

ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ДЕНДРИМЕРЫ

Ю. В. Стукалов, Е. Ю. Григорьева, Н. С. Калыгина, Е. Ю. Колдаева, А. С. Масько

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н. Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Елена Юрьевна Григорьева grig-elen11@mail.ru

Цель работы – синтез окислительно-восстановительного дендримера (REDOX-дендримера), ядром которого является тетраглицидиловый эфир пентаэритрита, а дендроном – производные антрахинона.

Материалы и методы. Аналитическую и препаративную хроматографию проводили на жидкостном хроматографе SP 8000 (Spectra-Physics, США). Хроматограммы регистрировали с помощью УФ-детектора (Spectra-Physics, США) и рефрактометрического детектора (Jobin-Ivon, Франция). Структуру подтверждали методом протонного магнитного резонанса (ПМР) (Bruker WH-360, ФРГ) с рабочей частотой 360 МГц. Контроль за ходом реакций вели с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. Синтезированы и выделены с помощью препаративной ВЭЖХ производные 2-метилантрахинона, их структура установлена ПМР-спектроскопией. Они использованы в качестве дендрона при синтезе дендримера. Изучена острая токсичность дендримера на мышах-самцах BDF1. Синтезированы REDOX-дендримеры, содержащие в своей структуре производные метилантрахинона. Показана низкая токсичность REDOX-дендримера.

Заключение. Схожесть структуры REDOX-дендримера с доxorубицином и его низкая токсичность дают предпосылки к дальнейшему изучению его противоопухолевой активности.

Ключевые слова: REDOX-дендример, производные 2-метилантрахинона, тетраглицидиловый эфир пентаэритрита, высокоэффективная жидкостная хроматография, токсикология

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-40-43

REDOX DENDRIMERS

Yu. V. Stukalov, E. Yu. Grigorieva, N. S. Kalygina, E. Yu. Koldaeva, A. S. Masko

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoe shosse, Moscow, 115478, Russia

Aim of this work was the synthesis of REDOX-dendrimer core, which is tetraglycidyl ether of pentaerythritol, and a dendron, which is a derivative of anthraquinone.

Materials and methods. Analytical and preparative chromatography was carried out on a liquid chromatograph SP 8000 (Spectra-Physics (USA)). Chromatograms were recorded using a UV-detector (Spectra-Physics (USA)) and refractive index detector (Jobin-Ivon (France)). The structure was confirmed by PMR (Bruker WH-360 (Germany)) with an operating frequency of 360 MHz. Monitoring of reactions conducted using HPLC.

Results. Derivatives of 2-methylantraquinone were synthesized and isolated by use of preparative HPLC. Their structure was determined by PMR-spectroscopy. They were used as a dendron in the synthesis of dendrimer. Its toxicity was studied in male mice BDF1. Redox dendrimers containing methylantraquinone derivatives in its structure were synthesized. Low toxicity of obtained REDOX-dendrimer was shown.

Conclusion. The similarity of REDOX-dendrimer structure with doxorubicin and its low toxicity provides background for further study of its antitumor activity.

Key words: REDOX-dendrimer, derivatives 2-methylantraquinone, tetraglycidyl ether of pentaerythritol, HPLC, toxicology

Введение

В последнее время особое внимание вызывает разработка противоопухолевых препаратов для таргетной терапии онкологических заболеваний в виде наноконструкций на основе дендримеров [1]. Искусственные молекулы – кластеры маленьких молекул, связанные с центральным ядром, – называемые дендримерами, могут повысить точность доставки терапевтического

агента. Размер дендримеров мал (порядка 5 нм), поэтому они могут легко проникать в опухолевые клетки. Фармпрепараты на их основе могут стать универсальной системой доставки терапевтических агентов при таргетной терапии. Исследования конструкций на основе дендримеров, где терапевтическим агентом являлся радионуклид рений-188, показали их высокую эффективность *in vitro* и *in vivo* [2, 3].

