

УДК 546.100.02.3:547.15/17

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА АКТИВАЦИИ ИЗОТОПНОГО ОБМЕНА МЕЖДУ Вос-Trp-Pro-Pro-Trp, Trp-Pro-Pro-Trp И ДЕЙТЕРИЕВОЙ ВОДОЙ

© 2024 г. В. П. Шевченко, К. В. Шевченко, И. Ю. Нагаев*, Л. А. Андреева

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» (НИЦ «Курчатовский институт»), 123182
Москва, Россия, пл. Курчатова, 2

*e-mail: nagaev.img@yandex.ru

Получена 15.02.2024, после доработки 18.04.2024, принята к публикации 22.04.2024

Отработаны условия введения дейтерия в Trp-Pro-Pro-Trp и Вос-Trp-Pro-Pro-Trp изотопным обменом с D₂O в присутствии катализатора 5% Pd/Al₂O₃. Термостабильность Trp-Pro-Pro-Trp при введении дейтерия оказалась значительно ниже, чем у Вос-защищенного пептида. Выход дейтерированного Trp-Pro-Pro-Trp не превышал 10–15%, а включение дейтерия составило около 0.9–1.1 ат./молекула при 125°C. Введение дейтерия в Вос-Trp-Pro-Pro-Trp оказалось возможным при 150°C, что повысило содержание дейтерия до 3.75 ат./молекула. Было найдено, что в триптофановый фрагмент молекулы включается примерно в 2 раза больше дейтерия, чем в пролиновый фрагмент. Установлено, что предварительная обработка газообразным дейтерием Вос-Trp-Pro-Pro-Trp не только активирует изотопный обмен, но и способствует удалению Вос-защиты. Полученные данные свидетельствуют о том, что причина этого феномена связана с генерацией катализатором катионов дейтерия на молекулах Вос-Trp-Pro-Pro-Trp.

Ключевые слова: аналоги ПАМ, дейтерий, синтез, меченые соединения

DOI: 10.31857/S0033831124030123

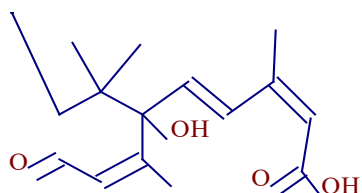
В настоящее время продолжают поиски новых антидементных препаратов, которые лишены побочных эффектов [1]. Можно перечислить ряд препаратов, которые облегчают страдания больных с нарушением высших психических функций альцгеймеровского типа вследствие органического заболевания головного мозга. К ним относятся донепезил, ривастигмин и галантамин, мемантин и листья Гинкго билоба. Но эти средства не обладают длительным действием. Необходим препарат со стимулирующим влиянием на интегративные функции мозга, облегчающий обучаемость, улучшающий память, обладающий нейропротекторным действием, который может быть использован для лечения болезни Альцгеймера. На эту роль претендует 3,7-бис(2,3-дигидро-1-бензофуран-5-илкарбонил)-1,5-диметил-3,7-диазабицикло[3.3.1]нонан-9-он (ПАМ-43). Но, как и всякое химическое соединение, не имеющее соответствующих аналогов в живых организмах, ПАМ-43 обладает цитотоксичностью, что делает необходимым использовать его со всеми известными предосторожностями. Выход часто находят, используя пептидные аналоги. Пептиды, состоящие из природных аминокислот, как правило, можно применять в широком диапазоне доз, не опасаясь побочного действия в процессе лечения. В качестве

альтернативы предложены Вос-Trp-Pro-Pro-Trp и Trp-Pro-Pro-Trp. Дейтерированные аналоги этих пептидов необходимы как реперы для масс-спектрометрического анализа при биологических исследованиях.

Изотопы водорода можно ввести в биологически активные соединения при использовании газообразного дейтерия (третия) и дейтериевой (три-тиевой) воды [2–4]. В настоящее время наиболее распространенный метод введения изотопов водорода в биологически активные соединения — изотопный обмен. Поэтому большие усилия прилагаются для повышения эффективности изотопного обмена. Все реакции, которые проводят без растворителя, называются твердофазными реакциями. Если для проведения реакции применяется растворитель, то они называются жидкофазными реакциями. То есть, если твердую смесь вещества с катализатором обрабатывают газообразным изотопом водорода, это твердофазный метод. При реализации жидкофазного метода раствор вещества с катализатором или без катализатора обрабатывают газообразным дейтерием (третием), дейтериевой (три-тиевой) водой или другим растворителем, содержащим изотоп водорода. Для изотопного обмена применяют твердофазный и жидкофазный методы, а также их комбинации. Естественно,

эффективность такого совмещения можно определить, имея данные о введении дейтерия каждым из этих методов отдельно. Поэтому удобно работать с соединениями, нанесенными на катализатор, которые можно использовать в твердофазных и жидкофазных реакциях.

