



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

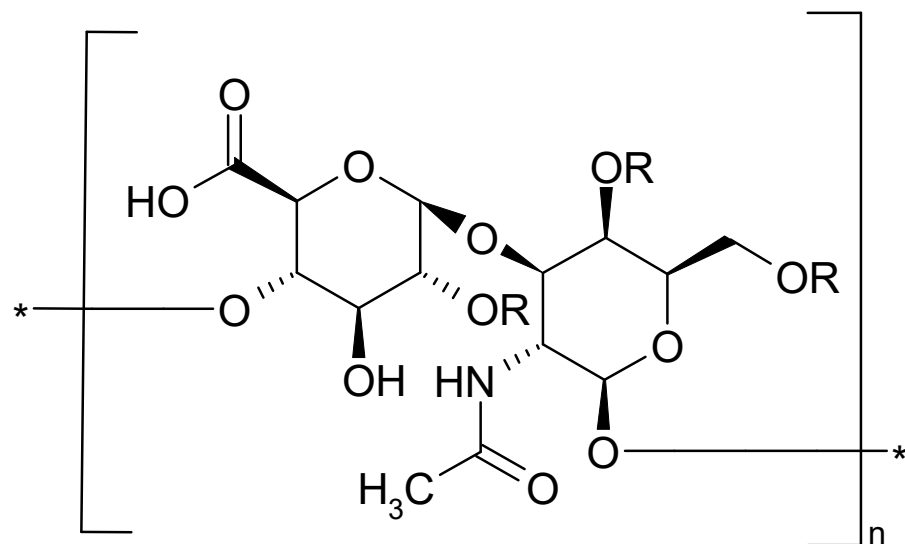
Předmět: Biofarmaceutika

Kurz: Bioléčiva – biofarmaceutika
4. rok studia

Poly- a oligosacharidy jako léčiva

doc. PharmDr. Oldřich Farsa, Ph.D.

Léčiva arthrosy a artritidy



Chondroitin-sulfát

R = -H nebo -SO₂O⁻

poly-β-D-glukurono-(1→3)-2-deoxy-2-(acetylamino)-β-D-galaktopyranosa polysulfát

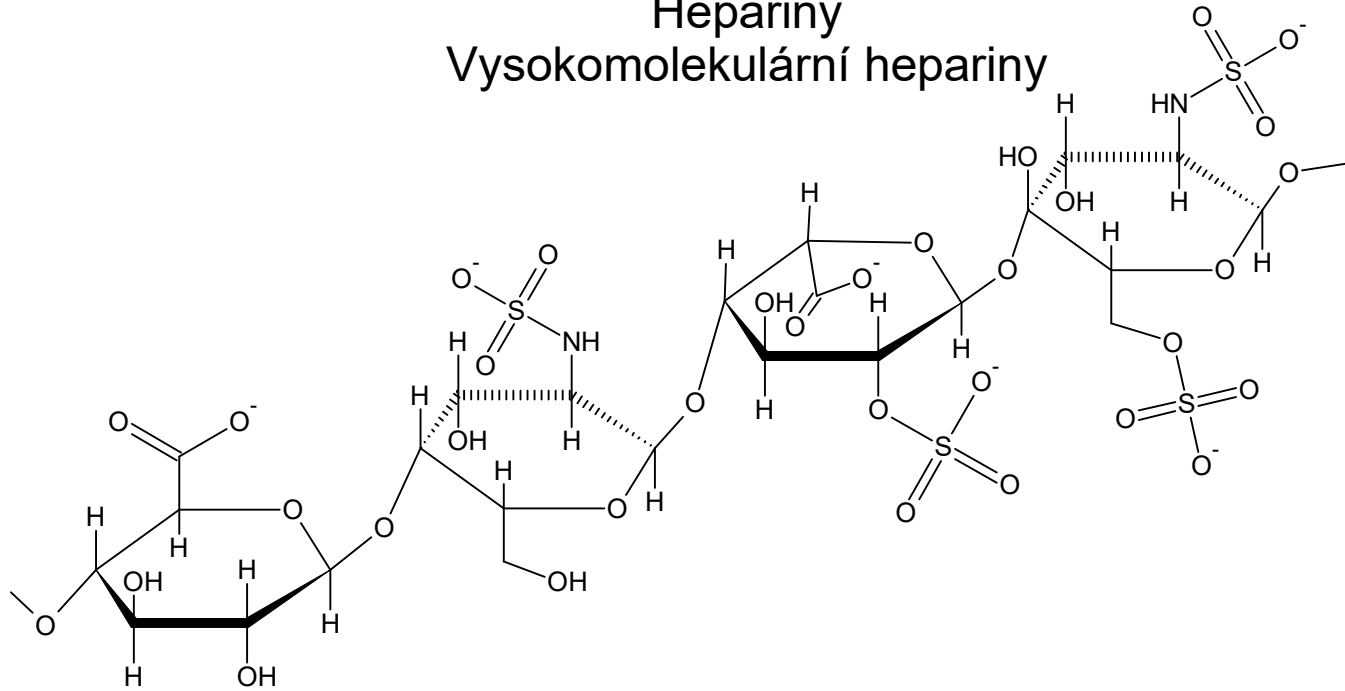
- připravován hydrolysou vepřových, hovězích nebo žraločích chrupavek; složení směsi značně závisí na surovině a způsobu přípravy
- absorbován v tenkém střevě v množství < 10 % pravděpodobně mechanismem endocytosy
- v distální části GITu funguje jako prebiotikum a je degradován enzymy intestinální mikroflóry na mono- a disacharidy, ty jsou prekurzory peptidoglykanu (zejména N-acetylgalaktosamin)
- doporučená dávka 800 mg denně

LP: Condrosulf ®

Nutraceutika: Mobilin ® , Artryn ® , Gelactiv ® , GS-CS-MSM 3000 ® , GS-Condro (forte) ® , Proenzi 3 ® , Proenzi premium forte 3000 ® -kombinace s glukosaminem, někdy i s MSM

Hepariny

Vysokomolekulární hepariny



β -D-glukuronová kys.

(α -D-galaktosamin)

(α -L-iduronová kys.)

(α -D-glukosamin)

Fragment řetězce heparinu

- $6\ 000 < M_r < 20\ 000$
- < 30 % glukuronové kys.
- < 70 % iduronové kys.
- *Heparinum natricum*, *Heparinum calcicum* ČL 2009; Heparin Forte Léčiva[®]
- MÚ: aktivuje α_2 -globulin antitrombin (AT III); heparin-antitrombinový komplex inaktivuje faktory krevního srážení IIa, **Xa**, XIa a XIIa a zabraňuje tvorbě trombinu
- k vazbě na ATIII stačí 5 sacharidových jednotek, vazba dalších jednotek komplex stabilizuje
- výroba z plic skotu nebo ze střevních sliznic skotu, prasat nebo ovcí

Antikoagulancia

Nízkomolekulární hepariny (LMWH)

- ČL a EP: spol. článek *Heparina massae molecularis minoris*
- střední $M_r < 8000$, $\geq 60\%$ celkové hmotnosti musí tvořit řetězce o $M_r < 8000$
- různá selektivita vůči Xa
- aktivita musí být > 70 IU anti-Xa/mg, selektivita anti-Xa/anti-IIa $\geq 1,5$

