

سنتز دی سوکسینیمیدیل سبکات به عنوان اتصال دهنده دارو های مزدوج از طریق فعال

سازی گروه اسیدی سباسیک اسید

احسان رجبی روزبهانی^{1*}، محمد جواد تقی زاده²

1- دانشجوی دکتری، دانشگاه جامع امام حسین(ع)، Ehsan.rajabi1377@gmail.com

2- استادیار، دانشگاه جامع امام حسین(ع)، mohammadjavadtaghizadeh31@yahoo.com

خلاصه

دی سوکسینیمیدیل سبکات به عنوان یک لینکر (اتصال دهنده) مهم در حوزه دارو های مزدوج (کانژوگه) کاربرد دارد. سنتز داروهای مزدوج با هدف افزایش گزینش پذیری و بهینه سازی تحویل دارو به سلول های هدف مورد علاقه دانشمندان واقع شده و تحقیقات وسیعی در این حوزه در حال انجام است. دارو های مزدوج دارای سه بخش اصلی دارو- لینکر- سیدروفور هستند که نقش مهم اتصال بین دارو و سیدروفور بر عهده لینکر می باشد و باید دارای ویژگی های مهمی از جمله پایداری در شرایط مختلف و توانایی آزاد سازی محموله (دارو) تحت شرایط خاص مانند محیط اسیدی سلول هدف را داشته باشد. در این پژوهش دی سوکسینیمیدیل سبکات توسط دو ماده اولیه سباسیک اسید که یک اسید دو عاملی است و Π -هیدروکسی سوکسینیمید که یک فعال کننده مناسب است، به عنوان یک لینکر کاربردی سنتز می شود.

کلمات کلیدی: دی سوکسینیمیدیل سبکات، لینکر، دارو های مزدوج، سیدروفور

1. مقدمه

در سال های اخیر، توسعه اشکال مختلف داروهای کانژوگه رونق یافته است، که اساس آن ترکیب سیدروفور-لینکر-دارو است که در درمان بالینی سرطان و ... کاربرد دارد. بسیاری از اشکال دیگر ترکیبات دارویی، از جمله ترکیبات پپتید-دارو و آنتی بادی-دارو کانون تحقیقات فعلی هستند. مکانیسم اثر این داروهای کانژوگه به طور کلی مشابه است. آنتی بادی یا پپتید به عنوان یک مسیر دقیق برای هدف قرار دادن تومور عمل می کند، در حالی که محموله یا دارو به صورت کووالانسی به آنتی بادی متصل است و دارو را به سمت محل هدف هدایت می کند. سپس دارو یا محموله را برای کشتن سلول های هدف رها می کند و در نتیجه اثرات ضد توموری یا ضد عفونی خاصی را اعمال می کند[1].

مزدوج دارو-لینکر-سیدروفور یک نوع تخصصی از ترکیب دارویی است که یک دارو را با یک بخش پیوند دهنده و یک سیدروفور ترکیب می کند. این ترکیبات برای بهینه سازی تحویل دارو، افزایش گزینش پذیری و بهبود اثربخشی درمانی داروها، به ویژه در مواردی که هدف قرار دادن سلول ها یا بافت های خاص بسیار مهم است، طراحی شده اند[2, 3]. از جمله اهداف ساخت این دارو ها می توان به موارد زیر اشاره کرد:

افزایش گزینش پذیری: با استفاده از مسیرهای بیولوژیکی طبیعی جذب آهن، کانژوگه های سیدروفور-دارو می توانند ترجیحاً سلول های سرطانی یا بیمار را هدف قرار دهند و در عین حال سلول های سالم را حفظ کنند و عوارض جانبی را به حداقل برسانند[2].

غلبه بر مقاومت دارویی: بسیاری از سرطان ها و باکتری ها نسبت به درمان های استاندارد مقاومت نشان می دهند. با هدف قرار دادن مسیرهای جدید (مانند جذب آهن) می توان برخی مکانیسم های مقاومت را دور زد[2].

