Peroxide-Containing Chitosan Derivative for Hydrogel Synthesis / N. Solomko1, O. Budishevska, A. Voronov, A. Kohut, A. Popadyuk, S.Voronov // Macromolecular Symposia – 2010. – Vol. 298. – Issue 1. – P. 85–90. 16. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications / J. Berger, M. Reist, J.M. Mayer, O. Felt, N.A. Peppas, R. Gurny] // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. – 2004. – Vol.57. – P.19–34. 17. Будішевська О.Г. Структурна організація полімерних систем на основі кополімерів хітозан-пр-полівінілпіролідон / О.Г. Будішевська, Н.Ю. Соломко, А.І. Попадюк, В.І. Штомпель, С. Хом'як, С.А. Воронов // Вісник НУ "Львівська політехніка" "Хімія, технологія речовин та їх застосування". – 2010. – № 667. – С.356–363.

УДК 678: 541.64

Н.В. Пузько, С.М. Варваренко, І.Т. Тарнавчик, Р.С. Тарас, С.А. Воронов
Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра органічної хімії

ОПТИМІЗАЦІЯ РЕАКЦІЇ ДЕБЛОКУВАННЯ ВОС-ЗАХИСТУ З АМІНОГРУП ПСЕВДОПОЛІАМІНОКИСЛОТ

© Пузько Н.В., Варваренко С.М., Тарнавчик І.Т., Тарас Р.С., Воронов С.А., 2011

Встановлено оптимальні умови полімераналогічного перетворення Вос-захищених псевдополіамінокислот на основі глутамінової кислоти та диетиленгліколю в псевдополіамінокислоти з незахищеними первинними аміногрупами. Встановлено часові межі та діапазон концентрацій трифтороцтової кислоти, що забезпечують зняття Вос-захисту аміногруп з виходом вище 95 %.

Ключові слова: псевдополіамінокислоти, Вос-захист, аміногрупа.

The optimal conditions of polymeranalogical transformation of Boc-protected "pseudo"-poly(amino acids) based on glutamic acid and diethylene glycol into "pseudo"-poly(amino acids) with primary amino groups have been studied. The trifluoroacetic acid concentrations and deprotection time which provide Boc-deprotection over 95 % have been determined.

Keywords: psevdopoliamino acid, Boc-protected amino group..

Постановка проблеми. В останні десятиліття зросла кількість робіт в області синтезу біодеградабельних полімерів для доставки лікарських засобів в організм та молекулярно-біологічних досліджень. Серед найпоширеніших біодеградабельних полімерів можна виділити поліпептиди, зокрема поліамінокислоти, а також поліестери молочної та гліколевої кислот [1]. Однак основними недоліками, що обмежують їх терапевтичне застосування, є висока імуногенність поліпептидів, а у випадку поліестерів – відсутність контролю біодеградації.

Новими потенційними матеріалами для створення сучасних терапевтичних засобів є псевдополіамінокислоти, в яких полімерний ланцюг побудований з амінокислот та поліетиленгліколів, пов'язаних ензиматично-деградабельними естерними зв'язками. Такі матеріали можуть мати безліч модифікацій з контрольованою швидкістю біологічної деградації. Одним із способів одержання таких псевдополіамінокислот є естерифікація дикарбонових амінокислот поліетиленгліколями з використанням активатора карбоксильної групи – N,N'-дициклогексилкарбодиіміду. Такий шлях синтезу вимагає захисту α-аміногрупи для запобігання побічним реакціям. Блокування (захист) аміногруп α-амінокислот широко використовується в процесах пептидного синтезу. Так, існує багато реагентів і методик для захисту аміногрупи та його видалення. Одним із найпоширеніших типів захисту, який часто застосовується у пептидних синтезах, є *трет*-бутилоксикарбонільний (Вос) захист. Цей захист є доволі привабливим для синтезу псевдополіамінокислот, оскільки дає змогу забезпечити повне перетворення захищених аміногруп у первинні. Типовим реагентом деблокування Вос-аміногрупи, який часто застосовується як в синтезах пептидів, так і під час

