

ХІМІЯ
ХІМТЕХНОЛОГІЯ
CHEMISTRY
CHEMICAL ENGINEERING

УДК 543.51+547-327

И.М. Ракипов, канд. хим. наук,
М.М. Ракипова, специалист,
Одес. нац. политехн. ун-т

**МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫЕ АНАЛИТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ
RGD-ПЕПТИДОМИМЕТИКОВ, СОДЕРЖАЩИХ
ФРАГМЕНТ β -АЛАНИНА**

И.М. Ракипов, М.М. Ракипова. **Мас-спектральні аналітичні ознаки RGD-пептидоміметиків, які містять фрагмент β -аланіну.** Встановлено основні напрямки фрагментації RGD-пептидоміметиків, які містять фрагмент β -аланіну, та їх основні мас-спектральні аналітичні ознаки в умовах мас-спектрометрії з бомбардуванням швидкими атомами. При цьому основні канали розпаду протонованих молекул пов'язані з дисоціацією амідних або сусідніх з ними зв'язків, що залежить від місцеположення локалізації заряду та стійкості продуктів утворення.

Ключові слова: мас-спектрометрія, фрагментація, RGD-пептидоміметики, протонувана молекула.

И.М. Ракипов, М.М. Ракипова. **Масс-спектральные аналитические признаки RGD-пептидомиметиков, содержащих фрагмент β -аланина.** Установлены основные направления фрагментации RGD-пептидомиметиков, содержащих фрагмент β -аланина, и их основные масс-спектральные аналитические признаки в условиях масс-спектрометрии с бомбардировкой быстрыми атомами. При этом основные каналы распада протонированных молекул связаны с диссоциацией амидных или соседних с ними связей, что обусловлено местоположением локализации заряда и устойчивостью образующихся продуктов.

Ключевые слова: масс-спектрометрия, фрагментация, RGD-пептидомиметики, протонированная молекула.

I.M. Rakipov, M.M. Rakipova. **Mass spectral analytical features of RGD-peptidomimetics containing a β -alanine fragment.** The main fragmentation directions of RGD-peptidomimetics containing β -alanine residue, and their mass-spectrometric analytical features in fast atom bombardment conditions are determined. Primary decay directions of protonated molecules are associated with the amide or neighboring bonds dissociation, which is stipulated by the charge location and stability of the products formed.

Keywords: mass spectrometry, fragmentation, RGD-peptidomimetics, protonated molecule.

В клинике внутренних заболеваний сердечно-сосудистые заболевания занимают существенное место. Процесс тромбообразования считается одной из основных причин инфаркта миокарда, инсульта и может так же способствовать развитию периферической артериальной ишемии и паралича. В последнее десятилетие интерес многих химиков и фармацевтов в основном сосредоточен на дизайне, синтезе и разработке соединений, которые предотвращают образование тромба в результате агрегации тромбоцитов. Наиболее перспективными в этом отношении являются RGD-пептидомиметики, которые проявляют высокую активность как антагонисты фибриногеновых ре-

цепторов [1...4]. При этом эта активность в значительной мере обусловлена соотношением основности и кислотности отдельных структурных фрагментов этих молекул. В связи с этим становится актуальным анализ и определение структуры промежуточных и конечных продуктов синтеза этих соединений. Традиционно для этих целей используется органическая масс-спектрометрия, позволяющая быстро и надежно идентифицировать и установить структуру исследуемого соединения.

Настоящая работа посвящена изучению RGD-пептидомиметиков — перспективных биологически активных веществ методом масс-спектрометрии в режиме бомбардировки ускоренными атомами. Известно, что в пептидах, не содержащих сильно основных боковых ответвлений в цепи, их диссоциация в условиях масс-спектрометрии связана преимущественно с индуцированными зарядом разрывами амидных или соседних с ними связей, в то время как заряд удаленные разрывы протекают у соединений, содержащих сильно основные боковые заместители [5, 6].

