

БИОЛОГИЯ

УДК 547.541.3, 547.542.7

DOI: 10.21779/2542-0321-2021-36-2-100–108

А.Г. Гасанов, И.Г. Аюбов, Г.Э. Гаджиева, Ф.С. Гурбанова

О взаимосвязи энантиомерного состава и биологической активности молекул

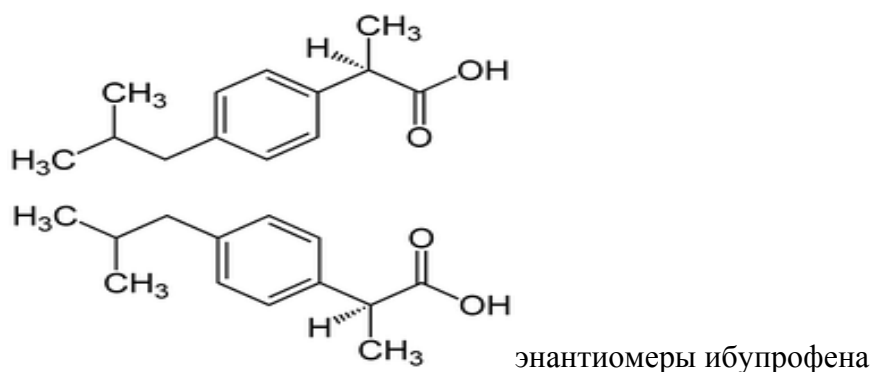
Институт нефтехимических процессов Национальной академии наук Азербайджана; Азербайджан, AZ1025, г. Баку, пр. Ходжалы, 30; ilgar.ayubov@mail.ru

В представленной статье приведены результаты исследований в области изучения взаимосвязи энантиомерного состава молекул органических соединений с их биологически активными свойствами. Показано, что биоактивность соединения, как правило, в ярко выраженной форме свойственна одному из энантиомеров соединения, тогда как другие энантиомеры либо уступают по своей активности, либо вовсе ею не обладают. Показаны результаты собственных исследований авторов, осуществленных на примере моноэфиров норборнендикарбоновой кислоты. Синтез целевых соединений осуществлен на основе реакции Дильса-Альдера с участием циклопентадиена и соответствующих моноэфиров малеиновой кислоты. Синтезированные соединения получены как в рацемической, так и в оптически активной форме. Изучена активность синтезированных рацемических и оптически активных изомеров полученных соединений в отношении различных патогенных микроорганизмов. В качестве питательных сред использовали МПА *pH* 7,2–7,4 для бактерий и среду Сабуро для грибов. Длительность инкубации в термостате для бактерий была 18–24 ч при 37 °С, для грибов – 1–10 дней при 28 °С. Показано, что синтезированные соединения обладают ярко выраженной активностью в отношении грамположительных (золотистый стафилококк), грамотрицательных (кишечная палочка, синегнойная палочка) бактерий, а также дрожжеподобных грибов рода Кандида. Отмечено, что оптически активный энантиомер обладал более высокой антимикробной и антифунгальной активностью в отношении вышеуказанных микроорганизмов по сравнению с контрольными препаратами, широко применяемыми в медицинской практике (этанол, риванол, карболовая кислота, фурацилин, хлорамин). На основании полученных актов испытаний, проведенных на кафедре «Медицинской микробиологии» Азербайджанского государственного университета, синтезированные оптические активные и рацемические соединения были предложены для применения в качестве местных антисептических препаратов.

Ключевые слова: *энантиомеры, хиральность, оптическая активность, моноэфиры норборнендикарбоновой кислоты.*

Под энантиомерами понимают пару стереоизомеров, представляющих собой зеркальные отражения друг друга, не совмещаемые в пространстве. Существование энантиомерных форм связано с наличием у молекулы хиральности – свойства не совпадать в пространстве со своим зеркальным отражением. В ахиральной (симметричной) среде

