

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
Taras Shevchenko National University of Kyiv
Физико-химический институт им. А. В. Богатского Национальной академии наук Украины
A.V. Bogatsky Physico-chemical Institute of NAS of Ukraine
Институт биохимии им. А.В. Палладина Национальной академии наук Украины
O.V. Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine
Институт органической химии Национальной академии наук Украины
Institute of Organic Chemistry National Academy of Sciences of Ukraine
Таврический национальный университет им. В.И. Вернадского
V.I. Vernadsky Taurida National University
Национальный фармацевтический университет
National University of Pharmacy
Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины
Institute of Bioorganic and Oil Chemistry National Academy of Sciences of Ukraine
Украинское биофизическое общество
Ukrainian Biophysical Society
Украинское биохимическое общество
Ukrainian Biochemical Society
Украинское физиологическое общество
Ukrainian Physiological Society

**Научно-практическая конференция
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА:
фундаментальные и прикладные вопросы
получения и применения**

**Новый Свет, Крым, Украина
23–28 мая 2011**

Тезисы докладов

Scientific Conference

**BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES:
Fundamental and Applied Problems**

**Novy Svet, AR Crimea, Ukraine
May 23–28, 2011**

Abstracts

mavis

PUBLISHER
Киев
2011

СИНТЕЗ И АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ АМФИФИЛЬНЫХ КРИПТАНОПОДОБНЫХ И НАНОРАЗМЕРНЫХ УРАЦИЛОФАНОВ

Семенов В.Э., Гиниятуллин Р.Х., Михайлов А.С., Николаев А.Е., Волошина А.Д., Кулик Н.В., Зобов В.В., Резник В.С.

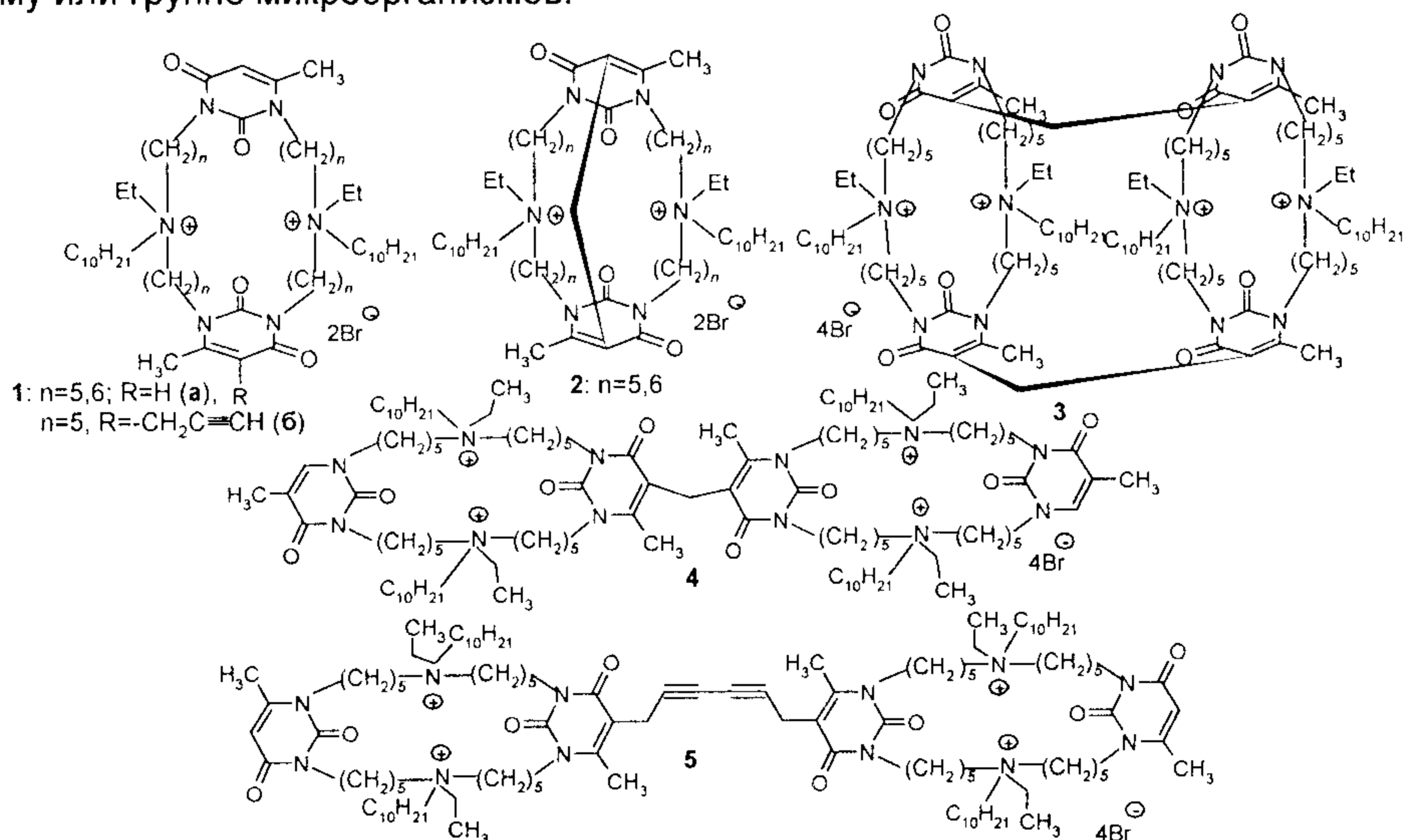
Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова Казанского научного центра РАН, Казань, Россия
e-mail: sve@iopc.ru