Если вещество выдерживает высокие температуры, то можно вводить метку при нагревании без катализатора [5]. При изотопном обмене с D_2O в абсцизовую кислоту удалось ввести больше трех атомов дейтерия:



Ампулу с раствором вещества заполняли аргоном, вносили диизопропилэтиламин и запаивали. Реакцию вели 20 мин при 220 °С. Интересно, что при использовании катализатора в этом случае происходила полная деградация вещества.

Без использования катализатора изотопный обмен можно активировать и при катализе сильными органическими и неорганическими кислотами, а также кислотами Льюиса (гептафтормасляная, трифторуксусная, соляная кислоты, $BF_3/Et_2O/{}^3H_2O$ или $BF_3/{}^3H_3PO_4$). Разные методы при использовании гомогенных и гетерогенных катализаторов для введения дейтерия и трития в органические соединения приведены в обзоре [4]. Особенно интересна работа [6], где авторам удалось ввести шесть атомов дейтерия в жирную кислоту при использовании гомогенных катализаторов без гидрирования двойных связей и нарушения исходного строения соединения (схема 1).

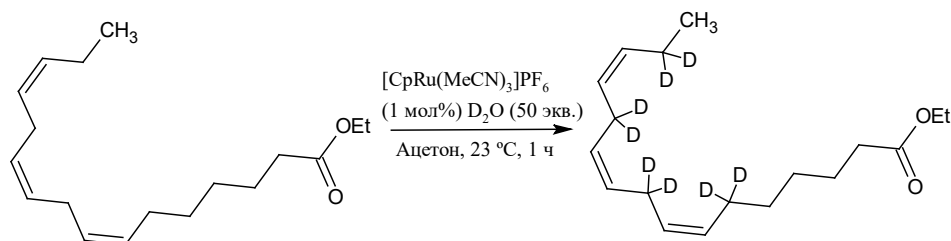


Схема 1. Введение дейтерия в полиненасыщенные жирные кислоты.

Но для введения трития этот метод не годится, так как для своей реализации он требует большое количество D_2O , которая стабилизирует образование необходимого комплекса.

Особый интерес для этой работы представляют исследования, которые связывают образование на носителе активированных частиц изотопов водорода при выдерживании катализатора в атмосфере газообразного дейтерия или трития с результатами, полученными в процессе катализа [7–11]. Согласно этим представлениям, катионы изотопов водорода при взаимодействии с молекулами воды образуют на поверхности катализатора и в объеме вещества, нанесенного на катализатор, кислотные центры ${}^3H^+({}^3H_2O)$. Квантово-химические расчеты таких систем приведены в работе [12]. Из приведенных расчетов следует, что эти кислотные центры сильно влияют на эффективность изотопного обмена.

Такого рода процессы приводят к образованию кислот Бренстеда на Al_2O_3 . Возможность образования положительно заряженных кластеров, например, $[Al^{3+}O^{2-}]^+$ или $[Al^{3+}(OH^-)_2]^+$ смоделирована вычислительными методами [13–15]. Естественно, взаимодействие активированных частиц изотопов

водорода с молекулами пептида увеличивает вероятность образования побочных продуктов; следовательно, необходимо для каждого соединения находить оптимальные условия проведения реакции [16].

Цель данной работы — отработать условия дейтерирования $Woc-Trp-Pro-Pro-Trp$ и $Trp-Pro-Pro-Trp$, которые могут быть применимы для получения соответствующих тритийсодержащих аналогов, и продолжить исследование влияния на изотопный обмен процессов, происходящих в присутствии катализаторов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Катализаторы, реагенты и растворители — коммерческие препараты. Синтез $Trp-Pro-Pro-Trp$ и $Woc-Trp-Pro-Pro-Trp$ проведен в НИЦ «Курчатовский институт». Исходные соединения и реакционные смеси охарактеризованы с использованием методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и масс-спектрометрии.