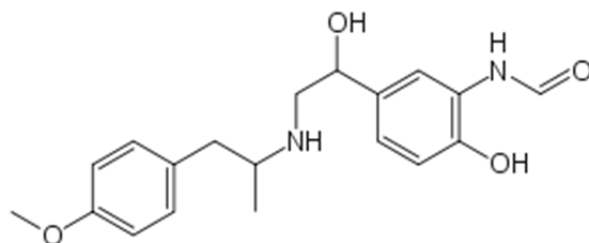
энантиомеры имеют одинаковые химические и физические свойства, кроме способности вращать плоскость поляризации плоскополяризованного света на одинаковую величину угла, но в противоположных направлениях. Данное свойство энантиомеров получило название оптической активности. Большинство хиральных природных соединений (аминокислоты, моносахариды) существует в виде одного энантиомера. Понятие энантиомерии играет важную роль в фармацевтике, поскольку разные энантиомеры лекарственных веществ, как правило, имеют различную биологическую активность. Ярким примером может служить противовоспалительный препарат ибупрофен. Производимый в фармакологии ибупрофен является рацемической смесью. Установлено, что биологической активностью обладает лишь один энантиомер – *(S)*-(+)-ибупрофен, тогда как его оптический антипод *R*-(-)-ибупрофен в организме неактивен. Однако позже было установлено, что в организме человека имеется фермент (изомеразы), способный превращать неактивный *R*-(-)-ибупрофен в активный *S*-(+)-ибупрофен [1].



Энантиомер именуется по направлению, в котором его раствор вращает плоскость поляризации света. Если вращение происходит по часовой стрелке, то такой энантиомер называется (+), или правовращающим. Его оптический антипод именуется (-), или левовращающим. Однако в настоящее время для обозначения энантиомеров используют (*RS*)-номенклатуру, определяемую на основании взаимного расположения четырёх связанных с хиральным атомом углерода заместителей.

Взаимосвязь между хиральностью и биологической активностью приобретает все большее значение в фармацевтической и биофармацевтической областях, о чем свидетельствует растущее число хиральных препаратов, разработанных в течение последних двух десятилетий. В работе [2] рассматривается несколько важных областей разработки и синтеза новых низкомолекулярных хиральных препаратов. Основное внимание уделяется влиянию хиральности в медицинской химии и фармацевтических науках на разработку терапевтических средств для различных молекулярных мишеней. Показано влияние эффектов хиральности на фармакологическую активность, абсорбцию, распределение, метаболизм, выведение и токсичность. В дополнение к хиральности по углероду приводятся примеры хиральных соединений, включающих хиральность по неуглеродным атомам. Также рассматриваются недавние разработки лекарственных средств и продаваемые единичные энантиомеры. Затронуты подходы к получению хиральных соединений с высокой энантиомерной чистотой, включая хроматографическое разделение и энантиоселективный синтез.

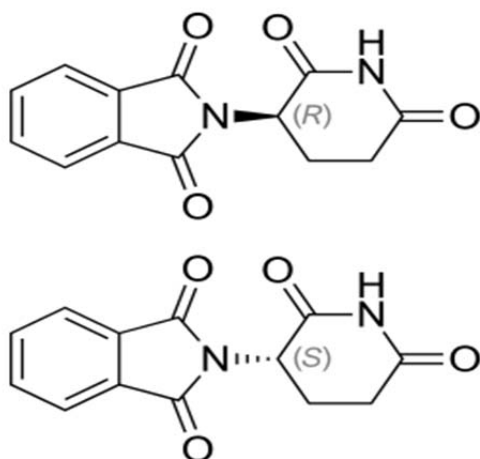
Известно, что энантиомеры хиральных соединений могут сильно различаться по биологической активности, как качественно, так и количественно [3]. Тем не менее, большинство доступных на сегодняшний день фармакологических данных по хиральным лекарственным средствам получены из экспериментов с рацематами, которые предполагают, что биологическая активность обычно проявляется в одном из энантиомеров. Благодаря достижениям стереоспецифического синтеза и стереоселективного анализа лекарств фармакологам теперь предлагаются новые возможности для изучения стереических аспектов действия лекарств. В этой работе авторы оценивают энантиомеры агониста β -2-адренорецепторов формотерола и его диастереомеры. Показано, что (*R*; *R*)-энантиомер оказался наиболее сильнодействующим. Однако относительные эффективности, полученные для (*R*; *S*)-, (*S*; *R*)- и (*S*; *S*)-изомеров, критически зависели от степени энантиомерной чистоты. Сделан вывод о том, что достоверность соотношений эффективности, наблюдаемых для хиральных лекарственных средств, ограничены энантиомерной чистотой и неспецифическими эффектами наименее активного энантиомера при очень высоких концентрациях.



