

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ПОЛИМЕРЫ

VII. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ТУБЕРКУЛОСТАТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИ- И СОПОЛИПЕПТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ ТУБАЗИД ИЛИ *l*-АМИНОСАЛИЦИЛОВУЮ КИСЛОТУ

Ц. Е. АГАДЖАНЯН, С. Г. КАРАГЕЗЯН и В. Г. САРАФЯН

Институт тонкой органической химии им. А. Л. Миджояна  
 АН Армянской ССР, Ереван

Поступило 20 IV 1973

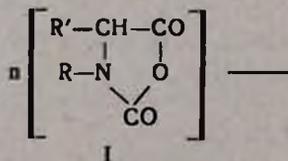
Полимеризацией *N*-карбоксиянгидридов и сополимеризацией смеси двух *N*-карбоксиянгидридов  $\alpha$ -аминокислот в присутствии тубазида или *l*-аминосалициловой кислоты (ПАСК) синтезирован ряд поли- и сополипептидов, связанных карбоксильным концом амидной связью с остатками указанных веществ. Показано, что некоторые из них обладают заметной антитуберкулезной активностью *in vitro*.

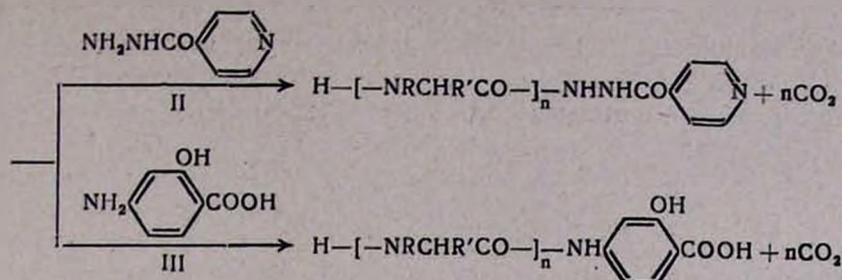
Табл. 2, библиографические ссылки 6.

Одним из способов изменения свойств туберкулостатических препаратов является присоединение их к полимерам—поливинилового спирту [1], производным декстрана [2], сополимерам кротонового альдегида, акриловой или метакриловой кислоты с винилпирролидоном [3]. При этом увеличивается длительность их действия и снижается токсичность.

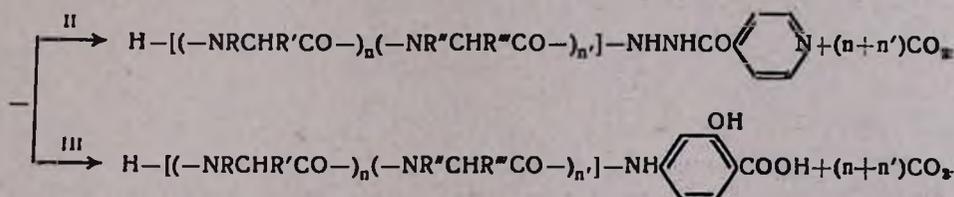
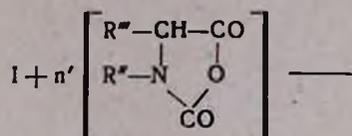
В продолжение ранее начатых работ по модификации лекарственных веществ присоединением их к полипептидам [4,5] в настоящей статье сообщается о синтезе ряда поли- и сополипептидов, содержащих на карбоксильном конце молекулы остатки туберкулостатических препаратов тубазида или *l*-аминосалициловой кислоты.

Полимеризацией *N*-карбоксиянгидридов DL-аланина и саркозина в присутствии тубазида или *l*-аминосалициловой кислоты получены водорастворимые полипептиды, связанные карбоксильным концом молекулы амидной связью с остатками указанных веществ (табл. 1):





Сополимеризацией же смеси *N*-карбоксиангидридов DL-аланина или саркозина с *N*-карбоксиангидридами ряда  $\alpha$ -аминокислот, взятых в различных соотношениях, в присутствии тубазида или *n*-аминосалициловой кислоты получены аналогичные производные водорастворимых и водонерастворимых нерегулярных сополипептидов [6] (табл. 2).



Соотношение мольных количеств *N*-карбоксиангидридов и туберкулостатических препаратов ( $[A]/[J]$ ) при полимеризации равнялось 5:1 и 10:1 (тубазид) или 10:1 (ПАСК), а при сополимеризации—10:1, считая на суммарное количество двух взятых *N*-карбоксиангидридов.

