09.04.2013 г

Лекция 8

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА – ПРОИЗВОДНЫЕ ПТЕРИДИНА

Перечень лекарственных средств в соответствии с учебной программой:

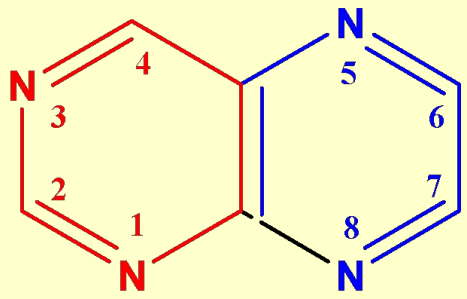
1. ***Фолиевая кислота*** и ее производные обладают **витаминными свойствами.**

2. ***Метотрексат***

Синтетический аналог фолиевой кислоты. Антиметаболит.

1. Химическое строение птеридина

ядро пиримидина
(1,3-диазина)



ядро пиразина
(1,4-диазина)

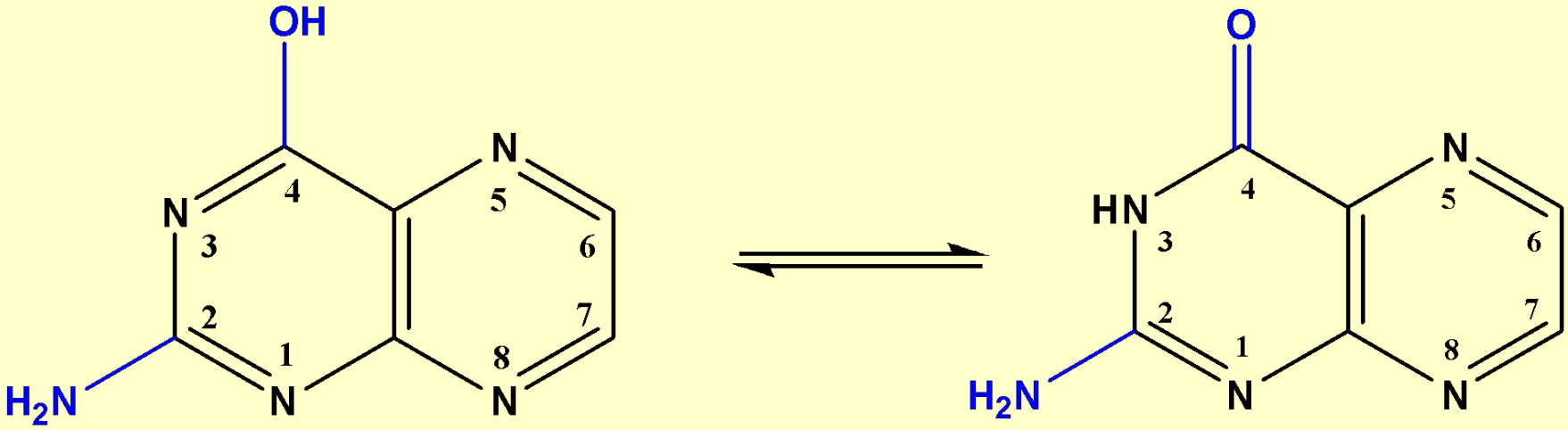
Птеридин - химическое соединение, состоящее из пиримидинового и пиразинового гетероциклических колец.

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

Природные производные птеридина – птерины

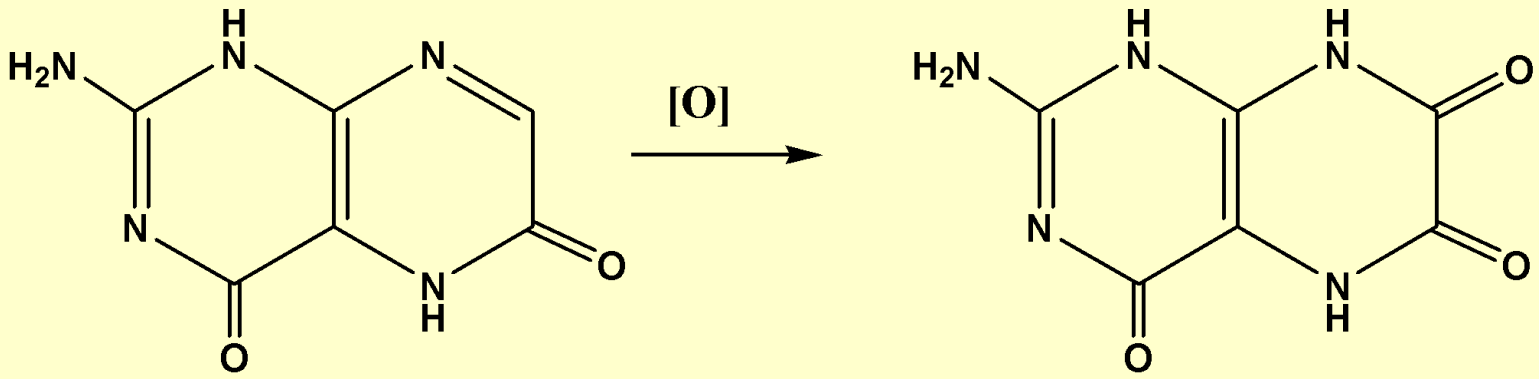
Птерин - это 2-амино-4-гидроксиптеридин

Прототропная таутомерия



2-амино-4-гидроксиптеридин **2-аминоптеридин-4(3H)-он**

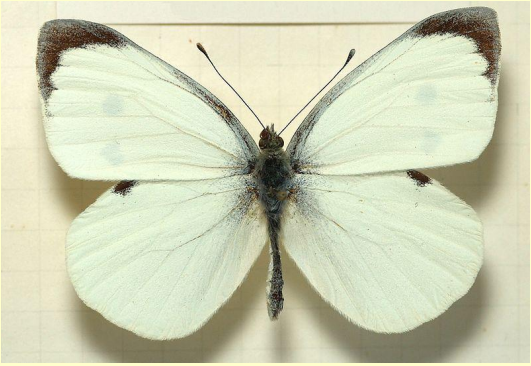
Производные птерина и окраска насекомых, чешуи рыб и покровных тканей амфибий