Масс-спектрометрические данные получали на приборе LCQ Advantage MAX (Thermo Electron,

США), с ионизацией электрораспылением, прямым вводом раствора образца с концентрацией 10 мкг/мл в 0.1%-ной уксусной кислоте и дальнейшей фрагментацией молекулярного пика в анализаторе методом ионных соударений при 35 эВ. Для сбора и обработки хроматографических данных использовалась система «МультиХром 1.5» (ЗАО «Амперсэнд», Россия).

Препараты очищали и анализировали методом ВЭЖХ. Анализ проводили на хроматографе Милихром-А02, колонка ProntoSIL-120–5- C_{18} AQ (2×75 мм, размер частиц 5 мкм). Температура колонки 35°C. Длина волны 210 нм. Элюент А – 200 mM $LiClO_4$ + 10 mM $HClO_4$, элюент Б – метанол, линейный градиент от 5 до 100% Б за 20 мин. Скорость подачи элюента 150 мкл/мин. Время удерживания 15.01 и 16.51 мин для Trp-Pro-Pro-Trp и Вос-Trp-Pro-Pro-Trp соответственно.

Препаративную очистку проводили на колонке Reprosil pur C18aq (20×150 мм, размер частиц 10 мкм). Элюент А – метанол–вода–уксусная кислота (50 : 50 : 0.1), элюент Б – метанол, линейный градиент от 0 до 100% Б за 15 мин. Скорость подачи элюента 20 мл/мин.

Методика введения дейтерия

1. Приготовление смеси пептид-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ (1 : 5 : 30). Раствор 10 мг Вос-Trp-Pro-Pro-Trp или Trp-Pro-Pro-Trp в 0.1 мл метанола добавляли к 300 мг Al_2O_3 . Метанол удаляли упариванием на ротационном испарителе и остаток лиофилизировали. Затем 50 мг 5% Pd/Al_2O_3 тщательно перетирали со смесью пептида и Al_2O_3 .

2. Проведение твердофазной реакции. Для каждого эксперимента в контейнер (50 мл) помещали 18 мг смеси, вакуумировали до давления 0.1 Па, заполняли газообразным дейтерием до давления 400 гПа и выдерживали при определенной температуре (125, 140, 155, 170, 175°C) в течение 10 мин. Избыток газообразного дейтерия удаляли ваку-

умированием. Вещество с катализатора экстрагировали метанолом (5×2 мл) в процессе фильтрования. Лабильный дейтерий удаляли несколько раз, растворяя вещество в метаноле (5×2 мл) и упаривая последний. Среднее включение дейтерия изменялось от 0.14 до 0.95 атома.

3. Проведение изотопного обмена с D_2O . 7.2 мг смеси пептид-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ помещали в ампулу объемом 2 мл, вносили туда 50 мкл дейтериевой воды и заполняли аргоном. Ампулу запаивали. Реакцию вели при 125, 135 и 150°C в течение 10 минут. Выход пептидов при использовании дейтериевой воды составил при 125°C, 30–35%, 135°C – 15–20%, 150°C – 6–8%. При этом включение дейтерия повышалось в среднем от 0.25–0.28 до 0.85–1.00 атома.

4. Проведение изотопного обмена с использованием D_2 и D_2O .

(а) 18 мг смеси Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ (1 : 5 : 30) помещали в ампулу (2 мл), которую помещали в контейнер (50 мл), вакуумировали до давления 0.1 Па, заполняли газообразным дейтерием до давления 400 гПа и выдерживали при комнатной температуре 2 ч. Затем в ампулу помещали 150 мкл D_2O , заполняли аргоном и запаивали. Ампулу помещали в термостат и выдерживали при 125, 135, 150°C в течение 30 мин.

