

На правах рукописи

**Чариева Саида Алламуратовна**

**СИНТЕЗ НЕКОТОРЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ  
ИММУНОАКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ И ИХ  
КООРДИНИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПРИ  
ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ИОНАМИ ЦИНКА И МЕДИ**

02.00.03 – органическая химия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата химических наук



Душанбе – 2010

Работа выполнена на кафедре органической и биологической химии Таджикского государственного педагогического университета им. С.Айни и в Обществе с ограниченной ответственностью «Занд».

Научные руководители: доктор химических наук, профессор Бандаев Сироджидин Гадоевич  
доктор биологических наук, профессор Бобиев Гуломкодир Муккамоллович

Официальные оппоненты: член-корр. Академии наук Республики Таджикистан, доктор химических наук, профессор Куканиев Мухамадчо Ахмадович  
кандидат химических наук Юсупов Тилло Юсупович

Ведущая организация: Таджикский государственный медицинский университет им. Абуали ибни Сино, кафедра биоорганической и физколлоидной химии

Защита состоится «12» января 2011 г. в 10<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета ДМ 047.003.01 при Институте химии им. В.И.Никитина АН Республики Таджикистан по адресу: 734063, г.Душанбе, ул. Айни,299/2. E-mail: gulchera@list.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Института химии им.В.И.Никитина АН Республики Таджикистан.

Автореферат разослан «6» декабря 2010 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат химических наук



Касымова Г.Ф.

### Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы.** В последние десятилетия методы синтетической органической химии находят все более широкое применение при синтезе аналогов биологически активных веществ с целью создания новых высокоэффективных лекарственных препаратов. Перспективными соединениями для создания на их основе высокоэффективных и нетоксичных иммуномодулирующих препаратов являются низкомолекулярные иммуноактивные пептиды и их координационные соединения с биометаллами. Также, одной из перспективных аминокислот является тирозин, входящий в состав биологически активных пептидов – лейцин- и метионин-энкефалинов, тимопентина, окситоцина и вазопрессина, гонадолиберина и целого ряда других, а также активных центров многих ферментов. Кроме этого, тирозин входит в состав активного центра тимусного гормона тимопоэтина и иммунологически активного пентапептида, представляющего собой активный центр тимопоэтина – тимопентина и применяемого в медицинской практике в качестве иммуностимулирующего препарата. Другой перспективной аминокислотой является триптофан, обладающий нейро- и иммуотропной активностью.

Одной из важнейших систем, обеспечивающих нормальную жизнедеятельность организма, является иммунная система, выполняющая свои функции в тесном взаимодействии с нервной и эндокринной системами. Из экстрактов тимуса, центрального органа иммунной системы, были выделены триптофансодержащие дипептиды  $\text{H-Glu-Trp-OH}$  и  $\text{H-Ile-Trp-OH}$ , обладающие не только иммуотропной, но и психотропной активностью.

Установлено, что биологическая активность пептидов определяется активностью составляющих их аминокислот. Многие процессы в организме, вызываемые короткими биологически активными пептидами, основаны на реакциях комплексообразования, в том числе и с ионами биологически активных металлов. Установлено, что при образовании координационных соединений биологически активных пептидов с ионами биологически важных металлов – железом, цинком происходит увеличение специфической активности пептидов. Биометаллами, имеющими важное значение для функционирования иммунной системы, являются медь и цинк. Вследствие этого координирующие свойства аминокислот и низкомолекулярных пептидов с ионами различных металлов являются одними из наиболее интенсивно изучаемых, и продолжение исследований в этом направлении имеет огромное практическое значение и является весьма актуальным.

Важным этапом при этом является определение состава образующихся координационных соединений. Применение спектрофотометрических методов ограничено тем, что из 20 природных аминокислот только фенилаланин, тирозин и триптофан обладают собственным поглощением, а также тем, что при ионизации их

функциональных групп максимумы поглощения смещаются в коротко- или в длинноволновую области на 1-2 нм, в результате чего перекрываются максимумы поглощения исходных аминокислот и образующихся координационных соединений. При изучении комплексообразования ионов бесцветных металлов применение спектрофотометрических методов вообще невозможно. Все это обуславливает необходимость поиска способов применения спектрофотометрических методов при изучении комплексообразования бесцветных ионов металлов с аминокислотами.

Все вышеизложенное обуславливает особую актуальность поиска путей синтеза низкомолекулярных пептидов и изучения их комплексообразующих свойств с ионами меди и цинка.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящего исследования является разработка оптимальных схем синтеза триптофансодержащих дипептидов H-Val-Trp-OH и H-Gly-Trp-OH, гистидинсодержащего аналога дипептидного тимомиметика H-His-Ile-Trp-OH, тирозинсодержащих аналогов фрагментов дерморифина и изучение комплексообразующих свойств дипептидов H-Gly-Trp-OH и H-Val-Trp-OH, биологически активных аминокислот тирозина, аргинина и триптофана с медью и цинком.

Для достижения поставленной цели было необходимо решить следующие задачи:

- разработать оптимальные схемы синтеза дипептидов H-Val-Trp-OH и H-Gly-Trp-OH;
- разработать оптимальную схему синтеза и синтезировать гистидинсодержащий аналог дипептида H-Ile-Trp-OH – H-His-Ile-Trp-OH;
- синтезировать тирозинсодержащие аналоги фрагментов дерморифина;
- изучить комплексообразующие свойства тирозина, аргинина и триптофана с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ ;
- изучить границы применимости спектрофотометрических методов для определения состава координационных соединений, образующихся при взаимодействии тирозина и дипептида H-Gly-Trp-OH с ионом  $\text{Zn}^{2+}$ ;
- методом рН-метрического титрования определить состав и константы образования координационных соединений, образующихся при взаимодействии дипептидов H-Gly-Trp-OH и H-Val-Trp-OH с ионом  $\text{Zn}^{2+}$ .

**Научная новизна.** Впервые синтезирован гистидинсодержащий аналог пептидного тимомиметика H-His-Ile-Trp-OH. Определены состав и константы образования координационных соединений дипептидов H-Gly-Trp-OH и H-Val-Trp-OH с ионом  $\text{Zn}^{2+}$ . Показана возможность применения спектрофотометрических методов для изучения процессов комплексообразования биологически активных аминокислот тирозина и триптофана с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$ .

**Практическая значимость.** Разработаны оптимальные схемы синтеза триптофансодержащих дипептидов, гистидинсодержащего аналога пептидного тимомиметика – дипептида H-Ile-Trp-OH, содержащего

остаток гистидина на N-конце пептидной цепи, тирозинсодержащих тетрапептидных аналогов дерморфина. Разработанные подходы к изучению состава координационных соединений тирозина, аргинина, триптофана, дипептидов H-Val-Trp-OH и H-Gly-Trp-OH с ионами  $\text{Cu}^{2+}$  и  $\text{Zn}^{2+}$  могут найти применение при проведении подобных исследований с другими биологически активными низкомолекулярными пептидами и аминокислотами.

**Апробация работы.** Материалы диссертации доложены на Международной научно-практической конференции, посвященной 80-летию со дня рождения одного из основателей Таджикского технического университета Сулейманова А.С. (Душанбе, 1998 г.), Международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ТаджНИВИ «Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях» (Душанбе, 2003 г.), 53-й годичной научно-практической конференции ТГМУ (с международным участием) «Лекарства и здоровье», посвященной 1025-летию со дня рождения Абуали ибни Сино (Душанбе, 2005 г.), научно-теоретической конференции «Современные проблемы физики и астрофизики» (Душанбе, 2005 г.), Международной конференции «Состояние и перспективы развития биохимии в Таджикистане» (Душанбе, 2009 г.), республиканской научно-практической конференции «Проблемаҳои таълими тафриқавӣ бахшида ба 70-солагии қорمانди шоистаи Тоҷикистон, академики илмҳои педагогӣ, доктори илмҳои педагогӣ, профессор Убайд Зубайдов» (Душанбе, 2009 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 14 статей и 2 тезиса докладов, из них 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 133 страницах компьютерного текста, состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы, включающего 178 источников и приложения.