Nízkomolekulární hepariny (LMWH): příprava

Y. Yan et al. / Carbohydrate Polymers 160 (2017) 71–81

73

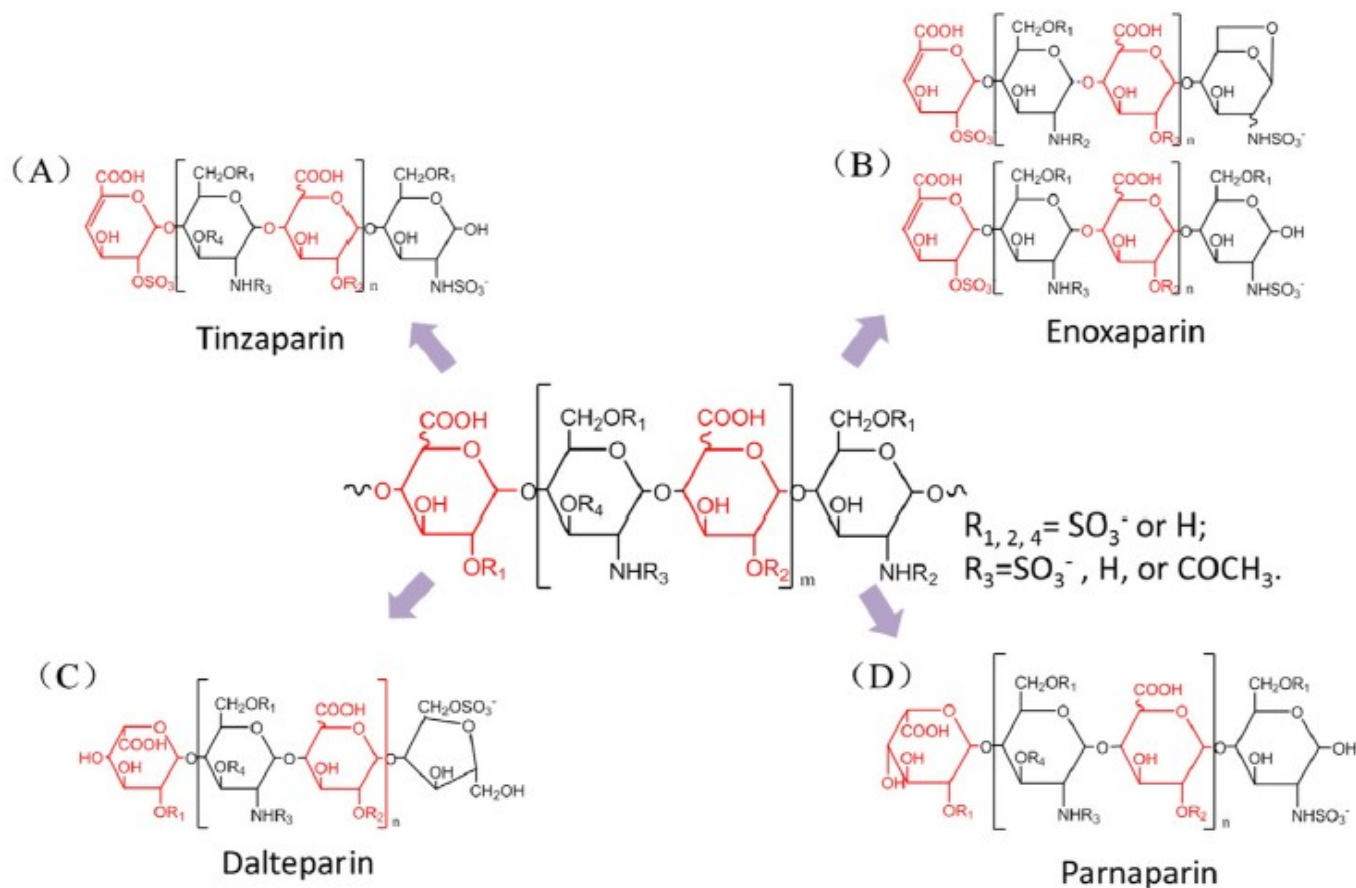
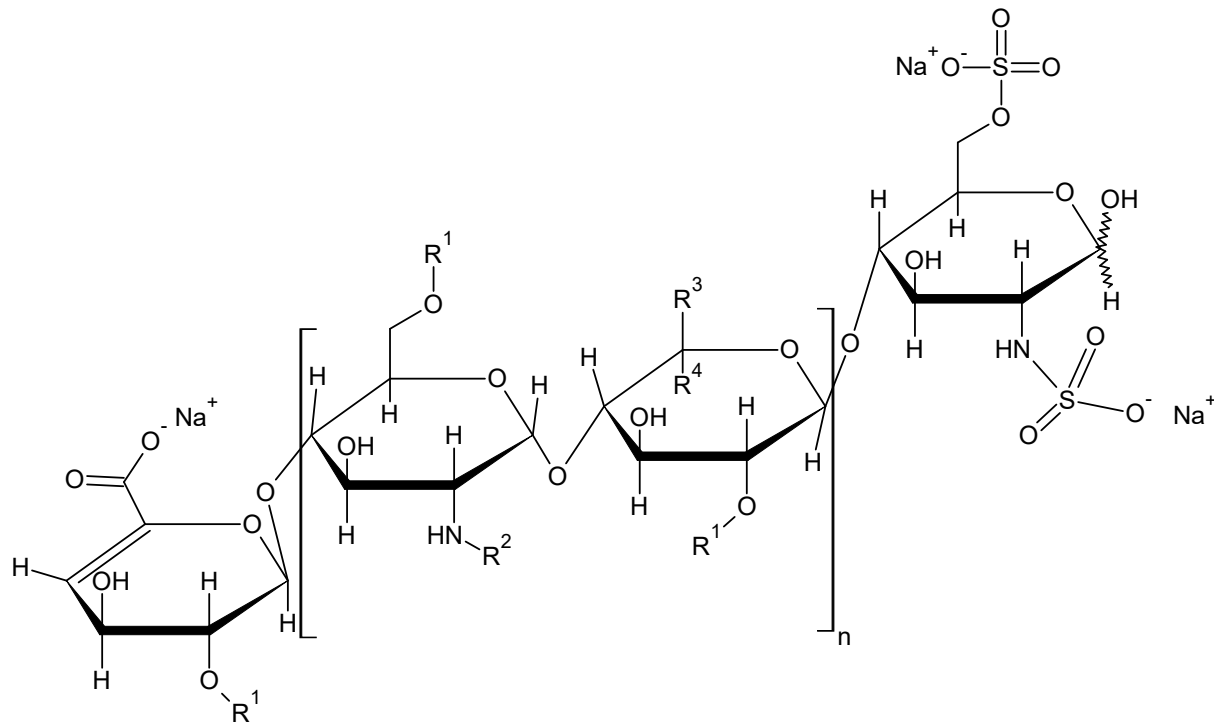


Fig. 2. The representative commercially available LMWHs obtained using different depolymerization methods. Heparin is a long chain constituted of repeating disaccharide building blocks containing 1,4-linked uronic acid (mainly L-iduronic) and D-glucosamine. The depolymerization specificities are dependent on substituents R_1 , R_2 , R_3 and R_4 . (A) Enzymatic depolymerized products by heparinase I, which cleaves sequences containing iduronic acid. (B) LMWHs prepared by alkaline depolymerized reactions. The reaction is a two-step process: firstly, reaction with a benzyl halide to form an intermediate ester and, secondly, hydrolysis following by β -eliminative cleavage under basic conditions. (C) LMWHs obtained by deamination reaction. The specificity of deamination is determined by pH. When $\text{pH} = 1.5$, $R_1 = \text{SO}_3^- \text{ or } \text{H}$, $R_2 = \text{SO}_3^- \text{ or } \text{H}$, $R_3 = \text{SO}_3^-$; when $\text{pH} = 4$, $R_1 = \text{SO}_3^- \text{ or } \text{H}$, $R_2 = \text{SO}_3^- \text{ or } \text{H}$, $R_3 = \text{H}$. (D) The majority of H_2O_2 depolymerized heparins have a 2-O-sulpho- α -L-idopyranosuronic acid unit at the non-reducing end, and a 2-N,6-O-disulpho-D-glucosamine structure at the reducing end of their chains.