УФ спектры водорастворимых производных поли- и сополипептидов, снятых в воде, имеют максимум поглощения в области 258—266 и 263—269 *нм*, характерный соответственно для тубазида и ПАСК. ИК спектры подтверждают полипептидный характер полученных веществ [4] и наличие в них остатков тубазида и ПАСК ( $\nu_{\text{C-C, C-N}}$  в области 1610—1630  $\text{см}^{-1}$ ). Мольное соотношение аминокислот в сополипептидах в основном совпадает с исходным соотношением взятых в реакцию *N*-карбоксиангидридов. Реакция биурета для всех полимеров, кроме полисаркозилтубазида и полисаркозил-*n*-аминосалициловой кислоты, положительна. Молекулярные веса водорастворимых производных поли- и сополипептидов вычислены из процентного содержания аминокислота, определенного кулонометрическим титрованием бромом. Значения характеристической вязкости  $[\eta]$  синтезированных веществ полиэлектролитного характера находятся в пределах 0,25—0,65 (вода, 20°).

Противотуберкулезная активность синтезированных водорастворимых соединений изучалась *in vitro* методом серийных разведений в среде Со-

тона, сравнительно активные же препараты—в той же среде, содержащей 10% лошадиной сыворотки. Пробирки засеивались пленкой культуры штамма Academ'a и выдерживались в термостате при 37° в течение 7—10 дней. Параллельно в качестве контроля исследовались тубазид и ПАСК. Полученные результаты приведены в табл. 1 и 2. Туберкулоstaticкая активность поли- и сополипептидов, содержащих остатки тубазида или ПАСК, в некоторых случаях изменяется в зависимости от характера аминокислоты. При укорачивании длины пептидной цепи гомополипептидов активность сравнительно увеличивается в среде, содержащей сыворотку, и при ее отсутствии. При переходе от гомополипептидов к сополипептидам активность несколько увеличивается у ПАСК и уменьшается у тубазидсодержащих производных, за исключением поли-(DL-аланил, глицил)тубазида, активность которого в среде, содержащей сыворотку, повышается с увеличением мольной доли глицина в сополипептиде. Все препараты менее активны, чем тубазид и ПАСК, при изучении без сыворотки, но в ее присутствии производные тубазида сохраняют свою активность в большей степени, чем сам тубазид; в результате некоторые из них [полисаркозилтубазид, поли (DL-аланил, глицил)-тубазид] в 1,5—1,8 раза активнее в пересчете на чистый тубазид.

### Экспериментальная часть

*Полимеризация N-карбоксиянгидридов аминокислот в присутствии тубазида или n-аминосалициловой кислоты.* К 5—10% раствору N-карбоксиянгидрида DL-аланина или саркозина в сухом диоксане прибавляют взятый в определенном соотношении раствор тубазида или ПАСК\* в сухом диоксане. Конечная концентрация раствора в случае тубазида 2—4%, ПАСК—1—1,5%. Колбу с хлоркальциевой трубкой оставляют при 20—21° в течение нескольких суток. Выпавший осадок фильтруют (в случае ПАСК фильтрат упаривают, остаток объединяют с осадком), промывают диоксаном и петролевым эфиром и сушат в вакууме при 40—50°. Мольное соотношение реагентов, время полимеризации, выход и физико-химические константы приведены в табл. 1.

*Сополимеризация двух N-карбоксиянгидридов аминокислот в присутствии тубазида или n-аминосалициловой кислоты.* Смешивают взятые в определенном соотношении растворы N-карбоксиянгидридов DL-аланина и глицина, DL-валина, саркозина, DL-норлейцина или L-фенилаланина или же саркозина и глицина с раствором тубазида или n-аминосалициловой кислоты в сухом диоксане. Конечная концентрация раствора в случае тубазида 2—4%, ПАСК—1—2,5%. Раствор с хлоркальциевой трубкой оставляют при 20—21° в течение нескольких суток. Выпавший осадок фильтруют [в случае поли (DL-норлейцил, DL-аланил)тубазида, поли (DL-аланил, DL-валил)-, поли (DL-аланил, саркозил)- и поли (сар-

\* Для получения ПАСК водный раствор n-аминосалицилата натрия подкисляют 5% HCl, выпавший осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат.