формотерол

Так, в работе [4] отмечается, что молекула, поступающая в организм извне, может образовывать комплекс лиганд-рецептор. При его формировании сообщение передается, например, в определенные ячейки. Таким образом, два энантиомера могут излучать сообщения, которые различаются количественно или качественно. Авторы отмечают, что на этом основывается действие хиральных лекарств, пестицидов и молекул ароматизаторов. В этой работе авторы объясняют механизмы различных типов рецепторно-опосредованного действия энантиомеров.

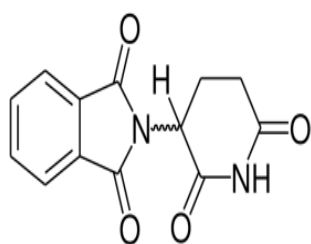
Отмечается, что, несмотря на резко улучшенные терапевтические свойства лекарственных средств с одним энантиомером по сравнению с рацемическими смесями, многочисленные лекарственные средства и лекарственные препараты-кандидаты все еще разрабатываются и продаются в виде рацематов, включая класс иммуномодулирующих лекарственных средств, полученных из талидомида [5]. Хиральный центр этих аналогов талидомида химически нестабилен, что приводит к взаимному превращению энантиомеров как *in vitro*, так и *in vivo*. За счет стабилизации хирального центра дейтерием авторы впервые показали, что противовоспалительное и противоопухолевое действие *in vitro* аналога талидомида, находящегося в настоящее время в клинической разработке (CC-122), обусловлено исключительно одним энантиомером. Авторы отмечают, что полученные результаты позволяют разработать улучшенные аналоги талидомида в качестве терапевтических средств в соответствии с установленными нормативными рекомендациями по разработке отдельных энантиомеров.



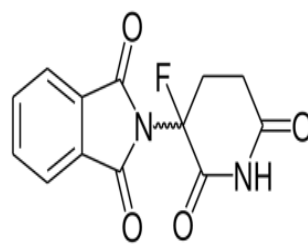
энантиомеры талидомида

Спустя двадцать лет после катастрофы с талидомидом в конце 1950-х годов авторы работы [6] сообщили, что тератогенным является только (*S*)-энантиомер талидомида. Однако энантиомеры талидомида взаимопревращаются *in vivo*, что вызывает вопрос: почему тератогенная активность не наблюдается в экспериментах на животных, в которых используется (*R*)-талидомид при готовой рацемизации *in vivo* («парадокс талидомида»)? Авторы объясняют этот «парадокс талидомида» через *in vivo* самодиспропорционирование энантиомеров. При перемешивании 20 % раствора талидомида с 20 % *e. e.* в растворителе наблюдалось воспроизводимое значительное энантиомерное обогащение раствора до 98 % *e. e.* При этом часть энантиомеров талидомида эпимеризуется *in vivo* с последующим осаждением рацемического талидомида в (*R/S*)-гетеродимерной форме. Таким образом, рацемический талидомид, скорее всего, удаляется из биологических процессов при рацемическом осаждении в (*R/S*)-гетеродимерной форме. С другой стороны, энантиомерно чистый талидомид остается в растворе, что дает наблюдаемые биологические экспериментальные результаты: (*S*)-энантиомер является тератогенным, а (*R*)-энантиомер таковым не является.

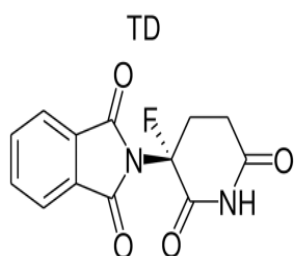
За последние несколько лет талидомид стал одним из наиболее важных противоопухолевых препаратов для лечения рецидивирующей множественной миеломы. Однако, помимо его нежелательного тератогенного побочного эффекта, его конфигурационная нестабильность критически ограничивает любые дальнейшие терапевтические улучшения этого препарата. В начале нового столетия был разработан фтор-талидомид, который представляет собой биоизомер талидомида, но, в отличие от последнего, он является стабильным в конфигурации и легко доступен в обеих энантиомерных формах. Однако биологическая активность фтор-талидомида до сих пор практически не изучена, за исключением того, что фтор-талидомид не является тератогенным. В работе [7] сообщается о первой биологической оценке фтор-талидомида в рацемической и (*R*)- и (*S*)-энантиомерно чистых формах против (*in vitro*) клеток *H929* множественной миеломы (ММ) с использованием анализа аннексина *V*. Показано, что все фтор-талидомиды подавляли рост клеток *H929* ММ без какой-либо активации *in vivo*. Кроме того, энантиомерные формы фтор-талидомида проявляют различную противоопухолевую активность, причем (*S*)-энантиомер заметно более эффективен.