Макроциклические соединения, содержащие пиримидиновые фрагменты, соединенные друг с другом углеводородными мостиками, по аналогии с циклофанами получили название пиримидинофаны, и в частности урацилофаны. Нами обнаружена высокая антибактериальная активность амфифильных урацилофанов формулы 1а [1,2]. В данном сообщении описываются синтетические пути для модификации макроциклов 1а,б и антимикробные свойства полученных соединений.

Впервые введением внутримолекулярного метиленового мостика в состав урацилофанов и введением межмолекулярных метиленовых и диинных мостиков между двумя урацилофанами с последующей кватернизацией мостиковых атомов N синтезированы криптандоподобные амфифильные урацилофаны 2 с различной длиной алкильных соединительных цепочек и амфифильные олигомерные наноразмерные урацилофаны циклического – макроцикл 3 и линейного строения – макроциклы 4 и 5. Синтез осуществляли взаимодействием соответствующего урацилофана с формальдегидом и окислительным сочетанием пропаргильных групп при урациловых фрагментах.

Переход от макроциклов 1а к внутримолекулярно ковалентно связанным криптандоподобным амфифильным урацилофанам 2 и амфифильному олигоурацилофану линейного строения 4 с межмолекулярным метиленовым мостиком, соединяющим два «мономерных» урацилофана, сопровождается значительным усилением антимикробной активности по отношению ко всему спектру используемых микроорганизмов – грам-положительным и грам-отрицательным бактериям, грибам. Особо примечательными являются высокая бактериостатическая активность урацилсодержащих криптандов 2 по отношению к *Staphylococcus aureus* (МИК 0.8 мкг/мл) и появление у внутримолекулярно- и межмолекулярно ковалентно связанных урацилофанов 2 и 4 достаточно высокой фунгистатической активности по отношению к дерматофиту *Trichophyton mentagrophytes* (МИК 7.8 мкг/мл) и дрожжевому грибу *Candida Albicans* (МИК 4.0 мкг/мл), отсутствующей у «мономерных» макроциклов 1а. Напротив, наноразмерный олигоурацилофан 5 демонстрирует значительное снижение антимикробной активности по сравнению с «мономерным» макроциклом 1б. Кроме того, уникальным представляется отсутствие антимикробной активности у амфифильного олигоурацилофана циклического строения 3.

Таким образом, установлена зависимость антимикробной активности амфифильных урацилофанов от взаимного расположения и ориентации урациловых фрагментов и мостиковых ониевых группировок, что свидетельствует о специфическом механизме антимикробного действия макроциклов. На основании полученных данных представляется возможным, изменяя топологию урацилофана, вводя определенные заместители в урациловый фрагмент, добиваться заданной активности по отношению к определенному микроорганизму или группе микроорганизмов.



Работа поддержана грантами РФФИ №10-03-00365, МК-64480.2010.3 и программой N9 ОХНМ РАН.

