

09.04.2013 г



## Лекция 8

# ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА – ПРОИЗВОДНЫЕ ПТЕРИДИНА

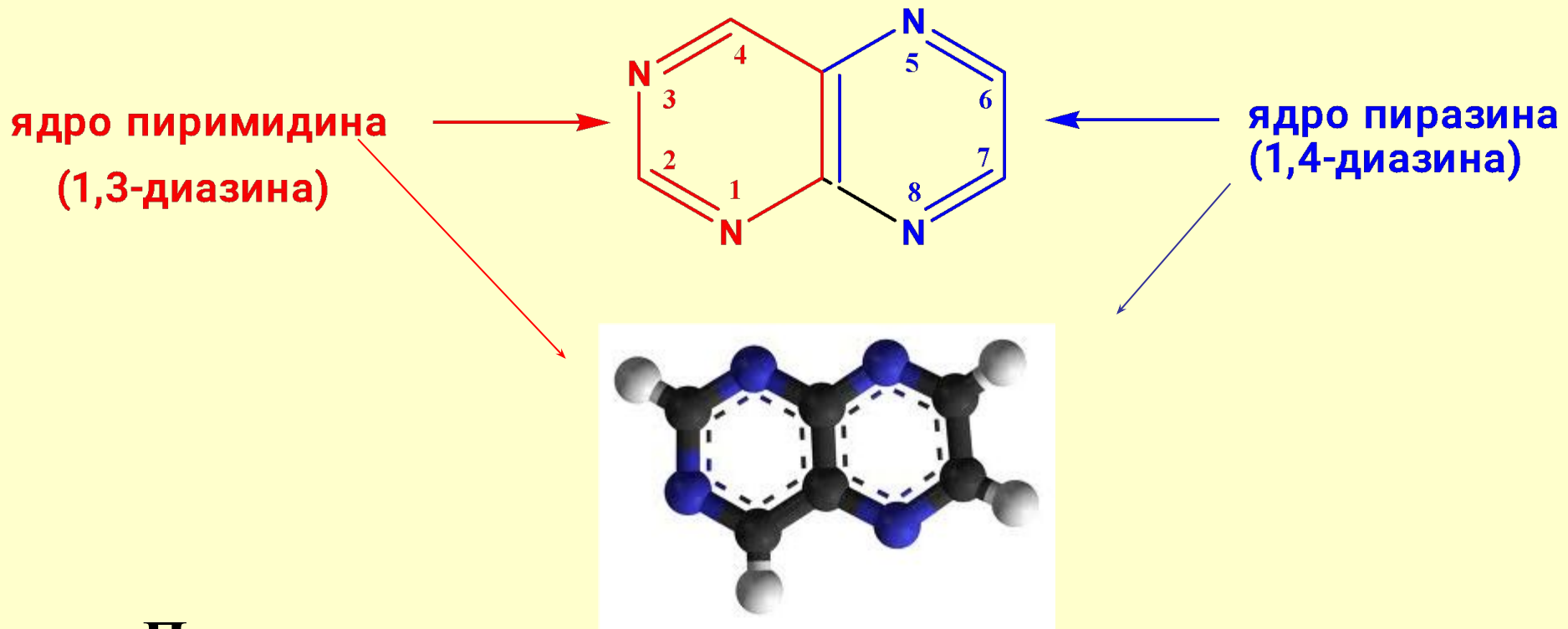
## Перечень лекарственных средств в соответствии с учебной программой:

1. *Фолиевая кислота* и ее производные обладают витаминными свойствами.

2. *Метотрексат*

Синтетический аналог фолиевой кислоты. Антиметаболит.

# 1. Химическое строение птеридина



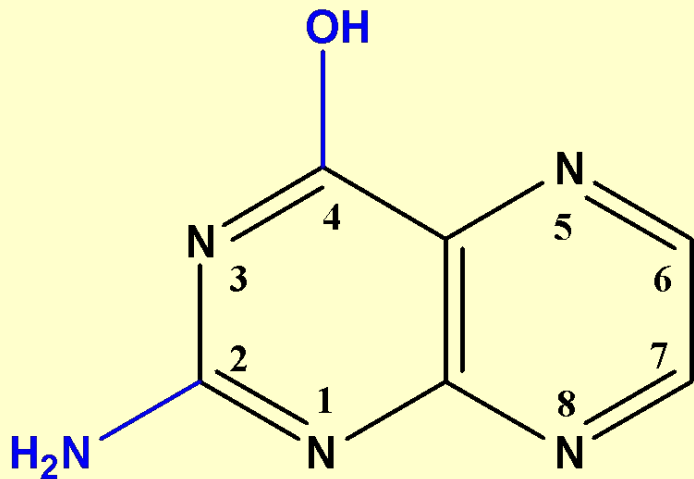
**Птеридин - химическое соединение, состоящее из пиримидинового и пиразинового гетероциклических колец.**

**Птеридиновая система ароматична, устойчива к действию окислителей, проявляет основные свойства.**

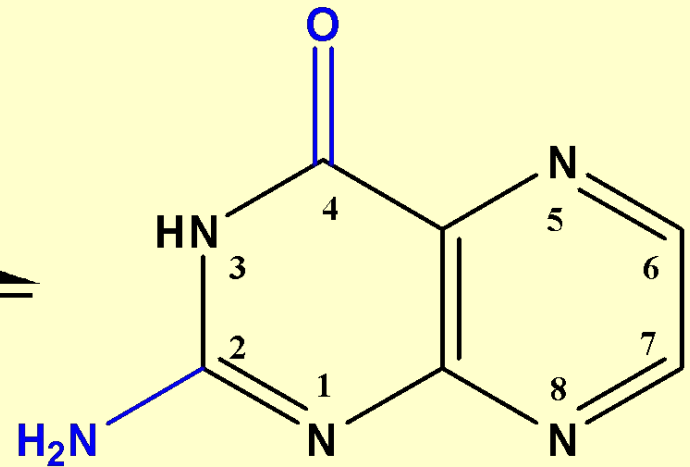
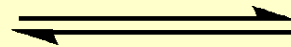
# Природные производные птеридина – **птерины**