Характеристика соединений

Соединение	Брутто-формула	С		Н	
		найдено, %	вычислено, %	найдено, %	вычислено, %
III	C ₁₅ H ₁₀ O ₃	75,53	75,62	4,26	4,23
IV	C ₁₅ H ₁₀ O ₃	75,64	75,62	4,17	4,23
VI	C ₁₇ H ₂₈ O ₈	56,57	56,66	7,78	7,83
VII	C ₇₇ H ₆₈ O ₂₀	70,45	70,42	5,18	5,22

Настоящая работа посвящена синтезу окислительно-восстановительных дендримеров (REDOX-дендример), ядром которых является тетраглицидиловый эфир пентаэритрита (ТГЭПЕ), а дендронами выступали производные антрахинона. Интерес к ним обусловлен тем, что производные 2-алкилантрахинона способны генерировать синглетный кислород и перекись водорода [4, 5]. Поскольку они близки к митоксантрон и доксорубину, возможно появление и других противоопухолевых эффектов.

Материалы и методы

В работе использовали реактивы квалификации «чда» и «хч», бидистиллированную воду, а также программное обеспечение MarvinSketch фирмы ChemAxon's (свободная лицензия).

Хроматографию проводили на жидкостном хроматографе SP 8000 (Spectra-Physics, США). Хроматограммы регистрировали с помощью УФ-детектора (Spectra-Physics, США) и рефрактометрического детектора (JobinYvon, Франция). Колонка для флэш-хроматографии размером 165 × 25 мм (силикагель, 40–60 мкм, Acros Organics, Бельгия). Подвижная фаза – гексан-ацетон (60: 40), скорость потока – 20 мл/мин, нагрузка – 1 г.

Для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) использовали предколонку размером 30 × 2,1 мм (сорбент Pellicular ODS, 37–53 мкм, Whatman Inc., США), колонку размером 150 × 4,1 мм (сорбент Separon C8, 7 мкм). Подвижная фаза – ацетонитрил – вода (32,5: 67,5), скорость потока – 1 мл/мин. Препаративную ВЭЖХ осуществляли с использованием предколонки размером 30 × 2,1 мм (сорбент Pellicular ODS, 37–53 мкм, Whatman Inc., США), колонки размером 250 × 10 мм (сорбент Separon C8, 7 мкм). Подвижная фаза – ацетонитрил – вода (32,5: 67,5), скорость потока – 4 мл/мин. Структуру подтверждали методом протонного магнитного резонанса (ПМР) (Bruker WH-360, ФРГ) с рабочей частотой 360 МГц в дейтерированном хлороформе, внутренним стандартом служил тетраметилсилан. Контроль за ходом реакций вели с помощью ВЭЖХ. Данные элементного анализа удовлетворяют вычисленным значениям (см. таблицу).

Синтез. III и IV. Колбу, содержащую фенол (1 г, 6,2 ммоль), графит (0,59 г, 49,3 ммоль), 4-метилфталевоый ангидрид (0,58 г, 6,2 ммоль) и метансульфокислоту (7,5 мл), нагревали на водяной бане в течение 5 ч. Продукт экстрагировали хлороформом, промывали насыщенным NaCl, сушили Na₂SO₄. Общий выход – 1,35 г (92 %). Выход III (препаративная ВЭЖХ) – 0,4 г.

VI. В колбу помещали пентаэритрит (1 г, 7,3 ммоль), диметилсульфоксид (9 мл) и гидроксид калия (1,65 г, 29,4 ммоль) и прикапывали эпихлоргидрин (3,5 мл, 44,1 ммоль). Массу перемешивали при 35 °С в течение 6 ч и оставляли на ночь. Реакционную массу экстрагировали этилацетатом. Выход (после флэш-хроматографии) – 1,85 г (70 %). Степень чистоты – 97 % (ВЭЖХ). ¹H ПМР-спектр: 2.593 (дд, J = 6.5 Hz, 4H), 2.773 (т, J = 6.5 Hz) 2.922 (м, 4H), 3.10 (м, 4H), 3.37 (ддд, J = 7.0, 3.7, 1.5 Hz, 4H), 3.475 (д, J = 12 Hz, 4H) 3.515 (д, J = 12 Hz, 4H), 3.70 (дд, J = 12 and 7.0 Hz, 4H).

VII. Во флакон помещали ТГЭПЭ (85 мг, 0,24 ммоль), III (225 мг, 0,94 ммоль) и перемешивали в течение 90 мин на кипящей водяной бане. Выход – 300 мг (97 %).

