

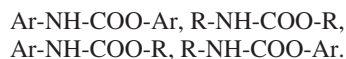
P1 SCREENING POTENCIÁLNÍCH LÉČIV ALZHEIMEROVY CHOROBY

DALIBOR ŠATÍNSKÝ^a, JIŘÍ CABAL^b
a JIŘÍ PATOČKA^b

^aKatedra biologických a biochemických věd, Univerzita Pardubice, nám. Legii 565, 532 10 Pardubice, ^bKatedra toxikologie, Vojenská lékařská akademie, 500 01 Hradec Králové, e-mail: cabal@pmfhk.cz, patocka@pmfhk.cz

Jednou z možností léčby Alzheimerovy choroby je speciální inhibice acetylcholinestasy (AChE)¹. Výběr léčiv pro tento účel je prováděn inhibičním testem s cílovým enzymem.

Na sérii cca 30 látek se strukturou esterů karbamátových kyselin byla ověřována možnost testovat inhibiční účinnost těchto látek butyrylcholinesterasou (BuChE), která je jako preparát cenově dostupnější a enzym s požadovanou čistotou je obsažen v jakémkoliv savčí krvi zbavené makroelementů. Zkoumané karbamáty byly v inhibičním testu s BuChE rozděleny na účinné a neúčinné. Z obou skupin byly vybrány látky pokrývající všechny strukturální typy z původního souboru:



Při následné inhibici AChE vybranými látkami bylo prokázáno, že BUCHÉ je její vhodnou náhradou, protože z původního souboru látek eliminovala většinu inhibičně zcela neúčinných a nevyloučila žádnou AChE inhibující.

Závislost inhibice na struktuře zkoumaných látek potvrdila obecně platná pravidla pro inhibiční účinnost karbamátů². Těm se vymykaly pouze látky s touto strukturou: HO-CH₂-CH₂-NH-COO-Ar, které by měly být účinnými inhibitory, což se však nepotvrdilo.

LITERATURA

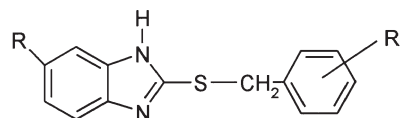
1. Sikora J. et al.: *Biologické podklady psychických poruch*. Golém, Praha 1997.
2. Kuhr R. J., Dorough W.: *Carbamate Insecticide*. CRC Press, West Palm Beach 1979.

P2 SYNTÉZA POTENCIÁLNÍCH ANTITUBERKULOTIK

JAN KOČÍ^a, VĚRA KLIMEŠOVÁ^a
a JARMILA KAUSTOVÁ^b

^aKatedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, e-mail: koci@faf.cuni.cz, ^bNárodní referenční laboratoř pro *Mycobacterium kansasii*, Krajská hygienická stanice, Partyzánské nám. 7, 728 92 Ostrava

Tuberkulóza, která je vyvolána kmeny *Mycobacterium tuberculosis*, je stále jednou ze závažných infekčních chorob. Problém navíc zhoršuje vznik rezistence na používaná léčiva a snížení imunity u některých osob v důsledku výskytu dalších, především virových onemocnění (HIV)^{1,2}. Cílem předložené



R = H, CH₃,
R¹ = H, 4-Cl, 3-Cl, 2-Cl, 4-F, 3-F, 2-F, 4-Br, 3-Br, 4-CH₃, 3-CH₃,
4-OCH₃, 3-OCH₃, 4-NO₂, 3-NO₂, 2-F-6-Cl, 3,4-Cl₂, 3,4-F₂,
3,5-(NO₂)₂, 2,4-(NO₂)₂, 2-F-6-NO₂

práce byla syntéza derivátů benzimidazolů, které byly substituovány benzylsulfanyl skupinou, jenž je pravděpodobně zodpovědná za antimykobakteriální účinek. Antimykobakteriální aktivita připravených sloučenin byla testována *in vitro* na *Mycobacterium tuberculosis* CNCTC My 331/88, *Mycobacterium kansasii* CNCTC My 235/80, *Mycobacterium kansasii* CNCTC My 6509/96 (klinicky izolovaný kmen) a *Mycobacterium avium* CNCTC My 330/88 použitím mikrometody pro stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC). Látky vykazují široké spektrum účinku proti všem testovaným kmenům. Budou diskutovány kvantitativní vztahy struktury a účinku.