#### **Материалы и методы исследования**

В работе использовали аминокислоты L-ряда и производные аминокислот, которые получали по стандартным методикам. Ход реакций, индивидуальность и степень чистоты синтезированных соединений контролировали тонкослойной хроматографией (ТСХ). рН-метрическое титрование проводили с использованием рН-метра MS-20 (Чехия).

Электронные спектры поглощения снимали на спектрофотометре СФ-46 в кюветах с толщиной поглощающего слоя 1 см.

Состав соединений устанавливали после их предварительного разложения и перевода в раствор с использованием методов комплексометрического титрования (определение содержания меди) и спектрофотометрически (определение содержания тирозина).

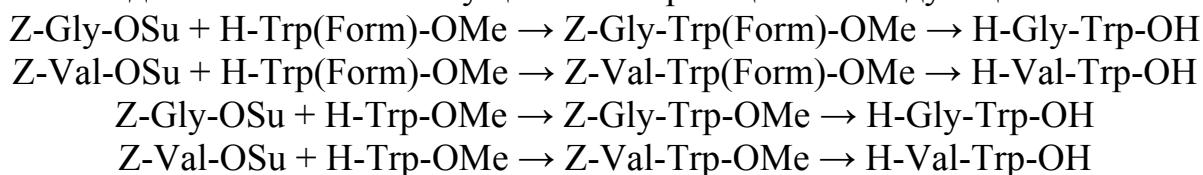
## Основное содержание работы

### 1. Синтез низкомолекулярных биологически активных пептидов

#### 1.1. Синтез дипептидов H-Gly-Trp-OH и H-Val-Trp-OH

На первом этапе исследования был получен метиловый эфир N<sup>in</sup>-формил триптофана путем пропускания тока сухого хлористого водорода через раствор триптофана в муравьиной кислоте. Окончание реакции контролировали на УФ-спектрофотометре по поглощению при 298 нм. Продукт реакции осаждали эфиром. Выход хлоргидрата метилового эфира N<sup>in</sup>-формил-триптофана составил 94,3%.

В дальнейшем были осуществлены реакции по следующим схемам:



Во всех случаях активированные N-оксисукцинимидные эфиры получали карбодиимидным методом с использованием в качестве конденсирующего реагента дициклогексилкарбодиимида.

Очистку защищенного дипептида во всех случаях осуществляли обработкой их этилацетатных растворов 0,4 М лимонной кислотой и 5% NaHCO<sub>3</sub>. После высушивания над безводным сульфатом натрия защищенные дипептиды переосаждали из этилацетата гексаном. Чистоту продуктов контролировали тонкослойной хроматографией. Необходимо отметить, что при обработке кислыми растворами дипептидов со свободной индольной группой, отмечалось пожелтение кислотного раствора, что свидетельствовало о переходе в него дипептида и непрореагировавшего метилового эфира триптофана с окисленной индольной группой.

Выходы дипептидов составили: Z-Gly-Trp(Form)-OMe – 77,4%, Z-Val-Trp(Form)-OMe – 79,5%, Z-Gly-Trp-OMe – 73,6%, Z-Val-Trp-OMe – 72,4%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что использование остатка триптофана с защищенной индольной группой позволяет повысить выход защищенного дипептида за счет снижения потерь целевого продукта при очистке обработкой кислыми реагентами.

В первых двух случаях деблокирование защищенного дипептида осуществляли последовательно: каталитическим гидрированием в присутствии 5% палладия на активированном угле для удаления карбобензоксигруппы, обработкой 10% раствором триэтиламина для удаления формильной группы и обработкой 1М раствором гидроксида натрия для удаления сложноэфирной метильной группы. Свободные дипептиды первоначально были очищены экстракцией n-бутанолом из подкисленного водного раствора, а затем многократным переосаждением

из водного раствора ацетоном. Выход дипептида H-Gly-Trp-OH – 99%, H-Val-Trp-OH – 98,3%.

В остальных случаях деблокирование защищенных дипептидов осуществляли последовательным проведением щелочного гидролиза в мягких условиях с помощью карбоната натрия для удаления сложноэфирной метильной группы и каталитического гидрирования для удаления карбобензоксигруппы. Свободный дипептид первоначально был очищен экстракцией н-бутанолом из подкисленного водного раствора, а затем многократным переосаждением из водного раствора ацетоном. Выход свободного дипептида составил 99%. Степень чистоты, индивидуальность синтезированного дипептида были подтверждены данными тонкослойной хроматографии.

Дипептид валил-триптофан получали по такой же схеме. Выход защищенного дипептида составил 72,4%, свободного – 93,2%.

Общий выход дипептида H-Gly-Trp-OH с защищенной индольной группой составил 76,6%, со свободной индольной группой – 72,86%, дипептида H-Val-Trp-OH – 78,15 и 67,48%, соответственно.

Таким образом, применение при синтезе триптофана с защищенной индольной группой позволяет повысить выход свободного дипептида за счет снижения потерь при очистке защищенного и свободного дипептидов.

## **1.2. Синтез дипептидного тимомиметика и его гистидинсодержащего аналога**

Одними из пептидных тимомиметиков являются дипептиды глутамил-триптофан и изолейцил-триптофан, оказывающие при введении в организм регулирующее влияние на субпопуляции Т-клеток.

Известно, что гистидин является как медиатором, опосредующим синаптическое возбуждение в центральной нервной системе млекопитающих, так и модулятором синаптической передачи, способствующим защите мембранных рецепторов и клеточных мембран от неблагоприятных факторов окружающей среды вследствие нейтрализации избыточных концентраций протонов, ионов металлов переменной валентности и свободных радикалов. Поэтому было предположено, что введение остатка гистидина на N-конец дипептидов изолейцил-триптофан и глутамил-триптофан будет способствовать повышению их специфической активности.

Для проверки этого предположения нами был синтезирован гистидинсодержащий аналог иммуноактивного триптофансодержащего дипептида – трипептид гистидил-изолейцил-триптофан.

Синтез был проведен путем ступенчатого наращивания пептидной цепи начиная с C-конца методом активированных эфиров с использованием в качестве последних п-нитрофениловых, полученных карбодиимидным методом с использованием в качестве конденсирующего реагента дициклогексилкарбодиимида. Схема синтеза данного трипептида приведена на рис. 1.

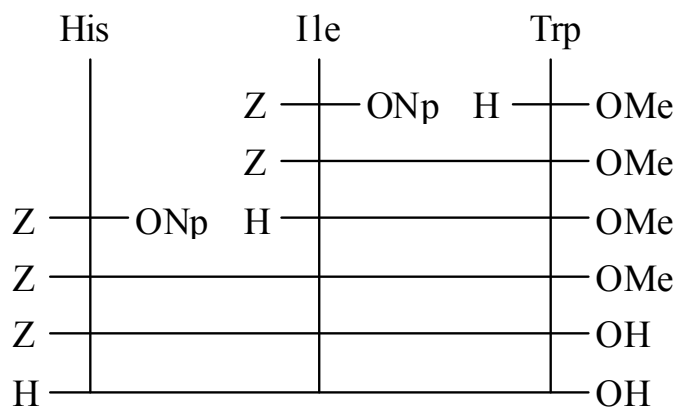


Рис.1. Схема синтеза трипептида H-His-Ile-Trp-OH.

Для защиты  $\alpha$ -карбоксильной группы триптофана была использована сложноэфирная метильная группа,  $\alpha$ -аминогрупп остатков изолейцина и гистидина – карбобензоксигруппа, которую удаляли каталитическим гидрированием в присутствии 5%-ного палладия на активированном угле.

Защищенный дипептид Z-Ile-Trp-OMe первоначально очищали промыванием этилацетатного раствора реакционной смеси кислотными и основными реагентами, а затем переосаждением из этилацетата гексаном. Выход защищенного дипептида Z-Ile-Trp-OMe составил 79,4%.

После удаления карбобензоксигруппы каталитическим гидрированием дипептид со свободной аминогруппой вводили в реакцию конденсации с п-нитрофениловым эфиром карбобензоксигистидина сразу после удаления катализатора и замены растворителя на диметилформамид. Первоначально защищенный трипептид очищали также как и дипептид Z-Ile-Trp-OMe. Окончательную очистку проводили колоночной хроматографией на силикагеле L-100/160 при элюировании системой хлороформ-метанол-уксусная кислота (18:2:1). После упаривания элюента и переосаждения из этилацетата гексаном выход трипептида Z-His-Ile-Trp-OMe составил 69,7%.