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

одержання сполук з первинними аміногрупами [2], є трифтороцтова кислота, за дії якої деблокування відбувається з кількісним виходом. Проте, на відміну від пептидів, де здійснюється захист термінальних груп, деблокування Boc-аміногруп у випадку псевдополіамінокислот, можна розглядати як полімераналогічне перетворення, за якого існує ризик неповного видалення Boc-захисної групи. Окрім того, в літературі немає однозначного опису умов видалення Boc-захисної групи на поліамінокислотах, тому виникає необхідність оптимізації умов проведення цієї реакції.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. *трет*-Бутилоксикарбонільна захисна група є кислотолабільною групою і може бути видалена у кислому середовищі з утворенням ізобутилену і вуглекислого газу [**Ошибка! Закладка не определена.**]. За літературними даними, деблокування Boc-амінів здійснюють як в широкому діапазоні концентрацій трифтороцтової кислоти у безводному дихлорметані, так і в широкому інтервалі температур (10–42 ºС) [3–5] в залежності від природи субстрату та наявності інших лабільних фрагментів. В [3, 5–7] вказано на наявність оптимального діапазону концентрацій трифтороцтової кислоти для деблокування Boc-аміногруп. Проте відсутні літературні дані про умови реакції деблокування Boc-захисту з аміногруп псевдополіамінокислот чи їх низькомолекулярних аналогів.

Мета роботи – дослідити і оптимізувати умови реакції деблокування трифтороцтовою кислотою *трет*-бутилоксикарбонільного захисту аміногруп псевдополіамінокислот на основі глутамінової кислоти та диетиленгліколю.

Експериментальна частина. Для досліджень використовували псевдополіамінокислоти на основі Boc-захищеної глутамінової кислоти (Glu(Boc)) та диетиленгліколю (DEG) з кінцевими карбоксильними групами. Синтез псевдополіамінокислот здійснювали методом естерифікації Glu(Boc) [8] з використанням активатора карбоксильних груп – N,N'-дициклогексилкарбодиіміду (ДЦК) відповідно до рис. 1.

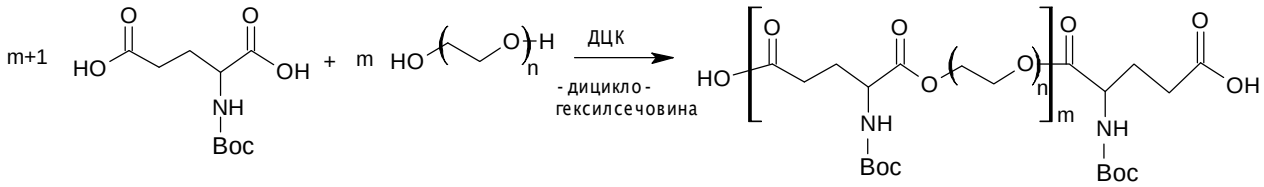

Рис. 1. Синтез псевдополіамінокислот Glu(Boc)-DEG з використанням активатора карбоксильних груп – ДЦК

Реакцію деблокування Boc-захисту з псевдополіамінокислот (рис. 2) здійснювали в розчині трифтороцтової кислоти (TFA) у дихлорметані. Наважку полімеру розчиняли в дихлорметані, зважували, охолоджували до 2–5 ºС, додавали контрольовану кількість трифтороцтової кислоти, знову зважували. Концентрація Glu(Boc)-DEG на момент приготування розчину в TFA для усіх зразків була однаковою і становила 10±0,2 %. Синтези за температури 20 ºС здійснювали в герметичному реакторі з магнітною мішалкою. Після закінчення синтезу реакційну масу охолоджували до 2–5 ºС і розбавляли метанолом у співвідношенні 1:3. Потім упарювали з використанням водоструминного насоса. Операцію розбавлення метанолом і упарювання повторювали тричі.

Кількість первинних аміногруп у продуктах (ммоль) визначали за даними потенціометричного титрування зразків. Якісну оцінку перебігу реакції деблокування проводили методом нінгідринового тесту на фільтрувальному папері, використовуючи 0,1 %-й розчин нінгідрину у цитратному буфері [9].

Результати і обговорення. Як було сказано вище, деблокування Boc-аміногруп псевдополіамінокислот Glu(Boc)-DEG, структуру яких показано на рис. 1, можна розглядати як реакцію полімераналогічного перетворення. Схематично цю реакцію показано на рис. 2.