R=H, CH₃; R¹ = H, 4-Cl, 3-Cl, 2-Cl, 4-F, 3-F, 2-F, 4-Br, 3-Br, 4-CH₃, 3-CH₃, 4-OCH₃, 3-OCH₃, 4-NO₂, 3-NO₂, 2-F-6-Cl, 3,4-Cl₂, 3,4-F₂, 3,5-(NO₂)₂, 2,4-(NO₂)₂, 2-F-6-NO₂

Práce vznikla za podpory grantové agentury FRVŠ grant č. 1273/99 a GA UK grant č. 21/1999/B CH /FaF.

LITERATURA

1. Sudre P., Dam G., Kochi A.: Bull. WHO 70, 149 (1992).
2. Raviglione M. C., Sundre P., Rider H. L., Spinaci S., Kochi A.: Bull. WHO 71, 297 (1993).

P3 AMINOKYSELINOVÉ DERIVÁTY ISONIAZIDU

RICHARD NAGEL^a, JARMILA VINŠOVÁ^a
a JARMILA KAUSTOVÁ^b

^aKatedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, e-mail: nagel@faf.cuni.cz, vinsova@faf.cuni.cz, ^bKrajská hygienická stanice, Partyzánské nám. 7, 728 92 Ostrava I

V terapii tuberkulózy bylo připraveno mnoho derivátů hydrazidu isonikotinové kyseliny (INH). V našem příspěvku je použit jako modelová látka pro studium uvolňování *N*-koncové aminokyseliny exopeptidasou. Moderní terapie hledá takové formy aplikace účinné látky, při které by léčivo nepoškozovalo zdravé buňky, resp. orgány a působilo by až v místě určení. Na tomto principu jsou založena tzv. proléčiva. U peptidových prekurzorů je v místě působení prekurzor aktivován na vlastní účinnou látku zpravidla enzymatickou cestou. Tuto iniciální reakci obvykle spouštějí specifické exo- či endopeptidasy podle typu koncové aminokyseliny (peptidů)^{1,2}.

V rámci studie byla syntetizována série aminokyselinových (di, popř. tripeptidických) derivátů isoniazidu fragmen-

ovou kondenzací v roztoku. Aminokupiny výchozích aminokyselin byly chráněny benzyloxykarbonylací, karboxylové skupiny esterifikací. Prodlužování peptidového řetězce bylo provedeno step by step kondenzací za použití dicyklohexylkarbodiimidu a katalýzy *N*-ethyl-aminopiperidinu. Dipeptid ester byl alkalicky hydrolyzován a podroben další kondenzaci s *C*-chráněnou aminokyselinou. Cbo-tripeptid, popř. dipeptid (popř. aminokyselina) byl převeden *in situ* na aktivní ester, který poskytl s INH požadovaný derivát. *N*-Chránící skupina byla odstraněna hydrogenolýzou za katalýzy palladia na aktivním uhlí. V některých případech byly konečné produkty izolovány jako krystalické soli (chloridy, citráty).

Vybrané *N*-acylované deriváty INH byly testovány na tuberkulostatickou aktivitu mikrometodou pro stanovení minimální inhibiční koncentrace v Šulově půdě. Výsledky testů budou prezentovány.

Práce byla provedena za finanční podpory grantu GA UK 24/1998/B CH/FAF a GA ČR 203.

LITERATURA

1. Kasafírek E., Rybák M., Krejčí I., Štunc A., Křepela E., Šedo A.: *Life Sci.* 50, 187 (1991).
2. Czech Pat. 280 726, (1996).