Изучена фрагментация протонированных молекул RGD-пептидомиметиков, содержащих остаток β -аланина. В масс-спектрах с бомбардировкой быстрыми атомами наблюдаются интенсивные пики протонированных молекул. Разрыв соответствующих связей и образующиеся при этом осколочные ионы соединений, содержащих в своей структуре в качестве N-концевого фрагмента изоиндол-5-иламин и 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-карбоновую кислоту, показаны на рис. 1:

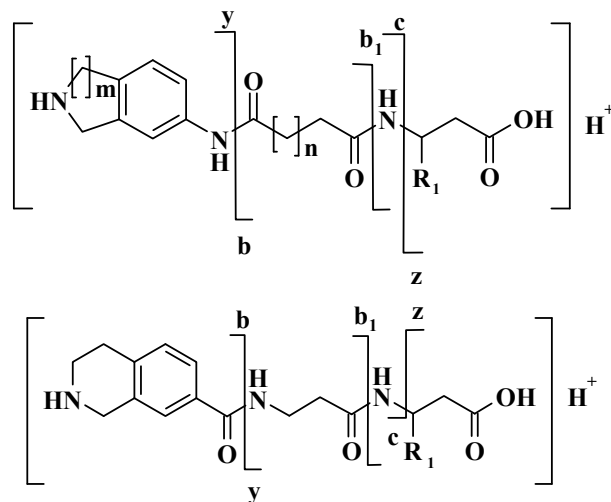


Рис. 1. Разрывы связей в протонированных молекулах соединений, содержащих в своей структуре фрагменты изоиндол-5-иламина и 1,2,3,4-тетрагидроизохинолин-7-карбоновой кислоты и типы образующихся ионов

Для соединений, содержащих в β -аланиновом фрагменте в качестве заместителя R_1 водород, фенил и 4-фторфенил, наряду с пиками протонированных молекул, основными аналитическими признаками являются пики ионов **b** и **b₁** и отсутствие пиков ионов **c**, **z**. Последние являются аналитическими признаками соединений, в которых заместителями в указанном положении являются алкоксифенильные группы.

Основные направления фрагментации RGD-пептидомиметиков, содержащих изофталевый фрагмент, сопровождается разрывом амидных и смежных с ними связей, как показано, на рис. 2.

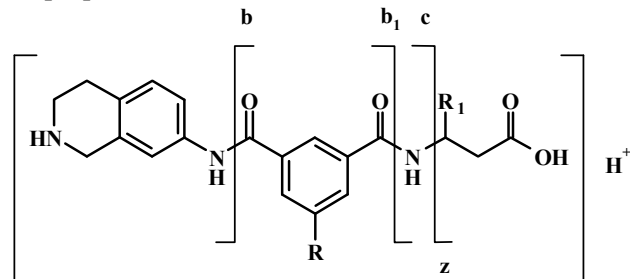


Рис. 2. Разрывы связей в протонированных молекулах соединений, содержащих остаток изофталевой кислоты и типы образующихся ионов

В масс-спектрах с бомбардировкой быстрыми атомами соединений рассматриваемого типа в качестве аналитических признаков могут быть использованы пики ионов $[M+H]^+$ и мало интенсивные пики ионов **b** и **b₁** в случае соединений, содержащих в β-положении аланинового фрагмента атом водорода. Для соединений, содержащих в этом же положении 3,4-диметоксифенильный заместитель, аналитическими признаками являются средней интенсивности пики протонированных молекул и интенсивные пики ионов **c**, являющиеся базовыми.

В отличие от рассмотренных веществ, в структуре следующей группы пептидомиметиков наряду с β-аланином содержится остаток глицина, а изоиндол-5-иламин заменен на пиперазин. В масс-спектрах с бомбардировкой быстрыми атомами этих соединений, также как и в спектрах рассмотренных веществ, содержатся интенсивные (100 %) пики протонированных молекул, основные направления фрагментации которых связаны с диссоциацией амидных или соседних с ними связей. При этом, введение в структуру остатка глицина, как и следовало ожидать, приводит к появлению в спектре еще одного иона типа **b** (рис. 3).