bemiparin sodná sůl

Bemiparinum natricum

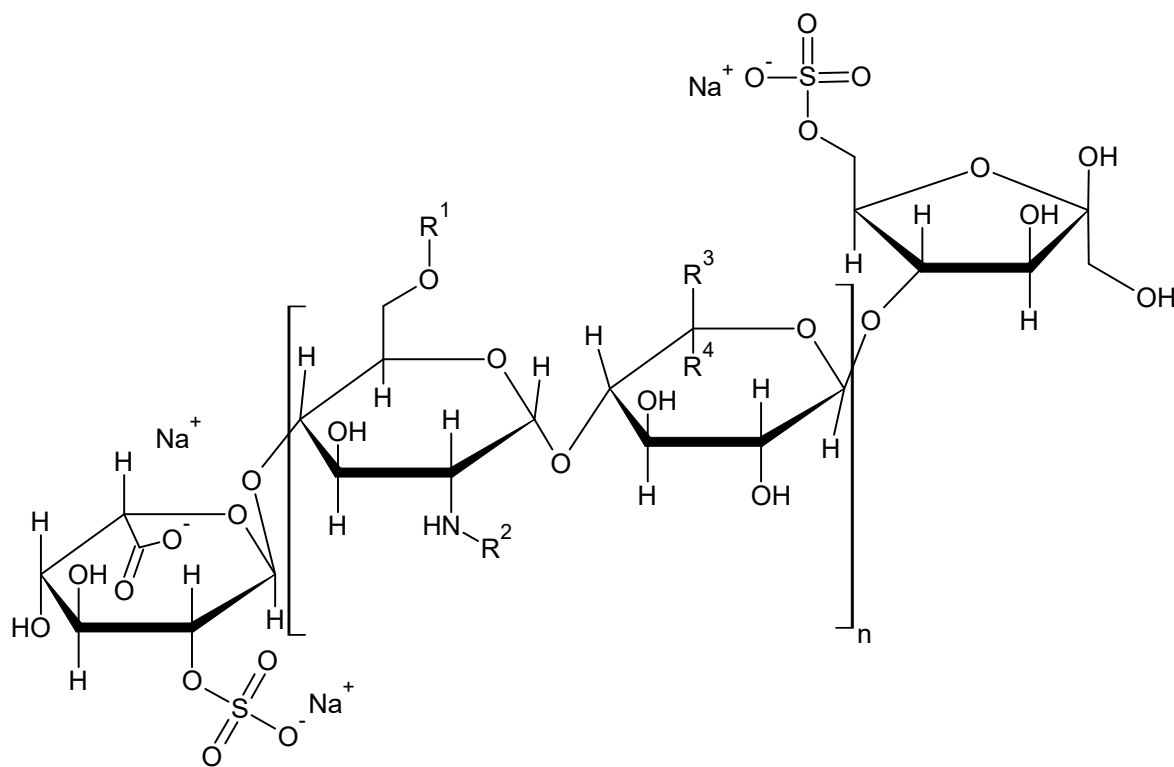
$R^1 = \text{H}$ nebo SO_3Na , $R^2 = \text{H}$ nebo SO_3Na nebo COCH_3 , $R^3 = \text{H}$ a $R^4 = \text{COONa}$ nebo R^3

$= \text{COONa}$ a $R^4 = \text{H}$

- alkalická depolymerizace heparinu
- průměrná M_r 3600

Zibor® předplněná inj. stříkačka pro s.c. podání

- indikace: léčba prokázané hluboké žilní trombózy, s nebo bez plicní embolie, v akutní fázi



dalteparin sodná sůl

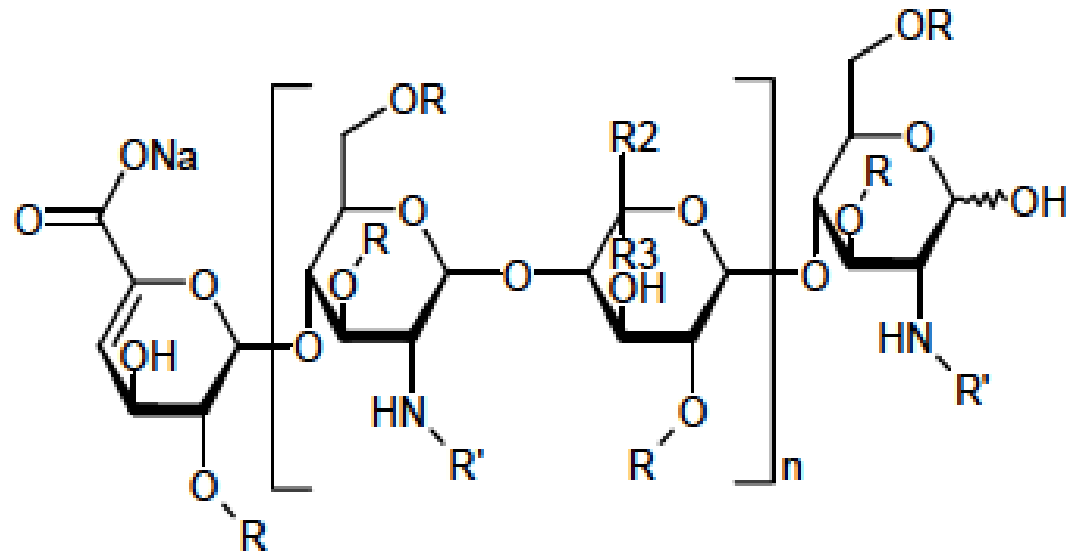
Dalteparinum natricum ČL 2009

$2 < n < 21$, $R^1 = \text{H}$ nebo SO_3Na , $R^2 = \text{SO}_3\text{Na}$ nebo COCH_3 , $R^3 = \text{H}$ a $R^4 = \text{COONa}$ nebo $R^3 = \text{COONa}$ a $R^4 = \text{H}$

- depolymerizace heparinu z prasečí sliznice HNO_2

Fragmin[®] inj. sol. (s.c.)

- léčba akutní trombózy hlubokých žil a plicní embolie, prevence srážení krve v mimotělním systému při hemodialýze a hemofiltraci v souvislosti s akutním renálním selháním nebo s chronickou renální nedostatečností, profylaxe trombembolie v souvislosti s chirurgickým výkonem, léčba nestabilní anginy pectoris a non-Q infarktu myokardu