P4 SYNTÉZA KRÁTKÝCH DEPSIPEPTIDŮ A JEJICH CYKLIZACE

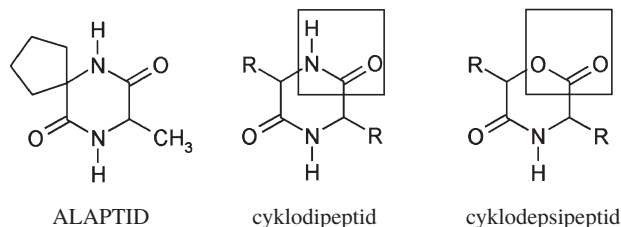
JARMLA VINŠOVÁ a RICHARD NAGEL

Katedra anorganické a organické chemie, Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05, Hradec Králové, e-mail: vinsova@faf.cuni.cz

Většina cyklických depsipeptidů byla izolována z přírodních antibiotik s cílem objasnit jejich aktivní komponentu, popř. připravit synteticky účinný derivát. Např. z kmene *Fusarium*¹ byly izolovány lateritiiny, avanacein, sambucinin, fructigenin, dále je možno jmenovat eniatiny, valinomycin, amidomycin a další². V dnešní době se na depsipeptidy soustřeďuje zájem především jako na biodegradabilní nosiče pro systémy s prodlouženým uvolňováním léčiva^{3,4}.

Snaha o izosterní náhradu jednoho dusíku 2,5-piperazindionového cyklu za kyslík vede k cyklodidepsipeptidům, derivátům 2,5-morfolindionu. Syntéza krátkých depsipeptidových analogů Alaptidu, cyklo(1-amino-1-cyklopentankarbonyl-L-alanyl)⁵ probíhá vzhledem k vysoké reaktivitě esterové (depsipeptidové) vazby problémově⁶.

Byly monitorovány syntézy používané v peptidové chemii



s různými kondenzačními činidly (DCC, CDI, SOCl₂), chránícími skupinami jak na dusíku (Cbo(Z), Boc, FMOC, acetyl), tak na kyslíku (aktivace ONp, ONSu, OpCp). Při odbourání chránících skupin (H₂/Pd za normálního tlaku, zvýšeného tlaku a hledání vhodné délky reakce, kyselé odbourávání – HBr/CH₃COOH, HCl/CH₃COOH, CF₃COOH, bazické – NH₃/CHCl₃, sek. báze) dochází k převažujícímu vzniku vedlejších produktů, resp. výchozích látek s kombinací cyklo-dipeptidů. Z tohoto důvodu jsou hledány další syntetické přístupy cílené k přípravě cyklodidepsipeptidů.

Práce vznikla za finanční podpory grantu GA UK 24/1998/B CH/FAF.

LITERATURA

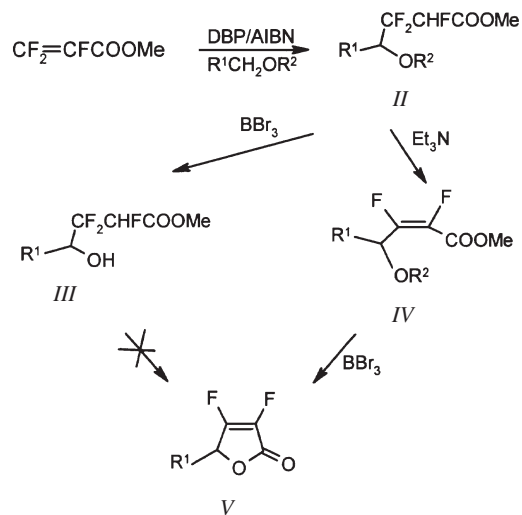
1. Cook A. H., Cox S. F., Farmer T. H.: *J. Chem. Soc.* 1949, 1022.
2. Shemyakin M. M., Ovchinnikov Yu. A., Ivanov V. T. K., Evstratov A. V., Mikhaleva I. I., Rybova I. D.: *Zh. Obshch. Khim.* 42, 2320 (1972).
3. Yoshida M., Asano M., Kumakura M., Katakai R., Mashimo T., Yuasa H., Yamanaka H.: *Eur. Polym. J.* 27, 325 (1991).
4. Jörres V., Keul H., Höcher H.: *Macromol. Chem. Phys.* 199, 835 (1998).
5. Rádl S., Kasafírek E., Krejčí I.: *Drug Fut.* 15, 445 (1990).
6. Vinšová J., Kasafírek E.: *Chem. Listy* 92, 197 (1998).