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

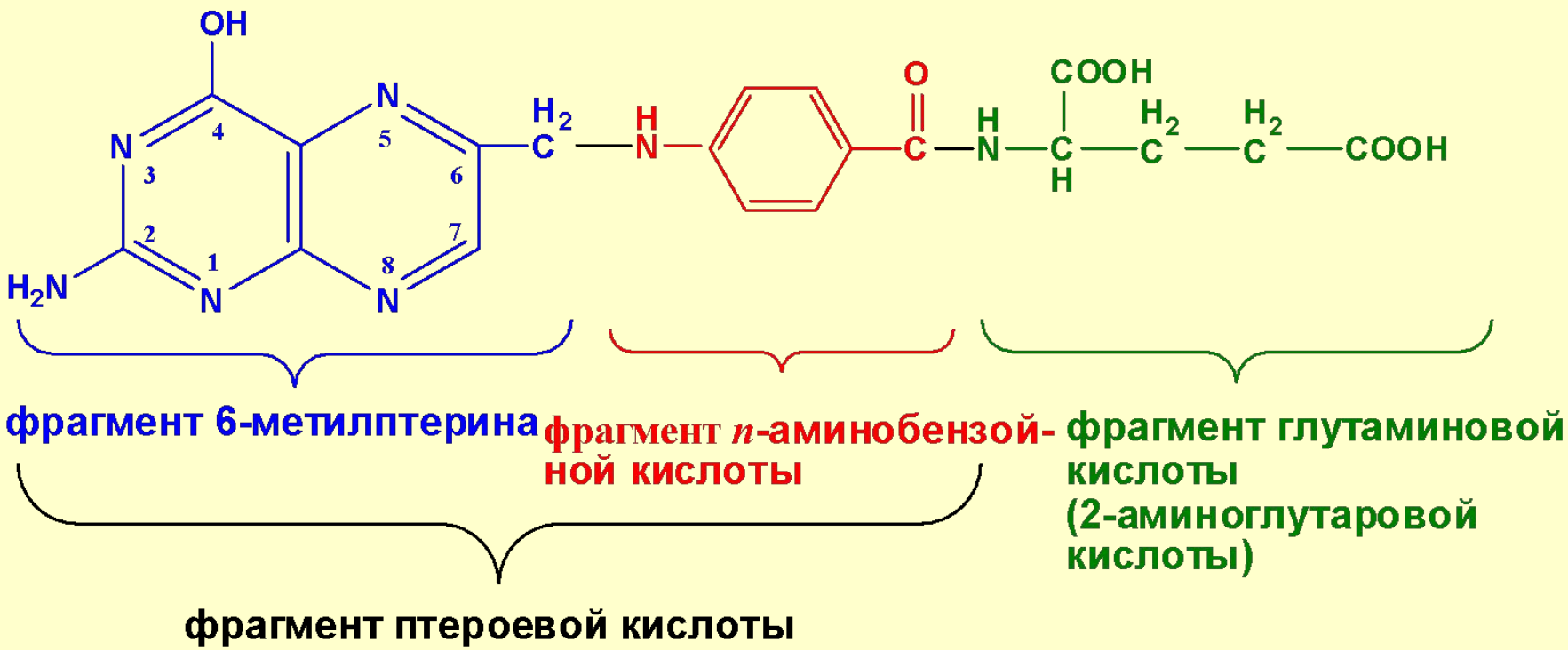
Лейкоптерин - белый пигмент капустницы
2-амино-4,6,7-триоксоптеридин

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



Птериновые витамины – фолацины

1. Фолиевая кислота (от лат. *folium — лист)*
Витамин B_9, 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:

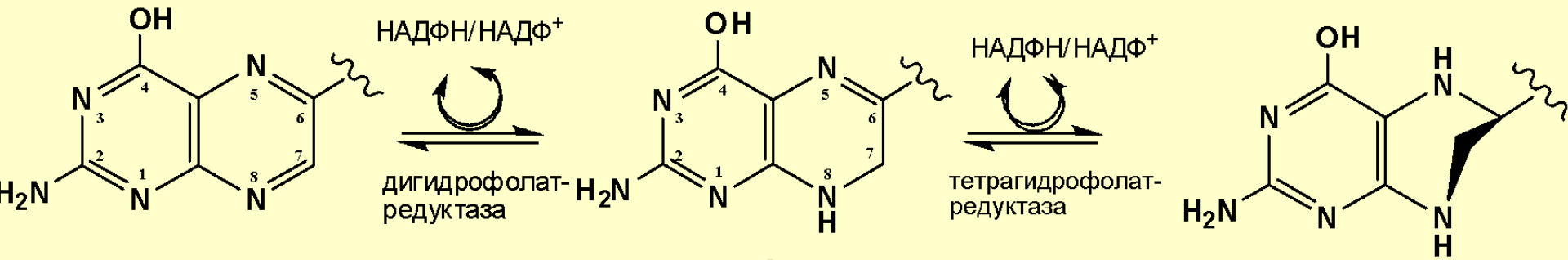
- ✔ **витамин М – фактор роста, необходимый для нормального кроветворения у обезьян (от англ. «monkey» – обезьяна)**

- ✔ **витамин B_C – 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 Н 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:***

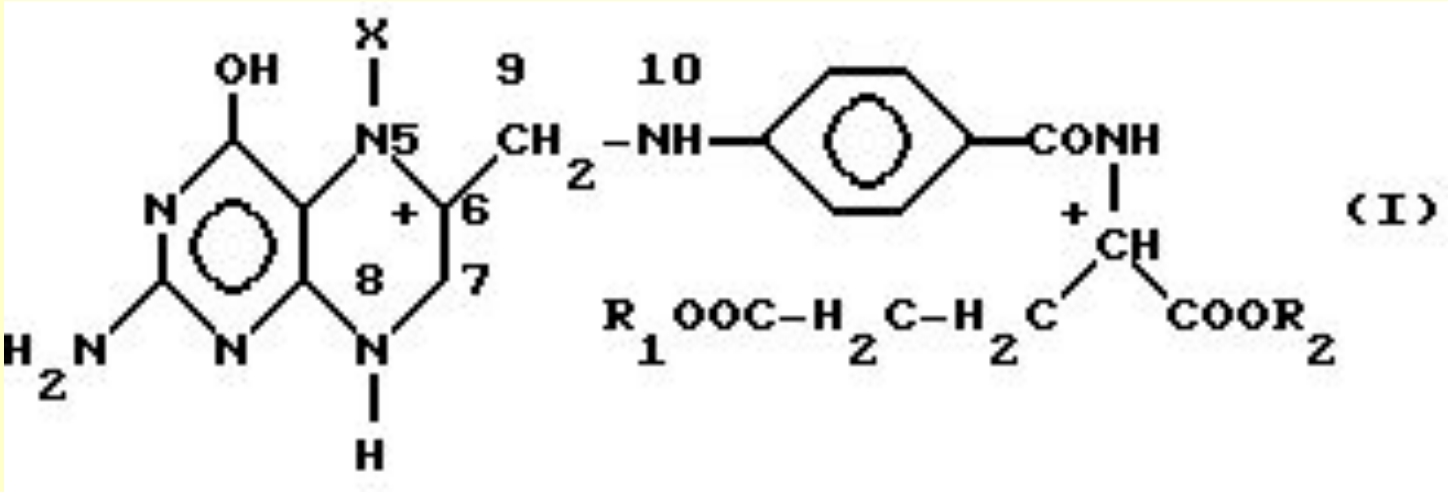


фолиевая кислота **дигидрофолиевая кислота** **третрагидрофолиевая кислота**

НАДФН/НАДФ+ - фосфат никотинамидадениндинуклеотида - кофермент в окислительно-восстановительных процессах

