

09.04.2013 г



Лекция 8

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА – ПРОИЗВОДНЫЕ ПТЕРИДИНА

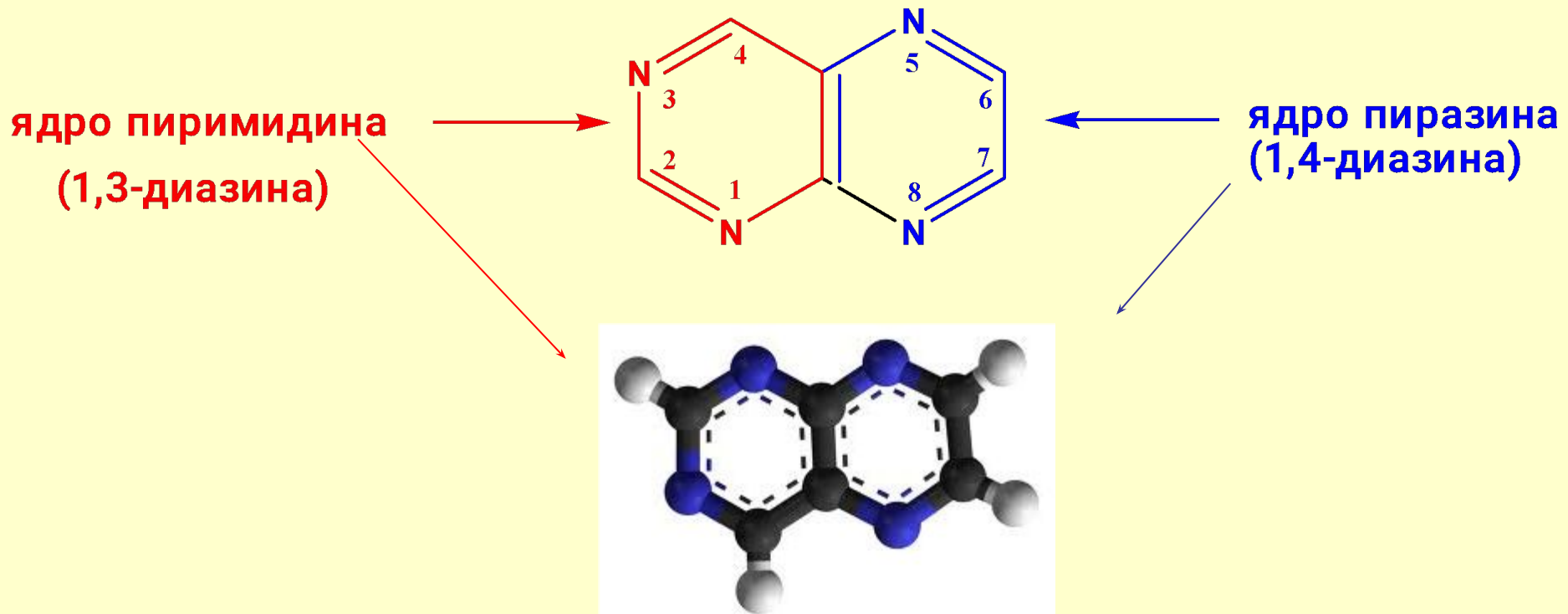
Перечень лекарственных средств в соответствии с учебной программой:

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

2. *Метотрексат*

Синтетический аналог фолиевой кислоты. Антиметаболит.

1. Химическое строение птеридина



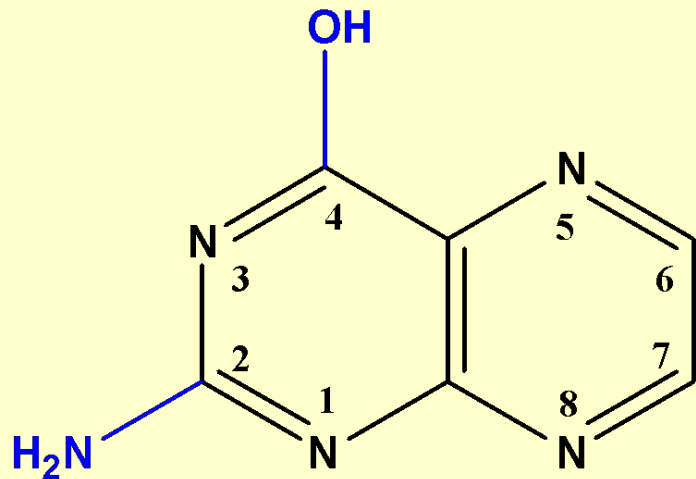
Птеридин - химическое соединение, состоящее из пиримидинового и пиазинового гетероциклических колец.

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

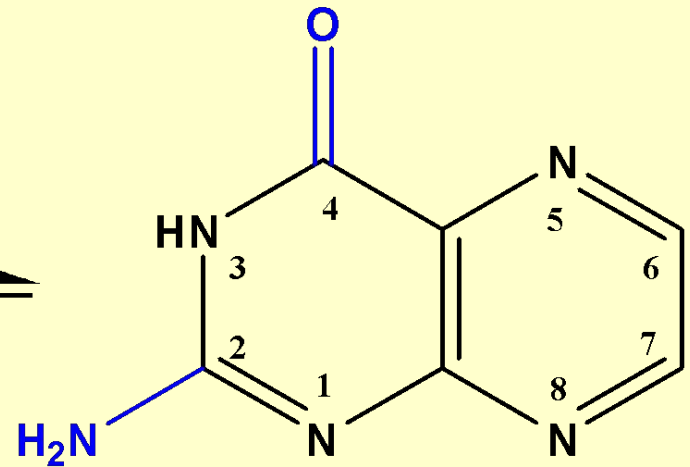
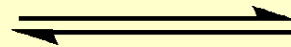
Природные производные птеридина – **птерины**