P5 FLUOROVANÉ BUTANOLIDY A BUTENOLIDY. SYNTÉZA 4-ALKYL-2,3-DIFLUOR-2-BUTEN-4-OLIDŮ

JAN HAJDUCH a OLDŘICH PALETA

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

2-Buten-4-olidový cyklus je součástí velkého počtu biologicky aktivních přírodních látek¹. Zavedením atomu fluoru do struktury se mohou významně modifikovat biologické i chemické vlastnosti těchto látek. Výraznou modifikací vlastností



mohou ilustrovat námi syntetizované 2,3-difluor-4,4-dialkyl-2-buten-4-olidy^{2,3}, které umožnily přípravu analogů některých tříd přírodních látek^{3,4}. Zajímavou reaktivitu lze očekávat u 4-alkyl-2,3-difluor-2-buten-4-olidů V, jejichž syntéza je předmětem této práce.

Prvním stupněm syntézy je radikálová adice příslušného etheru na methyl-2,3,3-trifluorakrylát I. Předpokládaná cyklizace hydroxyesterů III, které se získají štěpením etherové vazby v aduktech II, neprobíhala za různých podmínek, což je v rozporu s Baldwinovými pravidly o cyklizaci hydroxyesterů⁵. Zvolili jsme proto jiný postup, který začíná dehydrofluorací aduktů II na α,β -nenasyčené estery IV (Z/E = 2/1) a pokračuje štěpením etherové vazby, kdy produkty (Z)-izomerů IV spontánně cyklizují na butenolidy V.

Výzkum byl podporován grantem GA ČR č. 203/96/1057.

LITERATURA

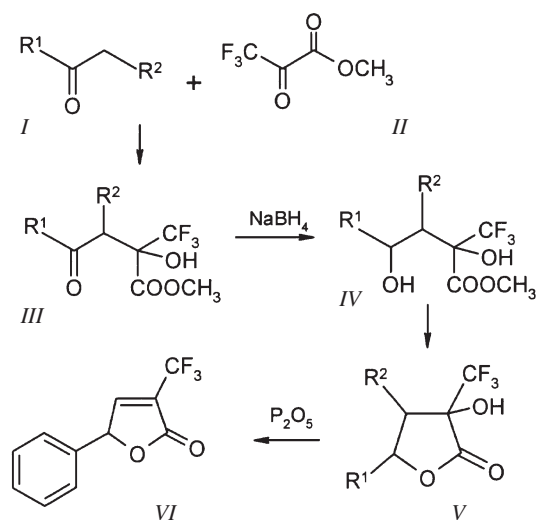
1. Knight D. W.: *Contemp. Org. Synth.* 1, 287 (1994).
2. Paleta O., Pelter A., Kebrle J.: *Tetrahedron Lett.* 35, 9259 (1994).
3. Paleta O., Pelter A., Kebrle J., Duda Z., Hajduch J.: *Tetrahedron*, přijato k tisku.
4. Paleta O., Duda Z., Holý A.: *Chem. Listy* 91, 667 (1997).
5. Baldwin J. E.: *J. Chem. Soc.* 1976, 734.

P6 FLUOROVANÉ BUTANOLIDY A BUTENOLIDY. SYNTÉZA 4-SUBSTITUOVANÝCH 2-TRIFLUORMETHYL-2-BUTEN-4-OLIDŮ

JIŘÍ PALEČEK, BOHUMIL DOLENSKÝ,
JAROSLAV KVIČALA a OLDŘICH PALETA

Ústav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Skupina CF₃ zpravidla výrazně modifikuje chemické vlastnosti a bioaktivitu organických sloučenin. V souvislosti se studiem fluorovaných butenolidů jsme syntetizovali tri-



fluormethylované struktury typu VI. Syntéza je založena na zcela chemoselektivní aldolizační reakci¹ ketonů I s methyl-3,3,3-trifluorpyruvátém (II). Vzniklé aldoly III jsou selektivně redukovány² na γ -hydroxyestery IV, které cyklizují za kyselé katalýzy³ na 2-hydroxybutanolidy V. Velmi obtížná dehydratace poskytla odpovídající butenolidy (např. VI) v nízkém výtěžku.