Деблокирование защищенного трипептида осуществляли последовательным омылением метилового эфира действием NaOH, а затем каталитическим гидрированием. Полученный свободный трипептид переосаждали из метанола эфиром и этилацетатом. Выход составил 79,5%. Общий выход конечного трипептида гистидил-изолейцил-триптофан составил 44%, что позволяет считать метод активированных эфиров одним из оптимальных путей синтеза гистидин- и триптофансодержащих пептидов.

### 1.3. Синтез тирозинсодержащих пептидов.

Как известно, тирозин входит в состав многих биологически активных пептидов, в том числе и обладающих нейро- и иммуностропной активностью. Поэтому для синтеза были выбраны тирозинсодержащие пептиды, являющиеся модифицированными фрагментами дерморфина: H-Tyr-Lys-Phe-Gly-OH и H-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>.



Тетрапептид был синтезирован методом активированных эфиров путем ступенчатого наращивания пептидной цепи начиная с С-конца по схеме, приведенной на рис. 2.

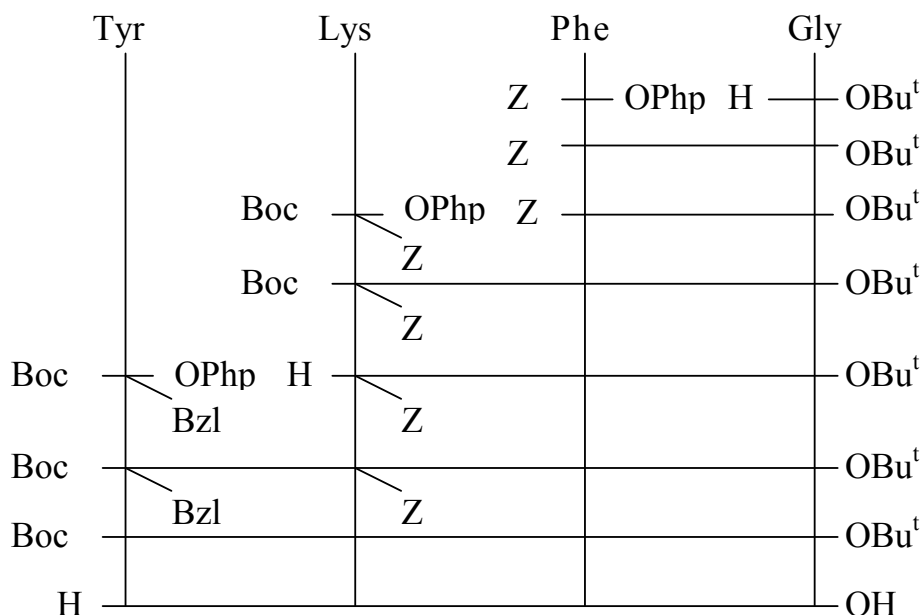


Рис.2. Схема синтеза тетрапептида H-Tyr-Lys-Phe-Gly-OH.

Для временного блокирования  $\alpha$ -аминогруппы фенилаланина использовали карбобензоксигруппу, лизина и тирозина – трет-бутилоксикарбонильную группу,  $\epsilon$ -аминогруппы лизина – карбобензоксигруппу. Гидроксильную группу фенольного кольца тирозина блокировали бензильной группой. Карбоксильную группу глицина блокировали сложноэфирной трет-бутильной группой.

Дипептид Z-Gly-OBu<sup>t</sup> получали методом активированных (пентафторфениловых) эфиров. Трет-бутиловый эфир глицина вводили в реакцию конденсации в виде фосфорнокислой соли, которую снимали карбонатом натрия. Реакцию конденсации проводили в течение суток при комнатной температуре. Защищенный дипептид очищали стандартной процедурой промыванием его этилацетатного раствора кислотами (2% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и основными (5% NaHCO<sub>3</sub>) реагентами. После упаривания этилацетата и кристаллизации из эфира гексаном выход защищенного дипептида составил 87%.

Карбобензоксигруппу с защищенного дипептида удаляли каталитическим гидрированием над палладиевой чернью в присутствии муравьиной кислоты. После промывания раствором бикарбоната натрия выход маслообразного продукта составил 70%.

Дальнейшие стадии конденсации также проводили методом активированных (пентафторфениловых) эфиров, но в отличие от предыдущего синтеза иным был выбор защитных групп.  $\alpha$ -Аминогруппы были защищены трет-бутилоксикарбонильной группой, а боковые

функции лизина и тирозина – карбобензоксигруппами соответственно.

Карбобензоксигруппу с дипептида Z-Phe-Gly-OBu<sup>t</sup> удаляли каталитическим гидрированием над палладиевой чернью в присутствии муравьиной кислоты. Формиат снимали перед проведением конденсации обработкой 5% раствором бикарбоната натрия. Выход дипептида со свободной аминогруппой составил 70%.

В реакцию конденсации с дипептидом вводили Boc-Lys(Z)-OPfp в диоксане. Активированный эфир использовали с избытком 25%. Выход защищенного трипептида составил 70%.

Для получения тетрапептида трет-бутилоксикарбонильную группу снимали действием 70% водным раствором трифторуксусной кислоты в течение 2 часов при комнатной температуре. После упаривания и высушивания под вакуумом выход трифторацетата трипептида составил 100%.

Активированный эфир в реакцию конденсации вводили с избытком 20%. Реакцию конденсации вели в диоксане при комнатной температуре в течение суток. После упаривания растворителя и обычной обработки кислотами и основными реагентами выход защищенного тетрапептида составил 68,4%.

Деблокирование тетрапептида проводили последовательно каталитическим гидрированием над палладиевой чернью и обработкой 70% водным раствором трифторуксусной кислоты. После переосаждения из метанола этилацетатом выход свободного тетрапептида составил 99%.

Синтез тетрапептида H-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub> был проводили по схеме, приведенной на рис.3.

В этом случае также была выбрана тактика максимальной защиты. На первой стадии синтеза дипептид Boc-Tyr(Bzl)-Pro-OH был синтезирован методом активированных (пентафторфениловых) эфиров. α-Карбоксильную группу пролина защищали солеобразованием с помощью NaOH. При этом использовали двукратный избыток пролина. Реакцию конденсации вели в тетрагидрофуране в течение суток при комнатной температуре. Дипептид обрабатывали кислотами реагентами и кристаллизовали в смеси эфира с гексаном. Выход защищенного дипептида составил 92%. На следующей стадии было необходимо синтезировать амид трет-бутилоксикарбонил(О-бензил)-серина. Реакцию аммонолиза проводили в хлороформе в присутствии 1 экв триэтиламина путем пропускания сухого газообразного аммиака в течение 20 мин при 0°C. Продукт предварительно был очищен обработкой 1 н раствором карбоната калия, а затем переосаждением из этилацетата гексаном. Выход составил 79,2%.

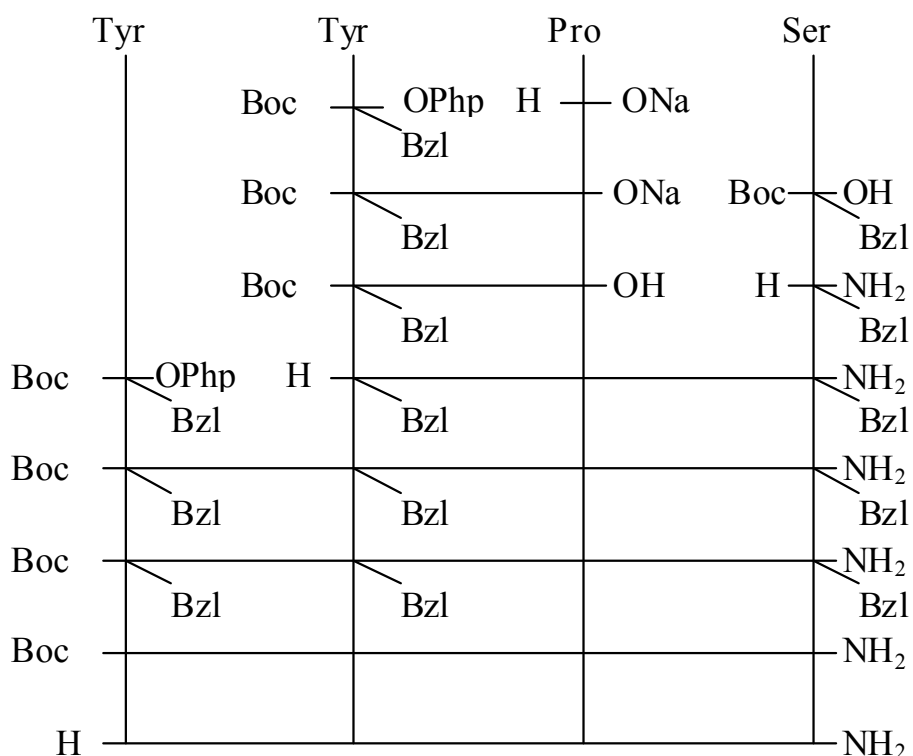


Рис.3. Схема синтеза тетрапептида H-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>.

