

Региональная открытая конференция
по научно-техническому творчеству школьников «Лабиринты науки»

Секция «Химия»

СИНТЕЗ N-АМИНОКИСЛОТНОГО ПРОИЗВОДНОГО ИБУПРОФЕНА
С ПОНИЖЕННОЙ ГАСТРОТОКСИЧНОСТЬЮ

Выполнила: Мусаева Нармина Мубаризовна
Муниципальное образовательное учреждение
средняя общеобразовательная школа
"Образовательный комплекс №33"
"Центр образования- школа №18",
ученица 11 класса

Научный руководитель:
Красникова Наталия Владимировна
ФГБОУ ВО ЯГТУ
канд. хим. наук, доцент кафедры
«Биотехнология и фармацевтический инжиниринг»

г. Ярославль, 2025

Оглавление

Введение	3
Глава 1. Прогнозирование фармакологических свойств L-аминокислотных производных ибупрофена методом компьютерного моделирования	4
1.1 Компьютерное моделирование <i>in silico</i> с использованием платформы PassOnline и GusarOnline	4
1.2 Результаты скрининга синтезированного соединения по программе PassOnline и GusarOnline	4
Глава 2. Экспериментальная часть	5
2.1 Выделение фармацевтической субстанции ибупрофена из твердой лекарственной формы без плёночной оболочки (в капсулах)	5
2.2 Синтез N-ациламинокислотного производного ибупрофена на основе смоделированных соединений	5
2.3 Выделение продукта реакции ацилирования L-триптофана ибупрофеном	6
2.4 Используемые методы анализа	6
ГЛАВА 3. Результаты и обсуждения	7
3.1 Выделение ибупрофена – активной фармацевтической субстанции из твердой лекарственной формы без плёночной оболочки (капсул)	7
3.2 Синтез N-ациламинокислотного производного ибупрофена	7
3.3 Аналитический контроль чистоты полупродуктов и продуктов реакции	8
Заключение	10

Введение

В настоящей работе велась разработка N-аминокислотного производного ибупрофена. Гастротоксичность — ключевое ограничение применения НПВП. Ибупрофен, как и другие нестероидные противовоспалительные препараты, вызывает повреждение слизистой ЖКТ. Мы стремимся снизить этот риск за счёт модификации молекулы, что расширит возможности его безопасного применения у пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями. Введение аминокислотного фрагмента может: уменьшить прямое раздражающее действие на ЖКТ за счёт изменения механизма всасывания, повысить биодоступность и селективность действия, что подтверждается данными последних исследований. Также компьютерное моделирование ускоряет разработку новых НПВП, с его помощью можно прогнозировать активность и токсичность соединения, сокращая время и затраты на экспериментальные этапы. Одна из сложностей - выделение ибупрофенат из твердых лекарственных форм, что требует разработки эффективных методов очистки от вспомогательных веществ (наполнителей, стабилизаторов), что может влиять на последующие этапы синтеза. А при синтезе N-аминокислотного производного ибупрофена необходим подбор условий реакции (катализаторы, температура, pH) для сохранения стереохимической чистоты аминокислоты, чтобы снизить риск образования побочных продуктов при модификации карбоксильной группы ибупрофена.

Гипотеза- введение фрагмента аминокислоты в фармацевтическую субстанцию ибупрофена уменьшит гастротоксичность и сохранит противовоспалительную активность.

Цель: определение вида аминокислоты, какую нужно вести в молекулу ибупрофена, чтобы вероятность противовоспалительной активности сохранилась, а токсичность уменьшилась в несколько раз.

Задачи:

1. Компьютерное моделирование *in silico* N-аминокислотных производных ибупрофена с использованием платформы Passonline (вероятность противовоспалительной активности) и Gusaronline (оценивать токсичность);
2. Выделение фармацевтической субстанции ибупрофена из твердой лекарственной формы без плёночной оболочки (в капсулах);
3. Подтверждение структуры и их чистоты химической субстанции физико-химическими методами анализа (ИК-спектроскопия, тонкослойная хроматография, температура плавления);
4. Синтез N-аминокислотного производного ибупрофена на основе смоделированных соединений;

5. Подтверждение чистоты и строение выделенного из синтеза N-аминокислотного производного.