(б) После обработки газообразным дейтерием, как описано выше, 9 мг смеси Trp-Pro-Pro-Trp-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ (1 : 5 : 30) обрабатывали 125 мкл D_2O при 125°C в течение 30 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для сравнения эффективности изотопного обмена с газообразным дейтерием и дейтериевой водой приготовили смесь Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ (1 : 5 : 30). В случае использования D_2O смесь помещали в стеклянную ампулу, вносили туда дейтериевую воду, заполняли аргоном, и ампулу запаивали. Уже при 150°C выход

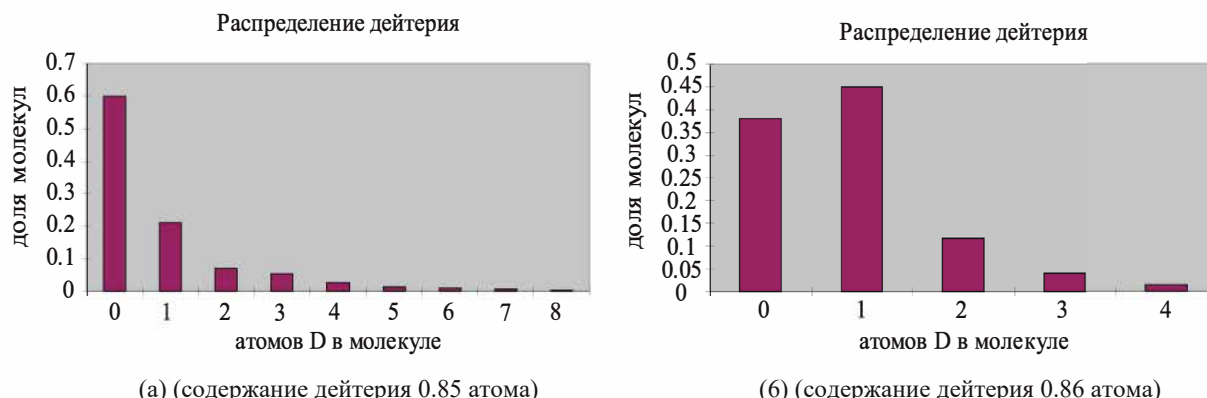


Рис. 1. Изотопмеры пептида, образующиеся при обработке смеси Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% $Pd/Al_2O_3-Al_2O_3$ (1 : 5 : 30): (а) D_2 (твердофазный метод), 170°C; (б) D_2O (жидкофазный метод), 150°C.

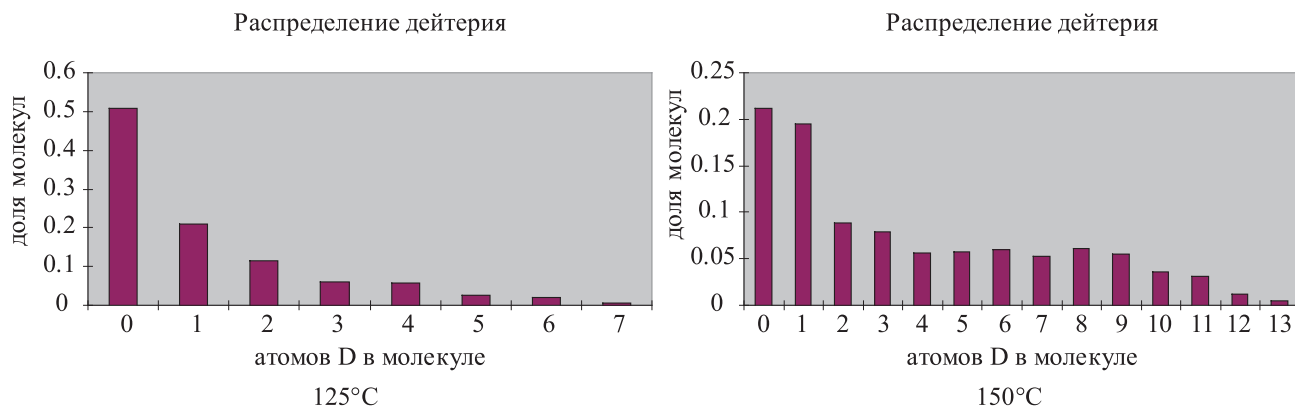


Рис. 2. Изотопомеры пептида, образующиеся при изотопном обмене с D_2O после предварительной обработки D_2 смеси Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% Pd/ Al_2O_3 - Al_2O_3 (1 : 5 : 30).

не достигал 10%. При этом включение дейтерия в Вос-Trp-Pro-Pro-Trp не превышало в среднем и одного атома (рис. 1).