**Птерин** - это **2-амино-4-гидроксиптеридин**

## *Прототропная таутомерия*

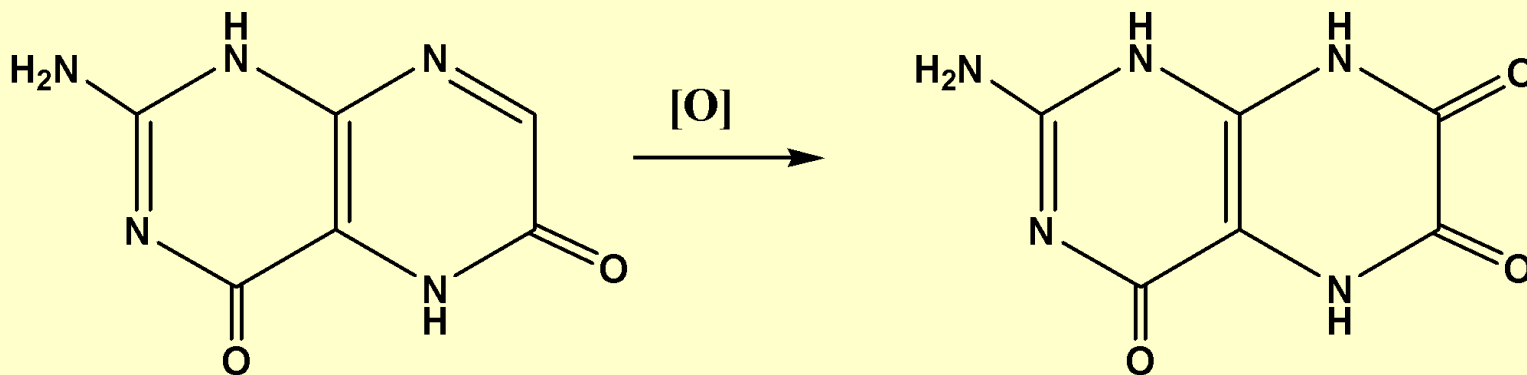


2-амино-4-гидроксиптеридин



2-аминоптеридин-4(3H)-он

# Производные птерина и окраска насекомых, чешуи рыб и покровных тканей амфибий



**Ксантоптерин – желтый пигмент лимонницы**  
2-амино-1,5-дигидроптеридин  
- 4,6-хинон

**Лейкоптерин - белый пигмент капустницы**  
2-амино-4,6,7-триоксоптеридин

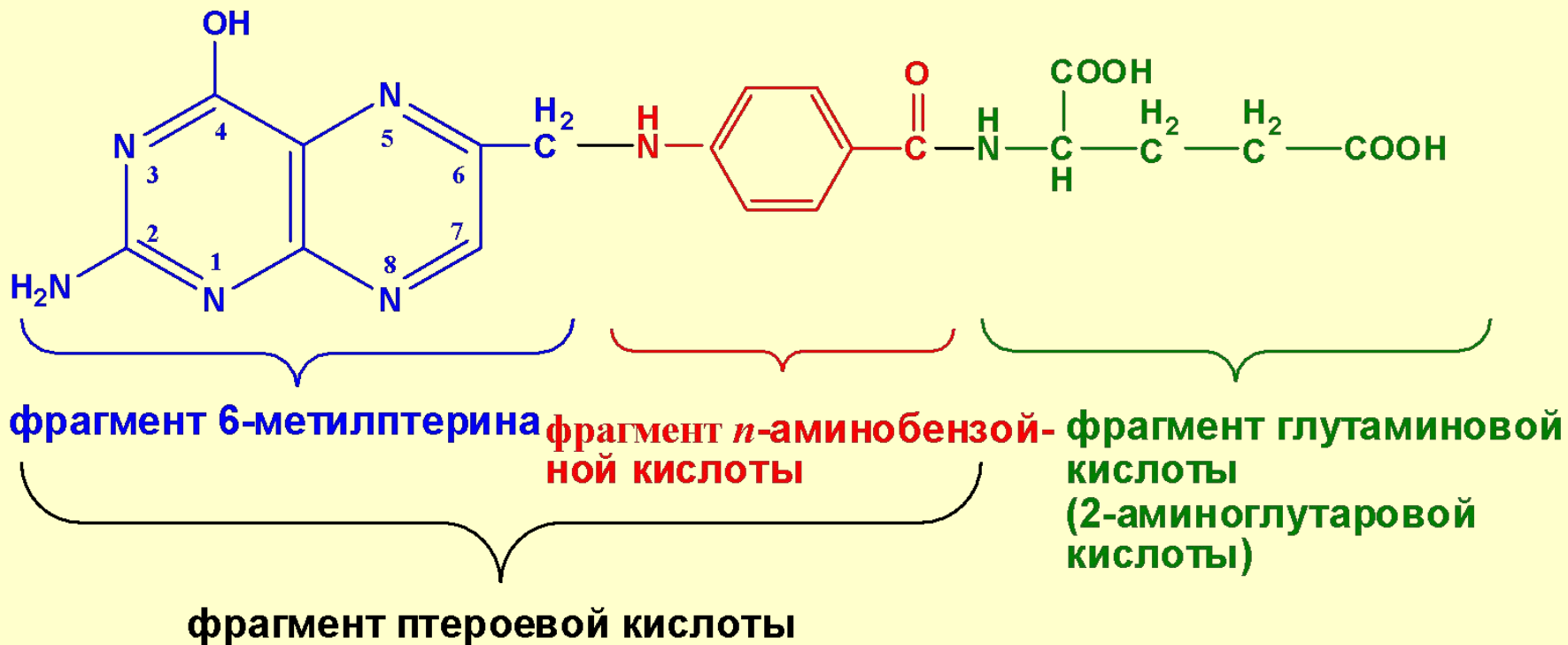
**ксанто...** —  
(греч. желтый)  
первая часть  
сложных слов



# Птериновые витамины – фолацины

## 1. Фолиевая кислота (от лат. *folium* — лист)

Витамин В<sub>9</sub>, Витамин Вс, витамин М



*N*-{*n*-[(2-амино-4-гидрокси-6-птеридинил)-метил]-амино} бензоил-*L*-глутаминовая кислота

# Фолиевая кислота называлась по-разному, в зависимости от вида животных или штамма бактерий, нуждающихся в ней:

- ✓ витамин М – фактор роста, необходимый для нормального кроветворения у обезьян (от англ. «monkey» – обезьяна)



- ✓ витамин В<sub>С</sub> – фактор роста цыплят (индекс «с» от англ. «chicken» – цыпленок);

- ✓ фактор роста культуры *Lactobacillus casei* и др.



# Метаболизм фолиевой кислоты до тетрагидрофолиевой (ТГФК)

- ✓ *Образованием тетрагидрофолиевой кислоты (ТГФК) происходит в результате присоединения 4 H по положениям N5, C6, C7, и N8.*
- ✓ *Оно протекает в две стадии при участии специфических ферментов, содержащих восстановленный НАДФ.*
- ✓ *Сначала при действии фолатредуктазы образуется дигидрофолиевая кислота (ДГФК), которая восстанавливается в ТГФК:*



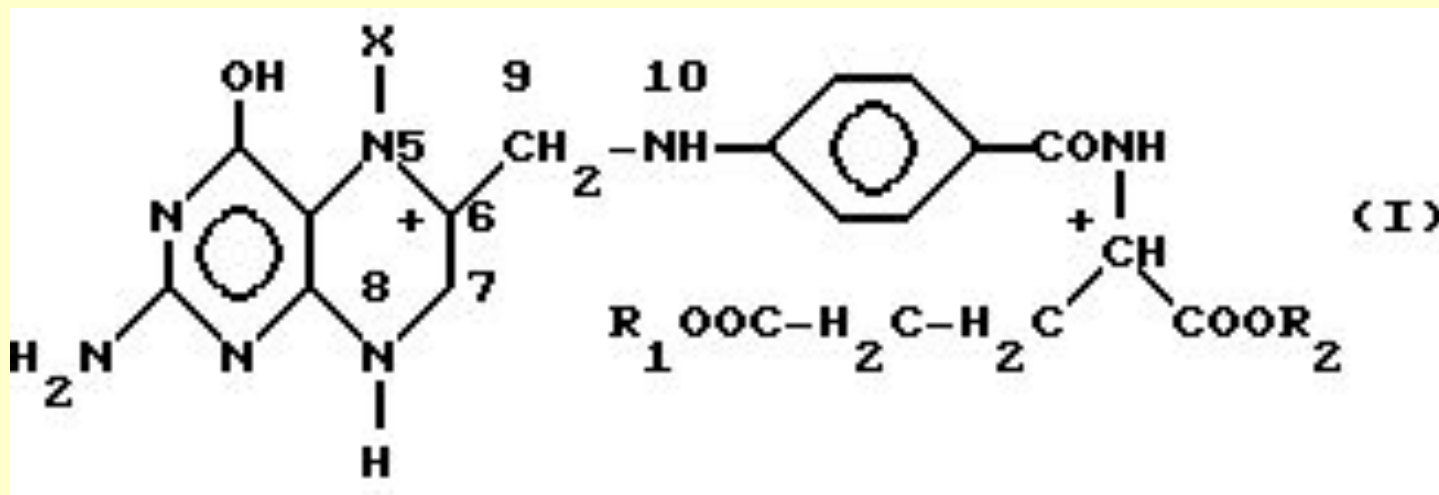
**НАД ФН/НАД Ф<sup>+</sup> - фосфат никотинамидадениндинуклеотида - кофермент в окислительно-восстановительных процессах**