ГЛАВА 1. Прогнозирование фармакологических свойств L-аминокислотных производных ибупрофена методом компьютерного моделирования

1.1 Компьютерное моделирование *in silico* с использованием платформы PassOnline и GusarOnline

В современной фармакологии разработка новых лекарственных форм и оптимизация существующих препаратов требуют глубокого понимания их биохимических свойств, эффективности и безопасности. Одним из ключевых подходов к достижению этих целей является компьютерное моделирование, которое позволяет прогнозировать свойства веществ без необходимости проведения дорогостоящих лабораторных экспериментов. В данном проекте мы используем две специализированные платформы для моделирования: Passonline [1] и GusarOnline [2], чтобы исследовать свойства ибупрофена — широко применяемого нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП). Passonline предоставляет возможность анализа вероятности противовоспалительной активности ибупрофена, а GusarOnline позволяет оценить токсичность ибупрофена. Благодаря этим платформам мы можем доказать, при этом его противовоспалительную активность. Результаты скрининга синтезированного соединения по программе PASS (можете посмотреть в разделе «Приложение»).

1.2 Результаты скрининга синтезированного соединения по программе PassOnline и GusarOnline

В качестве альтернативного варианта мы выбрали аминокислоту L-Триптофан. По результатам скрининга выяснилось, что при введении аминокислоты (триптофана) в молекулу ибупрофена токсичность при пероральном введении уменьшается в 2-3 раза. Также в организме человека триптофан выполняет несколько важных функций: регулирует пищевое поведение, обеспечивает спокойное эмоциональное состояние и сон, поддерживает работу иммунной системы. Способность триптофана укреплять иммунитет обусловлена его участием в синтезе мелатонина, влияние которого на иммунную систему человека в настоящее время активно изучается специалистами разных стран. Некоторые исследования уже показали иммуностимулирующий и противовоспалительный эффекты мелатонина. Также есть научные данные, указывающие на то, что мелатонин может действовать как стимулятор при ослабленном иммунитете, и как противовоспалительное средство при остром

воспалении. Триптофан является предшественником серотонина (гормона счастья) [3]. Согласно предварительным исследованиям, увеличение потребления триптофана приносит целый ряд преимуществ для хорошего самочувствия [4].

ГЛАВА 2. Экспериментальная часть

2.1 Выделение фармацевтической субстанции ибупрофена из твердой лекарственной формы без плёночной оболочки (в капсулах)

Для выделения ибупрофена взяли 5 таблеток производства ОАО «Синтез» «Ибупрофен-Вертекс» (200 мг действующего вещества в 1 таблетке), раскрывали капсулы и высыпали содержимое в фарфоровую ступку для измельчения. Полученный порошок лекарственного средства пересыпали в стакан и добавляли к нему 19,4 мл (4,9 ммоль) 1%-го (масс.) свежеприготовленного раствора гидроксида натрия (NaOH). Полученную смесь нагревали и определяли значение pH с помощью универсальной индикаторной бумаги (pH 8-9). Не растворившиеся частицы фильтровали под вакуумом. Полученный фильтрат подкисляли предварительно охлажденной до 5-7°C соляной кислотой (HCl) до pH 3-4. Осадок отфильтровывали на фильтре Шотта под вакуумом и сушили при температуре 60-70°C в сушильном шкафу до полного высыхания.

2.2 Синтез N-ациламинокислотного производного ибупрофена на основе смоделированных соединений

Навеску 0,3г ибупрофена (0,0014 моль) растворяли в 5 мл ТГФабс (тетрагидрофуран абсолютированный-растворитель) при постоянном перемешивании на магнитной мешалке (рис. 1). После полного растворения ибупрофена в реакционную смесь вводили 0,3г (0,0014 моль) ДЦК

(1,3- Дициклогексилкарбодиимид- реагент, широко применяющийся в органическом синтезе, представляет собой белое твёрдое вещество с тяжёлым сладким запахом и низкой температурой плавления) и 0,2г (0,0014 моль) НОВт (1-гидроксibenзотриазол, каталитическая добавка), и перешивали реакционную смесь в течение одного часа при постоянном охлаждении (температура 8-10°C). Далее в реакционную смесь вводили 0,33г L-триптофана (0,0016 моль, 10%-ый мольный избыток). Время перемешивания составило 2,5 часа.