При использовании твердофазного метода была проведена серия опытов, где одинаковую смесь выдерживали в атмосфере газообразного дейтерия при разных температурах (125–170°C) в течение 10 мин. При этом оказалось, что включение дейтерия при использовании твердофазного метода, даже при более высокой температуре, не имело преимуществ перед использованием D_2O (рис. 1).

Набор изотопомеров при твердофазном и жидкофазном введении дейтерия отличается. В присутствии дейтериевой воды изотопный обмен возможен со всеми фрагментами молекулы пептида. Поэтому метка включается в основном изотопным обменом с наиболее подвижными протонами в C–H-связях. Образуются главным образом изотопомеры с одним-двумя атомами дейтерия. При твердофазном варианте, по-видимому, спилlover активированного дейтерия в объем вещества затруднен. Это может быть связано со стерическими затруднениями или из-за протонирования различных групп в молекуле соединения. За счет этого сольватация активированных частиц дейтерия в объеме пептида не происходит, и изотопный обмен идет только в зонах контакта пептида с поверхностью катализатора. В результате большая часть молекул пептида не попадает в зону реакции. Масс-спектрометрический анализ показал, что остается большое количество пептида, вовсе не содержащего дейтерий (рис. 1а).

Таким образом, удалось синтезировать [D]Вос-Trp-Pro-Pro-Trp при использовании отдельно жидкофазного и твердофазного методов, но содержание дейтерия и особенно выходы пептида при этом оказались неудовлетворительными.

Использование комплексного метода (рис. 2), когда смесь Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% Pd/ Al_2O_3 - Al_2O_3 (1 : 5 : 30) предварительно насыщали при комнат-

Таблица 1. Зависимость изотопного обмена предварительно обработанной дейтерием смеси Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% Pd/ Al_2O_3 - Al_2O_3 (1 : 5 : 30) с D_2O от температуры

Изотопомеры	Температура, °C			
	125	125*	150	150*
D ₀	50.80	74.59	21.18	35.79
D ₁	20.94	14.89	19.50	20.93
D ₂	11.52	8.33	8.91	14.54
D ₃	6.05	2.00	7.95	7.21
D ₄	5.83	0.32	5.58	9.69
D ₅	2.63	—	5.75	6.53
D ₆	2.02	—	6.04	4.66
D ₇	0.55	—	5.30	0.66
D ₈	—	—	6.06	0.08
D ₉	—	—	5.54	—
D ₁₀	—	—	3.63	—
D ₁₁	—	—	3.09	—
D ₁₂	—	—	1.20	—
D ₁₃	—	—	0.46	—

* — включение дейтерия во фрагмент Вос-Trp.

ной температуре газообразным дейтерием, затем D_2 удаляли и смесь обрабатывали D_2O , позволило получить [D]Вос-Trp-Pro-Pro-Trp при 125°C с выходом около 22% (содержание дейтерия в среднем 1.15 атома), при 135°C с выходом около 15% (1.5–2.0 атома), а при 150°C с выходом примерно 4% (3.75 атома).

При повышении температуры большее количество атомов протия становится достаточно подвижным, и становится возможен изотопный обмен D_2O с Вос-Trp-Pro-Pro-Trp (рис. 2). Данные об изотопном составе в молекуле пептида (табл. 1),

показали, что при этих условиях включение дейтерия увеличивается за счет образования изотопомеров с большим содержанием дейтерия. Появились изотопомеры, содержащие до 13 атомов дейтерия. Кроме этого, резко уменьшилось содержание молекул Вос-Trp-Pro-Pro-Trp без дейтерия (табл. 1). Оценка распределения дейтерия в пептиде с привлечением данных, полученных при фракционировании молекулы пептида в масс-спектрометрическом модуле, показала, что в триптофановые фрагменты включается примерно в два раза больше изотопа, чем в пролиновые.

Таким образом, комплексное использование твердофазного и жидкофазного методов позволило получить [D]Вос-Trp-Pro-Pro-Trp с более высоким содержанием дейтерия, чем при использовании каждого из методов отдельно.