Для синтеза трипептида пентафторфениловый эфир защищенного дипептида Boc-Tyr(Bzl)-Pro-OH был получен карбодиимидным методом с использованием в качестве конденсирующего реагента дициклогексилкарбодиимида. Пентафторфенол использовали с избытком 20%, дициклогексилкарбодиимид – 4%. Полученный активированный эфир кристаллизовали смесью гексан-эфир (1:1). Выход Boc-Tyr(Bzl)-Pro-OPfp составил 94%.

Перед стадией конденсации трет-бутилоксикарбонильную группу с Boc-Ser(Bzl)-NH<sub>2</sub> удаляли обработкой смесью – трифторуксусная кислота-хлороформ (1:1) при комнатной температуре в течение 2 часов. Трифторацетат O-бензилового эфира амида серина после перекристаллизации из смеси этанол-эфир был получен с выходом 97,3%.

Конденсацию активированного эфира дипептида и амида эфира серина проводили в тетрагидрофуране в течение суток при комнатной температуре. Очистку защищенного трипептида проводили также как и дипептида. Выход продукта составил 97%.

Трет-бутилоксикарбонильную группу с защищенного трипептида снимали действием 70% водного раствора трифторуксусной кислоты. Выход трифторацетата трипептида на этой стадии составил 94,1%.

При получении тетрапептида, амино- и карбоксильный компоненты вводили в реакцию конденсации в эквимолярном соотношении. После очистки обработкой кислыми и основными реагентами и кристаллизации из эфира выход защищенного тетрапептида составил 98,8%.

Деблокирование проводили каталитическим гидрированием и обработкой смесью – трифторуксусная кислота-хлороформ (1:1). Выход свободного тетрапептида после кристаллизации из эфира составил 88,2%.

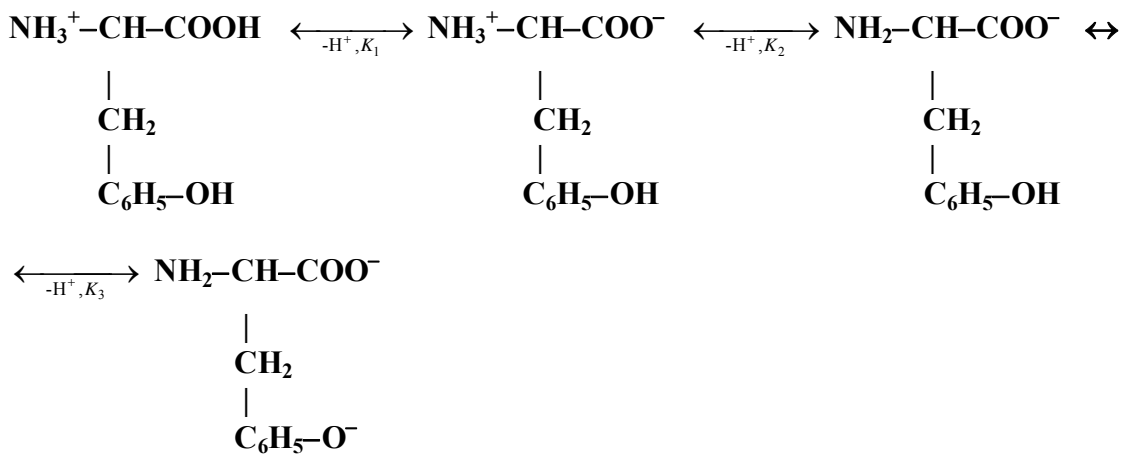
## 2. Изучение комплексообразующих свойств биологически активных аминокислот с ионами биометаллов

### 2.1. Изучение комплексообразующих свойств тирозина с ионом $Zn^{2+}$ .

Применение спектрофотометрических методов для изучения процессов комплексообразования ограничено тем, что из 20 природных аминокислот только фенилаланин, тирозин и триптофан обладают собственным поглощением, а также тем, что при ионизации их функциональных групп максимумы поглощения смещаются в коротко- или длинноволновую области на 1-2 нм, в результате чего перекрываются максимумы поглощения исходных аминокислот и образующихся координационных соединений. Все это обуславливает необходимость поиска способов применения спектрофотометрических методов при изучении комплексообразования бесцветных ионов металлов с аминокислотами.

В связи с этим, на первом этапе исследований было необходимо определить применимость указанных методов для изучения процесса комплексообразования цинка и тирозина.

Кислотно-основные равновесия тирозина в водных растворах можно выразить следующими уравнениями:



Значения  $pK_1$ ,  $pK_2$  и  $pK_3$  для тирозина составляют, соответственно 2,20, 9,11 и 10,07. Следовательно, ионизация каждой функциональной группы может отразиться на УФ-спектре тирозина. Поэтому, необходимо было определить влияние ионизации каждой функциональной группы на УФ-спектр тирозина и положение характерного максимума поглощения при 275 нм.

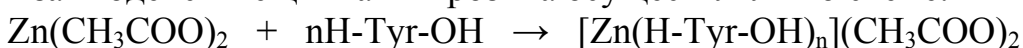
Результаты показали, что диссоциация кабоксильной группы тирозина приводила к сдвигу на 1 нм в коротковолновую область максимума поглощения при 275 нм, ионизация аминогруппы – к сдвигу максимума поглощения на 1 нм в длинноволновую область и появлению

плеча в области 277-282 нм. При ионизации гидроксильной группы тирозинового кольца отмечалось появление максимумов поглощения при 238 нм и при 292 нм, а в области 275 нм, наоборот, отмечался минимум. Подобные изменения спектра поглощения согласуются с литературными данными.

На втором этапе исследований была изучена применимость метода молярных отношений для определения состава координационных соединений цинка и тирозина.

Для изучения взаимодействия цинка и тирозина готовили две серии растворов  $C_{\text{Tyr}} = \text{const}$  и  $C_{\text{Zn}} = \text{const}$  с соотношением  $C_{\text{Tyr}}/C_{\text{Zn}}$  от 0,14 до 7.

Взаимодействие цинка и тирозина осуществляли по схеме:



Реакцию проводили при 60°C в течение 30 мин.

На УФ-спектрах исследуемых серий растворов в области 270-280 нм отмечается максимум поглощения, характерный для тирозина. После взаимодействия с цинком, максимум поглощения при 275 нм сдвигается в коротковолновую область на 1 нм. Такой незначительный сдвиг свидетельствует о том, что гидроксильная группа тирозина не участвует во взаимодействии с цинком, поскольку при ее диссоциации должны появляться максимумы поглощения при 240 и 293 нм.

Сдвиг максимума поглощения в коротковолновую область свидетельствует о диссоциации карбоксильной группы тирозина. При диссоциации протона карбоксильной группы ароматических аминокислот отмечается сдвиг максимума поглощения в коротковолновую область, а протона аминогруппы – в длиноволновую на 1-2 нм.

Кривые насыщения (рис.4) не имели четко выраженной точки перегиба.

Наибольшие отклонения от идеального случая наблюдались при соотношении  $C_{\text{Tyr}}/C_{\text{Zn}}$  от 0,33 до 1. Объяснением данному факту могут служить два предположения: первое – при взаимодействии цинка и тирозина образуются координационные соединения различного состава и, второе – вследствие незначительных спектральных изменений метод молярных отношений неприменим для изучения комплексообразования цинка и тирозина. Предположение об образовании непрочных координационных соединений можно исключить, поскольку в нашем случае отмечается не сглаживание излома на кривой насыщения, а наоборот – кривая имеет зигзагообразный характер.