**Эта реакция ингибируется метотрексатом**



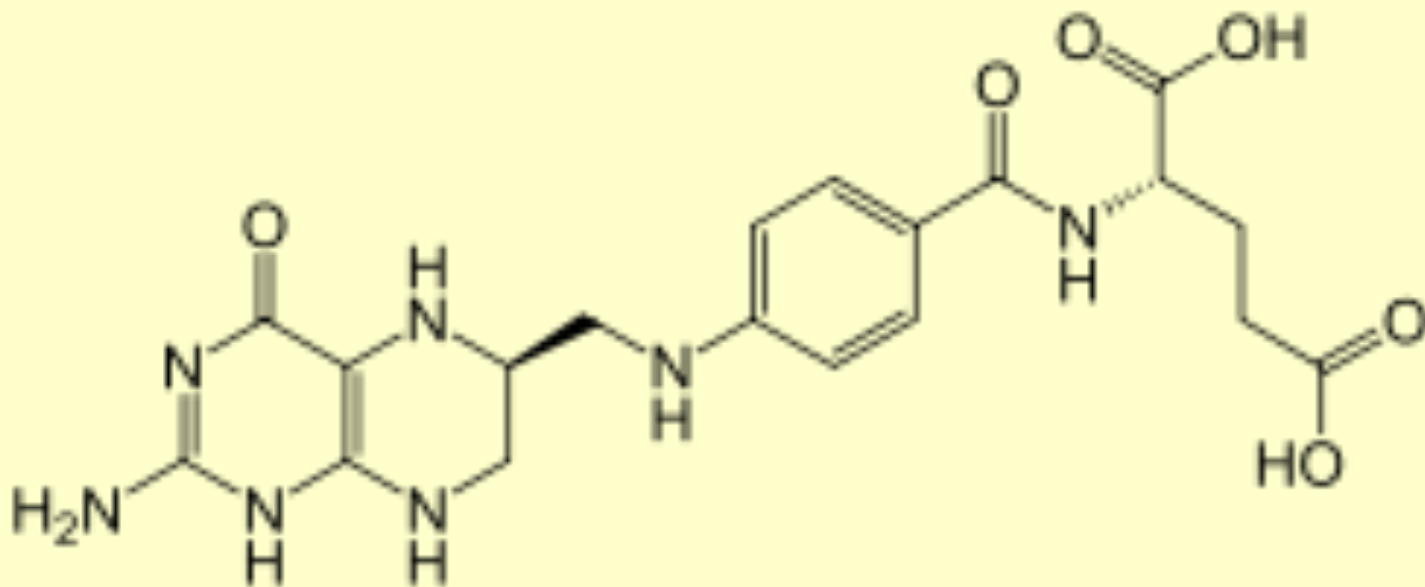
# ПАТЕНТ: «Способ получения (6s)-изомеров производных фолиевой кислоты»

Авторы: Леонардо Амбросини, Бруно Сала



- ✓ Соединения формулы (1) имеют два асимметрических атома углерода и, следовательно, могут существовать в четырех диастереоизомерных формах.
- ✓ При существовании стереоизомерных фармацевтических форм активной является только одна из них, остальные неактивны или даже вредны.
- ✓ В данном случае хорошо известно, что активны формы (6S).

- ✓ Фолаты в виде тетрагидрофолиевой кислоты и ее производных распределяются по всем тканям организма.
- ✓ Около половины количества содержащейся в организме фолиевой кислоты депонируется печенью в виде N-5-метилтетрагидрофолиевой кислоты
- ✓ Тетрагидрофолат — это кофермент, участвующий во многих реакциях, особенно при метаболизме аминокислот и нуклеиновых кислот.

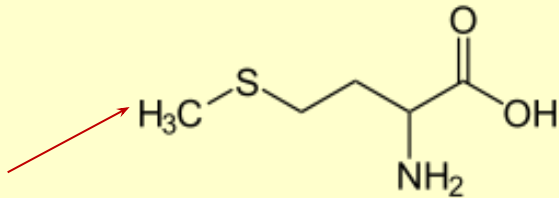


**Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)**

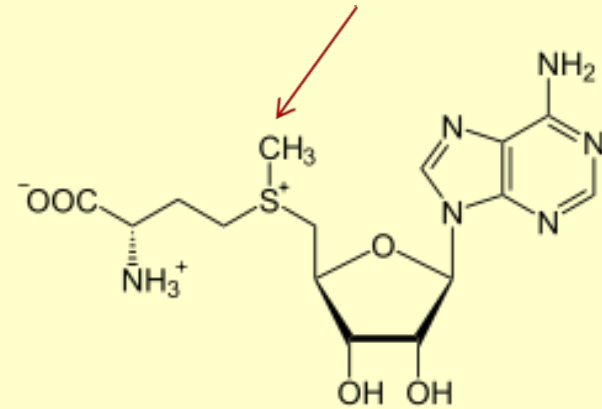
# Роль тетрагидрофолата (ТГФК) в метаболизме аминокислот

## Перенос одноуглеродных остатков

Химически активная группа  $-CH_3$



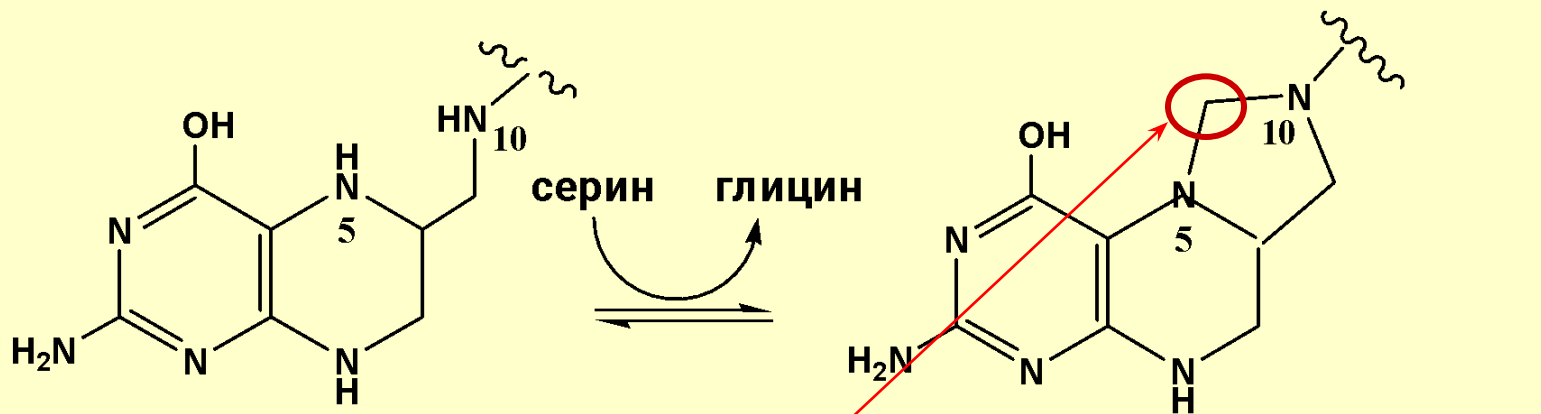
метионин



S-Аденозил метионин (SAMe)

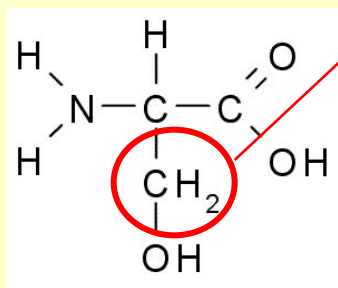
- ТГФК необходима для синтеза метионина;
- Метионин необходим для синтеза S-аденозилметионина - кофермента, принимающий участие в реакциях переноса метильных групп;
- Трансметилирование используется во многих биохимических реакциях например, метилирование участков РНК и ДНК;
- Метилирование ДНК может быть важным процессом в профилактике рака.