Установлено, что при нагревании с дейтериевой водой смеси пептид-5% Pd/Al₂O₃–Al₂O₃ (1 : 5 : 30), предварительно обработанной при комнатной температуре газообразным дейтерием, параллельно с изотопным обменом происходило удаление Вос-защиты. По классическому методу этот процесс происходит при комнатной температуре в кислой среде (pH < 1). Обнаруженный эффект отчетливо наблюдался при повышении температуры реакции. При 150°C количество Trp-Pro-Pro-Trp превосходило количество Вос-Trp-Pro-Pro-Trp в 5 раз. При 175°C происходило полное снятие защитной группы. Этот вновь обнаруженный эффект можно объяснить причинами, приведенными во Введении, а именно возникновением на поверхности Al₂O₃ положительного заряда за счет спilloвера активированных частиц дейтерия с металла-катализатора, которые разрушают Вос-защиту. Возможно, в этом процессе принимает участие электрон, образующий с катионами водорода кластеры на поверхности катализатора и в объеме пептида.

Подобного рода предположение подтверждено данными, полученными при реакции с дейтериевой водой без предварительной обработки смеси пептид–катализатор–Al₂O₃ газообразным дейтерием. При проведении реакции при 135°C Вос-защита практически не затрагивалась (отношение Trp-Pro-Pro-Trp к Вос-Trp-Pro-Pro-Trp составило 1 : 200). После предварительной обработки газообразным дейтерием при тех же условиях отношение Trp-Pro-Pro-Trp к Вос-Trp-Pro-Pro-Trp составило практически 1 : 1.

Таким образом, из Вос-Trp-Pro-Pro-Trp можно получить меченые Вос-Trp-Pro-Pro-Trp и Trp-Pro-Pro-Trp, которые образуются одновременно.

Этот подход привлекателен в отношении введения дейтерия в Trp-Pro-Pro-Trp, так как термостойкость Trp-Pro-Pro-Trp оказалась ниже, чем у Вос-Trp-Pro-Pro-Trp.

Синтез [D]Trp-Pro-Pro-Trp после предварительной обработки при комнатной температуре газообразным дейтерием смеси Trp-Pro-Pro-Trp-5% Pd/Al₂O₃–Al₂O₃ проводили изотопным обменом с D₂O при 125°C, 30 мин. В этом случае при выходе 15% включение дейтерия в Trp-Pro-Pro-Trp — около 0.9–1.1 атома. В то же время при обработке смеси Вос-Trp-Pro-Pro-Trp-5% Pd/Al₂O₃–Al₂O₃ последовательно D₂ и D₂O при 135°C в течение 30 мин выход [D]Trp-Pro-Pro-Trp, образовавшегося из [D]Вос-Trp-Pro-Pro-Trp, составил те же 15% со средним содержанием дейтерия 1.5–2.0 атома в обоих пептидах. Кроме того, [D]Trp-Pro-Pro-Trp, полученный из Вос-Trp-Pro-Pro-Trp, имеет лучшие характеристики (например, количество изотомера D₀ снизилось почти в 2 раза), чем у [D]Trp-Pro-Pro-Trp, синтезированного непосредственно из Trp-Pro-Pro-Trp.

Таким образом, установлено, что в дейтериевой воде, если перед реакцией смесь предварительно обработать газообразным дейтерием, происходит частичное или полное удаление Вос-защиты. Полученные данные позволили сделать вывод, что этот процесс происходит под действием катионов дейтерия, которые образуются при обработке D₂ смеси пептид-5% Pd/Al₂O₃–Al₂O₃. Такой вывод подтверждает выдвинутую концепцию о том, что активация изотопного обмена с D₂O после предварительной обработки этой смеси газообразным дейтерием происходит под действием катионов дейтерия.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Prince M.J., Wimo A., Guerchet M.M., Ali G.C., Wu Y.T., Prina M. World Alzheimer Report 2015—The Global Impact of Dementia: An Analysis of Prevalence, Incidence, cost and Trends. Alzheimer's Disease International. London. 87 p.
2. Shevchenko V.P., Nagaev I. Yu., Myasoedov N.F., Susan A.B. // J. Label. Compd. Radiopharm. 2007. Vol. 50. N5–6. С. 416–417. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1167>
3. Shevchenko V.P., Nagaev I. Yu., Myasoedov N.F. // J. Label. Compd. Radiopharm. 2010. Vol. 53. N11–12. P. 693–703. <https://doi.org/10.1002/jlcr.1828>