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

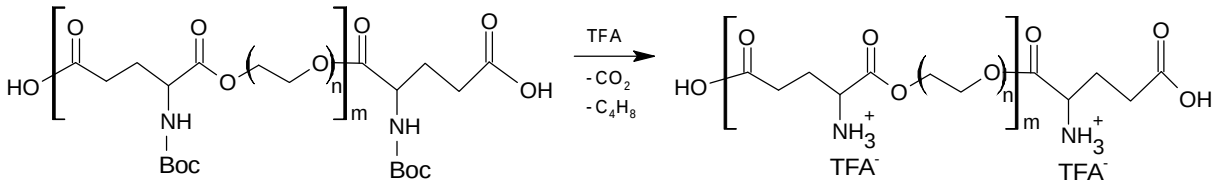

Рис. 2. Полімераналогічне перетворення Glu(Boc)-DEG в Glu-DEG за дії трифтороцтової кислоти

Основними чинникми впливу на конверсію Boc-захищених аміногруп в первинні аміногрупи є температура, концентрація TFA та час деблокування. Враховуючи відсутність даних зі стійкості псевдополіамінокислот на основі глутамінової кислоти за підвищених температур, а також те, що синтез, модифікацію та видалення захисних груп поліамінокислот проводять переважно за кімнатної або від'ємної температур, в роботі деблокування аміногруп Glu(Boc)-DEG виконували за температури 20 ºС. Оцінку впливу часу та концентрації трифтороцтової кислоти проводили в діапазонах 1–8,5 год та 5–90 % відповідно.

На рис. 3 зображені криві залежності конверсії Boc-захищених аміногруп в первинні аміногрупи за дії розчинів TFA з різною концентрацією. Конверсію процесу розраховували як відношення кількості первинних аміногруп, визначених за даними потенціометричного титрування, до розрахункової кількості аміногруп в продуктах. Підтвердженням перебігу реакції деблокування Boc-захисту та утворення незахищених первинних аміногруп була поява фіолетового забарвлення за дії нінгідринового реактиву.

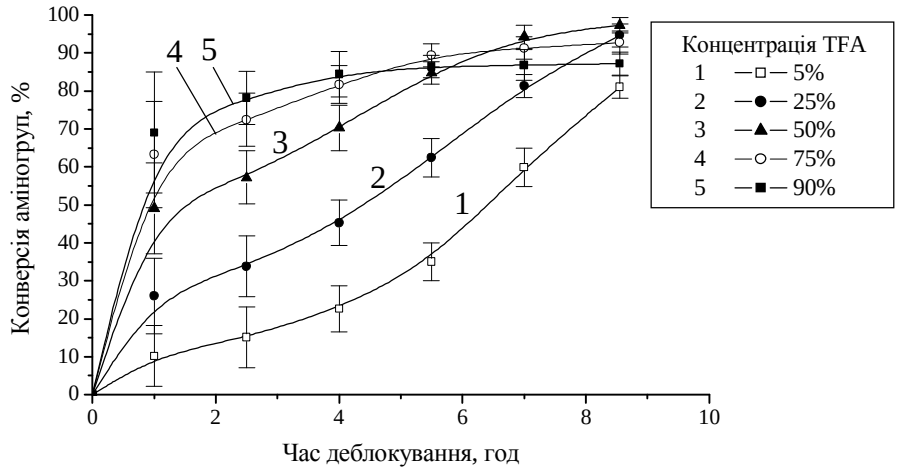

Рис. 3. Залежність конверсії Boc-захищених аміногруп від часу деблокування трифтороцтовою кислотою

Проведені дослідження показали, що деблокування з виходом більше 95 % можна досягнути в області концентрацій TFA 40–75 %. За межами цього діапазону, за нижчих концентрацій TFA (5–25 %) можна досягнути високої (>95 %) конверсії захищених аміногруп в первинні лише за істотного збільшення часу деблокування (> 15 год). Своєю чергою, високі концентрації TFA (75–90 %) дають змогу порівняно швидко деблокувати близько 80 % аміногруп, проте отримати псевдополіамінокислоти з кількістю незахищених первинних аміногруп, яка перевищує 90 % у цих умовах, не вдається (рис. 3, крива 5). Варто відмітити, що експериментально встановлений час, за якого досягається максимальна конверсія захищених аміногруп Glu(Boc)-DEG в незахищені первинні аміногрупи, перевищує час деблокування Boc-захищених пептидів, рекомендований в [2, 3] (0,5–3 год за дії 50–100 % TFA).