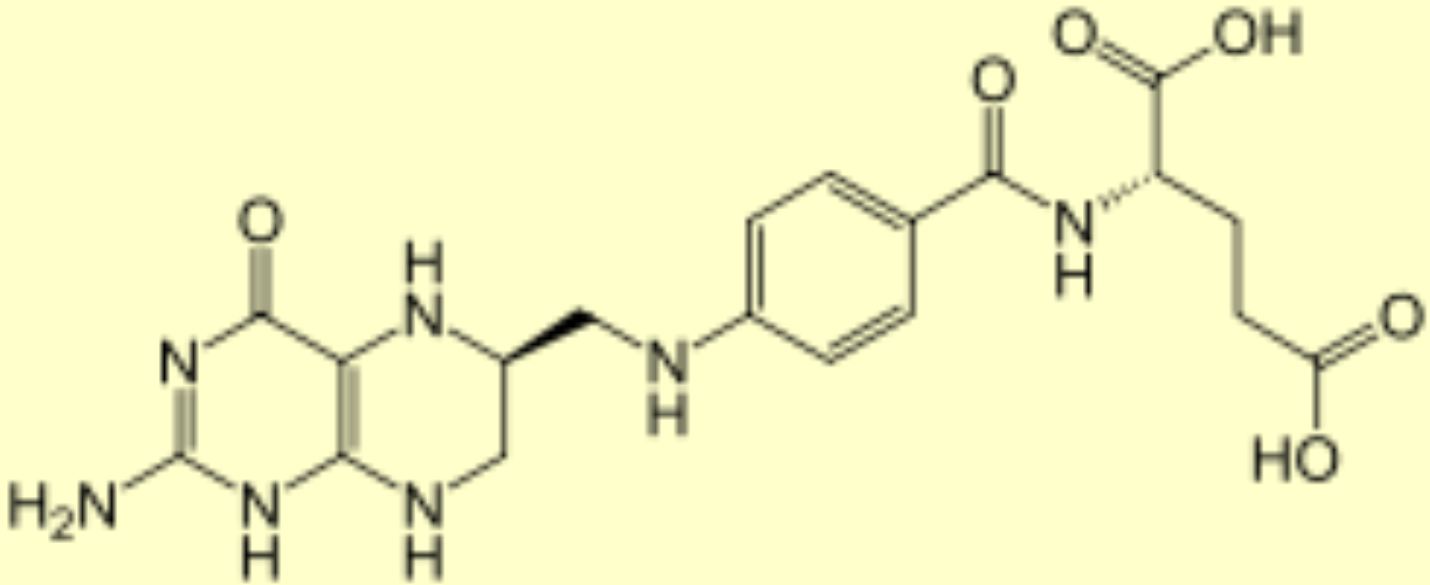
Эта реакция ингибируется метотрексатом

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.

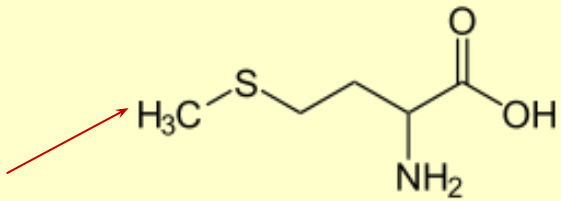


Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)

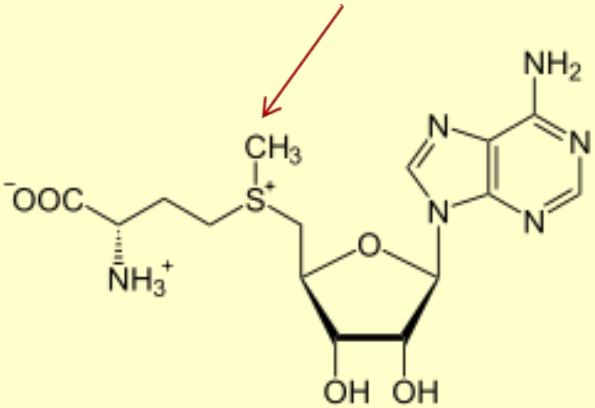
Роль тетрагидрофолата (ТГФК) в метаболизме аминокислот

Перенос одноуглеродных остатков

Химически активная группа $–CH_3$



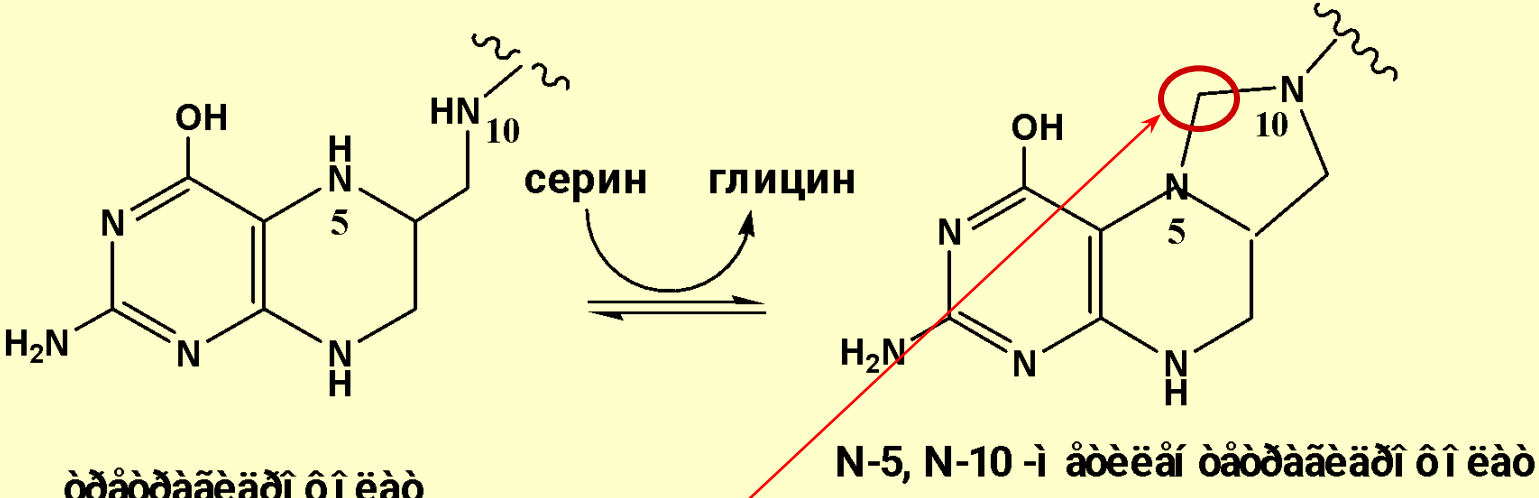
метионин



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.

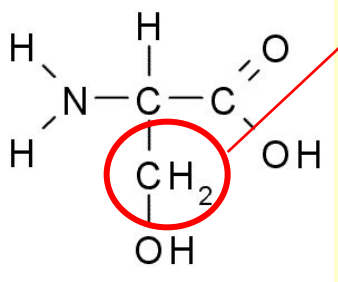
Роль тетрагидрофолата в метаболизме аминокислот