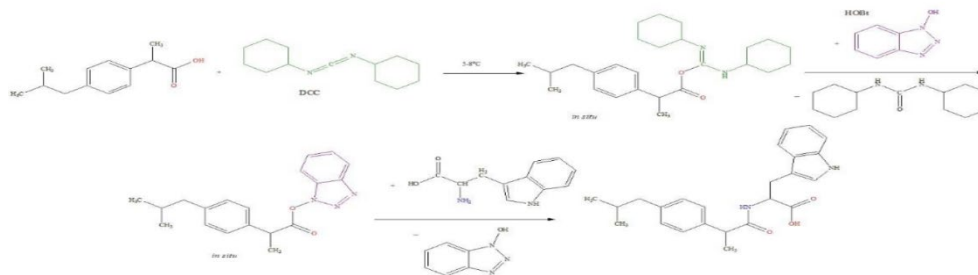


Схема 1. Схема реакции ацилирования L-триптофана ибупрофеном с использованием метода ДЦК-НОВт.

2.3 Выделение продукта реакции ацилирования L-триптофана Ибупрофеном

Реакционную смесь фильтровали и промывали фильтр и колбу растворителем (ТГФ), фильтрат упаривали до $\frac{1}{3}$ от исходного объёма и добавляли 4мл охлаждённый дистиллированной воды. Далее реакционную смесь охлаждали на ледяной бане и приливали HCl конц (50 капель), до pH 1-2. При подкислении из реакционной смеси выпадал осадок в виде тёмно-коричневый кристаллов. Осадок фильтровали на мелкопористом фильтре Шотта вакуумом и сушили осадок при температуре 60-70°C. Выход реакции составил 52,6%. Чистоту и строение полученного продукта подтверждали методами ТСХ и ИК-спектроскопии(расчёт выхода см. в разделе «Приложение»)

2.4 Используемые методы анализа

Одним из используемых методов анализа являлась тонкослойная хроматография (ТСХ) - хроматографический метод, основанный на использовании тонкого слоя адсорбента в качестве неподвижной фазы и смеси растворителей в качестве подвижной фазы. Метод основан на различном распределении веществ на сорбирующем слое при протекающем через него элюентом. Вследствие чего различные по строению вещества в выбранном элюенте проходят различное расстояние. Сигналом в тонкослойной хроматографии является пятно вещества, видимое при проявке. Показательным является значение R_f вещества в данном элюенте. При проведении анализа неподвижной фазой является силикагель (используются пластинки Silufon). В настоящей работе в качестве метода проявки была использована УФ- проявка. Выбор данного метода основан на поглощении УФ-лучей ароматическим кольцом ибупрофена (за счёт π -электронной сопряженной системы).

Также мы использовали метод ИК (инфракрасная спектроскопия) - область оптической спектроскопии, включающая получение, исследование

и применение спектров испускания, спектров поглощения и спектров отражения в ИК-диапазоне длин волн. Инфракрасная спектроскопия занимается в основном изучением молекулярных спектров (в ИК-области расположено большинство колебательных и вращательных спектров молекул), а также спектров кристаллов[5].

