

УДК 543.544+615.00

А.А. Дудин, Ю.С. Федорова, П.В. Кузнецов

КОНСТРУИРОВАНИЕ НОВЫХ ЭПОКСИАЗОАДСОРБЕНТОВ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ХРОМАТОГРАФИИ БЕЛКОВ, ЛЕКАРСТВ И РАСТИТЕЛЬНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

В настоящее время аффинная хроматография может иметь три режима применения: классический, обращенный и неклассический варианты. Исходя из анализа известных литературных данных, представляется интересным выделить еще одно направление в данной области – drug affinity chromatography. Это направление получило свою актуальность при исследовании взаимодействия биополимеров и лекарств, когда в качестве аффинного лиганда выступает лекарственное средство. Данное направление широко используется для исследования взаимодействия лекарств и белков [1], а также для исследования извлечений из лекарственного растительного сырья [2,3]. Однако эта, используемая разновидность аффинной хроматографии пока официально не выделяется [4]. По нашему мнению, внедрение лекарственных веществ в качестве элементов вставки и, особенно, лигандов представляется весьма актуальным направлением аффинной хроматографии.

Исследования в направлении изучения взаимодействия белков и лекарств позволяют углубить знания не только известных доменов связывания в широко исследованном ЧСА, но и изучать, и выделять новые лекарствосвязывающие белки.

Как показали исследования в режиме неклассической аффинной хроматографии (НАФХ) последних лет [2,3,5-7], сорбенты с иммобилизованными лекарствами и их аналогами позволяют разделять и изучать не только различные биополимеры, но и БАВ растительного происхождения. В качестве эффективного эпоксиактиватора полимерных матриц перспективно применять диглицидиловый эфир 1,2-этандиола (ДГЭЭД, реагент Хуберта) [8]. Оригинальным биолигандом аффинного синтеза может оказаться и кетон малины (4-гидроксифенил-бутанон-2) впервые обнаруженный нами в фитопрепаратах копеечника [9].

Среди лекарств определенный интерес представляют ноотропные препараты, круг применения которых в настоящее время расширяется, в связи с тем, что они используются не только для лечения последствий инсульта, нарушений развития ЦНС у детей, но и применяются для снятия эмоциональной и психологической перегрузки ЦНС у лиц, занимающихся умственной деятельностью. Применение же монопрепаратов данной группы соединений преимущественно не сопровождается достоверным позитивным клиническим эффектом, поэтому растет число комбинированных препаратов, содержащих сразу два (или более) ноотропных средства в одном препарате.

Ранее в наших работах была показана возможность использования эпоксиазоадсорбентов для разделения БАВ растительного происхождения [2,3] и белков сыворотки крови [5].

Целью настоящей работы послужило исследование разделяющей способности синтезированных нами эпоксиазоадсорбентов на примере модельных смесей ноотропных препаратов.

Для реализации этой цели эпоксиазоадсорбенты были синтезированы по методике, описанной ранее [2] на основе гидразонов орто-(амино, окси)-производных бензойной кислоты (гидразиды антраксиловой и салициловой кислот), где в качестве карбонильной компоненты были использованы ванилин и протокатеховый альдегид. Синтез азоэпоксиадсорбентов проводили на основе сферозы 4В и их аналогов по методике, описанной в работах [2,5].

Структура лигандов приведена на рис. 1.

Нами в работе были использованы три модельные смеси, состоящие из двух ноотропных препаратов каждая (оба компонента смеси составляли по 1 мл каждый): гаммоксин-фенибут, гаммоксин-пикамилон, фенибут-пикамилон. Модель-

Тип лиганды	Формула лиганда	Тип активации	Концентрация лиганда, мкМ/мл	Емкость по белку, мг/мл	УФ-спектр	
					мин., нм	макс., нм
ПГСК*		ДГЭЭД**	20	0,29	265	330
ПГАК*		ДГЭЭД	17	0,27	265	330
ВГАК*		ДГЭЭД	12	0,12	265	330

*ПГСК, ПГАК - протокатеховый гидразон салициловой (антраксиловой) кислоты; ВГАК - ванилингидразон антраксиловой кислоты.

ные смеси готовились по методике [7].

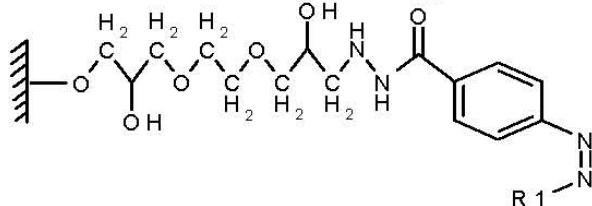


Рис.1. Структура эпоксиазоадсорбентов, где R_1 -лиганд из таблицы.