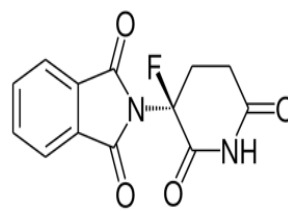
рацемат талидомида



рацемат фторталидомида



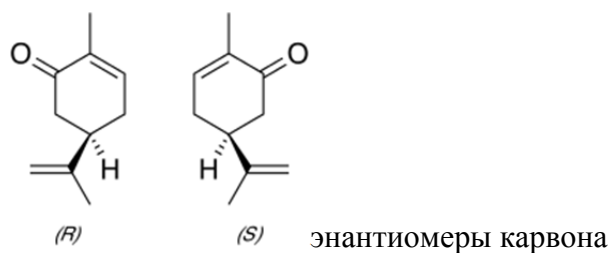
R-фторталидомид



S-фторталидомид

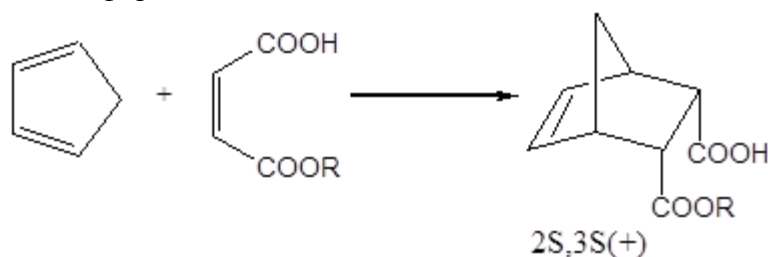
Статины – это препараты, применяемые для лечения гиперхолестеринемии. Стадины имеют два хиральных центра в своих молекулах, поэтому они образуют четыре энантиомера ($3R, 5R$ -, $3R, 5S$ -, $3S, 5R$ - и $3S, 5S$ -). Наиболее часто в клиниках используются следующие энантиомерные формы: $3R, 5R$ -аторвастатин, $3R, 5S$ -розувастатин и $3R, 5S$ -флувастатин. Отдельные энантиомеры одного препарата могут качественно и количественно различаться по своей биологической активности. В некоторых случаях только один энантиомер отвечает за терапевтический эффект, в то время как противоположный энантиомер может быть неактивным или вызывать нежелательные или даже токсические эффекты. Авторы работы [8] исследовали энантиоспецифические взаимодействия четырех энантиомерных форм аторвастатина, розувастатина и флувастатина с основными регуляторами транскрипции ферментов. Показано, что в целом активность чистых энантиомерных форм была выше по сравнению с их соответствующими энантиомерами, которые не используются в терапевтических целях.

В работе [9] сообщается о спазмолитической активности двух энантиомеров – карвона и лимонена, составляющих эфирные масла. Испытанные энантиомеры показали фармакологическую активность в трахее морской свинки и гладкой мускулатуре аорты крысы. Никаких различий в фармакологической кинетике пар энантиомеров не выявлено. Оксигенированные монотерпены (+)-карвон и (-)-карвон были фармакологически более эффективны, чем монотерпены (+)-лимонен и (-)-лимонен. Результаты этого исследования показывают терапевтический потенциал этих соединений, обнаруженных во многих ароматических растениях, для лечения заболеваний дыхательной и сердечнососудистой системы.



В работе [10] определен энантиомерный состав линалоола в 42 эфирных маслах различных растений. Эфирные масла анализировали методом многомерной газовой хроматографии-масс-спектрометрии с использованием нехиральной колонки и комбинации хиральных колонок с модифицированным γ -циклодекстрином в качестве хиральной стационарной фазы без предварительного выделения соединения из смеси. Эфирные масла использовались в качестве исходного материала для энантиомерного разделения линалоола. Показано, что в эфирных маслах (-)-линалоол содержится в большем количестве, чем (+)-линалоол. Кроме того, (-)- и (+)-энантиомеры линалоола оценивали для противомикробного, противогрибкового и противомаларийного действия. Оба энантиомера продемонстрировали примерно 50%-ное ингибирование роста *Botrytis cinerea* в течение 48 часов.