# Роль тетрагидрофолата в метаболизме аминокислот



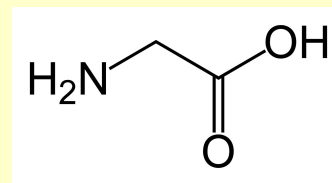
акцептор  $-CH_n$

N-5, N-10 - метил



серин

2-амино-3-гидроксипропионовая кислота

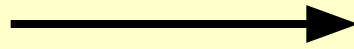


глицин

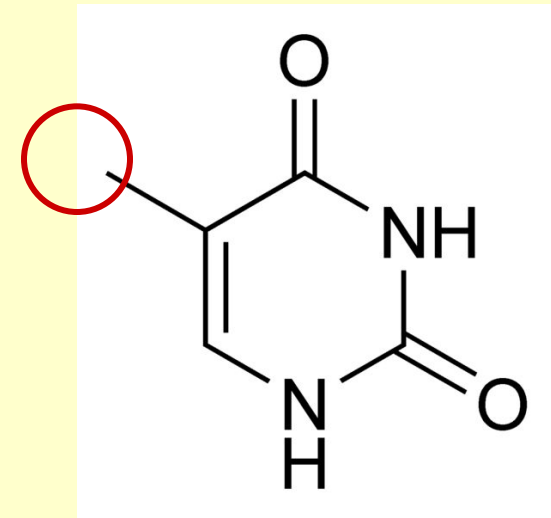
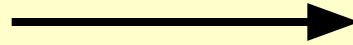
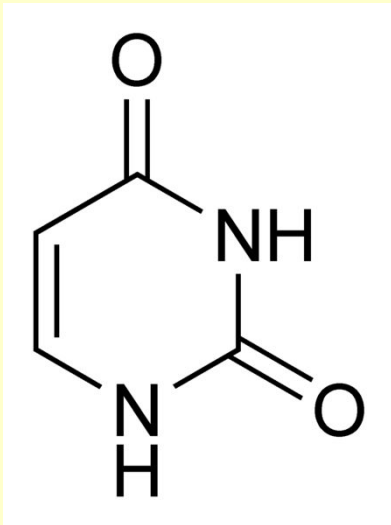
аминоуксусная кислота

# Роль N-5, N-10-метилентетрагидрофолатата в метаболизме азотистых оснований

N-5,N-10-метилентетрагидрофолат  
донор  $-CH_n$



дигидрофолат



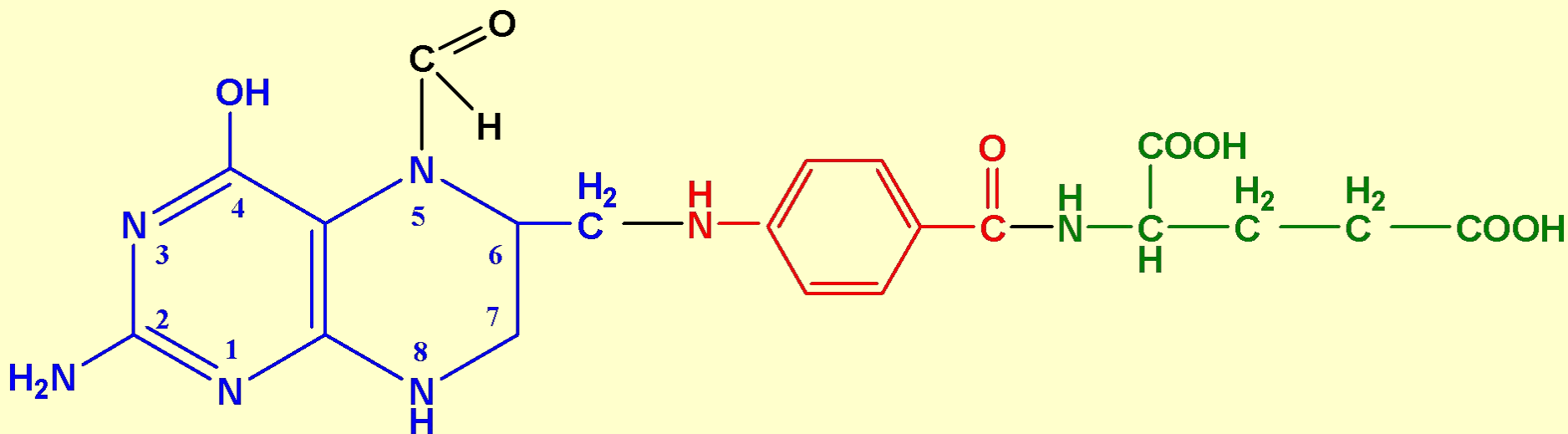
азотистое основание **урацил**

азотистое основание **ТИМИН**  
(5-метилурацил)

**Эта реакция ингибируется метотрексатом!**

### 3. Фолиновая кислота - активный метаболит фолиевой к-ты

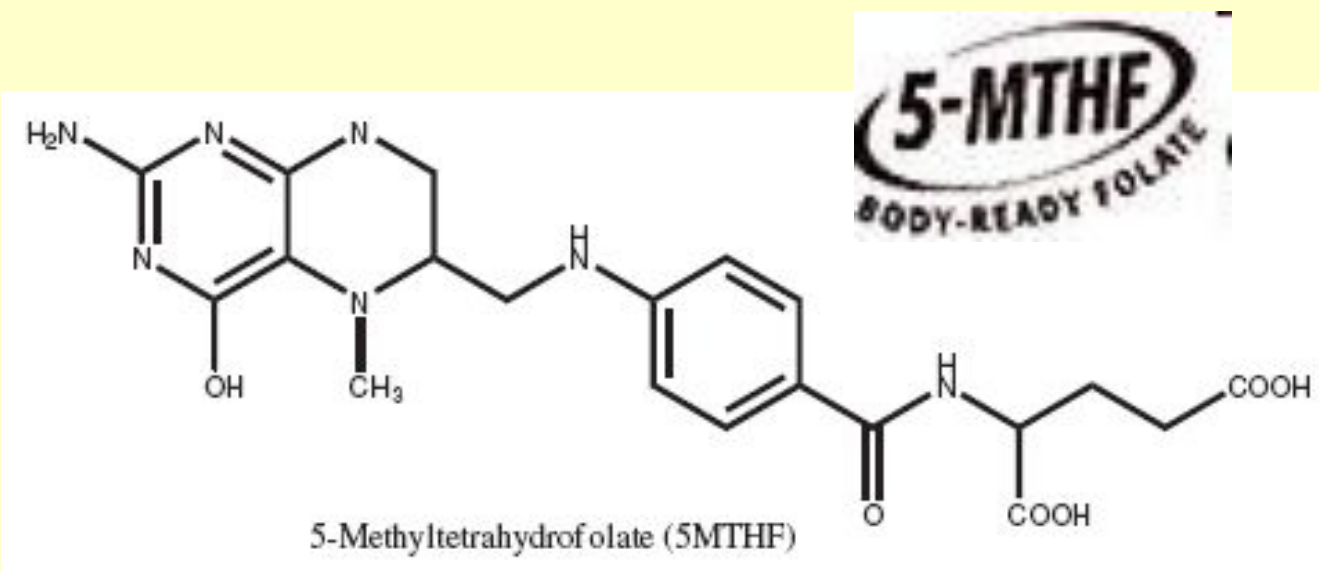
Фолиновая кислота /*Цитроворум-фактор* -  
является фактором роста бактерий *Leuconostoc citrovorum* – ароматобразующие  
бактерии, применяющиеся в пищевой промышленности



*5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота*

- В виде кальциевой соли – *препарат Лейковорин, антидот Метотрексата*

## 4. Птериновый витамин – 5-метилтетрагидрофолиевая кислота



### Кальциевая соль *L*-5-метилтетрагидрофолата - *Метафолин*<sup>®</sup> (Merck)

**Beyaz**<sup>®</sup> - новый препарат компании Bayer Schering Pharma AG (Германия): оральные контрацептивы. Комбинированный препарат Метафолин повышает уровень фолатов и снижает риск возникновения дефектов нервной трубки у плода во время беременности.

Настоящее информационное письмо представляет собой обзор материалов по ключевым исследованиям, свидетельствующим об эффективности и безопасности применения пероральных контрацептивов, **содержащих этинилэстрадиол и дроспиренон в сочетании с активными формами фолиевой кислоты, у женщин репродуктивного возраста, особенно у планирующих беременность.** Такие комбинированные препараты обеспечивают повышение содержания фолатов в эритроцитах и плазме крови, снижение уровня гомоцистеина в плазме крови, благодаря чему способны значительно сократить вероятность аномалий развития будущего плода.