Таким образом, при взаимодействии цинка и тирозина происходит ионизация карбоксильной группы аминокислоты, о чем свидетельствует коротковолновый сдвиг максимума поглощения, а вследствие малой величины этого сдвига для определения состава координационных соединений, образующихся при этом, метод молярных отношений не применим. В связи с этим, возникает необходимость поиска новых подходов для применения спектрофотометрических методов при изучении комплексообразования цинка и тирозина.

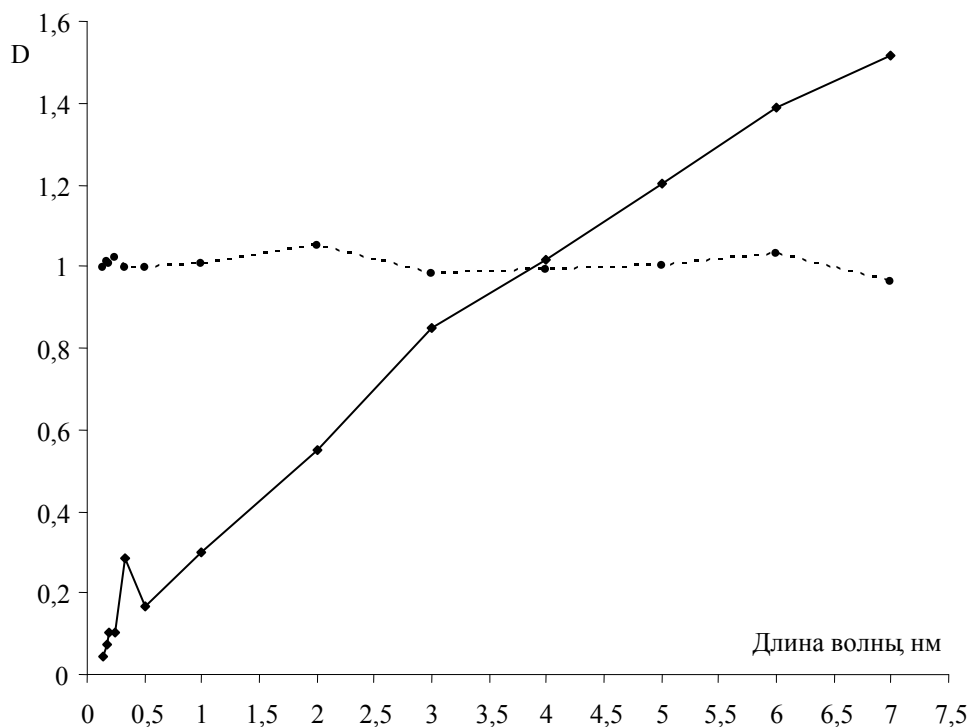


Рис.4. Кривые насыщения, полученные при взаимодействии тирозина и цинка при 274 нм

—●— CZn = const ····· Ctyr = const

Для этого при изучении взаимодействия цинка и тирозина и определения состава образующихся при этом координационных соединений мы применили дифференциальную спектрофотометрию.

Исследовали две серии растворов: в одной – была использована постоянная концентрация тирозина (0,002 М), а во второй – ацетата цинка (0,002 М). Растворы смешивали в соотношениях  $C_{\text{Тыр}}/C_{\text{Zn}}$  2:1, 1:1 и 1:2. Координационные соединения получали при 60°C в течение 30 мин. Были сняты спектры: полученных координационных соединений против воды, против эквимольного раствора тирозина и против эквимольного раствора ацетата цинка.

Как показали результаты исследований при  $C_{\text{Zn}}=\text{const}$ , дифференциальные УФ-спектры координационных соединений, снятые против эквимольных растворов ацетата цинка в области 240-350 нм идентичны спектрам, снятым против воды и соответствуют спектрам тирозина с различной концентрацией.

Отличия отмечаются в области 220-230 нм. На спектрах, снятых против ацетата цинка, у растворов с соотношением тирозина и цинка 2:1 и 1:1 отмечается узкий максимум поглощения при 226 нм.

Наибольшие отличия отмечаются на УФ-спектрах, снятых против эквимольных растворов тирозина. Дифференциальный УФ-спектр раствора с соотношением тирозина и цинка, равным 1:2 соответствует УФ-

спектру тирозина в положительной области с максимумом поглощения при 275 нм.

Дифференциальные УФ-спектры растворов с соотношением тирозина и цинка 2:1 и 1:1 почти целиком лежат в отрицательной области значений оптической плотности. В области 230-250 нм они схожи и имеют максимум при 235 нм, причем более интенсивный у раствора с соотношением компонентов 1:1, где отмечается широкая полоса поглощения в области 245-280 нм.

У раствора с соотношением компонентов 2:1 в данной области отмечается минимум. У обоих этих растворов отмечается максимум при 295 нм. При 300 нм у раствора с соотношением компонентов 1:1 отмечается максимум, а у раствора с соотношением компонентов 2:1 - минимум.

Исходя из этого можно предположить, что изучение дифференциальных спектров поглощения растворов с различным соотношением компонентов может способствовать установлению состава координационных соединений, образующихся при взаимодействии цинка и тирозина.

На дифференциальных УФ-спектрах растворов с соотношением компонентов 2:1 и 1:1, снятых против эквимольных растворов ацетата цинка, максимум поглощения расположен при 274 нм, а с соотношением компонентов 1:2 максимум поглощения расположен при 275 нм.

В отличие от дифференциальных спектров, снятых против ацетата цинка, спектры, снятые против тирозина отличаются большим числом максимумов поглощения. Первый максимум поглощения отмечается на всех трех спектрах при 233 нм. Наибольшая интенсивность максимума у раствора с соотношением компонентов 2:1, наименьшая - 1:2. Второй максимум поглощения у раствора с соотношением компонентов 2:1 лежит в области 269-274 нм и значительно шире максимума при 275 нм в УФ-спектре тирозина. В спектре раствора с соотношением компонентов 1:1 максимум поглощения в этой области также сдвинут в коротковолновую область, но уже, чем у раствора с соотношением компонентов 2:1 и находится в области 271-274 нм.

Максимум поглощения в этой области у раствора с соотношением компонентов 1:2 сдвинут в длинноволновую область и находится в области 275-282 нм. Полученные данные свидетельствуют о том, что с использованием дифференциальной спектрофотометрии можно регистрировать процесс ионизации функциональных групп тирозина.

Таким образом, применение дифференциальной спектрофотометрии для установления состава координационных соединений, образованных ароматическими аминокислотами и бесцветными ионами металлов позволяет получить больше информации о функциональных группах, участвующих в координации и регистрировать процесс ионизации функциональных групп тирозина.

## 2.2. Изучение комплексообразующих свойств тирозина с ионом $\text{Cu}^{2+}$ .

Для изучения взаимодействия тирозина с ионом меди готовили растворы тирозина и сульфата меди с концентрацией 0,02 моль/л, которые смешивали для получения растворов с соотношением компонентов 1:1, 2:1, 1:2 и снимали спектры поглощения в видимой области.

Результаты показали что, взаимодействие тирозина и иона меди приводит к сдвигу максимума поглощения иона меди при 795-810 нм в коротковолновую область. Величина сдвига зависела от соотношения иона меди и тирозина: при соотношении тирозин:медь равном 2:1 максимум сдвигается на 45-50 нм, при соотношении 1:1 – на 35-55 нм, при соотношении 1:2 – на 20-25 нм.

Этот факт свидетельствует о том, что при взаимодействии иона меди с тирозином образуются комплексные формы с различным соотношением компонентов, а также об образовании вокруг центрального атома комплексного иона при различных соотношениях металла и лиганда различных хромоформных групп.

Необходимо отметить, что pH растворов с соотношением меди и тирозина 1:1, 1:2 и 2:1 снижалось до 2,8, 2,86 и 2,82, соответственно, по сравнению с исходным раствором тирозина, pH которого составлял 5,91.