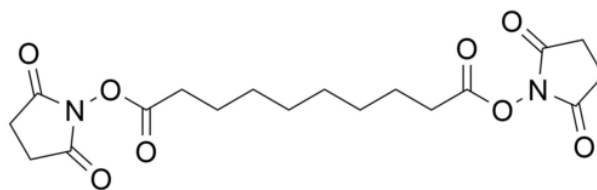


اثربخشی افزایش یافته: این ترکیبات اغلب شاخص درمانی داروهای مورد استفاده را افزایش می دهند و در عین حفظ یا بهبود اثربخشی، امکان دوزهای کمتر را فراهم می کنند[2].

همانطور که گفته شد کانژوگه ها دارای 3 جز اصلی هستند[4] جز اول ماده دارویی است. ماده دارویی فعال (API) که اثر درمانی مورد نظر را اعمال می کند، می تواند یک آنتی بیوتیک، یک عامل ضد سرطان یا هر نوع مولکول درمانی دیگری باشد. دومین جز سیدروفورها هستند (به یونانی: "حامل آهن") این ترکیبات توسط میکروارگانیسم هایی مانند باکتری ها و قارچ ها ترشح می شوند و برای ادامه حیات آن ها لازم است[5]. جز سوم لینکر است که یک پل انعطاف پذیر و پایدار است که دارو را به سیدروفور متصل می کند. پیوند دهنده را می توان به گونه ای طراحی کرد که دارو را تحت شرایط خاص آزاد کند، مانند محیط اسیدی تومور یا در حضور آنزیم های خاص. پیوند دهنده (لینکر) باید به راحتی به سیدروفور (پپتید یا آنتی بادی) متصل شود بدون اینکه بر میل ترکیبی آن ها اثر بگذارد. در حالی که ناوبر (آنتی بادی) و دارو اجزای حیاتی داروهای کانژوگه هستند، پیوند دهنده (لینکر) به عنوان یک عنصر حیاتی در نظر گرفته شده است[6].

2. سوکسینیمیدیل سبکات به عنوان لینکر (اتصال دهنده)

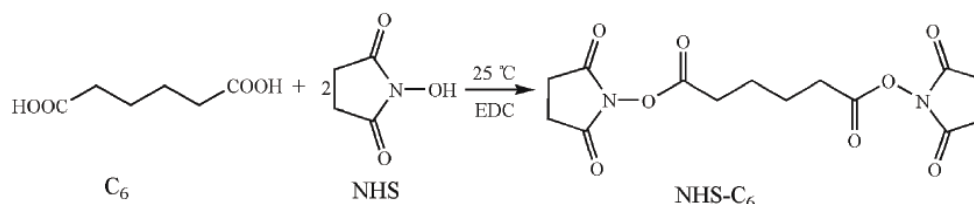
دی سوکسینیمیدیل سبکات (شکل 1) با فرمول شیمیایی $C_{14}H_{18}N_2O_4$ یک ترکیب شیمیایی است که اغلب در کاربردهای بیوکونژوگاسیون و دارورسانی به دلیل توانایی آن در ایجاد پیوندهای پایدار با مولکول های زیستی استفاده می شود. این ترکیب بر پایه سباسیک اسید، که یک اسید دی کربوکسیلیک با زنجیره بلند است، و سوکسینیمید، که یک ایمید حلقوی است، ساخته شده است. این ترکیب به دلیل زیست سازگاری و توانایی تجزیه در شرایط فیزیولوژیکی می تواند به عنوان راهی برای تحویل دارو استفاده شود. پلیمر را می توان به گونه ای فرموله کرد که عوامل درمانی را در طول زمان آزاد کند و آن را برای کاربردهای با رهش کنترل شده مناسب کند[6]. در واقع دی سوکسینیمیدیل سبکات یک اتصال دهنده متقابل پلیمری است که به دلیل توانایی خود در ایجاد پیوند با گروه های آمینه شناخته شده است که برای ایجاد مزدوج های پایدار دارو- سیدروفور مفید است.