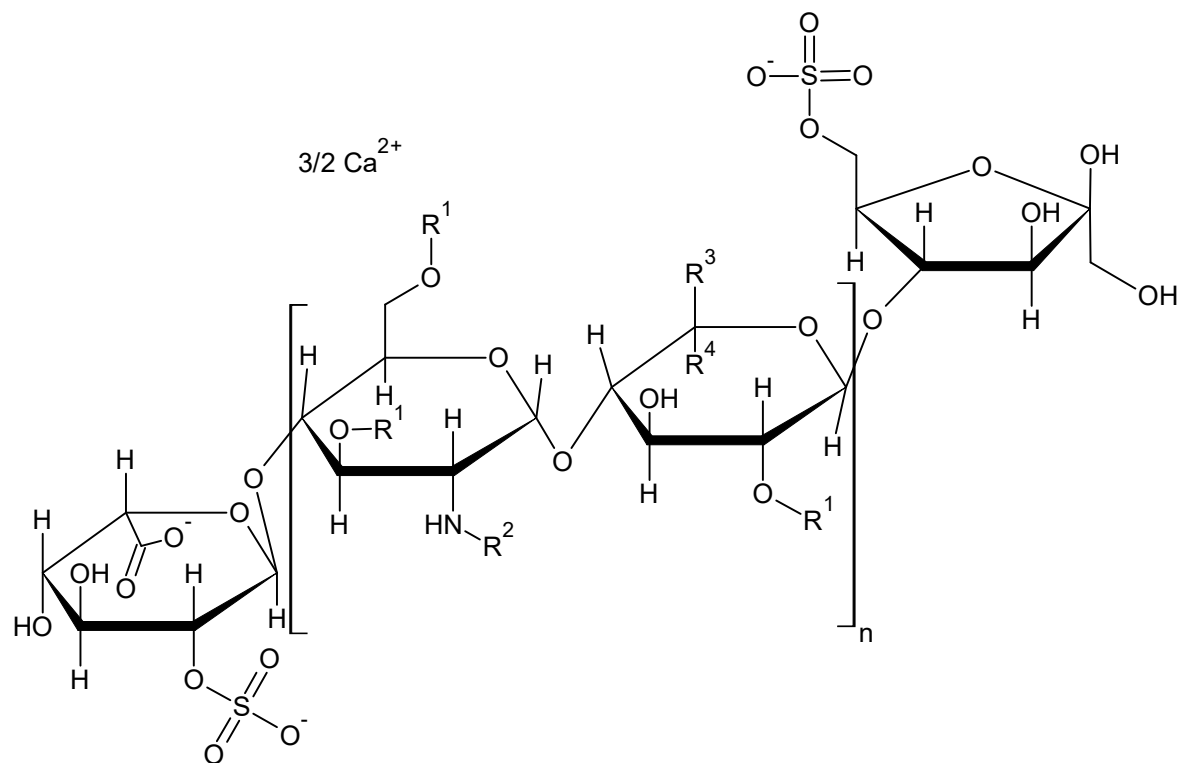
$n = 1$ to 21 , $R = H$ or SO_3Na , $R' = H$ or SO_3Na or $COCH_3$
 $R_2 = H$ and $R_3 = CO_2Na$ or $R_2 = CO_2Na$ and $R_3 = H$

enoxaparin sodná sůl

Enoxaparinum natriicum

Crusia ® předplněná stříkačka

- na neredukujícím konci fragment 4-enopyranosuronátu sodného
- výroba alkalickou depolymerací benzylesteru heparinu získaného ze střevní sliznice prasat
- indikace:
 - prevence venózní tromboembolické nemoci
 - v chirurgii
 - u interních pacientů s akutním onemocněním (jako je akutní srdeční nedostatečnost, respirační selhání, těžké infekce nebo revmatické onemocnění) a sníženou pohyblivostí
- léčba hluboké žilní trombózy a pulmonární embolie
- prevence tvorby trombů v mimotělním oběhu během dialýzy.
- akutní koronární syndrom



nadroparin vápenatá sůl

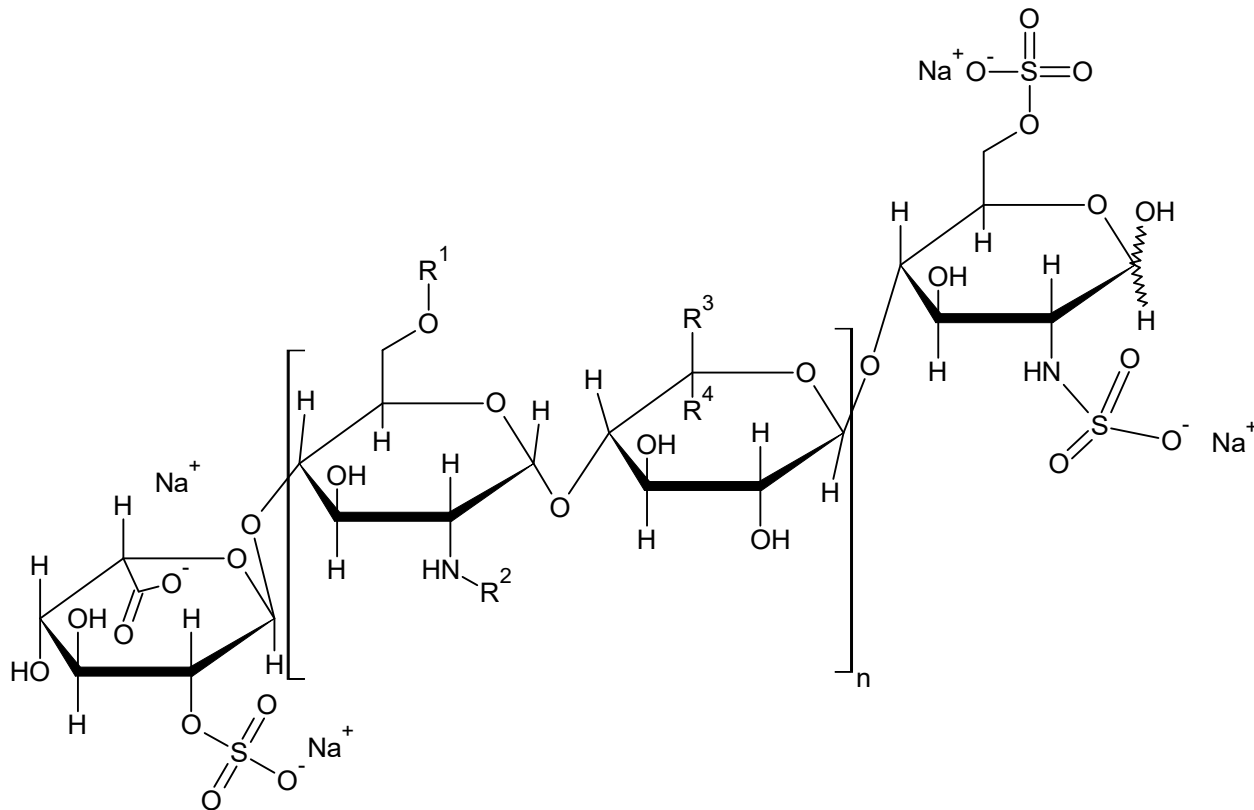
•depolymerizace heparinu z prasečí sliznice HNO_2 a následná frakcionace k odstranění řetězců o $M_r < 2000$

Nadroparinum calcicum ČL 2009

$R^1 = \text{H}$ nebo $\text{SO}_3(1/2\text{Ca})$, $R^2 = \text{H}$ nebo $\text{SO}_3(1/2\text{Ca})$ nebo COCH_3

$R^3 = \text{H}$ a $R^4 = \text{COO}(1/2\text{Ca})$ nebo $R^3 = \text{COO}(1/2\text{Ca})$ a $R^4 = \text{H}$

Fraxiparin multi[®] inj. sol.



