

© Коллектив авторов, 2014

Б. М. Холназаров¹, Н. Д. Буниятов², А. Н. Шахматов³, Г. М. Бобиев⁴

РАЗРАБОТКА ИММУНОТРОПНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ СИНТЕТИЧЕСКОГО НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ТИМУСНОГО ПЕПТИДА С ИОНОМ ЖЕЛЕЗА

¹ ФГБУ "Научный центр экспертизы средств медицинского применения" Минздрава России, Москва

² Таджикский национальный университет, Душанбе, Таджикистан

³ Таджикский государственный педагогический университет им. С. Айни, Душанбе, Таджикистан

⁴ ООО "Занд", Душанбе, Таджикистан

Описана разработка иммуномодулирующего препарата тимофер, представляющего собой водный 0,0148 % раствор координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан и сульфата железа(II), включая синтез свободного дипептида и лекарственной формы тимофера и технологию производства. Изучено взаимодействие и определен состав координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с ионом железа(II). Показано, что при взаимодействии пептида и иона металла в водном растворе образуется несколько комплексных форм, обусловленных ступенчатым процессом комплексообразования.

Ключевые слова: иммуномодулирующий лекарственный препарат; пептиды; координационные соединения; тимофер.

В последние годы на фармацевтическом рынке появляется все больше препаратов, разработанных на основе пептидов. Это объясняется тем, что пептиды обладают громадным фармацевтическим потенциалом в качестве действующих веществ для препаратов, применяемых в таких областях, как эндокринология, урология, онкология, акушерство и других, и как наполнителя в системах доставки лекарств для преодоления тканевых и клеточных мембранных барьеров [1]. По оценкам американских исследователей к настоящему дню на фармацевтическом рынке имеется около 50 пептидных препаратов и около 100 находятся на разных стадиях клинических испытаний [2]. Все это обуславливает необходимость разработки новых пептидных препаратов. Большую группу среди них составляют иммуно-тропные препараты [3], в том числе разработанные на основании тимусных пептидов.

Наиболее удобным в качестве основы для разработки на его основе иммуномодулирующего препарата является дипептид изолейцил-триптофан (I), который, в отличие от известного дипептида глутамил-триптофан, во-первых, оказывает влияние как на CD4+, так и на CD8+-лимфоциты [4] и, во-вторых, N-концевой остаток изолейцина, в отличие от глутаминовой кислоты, не содержит боковой функциональной группы.

Целью данного сообщения является описание разработки нового иммуномодулирующего препарата на основе координационных соединений дипептида I с солью железа(II).

Экспериментальная химическая часть

Индивидуальность и степень чистоты полученных соединений проверяли методом тонкослойной хроматографии на хроматографических пластинках "Silufol

UV-254" ("Chemapol", Чехия) и "Merck" (Германия) в следующих системах растворителей: А — хлороформ — этилацетат — метанол — уксусная кислота, 9:3:1:0,3; Б — *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 4:1:1; В — *n*-бутанол — пиридин — уксусная кислота — вода, 30:20:6:24; Г — уксусная кислота — вода — метанол — хлороформ (7:3:1:1).

Проявление хроматограмм проводили последовательной обработкой хлором и насыщенным раствором бензидина в 2 % уксусной кислоте. Условия проведения ВЭЖХ были аналогичны [5].

Удельное оптическое вращение определяли на автоматическом цифровом поляриметре "Perkin-Elmer-241" (США), длина кюветы 1 дм, в метаноле. Приведенные температуры плавления (не скорректированы) определяли на нагревательном столике "Voetius" (Германия).

Растворы веществ упаривали в вакууме при температуре не выше 40 °С.

Синтез метилового эфира N-бензилоксикарбонил-L-изолейцил-L-триптофана карбодиимидным методом. 10 ммоль N-бензилоксикарбонил-L-изолейцина, 10 ммоль хлоргидрата метилового эфира L-триптофана, 1,35 г (10 ммоль) 1-гидроксибензотриазола и 1,12 мл (10 ммоль) N-метилморфолина растворяют в 10 мл тетрагидрофурана (ТГФ), охлаждают до 0 ÷ -10 °С, добавляют 2,06 г (10 ммоль) дициклогексилкарбодиимида (ДЦГК) и перемешивают при охлаждении в течение 2 ч. Затем оставляют на 12 ч при комнатной температуре. Добавляют 2–3 капли ледяной уксусной кислоты для разложения непрореагировавшего ДЦГК и перемешивают при комнатной температуре в течение 2 ч. Выпавшую дициклогексилмочевину отфильтровывают, фильтрат упаривают. Остаток растворяют в 30 мл этилацетата и последовательно промыва-