Т.В. Газина, X.O. Соболевская

**МЕТАФОЛИН В СОСТАВЕ КОК —  
ИНВЕСТИЦИЯ В РЕПРОДУКТИВНОЕ  
БЛАГОПОЛУЧИЕ**

Мировые тенденции совершенства контрацепции  
как новые возможности репродуктивной поддержки

Под редакцией В.Е. Радзинского



**Status Praesens**

РЕПРОДУКТИВНОЕ ПИСЬМО



# Фолиевая кислота (открыта в 1938 г)

- **Потребность (суточная)**

500-700 мкг (?)

От 15 лет и старше – 200 мкг. Для беременных – 400 мкг, во время лактации 260-280 мкг.

Естественные источники фолиевой кислоты:

**шпинат (из него кислота впервые выделена в 1949 г)**

**печень**

**цветная капуста**

**петрушка**

**морковь**

С лечебной целью назначают внутрь по 5 мг 1 раз в сутки. Курс лечения 20-30 дней.

- **Недостаток фолиевой кислоты вызывает:**

- **анемию и лейкопению (нарушение формирования эритроцитов и лейкоцитов);**

- **тропическую болезнь спру (*sprue*); анемию в период беременности и детского возраста.**

→ «Антианемический витамин»

# ПИЩЕВЫЕ ПРОДУКТЫ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ



шпинат



спаржа



горох



чечевица



бобы



семена подсолнечника



яичный желток



дрожжи



хлеб из муки грубого помола

**ПЕЧЕНЬ, ПОЧКИ**

# Лекарственные формы:

1. «Фолиевая кислота» - порошок, таблетки по 0,001 г в **банках оранжевого стекла** по 30 и 60 шт.,

2. «Фолацин», фирма-производитель:  
JADRAN Galenski Laboratorij, d.d. (JADRAN Galenski Laboratorij, d.d. (Хорватия)- табл. 5 мг уп. 30.

С лечебной целью назначают внутрь по 5 мг 1 раз в сут. Курс лечения 20-30 дней.

3. В составе

**комбинированных таблеток:** фолиевая – 0,0008 г + аскорбиновая – 0,1 г кислоты; **поливитаминов:** Декамевит, Квадевит, Глутамевит, Комплевит и т.д.

**Хранение:** в сухом, защищенном от света месте, в хорошо закрытой таре.

# Фармакокинетика и фармакодинамика

- После приема внутрь  $C_{\text{мах}}$  в крови достигает через 30-60 мин.
- Экскретируется почками, как в неизмененном виде, так и виде метаболитов.

**Как выглядит кинетическая кривая?**

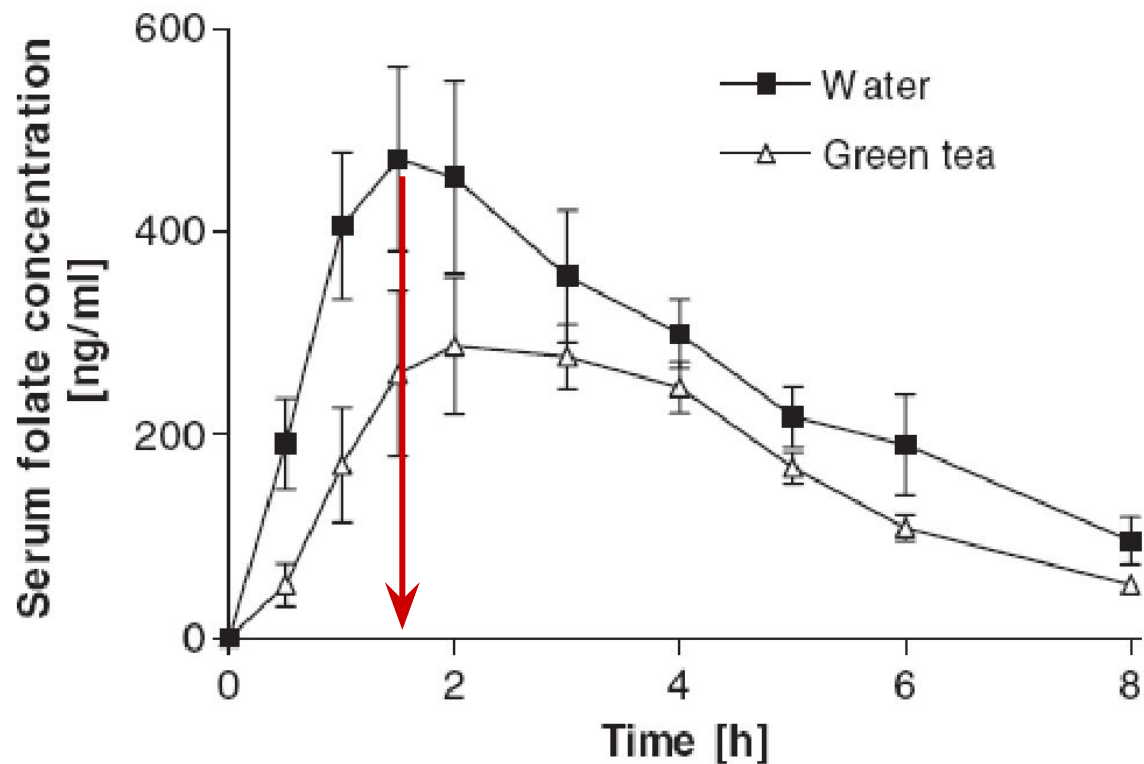


Figure 3. Serum folate concentrations (mean  $\pm$  SEM) after 5 mg folic acid tablets administered with water (■) and green tea ( $\Delta$ ) in healthy volunteers

BIOPHARMACEUTICS & DRUG DISPOSITION  
*Biopharm. Drug Dispos.* 29: 335-348 (2008)  
 Published online 12 June 2008 in Wiley InterScience  
 (www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/bdd.617

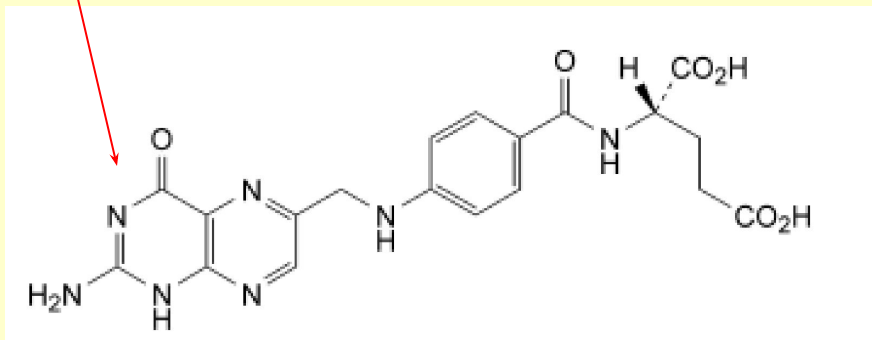
## Influence of Green and Black Tea on Folic Acid Pharmacokinetics in Healthy Volunteers: Potential Risk of Diminished Folic Acid Bioavailability

N. Ceren Alemdaroglu<sup>a</sup>, Ulrich Dietz<sup>b</sup>, Siegfried Wolfram<sup>c</sup>, Hildegard Spahn-Langguth<sup>d</sup> and Peter Langguth<sup>a,\*</sup>

# Фолиевая кислота – в мировых фармакопеях

Acidum folicum (Ph. Eur):

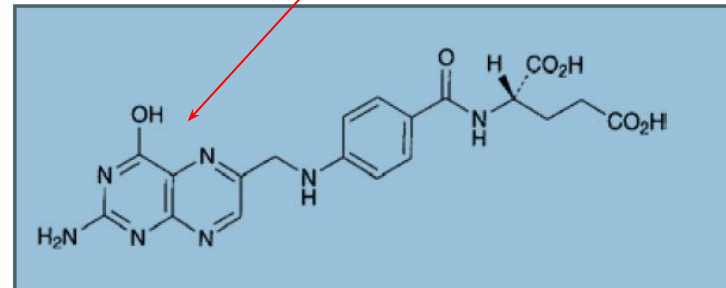
JP:



*(2S)-2-[[4-[[[(2-Amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino]benzoyl]amino]pentanedioic acid*