Литература:

1. V. E. Semenov, A. D. Voloshina, E. M. Toroptzova, N. V. Kulik, etc. Eur. J. Med. Chem. 2006, 41, 1093-1101.
2. V. E. Semenov, A. D. Voloshina, N. V. Kulik, S. U. Uraleva, etc. Pharm. Chem. J. 2009, 43, 448-453.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AMPHIPHILIC CRYPTAND-LIKE AND NANOMETRE-SCALE URACILOPHANES

Semenov V.E., Giniyatullin R.Kh., Mikhailov A.S., Nikolaev A.E., Voloshina A.D., Kulik N.V., Zbov V.V., Reznik V.S.

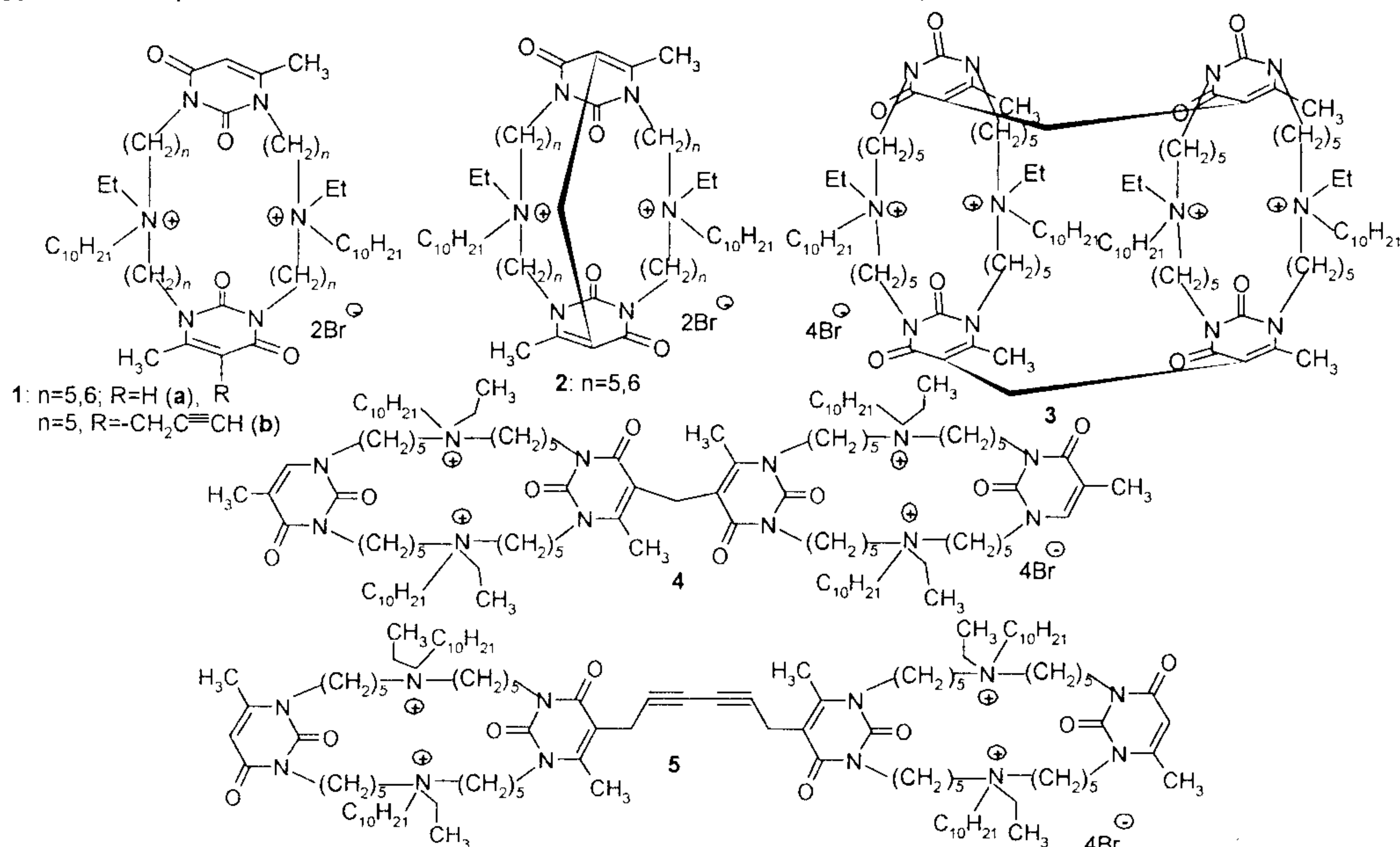
A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia
e-mail: sve@iopc. ru