Птерин - это **2-амино-4-гидрокси**птеридин

Прототропная таутомерия

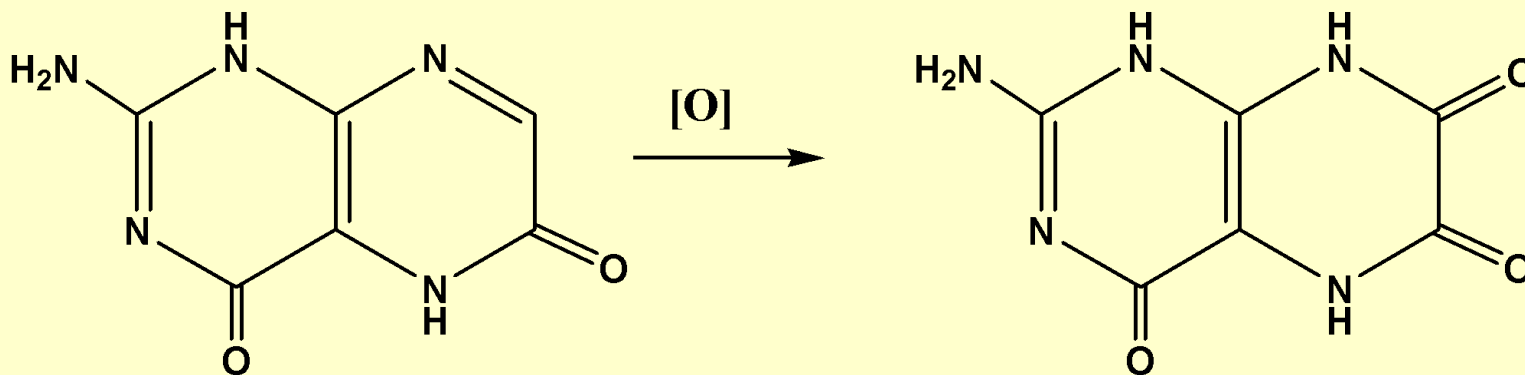


2-амино-4-гидроксиптеридин



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

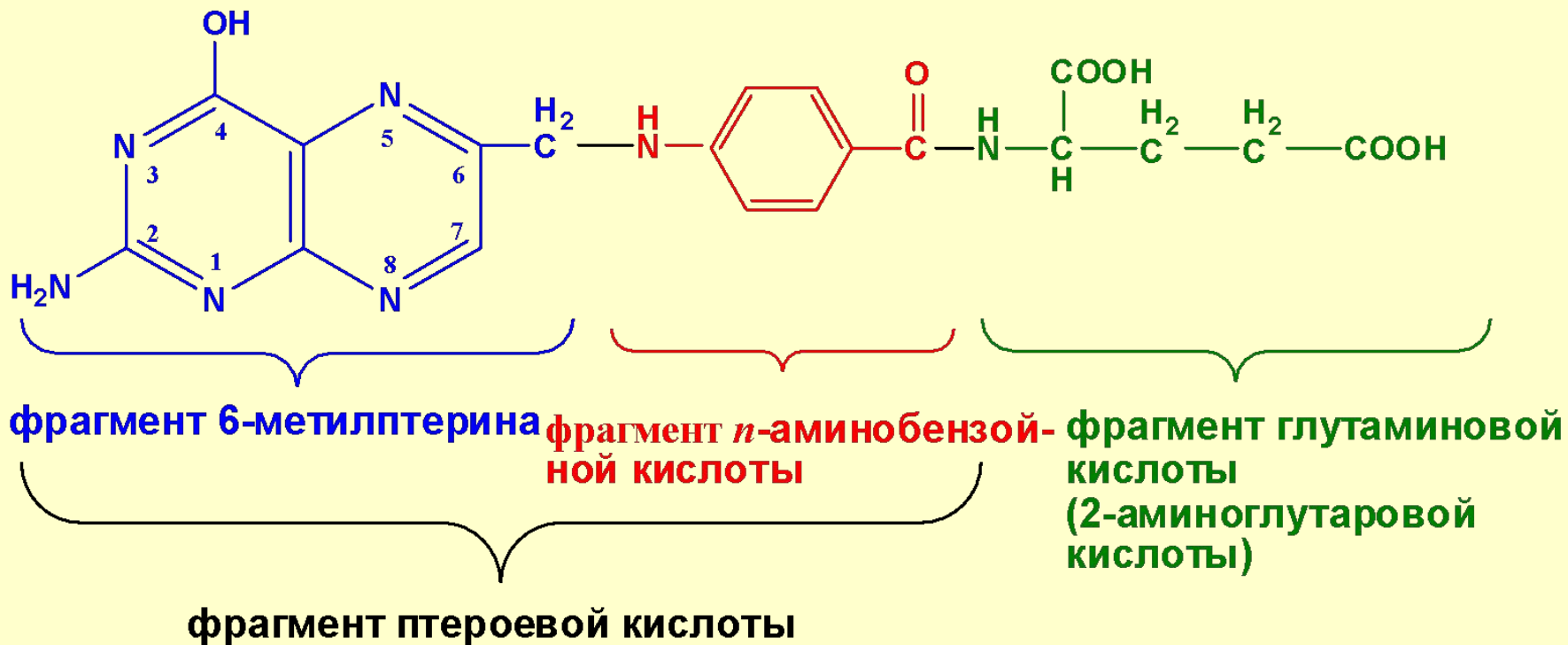
ксанто... —
(греч. желтый)
первая часть
сложных слов



Птериновые витамины – фолацины

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

Витамин В₉, 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_С – 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:*

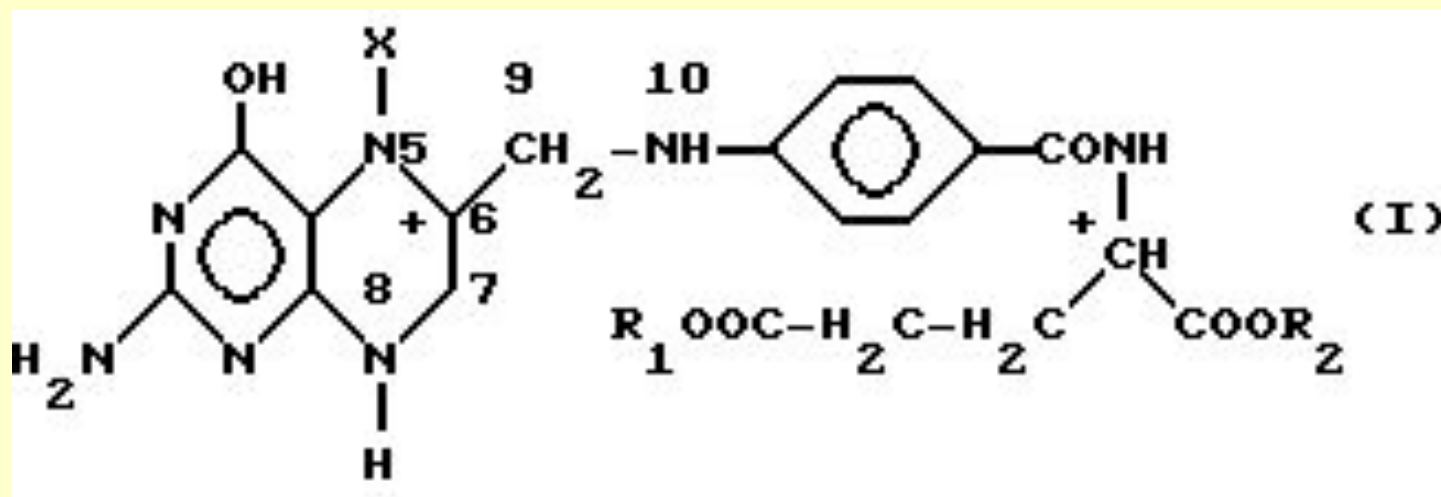


НАД ФН/НАД Ф⁺ - фосфат никотинамидадениндинуклеотида - кофермент в окислительно-восстановительных процессах