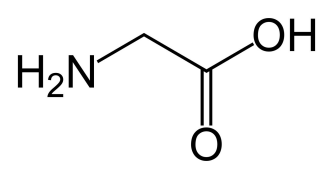


òðåòðàãèäðî ôî ëàò

акцептор -CH$_n$

N-5, N-10 -ì åòèëåí òåòðàãèäðî ôî ëàò





серин

2- амино-3-гидроксипропионовая кислота

глицин

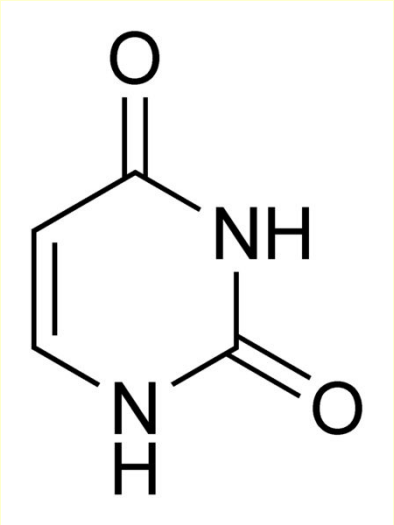
аминоуксусная кислота

Роль *N*-5, *N*-10-метилентетрагидрофолата в метаболизме азотистых оснований

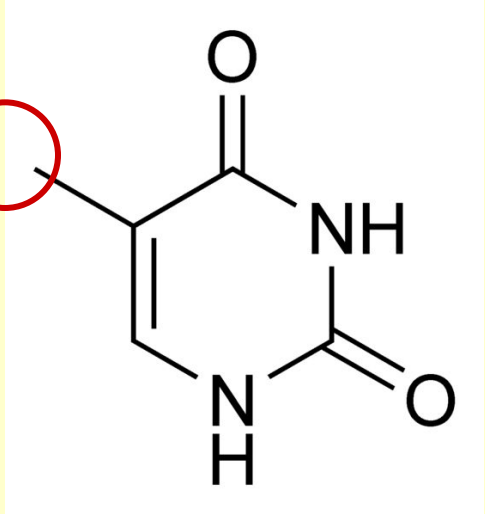
N-5,N-10-метилен-тетрагидрофолат
донор –CH_n

→

дигидрофолат



→



азотистое основание урацил

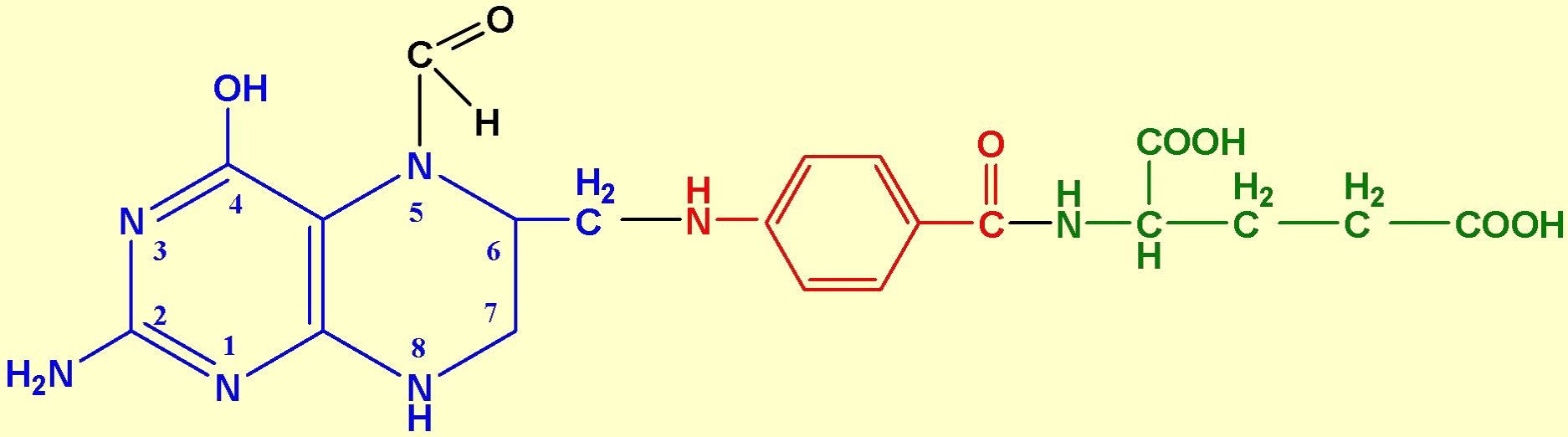
азотистое основание тимин (5-метилурацил)

Эта реакция ингибируется метотрексатом!

3. Фолиновая кислота - активный метаболит фолиевой к-ты

Фолиновая кислота */Цитроворум-фактор* -

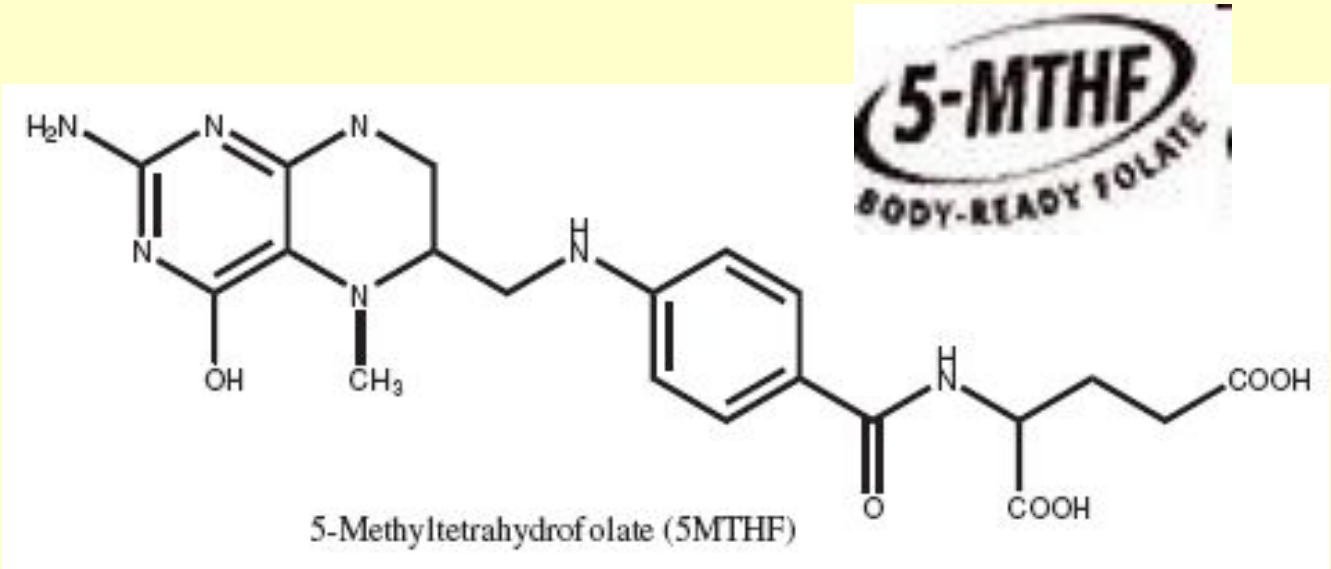
является фактором роста бактерий *Leuconostoc citrovorum* – ароматобразующие бактерии, применяющиеся в пищевой промышленности



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®* (*Merck*)

Beyaz® - новый препарат компании Bayer Schering Pharma AG (Германия): оральный контрацептив. 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.

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 $C_{мах}$ в крови достигает через 30-60 мин.

- Экскретируется почками, как в неизмененном виде, так и виде метаболитов.

Как выглядит кинетическая кривая?