В наших исследованиях [11; 12] были получены оптически активные формы моноэфиров на основе асимметрической реакции Д-А с участием циклопентадиена и соответствующих моноэфиров малеиновой кислоты по схеме:



катализатор* – $AlCl_2OMent$
растворитель – CH_2Cl_2
температура – -40 до $+20$ °C $R = -n-Pr, i-Pr, n-Bu$

В этих работах были подробно описаны методика синтеза моноэфиров норборнендикарбоновой кислоты, условия проведения реакции, а также методика синтеза оптически активных изомеров полученных соединений. Изучена антимикробная и антифунгальная активность рацемической и оптически активной формы полученных соединений в отношении грамположительных (золотистый стафилококк), грамотрицательных (синегнойная палочка, кишечная палочка) бактерий, а также дрожжеподобных грибов рода Кандида. Изучение антимикробной активности вышеуказанных соединений проводилось в сравнении с известными бактерицидными препаратами, широко применяемыми в медицинской практике, такими, как этанол, риванол, фурацилин, карболовая кислота, хлорамин. Антимикробную активность синтезированных веществ изучали дисперсионно-контактным методом, т. е. методом серийных разведений в отношении различных вышеуказанных микроорганизмов.

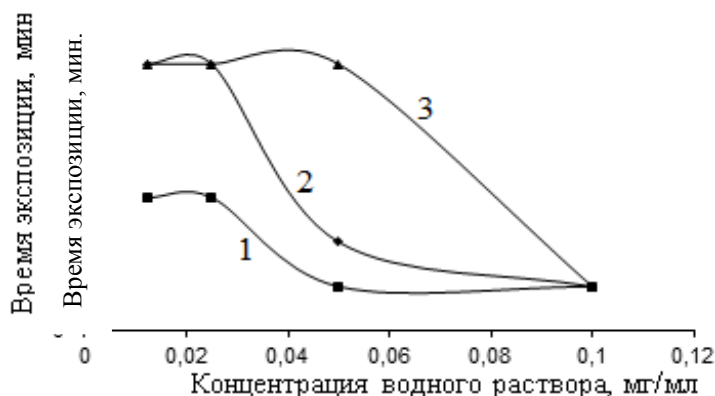


Рис. 1. Сравнение антимикробной активности оптически активного (1) и рацемического (2) *n*-пропилового моноэфира эндиковой кислоты и этилового спирта (3) в отношении золотистого стафилококка

В качестве анализируемых соединений использовали оптически активный 2*S*, 3*S*-(+)-энантиомер *n*-пропилового моноэфира норборнендикарбоновой кислоты, его рацемический аналог и этанол в качестве контрольного препарата. Как видно из рис. 1, при степени разведения 1:100 активности анализируемых соединений и контрольного препарата одинаковы и время экспозиции для всех испытуемых образцов составляет 10 минут. Однако с увеличением степени разведения их активности изменяются неодинаково. Так, для этилового спирта при степенях разведения 1:200, 1:400 и 1:800 время экспозиции достигает часа (60 мин.), для рацемического изомера *n*-пропилового моноэфира оно составляет соответственно 20, 60 и 60 минут, а для оптически активного изомера время экспозиции соответственно равно 10, 30 и 30 минут. Таким образом, отчетливо видно преобладание антимикробной активности в отношении золотистого стафилококка у оптически активного изомера *n*-пропилового моноэфира эндиковой кислоты.

Таким образом, анализ проведенных исследований антимикробной и антифунгальной активности синтезированных рацемического и оптически активного изомеров *n*-пропилового моноэфира эндиковой кислоты, а также контрольного препарата на примере этилового спирта показывает, что синтезированные соединения намного эффективнее, чем этанол и другие контрольные препараты (за исключением хлорамина) в отношении исследованных микроорганизмов и могут быть рекомендованы для применения в качестве местных антисептиков.