Эта реакция ингибируется метотрексатом

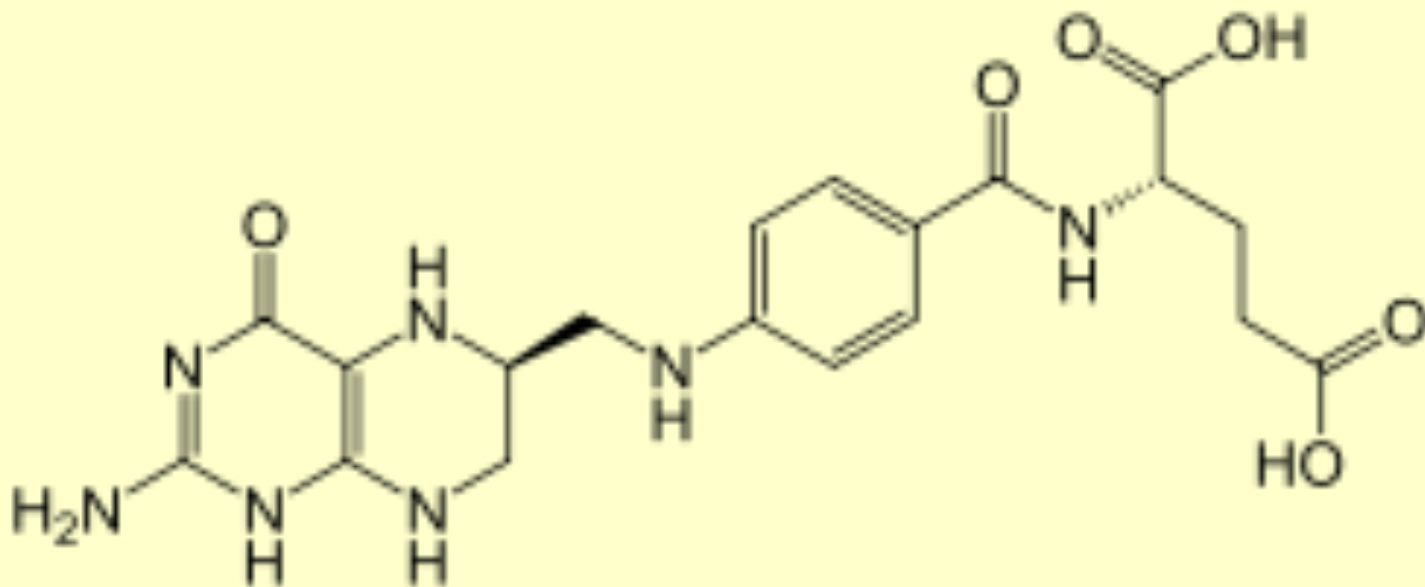
ПАТЕНТ: «Способ получения (6s)-изомеров производных фолиевой кислоты»

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.

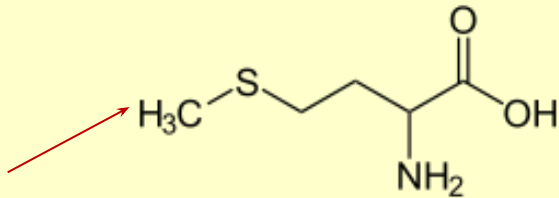


Тетрагидрофолиевая кислота (ТГФК)

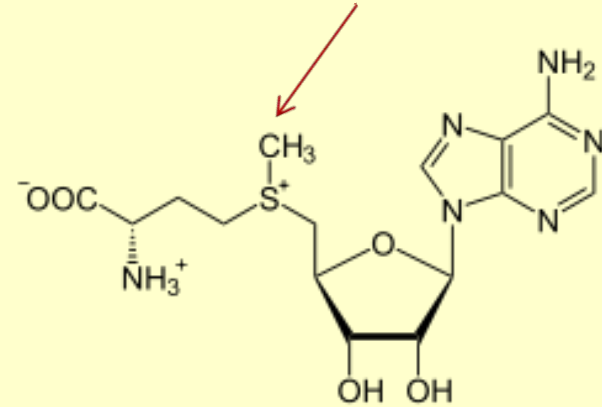
Роль тетрагидрофолата (ТГФК) в метаболизме аминокислот

Перенос одноуглеродных остатков

Химически активная группа $-CH_3$



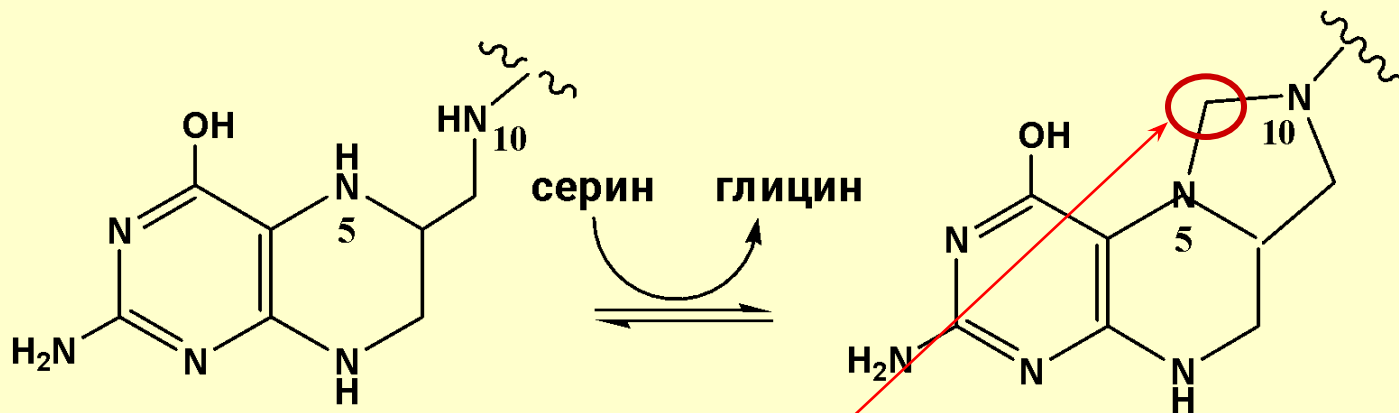
метионин



S-Аденозил метионин (SAMe)

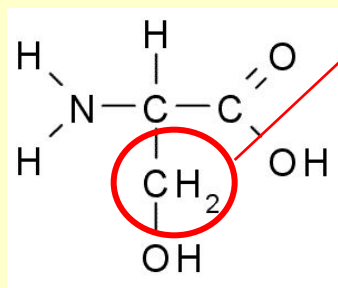
- ТГФК необходима для синтеза метионина;
- Метионин необходим для синтеза S-аденозилметионина - кофермента, принимающий участие в реакциях переноса метильных групп;
- Трансметилирование используется во многих биохимических реакциях например, метилирование участков РНК и ДНК;
- Метилирование ДНК может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