При повышении pH раствора образовывались нерастворимые координационные соединения, которые отфильтровывали, промывали спиртом и сушили на воздухе. Высушивание полученных соединений при температуре 180°C показало отсутствие в них кристаллизационной воды. После этого полученные соединения исследовали методом ИК-спектроскопии.

Отсутствие в ИК-спектре тирозина полосы поглощения в области 1700-1750  $\text{cm}^{-1}$ , характерной для  $\nu(\text{COO}^-)$  протонированной аминокислоты показывает, что в свободном тирозине карбоксильная группа не ионизирована.

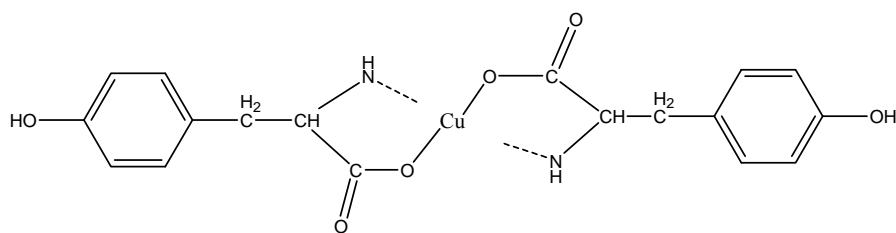
Отсутствие в ИК-спектре координационных соединений полосы поглощения  $\nu(\text{NH}_3^+)$  при 3132,5  $\text{cm}^{-1}$ , характерной для свободных аминокислот в цвиттер-ионной форме и присутствующей в ИК-спектре свободного тирозина свидетельствует о координации тирозина через атом азота. Появление в ИК-спектре координационного соединения полосы поглощения в области 1690-1700, характерной для  $\nu(\text{COO}^-)$  протонированной аминокислоты, свидетельствует об участии в координации карбоксильной группы тирозина.

Таким образом, изменения в ИК-спектрах координационных соединений тирозина и иона меди свидетельствуют об N,O-типе координации лигандов.

Элементный анализ показал, что комплекс имеет состав  $\text{Cu}(\text{Tyr})_2$ .

Полученные данные позволяют предложить следующую структурную формулу полученного координационного соединения.





### 2.3. Изучение комплексообразующих свойств аргинина с ионами $Zn^{2+}$ и $Cu^{2+}$ .

Для изучения комплексообразования аргинина с ионами меди и цинка получали растворы путем смешивания соответствующих растворов аргинина, сульфата меди и ацетата цинка с таким расчетом, чтобы концентрация конечного раствора равнялась 0,01 моль/л с соотношением металла и лиганда 2:1, 1:1 и 1:2.

Результаты исследования методом спектрофотометрии в видимой области показали, что величина сдвига максимума поглощения отличается для различных соотношений металла и лиганда: наименьшая величина сдвига максимума поглощения отмечается при соотношении металла и аминокислоты 2:1 (50-55 нм), наибольшая – при соотношении 1:2 (170-180 нм). При эквимольном соотношении компонентов наблюдается средняя величина сдвига максимума поглощения – 90-100 нм. Этот факт свидетельствует о том, что при взаимодействии иона меди с аминокислотами образуются комплексные формы с различным соотношением компонентов.

Для определения состава равновесной системы был использован метод рН-метрического титрования.

Первоначально этим методом были определены константы кислотной диссоциации аргинина:  $pK_1 = 2,1 \pm 0,08$  ( $\alpha$ -COOH),  $pK_2 = 8,31 \pm 0,49$  ( $\alpha$ -NH<sub>2</sub>),  $pK_3 = 12,13 \pm 0,03$  (гуанидиновая группа). Полученные значения находятся в удовлетворительном согласии с литературными данными [188]:  $pK_1 = 2,17$ ,  $pK_2 = 9,04$ ,  $pK_3 = 12,84$ .

Анализ данных, полученных при рН-метрическом титровании показывает, что кривые титрования координационных соединений аргинина с ионом меди лежат ниже кривой титрования аргинина, что свидетельствует, на основе литературных данных о том, что в системе образуются средние и протонированные комплексы.

Анализ кривой распределения аргинина показал, что при рН = 5,5 и 10 в растворе присутствуют все диссоциированные формы аргинина, поэтому при расчете состава равновесной системы при комплексообразовании учитывали протекание следующих реакций:

1.  $-H^+ + H_3L = H_2L^+$
2.  $-H^+ + H_2L^+ = HL^\pm$
3.  $-H^+ + HL^\pm = L^-$
4.  $-H^+ + Cu + H_3L = [Cu(H_2L^+)]$
5.  $-2 H^+ + Cu + H_3L = [Cu(HL^\pm)]$
6.  $-3 H^+ + Cu + H_3L = [Cu(L^-)]$

7.  $-2\text{H}^+ + \text{Cu} + 2\text{H}_3\text{L} = [\text{Cu}(\text{H}_2\text{L}^+)_2]$
8.  $-4\text{H}^+ + \text{Cu} + 2\text{H}_3\text{L} = [\text{Cu}(\text{HL}^\pm)_2]$
9.  $-6\text{H}^+ + \text{Cu} + 2\text{H}_3\text{L} = [\text{Cu}(\text{L}^-)_2]$
10.  $-3\text{H}^+ + \text{Cu} + 2\text{H}_3\text{L} = [\text{Cu}(\text{H}_2\text{L}^+)(\text{HL}^\pm)]$
11.  $-5\text{H}^+ + \text{Cu} + 2\text{H}_3\text{L} = [\text{Cu}(\text{HL}^\pm)(\text{L}^-)]$

Для расчета констант образования комплексных форм использовали программу CLINP 2.1.

Результаты расчетов приведены в табл. 1.

Таблица 1.

Логарифмы констант устойчивости координационных соединений аргинина с ионами меди и цинка

Комплексная форма	lg $\beta$	
	Arg+Cu	Arg+Zn
[Me(H <sub>2</sub> L <sup>+</sup> ) <sub>2</sub> ]	1,71	-13,85
[Me(HL <sup>±</sup> ) <sub>2</sub> ]	1,20	-13,60
[Me(L <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> ]	13,30	-13,64
[Me(H <sub>2</sub> L <sup>+</sup> ) <sub>2</sub> ]	10,01	1,89
[Me(HL <sup>±</sup> ) <sub>2</sub> ]	10,03	1,73
[Me(L <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> ]	-5,67	1,70
[Me(H <sub>2</sub> L <sup>+</sup> )(HL <sup>±</sup> )]	14,94	17,62
[Me(HL <sup>±</sup> )(L <sup>-</sup> )]	1,45	17,35

Как видно из полученных результатов, медь образует более прочные комплексы с аргинином, чем цинк.

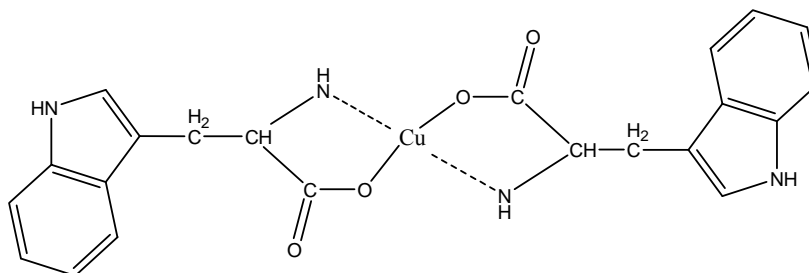
#### 2.4. Изучение комплексообразующих свойств триптофана с ионом Cu<sup>2+</sup>

При изучении комплексообразования триптофана с ионом меди координационные соединения получали смешиванием соответствующих растворов с таким расчетом, чтобы концентрация конечного раствора равнялась 0,01 моль/л с соотношением металла и лиганда 2:1, 1:1 и 1:2.

Анализ электронных спектров показал, что при соотношениях медь:аминокислота 1:1 и 1:2 максимум поглощения сдвигался на 35-50 нм, при соотношении 2:1 – на 10-20 нм в коротковолновую область относительно максимума поглощения иона меди. Этот факт, как и в предыдущем случае, свидетельствует о том, что при взаимодействии иона меди с аминокислотами образуются комплексные формы с различным соотношением компонентов.

Для установления типа координации триптофана с ионом меди были сняты ИК-спектры триптофана и его координационных соединений с медью. Изменения в ИК-спектрах были аналогичными изменениям в ИК-спектрах тирозина при его координации с ионом меди и свидетельствовали об N,O-типе координации лигандов.