parnaparin sodná sůl

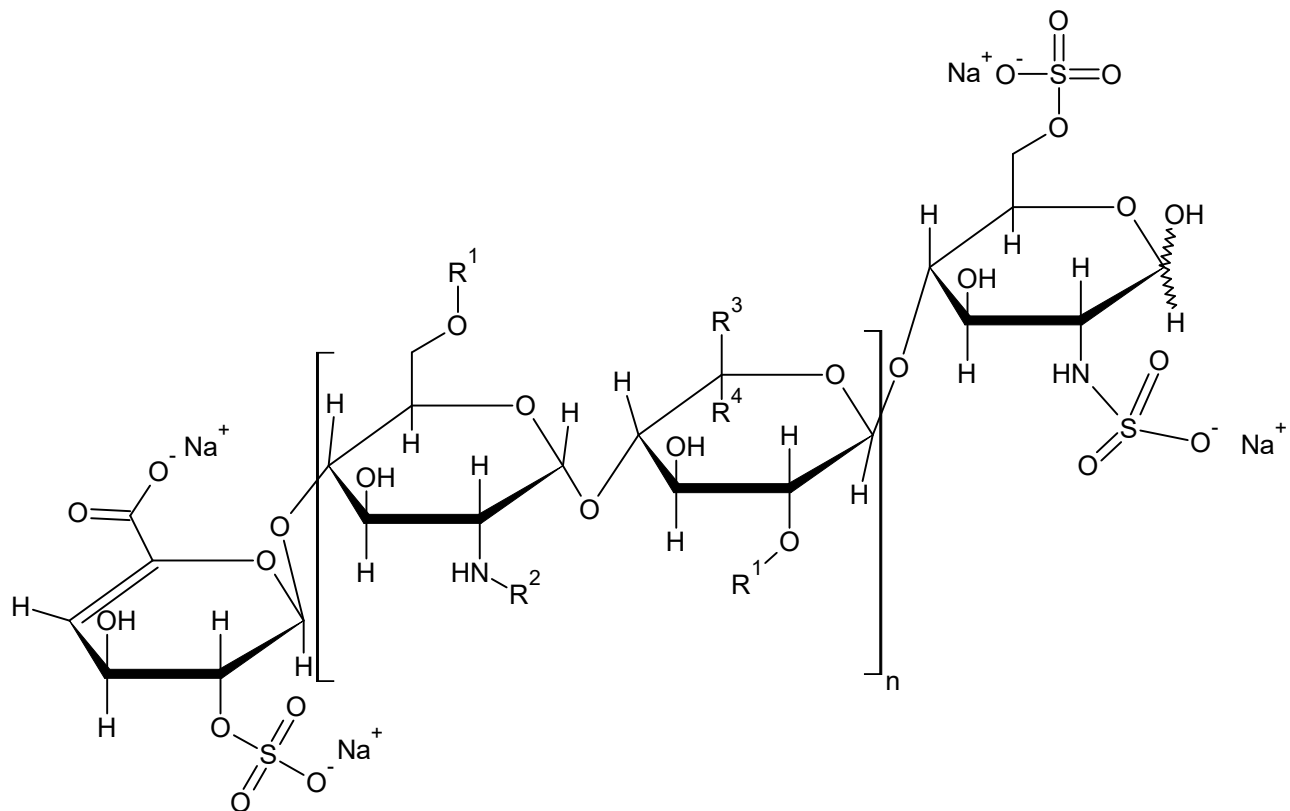
•radikálová depolymerizace heparinu z hovězí nebo prasečí sliznice Cu^{2+} a HOOH

Parnaparinum natricum ČL 2009

$0 < n < 22$, $\text{R}^1 = \text{H}$ nebo SO_3Na , $\text{R}^2 = \text{SO}_3\text{Na}$ nebo COCH_3 , $\text{R}^3 = \text{H}$ a $\text{R}^4 = \text{COONa}$ nebo $\text{R}^3 =$

COONa a $\text{R}^4 = \text{H}$

Fluxum® inj. sol.



tinzaparin sodná sůl

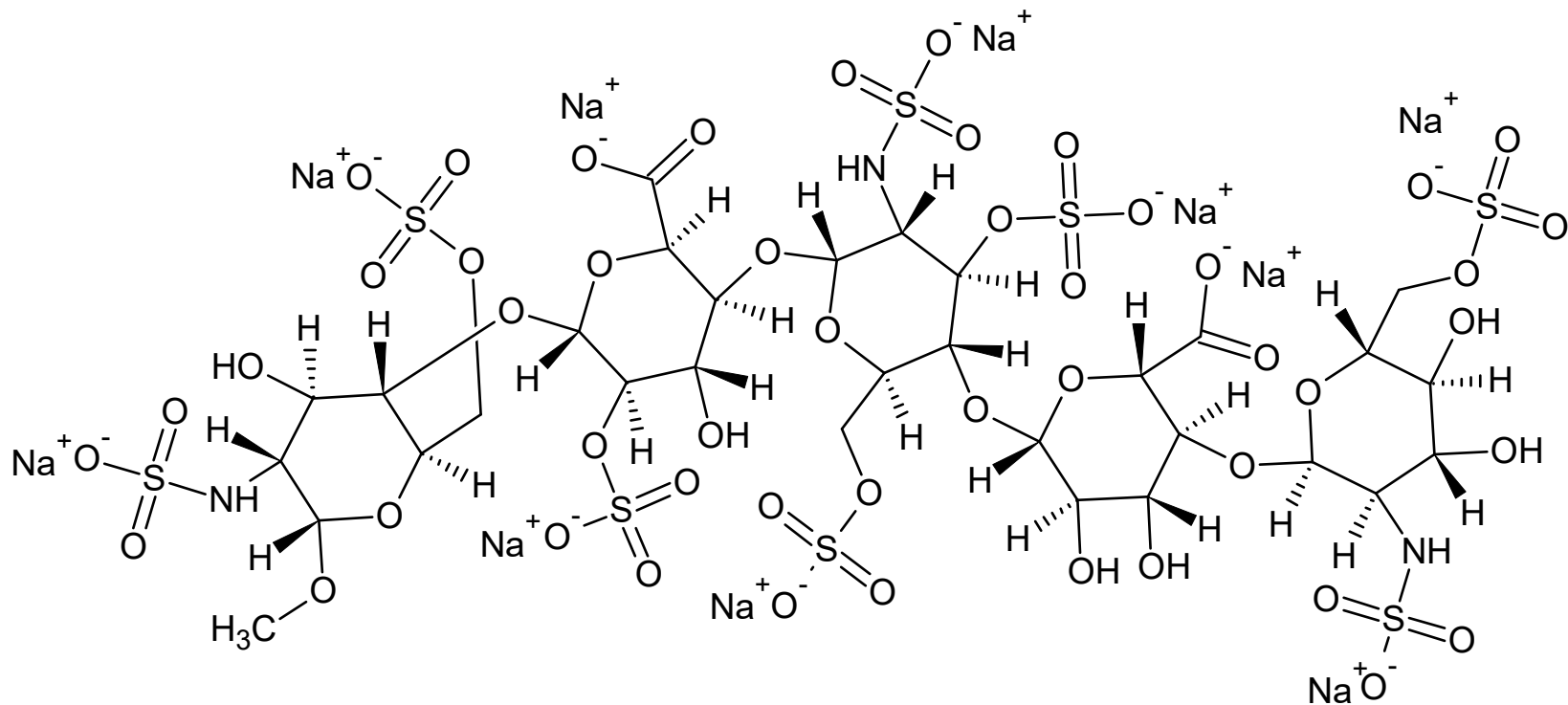
• příprava enzymatickou depolymerací heparinasou z *Flavobacterium heparinum*

Tinzaparinum natricum ČL 2009

$0 < n < 26$, $R^1 = \text{H}$ nebo SO_3Na , $R^2 = \text{H}$ nebo SO_3Na nebo COCH_3 , $R^3 = \text{H}$ a $R^4 =$