شکل 1- ساختار ترکیب دی سوکسینیمیدیل سبکات

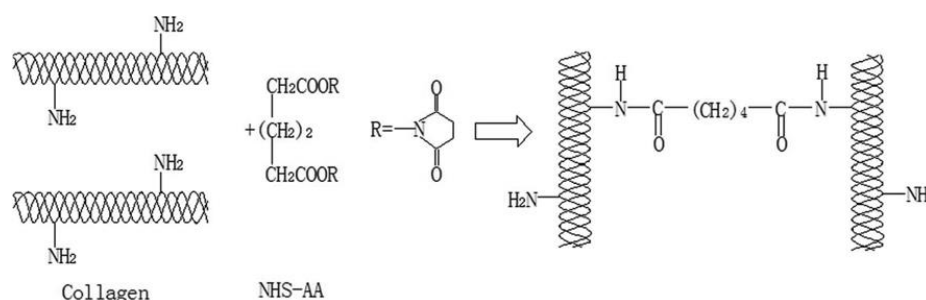
دی سوکسینیمیدیل سبکات از دو جز سباسیک اسید و π -هیدروکسی سوکسینیمید ساخته شده است سباسیک اسید یک اسید دی کربوکسیلیک طبیعی است. در صنعت، سباسیک اسید به عنوان مونومر برای نایلون 610، نرم کننده ها، روان کننده ها، مایعات هیدرولیک، لوازم آرایشی، شمع ها و غیره استفاده می گردد. همچنین می توان از آن به عنوان یک سورفکتانت در صنعت روغن های روانکاری برای افزایش خواص ضد زنگ روغن های روان کننده روی فلزات استفاده کرد[7]. π -هیدروکسی سوکسینیمید (NHS) یک ترکیب آلی است که به عنوان یک معرف برای تهیه استرهای فعال در سنتز پپتید استفاده می شود[8, 9]. می توان آن را با حرارت دادن سوکسینیک انیدرید با هیدروکسیل آمین یا هیدروکسیل آمین هیدروکلراید سنتز کرد. معمولاً به عنوان یک معرف فعال کننده برای اسیدهای کربوکسیلیک استفاده می شود[10].

در پژوهشی ژانگ و همکاران برای تهیه فیلم های ژلاتینی با کاربرد پزشکی از اسید های دی کربوکسیلیک مختلف (C4-C9) فعال شده با n-هیدروکسی سوکسینیمید استفاده کردند [11]. در این پژوهش از EDC (1-اتیل-3-(3-دی متیل آمین پروپیل) کربودی ایمید) به عنوان یک عامل فعال کننده کربوکسیل برای جفت شدن آمین های اولیه برای ایجاد پیوندهای آمیدی استفاده شد (شکل 2) [11].



شکل 2- واکنش انجام شده توسط ژانگ و همکاران [11]

چن و همکاران در سال 2010 برای بررسی تهیه کلاژن شبکه ای به عنوان کاربرد های مختلف دارویی از لینکر آدیپیک اسید فعال شده با NHS استفاده کردند [12]. آن ها با کمک روش اندرسون [9] برای فعال سازی آدیپیک اسید با NHS و EDC در حلال استون اقدام کردند و پس از فعال سازی، لینکر را با گروه های آمینی کلاژن وارد واکنش کردند (شکل 3).