ГЛАВА 3. Результаты и обсуждения

3.1 Выделение ибупрофена – активной фармацевтической субстанции из твердой лекарственной формы без плёночной оболочки (капсул)

Рассчитанного теоретически объема 1% раствора свежеприготовленной натриевой щелочи оказалось недостаточно для достижения слабощелочной среды (рН 8-9) раствора. Для достижения необходимого уровня кислотности реакционной смеси добавляли дополнительно небольшое количество 1% раствора гидроксида натрия по каплям (20 капель). Значение рН определяли с помощью универсальной индикаторной бумаги. Полоска индикаторной бумаги приобрела желто-зеленую окраску и при визуальном сравнении с эталонной школой мы установили, что значение рН ~8. При этом происходила реакция (схема 4) кислотно-основного взаимодействия карбоксильной группы ибупрофена с сильным основанием с образованием водорастворимой натриевой соли ибупрофена. При проведении данной реакции часть порошка, выделенного из капсул, была нерастворима в щелочи. Для получения чистого продукта было решено провести фильтрование.



Полученный прозрачный фильтрат далее подкисляли охлаждённый концентрированной HCl (схема 5). В ходе реакции выпадал осадок слабой органической карбоновой кислоты – ибупрофена в виде белых мелких хлопьев. Осадок фильтровали под вакуумом на фильтре Шотта и сушили при температуре 60-70°C. Постоянный контроль температуры осуществляли во избежании плавления и обугливания ибупрофена, температура плавления которого составляет 75-78°C, согласно литературным данным[6].

3.2 Синтез N-ациламинокислотного производного ибупрофена

Ацилирование L-триптофана ибупрофеном проводили с помощью стандартного метода пептидного синтеза с использованием смеси ДЦК и NOVt. Данные реагенты не только активируют карбоксильную группу ибупрофена, создавая условия для быстрого течения реакции, но и практически полностью предотвращают образование оптически изомерных

продуктов реакции. После добавления в реакционную смесь ДЦК и НОВт в соотношении 1 к 1, относительно количества вещества ибупрофена, мы наблюдали выпадение белого осадка дициклогексилмочевины, побочного продукта данной реакции. После добавления L-триптофана в течение часа реакционная смесь начала изменять свой цвет на жёлтый, а затем бурый, данное изменение окраски раствора свидетельствует о протекании реакции образования целевого продукта реакции. Для выделения N-ацилзамещенного L-триптофана реакционную смесь фильтровали от дициклогексилмочевины. Далее прозрачный бурый раствор упаривали при мягких условиях до $\frac{1}{3}$ от исходного объема и охлаждали до 10-15°C. К упаренному раствору добавляли 4 мл охлаждённый дистиллированной воды и охлаждённый концентрированной соляной кислоты до pH 1-2. При подкислении наблюдали выпадение буро-коричневого осадка. Осадок фильтровали под вакуумом на фильтре Шотта и промывали его дистиллированной водой от избытка соляной кислоты. Осадок сушили при температуре 60-70°C. Выход реакции составил 40%. Чистоту и строение вещества подтвердили методами ТСХ и ИК-спектроскопии.

3.3 Аналитический контроль чистоты полупродуктов и продуктов реакции

В настоящей работе в качестве опорного метода анализа был выбран экспрессный метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Подтверждение чистоты ибупрофена. Для проведения анализа готовят 2 пробы: вещество-свидетель, растворенный в 1 мл ацетона, и полученный продукт с тем же количеством ацетона. С помощью тонкого стеклянного капилляра пробы помещают на заранее подготовленную пластинку (4 закола для каждой пробы). Пластинки готовят размером 3,5/12см. Отступив от верхнего края пластинки 1 см чертят линию финиша. На расстоянии 1,5 см от нижнего края находится линия старта, где располагаются места заколов проб. После нанесения проб пластинку помещаем в хроматографическую камеру с элюентом. Когда смесь растворителей поднимется по пластинке до линии финиша, пластинку достают из камеры и сушат до полного испарения остатков растворителей. Элюент представлял собой смесь растворителей: толуол 4мл, гексан 4мл, ацетон 2,5мл. Также мы хотим отметить, что для осуществления синтеза фармацевтических субстанций важна чистота не только целевого продукта, но и исходных веществ. Поэтому нами был произведен анализ ТСХ (Элюент: толуол/гексан/ацетон=4/4/2,5 (по объему); проявление под УФ) и определение температуры плавления капиллярным методом выделенной субстанции действующего вещества ибупрофена. Результаты ТСХ представлены в приложении.