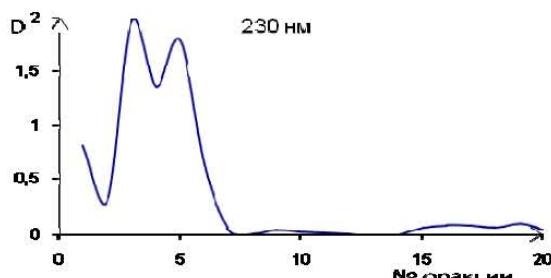


Рис.2. Пример частичного разделения смеси пикиамилон-гаммохин на сорбенте сепф4В-ДЭЭГ-ПГСК. Пик 1 – пикиамилон, Пик 2 – гаммохин.

Было показано, что смесь, содержащая фенибут-пикиамилон, полностью разделяется на сорбентах с лигандами ПГАК, ПГСК. На колонке с лигандом ВГАК разделение отсутствует. Смесь фенибут-гаммохин полностью разделилась толь-

ко на колонке с лигандом ВГАК, на колонках с лигандами ПГСК и ПГАК наблюдалась лишь тенденция к разделению. Смесь гаммохин-пикиамилон полностью разделилась также только на колонке ВГАК, на двух других сорбентах была выявлена лишь тенденция к разделению.

Примеры полного и частичного разделения показаны на рис. 2 и 3.

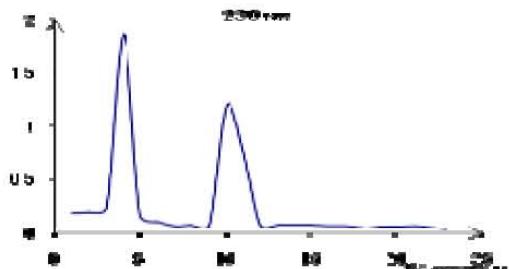


Рис.3. Пример полного разделения смеси пикиамилон-фенибут на сорбенте сепф4В-ДЭЭГ-ПГСК. Пик 1 – пикиамилон, пик 2 – фенибут.

Таким образом, нами впервые экспериментально была показана, как и в [2,3,5], возможность использования эпоксимодифицированных азоадсорбентов на основе полисахаридного геля сепароза 4В (и их аналогов) для разделения модельных смесей ноотропных лекарственных средств.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кузнецов П.В. Эпоксиактивированные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. – Кемерово: «Кузбассвузиздат», 2002. – 104 с.
2. Халахин В.В. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. XXV. Новые азоэпоксиадсорбенты на основе ванилингидразонов о-(окси, амино) замещенных бензойных кислот в неклассической аффинной хроматографии / В.В. Халахин, А.А. Дудин, П.В. Кузнецов // Ползуновский вестник, 2008. – Вып. 3. – С.190-193.
3. Дудин А.А. Новые адсорбенты аффинного типа на основе гидразонов орто-замещенных бензойных кислот и их применение для выделения и очистки биологически активных веществ ряда фитопрепаратов / А.А. Дудин, Ю.С. Федорова, П.В. Кузнецов // Материалы XIII междунар. конференции «Физико-химические основы ионообменных и хроматографических процессов (ИОННТЫ-2011)». Воронеж, 2011. – С. 198-200.
4. Hage D.S. Handbook of Affinity Chromatography (Second Edition) / edited by D.S. Hage, 2005. - Taylor & Francis. - 944 р.
5. Дудин А.А. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. XXVI. Синтез и исследование гидразонов орто-(амино, окси)-производных бензойной кислоты в аффинной хроматографии белков сыворотки крови человека / А.А. Дудин, Е.Г. Поленок, П.В. Кузнецов // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сб. науч. тр. / ПятГФА – Пятигорск, 2012. – Вып. 67. – С. 235-237.
6. Поленок Е. Г. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ. XX. Синтез и применение йодпроизводных фенолфталеина и тирозина в аффинной хроматографии белков сыворотки крови человека / Е. Г. Поленок, П. В. Кузнецов // Хим.-фарм. журн., 2003. - № 12. - С. 38-40.
7. Халахин В.В. Полимерные адсорбенты аффинного типа в исследовании физиологически активных веществ XXIV. Особенности разделения ноотропных препаратов методом неклассической аффинной хроматографии / В.В. Халахин, П.В. Кузнецов // Вопр. био. мед. и фарм. химии, 2010. - №8. - С. 25-29.
8. Дудин А.А. Эпоксиреагент Хуберта в конструировании адсорбентов аффинного типа, используемых в хроматографии лекарственных веществ и природных соединений / А.А. Дудин, П. В. Кузнецов, Е.Г. Поленок, В.В. Халахин, А.С. Сухих // Сорбционные и хроматографические процессы, 2012. - Т. 12. - Вып.4. - С. 481-500.
9. Федорова Ю.С. Сравнительное фитохимическое исследование некоторых видов растений рода *Hedysarum*: автореф. дисс. ... канд. фарм. наук / Ю.С. Федорова. – Самара, 2010. – 24 с.