Основными аналитическими признаками рассматриваемых соединений являются интенсивные пики протонированных молекул и пики ионов **b₁**, средней относительной интенсивности пик иона **z** в случае соединения, содержащего в качестве R₁ метоксифенильный заместитель и его отсутствие в спектрах соединений с R₁ = H и CH₃, а также пики ионов **b** в спектрах соединений с R₁ = H, CH₃, Ph, MeOPh, 5-бензо-[1,3]-диоксолил соответственно.

Относительная вероятность реализации того или иного направления фрагментации в рассматриваемых соединениях зависит от преимущественного местоположения локализации заряда в протонированной молекуле и устойчивости образующихся продуктов реакции распада. Так, в случае соединений, содержащих в качестве C-концевого остатка β-фенил-β-аланиновые фрагменты, преимущественные направления фрагментации связаны с образованием ионов **c** и **z**, в то время как другие направления фрагментации реализуются в меньшей степени, о чем свидетельствует соотношение интенсивностей ионов **b**, **b₁**, **c**, **z** в их масс-спектрах. При этом высокая интенсивность этих ионов, в случае ионов **c**, может объясняться сохранением заряда на амидном атоме азота этого осколка, а в случае ионов **z**-делокализацией положительного заряда с образованием устойчивых хиноидных и тропилиевых структур [7]. Присутствие электронодонорных алкоксильных групп в ароматическом ядре так же усиливает этот эффект. Относительно высокая интенсивность ионов **b** типа обусловлена образованием циклических форм ацильных ионов, образующихся при диссоциации соответствующих амидных связей. Отсутствие возможности для циклизации в случае соединений, содержащих в качестве центрального фрагмента конформационно жесткий остаток изофталевой кислоты, приводит к снижению интенсивности данного сорта ионов.

Таким образом, методом масс-спектрометрии с бомбардировкой быстрыми атомами проведено системное исследование структуры нескольких рядов RGD-пептидомиметиков. Установлены основные факторы, определяющие направления фрагментации протонированных молекул и их аналитические признаки.

Масс-спектры записаны на масс-спектрометре VG 7070 (VG Analytical, Великобритания). Десорбция ионов с поверхности жидкой фазы осуществлялась пучком атомов аргона с энергией 8 кэВ. В качестве матрицы использовали *m*-нитробензиловый спирт.

Все объекты для исследования любезно предоставлены сотрудниками отдела медицинской химии Физико-химического института им. А.В. Богатского НАН Украины.

Литература

1. Novel fibrinogen receptor antagonists. RGDF mimetics, derivatives of 4-(isoindoline-5-yl)amino-4-oxobutyric acid / A.A. Krysko, B.M. Chugunov, O.L. Malovichko [et al.] // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. — 2004. — Vol. 14. — P. 5533 — 5535.

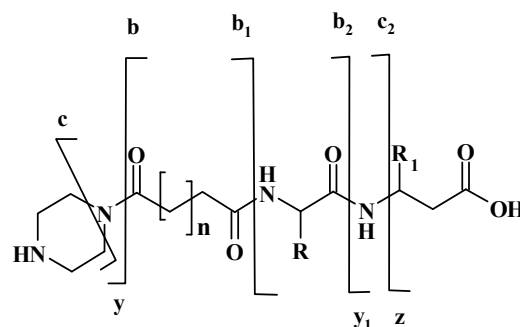


Рис. 3. Разрывы связей в протонированных молекулах соединений, содержащих фрагмент титеразина и типы образующихся ионов