козил, глицил) ПАСК фильтрат упаривают, остаток объединяют с осадком], промывают диоксаном и петр. эфиром и сушат в вакууме при 40—50°. Мольное соотношение N-карбоксиянгидридов аминокислот и туберкулостатических препаратов, время полимеризации, выход и физико-химические константы приведены в табл. 2.

Таблица 1

Полипептиды, содержащие остаток тубазид или ПАСК

Название препарата	Условия полимеризации		Выход, %	Т. разл., °C	N амина, %	Средний молекулярный вес	Бактериостатическая концентрация, мкг/мл	
	[A]/[J]	продолжительность, сутки					без сывортки	с сыворткой
Поли-DL-аланил-тубазид	5:1	7	83	130—133	2,97	470	1,5	50,0
Поли-DL-аланил-ПАСК	10:1	4	97	140*	1,49	940	25,0	100,0
Полисаркозил-тубазид	5:1	8	99	215*	3,62	390	1,5	3,0
Полисаркозил-ПАСК	10:1	8	56	220*	1,51	920	3,0	12,5
Полисаркозил-ПАСК	10:1	7	48	200—202	1,56	890	250,0	—
Поли-DL-аланил-ПАСК	10:1	11	99	215—218	1,09	1280	1000,0	—
Тубазид							0,05	1,5
ПАСК							3,0	25,0

\* Начало температуры разложения.

ԿԵՆՍԱՐԱՆՈՐԵՆ ԱԿՏԻՎ ՊՈԼԻՄԵՐՆԵՐ

VII. ՏՈՒՐԱԶԻԴԻ ԿԱՄ ԱՎՄԻՆԱՍԱԼԻՑԻԱԹՔՈՒ ԳԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ԳՈԼԻՆ ԵՎ ՀԱՄԱՏԵՂ ԳՈԼԻԹԵՐՑԻՒԳՆԵՐԻ ՍԵԹԵԶ ԵՎ ՏՈՒՐԵՐԿՈՒԼՈՍԱՏԻԿ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ՌԵՍՈՒՄԵՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆ

8. Ե. ԱՂԱԶԱՆՅԱՆ, Ս Գ. ՂԱՐԱԳՅՈՋՅԱՆ Ե Վ. Գ. ՍԱՐԱՅՅԱՆ

Սինթեզված են DL-ալանինի և սարկոզինի պոլիպեպտիդներ, DL-ալանինի և գլիցինի, սարկոզինի, DL-վալինի, DL-նորլեյցինի կամ L-ֆենիլալանինի, ինչպես նաև սարկոզինի և գլիցինի համատեղ պոլիպեպտիդներ, որոնք ամիդային կապով միացած են տուբերկոլինի կամ պ-ամինասալիցիլաթթվին: Պոլիպեպտիդների և համատեղ պոլիպեպտիդների ածանցյալներն ստացված են անջուր դիօքսանում, համապատասխան ամինաթթուների N-կարբօքսի-անհիդրիդների պոլիմերացմամբ, նշված տուբերկոլոստատիկ պրեպարատների ներկայությամբ:

Պոլիմերների կառուցվածքը հաստատված է ԻԿ և ՈՒՄ սպեկտրների օգնությամբ: Որոշված է ամինաթթուների հարաբերությունը համատեղ պոլիպեպտիդներում, ինչպես նաև պոլիմերների միջին մոլեկուլային կշիռները և [η]:

Բերված են in vitro տուբերկոլոստատիկ ազդեցության ուսումնասիրության արդյունքները:

Таблица 2

## Сополипептиды, содержащие остаток тубазидна или ПАСК

Название препарата	Условия полимеризации		Выход, %	Т. разл., °С	Растворимость в воде	Соотношение аминокислот в сополипептидах**	N амина, %	Средний молекулярный вес	Бактериостатическая концентрация, мкг/мл	
	соотношен. N-карбоксиг. и тубазидна или ПАСК	время, сутки							без сы-воротки	с сы-вороткой
Поли(DL-аланил, глицил)тубазид	5:5:1	5	71	175*	+	1:0,91	1,45	960	3	6
Поли(DL-аланил, глицил)тубазид	10:5:1,5	13	75	210*	+	2:0,64	1,53	910	1,5	25
Поли(DL-норлейцил, DL-аланил)тубазид	5:10:1,5	12	72	200*	-	1:2	-	-	-	-
Поли(DL-норлейцил, DL-аланил)тубазид	5:5:1	12	47	210*	-	0,8:1	-	-	-	-
Поли(L-фенилаланил, DL-аланил)тубазид	5:5:1	13	70	210*	-	-	-	-	-	-
Поли(L-фенилаланил, DL-аланил)тубазид	5:15:2	13	81	160*	-	-	-	-	-	-
Поли(DL-валил, DL-аланил)тубазид	5:10:1,5	7	72	195*	+	0,92:2	1,40	1000	125	-
Поли(саркозил, DL-аланил)тубазид	5:5:1	6	98	155—157	+	0,93:1	1,80	780	250	-
Поли(саркозил, глицил)тубазид	5:10:1,5	4	93	205—208	+	0,84:2	2,21	630	500	-
Поли(саркозил, глицил)тубазид	5:5:1	5	98	180—183	+	0,77:1	1,92	730	250	-
Поли(саркозил, глицил)тубазид	10:5:1,5	5	92	140—142	+	2:0,62	1,85	800	250	-
Поли(глицил, DL-аланил)ПАСК	5:5:1	11	76	190*	+	0,8:1	0,85	1650	125	-
Поли(глицил, DL-аланил)ПАСК	10:5:1,5	11	69	175*	-	2:1,2	-	-	-	-
Поли(DL-аланил, DL-валил)ПАСК	10:5:1,5	8	91	195—197	+	2:0,92	0,85	1650	33	-
Поли(DL-аланил, саркозил)ПАСК	5:5:1	7	98	190—193	+	1:0,82	-	-	33	-
Поли(саркозил, глицил)ПАСК	5:5:1	6	58	230—232	+	1:0,71	-	-	125	-

\*\* Порядок приведенных цифр соответствует порядку остатков в названии препарата,

## BIOLOGICALLY ACTIVE POLYMERS

VII. SYNTHESIS AND STUDY OF TUBERCULOSTATIC ACTION OF POLY-ND COPOLYPEPTIDES, CONTAINING TUBAZIDE OR *p*-AMINOSALICYLIC ACID

Ts. Ye. AGHAJANIAN, S. G. GHARAGUEZIAN and V. G. SARAFIAN

Polypeptides of DL-alanine and sarcosine, copolypeptides of DL-alanine and glycine, sarcosine, DL-valine, DL-norleucine or L-phenylalanine, as well as sarcosine and glycine have been synthesized, which are connected to tubazide or *p*-aminosalicylic acid by an amide linkage. The derivatives of poly- and copolypeptides have been obtained in anhydrous dioxane by polymerization of N-carboxyanhydrides of the corresponding aminoacids in presence of the above-mentioned tuberculostatics. The structure of the polymers has been confirmed by means of infra-red and ultra-violet spectra. The ratio of the average molecular weights of the poly- and copolypeptides have been determined.

The results of the in vitro study of the tuberculostatic activity are given.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

1. С. Н. Ушаков, Л. Б. Трухманова, Э. В. Дроздова, Т. М. Маркелова, ДАН СССР, 141, 1117 (1961).
2. Т. И. Козулицина, А. Д. Вирник, К. П. Хомяков, А. Б. Лившиц, Э. А. Роговин, Вопросы мед. хим., 14, 375 (1968).
3. Тр. II всесоюзн. симп. по химии и физико-химии физиологически активных полимерных веществ, Изд. Зинатне, Рига, 1971, стр. 73, 175, 206. Тезисы докладов 3-го симп. по физиологически активным полимерам и макромолекулярным моделям биополимеров, Изд. Зинатне, Рига, 1971, стр. 3, 4, 8.
4. Ц. Е. Агаджанян, К. Л. Амбоян, Б. Т. Гарибджанян, А. А. Чачоян, Арм. хим. ж., 25, 955 (1972).
5. Ц. Е. Агаджанян, А. Х. Аблабутян, Э. В. Власенко, А. А. Гаспарян, Арм. хим. ж., 26, 388 (1973).
6. В. В. Коршак, С. В. Рогожин, В. А. Даванков, Ю. А. Давидович, Т. А. Макарова, Усп. хим., 44, 777 (1965).