شکل 3- شماتیک واکنش آورده شده در گزارش چن و همکاران [12]

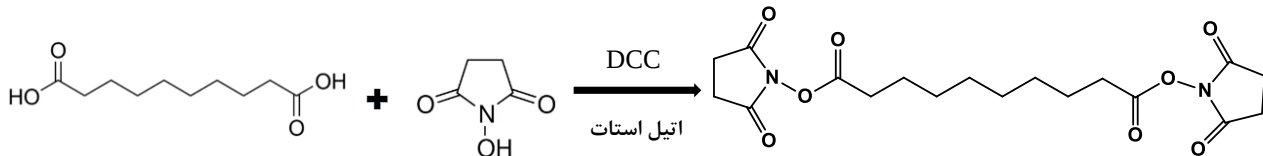
3. بخش تجربی

1.3. مواد مورد نیاز

اتیل استات (مرک)، NHS (n-هیدروکسی سوکسینیمید) (سیگما آلد ریچ)، DCC (N,N-دی سیکلو هگزیل کربودی ایمید) (مرک)، سباسیک اسید (مرک).

2.3. سنتز دی سوکسینیمیدیل سبکات

ابتدا 1 میلی مول از سباسیک اسید را درون بالن ریخته و به آن 15 میلی لیتر اتیل استات افزوده و روی استیرر گذاشته تا حل شده و به آن 2 میلی مول DCC اضافه می گردد. سپس 2 میلی مول NHS که از قبل درون اتیل استات حل شده به بالن واکنش اضافه می گردد. واکنش به مدت 6 ساعت و در دمای اتاق انجام شد. بعد از اتمام واکنش، محصول که در اتیل استات محلول است را با کاغذ صافی جدا کرده (زیر صافی) و رسوب روی کاغذ صافی که محصول جانبی و DCC است دور ریخته می شود. در شکل 4 شماتیک کلی واکنش انجام شده آورده شده است.