Роль тетрагидрофолата в метаболизме аминокислот



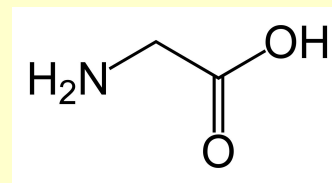
акцептор $-CH_n$

N-5, N-10 - метил



серин

2-амино-3-гидроксипропионовая кислота

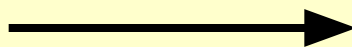


глицин

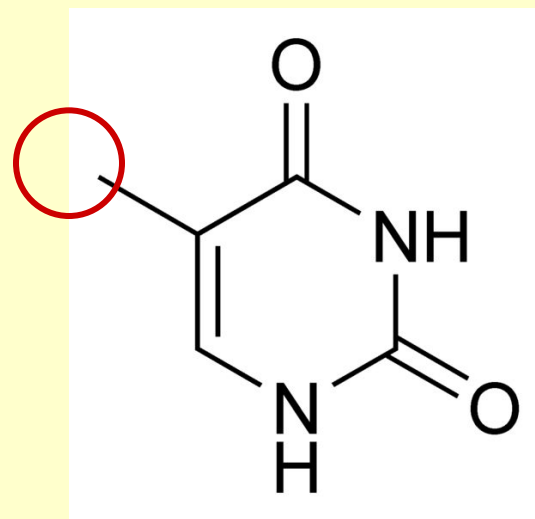
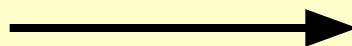
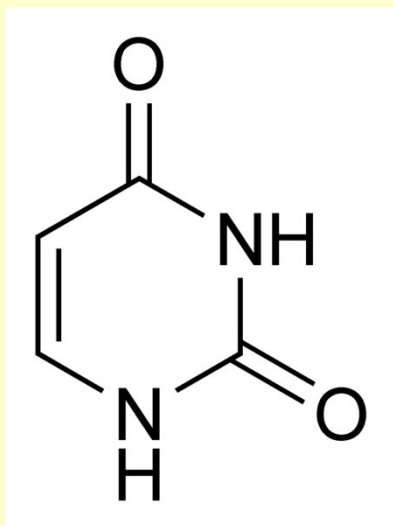
аминоуксусная кислота

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

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



дигидрофолат



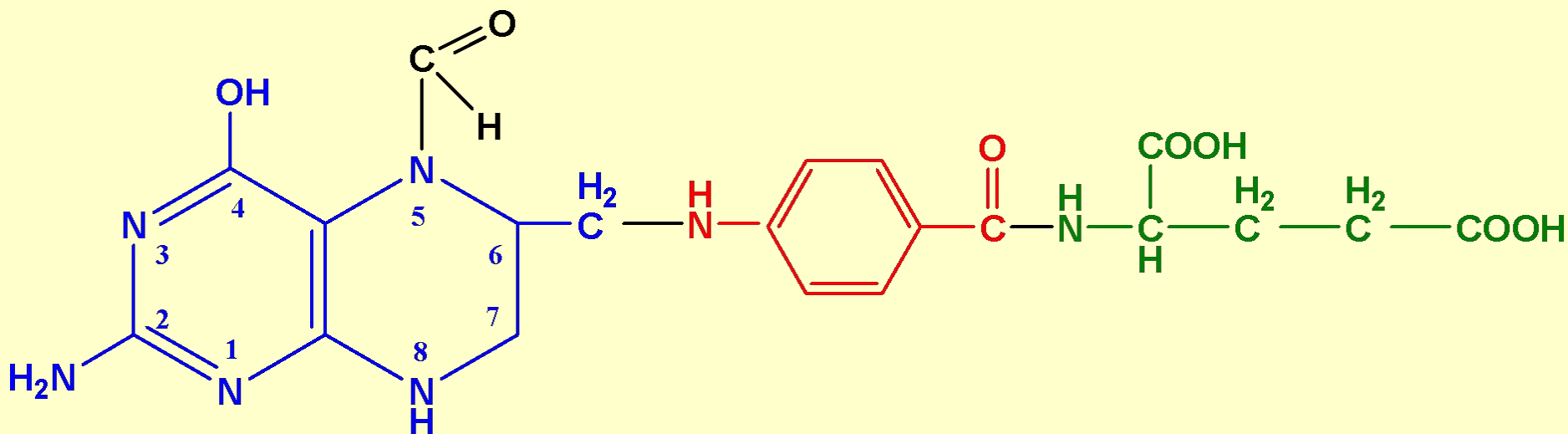
азотистое основание **урацил**

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

Эта реакция ингибируется метотрексатом!

3. Фолиновая кислота - активный метаболит фолиевой к-ты

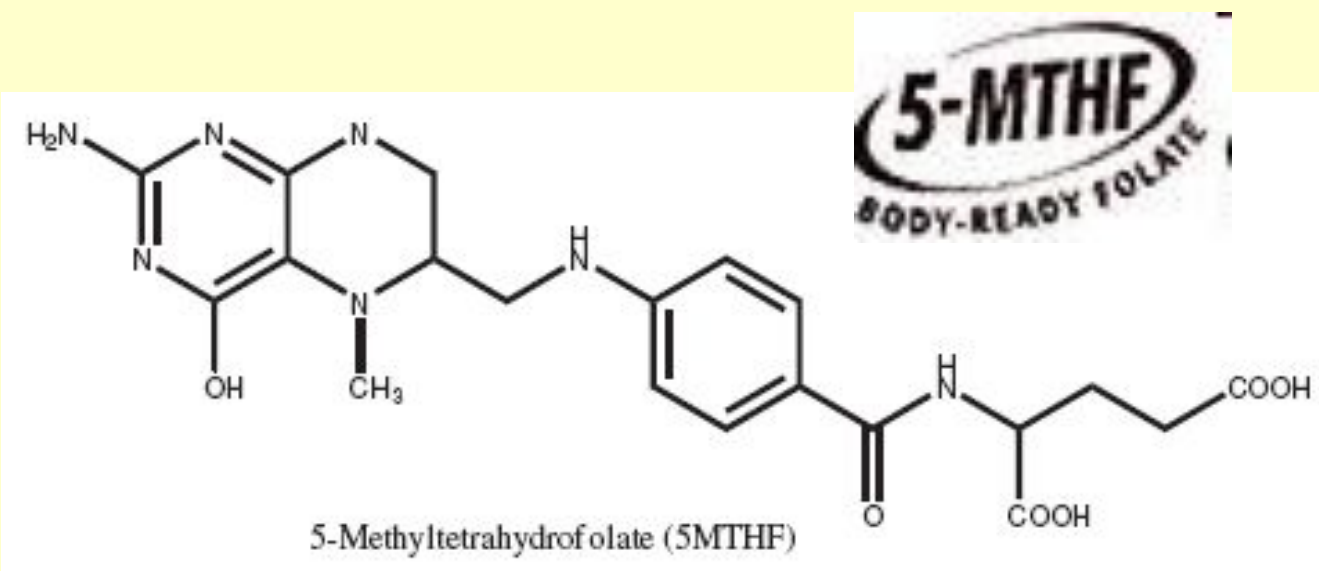
Фолиновая кислота /*Цитроворум-фактор* -
является фактором роста бактерий *Leuconostoc citrovorum* – ароматобразующие
бактерии, применяющиеся в пищевой промышленности



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*[®] (Merck)

Beyaz[®] - 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_{max} в крови достигает через 30-60 мин.
- Экскретируется почками, как в неизмененном виде, так и виде метаболитов.