Висновок. Проведені дослідження показали, що реакцію деблокування Boc-захисту аміногруп у псевдополіамінокислотах на основі глутамінової кислоти та диетиленгліколю з виходом більше 95 % можна ефективно здійснювати дією трифтороцтової кислоти. Оптимальними умовами

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua

для такого полімераналогічного перетворення є концентрація трифтороцтової кислоти 40–75 % та час деблокування 7–9 год.

1. Poly(amino acid)s: Promising enzymatically degradable stealth coatings for liposomes / Romberg B., Metselaar J., Baranyi L., Snel C., Bunger R., Hennink W., Szebeni J., Storm G // International Journal of Pharmaceutics. – 2007. – V. 331. – P. 186–189. 2. . Синтез пептидов. Реагенты и методы / А.А. Гершкович, В.К. Кибирев. – К.: Наук. думка, 1987. – 264 с. Stereocontrolled total synthesis of (+-)-cyanocycline A / Fukuyama T., Li L., Laird A., Frank R. / J. Am. Chem. Soc. – 1987. – V. 109. – P. 1587–1589. 4. Effect of trifluoroacetic acid upon Boc-aminoacyl- and Boc-peptidyl-resins. Description of a new polymeric support for solid phase peptide synthesis / Giralt E., Andreu D., Rafecas L. // Tetrahedron Letters. – 1979. – V. 20. – P. 3587–3590. 5. Comparison of 55 % TFA/CH_2Cl_2 and 100 % TFA for Boc group removal during solid-phase peptide synthesis / Blondelle S.E., Houghten R.A. // Int. Journal of Peptide and Protein Research. – 1993. – V. 41. – P.522–527. 6. Синтез поликатионного пептидного аналога олигодезокситимидиловой кислоты / Кван Чул Хюн // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. "Химия". – 2001. – № 2. – С. 128–130. 7. Solid Phase Peptide Synthesis. A Study on the Effect of Trifluoroacetic Acid Concentration on the Removal of the tert-Butyloxycarbonyl Protecting Group / Reid R.E. // J. Org. Chem. – 1976. –Vol. 41. – P. 1027–1031. 8. 1. Direct Esterification Of Poly (Ethylene Glycol) With Amino Acid Hydrochlorides / Lele B.S., Gore M.A., Kulkarni M.G. // Synthetic Communications. – 2000. – V. 29. – P.1727–1739. 9. Капельный анализ органических веществ / Ф. Файгль. – М.: Гостхимздат, 1962. – 836 с.

УДК 541.64

А. Рябцева[1], Ю. Остапчук[2], Н. Мітіна[1], М. Москвін[1], Н. Бойко[2], Р. Стойка[2], О. Заіченко[1]
[1]Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра органічної хімії,
[2]Інститут біології клітини НАН України

ПОЛІЕТИЛЕНГЛІКОЛЬВМІСНІ ОЛІГОМЕРНІ НОСІЇ ТА НАНОРОЗМІРНІ СИСТЕМИ ДОСТАВКИ АНТИМІКРОБНИХ РЕЧОВИН НА ЇХ ОСНОВІ

Ó Рябцева А., Остапчук Ю., Мітіна Н., Москвін М., Бойко Н., Стойка Р., Заіченко О., 2011

Подано результати досліджень цілеспрямованого синтезу нових поліетиленглікольвмісних олігомерних носіїв, а також їхня властивостей хімічними та фізико-хімічними методами. Показана можливість отримання нанорозмірних водних систем кон'югатів нових олігомерних носіїв з антимікробними речовинами.

Ключові слова: полімерні носії, олігопероксиди, ПЕГілювання, системи доставки лікарських препаратів.

The results of purposeful synthesis of new oligomeric PEGylated carriers and their properties studied by chemical and physical-chemical methods are presented in the article. It is shown the opportunity to obtain nanoscale water systems of conjugates of novel oligomeric carriers with antimicrobial substances.

Key words: polymeric carriers, oligoperoxides, PEGylation, drug delivery systems.

Вступ. Одним із сучасних напрямів розробки транспортних форм з контрольованим виділенням ліків є створення систем, які функціонують за принципом зворотного зв'язку і здатні відповідно до вимог внутрішнього середовища організму забезпечувати тривале рівномірне постачання фармакофору в активній формі в орган-мішень. Сьогодні інтенсивно досліджуються

Lviv Polytechnic National University Institutional Repository http://ena.lp.edu.ua