COONa nebo $R^3 = \text{COONa}$ a $R^4 = \text{H}$

Syntetické heparinoidy s krátkým řetězcem



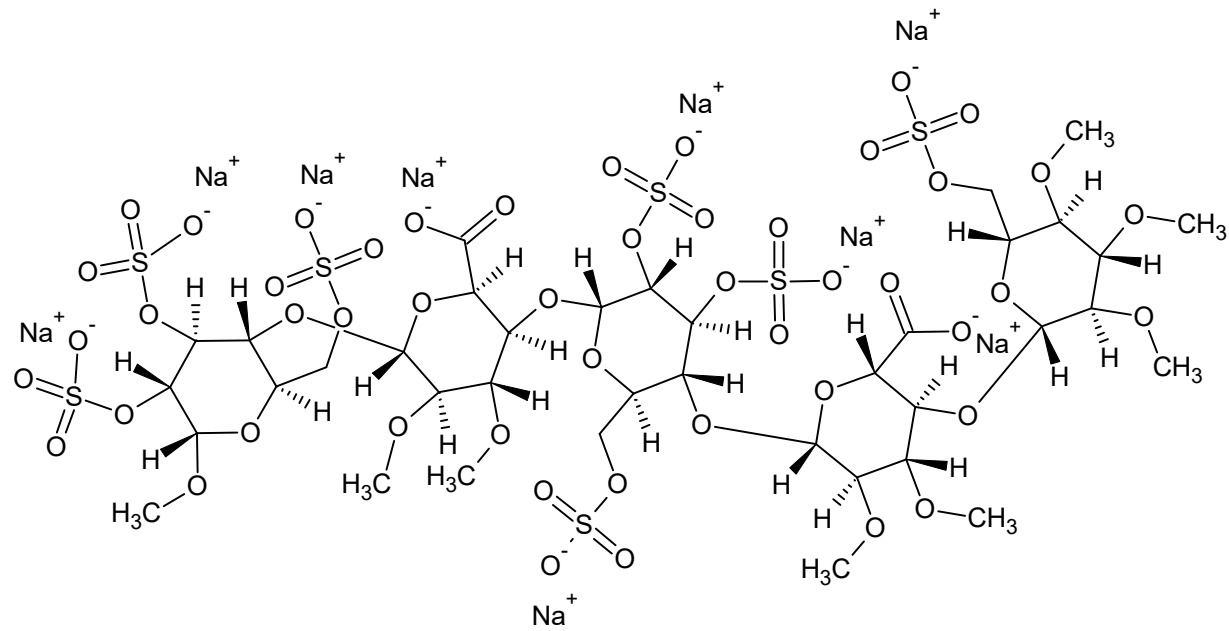
fondaparinux sodný

Arixtra[®]

•s.c.

•profylaxe hluboké žilní trombózy po zlomeninách, chir. zákrocích aj.

Syntetické heparinoidy s krátkým řetězcem



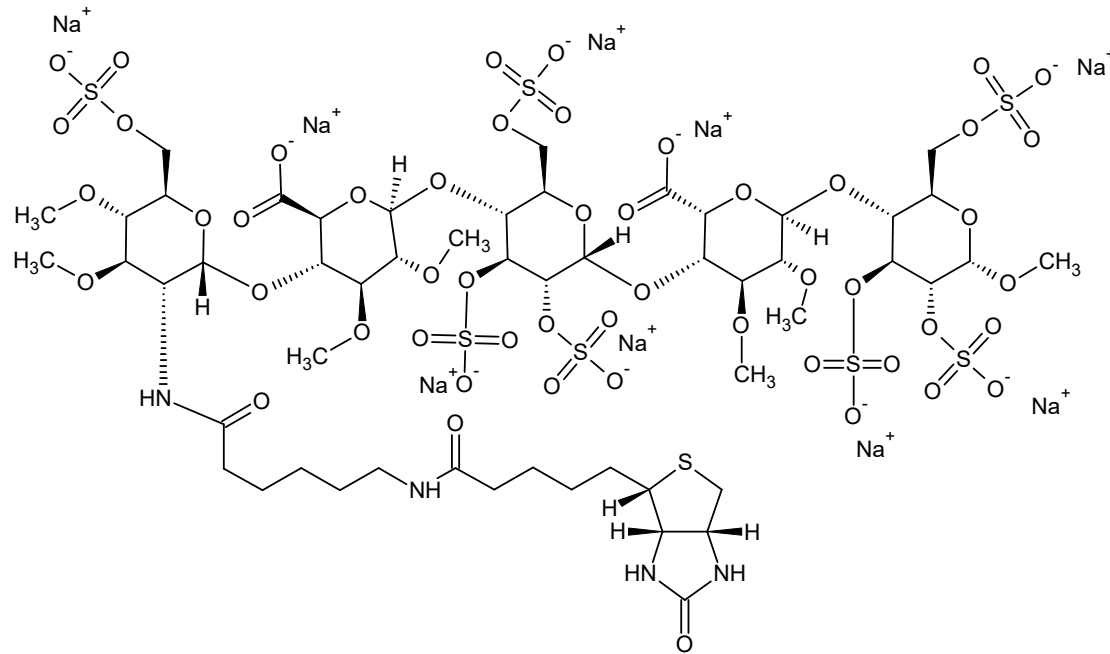
idraparinux sodný

syn. SR 34006

•k s.c. aplikaci 1x týdně

•3. fáze klinického zkoušení při hluboké žilní trombóze nebo symptomatické plicní embolii ukončena r. 2016

Syntetické heparinoidy s krátkým řetězcem

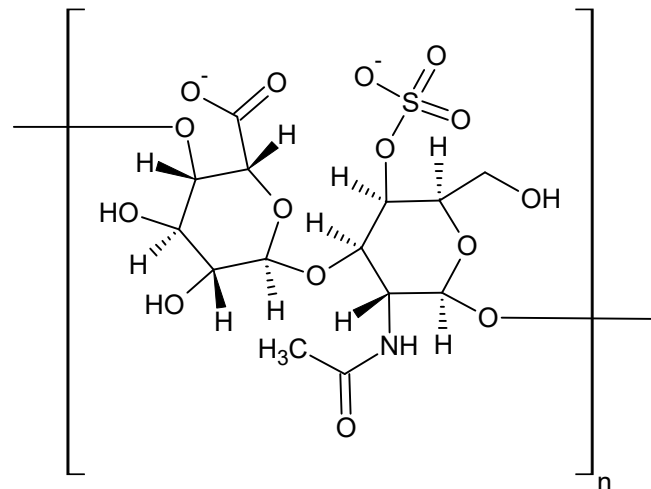


idrabiotaparinus sodný

- „aktivovaná“ forma idraparinusu s biotinem navázaným přes fragment EAK
- k s.c. aplikaci 1x týdně
- 3. fáze klinického zkušnění (skončila r. 2016)
 - hluboká žilní trombóze dolních končetin
 - prevence krevních sraženin při fibrilaci síní
 - plicní embolie