Как выглядит кинетическая кривая?

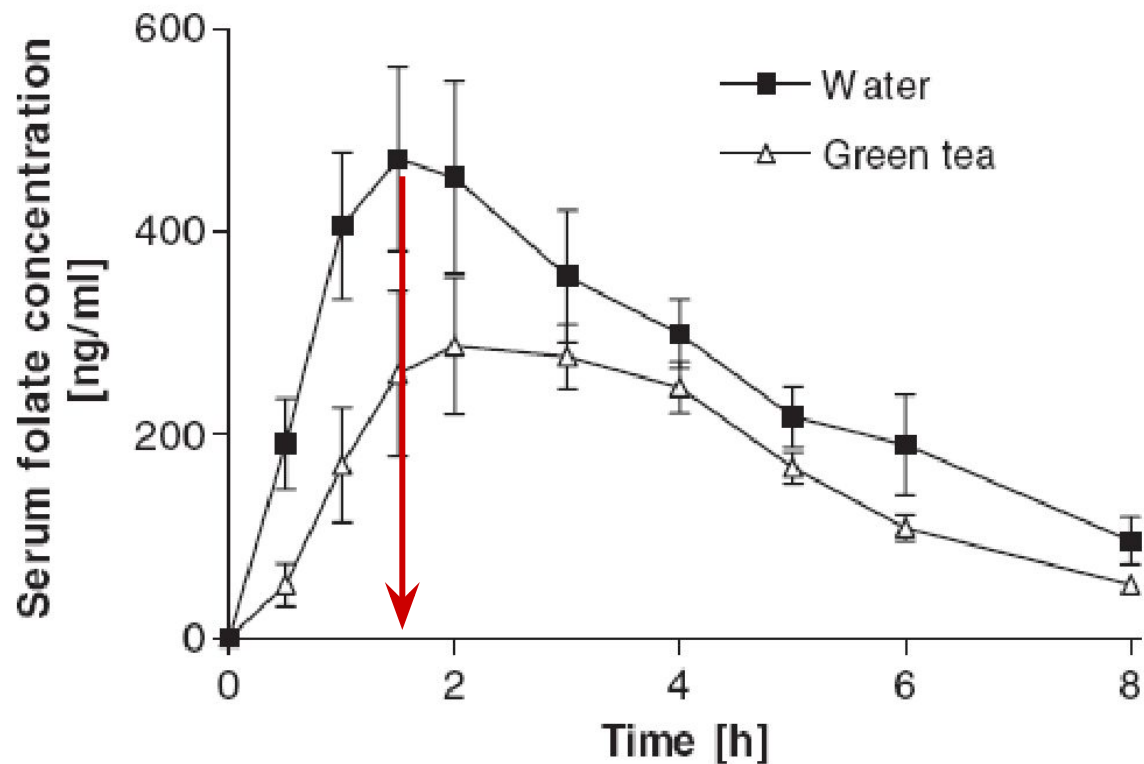


Figure 3. Serum folate concentrations (mean \pm SEM) after 5 mg folic acid tablets administered with water (■) and green tea (Δ) in healthy volunteers

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

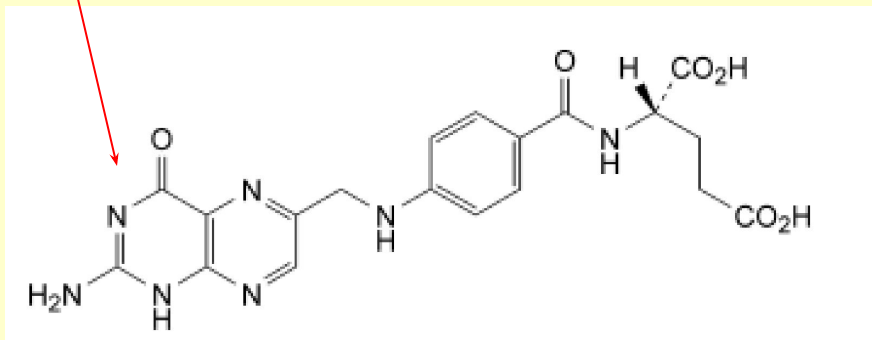
Influence of Green and Black Tea on Folic Acid Pharmacokinetics in Healthy Volunteers: Potential Risk of Diminished Folic Acid Bioavailability

N. Ceren Alemdaroglu^a, Ulrich Dietz^b, Siegfried Wolfram^c, Hildegard Spahn-Langguth^d and Peter Langguth^{a,*}

Фолиевая кислота – в мировых фармакопеях

Acidum folicum (Ph. Eur):

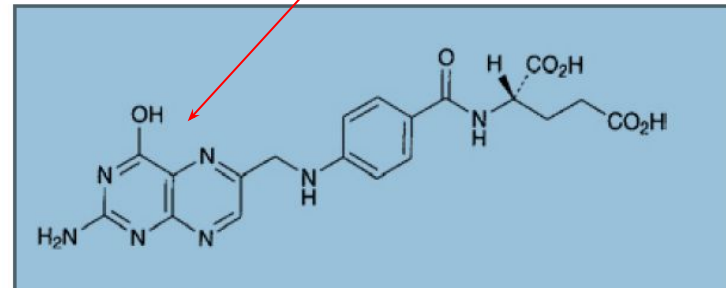
JP:



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

Folic Acid

葉酸

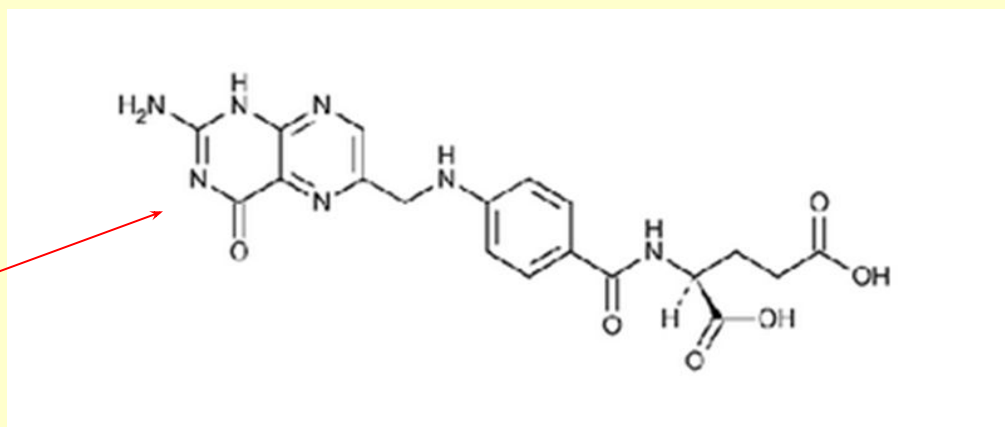


C₁₉H₁₉N₇O₆: 441.40

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

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

USr:



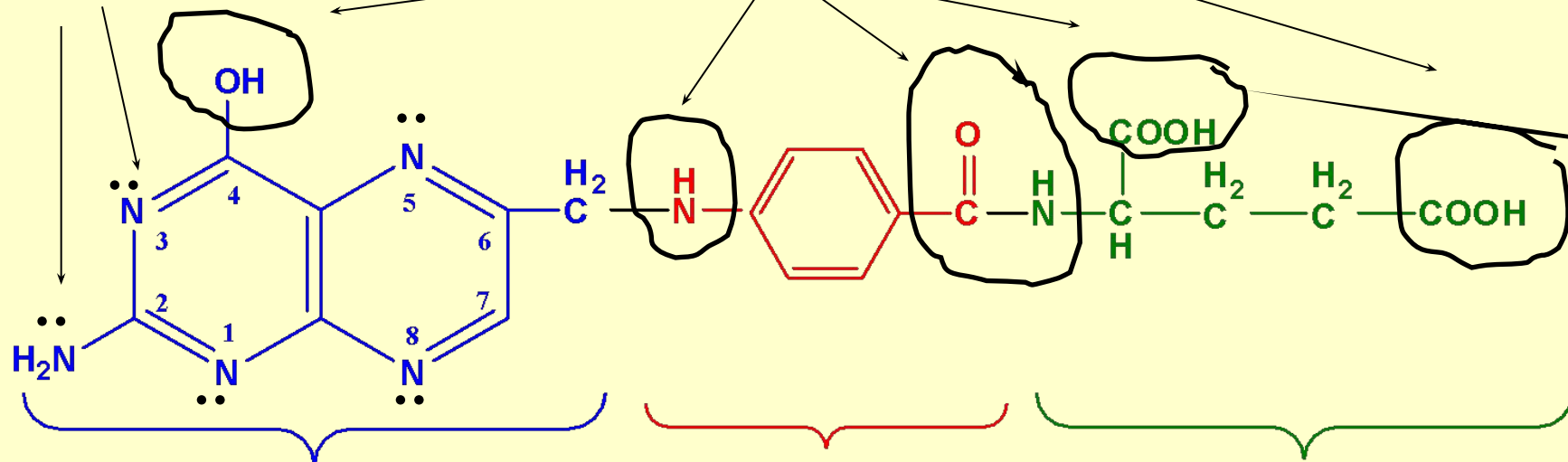
N-[4-[[2-Amino-1,4-dihydro-4-oxo-6-pteridinyl)methyl]amino]benzoyl]L-Glutamic acid

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 H₂SO₄) и в щелочных растворах.**
- Медленно разлагается на свету.**

Центры
основности

Кислотные центры



фрагмент 6-метилптерина

фрагмент *n*-аминобензой-
НОЙ КИСЛОТЫ

фрагмент глутаминовой
КИСЛОТЫ
(2-аминоглутаровой
КИСЛОТЫ)

фрагмент птероевой кислоты

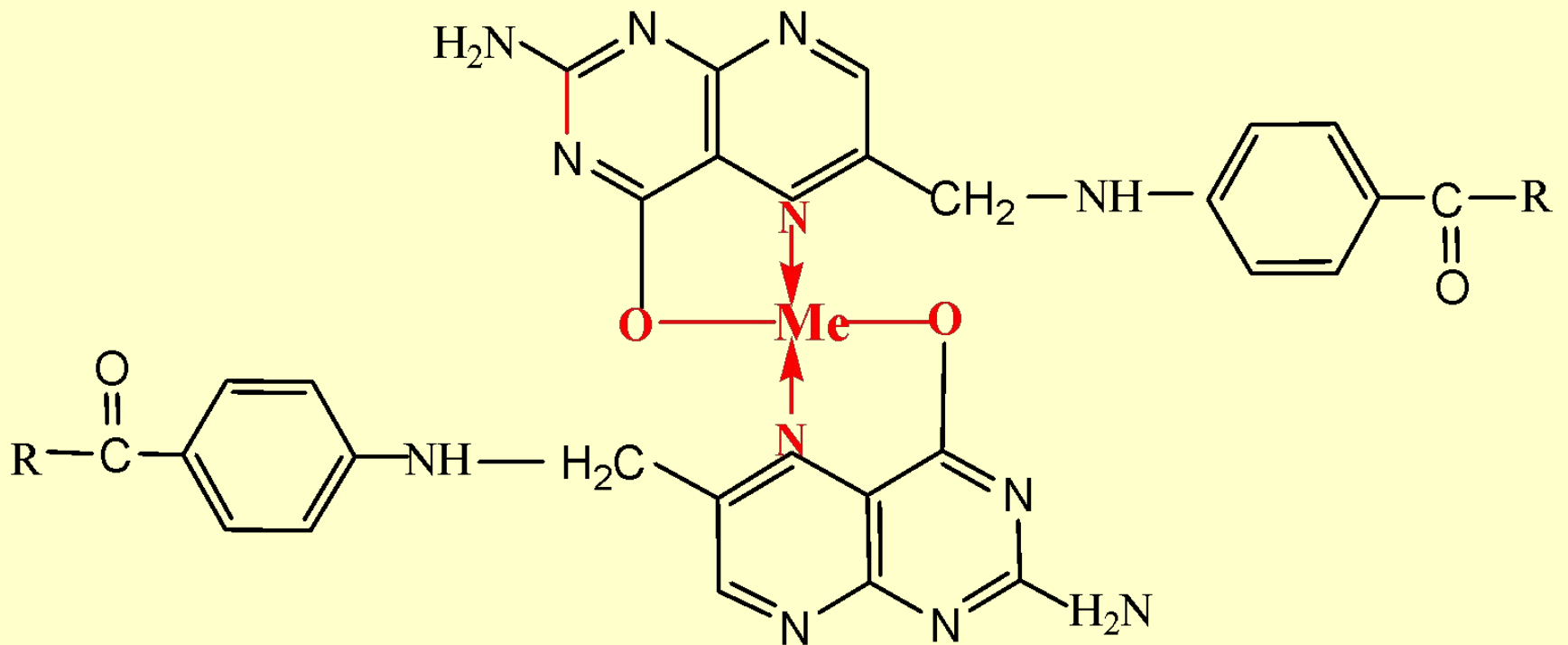
По природе кислотного центра большинство кислот Бренстеда может быть представлено четырьмя типами:

- ✓ 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+} ...)