LITERATURA

1. Golubjev A. S., Galachov M. V., Kolomjec A. F., Fokin A. V.: *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Chim.* 9, 2127 (1989).
2. Gutman A. L., Zuobi R. K., Bravdo T.: *J. Org. Chem.* 55, 3546 (1990).
3. Schultz A. G., Napier J. J., Sundararaman P.: *J. Am. Chem. Soc.* 106, 3590 (1984).

P7 TESTOVÁNÍ TECHNIKY MOLEKULOVÉHO DOKOVÁNÍ PRO CÍLENÝ NÁVRH ENZYMŮVÝCH INHIBITORŮ

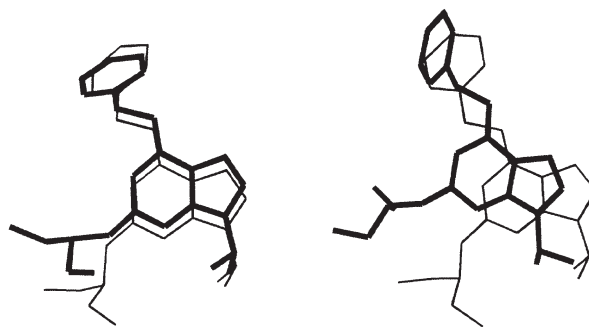
MICHAL OTYEPKA^a, MIROSLAV STRNAD^b
a JAROSLAV KOČA^c

^aKatedra anorganické a fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc, e-mail: otyepka@risc.upol.cz, ^bLaboratoř růstových regulátorů, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, a ÚEB, Šlechtitelů 11, 783 71 Olomouc, ^cLaboratoř struktury a dynamiky biomolekul, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 611 37 Brno

V současné době se intenzivně studují nové možnosti umělé inhibice kontrolních enzymů buněčného cyklu, neboť bylo prokázáno, že látky schopné inhibovat tyto enzymy mohou hrát důležitou roli v chemoterapii nádorových onemocnění. Jako účinné se jeví i purinové deriváty, které inhibují cyklin-dependentní kinasu¹.

Cílem této práce bylo ověřit možnosti jedné z technik molekulového modelování tzv. molekulového dokování² při návrhu nových purinových derivátů s inhibičním účinkem pro enzym CDK2, který kontroluje přechod G1/S a replikaci DNA.

Byly testovány techniky rigidního a flexibilního molekulového dokování.



Obr. 1. Srovnání vypočtené (tučná čára) a RTG (tenká čára) orientace a konformace roscovitinu. Vlevo je struktura vypočtená metodou rigidního a vpravo flexibilního dokování

vého dokování, implementované v programech DOCK 4.0.1 a AutoDock 2.4 na inhibitech: 6-(benzylamino)-2R-[[1-(hydroxymethyl)propyl]amino]-9-isopropylpurin (roscovitín), 6-(benzylamino)-2-[(hydroxyethyl)amino]-9-methylpurin (olomoucín), 6-(3,3-dimethylallylamino)purin (IPA) a 6-[(3-chloro)anilino]-2R-[[1-(hydroxymethyl)-2-(methyl)propyl]amino]-9-isopropylpurin (purvalanol A). Jako testovací kritérium byla zvolena shoda vypočtené orientace a konformace inhibitoru s orientací a konformací stejného inhibitoru v komplexu enzym-inhibitor, zjištěnou RTG analýzou.

Metoda rigidního dokování dokáže velmi dobře vystihnout orientaci inhibitoru v aktivním místě enzymu. RMSD mezi vypočtenou a RTG nalezenou orientací se pohybují od 0,4 do 0,9 Å. Výsledky z programů DOCK a AutoDock se výrazně neliší, přestože pracují na jiných algoritmech. Metoda je tedy použitelná pro predikci orientace nových inhibitorů v aktivním místě. Metoda flexibilního dokování však již neposkytuje tak uspokojivé výsledky. Vypočtené struktury se od RTG struktur liší v orientaci v aktivním místě a zejména v konformaci.