Folic Acid

葉酸

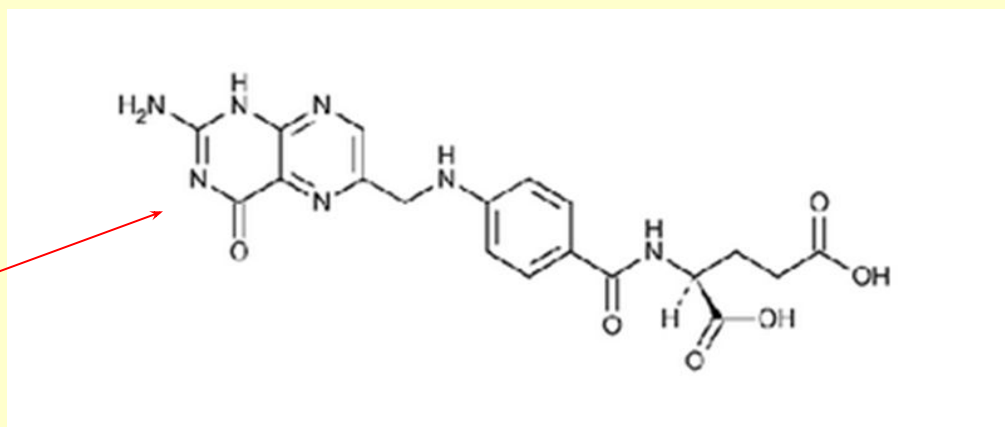


C<sub>19</sub>H<sub>19</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub>: 441.40

N- {4-[(2-Amino-4-hydroxypteridin-

6-ylmethyl)amino]benzoyl} -L-glutamic acid [59-30-3]

USr:



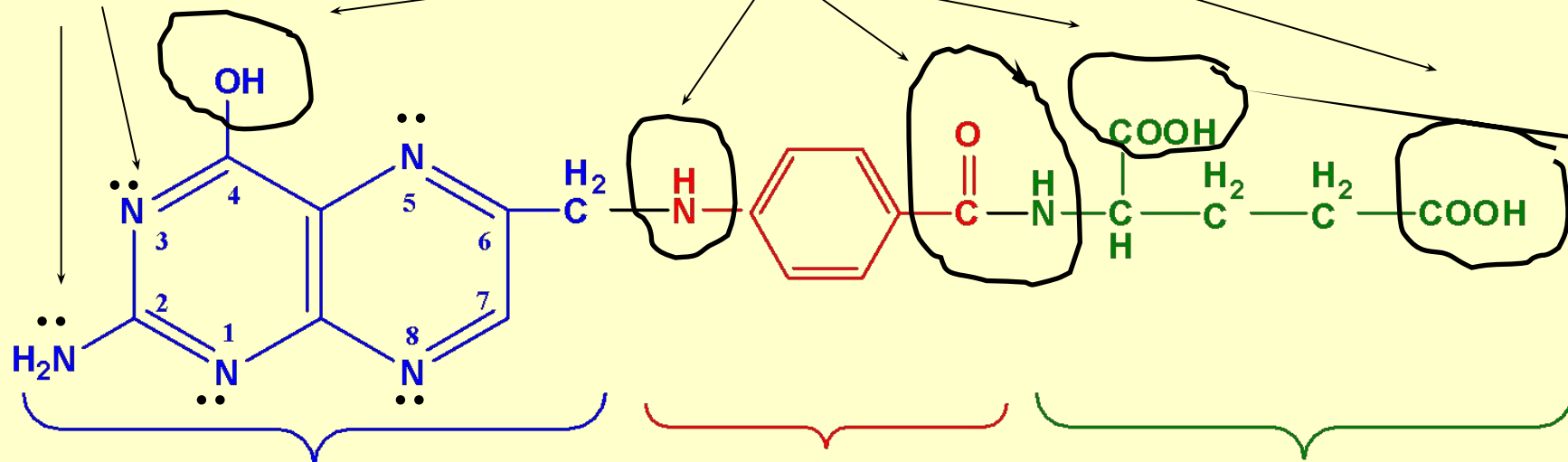
*N-[4-[[[(2-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-6-pteridinyl)methyl]amino]benzoyl]L-Glutamic acid*

# Описание

- **Кристаллический порошок желтого или желто-оранжевого цвета, без запаха, гигроскопичен, на свету разлагается, практически не растворим в воде и большинстве органических растворителей (JP – метаноле, этаноле, пиридине, диэтиловом эфире).**
  - **Очень легко растворимо в минеральных кислотах (HCl и H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и в щелочных растворах.**
- Медленно разлагается на свету.**

Центры  
основности

Кислотные центры



фрагмент 6-метилптерина

фрагмент *p*-аминобензой-  
НОЙ КИСЛОТЫ

фрагмент глутаминовой  
КИСЛОТЫ  
(2-аминоглутаровой  
КИСЛОТЫ)

фрагмент птероевой кислоты

По природе кислотного центра большинство кислот Бренстеда может быть представлено четырьмя типами:

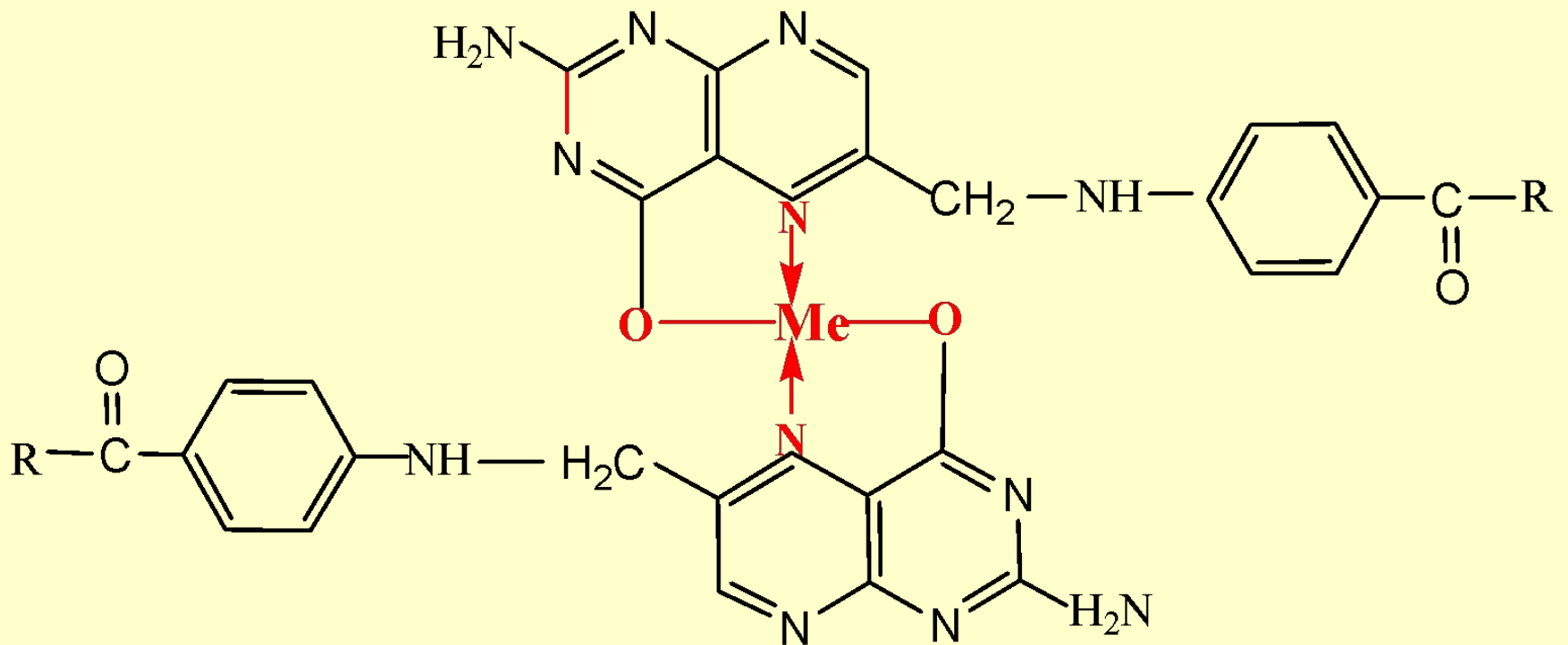
- ✓ OH-кислоты (карбоновые кислоты, фенолы, спирты),
- ✓ SH-кислоты (тиоловые соединения),
- ✓ NH-кислоты (амины, амиды, имиды),
- ✓ CH-кислоты (углеводороды и их производные).