Для проведения ТСХ в качестве элюента мы взяли смесь растворителей: ацетон/толуол/этанол в соотношении (4:2:2). По результатам (Приложение) анализа было выявлено, что целевой продукт реакции содержит примесь исходного ибупрофена. В ходе дальнейшей работы планируется провести очистку продукта реакции. Однако, образование целевого продукта реакции было подтверждено методом ИК-спектроскопии.

На ИК-спектре ибупрофен а присутствуют характерные полосы поглощения, соответствующие валентным колебаниям C=O, сходящей в состав карбоксильной группы кислоты при 1709,12 см⁻¹, валентные колебания -ОН группы кислоты при 2632,36 см⁻¹. Также присутствует полоса поглощения при 779,32 см⁻¹, соответствующая 1,4-замещению в бензольном кольце(см.приложение)

На ИК-спектре продукта реакции, N-ацилзамещенного L-триптофана, присутствует уширенная полоса поглощения валентных колебаний NH группы пептидной связи при 3318,05 см⁻¹, а также I-ая и II-я амидные полосы, свидетельствующие о наличии пептидной связи при 1655,92 см⁻¹ и 1534,09 см⁻¹.(см.приложение)

Заключение

При выполнении настоящей работы было осуществлено компьютерное моделирование *in silico* N-аминокислотных производных ибупрофена с использованием платформы PassOnline и GusarOnline, на основе результатов которого была предложена и произведена химическая модификация ибупрофена, выделенного из твердой лекарственной формы без пленочной оболочки, остатком L-триптофана, для усиления противовоспалительной активности и снижения гастротоксичности.

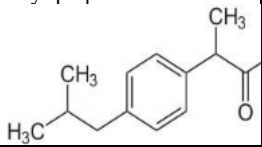
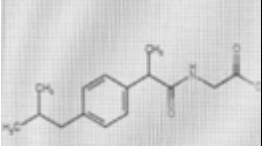
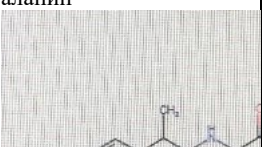
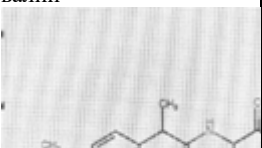
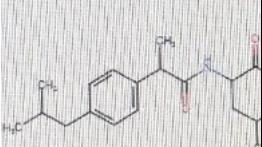
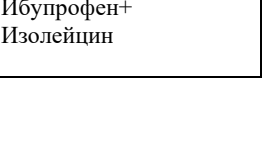
Произведен анализ структуры и чистоты полученной субстанции методами тонкослойной хроматографии и ИК-спектроскопии. Согласно полученным результатам, мы можем утверждать, что получили целевое соединение, однако по результатам тонкослойной хроматографии было выявлено, что необходимо произвести очистку продукта от примеси не вступившего в реакцию ибупрофена и оптимизировать метод синтеза для повышения выхода продукта реакции. В связи с тем, что реакцию проводили на холоду, она шла медленно и для данных объектов (ибупрофена и триптофана) времени согласно литературной методике не хватило. Не весь ибупрофен вступил в реакцию, а часть могла уйти при выделении (часть осталась в кислом растворе, в котором мы отфильтровывали). Мы далее планируем варьировать время реакции и проводить аналитический контроль методом ТСХ из реакционной смеси. Чистоту и строение полученного продукта подтверждали методами ТСХ и ИК-спектроскопией.