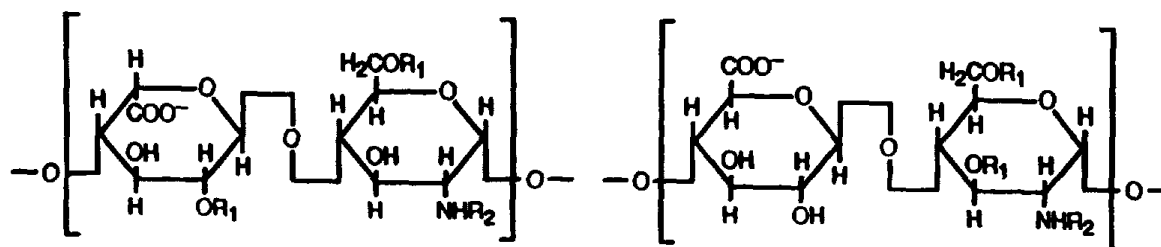
Sulodexid

- směs obsahující 80 % „heparinu rychlé mobility“ (fast mobility heparine, FMH) a 20 % dermatan sulfátu
- frakce FMH je definována elektroforetickou pohyblivostí (mobilitou)
- obě frakce mají nižší stupeň sulfatace než nefrakcionovaný heparin, a také nižší antikoagulační aktivitu
- připravují se ze sliznice střev prasat speciální technikou
- nižší M_r \Rightarrow zvýšená absorpce z GIT \Rightarrow **možnost podání p.o.**
- po p.o. podání dochází též k uvolňování tPA a k růstu fibrinolytické aktivity
- delší $T_{1/2}$
- snížené riziko systémového poklesu srážlivosti a krvácení
- léčba různých vaskulárních onemocnění včetně prevence náhlé smrti po IM
- v klin. studiích ověřena účinnost v léčbě trombózy hlubokých žil, venózních vředů na nohou, snížení reperfučního poškození po IM aj.
- Vessel Due F® - aktuálně používán
- Sulonex® - klinické zkoušky 3. fáze na diabetickou neuro- a nefropatii a 2. fáze na retinopatii ukončeny
- zlepšuje i hyperlipidémie (LDL↓, HDL↑)

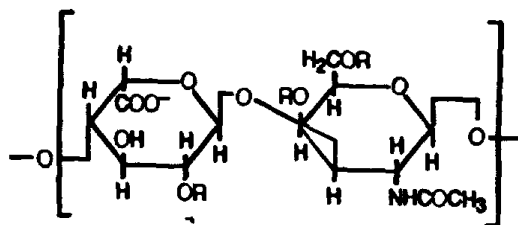


dermatan sulfát

Main Repeating Disaccharide Units:

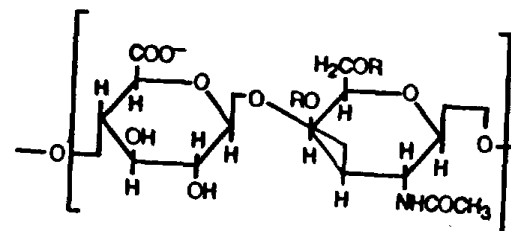


Heparan Sulfate: $R_1 = \text{H or SO}_3^-$, $R_2 = \text{COCH}_3 \text{ or SO}_3^-$



Dermatan Sulfate

$R = \text{H or SO}_3^-$



Chondroitin Sulfate

danaparoid sodný

Orgaran® s.c. injekce (reg. USA)

• heparan sulfát připravován *N*-desulfatací a následnou *N*-acetylací

• indikace: prevence postoperativní trombózy hlubokých žil u pacientů podstupujících transplantaci kyčle

Analytika heparinů

$^1\text{H-NMR}$

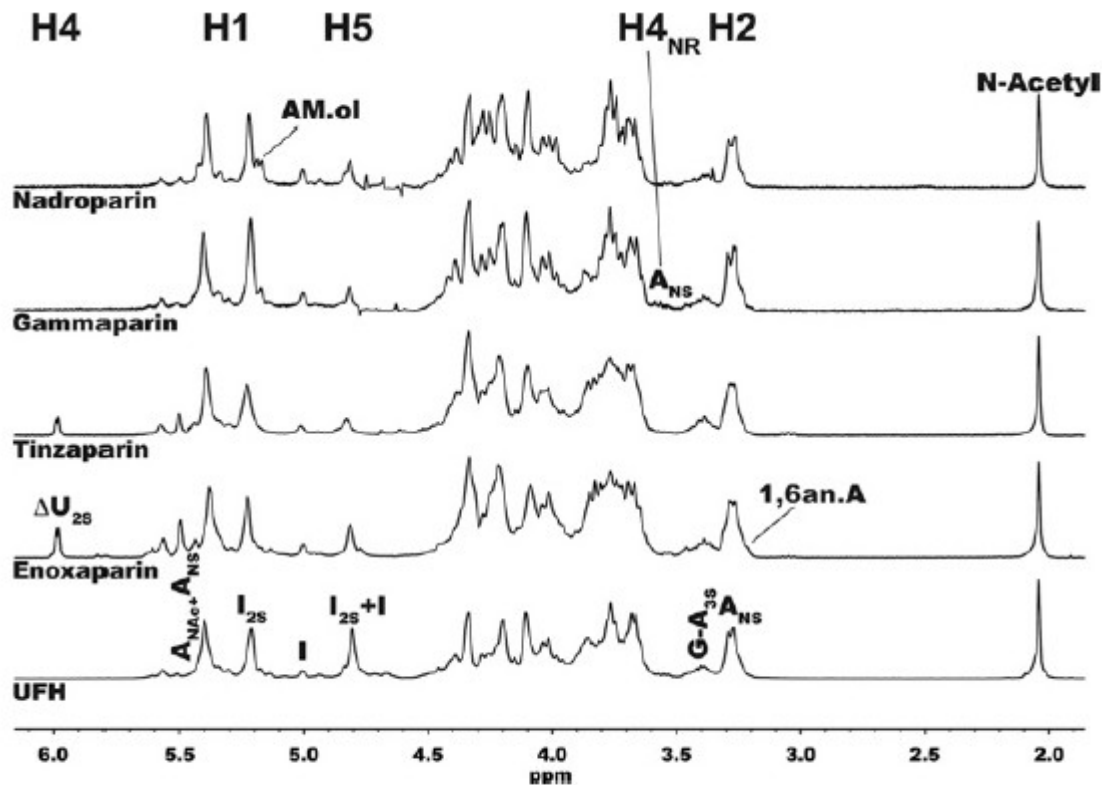


Fig. 3. ^1H NMR of UFH and different LMWHs. Major signals are identified. UFH, unfractionated heparin; LMWHs, low molecular weight heparins; A_{NS}, 2-deoxy-2-sulfoamino-D-glucopyranose; I_{2S}, 2-O-sulfo-iduronic acid; G, glucuronic acid; A_{3S}, 2-deoxy-3-O-sulfo-2-amino-D-glucopyranose; A_{NAC}, 2-deoxy-2-acetylamino-D-glucopyranose; 1,6-an.A, 2-amino-1,6-anhydro-2-deoxy- β -D-glucopyranose; AM.ol, 2,5-anhydromannitol; ΔU_{2S} , 2-O-sulfo-4-deoxy- α -L-threo-hex-4-enopyranosil uronic acid, NR, non-reducing end.

- identifikační metoda dle EP 10.0
 - např. u *Heparinum natricum*, *Heparinum calcicum*
 - zákl. frekvence min. 300 MHz (JP XVII: min. 400 MHz)
 - D₂O, reference na trimethylsilylpropionát sodný
 - dle JP XIII spektrální rozsah signál DHO ± 6 ppm
 - porovnání se spektrem standardu