## Фолиевая кислота -

- - Амфолит, с преобладанием кислотных свойств  $pK_a=2,3$
- - Образует моно-, ди-, тризамещенные растворимые соли со щелочами (NaOH), карбонатами ( $Na_2CO_3$ ), водородкарбонатами ( $NaHCO_3$ ) и аммиаком ( $NH_3$ ).
- - Образует малорастворимые соли с ионами тяжелых металлов ( $Ag^+$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ...)

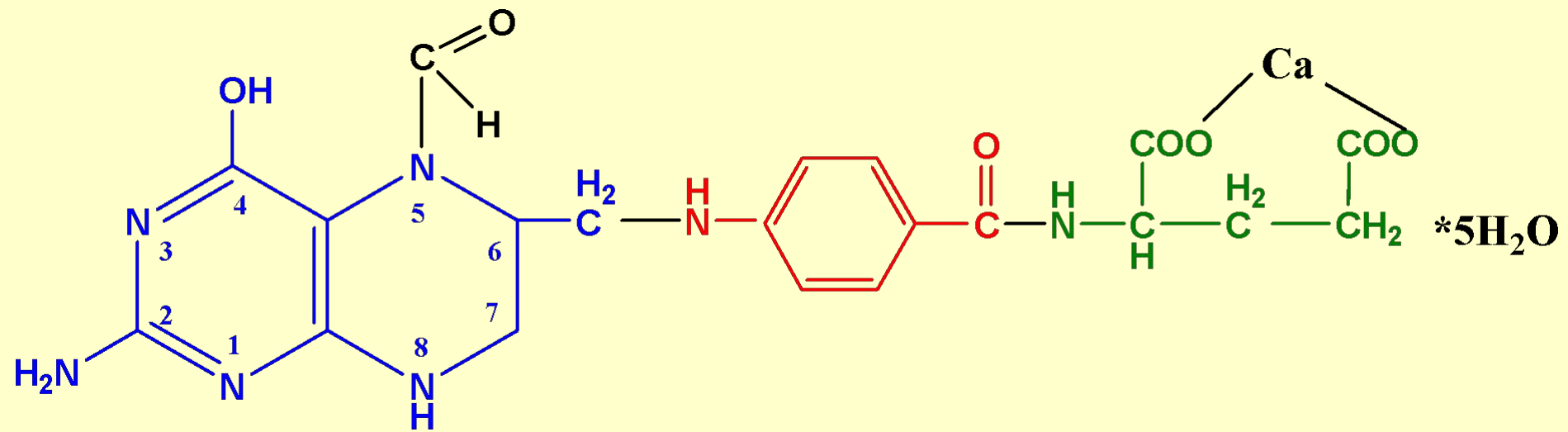
# Структура координационного центра фолиевой кислоты



- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  – лимонно-желтый;
- $\text{CuSO}_4$  – зеленый;
- $\text{AgNO}_3$  – желто-оранжевый;
- $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$  – темно-желтый;
- $\text{FeCl}_3$  – красный.

# Лейковорин

(соль фолиновой кислоты - фолинат кальция)

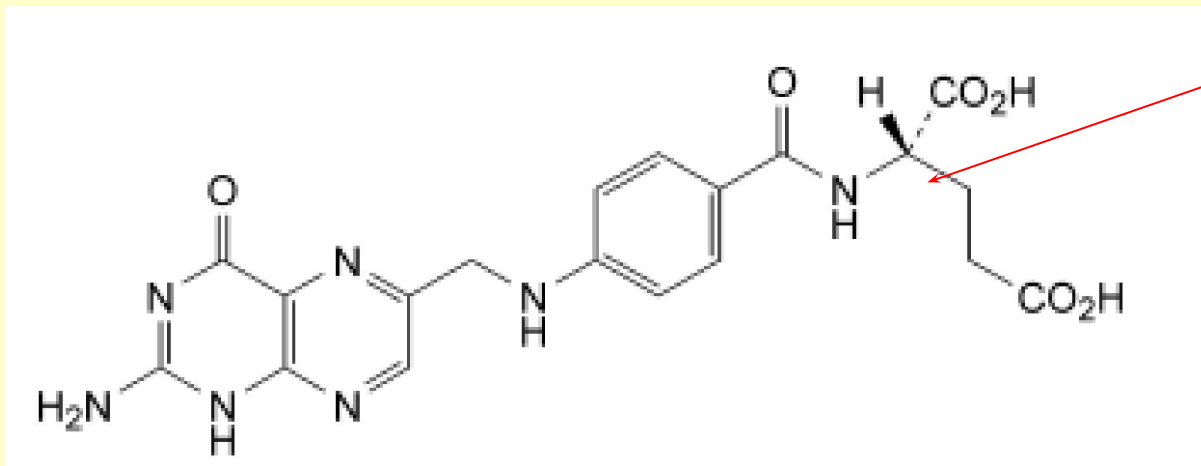


# Определение подлинности

## Удельное вращение (поляриметрия)

Для 1 % раствора субстанции (0,25 г в 25 мл  
0,1 моль/л NaOH)

$[\alpha]_D^{20} = +18 \div +22$  ( $l=10$  см, безводная  
субстанция).