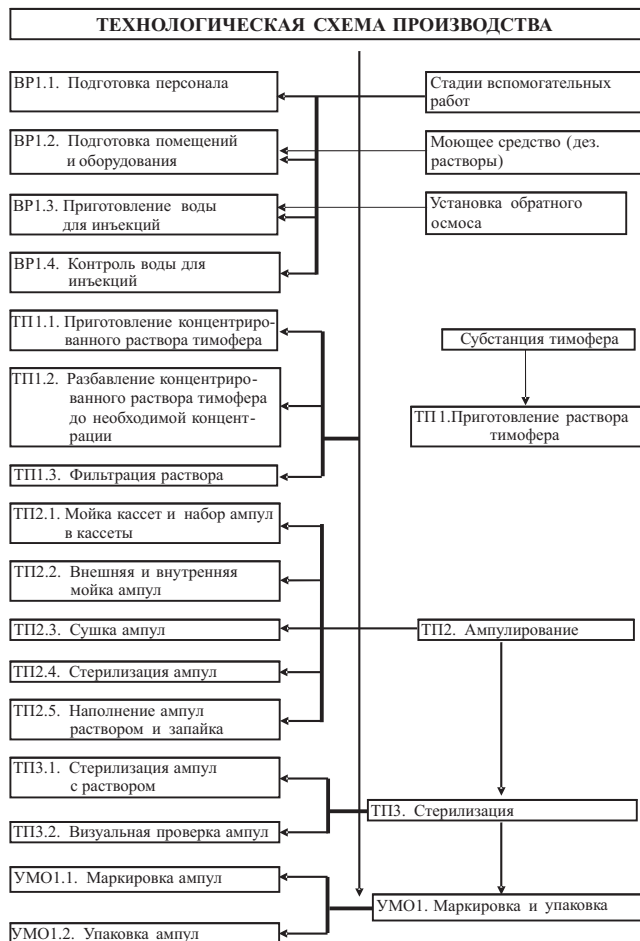


Рис. 2. Технологическая схема производства тимофера.

простота и условия проведения технологических операций.

Конденсация обоими методами требует проведения одинакового количества технологических операций (таблица), но с точки зрения простоты их проведения оптимальным является метод смешанных ангидридов.

Установлено, что образование координационных соединений дипептида изолейцил-триптофан с цинком и железом(II) привело к увеличению иммуностимулирующей активности полученных соединений по сравнению с исходным дипептидом [7]. Поэтому методом рН-метрического титрования изучено взаимодействие

дипептида I с солью железа(II) и установлено, что при этом образуется несколько комплексных форм, обусловленных существованием цвиттер-ионной и анионной форм дипептида I вследствие его ступенчатой диссоциации со следующими значениями констант образования: для $[\text{Fe}(\text{HL}^\pm)]^{2+}$ $\alpha_{\text{II}} = 1,00 \cdot 10^{34}$, для $[\text{Fe}(\text{HL}^\pm)_2]^{2+}$ $\beta_{12} = 6,25 \cdot 10^{11}$, для $[\text{Fe}(\text{HL}\pm)\text{OH}]^+$ $\beta_{\text{II}} = 4,01 \cdot 10^{26}$, для $[\text{Fe}(\text{L}^-)]^+$ $\alpha_{\text{LI}} = 8,10 \cdot 10^{18}$, для $[\text{Fe}(\text{L}^-)_2]^+$ $\beta_{22} = 7,50 \cdot 10^{28}$, для $[\text{Fe}(\text{L}^-)\text{OH}]^+$ $\beta_{\text{LIII}} = 1,03 \cdot 10^{29}$, где HL^\pm – цвиттер-ионная форма дипептида, L^- – анионная форма дипептида. Проведенные исследования показали, что при физиологических значениях pH преобладающей является комплексная форма с эквимольным соотношением компонентов. Это послужило основанием для разработки нового лекарственного средства “Тимофер” – содержащего эквимольные количества дипептида и соли металла с концентрацией дипептида 100 мкг/мл и общей концентрацией действующего вещества 148 мкг/мл в воде.

Технологическая схема производства разработанной лекарственной формы включала использование готовой субстанции тимофера, приготовленной механическим смешиванием субстанций дипептида и сульфата железа.

Затем была разработана технологическая схема производства тимофера (рис. 2).

Проведенная работа позволила внедрить в медицинскую практику новый иммуномодулирующий препарат тимофер.

ЛИТЕРАТУРА

1. J. J. Nestor, *Cur. Med. Chem.*, **16**(33), 4399 – 4418 (2009).
2. A. Z. Zompra, A. S. Galanis, O. Werbitzky, et al., *Future Med. Chem.*, **1**(2), 361 – 377 (2009).
3. Р. М. Хайтов, Р. И. Атауллаханов, *Иммунотерапия: руководство*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2012).
4. В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин, *Пептидные тимомиметики*, Наука, Санкт-Петербург (2000).
5. Г. М. Бобиев, Н. Д. Бунятян, А. Н. Шахматов и др., *Фармация*, **7**, 17 – 18 (2009).
6. P. Ruzza, *Peptides and Peptidomimetics in Medicinal Chemistry*, in: *Medicinal Chemistry and Drug Design*, D. Ekinici (ed.), In-Tech, Chapters published (2012), pp. 297 – 314.
7. Г. М. Бобиев, Н. Д. Бунятян, Х. С. Саядян и др., *Иммуноактивные пептиды и их координационные соединения в медицине*, Русский врач, Москва (2009).

Поступила 08.06.14

DEVELOPING IMMUNOTROPIC DRUGS BASED ON COORDINATION COMPOUNDS OF SYNTHETIC LOW-MOLECULAR THYMUS PEPTIDE WITH IRON IONS

B. M. Kholnazarov¹, N. T. Bunyatyan², A. N. Shakhmatov³, and G. M. Bobiev⁴

¹ State Scientific Center for Drug Expertise and Control, Ministry of Public Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

² Tajik National University, Dushanbe, Tajikistan

³ S. Ainy Tajik State Pedagogical University, Dushanbe, Tajikistan

⁴ ZAND Company, Dushanbe, Tajikistan

Development of the immunomodulating drug timofer, representing 0.0148% aqueous solution of coordination compounds of isoleucyl-tryptophan dipeptide and iron(II) sulfate is described, including the synthesis of free dipeptide, drug formulation, and production technology. The reactions and compositions of the coordination compounds of isoleucyl-tryptophan dipeptide with iron(II) ion have been studied. It is established that the peptide – metal ion interaction in aqueous solution leads to the formation of several complexes as a result of the stepwise complexation process.

Keywords: immunomodulating drugs; peptides; coordination compounds; timofer