

Синтез фосфолипидного производного кладрибина с использованием микробной фосфолипазы D

Научный руководитель – Зинченко Анатолий Иванович

Винтер Маргарита Андреевна

Студент (магистр)

Института подготовки научных кадров Национальной академии наук Беларуси,
Кафедра естественно-научных дисциплин, Минск, Беларусь

E-mail: rita.vinter.abc@gmail.com

Кладрибин (лейкладин, 2-хлордезоксаденозин) представляет собой модифицированный аналог дезоксиаденозина (пурина). Проникнув в клетку, кладрибин фосфорилируется до активной формы - 2-хлордезоксаденозин трифосфата, которая нарушает внутриклеточные процессы, ингибируя синтез и репарацию ДНК, ферменты нуклеинового обмена.

Кладрибин – известный противоопухолевый препарат, который используется в терапии ряда онкогематологических заболеваний, а также применяется для лечения рассеянного склероза, целиакии, синдрома Эрлгейма-Честера.

Одним из недостатков препаратов на основе модифицированных нуклеозидов является их низкая биодоступность (10-30 %), что определяет высокие дозы их применения и, как следствие, высокий токсический эффект. Решить эту проблему могло бы создание нового поколения лекарственных средств, например, на основе конъюгатов модифицированных нуклеозидов с фосфолипидами. Наличие липидного фрагмента, предположительно, будет способствовать более эффективному проникновению действующего вещества в клетку и снижению токсичности препарата. Синтез таких липопроизводных нуклеозидов можно осуществить как химически, так и биотехнологическим методом с использованием фосфолипазы D (ФЛД). Данный фермент катализирует гидролиз фосфодиэфирной связи фосфолипидов с образованием фосфатидной кислоты и спиртового остатка, а также осуществляет реакцию трансфосфатидилирования, замещая полярные группы фосфолипидов на соединения, имеющие в своем составе первичные, реже вторичные спиртовые группы.

Целью настоящей работы являлось получение фосфатидильного производного кладрибина, потенциально обладающего улучшенными фармакодинамическими характеристиками, с использованием ФЛД *Streptomyces netropsis*.

Синтез 5'-фосфатидильного производного кладрибина проводили в двухфазной реакционной смеси, состоящей из 5 мл 0,2 М натрий-ацетатного буфера (рН 6,0) с 0,1М CaCl₂ и 10 мл хлороформа. 150 мкмоль кладрибина, 225 мкмоль 1,2-димиристоилфосфатидилхолина и 3,75 мг сухого препарата ФЛД. Выход целевого продукта (конверсия) составил более 95 мол. %.

По окончании реакции хлороформный слой отделили. Очистку целевого продукта осуществляли методом препаративной тонкослойной хроматографии (ТСХ) на стеклянных пластинах с толщиной слоя силикагеля 1,5 мм. ДМФ-кладрибин элюировали с пластин метанолом.

В результате получено 68 мг субстанции ДМФ-кладрибина с выходом 53 мол. % в расчете на введенный в реакцию нуклеозид. Чистота полученного соединения составила более 95 % по данным ТСХ. Структура вещества подтверждена данными УФ-спектроскопии.

Полученное соединение также положительно окрашивается специфическим реагентом на фосфолипиды (реактив Васьковского).

Таким образом, одностадийным экономичным способом было получено новое, неопи-
санное ранее соединение – ДМФ-кладрибин, потенциально обладающее противоопухоле-
вой активностью и улучшенными фармакологическими свойствами.