

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ АКТИВАЦИИ КАРБОКСИЛЬНОЙ ГРУППЫ D-ГАЛАКТУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ

С.С. Власов, М.С. Ларькина, О.А. Карманова

Научный руководитель: профессор, д. х. н. М.С. Юсубов
Национальный исследовательский Томский политехнический университет
E-mail: unreal800@gmail.com

Одними из основных лекарственных средств для терапии таких вирусных заболеваний как гепатиты являются интерфероны (ИНФ). Применение интерферона альфа 2 в комплексной терапии с такими средствами как рибавирин обеспечивает высокую эффективность лечения даже осложненных форм гепатита [1]. Однако применение нативных интерферонов ограничивается определенными недостатками, а именно, ускоренное выведение и метаболизм, что вызывает скачки концентрации интерферона в крови до концентраций ниже терапевтических. Это весьма существенно снижает эффективность терапии. Являясь белками, ИНФ легко разрушаются ферментами в желудочно-кишечном тракте и протеазами крови, что снижает их биодоступность и вынуждает клиницистов увеличивать дозу и частоту введения препарата [2]. Так же применение нативных интерферонов может вызывать возникновение не желательных иммунных реакций, что в свою очередь ограничивает его применение.

Для решения данной проблемы разрабатываются методы химической модификации интерферонов, а именно, получения структуры, с ковалентно-связанным полиэтиленгликолем (ПЭГ) различной молекулярной массы. Пегилированные интерфероны обладают гораздо большим временем полувыведения из организма, в результате чего отсутствуют сильные колебания концентраций в организме. Так же они гораздо реже вызывают иммунный ответ. К сожалению, препараты пегилированных интерферонов являются весьма дорогостоящими, что ограничивает их применение. Кроме того, ПЭГ является неприродным соединением. В связи с этим разрабатываются новые способы модификации интерферонов, например с природными полисахаридами, в частности с гиалуроновой кислотой [3].

Целью данной работы явилась разработка способа химической модификации интерферонов путем образования ковалентной связи между молекулами интерферона и цитрусового пектина.

Поскольку в структуру цитрусового пектина входят остатки уроновых кислот (в частности D-галактуроновая кислота), то были подобраны условия для проведения активации карбоксильной группы D-галактуроновой кислоты. Активированные карбоксильные группы цитрусового пектина в дальнейшем будут способны образовывать амидные связи с остатками аминокислоты лизина в структуре ИНФ.

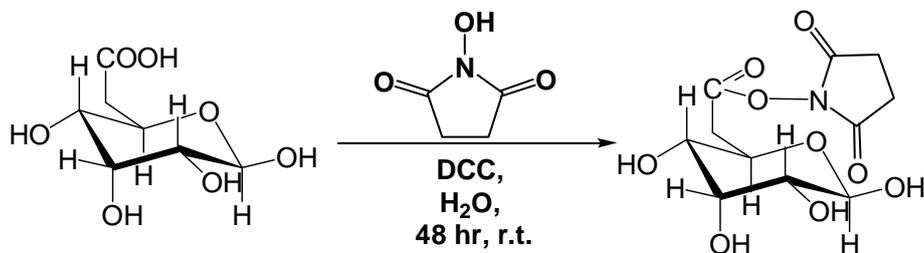


Рис. 1. Реакция активации карбоксильной группы D-галактуроновой кислоты

Одним из эффективных способов активации карбоновых кислот является получение их эфиров с сильными акцепторными заместителями. Для этого нами выбран метод активации N-гидроксисукцинимидом (NHS) в присутствии N,N-дициклогексилкарбодиимида (DCC). Данный способ отличается простотой, доступностью реактивов, не требует в данном случае нагревания, имеет высокие выходы активированной кислоты (рис. 1).

В результате работы была оптимизирована процедура активации D-галактуроновой кислоты и была предложена следующая методика синтеза эфира гидроксисукцинимида D-галактуроновой кислоты: 0,1000 г (0,52 ммоль) D-галактуроновой кислоты растворяют в 2 мл воды очищенной, затем добавляют 0,0718 г (0,63 ммоль) N-гидроксисукцинимида и 0,1288 г (0,63 ммоль) N,N-дициклогексилкарбодиимида. Перемешивают 48 часов при комнатной температуре. Выпавший осадок N,N-дициклогексилмочевины отфильтровывают. Фильтрат экстрагируют метилхлоридом (3 раза), очищенный водный слой лиофильно высушивают. Выход продукта составил 87%. Идентификацию активированной D-галактуроновой кислоты осуществляли с помощью ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Таким образом, была предложена простая методика активации карбоксильной группы в D-галактуроновой кислоте, используя воду очищенную в качестве растворителя. В дальнейшем предложенная методика будет использована для образования биоконъюгатов интерферонов с цитрусовым пектином.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т., Морозова М.А., Маевская М.В. и др. Препараты растительного происхождения в лечении гепатита С // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2009. – Т. 19, № 3. – С. 70–75.
2. Шитикова О.Г. Иммуотропные эффекты иммобилизованного интерферона альфа-2В и механизм его действия : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Томск, 2016. – 6 с.
3. Schante С.Е., Zuber G., Herlin C. et al. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications // Carbohydrate polymers. – 2011. – Vol. 85, No. 3. – P. 469–489.