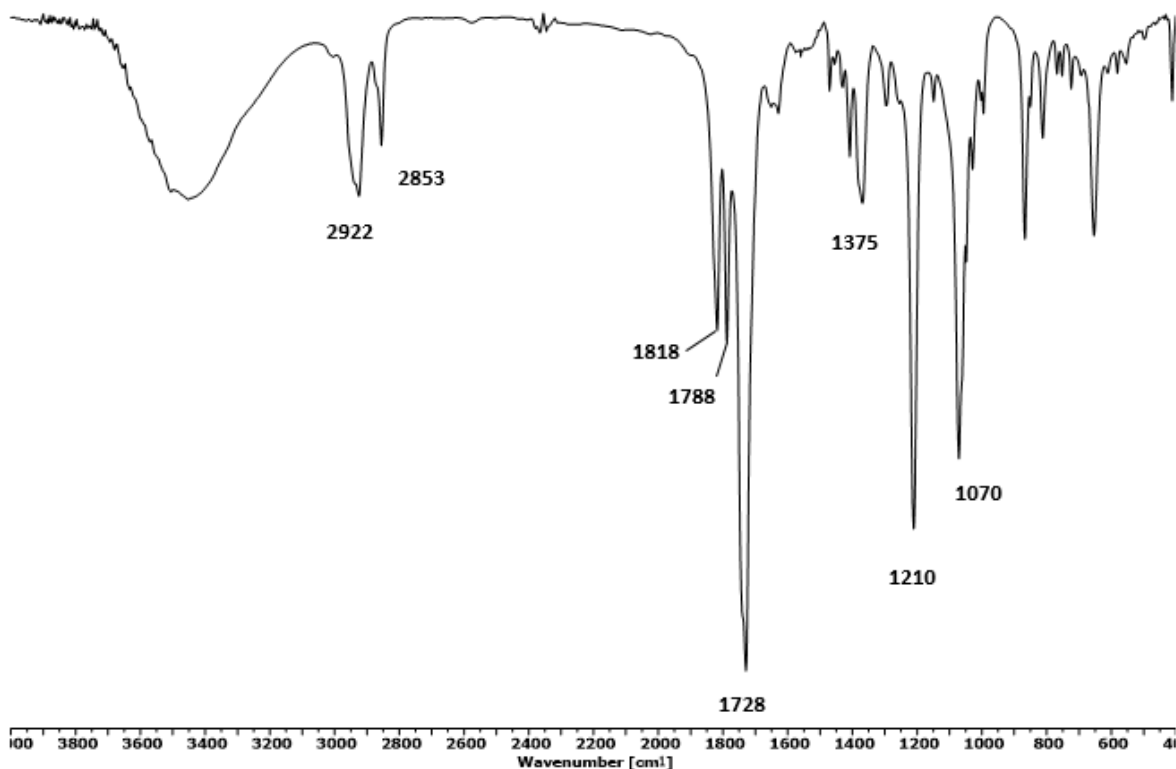
شکل 4- واکنش تهیه دی سوکسینیمیدیل سبکات

4. نتایج و بحث

آنالیز طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR) توسط دستگاه Perkin-Elmer مدل Spectrum100 ساخت کشور آمریکا و آنالیز رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) توسط دستگاه BURKER با قدرت 400MHz ساخت کشور آلمان انجام شد.

1.4. بررسی طیف IR دی سوکسینیمیدیل سبکات

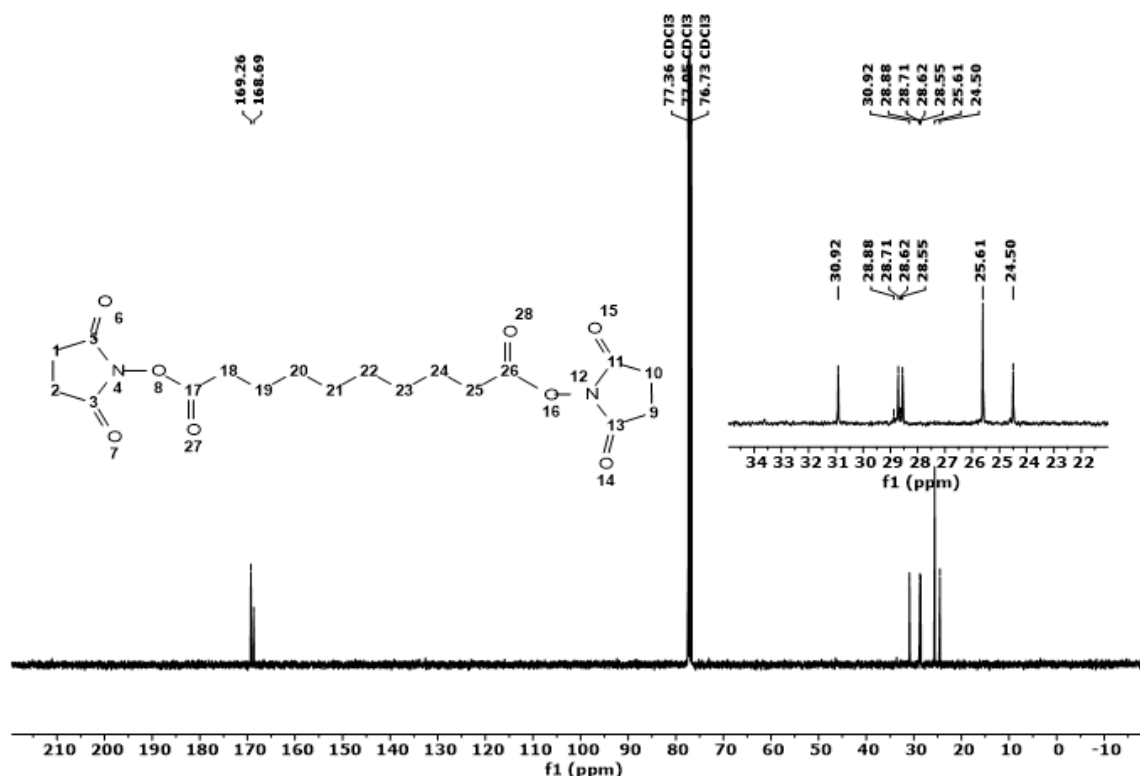
در شکل 5 طیف IR نمونه دی سوکسینیمیدیل سبکات سنتز شده آورده شده است. طبق این طیف پیک 1728 cm^{-1} مربوط به کربونیل استری و پیک 1788 cm^{-1} مربوط به کربونیل حلقه NHS می باشد. پیک در 1210 cm^{-1} مربوط به کششی استر و پیک در 2922 cm^{-1} مربوط به کششی آلکان است.