2D-spektra LMWH: HSQC

906

M.A. Lima et al. / Carbohydrate Polymers 85 (2011) 903–909

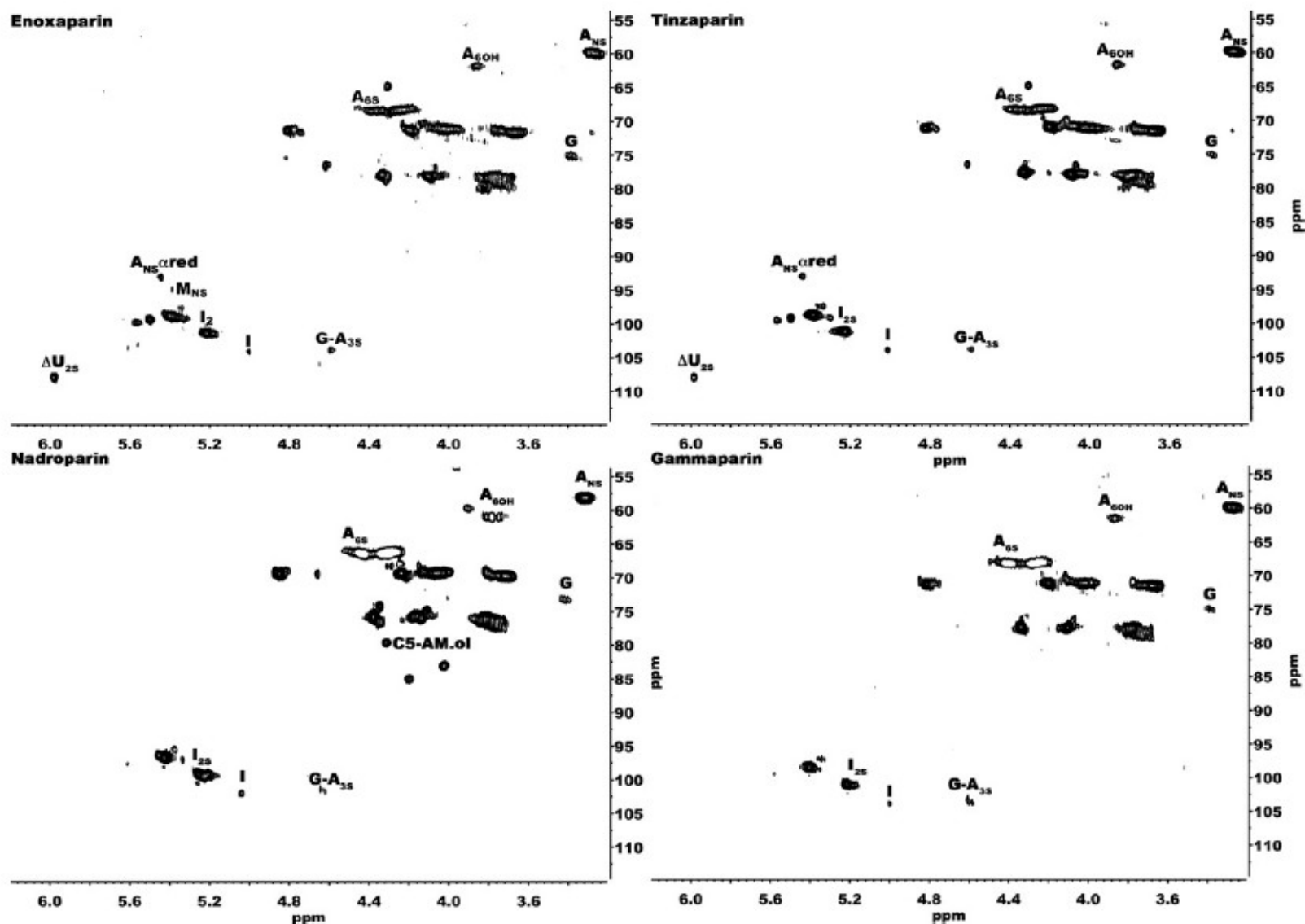
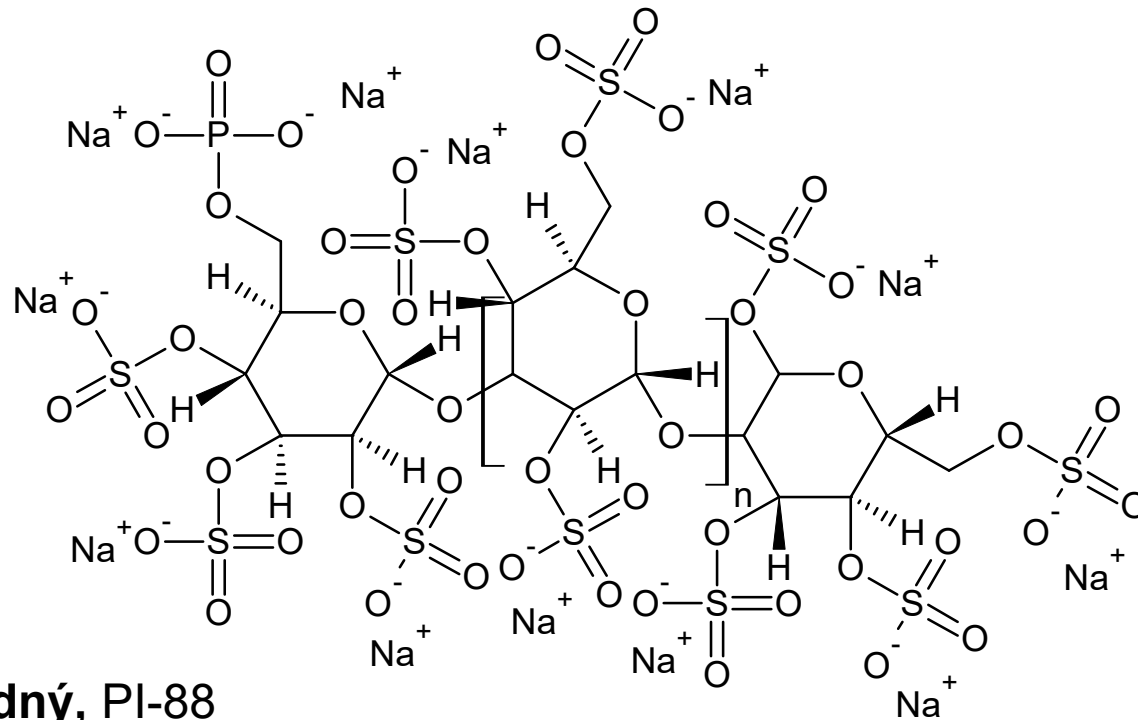


Fig. 4. HSQC spectra of different LMWHs. Signals used for monosaccharide composition are identified. LMWHs, low molecular weight heparins; A_{NS}, 2-deoxy-2-sulfoamino-D-glucopyranose; I_{2S}, 2-O-sulfo-iduronic acid; G, glucuronic acid; A_{3S}, 2-deoxy-3-O-sulfo-2-amino-D-glucopyranose; A_{NAC}, 2-deoxy-2-acetylamino-D-glucopyranose; αred, terminal reducing residue with a configuration; M_{NS}, 2-deoxy-2-sulfamino-D-mannopyranose; 1,6-an.A, 2-amino-1,6-anhydro-2-deoxy-β-D-glucopyranose; 1,6-an.M, 2-amino-1,6-anhydro-2-deoxy-β-D-mannopyranose; AM.ol, 2,5-anhydromannitol; ΔU_{2S}, 2-O-sulfo-4-deoxy-α-L-threo-hex-4-enopyranosil uronic acid; U, Δ4-deoxy-α-L-threo-hex-4-enopyranosil uronic acid.

Antineoplastika



muparfosfát sodný, PI-88

fosfomanopentaosulfát sodný

poly- α -D-(1 \rightarrow 3)mannan-6-hydrogenfosfát-tris(hydrogensulfát), sodná sůl

M_r cca 2000

•inhibitor heparanasy

- = endoglykosidasa rozkládající heparan sulfát v extracelulární matrix a na povrchu buňky s významnou rolí v metastazování nádorů a v angiogenezi
- umožňuje též uvolnění vazby růstových faktorů (VEGF...), cytokinů a chemokinů na HSPGs (= heparan sulfát-peptidoglykany) \Rightarrow vaskularizace, růst, metastazování

•v klin. studiích

- 2. a 3. fáze na hepatocelulární karcinom
- 2. fáze na nádor plic, prostaty a melanom (\pm dakarbazin)