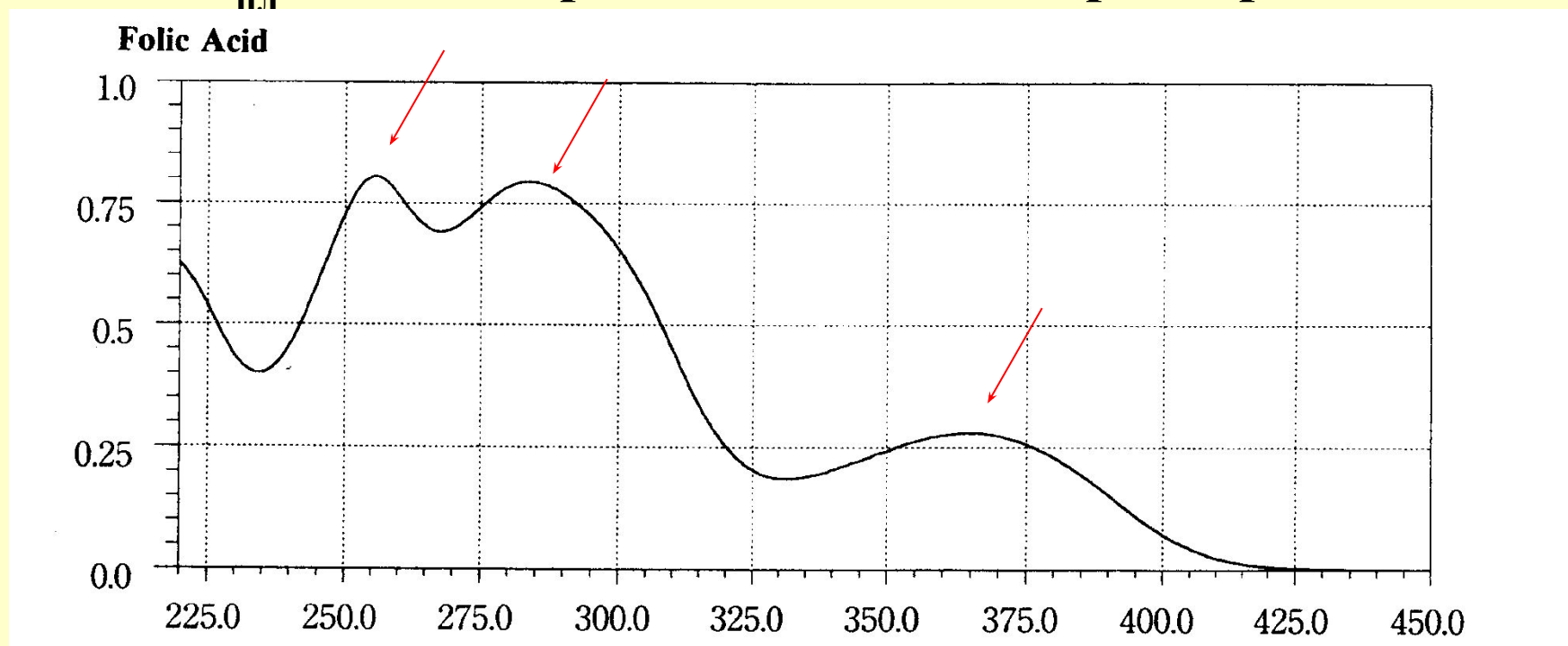


# Хроматографические методы

- **ВЭЖХ** – главный пик и время удерживания должны быть идентичны CRS.
- **ТСХ** – растворы исследуемой субстанции и CRS фолиевой кислоты готовят так:  
по 50 мг субстанций растворяют в смеси концентрированного раствора аммиака и метанола (2:9).
- Подвижная фаза – концентрированный аммиак : метанол:этанол = 20:20:60  $V_1/V_2/V_3$ .
- Объем пробы – 2 мкл, высушивание на воздухе, обнаружение в УФ при 365 нм.
- Положение, размер и флуоресценция главных пятен должны быть одинаковыми.

# Определение подлинности

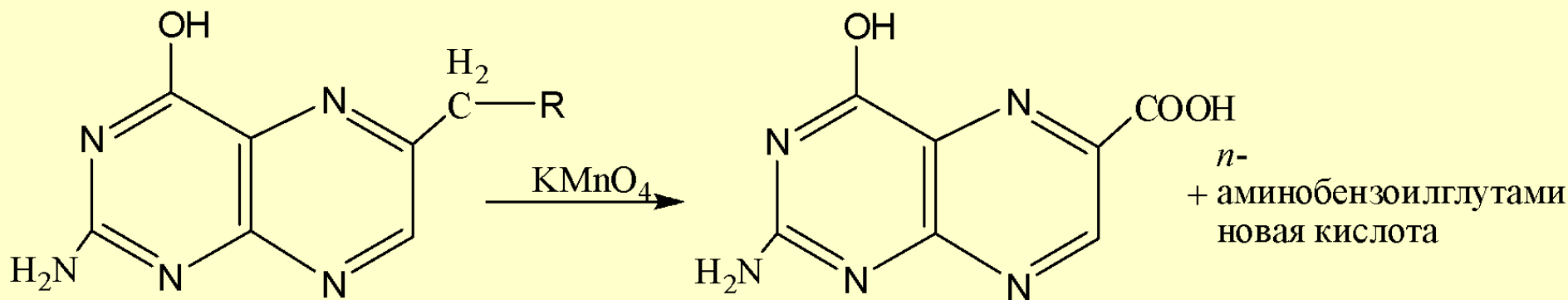
$T_{пл}$ , ИК-спектроскопия, УФ-спектрометрия



- 1, 5 мг **ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ** в 100 мл 0,1 моль/л растворе NaOH. Максимумы поглощения при  $\lambda = 256$  нм, 283 нм, 365 нм
- Отношение  $A_{256}/A_{365} = 2,8-3,0$

# Окисление (JP XV)

- ✓ К 10 мл раствора для спектрофотометрии добавить по каплям раствор  $KMnO_4$ .
- ✓ Хорошо перемешать до появления голубой окраски.
- ✓ Фильтрат имеет голубую флуоресценцию в УФ-свете (365 нм).

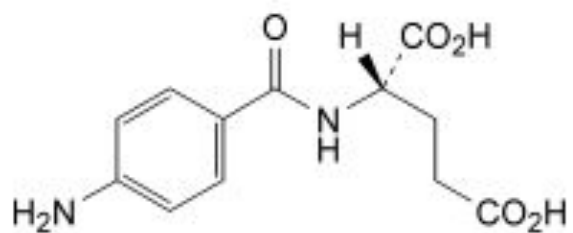


*2-амино-4-гидрокси-6-  
птеридилкарбоновая кислота  
птеридин-6-карбоновая  
кислота*

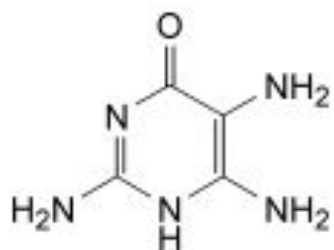


## Оценка чистоты (определение примесей)

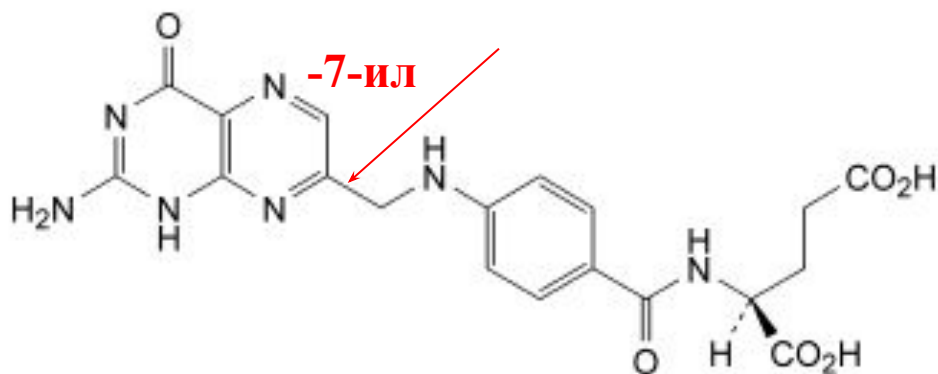
- **Прозрачность и цветность** – раствор 0,1 г в 10 мл 0,1 моль/л NaOH прозрачен и имеет желтую окраску.
- **Родственные примеси** - метод ВЭЖХ.
- **Вода** от 5,0% до 8,5% для навески 0,150 г.
- **Сульфатная зола** – не более 0,2% для навески 1,0 г.



A. (2S)-2-[(4-aminobenzoyl)amino]pentanedioic acid  
(*N*-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic acid),

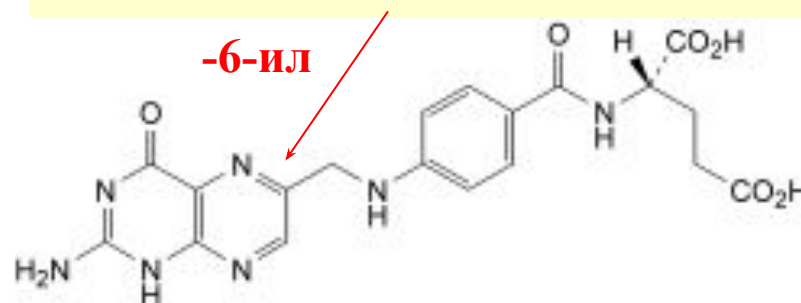


B. 2,5,6-triaminopyrimidin-4(1*H*)-one,



C. (2S)-2-[[4-[[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-7-yl)methyl]amino]benzoyl]amino]pentanedioic acid  
(isofolic acid),

фолиевая кислота



Изофолиевая кислота

# Количественное определение

- **Метод ВЭЖХ**
- **Фотоколориметрия** – образование азокрасителя (азосочетание с N-1-нафтилэтилендиамином) –  $\lambda=550$  нм.
- **Полярография** ( фон - спиртовой раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $E_{1/2}=0,6\text{В}$ ).
- **Флуорометрия** – голубая флуоресценция 6-птеринкарбоновой кислоты.

# Задача

*Сделать вывод о качестве субстанции Фолиевая кислота в соответствии с Ph. Eur:  $[\alpha]_D^{20} = +18 \div +22$*

## Методика:

- ✓ Для определения подлинности ЛС методом поляриметрии был приготовлен раствор из навески  $m=250$  мг в  $0,1$  моль/л растворе NaOH общим объемом  $V=25$  мл.
- ✓ Измерения проводили при  $T=21$  C<sup>0</sup>;
- ✓ длина поляриметрической трубки  $l=10$  см;
- ✓ величина угла вращения (получена экспериментально)  
 $\alpha = + 0,21^0$