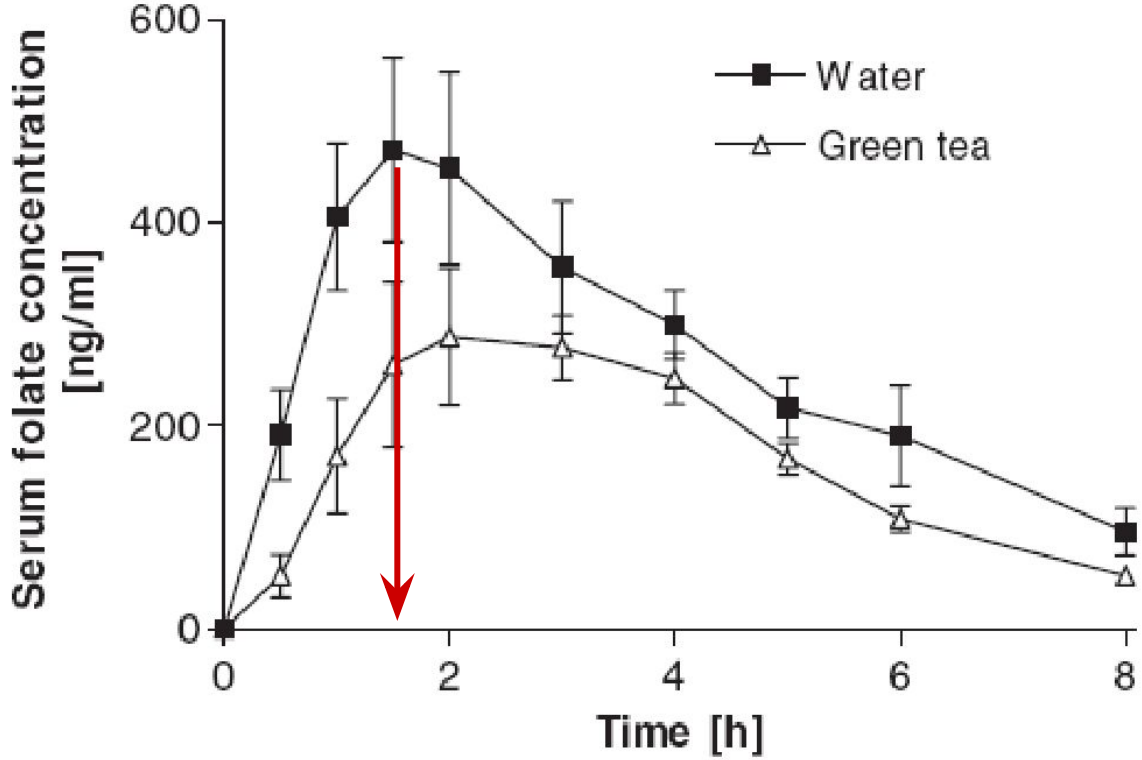


Figure 3. Serum folate concentrations (mean ± SEM) after 5 mg folic acid tablets administered with water (■) and green tea (Δ) in healthy volunteers

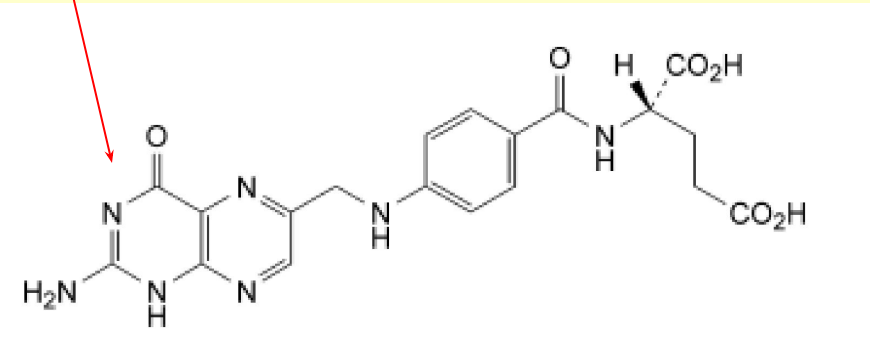
BIOPHARMACEUTICS & DRUG DISPOSITION
Biopharm. Drug Dispos. 29: 335–348 (2008)
Published online 12 June 2008 in Wiley InterScience
(www.interscience.wiley.com) DOI: 10.1002/bdd.617

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

N. Ceren Alemdaroglu[a], Ulrich Dietz[b], Siegfried Wolffram[c], Hildegard Spahn-Langguth[d] and Peter Langguth[a,*]

Фолиевая кислота – в мировых фармакопеях

Acidum folicum (Ph. Eur):

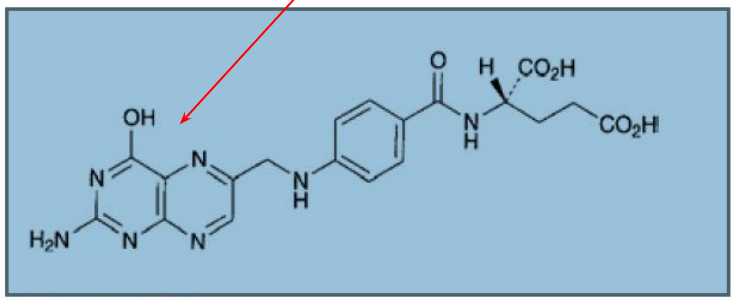


(2S)-2-[[4-[[(2-Amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl]amino]benzoyl]amino]pentanedioic acid

JP:

Folic Acid

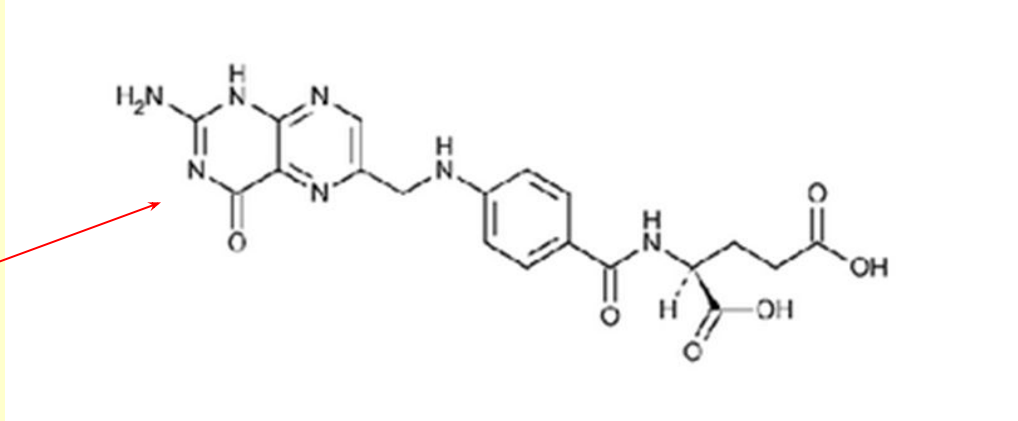
葉酸



$C_{19}H_{19}N_7O_6$: 441.40

N-{4-[(2-Amino-4-hydroxypteridin-6-ylmethyl)amino]benzoyl}-L-glutamic acid [*59-30-3*]

USP:

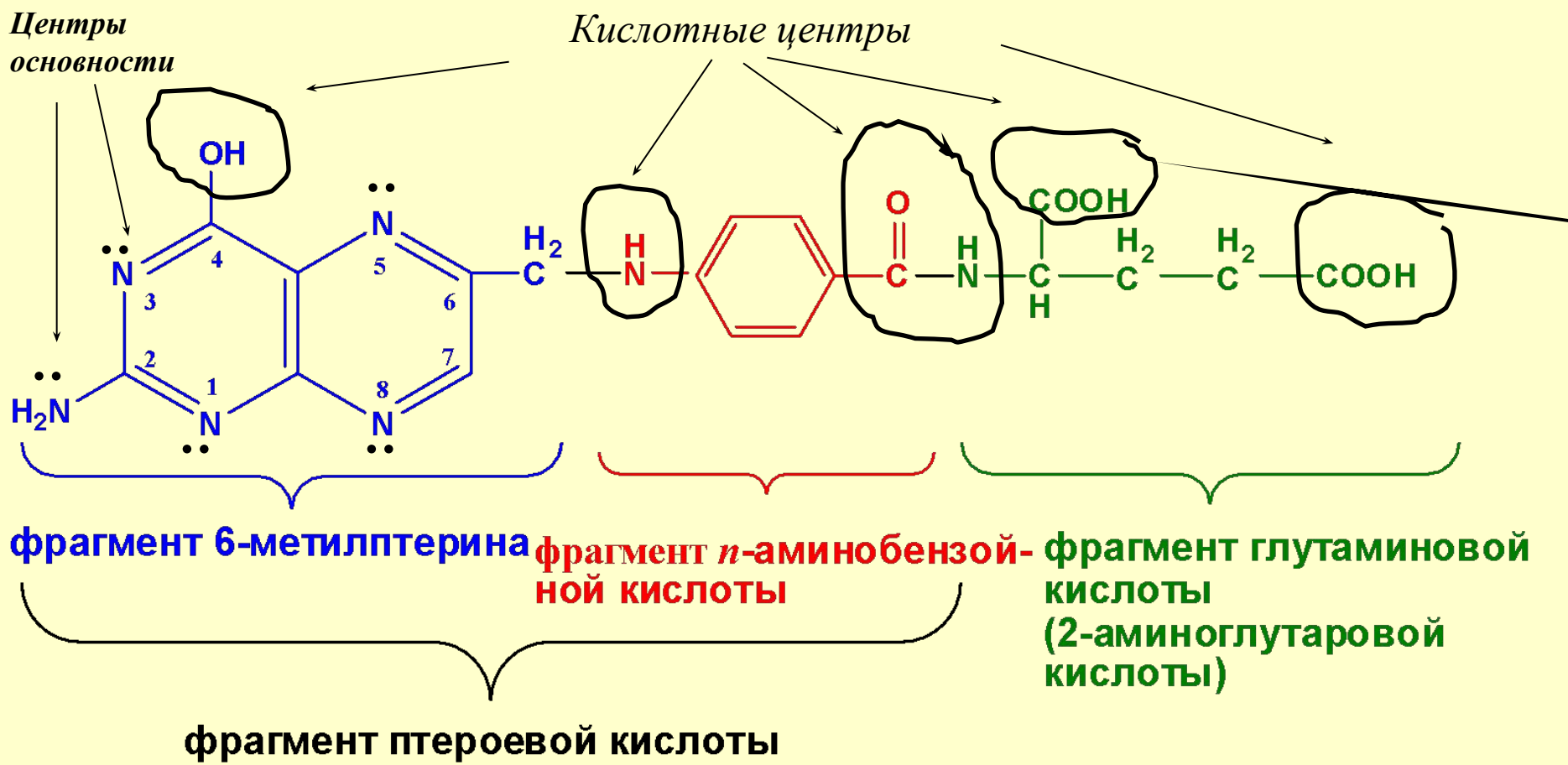


N-[4-[[(2-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-6-pteridinyl)methyl]amino]benzoyl]L-Glutamic acid

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_2SO_4) и в щелочных растворах.**

  Медленно разлагается на свету.



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

✔OH-кислоты (карбоновые кислоты, фенолы, спирты),

✔SH-кислоты (тиоловые соединения),

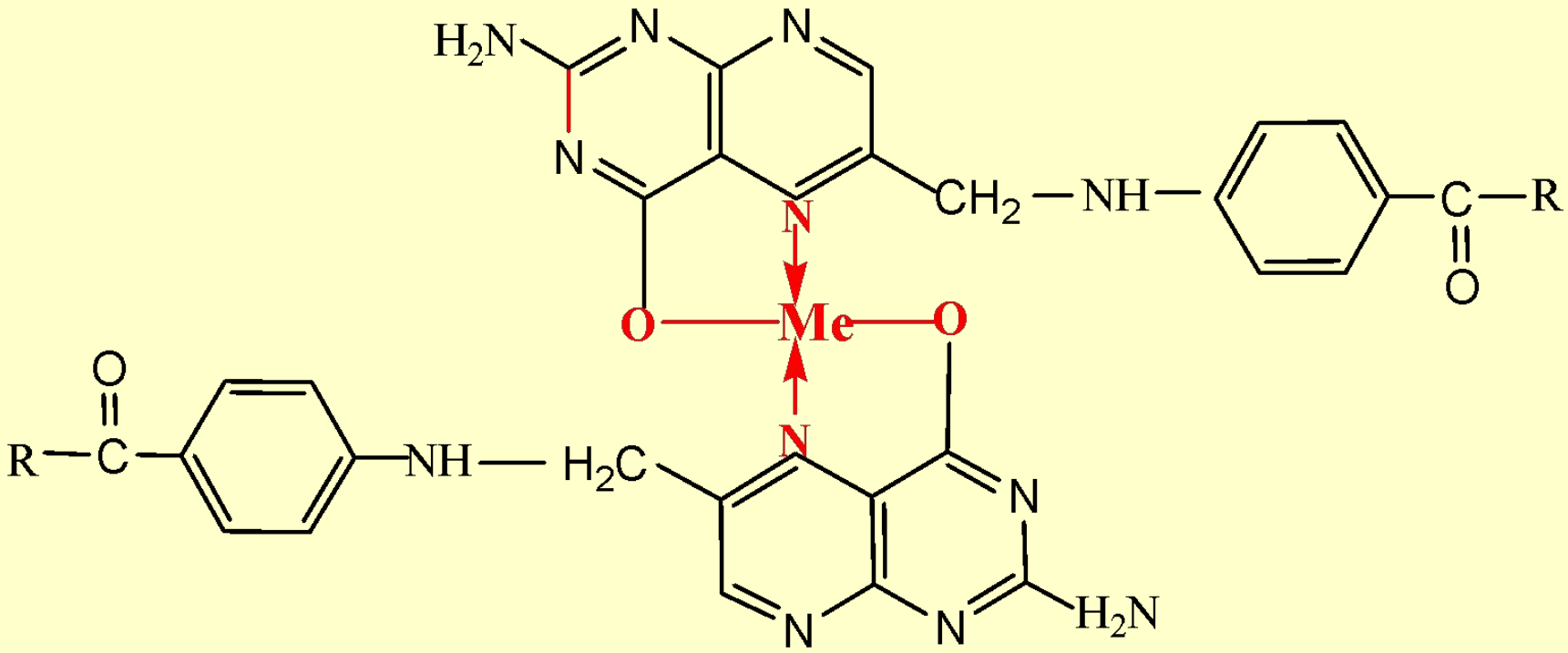
✔NH-кислоты (амины, амиды, имиды),

✔CH-кислоты (углеводороды и их производные).