V současné době se soustředíme na hledání vztahu mezi vypočtenou interakční energií enzym-inhibitor a experimentálně změřenou inhibiční aktivitou³.

LITERATURA

1. Veselý J., Havlíček L., Strnad M. a kol.: Eur. J. Biochem. 224, 771 (1994).
2. Lybrand T. P.: Curr. Opin. Struct. Biol. 5, 224 (1995).
3. Otyepka M., Kryštof V., Havlíček L., Siglerová V., Strnad M., Koča J.: odesláno do tisku.

P8 CHEMILUMINISCENCE – METODA VÝBĚRU FOTOSENZIBILIZÁTORŮ PRO PDT?

MARTINA BANCÍŘOVÁ^a, JAN LASOVSKÝ^a
a STEFANO GIROTTI^b

^aCentrum molekulární biologie a medicíny, Katedra anorganické a fyzikální chemie, Univerzita Palackého, tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc, e-mail: bancir@risc.upol.cz, ^bIstituto Scienze Chimiche, Università Bologna, Via San Donato, 15; 40127 Bologna, e-mail: girotti@biocfarm.unibo.it

Obecně můžeme chemiluminiscenční reakce rozdělit na dva základní typy: chemiluminiscenci přímou a senzitivizovanou. Naše předchozí studium senzitivizované chemiluminiscence (ftalhydrazid-xanthenová barviva) v micelárních roztocích (CTAB) prokázalo, že dochází k řádově několiknásobnému zvýšení intenzity¹.

Základem fotodynamické terapie je excitace fotosenzibilizátorů světlem dané vlnové délky za přítomnosti kyslíku, kdy vzniká mimo jiné i singletový kyslík, který napadá buněčné membrány ve svém okolí a způsobuje jejich oxidační destrukci². Bioluminiscenční oxidace luciferinu luciferasou (*Photinus pyralis*) se ukázala být dostatečnou pro aktivaci antivirálních účinků hypericin³.

Nahrazením xanthenových barviv fotosenzibilizátory (hypericin, sulfonované ftalocyaniny) však naopak dochází ke

snížení intenzity, a to v závislosti na typu fotosenzibilizátoru. Tato závislost je v podstatě shodná s fototoxickými účinky fotosenzibilizátorů.

Tato práce vznikla v rámci projektu CMBM UP VS 96 154 za podpory grantu GA ČR 203/98/P257.

LITERATURA

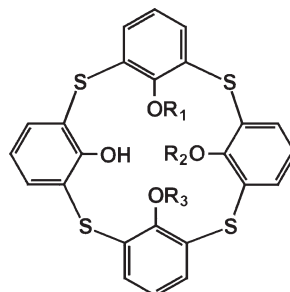
1. Lasovský J., Bancířová M., Hrbáč J., Otyepka M., Rakušan J.: J. Biolumin. Chemilumin. 13, 231 (1998).
2. Mosinger J., Mička Z.: Chem. Listy 88, 212 (1994).
3. Carpenter S. Fehr M. J., Kraus G. A., Petrich J. W.: Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 1227 (1994).

P9 KONFORMAČNÍ ANALÝZA ČÁSTEČNĚ O-PROPYLOVANÝCH THIALIX[4]ARENŮ POMOCÍ NMR SPEKTROSKOPIE

JIŘÍ VLACH^a, HANA DVOŘÁKOVÁ^a, JAN LANG^a,
PAVEL LHOTÁK^b a RICHARD HRABAL^a

^aLaboratoř NMR, ^bÚstav organické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Různým způsobem substituované calix[4]areny¹ nacházejí využití jako důležité stavební kameny v supramolekulární chemii pro své unikátní komplexační vlastnosti. Thiacalix[4]areny byly připraveny v poslední době jako jejich slibná modifikace². Vedle látek uniformně substituovaných na dolním okraji se podařilo připravit též látky substituované jen částečně. Předpokladem pro studium jejich komplexačních vlastností je analýza jejich konformačního chování.