شکل 5- طیف IR محصول دی سوکسینیمیدیل سبکات

2.4. بررسی طیف C-NMR دی سوکسینیمیدیل سبکات

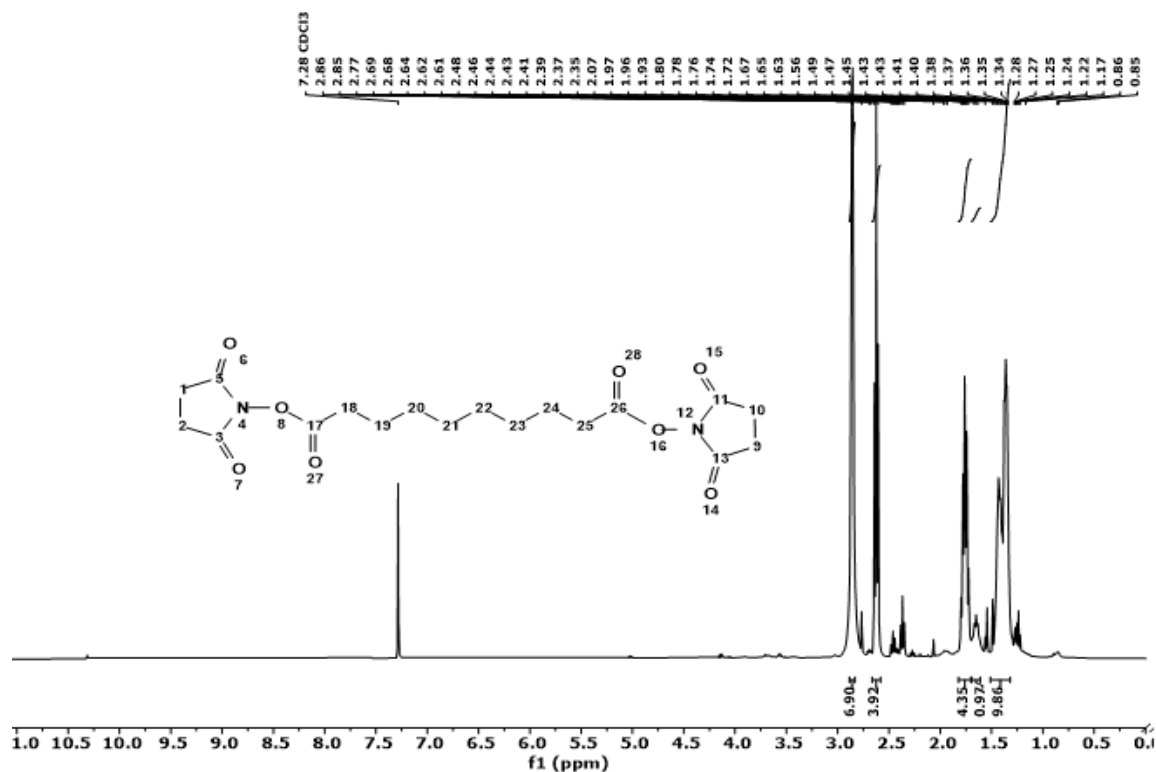
در شکل 6 طیف C-NMR ترکیب سوکسینیمیدیل سبکات آورده شده است. پیک های 168.6 و 169.2 ppm مربوط به کربنیل های شماره 5 و 17 ترکیب است (ترکیب دارای تقارن است). پیک در 30.9 ppm مربوط به کربن 1 و پیک در ناحیه 28.8 ppm مربوط به کربن شماره 18 است. سایر پیک ها نیز مربوط به زنجیره سبکاتی (آلکانی) هستند.