Результаты и обсуждение

Для синтеза REDOX-дендримера, содержащего производные 2-метилантрахинона, получали дендроны по схеме, представленной на рис. 1. Дендроны получали конденсацией фенола с 4-метилфталевоый ангидридом в метансульфокислоте в присутствии графита в соответствии с работой [6]. На рис. 2 приведена ВЭЖХ-хроматограмма полученного дендрона. По данным ПМР-спектров, пику 7 соответствует соединение III, пику 8 – IV.

REDOX-дендример синтезировали по схеме, представленной на рис. 3. Ядро REDOX-дендримера получали конденсацией пентаэритрита (I) с эпихлоргидрином по модифицированной нами методике в соответствии с работой [7]. Полученный ТГЭПЭ (II) далее конденсировали с дендроном – соединением III, получая целевой продукт.

В ходе токсикологических испытаний на мышцах-самцах BDF1 были выявлены основные параметры

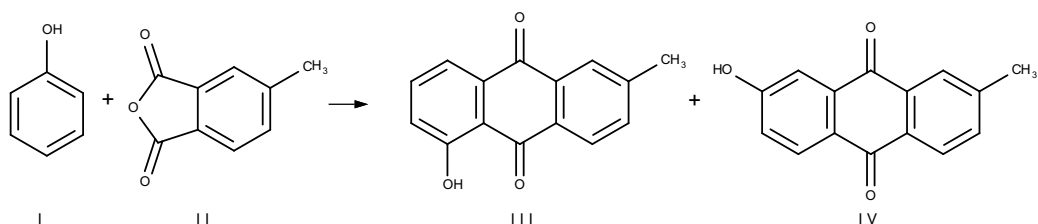


Рис. 1. Схема синтеза дендрона: I – фенол, II – 4-метилфталевый ангидрид, III – 1-гидрокси-6-метил-9,10-дигидроантрацен-9,10-дион, IV – 2-гидрокси-7-метил-9,10-дигидроантрацен-9,10-дион