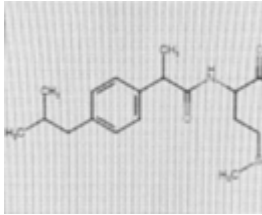
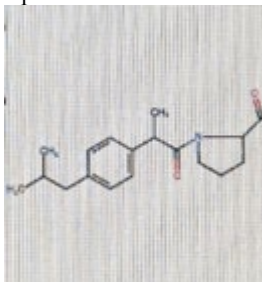
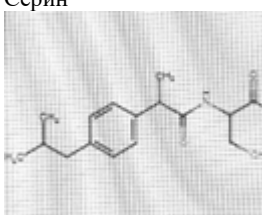
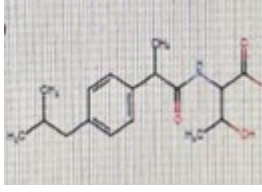
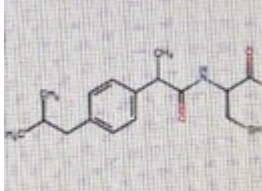
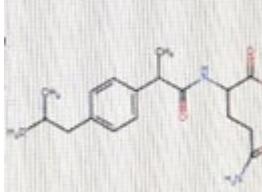
Список литературы

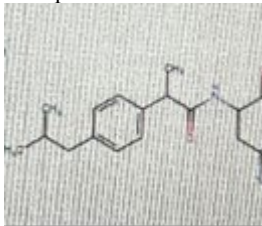
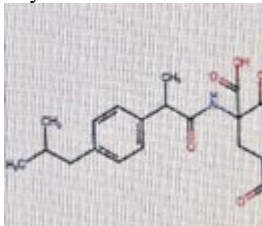
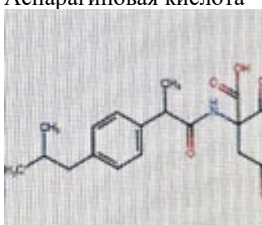
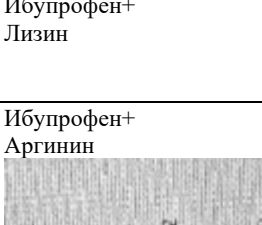
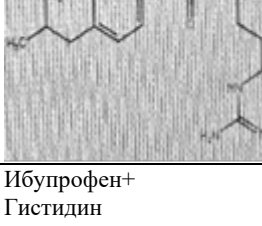
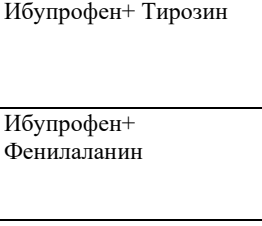
1. Платформа Passonline: way2drug.com/PassOnline/index.php
2. Платформа Gusaronline: way2drug.com/Gusar/acutoxpredict.html
3. Информация об аминокислоте L-триптофан: shop.evalar.ru/encyclopedia/item/l-triptofan/
4. Триптофан и его биологическая роль: gemotest.ru/info/spravochnik/telo-cheloveka/...
5. Инфракрасная спектроскопия: <https://bigenc.ru/c/infrakrasnaia-spektroskopiia-39ae5f>
6. Фармакопейная статья: https://meganorm.ru/mega_doc/norm/gosudarstvennaya-farmakopeya/1/fs_2_1_0100_farmakopeynaya_statya_ibuprofen_utv_i_vvedena_v.html?ysclid=mh3zi6ev4629491862

Приложение

Приложение 1: Результаты скрининга синтезированного соединения по программе PASS:

Формулы	Вероятность противовосп алительной активности (Pa)	Способы введения:				
		1)IP- внутрибрюшин ный LD50(мг/кг)	2)IV- внутривенный LD50(мг/кг)	3)Oral- пероральный LD50(мг/кг)	4)SC- подкожный LD50(мг/кг)	Класс опасности
Ибупрофен 	0,901	657,600	224,100	1082,000	566,400	1) 5 2) 4 3) 4 4) 4
Ибупрофен+ глицин 	0,485	836,000	239,700	2547,000	845,800	1) 5 2) 4 3) 5 4) 4
Ибупрофен+ аланин 	0,436	862,300	237,900	2724,000	1066,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ валин 	0,420	1032,000	244,700	2815,000	1018,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ лейцин 	0,410	1063,000	261,000	2682,000	1233,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Изолейцин 	0,400	1098,000	225,000	3181,000	962,100	1) 5 2) 4 3) 5