شکل 6- طیف C-NMR دی سوکسینیمیدیل سبکات

3.4. بررسی طیف H-NMR دی سوکسینیمیدیل سبکات

در شکل 7 طیف H-NMR دی سوکسینیمیدیل سبکات آورده شده است. پیک های ناحیه 2.7 ppm مربوط به هیدروژن های متصل به کربن 1 و 2 است (مولکول متقارن). پیک در ناحیه 2.4 ppm مربوط به CH₂ های شماره 18 و 25 است. و پیک های زیر 2 ppm مربوط به هیدروژن های زنجیره آلکانی است.



شکل 7- طیف H-NMR دی سوکسینیمیدیل سبکات

4.4. نتیجه گیری

لینکرها اجزای بسیار مهمی در تهیه داروهای مزدوج هستند و بدون کمک آن‌ها امکان تهیه این داروها وجود ندارد. تهیه یک لینکر منعطف و کاربردی که بتواند یک دارو را در شرایط پایدار به سلول هدف برساند و در عین حال بتواند به راحتی دارو را در سلول هدف برساند و در شرایط خاص مانند محیط اسیدی آزاد کند. لینکرها با کمک اسیدهای دو عاملی مانند سبازیک اسید و یک گروه فعال کننده مانند π -هیدروکسی سوکسینیمید تهیه می‌شوند و دارای کاربرد در صنعت داروهای مزدوج هستند. در این پژوهش لینکر دی سوکسینیمیدیل سبکات در شرایط دمایی محیطی و حلال اتیل استات سنتز شد.



5. منابع

- [1] Hamilton, G.S., Antibody-drug conjugates for cancer therapy: The technological and regulatory challenges of developing drug-biologic hybrids. *Biologicals*, 2015. 43(5): p. 318-332.
- [2] Colombo, R. and J.R. Rich, The therapeutic window of antibody drug conjugates: a dogma in need of revision. *Cancer Cell*, 2022. 40(11): p. 1255-1263.
- [3] Gholap, A.D., et al., Antibody-drug conjugates for cancer therapy: An up-to-date review on the chemistry and pharmacology, in *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2023, Elsevier. p. 105-190.
- [4] Lyon, R.P., et al., Self-hydrolyzing maleimides improve the stability and pharmacological properties of antibody-drug conjugates. *Nature biotechnology*, 2014. 32(10): p. 1059-1062.
- [5] Hider, R.C. and X. Kong, Chemistry and biology of siderophores. *Natural product reports*, 2010. 27(5): p. 637-657.
- [6] Bulger, P.G., et al., Drug-linkers in antibody–drug conjugates: Perspective on current industry Practices. *Organic Process Research & Development*, 2023. 27(7): p. 1248-1257.
- [7] Cornils, B. and P. Lappe, Dicarboxylic acids, aliphatic. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2000.
- [8] Anderson, G.W., J.E. Zimmerman, and F.M. Callahan, N-hydroxysuccinimide esters in peptide synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 1963. 85(1): (9p. 3039-3039.
- [9] Anderson, G.W., J.E. Zimmerman, and F.M. Callahan, The use of esters of N-hydroxysuccinimide in peptide synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 1964. 86(9): p. 1839-1842.
- [10] Knight, D.W., N-Hydroxysuccinimide. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 2001.
- [11] Zhuang, C., F.-R. Tao, and Y.-Z. Cui, Preparation and properties of gelatin films incorporated with n-hydroxysuccinimide-activated end-bit binary acid. *Chemical Papers*, 2016. 70(4): p. 505-514.
- [12] Chen, Y., et al., Properties of alkali-solubilized collagen solution crosslinked by N-hydroxysuccinimide activated adipic acid. *Korea-Australia rheology journal*, 2011. 23: p. 41-48.