Molecules with aromatic ring bridged by an aliphatic chain have been called cyclophanes and pyrimidinophanes are the cyclophanes containing pyrimidine bases as the aromatic ring. Uracilophanes are the pyrimidinophanes with uracil moieties as pyrimidine derivatives. Previously high antibacterial activity of amphiphilic uracilophanes with formula **1a** was found [1,2]. Herein, synthetic routes for modification of the macrocycles **1a,b** and antimicrobial properties of obtained compounds are described.

For the first time amphiphilic cryptand-like uracilophanes **2** with different lengths of polymethylene chains and oligomeric nanometre-scale uracilophanes with cyclic (macrocycle **3**) and linear (macrocycles **4** and **5**) topology have been synthesized by successive introduction of intramolecular methylene bridge and intermolecular methylene and diyne bridges, and quaternization of the N atoms in the chains. The synthesis was performed by the reactions of the corresponding uracilophane with formaldehyde and oxidative coupling of the propargyl groups at uracil moieties.

Amphiphilic cryptand-like uracilophanes **2** with intramolecular methylene bridge and linear oligouracilophane **4** with intermolecular methylene spacer, which bridges two "monomeric" uracilophanes exhibit more high activity against all tested representative Gram-negative and Gram-positive bacteria, moulds and yeast compared with the "monomers" **1a**. It is remarkable that amphiphilic cryptand-like uracilophanes **2** exhibit, first, high bacteriostatic activity against *Staphylococcus aureus* with MIC 0.8 µg/mL and, second, high fungistatic activity against dermatophyte *Trichophyton mentagrophytes* and yeast *Candida Albicans* with MIC's 7.8 and 4.0 µg/mL, respectively. It is to note that "monomeric" uracilophanes **1a** are not active against the fungi. Contrary, nanometre-scale uracilophane **5** shows a significant decrease of antimicrobial activity compared with "monomeric" uracilophane **1b**. Meanwhile, in our opinion it is an unique occurrence that amphiphilic oligouracilophane **3** doesn't exhibit any activity with respect to tested bacteria and fungi.

In conclusion, there is the dependence of the antimicrobial activity of amphiphilic uracilophanes on mutual arrangement and orientation of uracil moieties and onium fragments in polymethylene chains. It indicates on specific mechanism of antimicrobial activity of the studied uracilophanes. Based on the reported results it is seemed to be possible to achieve a wanted activity against certain microbe or a series of microbes altering a topology of uracilophanes and nature of substituents at uracil moieties.



This work was supported by the Basic Research Program N 9 of the Russian Academy of Sciences, RFBR grant (10-03-00365) and Russian Federation President Grant for Young Scientists (Project 64480.2010).

References:

1. V. E. Semenov, A. D. Voloshina, E. M. Toroptzova, N. V. Kulik, etc. Eur. J. Med. Chem. 2006, 41, 1093-1101.
2. V. E. Semenov, A. D. Voloshina, N. V. Kulik, S. U. Uraleva, etc. Pharm. Chem. J. 2009, 43, 448-453.

МИАСТЕНИЯ ГРАВИС И ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫЕ ИНГИБИТОРЫ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ

^{1,2}Зобов В.В., ^{1,3}Петров К.А., ^{1,2}Никиташина А.Д., ⁴Рогожин А.А., ³Никольский Е.Е., ¹Резник В.С.