						4) 4
Ибупрофен+ Метионин 	0,424	357,900	200,500	1996,000	1171,000	1) 4 2) 4 3) 4 4) 5
Ибупрофен+ Пролин 	0,281	544,500	174,300	1562,000	594,700	1) 5 2) 4 3) 4 4) 4
Ибупрофен+ Серин 	0,480	1460,000	358,400	3291,000	1370,000	1) нетоксичен 2) 5 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Треонин 	0,439	1010,000	261,800	1554,000	1432,000	1) 5 2) 4 3) 4 4) 5
Ибупрофен+ Цистеин 	0,387	628,300	379,000	2240,000	1630,000	1) 5 2) 5 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Глутамин 	0,362	1092,000	361,300	1177,000	1781,000	1) 5 2) 5 3) 4 4) 5

Ибупрофен+ Аспарагин 	0,317	1253,000	384,100	2071,000	1590,000	1) нетоксичен 2) 5 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Глутаминовая кислота 	0,308	724,900	290,400	2340,000	1474,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Аспарагиновая кислота 	0,305	781,300	278,200	2254,000	1204,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Лизин 	0,431	788,800	304,300	2296,000	1669,000	1) 5 2) 5 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Аргинин 	0,351	1060,000	260,000	1628,000	2256,000	1) 5 2) 4 3) 4 4) 5
Ибупрофен+ Гистидин 	0,286	1013,000	155,600	2029,000	1930,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Тирозин 	0,408	863,300	228,900	2345,000	1023,000	1) 5 2) 4 3) 5 4) 5
Ибупрофен+ Фенилаланин 	0,330	1147,000	241,900	1911,000	1166,000	1) 5 2) 4 3) 4 4) 5
Ибупрофен+ Триптофан 	0,265	1054,000	157,700	1955,000	1053,000	1) 5 2) 4 3) 4

						4) 5
--	--	--	--	--	--	------

LD50 (средняя смертельная доза) — средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы. Один из наиболее широко применяемых показателей опасности ядовитых и умеренно-токсичных веществ.

Класс опасности:

- 1 — вещества чрезвычайно опасные;
- 2 — вещества высоко опасные;
- 3 — вещества умеренно опасные;
- 4 — вещества малоопасные;
- 5 — практически неопасные.

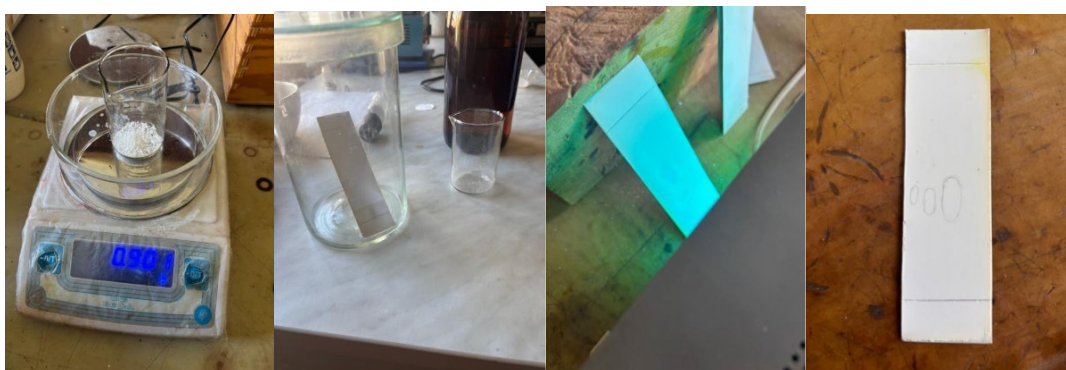
Приложение 2: Выделение из фармацевтической субстанции ибупрофена действующего вещества



Приложение 3: Растворение порошка таблеток ибупрофена в 1% растворе щелочи и выделение активной субстанции действующего вещества ибупрофена методом пересадки на практике.



Приложение 4: ТСХ выделившегося ибупрофена.



Приложение 5: Установка для синтеза N-триптофанного производного ибупрофена



Приложение 6: Расчёт выхода

