин:



Осадок отфильтровывают, помывают водой, прекристаллизовывают из этанола, фильтруют и сушат. Его точка плавления должна быть 250-251 °С.

Доброкачественность

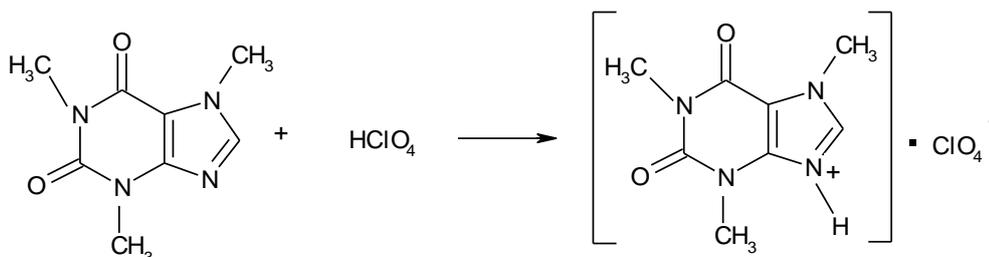
Чистоту препаратов по ГФ проверяют, устанавливая допустимые пределы примесей посторонних алкалоидов. При испытании кофеина примеси алкалоидов обнаруживают с помощью реактива Майера, который не даёт положительной реакции с самим препаратом, в теofilлине регламентируется содержание других пуриновых оснований, а в теобрине – примеси кофеина. Обнаружение указанных примесей в теofilлине и теобрине обусловлено наличием у них кислотных свойств, так как pK_a теofilлина и теобрина соответственно равны 9,9 и 8,8. Благодаря этому теofilлин в отличие от теобрина растворяется в растворе аммиака.

4. Количественное определение

Для количественного определения препаратов пуриновых алкалоидов используют различные химические свойства.

1. *Титрование в неводной среде.*

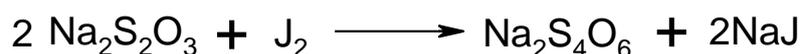
Титрование кофеина ведётся в среде уксусного ангидрида рабочим раствором хлорной кислоты в присутствии индикатора кристаллического фиолетового.



Так как теofilлин и теобрин обладают амфотерными свойствами, то титрование ведётся в среде смеси муравьиной кислоты и уксусного ангидрида (1:10); индикатор – раствор Судана (III).

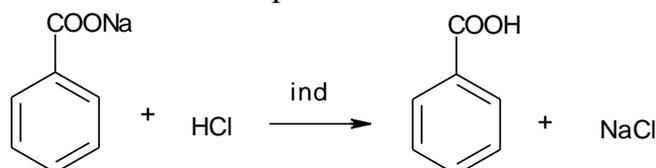
2. *Йодометрическое титрование.*

Способность кофеина и теобрина образовывать перйодаты в кислой среде (реакцию см. стр. 9) используется для обратного йодометрического определения. Избыток раствора йода (после отделения осадка) оттитровывают тиосульфатом натрия в присутствии индикатора крахмала. Точка эквивалентности определяется по изменению окраски индикатора крахмала от бесцветного до синего.



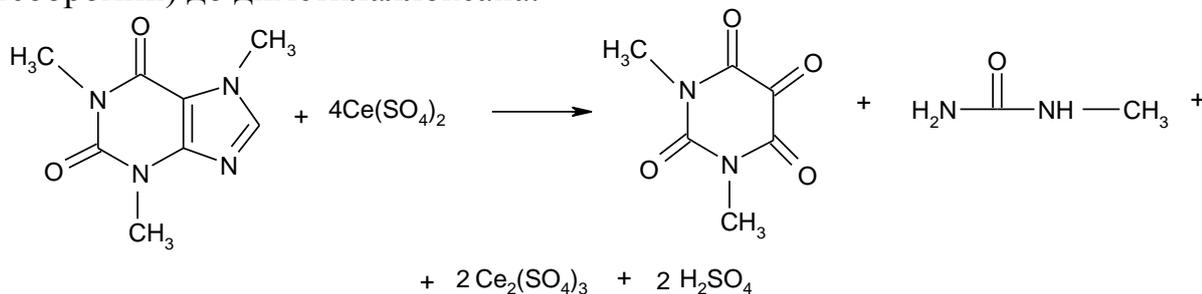
3. *Метод нейтрализации.*

Этот метод используется для определения бензоата в кофеин-бензоате натрия. Рабочий раствор – соляная кислота, индикатор: смесь метилоранжа и метиленового синего. Точка эквивалентности определяется по изменению окраски индикатора от жёлтого до красного.

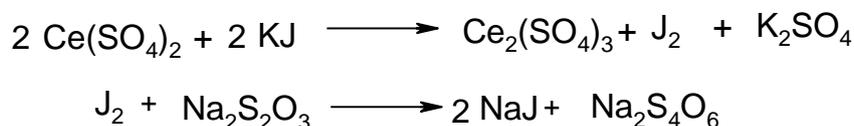


4. Цериметрический метод.

Рабочий раствор сульфата церия (IV) окисляет кофеин (теофиллин, теобромин) до диметилаллоксана:



Избыток раствора сульфата церия (IV) оттитровывают в присутствии 10% раствора калия йодида и хлороформа. Рабочий раствор – тиосульфат натрия:



Точка эквивалентности определяется по изменению окраски индикатора крахмала от бесцветного до синего.

Хранение и применение

Производные ксантина и их двойные соли хранят по списку Б в хорошо укупоренной таре. Теофиллин предохраняют от действия света. Учитывая способность эуфиллина поглощать углекислый газ из воздуха, его необходимо хранить в заполненной доверху таре, предохраняя от действия света и влаги. Кофеин-бензоат натрия хранят в сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +25°C.

Кофеин и кофеин-бензоат натрия применяют внутрь по 0,05-0,1 г 2-3 раза в день в качестве стимулятора центральной нервной системы (для повышения психической и физической работоспособности, для устранения сонливости), кардиотонического средства, при спазмах сосудов (при мигрени и др.). Последние исследования показали, что кофеин может предохранять организм от вредного воздействия радиации. Кофеин-бензоат натрия лучше растворим в воде, поэтому его можно использовать в виде растворов для инъекций. Теобромин и теофиллин применяют в качестве спазмолитических (сосудорасширяющих, бронхорасширяющих) и диуретических средств. Назначают теобромин по 0,25-0,5 г, а теофиллин по 0,1-0,2 г. Эуфиллин назначают при тех же показаниях, что и теофиллин. Хорошая растворимость в воде позволяет вводить его не только внутрь (0,1-0,15 г), но и внутримышечно (12% и 24% растворы), а также внутривенно (2,4%- растворы).