¹Институт органической и физической химии им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, Казань, Россия

²Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

³Казанский институт биохимии и биофизики КазНЦ РАН, Казань, Россия

⁴Казанская государственная медицинская академия, Казань, Россия

e-mail: zobov@iopc.ru

Ранее было показано, что для синапс-специфического ингибирования ацетилхолинэстеразы (АХЭ; К.Ф.3.1.1.7) необходимо наличие в структуре четвертично-аммониевых соединений 2,4-диоксо-фрагмента (урацилового или иного), удаленного на расстояние пяти метиленовых групп от аммониевых групп [1, 2]. Как известно, основной проблемой, ограничивающей использование всех традиционных ингибиторов холинэстераз (ХЭ), является отсутствие избирательности их действия на АХЭ из разных органов и тканей. Вследствие этого, одновременно с воздействием на орган, функционирование которого требует фармакоррекции, происходит инактивация ХЭ и в других органах, коррекции не требующих, что приводит к развитию множества токсических эффектов, связанных с гиперактивацией гладкой мускулатуры, ингибированием бутирилхолинэстеразы крови, фатальными нарушениями работы дыхания, сердца и мозга. Этих недостатков могли бы быть лишены селективные ингибиторы АХЭ, способные избирательно влиять на работу целевых биомишеней (локомоторных мышц или мозга). Однако до настоящего времени соединения с подобными свойствами описаны не были. Предпосылки возможности создания подобных соединений появились при исследовании нами более 300 четвертично-аммониевых производных урацила и ксантина, проявляющих необычно высокую для антихолинэстеразных веществ терапевтическую безопасность $LD_{50}/ED_{50} \geq 50-100$ в тесте «бег на тротуаре» [1]. Было показано, что соотношение констант ингибирования АХЭ/бутирилхолинэстеразы для ряда соединений достигает 100 000 крат [2], а константа ингибирования очищенной АХЭ мозга на 4 порядка выше, чем для АХЭ мышц [3, 4]. С помощью мутантных животных без G₄ изоформы АХЭ показано, что устойчивость к ингибированию коррелирует с присутствием именно данной изоформы АХЭ в мозге и в диафрагме. АХЭ сердца и гладкой мускулатуры также устойчива к ингибированию соединениями [3, 4]. Все это позволило начать проверку эффективности соединений для преодоления последствий экспериментальной модели миастении гравис (Baggi et al., 2003) с использованием электрофизиологических и биохимических методов. Полученные данные показывают, что наилучшие соединения могут быть рекомендованы для клинических испытаний как средства для лечения миастении гравис.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №09-04-12047-офи_м, гранта Президента РФ НШ-64631.2010.7, программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» - «Мозг: фундаментальные и прикладные проблемы», программ фундаментальных исследований РАН ОХНМ-5 и Президиума РАН № 3.

Литература:

1. В.В. Зобов, К.А. Петров, А.А. Аслямова, Л.А. Березинский, В.Д. Акамсин, И.В. Галяметдинова, В.С. Резник. // Избирательная блокада локомоторных мышц урацилсодержащими тетраалкиламмониевыми ингибиторами ацетилхолинэстеразы - Доклады Российской академии наук, 2005, т. 401, N 1, -с. 120-123.
2. К.А. Anikienko, Е.А. Bychikhin, V.S. Reznik, V.D. Akamsin, I.V. Galyametdinova. // Compounds with the dioxopyrimidine cycle inhibit cholinesterases from different groups of animals - Chem. Biol. Interact., 2008, V. 175, N 1-3, p. 286-292.
3. D.V. Abramochkin, K.A. Petrov, V.V. Zobov, L.O. Iagodina, E.E. Nikol'skii, L.V. Rozenshtraukh. // Mechanisms of cardiac muscle insensitivity to a novel acetylcholinesterase inhibitor C-547 - J. Cardiovasc. Pharmacol., 2009, V. 53, N 2, p. 162-166.
4. К.А. Petrov, L.O. Yagodina, G.R. Valeeva, N.I. Lannik, A.D. Nikitashina, A.A. Rizvanov, V.V. Zobov, E.A. Bukharaeva, V.S. Reznik, E.E. Nikolsky, F. Vyskočil. // Different sensitivities of rat skeletal muscles and brain to novel anti-cholinesterase agents, alkylammonium derivatives of 6-methyluracil (ADEMS) - Br. J. Pharmacol., 2011, Jan 14, doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01211.x. [Epub ahead of print].

MYASTHENIA GRAVIS AND TISSUE-SPECIFIC ACETYLCHOLINESTERASE INHIBITORS

^{1,2}Zobov V.V., ^{1,3}Petrov K.A., ^{1,2}Nikitashina A.D., ⁴Rogozhin A.A., ³Nikolsky E.E., ¹Reznik V.S.