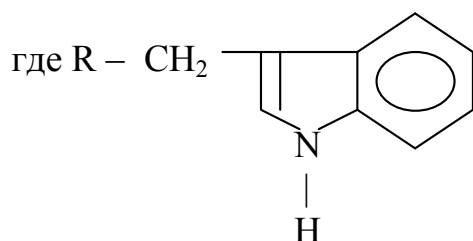
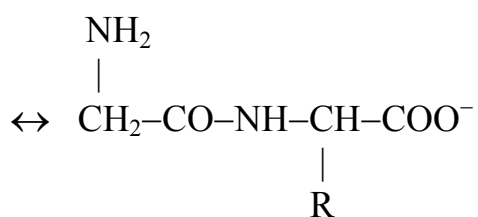
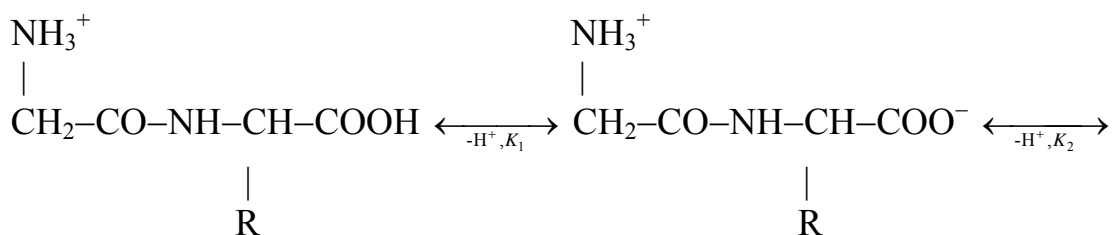
Результаты элементного анализа координационных соединений показали, что в составе комплекса отсутствует кристаллизационная вода и вода во внутренней сфере. Из полученных данных можно заключить, что координационное соединение имеет состав  $\text{Cu}(\text{Trp})_2$  и структурную формулу:



## 2.5. Изучение комплексообразующих свойств низкомолекулярных тимических пептидов с ионом $\text{Zn}^{2+}$

Для изучения процесса комплексообразования ионов металлов с аминокислотами и низкомолекулярными пептидами используется метод рН-метрического титрования.

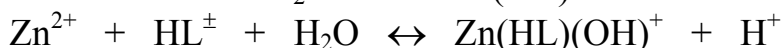
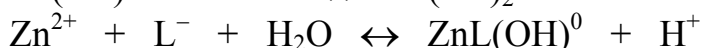
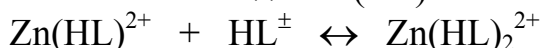
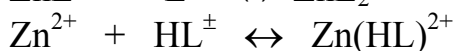
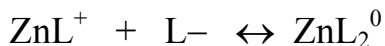
Поскольку аминокислоты и пептиды обладают как кислотными, так и основными свойствами, модель протонирования дипептида глицил-триптофан можно выразить следующими уравнениями:



На первом этапе исследований были определены константы кислотной диссоциации дипептида:  $K_1 = 6,17 \cdot 10^{-4}$  ( $\text{p}K_1 = 3,21 \pm 0,27$ ),  $K_2 = 8,32 \cdot 10^{-10}$  ( $\text{p}K_2 = 9,08 \pm 0,11$ ).

Координационные соединения получали смешиванием эквимольных количеств растворов дипептида и ацетата цинка в концентрациях 0,001 моль/л с конечной концентрацией дипептида и иона цинка 0,0005 моль/л, и выдерживанием при 60°C в течение 30 мин. При pH-метрическом титровании координационных соединений концентрация NaOH составляла 0,01 моль/л.

При расчетах учитывали протекание следующих процессов:



Для спектрофотометрического исследования был выбран метод пересечения кривых. Вследствие того, что при ионизации амино- и карбоксильной групп триптофана максимум поглощения при 278 нм сдвигается в длинноволновую и коротковолновую области, соответственно, на 1-1,5 нм, для исследования была выбрана область 277-280 нм.

Расчет проводили по формуле:

$$\beta_K = C_K / [(C_M - C_K) \cdot (C_R - nC_K)^n \cdot \alpha_M \cdot \alpha_R^n]$$

где  $\beta_K$  – константа устойчивости комплекса,  $C_R$  – концентрация дипептида,  $C_M$  – концентрация иона цинка,  $C_K$  – равновесная концентрация комплекса, которую вычисляли по формуле:

$$C_K = C_M \cdot \left( \frac{\Delta A}{A_{\text{пр}}} \right)$$

где  $A_{\text{пр}}$  – предельное значение оптической плотности раствора при  $C_M = \text{const}$ ;  $\Delta A$  – разница оптической плотности исследуемого раствора и рассчитанной оптической плотности при  $C_M = \text{const}$ .

Состав исследуемых растворов и полученные значения оптической плотности приведены в табл. 2.

В качестве  $A_{\text{пр}}$  была выбрана оптическая плотность раствора триптофана с максимальной концентрацией для исследуемой серии растворов.

Результаты расчетов показали, что в растворе образуются координационные соединения с молярным соотношением цинка и дипептида, равным 1:1 и 1:2.

Для определения состава равновесной системы использовали метод pH-метрического титрования.

Таблица 2.

Концентрационный состав исследуемых растворов и полученные значения оптической плотности в области максимумов поглощения

№	$C_L, M \times 10^{-4}$	$C_{Zn}, M \times 10^{-5}$	$C_{sum}, M \times 10^{-4}$	$A_{277}$	$A_{278}$	$A_{279}$	$A_{280}$
1	2,0	2,0	2,2	0,929	0,936	0,938	0,933
2	1,8	2,0	2,0	0,857	0,863	0,864	0,86
3	1,6	2,0	1,8	0,756	0,764	0,764	0,762
4	1,4	2,0	1,6	0,657	0,662	0,664	0,661
5	1,2	2,0	1,4	0,559	0,564	0,566	0,563
6	1,0	2,0	1,2	0,476	0,48	0,48	0,479
7	0,8	2,0	1,0	0,387	0,391	0,392	0,391
8	0,6	2,0	0,8	0,276	0,279	0,28	0,28
9	0,4	2,0	0,6	0,185	0,187	0,188	0,188
10	0,2	2,0	0,4	0,093	0,094	0,095	0,095

По данным титрования рассчитывали функцию образования по уравнению:

$$n = \frac{C_L - [L]}{C_M}$$

где  $C_L$  – общая концентрация лиганда,  $[L]$  – равновесная концентрация лиганда,  $C_M$  – общая концентрация иона металла-комплексообразователя.

Равновесную концентрацию лиганда рассчитывали по формуле:

$$[L^-] = \frac{(C_{NaOH}^0 - [OH^-] + [H^+]) \cdot ([H^+]^2 + K_1(K_2 + [H^+]))}{(K_1(K_2 + [H^+]) \cdot (1 + [H^+]/K_2 + [H^+]^2/K_1 \cdot K_2))}$$

Для определения состава равновесной смеси использовали программу NewDALSFEK, в файл исходных данных которой подставляли рассчитанные значения  $[L^-]$ .

При расчете были рассмотрены следующие варианты образующихся комплексных ионов:  $[ZnL]^+$ ,  $[ZnL_2]^0$ ,  $[Zn(HL)]^{2+}$ ,  $[Zn(HL)_2]^{2+}$ ,  $[ZnL(OH)]^0$ ,  $[Zn_2L(OH)]^{2+}$ ,  $[Zn_2L]^{3+}$ ,  $[Zn_2HL]^{4+}$ ,  $[Zn_2(HL)(OH)_2]^0$ . Критерием правильности выбранной модели равновесной смеси служило совпадение рассчитанной кривой титрования с экспериментальными значениями.

Анализ полученных данных показал, что в растворе одновременно присутствуют координационные соединения с составом комплексного иона  $[ZnL]^+$ ,  $[ZnL_2]^0$  и  $[Zn(HL)_2]^{2+}$ . Десятичные логарифмы констант устойчивости равны:  $\lg K_{[ZnL]} = 7,353$ ,  $\lg K_{[ZnL_2]} = 13,908$ ,  $\lg K_{[Zn(HL)_2]} = 30,256$ .

pH-метрическое определение состава равновесной системы, образующейся при взаимодействии дипептида валил-триптофан и иона цинка проводили аналогично дипептиду глицил-триптофан.