2. Novel fibrinogen receptor antagonists – RGDF mimetics, 4-(1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline-7-yl) amino-4-oxo-butiric acid derivatives / A.A. Krysko, O.L. Malovichko, S.A. Andronati [et al.] // *Medicinal chemistry*. — 2006. — Vol. 2. — P. 295 — 298.
3. Синтез этилового эфира м-[4-оксо-4-(этоксикарбонилпиперазин-1-ил) бутириламино] бензоил-D, L-β-(3,4-метилendioксифенил)-β-аланина и его антиагрегационная активность при пероральном введении / А.А. Крысько, О.Л. Маловичко, акад. НАН Украины С.А. Андронати [и др.] // *Доповіді Нац. академії наук України*. — 2005. — № 1. — С. 167 — 170.
4. Андронати, С.А. Синтетические ингибиторы агрегации тромбоцитов – антагонисты фибриногеновых рецепторов / С.А. Андронати, А.А. Крысько // *Вісник фармакології та фармацевції*. — 2008. — № 1. — С. 17 — 27.
5. Influence of peptide composition, gas-phase basicity, and chemical modification on fragmentation efficiency: evidence for the mobile proton model / A.R. Dongre, J.L. Jones, A. Somogyi and V. Wysocki // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118. — P. 8365 — 8374.
6. Role of site of protonation in the low-energy decompositions of gas-phase peptide ions / K. A. Cox, M. Morris, A. Whiting and S. J. Gaskell // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* — 1996. — Vol. 7. — P. 522 — 531.
7. Фрагментация RGD-пептидомиметиков, производных аминоизоиндолина и аминотетрагидроизохинолина в условиях масс-спектрометрии бомбардировки быстрыми атомами / А.И. Грень, А.В. Мазепа, И.М. Ракипов [и др.]. // *Масс-спектрометрия*. — 2007. — Т. 4, № 4. — С. 267 — 274.

References

1. Novel fibrinogen receptor antagonists. RGDF mimetics, derivatives of 4-(isoindoline-5-yl)amino-4-oxobutyric acid / A.A. Krysko, B.M. Chugunov, O.L. Malovichko [et al.] // *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. — 2004. — Vol. 14. — pp. 5533 — 5535.
2. Novel fibrinogen receptor antagonists – RGDF mimetics, 4-(1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline-7-yl) amino-4-oxo-butiric acid derivatives / A.A. Krysko, O.L. Malovichko, S.A. Andronati [et al.] // *Medicinal chemistry*. — 2006. — Vol. 2. — pp. 295 — 298.
3. Sintez etilovogo efira m-[4-okso-4-(etoksikarbonilpiperazin-1-il) butirilamino] benzoil-D, L-β-(3,4-metilendioksifenil) - β-alanina i ego antiagregatsionnaya aktivnost' pri peroral'nom vvedenii [Synthesis of ethyl ether m-[4-oxo-4-(1-ethoxycarbonylpiperazine-yl) butyrylamino] benzoyl-D, L-β - (3,4-methylenedioxyphenyl) - β-alanine and its antiaggregatory activity in oral introduction] / A.A. Krysko, O.L. Malovichko, Acad. NAS of Ukraine S.A. Andronati [etc.] // *Reports of the NAS of Ukraine*. — 2005. — # 1. — pp. 167 — 170.
4. Андронати, С.А. Синтетические ингибиторы агрегации тромбоцитов [Synthetic inhibitors of the platelet aggregation - fibrinogen receptor antagonists] / С.А. Андронати, А.А. Крысько // *Вісник фармакології та фармацевції* — 2008. — # 1. — pp. 17 — 27.
5. Influence of peptide composition, gas-phase basicity, and chemical modification on fragmentation efficiency: evidence for the mobile proton model / A.R. Dongre, J.L. Jones, A. Somogyi and V. Wysocki // *J. Am. Chem. Soc.* — 1996. — Vol. 118. — pp. 8365 — 8374.
6. Role of site of protonation in the low-energy decompositions of gas-phase peptide ions / K. A. Cox, M. Morris, A. Whiting and S. J. Gaskell // *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* — 1996. — Vol. 7. — pp. 522 — 531.
7. Fragmentatsiya RGD-peptidomimetikov, proizvodnykh aminoizoindolina I aminotetragidroizokhinolina v usloviyakh mass-spektrometrii bombardirovki bystryimi atomami [Fragmentation of RGD-peptidomimetics – isoindolylamine and tetrahydroisoquinolineamine derivatives under fast atom bombardment mass spectrometry conditions] / A.I. Gren', A.V. Mazepa, I.M. Rakipov [et al.]. // *Масс-спектрометрия*. — 2007. — Vol. 4, # 4. — pp. 267 — 274.

Рецензент д-р техн. наук, проф. Одес. нац. политехн. ун-та Кожухарь В.Я.

Поступила в редакцию 15 мая 2013 г.