→ Фолиевая кислота -

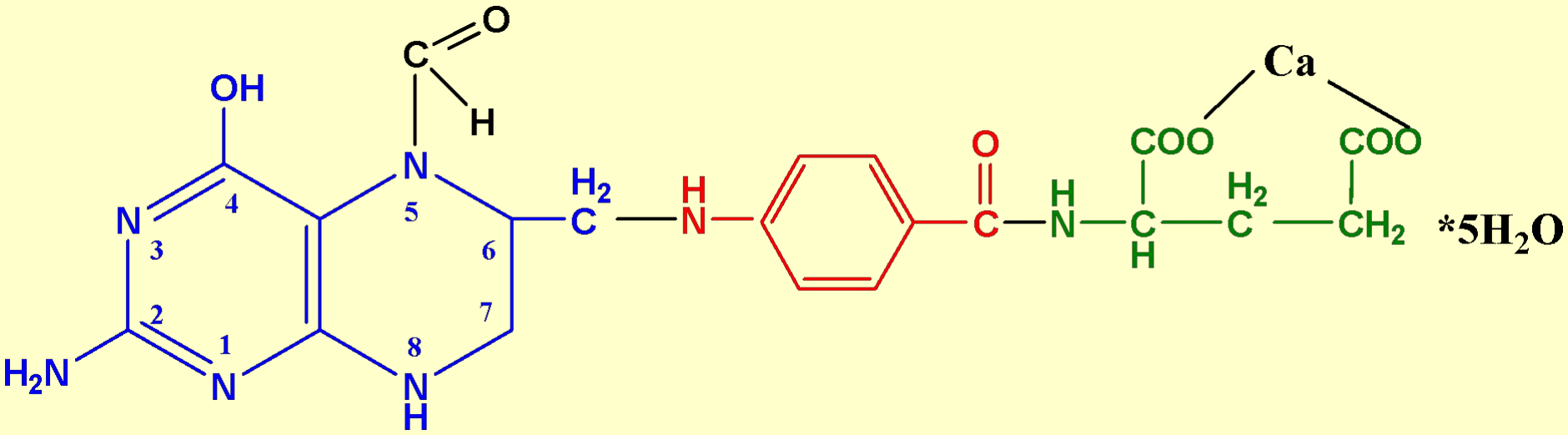
- **- Амфолит, с преобладанием кислотных свойств pKa=2,3**
- **- Образует моно-, ди-, тризамещенные растворимые соли со щелочами (NaOH), карбонатами (Na_2CO_3), водородкарбонатами ($NaHCO_3$) и аммиаком (NH_3).**
- **- Образует малорастворимые соли с ионами тяжелых металлов (Ag^+, Cu^{2+}, Co^{2+}…)**

Структура координационного центра фолиевой кислоты



- $Pb(CH_3COO)_2$ – **лимонно-желтый;**
- $CuSO_4$ – **зеленый;**
- $AgNO_3$ – **желто-оранжевый;**
- $Co(NO_3)_2$ – **темно-желтый;**
- $FeCl_3$ – **красный.**

Лейковорин
(соль фолиновой кислоты - фолинат кальция)

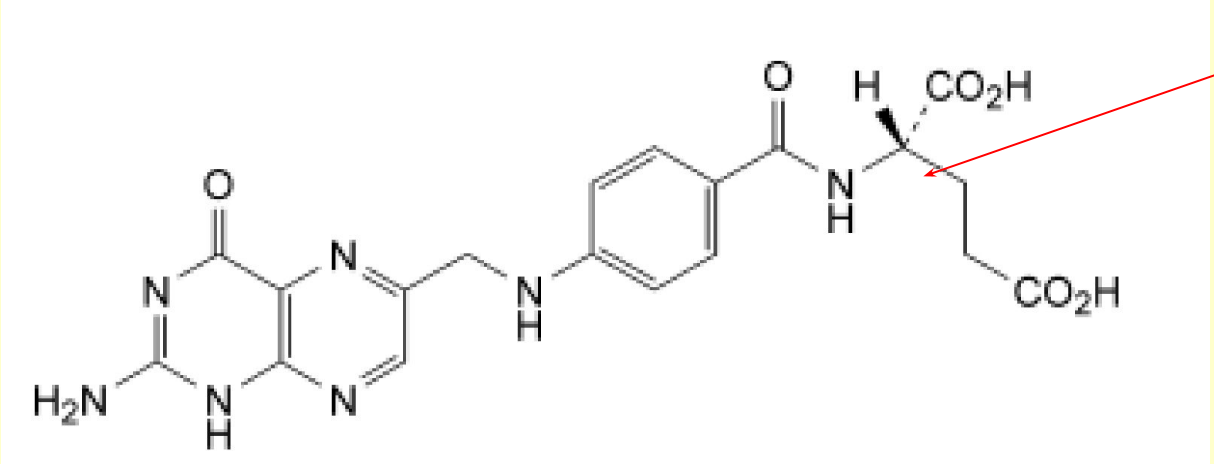


Определение подлинности

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).