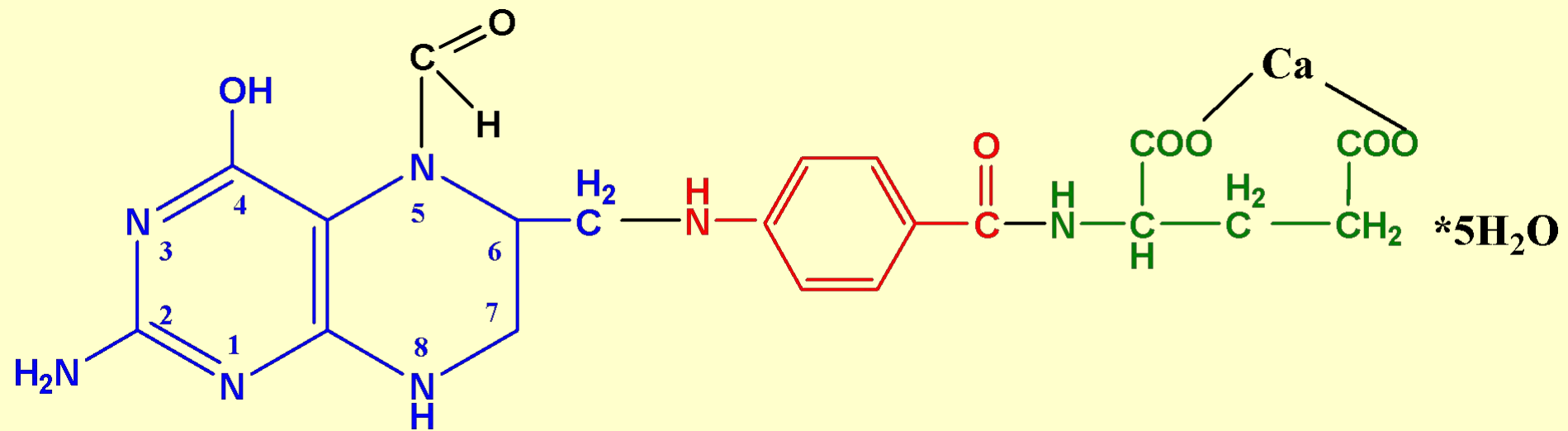
Структура координационного центра фолиевой кислоты



- $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ – лимонно-желтый;
- CuSO_4 – зеленый;
- AgNO_3 – желто-оранжевый;
- $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ – темно-желтый;
- FeCl_3 – красный.

Лейковорин

(соль фолиновой кислоты - фолинат кальция)

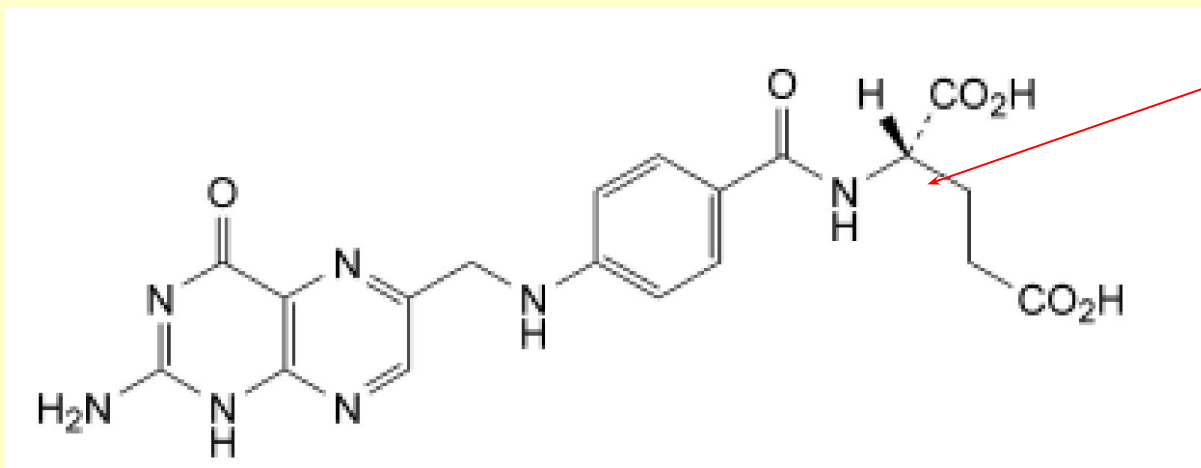


Определение подлинности

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).