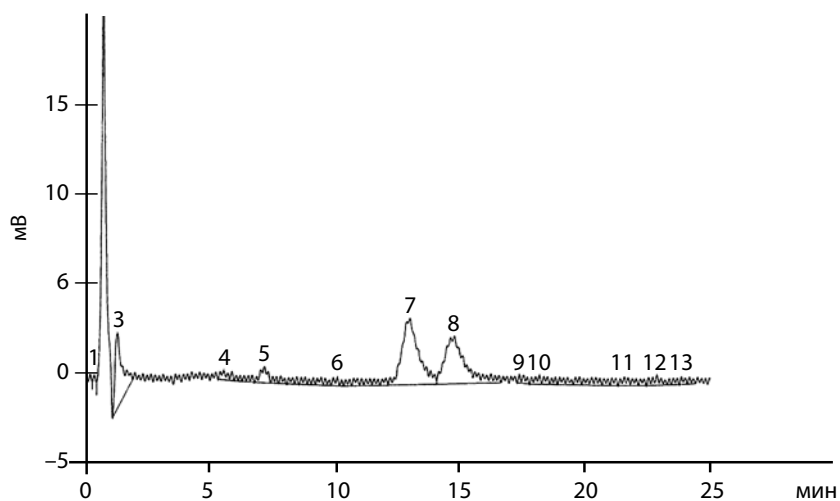


Рис. 2. Хроматограмма реакционной смеси в синтезе дендрона

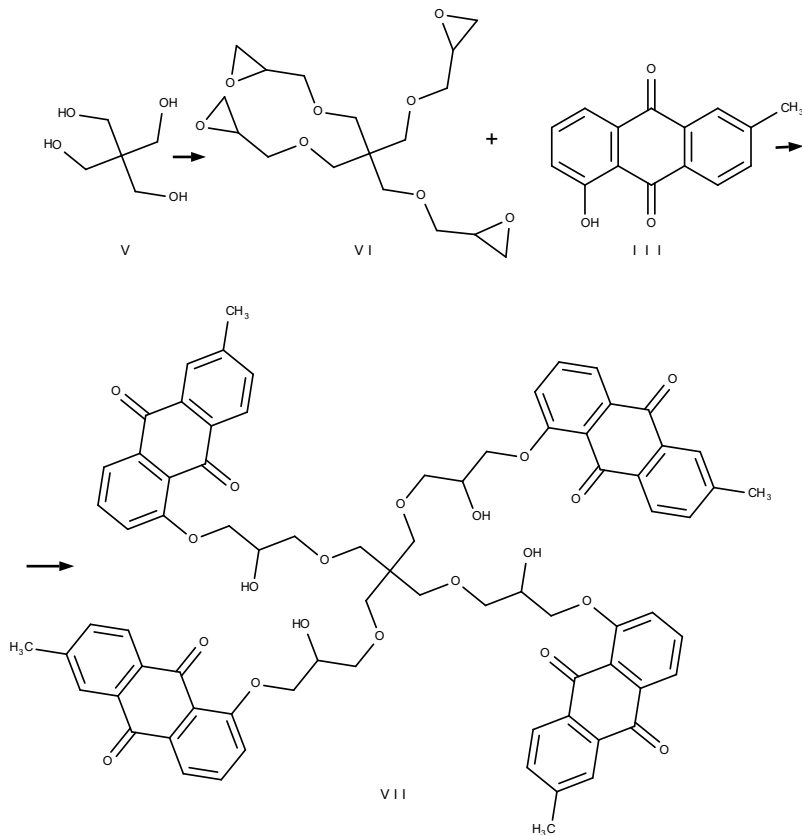


Рис. 3. Схема синтеза дендримера: V – пентаэритрит, VI – тетраглицидиловый эфир пентаэритрита, VII – окислительно-восстановительный дендример

токсикометрии REDOX-дендримера: максимально переносимая доза, равная 850 мг/кг; абсолютно смертельная доза, равная 1500 мг/кг; среднесмертельная доза, равная 1087,5 мг/кг. Порог острого действия соединения Lim_{ac} совпадал с максимальной переносимой дозой [8, 9]. Рассчитанное значение зоны острого токсического действия составило 1,28, что характеризует вещество как безопасное.

Выводы

Синтезированы окислительно-восстановительные дендримеры (REDOX-дендримеры), содержащие в своей структуре производные метилантрахинона. Показана низкая токсичность REDOX-дендримера. Схожесть структуры REDOX-дендримера с доксорубицином и его низкая токсичность дают предпосылки к дальнейшему изучению его противоопухолевой активности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tekade R. K., Kumar P. V., Jain N. K. et al. Dendrimers in Oncology: An Expanding Horizon. *Chem Rev* 2009;109(1):49–87. DOI: 10.1021/cr068212n.
2. Стукалов Ю. В., Масько А. С., Калыгина Н. С. и др. Дендримеры как основа наноконструкций для таргетной радиотерапии в онкологии. *Российский биотерапевтический журнал* 2010;9(3):24.
3. Колдаева Е. Ю., Григорьева Е. Ю., Стукалов Ю. В. и др. Сравнительная токсикология наноконструкций на основе дендримеров для таргетной радиотерапии в онкологии. *Российский биотерапевтический журнал* 2010;9(3):14.
4. Hua D. H., Lou K., Havens J. et al. Synthesis and in vitro antitumor activity of substituted anthracene-1,4-diones. *Tetrahedron* 2004;60(45):10155–10163. DOI: 10.1016/j.tet.2004.09.026.
5. Campos-Martin J. M., Blanco-Brieva G., Fierro J. L. G. Hydrogen Peroxide Synthesis: An Outlook beyond the Anthraquinone Process. *Angewandte Chemie International Edition* 2006;45(42):6962–84. DOI: 10.1002/anie.200503779.
6. Sarvari M. H., Sharghi H. Simple and Improved Procedure for the Regioselective Acylation of Aromatic Ethers with Carboxylic Acids on the Surface of Graphite in the Presence of Methanesulfonic Acid. *Synthesis* 2004;13:2165–8. DOI: 10.1055/s-2004–831162.
7. Kida T., Yokota M., Masuyama A. et al. A Facile Synthesis of Polyglycidyl Ethers from Polyols and Epichlorohydrin. *Synthesis* 1993;5:487–489. DOI: 10.1055/s-1993–25890.
8. Колдаева Е. Ю., Стукалов Ю. В., Григорьева Е. Ю., Масько А. С. Острая токсичность REDOX-дендримеров. *Российский биотерапевтический журнал* 2012;11(2):26.
9. Стукалов Ю. В., Колдаева Е. Ю., Кадырова Е. Л., Григорьева Е. Ю. Токсикология окислительно-восстановительных наноконструкций противоопухолевых препаратов. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(4):111–2.