Литература

1. Tracy T.S., Hall S.D. Metabolic inversion of (R)-ibuprofen // Drug Metab. Dispos. – 1992. – V. 20, № 2. – Pp. 322–327.
2. Singh J., Hagen T. Chirality and Biological Activity // Chapter in book: Burger's Medicinal Chemistry, Drug Discovery and Development. – 2010. – 321 p.
3. Waldeck B. Biological significance of the enantiomeric purity of drugs // Chirality. – 1993. – V. 5, № 5. – Pp. 350–355.
4. Mannschreck A., Klesswetter R., Angerer E. Unequal Activities of Enantiomers via Biological Receptors: Examples of Chiral Drug, Pesticide, and Fragrance Molecules // Journal of Chemical Education. – 2007. – V. 84, № 12. – Pp. 2012–2018.
5. Jacques V., Czarnik A., Judge T., Lex H. Differentiation of antiinflammatory and antitumorigenic properties of stabilized enantiomers of thalidomide analogs // PNAS. – 2015. – V. 112, № 12. – Pp. 1471–1479.
6. Tokunaga E., Yamamoto T., Ito E., Shibata N. Understanding the Thalidomide Chirality in Biological Processes by the Self-disproportionation of Enantiomers // Scientific Reports. – 2018. – V. 8. – Pp. 17131–17139.
7. Tokunaga E., Akiyama H., Soloshonok V.A., Inoue Y. Biological evaluation of both enantiomers of fluoro-thalidomide using human myeloma cell line H929 and others // PLoS ONE. – 2017. – V. 12, № 8. – Pp. 182–192.
8. Stepankova M., Dvorak Z. Optical isomers of statins enantiospecifically activate pregnane X receptor PXR and induce CYP2A6, CYP2B6 and CYP3A4 in human hepatocytes // Endocrine Abstracts. – 2016. – V. 41. – Pp. 774–779.
9. Sousa D., Mesquita R., Araujo L., Tolentino J. Spasmolytic Activity of Carvone and Limonene Enantiomers // Natural Product Communications. – 2015. – V. 10, № 11. – Pp. 1893–1896.
10. Temel O., Tabanca N., Demirci F., Wedge D. Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential Oils and Their Biological Activities // Rec. Nat. Prod. – 2010. – V. 4, № 4. – Pp. 180–192.
11. Бабаева Р.З., Гасанов А.Г., Мамедбейли Э.Г., Аюбов И.Г. Синтез и применение моноэфиров циклогексен- и бицикло(2.2.1)-гепт-5-ен-2,3-дикарбоновой кислоты // Журнал органической химии. – 2008. – Т. 44, № 12. – С. 1782–1785.
12. Гасанов А.Г., Мамедбейли Э.Г., Аюбов И.Г., Гусейнов Н.С. Диены C₅ фракции пиролиза в термических и каталитических реакциях (4+2)-циклоприсоединения // Нефтехимия. – 2013. – Т. 53, № 1. – С. 58–63.

Поступила в редакцию 8 февраля 2021 г.

UDC 547.541.3, 547.542.7

DOI: 10.21779/2542-0321-2021-36-2-100–108

On the Relationship of Enantiomeric Composition and Biological Activity of Molecules

A.G. Gasanov, I.G. Ayyubov, G.E. Hajiyeva, F.S. Gurbanova

Institute of Petrochemical Processes of National Academy of Sciences of Azerbaijan; Azerbaijan, AZ 1025, Baku, Xodjaly ave., 30; ilgar.ayyubov@mail.ru

This article presents the results of the research in the field of studying the relationship between the enantiomeric composition of molecules of organic compounds with their biologically active properties. It has been shown that the bioactivity of a compound is, as a rule, typically characteristic of one of the enantiomers of the compound, while other enantiomers are either inferior in their activity or do not possess it at all. Shown are the results of the authors' own research carried out using the example of norbornene-dicarboxylic acid monoesters. The synthesis of the target compounds was carried out on the basis of the Diels-Alder reaction with the participation of cyclopentadiene and the corresponding monoesters of maleic acid. The synthesized compounds were obtained in both racemic and optically active forms. The activity of the synthesized racemic and optically active isomers of the obtained compounds against various pathogenic microorganisms was studied. As nutrient media, we used MPA *pH* 7,2–7,4 for bacteria and Sabouraud's medium for fungi. The incubation time in a thermostat for bacteria was 18–24 hours at 37 °C, for fungi 1–10 days at 28 °C. It was shown that the synthesized compounds have a pronounced activity against gram-positive (*Staphylococcus aureus*), gram-negative (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) bacteria, as well as yeast-like fungi of the genus *Candida*. It was noted that the optically active enantiomer had a higher antimicrobial and antifungal activity against the aforementioned microorganisms in comparison with the control preparations widely used in medical practice (ethanol, rivanol, carbolic acid, furacillin, chloramine). Based on the obtained test reports obtained at the Department of "Medical Microbiology" of Azerbaijan State University, synthesized optical active and racemic compounds were proposed for use as local antiseptic preparations.

Keywords: *enantiomers, chirality, optical activity, monoesters of norbornenedicarboxylic acid.*

Received 8 February 2021