- I R₁, R₂, R₃ = Pr
II R₁, R₃ = Pr, R₂ = H
III R₂ = Pr, R₁, R₃ = H

Tato práce se zabývá studiem konformací částečně O-propylovaných thiacalix[4]arenů I, II, III v roztoku CDCl₃ za laboratorní teploty metodami NMR spektroskopie. Přiřazení signálů bylo provedeno metodami homonukleárními (¹H COSY) i heteronukleárními (¹H, ¹³C-HMQC, ¹H, ¹³C-HMBC). Ke stanovení geometrie těchto molekul byl využit nukleární Overhauserův efekt. Ukázalo se, že stupeň substituce výrazně ovlivňuje konformační chování těchto látek.

LITERATURA

1. Gutsche C. D.: Calixarenes: Monographs in Supramolecular Chemistry (Stoddart J. F., ed.), sv. 1. The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1989.

2. Lhoták P., Himl M., Pakhomova S., Stibor I.: *Tetrahedron Lett.* 39, 8915 (1998).

P10 VYUŽITÍ TANDEMOVÉ HMOTNOSTÍ SPEKTROMETRIE KE STRUKTURNÍ ANALÝZE MEMBRÁNOVÝCH FOSFOLIPIDŮ A JEJICH SEZÓNŇÍCH ZMĚN U RUMĚNICE POSPOLNÉ (*PYRRHOCORIS APTERUS*)

PETRA BERKOVÁ, PETR ŠIMEK a MAGDALENA HODKOVÁ

Laboratoř analytické biochemie a oddělení ekofyziologie, Entomologický ústav, Akademie věd České republiky, 370 05 České Budějovice, e-mail: berkova@entu.cas.cz

Sezónní adaptace hmyzu i jiných organismů závisí na struktuře a funkčních vlastnostech membrán, a ve značné míře na struktuře zastoupených membránových fosfolipidů. V buňkách thorakálních svalů a tukového tělesa představují hlavní membránové složky fosfatidylcholin a fosfatidylethanolamin se zbytky C_{16} a C_{18} mastných kyselin¹.

V příspěvku je prezentován nový přístup ke studiu struktur membránových fosfolipidů metodou elektrosprejové tandemové hmotnostní spektrometrie (ESI-MSⁿ). Pomocí ESI-MSⁿ spekter pozitivních a negativních iontů lze přímo identifikovat jednotlivé třídy lipidů ve vzorku, určit relativní zastoupení jednotlivých sloučenin v každé třídě, délku řetězce a počet dvojných vazeb u acylových zbytků mastných kyselin, včetně určení jejich polohy ve struktuře lipidu. Předností metody je také jednoduchost přípravy vzorku založená na možnosti přímého měření spekter ve vzorcích připravených postupem dle Folcha².

Vypracovaná metoda byla úspěšně použita při studiu sezónních změn v zastoupení membránových fosfolipidů izolovaných z thorakálních svalů a tukového tělesa ruměnice bezkřídlé (*Pyrrhocoris apterus*). V obou orgánech byly zjištěny významné rozdíly ve strukturách alifatických řetězců ethanolaminu a fosfatidylcholinu, v závislosti na fotoperiodě a teplotě zejména v poloze 1 glycerolu.

Tento projekt byl financován GA ČR, grant č. 206/97/0619.

LITERATURA

- Hodková M., Šimek P., Zahradníčková H., Nováková O.: *Insect Biochem. Mol. Biol.* 29, 367 (1999).
- Folch J., Lees M., Stanley G.: *J. Chromatogr. B* 226, 497 (1957).