4. Kopf S., Bourriquen F., Li W., Neumann H., Junge K., Beller M. // *Chem. Rev.* 2022. Vol. 122. N6. P. 6634–6718. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00795>
5. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Шапошников А.И., Шевченко К.В., Белимов А.А., Баташева С.Н., Гоголева Н.Е., Гоголев Ю.В., Мясоедов Н.Ф. // Докл. АН. 2018. Т. 483. № 3. С. 274–278. <https://doi.org/10.31857/S086956520003247-4>
6. Smarun A.V., Petkovic M., Shchepinov M.S., Vidovic D. // *J. Org. Chem.* 2017. Vol. 82. N24. P. 13115–13120. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b02169>
7. Esaki H., Ito N., Sakai Sh., Maegawa T., Monguchi Y., Sajiki H. // *Tetrahedron.* 2006. Vol. 62. N47. P. 10954–10961. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2006.08.088>
8. Chiesa M., Giamello E., Murphy D.M., Pacchioni G., Paganini M.C., Soave R., Sojka Z. // *J. Phys. Chem. B.* 2001. Vol. 105. N2. P. 497–505. <https://doi.org/10.1021/jp002794+>
9. Chiesa M., Giamello E., Paganini M.C. // *J. Chem. Phys.* 2002. Vol. 116. N10. P. 4266–4274. <https://doi.org/10.1063/1.1447907>
10. Chiesa M., Paganini M.C., Spoto G., Giamello E., Di Valentin C., Del Vitto A., Pacchioni G. // *J. Phys. Chem. B.* 2005. Vol. 109. N15. P. 7314–7322. <https://doi.org/10.1021/jp044783c>
11. Chiesa M., Paganini M.C., Giamello E., Murphy D.M., Di Valentin C., Pacchioni G. // *Acc. Chem. Res.* 2006. Vol. 39. N11. P. 861–867. <https://doi.org/10.1021/ar068144r>
12. Борусов Ю.А., Золотарев Ю.А. // *ЖФХ.* 2002. Т. 76. № 4. С. 727–731.
13. Bhering D.L., Ramirez-Solis A., Mota C.J.A. // *J. Phys. Chem. B.* 2003. Vol. 107. N18. P. 4342–4347. <https://doi.org/10.1021/jp022331z>
14. Kresse G., Furthmuller J. // *Comput. Mater. Sci.* 1996. Vol. 6. N1. P. 15–50. [https://doi.org/10.1016/0927-0256\(96\)00008-0](https://doi.org/10.1016/0927-0256(96)00008-0)
15. Zheng A., Li Sh., Liu Sh.-B., Deng F. // *Acc. Chem. Res.* 2016. Vol. 49. N4. P. 655–663. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00007>
16. Баумов А.А., Сидоров Г.В., Мясоедов Н.Ф. // *Радио-химия.* 2011. Т. 53. № 3. С. 282–284.

Study of the Activation Process of Isotope Exchange between Boc-Trp-Pro-Pro-Trp, Trp-Pro-Pro-Trp and Deuterated Water

V. P. Shevchenko*, K. V. Shevchenko, I. Yu. Nagaev, and L. A. Andreeva

National Research Centre Kurchatov Institute, pl. Kurchatova 2, Moscow, 123182 Russia,

*e-mail: nagaev.img@yandex.ru

Received February 15, 2024; revised April 18, 2024; accepted April 22, 2024

The conditions for introducing deuterium into Trp-Pro-Pro-Trp and Boc-Trp-Pro-Pro-Trp by isotope exchange with D₂O in the presence of a 5% Pd/Al₂O₃ catalyst were developed. The thermal stability of Trp-Pro-Pro-Trp upon introduction of deuterium was significantly lower than that of the Boc-protected peptide. The yield of deuterated Trp-Pro-Pro-Trp did not exceed 10–15%, and the inclusion of deuterium was about 0.9–1.1 at./molecule at 125°C. The introduction of deuterium into Boc-Trp-Pro-Pro-Trp was possible at 150°C, which increased the deuterium content to 3.75 at./molecule. It was found that the tryptophan fragment of the molecule contains approximately 2 times more deuterium than the proline fragment. It was found that pretreatment of Boc-Trp-Pro-Pro-Trp with deuterium gas not only activates isotope exchange, but also promotes the removal of Boc protection. The data obtained indicate that the reason for this phenomenon is associated with the generation of deuterium cations on Boc-Trp-Pro-Pro-Trp molecules by the catalyst.

Keywords: PAM analogues, deuterium, synthesis, labeled compounds