Расчет состава равновесной системы также проводили с использованием программы NewDALSFEK.

Результаты расчета показали, что в системе присутствуют комплексные формы со следующими значениями логарифмов констант

образования:  $\lg K_{[ZnLH]} = 3,92$ ,  $\lg K_{[Zn(HL)_2]} = 2,37$ ,  $\lg K_{[ZnL]} = 10,9$ ,  $\lg K_{[ZnL_2]} = 11,9$ ,  $\lg K_{[ZnL(HL)]} = 10,2$ .

Таким образом, при взаимодействии триптофансодержащего дипептида и иона цинка в водном растворе образуются как средние, так и протонированные комплексные формы.

## ВЫВОДЫ

1. Установлено, что метод активированных эфиров является оптимальным для синтеза модельных дипептидов валил-триптофан и глицил-триптофан, гистидинсодержащего аналога тимомиметика Н-His-Pe-Trp-ОН и тирозинсодержащих тетрапептидов Н-Tyr-Lys-Phe-Gly-ОН и Н-Tyr-Tyr-Pro-Ser-NH<sub>2</sub>, являющихся модифицированными фрагментами дерморфина.

2. Применение метода активированных эфиров и формилирование остатка триптофана позволяет повысить выход защищенных триптофансодержащих дипептидов за счет снижения потерь при их очистке.

3. Показано, что при взаимодействии триптофана и тирозина с ионом меди в растворе присутствует несколько комплексных форм, из которых комплексные формы Cu(Trp)<sub>2</sub> и Cu(Tyr)<sub>2</sub> выпадают в осадок в кристаллическом виде, а аминокислоты координируются через атомы азота аминогруппы и кислорода карбоксильной группы.

4. Установлено, что при взаимодействии аргинина с ионами цинка и меди в растворе образуются следующие комплексные формы:  $\lg \beta_{[Zn(Arg^+)]} = -13,85$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^\pm)]} = -13,60$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^-)]} = -13,64$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^+)_2]} = 1,89$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^\pm)_2]} = 1,73$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^-)_2]} = 1,70$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^+)(Arg^\pm)]} = 17,61$ ,  $\lg \beta_{[Zn(Arg^\pm)(Arg^-)]} = 17,35$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^+)]} = 1,71$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^\pm)]} = 1,20$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^-)]} = 13,30$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^+)_2]} = 10,01$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^\pm)_2]} = 10,03$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^-)_2]} = -5,67$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^+)(Arg^\pm)]} = 14,94$ ,  $\lg \beta_{[Cu(Arg^\pm)(Arg^-)]} = 1,45$ .

5. Спектрофотометрическим методом и методом рН-метрического титрования показано, что дипептид Н-Gly-Trp-ОН образует с цинком координационные соединения с составом комплексных ионов  $[ZnL]^+$ ,  $[ZnL_2]^0$  и  $[Zn(HL)_2]^{2+}$ . Десятичные логарифмы констант устойчивости равны:  $\lg K_{[ZnL]} = 7,353$ ,  $\lg K_{[ZnL_2]} = 13,908$ ,  $\lg K_{[Zn(HL)_2]} = 30,256$ .

6. Методом рН-метрического титрования установлено, что дипептид валил-триптофан в водном растворе образует с ионом цинка комплексные формы со следующими значениями логарифмов констант образования:  $\lg K_{[ZnLH]} = 3,92$ ,  $\lg K_{[Zn(HL)_2]} = 2,37$ ,  $\lg K_{[ZnL]} = 10,9$ ,  $\lg K_{[ZnL_2]} = 11,9$ ,  $\lg K_{[ZnL(HL)]} = 10,2$ .

**Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:**

1. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Бобиев Х.А., Бандаев С.Г. Синтез бурсина и его аналогов с дипептидом Н-Glu-Trp-ОН // Вестник педагогического университета.-1998.-№ 3.-С.101-108.

2. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Бандаев С.Г. Использование активированных эфиров для синтеза триптофансодержащих пептидов // Вестник педагогического университета.-1998.-№ 1.-С.3-11.
3. Бобиев Г.М. Чариева С.А., Бандаев С.Г. Получение новых иммуностимулирующих препаратов пептидной природы // Материалы Международной науч.-практ.конф., посвященной 80-летию со дня рожд. одного из основателей Таджикского технического университета Сулейманова А.С. // Тез.докл.-Душанбе,1998.-С.40.
4. Бобиев Г.М., Бобиев Х.А., Гиесов А.Ш., Чариева С.А. Новый подход к синтезу иммуноактивных триптофансодержащих пептидов // Информ.листок НПИЦентра Республики Таджикистан.-Душанбе,1998.-№ 69-98.
5. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бандаев С.Г., Бобиев Г.М. Синтез дипептидного тимомиметика и его гистидинсодержащего аналога // Материалы Международной научно-практической конференции, посв. 60-летию ТаджНИВИ «Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях».-Душанбе, 2003.-С.64-67.
6. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бандаев С.Г. Изучение возможности применения метода молярных отношений для исследования комплексообразования цинка и тирозина // Материалы 53-й годичной научно-практической конференции ТГМУ (с международным участием) «Лекарства и здоровье», посвященной 1025-летию со дня рождения Абуали ибни Сино. Душанбе, 2005 г.,.-С.82-84.
7. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бандаев С.Г. Применение метода дифференциальной спектрофотометрии для изучения состава координационных соединений цинка и тирозина // Там же.-С.87-89.
8. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Юсупов З.Н., Бандаев С.Г. Моделирование комплексообразования иона  $Zn^{2+}$  и дипептида глицил-триптофан // Вестник педагогического университета.-2005.-№ 4.-С.65-70.
9. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бандаев С.Г. Спектрофотометрическое изучение комплексообразования цинка и тирозина // Вестник педагогического университета.-2005.-№ 3.-С.3-5.
10. Бобиев Г.М., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бандаев С.Г. Исследование комплексообразования цинка и тирозина с использованием УФ-спектрофотометрии // Тезисы докладов научно-теоретической конференции «Современные проблемы физики и астрофизики». Душанбе, 2005, с.-С.50-51.
11. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Юсупов З.Н., Хайдаров К.Х. О комплексообразовании иона цинка с дипептидом глицил-триптофан // Доклады АН Республики Таджикистан.-2006.-Т.49,-№ 2.-С.154-157.
12. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Юсупов З.Н., Хайдаров К.Х. Расчет равновесий комплексообразования в системе цинк(II)-дипептид глицил-триптофан-вода // Вестник Таджикского национального университета.- 2006.-№ 2.-С.110-115.

13. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Юсупов З.Н., Хайдаров К.Х. Комплексообразование цинка в растворах глицил-триптофана // Вестник Таджикского национального университета.- 2006.-№ 2.-С.121-126.
14. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Бандаев С.Г. Синтез тирозинсодержащих пептидов потенциальных иммуностропных препаратов // Материалы Международной конференции «Состояние и перспективы развития биохимии в Таджикистане».-Душанбе, 2009.- С.180-185.
15. Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М., Бандаев С.Г. Методы изучения комплексообразующих свойств аргинина с ионами  $Zn^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  // Материалы республиканской научно-практической конференции «Проблемаҳои таълими тафриқавӣ» бахшида ба 70-солагии қорمانди шоистаи Тоҷикистон, академики илмҳои педагогӣ, доктори илмҳои педагогӣ, профессор Убайд Зубайдов».-Душанбе, 2009.- С.229-233.
16. Холназаров Б.М., Саидов С.С., Чариева С.А., Шахматов А.Н., Бобиев Г.М. Применение тактики максимальной защиты для синтеза тирозинсодержащих тетрапептидов // Вестник Таджикского национального университета.-2010.-№ 3(59).-С.228-231.

Разрешено к печати 24.11.2010 г.

Сдано в набор 22.11.2010 г.

Подписано в печать 25.11.2010 г.

Формат 60×84 1/16. Тираж 100 экз.

Гарнитура литературная. Печать офсетная.

---

Отпечатано в типографии ТНУ  
734025, г. Душанбе, проспект Рудаки 17