¹A.E. Arbuzov Institute of Organic and Physical Chemistry, Kazan Scientific Centre of RAS, Kazan, Russia

²Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

³Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics of RAS, Kazan, Russia

⁴Kazan State Medical Academy, Kazan, Russia

e-mail: zobov@iopc.ru

Earlier it has been shown that for synapse-specific inhibition of acetylcholinesterase (AChE) presence in structure of quarter-ammonium compounds 2,4-dioxo-fragment (uracil or other) remotod by distance of five methylene groups from ammonium groups [1, 2] is necessary. Earlier we have shown a basic possibility of development in a class of quarter-ammonium inhibitors of cholinesterase (ChE), operating by mechanism of synapse-specific inhibition of AChE, with minimum striking effects on the vital functions. As known, the basic problem limiting use of all traditional inhibitors of ChE is absence of selectivity of their action on AChE from different organs and tissues. Therefore, simultaneously with influence on the organ, which functioning demands treatment, there is an inactivation of ChE in other, healthy organs, that leads to set of the toxic effects related with hyperactivation of smooth muscles, inhibition of butyrylcholinesterase of the blood, fatal infringements of breath, heart and brain. These defects could be deprived the selective inhibitors of AChE capable to selectively influence targets (locomotory muscles or brain). However till now compounds with such properties haven't been described. Possibility of creation of suchlike compounds have appeared by our research of more than 300 quarter-ammonium derivatives of uracil and xanthine, showing unusually high for anticholinesterase substances therapeutic safety $LD_{50}/ED_{50} \geq 50-100$ in the test «run on treadmill» [1]. It has been shown that the parity of constants of inhibition AChE/butyrylcholinesterase for a number of compounds is reached to 100 000 times, and an inhibition constant of purified AChE of brain is by 4 order above, than that for AChE of muscles [3, 4]. By means of mutant animals without G4 isoforms of AChE was shown that stability to inhibition correlates with presence of this isoform of AChE in brain and diaphragm. AChE of heart and smooth muscles is also steady against inhibiting compounds [3, 4]. All of this allowed to begin checking of efficiency of compounds to overcome consequences of experimental model of a myasthenia Gravis (Baggi et al., 2003) by means of electrophysiological and biochemical methods. Data obtained shows that the best compounds can be recommended for clinical tests as means for treatment of myasthenia Gravis and myasthenia-like conditions.

The research is supported with grant RFBR No. 09-04-12047-ofi_m, grant of Russian Federation President NSh-64631.2010.7, program of fundamental research of Presidium RAS "Fundamental science for medicine" – "Brain: fundamental and applied problems", programs No 5 of Branch of General and Technical Chemistry and No 3 of Presidium RAS.

References

1. V.V. Zobov, K.A. Petrov, A.A. Asliamova, L.A. Berezinskii, V.D. Akamsin, I.V. Galiametdinova, V.S. Reznik. // Selective blockade of locomotor muscles by uracil-containing tetraalkylammonium acetylcholinesterase inhibitors - Dokl Biol Sci., 2005, V. 401, N 1-3, p. 120-123.
2. K.A. Anikienko, E.A. Bychikhin, V.S. Reznik, V.D. Akamsin, I.V. Galiametdinova. // Compounds with the dioxypyrimidine cycle inhibit cholinesterases from different groups of animals - Chem. Biol. Interact., 2008, V. 175, N 1-3, p. 286-292.
3. D.V. Abramochkin, K.A. Petrov, V.V. Zobov, L.O. Iagodina, E.E. Nikol'skii, L.V. Rozenshtraukh. // Mechanisms of cardiac muscle insensitivity to a novel acetylcholinesterase inhibitor C-547 - J. Cardiovasc. Pharmacol., 2009, V. 53, N 2, p. 162-166.
4. K.A. Petrov, L.O. Yagodina, G.R. Valeeva, N.I. Lannik, A.D. Nikitashina, A.A. Rizvanov, V.V. Zobov, E.A. Bukharaeva, V.S. Reznik, E.E. Nikolsky, F. Vyskočil. // Different sensitivities of rat skeletal muscles and brain to novel anti-cholinesterase agents, alkylammonium derivatives of 6-methyluracil (ADEMS) - Br. J. Pharmacol., 2011, Jan 14, doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01211.x. [Epub ahead of print].