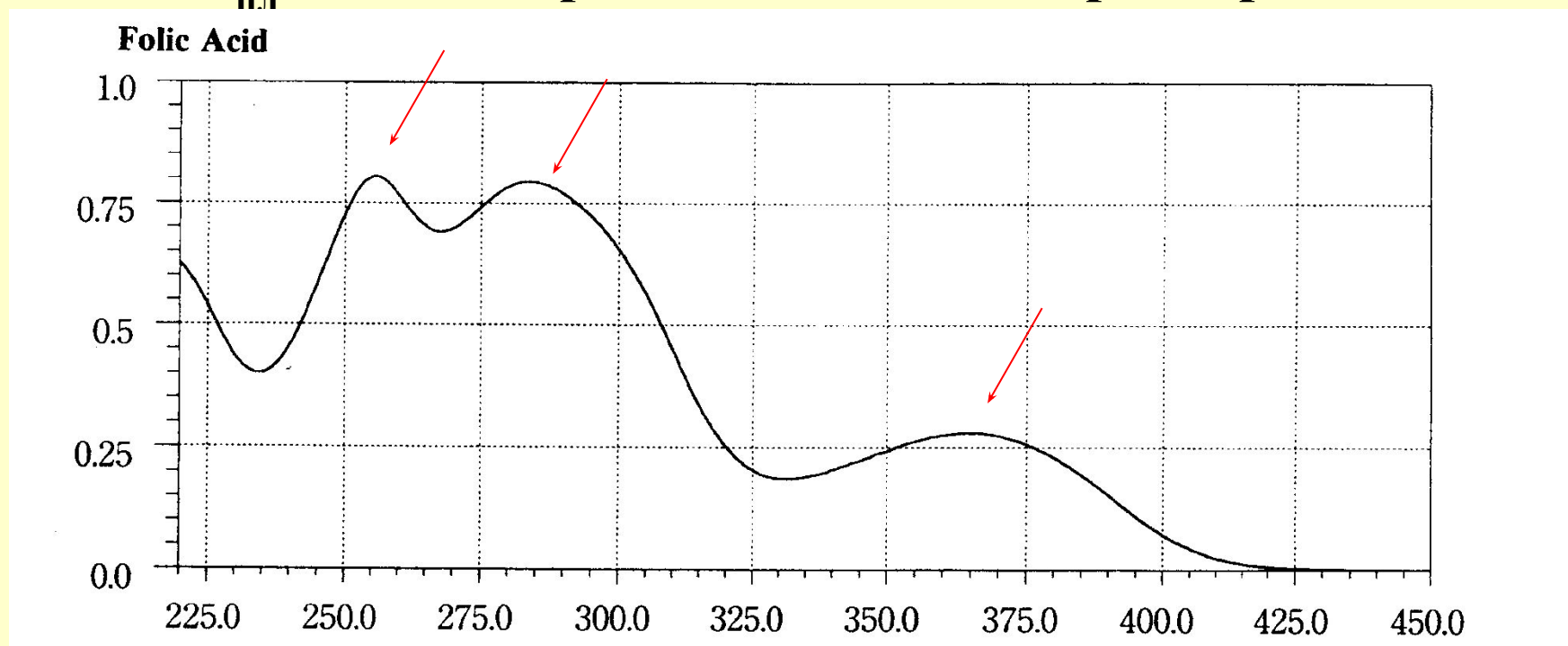


Хроматографические методы

- **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

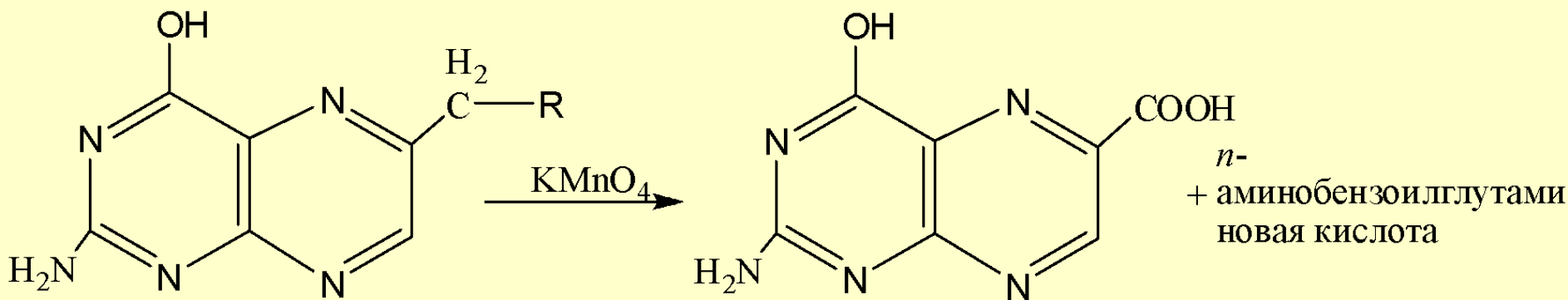
$T_{пл}$, ИК-спектроскопия, УФ-спектрометрия



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

Окисление (JP XV)

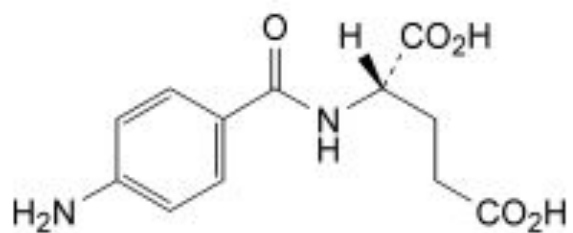
- ✓ К 10 мл раствора для спектрофотометрии добавить по каплям раствор $KMnO_4$.
- ✓ Хорошо перемешать до появления голубой окраски.
- ✓ Фильтрат имеет голубую флуоресценцию в УФ-свете (365 нм).



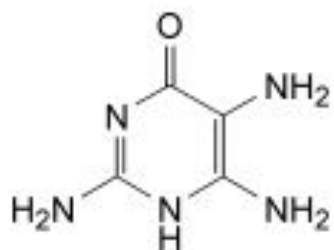
*2-амино-4-гидрокси-6-
птеридилкарбоновая кислота
птеридин-6-карбоновая
кислота*

Оценка чистоты (определение примесей)

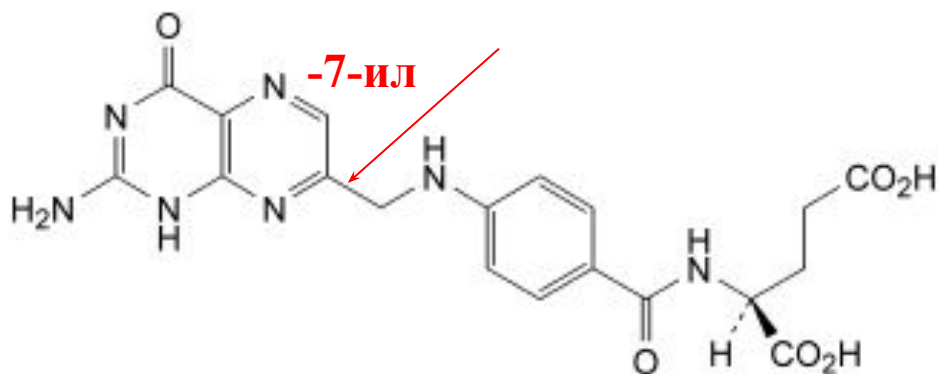
- **Прозрачность и цветность** – раствор 0,1 г в 10 мл 0,1 моль/л NaOH прозрачен и имеет желтую окраску.
- **Родственные примеси** - метод ВЭЖХ.
- **Вода** от 5,0% до 8,5% для навески 0,150 г.
- **Сульфатная зола** – не более 0,2% для навески 1,0 г.



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

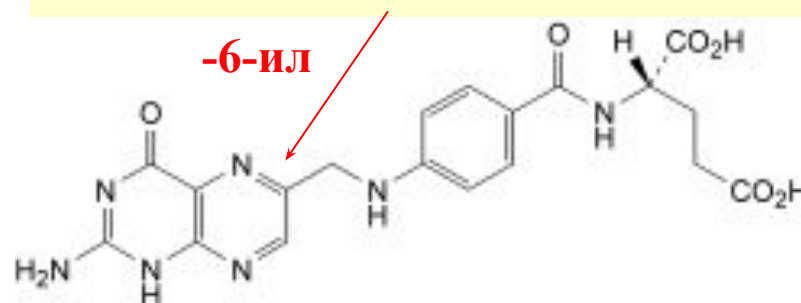


B. 2,5,6-triaminopyrimidin-4(1*H*)-one,



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 NH_4Cl , $E_{1/2}=0,6\text{В}$).
- **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 $T=21$ C⁰;
- ✓ длина поляриметрической трубки $l=10$ см;
- ✓ величина угла вращения (получена экспериментально)
 $\alpha = + 0,21^0$