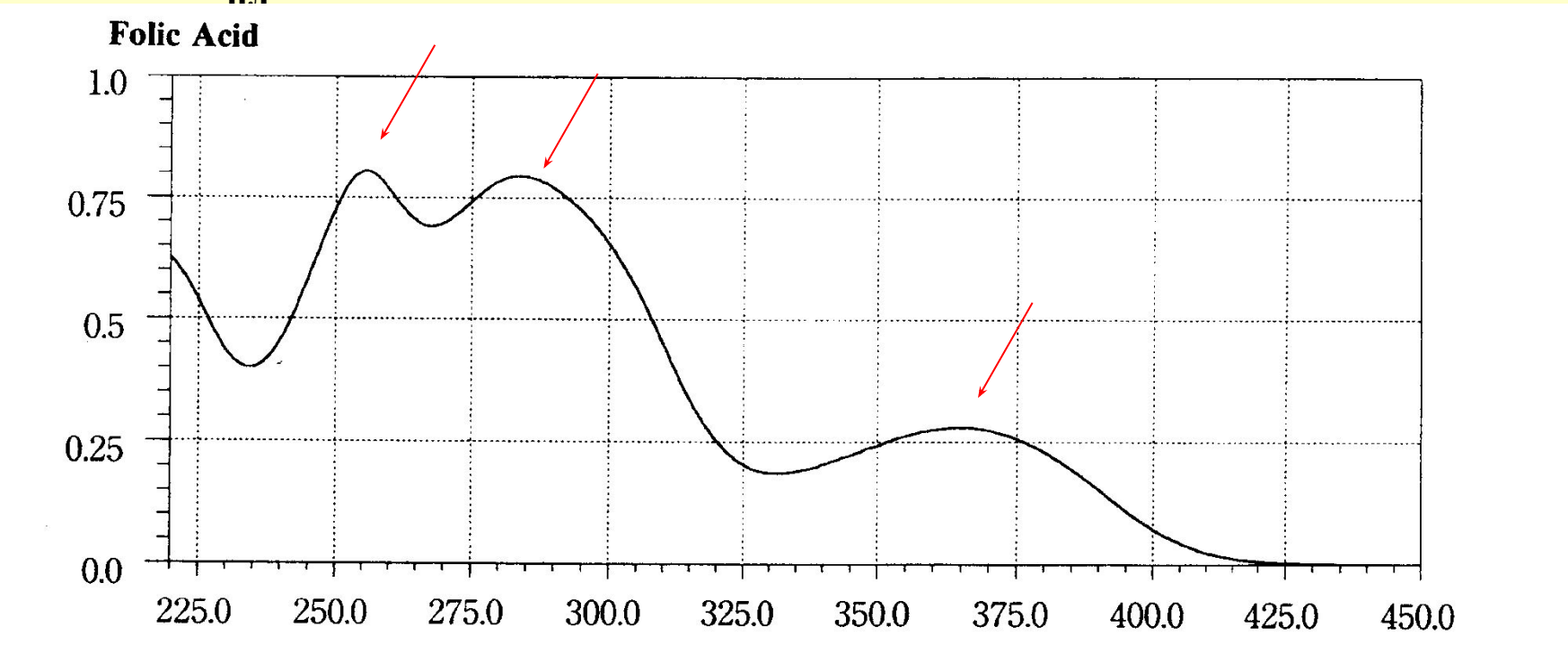
Хроматографические методы

- **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

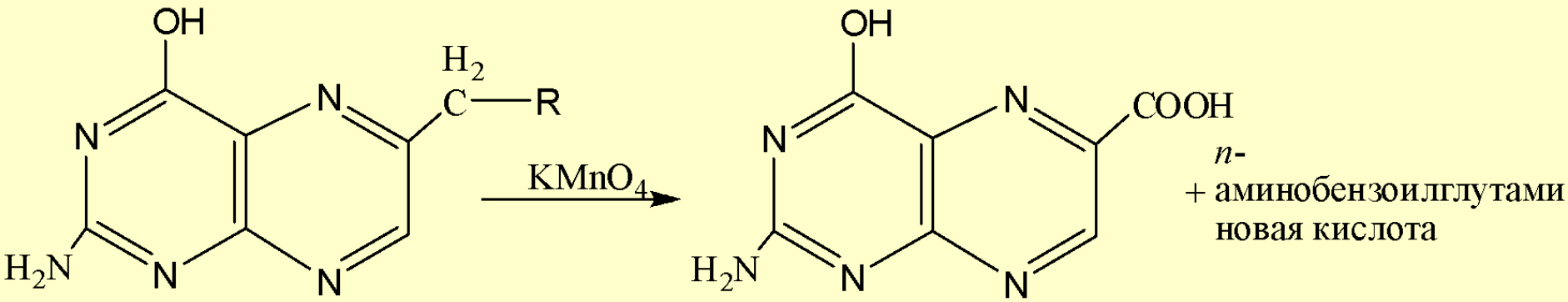


- 1, 5 мг ***ФОЛИЕВОЙ КИСЛОТЫ*** в 100 мл 0,1 моль/л растворе NaOH. Максимумы поглощения при

  λ = 256 нм, 283 нм, 365 нм
- Отношение $\mathbf{A}_{256}/\mathbf{A}_{365}$ = 2,8-3,0

Окисление (JP XV)

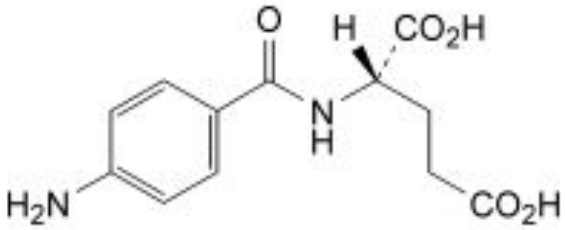
- ✔ *К 10 мл раствора для спектрофотометрии добавить по каплям раствор $KMnO_4$.*
- ✔ *Хорошо перемешать до появления голубой окраски.*
- ✔ *Фильтрат имеет голубую флуоресценцию в УФ-свете (365 нм).*



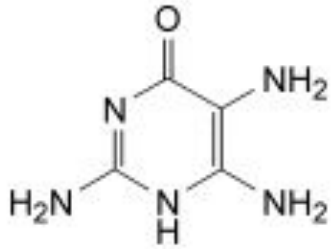
2-амино-4-гидрокси-6-птеридилкарбоновая кислота
птеридин-6-карбоновая кислота

Оценка чистоты (определение примесей)

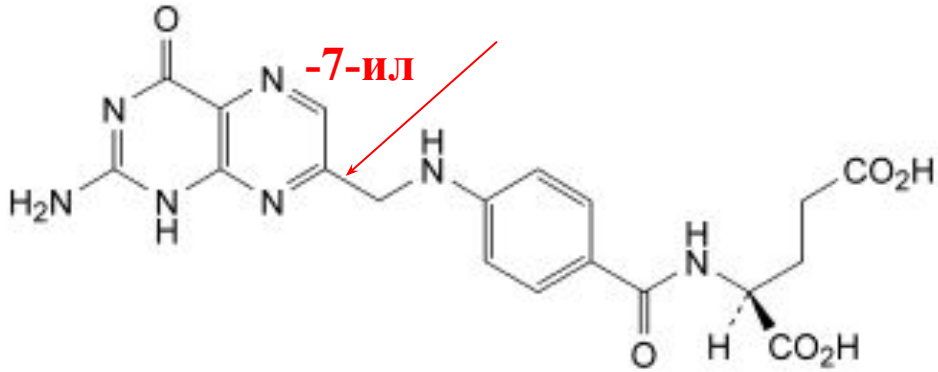
- **Прозрачность и цветность –** раствор 0,1 г в 10 мл 0,1 моль/л NaOH прозрачен и имеет желтую окраску.
- **Родственные примеси** - метод ВЭЖХ.
- **Вода** от 5,0% до 8,5% для навески 0,150 г.
- **Сульфатная зола** – не более 0,2% для навески 1,0 г.



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

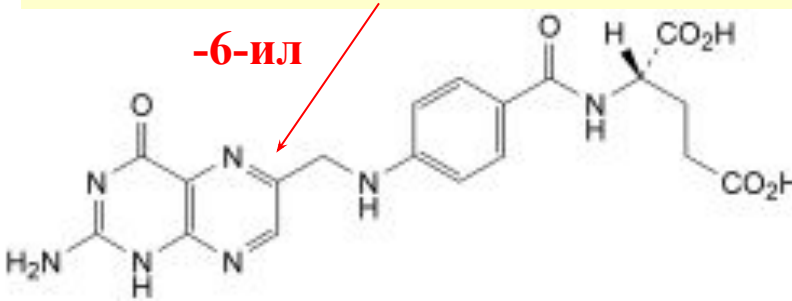


B. 2,5,6-triaminopyrimidin-4(1*H*)-one,



C. (2*S*)-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) – λ=550 нм.
- **Полярография** (фон - спиртовой раствор NH_4Cl, $E_{1/2}$=0,6В).
- **Флуорометрия** – голубая флуоресценция 6-птеринкарбоновой кислоты.

Задача

Сделать вывод о качестве субстанции Фолиевая кислота в соответствие с Ph. Eur: $[\alpha]_D^{20}$=+18 ÷ +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^0;
- ✔длина поляриметрической трубки l=10 см;
- ✔величина угла вращения (получена экспериментально) α=+ $0{,}21^0$