□Авторы статьи:

Дудин

Федорова

Кузнецов

Андрей Александрович,
ассистент каф. фармакогнозии и
ботаники Кемеровской государствен-
ной медицинской академии.
E-mail:dudin2984@mail.ru

Юлия Сергеевна,
к. фарм. н., ассистент каф. фарма-
цевтической и токсикологической
химии Кемеровской государствен-
ной медицинской академии.
E-mail :fedorova_yuliya_sergeevna
@mail.ru

Петр Васильевич ,
д. фарм. н., проф., зав.
каф. фармацевтической и токсиколо-
гической химии Кемеровской госу-
дарственной медицинской акаде-
мии. Тел. 8-384-2-35-89-16

УДК 547(075.32)

В.Я.Денисов, Т.Б.Ткаченко, Т.В. Чуйкова, Е.В. Королева

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ПРОИЗВОДНЫХ АНТРАХИНОНА С НЕНАСЫЩЕННЫМИ ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ

Производные антрахинона, содержащие ненасыщенные углеродородные заместители, могут быть трансформированы в целый ряд соединений, представляющих интерес как потенциально обладающие фармакологической активностью (аннелированные с ядром антрахинона карбо- и гетероциклы, поликарбонильные соединения и пр.). Однако, известные методы синтеза производных антрахинона с углеродсодержащими заместителями достаточно сложны и многостадийны.

Весьма удобным синтетическим методом введения углеродного заместителя в ароматическое ядро является реакция арилирования непредельных соединений арендиазониевыми солями (реакция Meerweина). В результате указанного взаимодействия элиминируется азот диазогруппы, а водород при sp^2 -атоме углерода замещается на арильную группу (арилирование), либо к кратной связи присоединяются арильная группа и атом хлора (анионарилирование). В ряду антрахинона указанная реакция изучена мало. Нами исследовано взаимодействие гидросульфатов, тетрафторборатов и тетрахлоркуаратов антрахинонилдиазония с непредельными соединениями, содержащими как активированную (акриламид, метилметакрилат, метилакрилат), так и неактивированную кратную связь (стирол, фенилацетилен) [1].

Установлено, что образование продуктов арилирования, либо анионарилирования возможно не только при использовании активированных непредельных соединений, но и для фенилацетиlena, и обычно сопровождается замещением диазогруппы антрахинонилдиазония на водород, гидроксигруппу и, в случае тетрахлоркуаратов, на галоген.

Реакция Meerweina является удобным спосо-

бом получения арил-1,4-бензохинонов. При этом исследователи используют либо традиционный катализ солями меди (I), либо добавляют небольшие количества гидрохинона, который так же может катализировать данную реакцию. При взаимодействии тетрафторбората 1-антрахинонилдиазония с 1,4-бензохиноном в присутствии соли меди (I) удалось получить 1-антрахинонил-1,4-бензохинон с выходом 20% (схема 1).

Противоион диазосоли и положение диазогруппы в антрахиноновом ядре может оказывать влияние на её устойчивость и реакционную способность, поэтому в реакцию с бензохиноном были введены гидросульфаты 1- и 2-антрахинонилдиазония (III, IV), которые были получены с хорошими выходами из 1- и 2-аминоантрахинонов соответственно (схема 2).

При взаимодействии бензохинона с солью (III) в уксусной кислоте в присутствии хлорида меди (I) образуется продукт (II) с выходом около 35%. Если в качестве катализатора данной реакции применять сульфат железа (II), то происходит значительное осмоление смеси продуктов, в которой хроматографически наблюдается образование соединения (II). Использование в данной реакции гидрохинона приводит к образованию трудноразделимой смеси продуктов. Реакция с использованием соли (IV) протекает с образованием в качестве основного продукта 2-гидроксiantрахинона.

По литературным сведениям [2] бензохиноны с электронодонорными заместителями легко вступают в реакции арилирования солями фенилдиазония, присутствие электроноакцепторных групп приводит к реакции без выделения азота и образованию продукта сочетания.

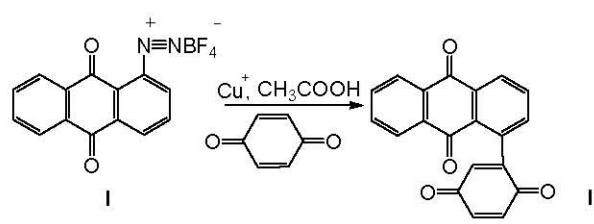


Схема 1

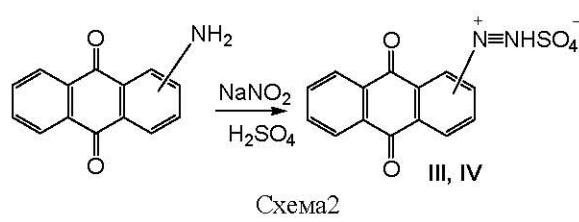


Схема 2