P11 ŘÍDÍCÍ ROLE SUBSTITUENTU NA C-2 PRO KONFORMACI CYKLICKÝCH DERIVÁTŮ ALDONOVÝCH KYSELIN

KAREL KEFURT^a, MICHAELA HAMERNÍKOVÁ^{a,b}, JAROSLAV HAVLÍČEK^c, ZDEŇKA KEFURTOVÁ^a, HELENA POSPÍŠILOVÁ^a a HANA VOTAVOVÁ^d

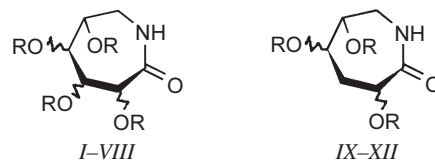
^aÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: karel.kefurt@vscht.cz, ^bKatedra biofyziky a fyzikální chemie, Fakulta farmaceutická, Karlova univerzita, Hradec Králové, ^cÚstav analytické chemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: jaroslav.havlicek@vscht.cz, ^dÚstav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, e-mail: hanka@marilyn.uochb.cas.cz

Na základě ¹H-NMR a CD studií aldonolakтамů a aldonolaktonů byl potvrzen vztah mezi sterickým postavením kyslíkového atomu na C-2 a převládající konformací u látek I–XXVI v roztoku.

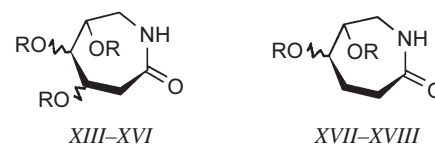
Všechny studované aminodeoxyaldonolakтamy s hydroxylovou nebo acetoxylovou skupinou na C-2, tj. látky typu 1, zaujímaly v roztocích takové konformace, v nichž byla tato skupina v ekvatoriálním, resp. pseudoekvatoriálním postavení. Tento vliv se uplatnil i u takových diastereoizomerů, u nichž byla patřičná konformace „vynucena“ proti stericky nevýhodnému (axiálnímu) postavení ostatních substituentů.

Naproti tomu laktamy typu 2 (bez substituentu na C-2) zaujímaly přednostně konformace v duchu známých pravidel stereochemie, tedy s maximálním počtem ekvatoriálních skupin.

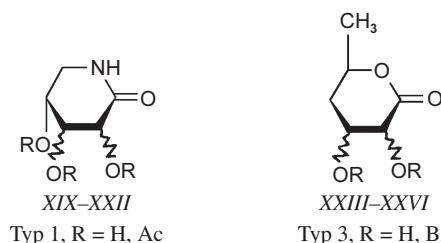
Zjištěná fakta¹⁻⁵ se podobají již dříve poznané⁶ závislosti v řadě 4,6-dideoxyhexonolaktonů XXIII–XXVI (typ 3).



Typ 1, R = H, Ac



Typ 2, R = H, Ac



Typ 1, R = H, Ac

Typ 3, R = H, Bz

Tento výzkum byl zčásti podporován grantem GA ČR č. 203/97/0621.

LITERATURA

1. Hamerníková M.: *Disertační práce*. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 1999.
2. Pospíšilová H.: *Diplomová práce*. Vysoká škola chemicko-technologická, Praha 1999.
3. Havlíček J., Hamerníková M., Kefurt K.: J. Mol. Struct. 482, 311 (1999).
4. Kefurt K., Kefurtová Z., Trška P., Bláha K., Frič I., Jarý J.: Collect. Czech. Chem. Commun. 54, 2156 (1989).
5. Kefurt K., Havlíček J., Hamerníková M., Votavová H.: Collect. Czech. Chem. Commun. 62, 1919 (1997).
6. Kefurt K., Snatzke G., Snatzke F., Trška P., Jarý J.: Collect. Czech. Chem. Commun. 41, 3324 (1976).

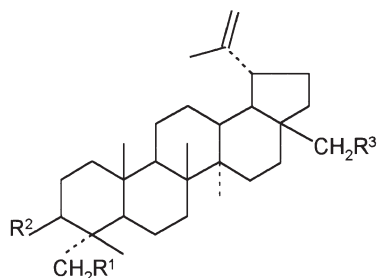
P12 PŘÍPRAVA KYSLÍKATÝCH DERIVÁTŮ LUPANOVÉHO A OLEANANOVÉHO TYPU

VÁCLAV RICHTR^a, JIŘÍ KLINOT^b,
MILAN KRAITR^a a JAN SEJBAL^b

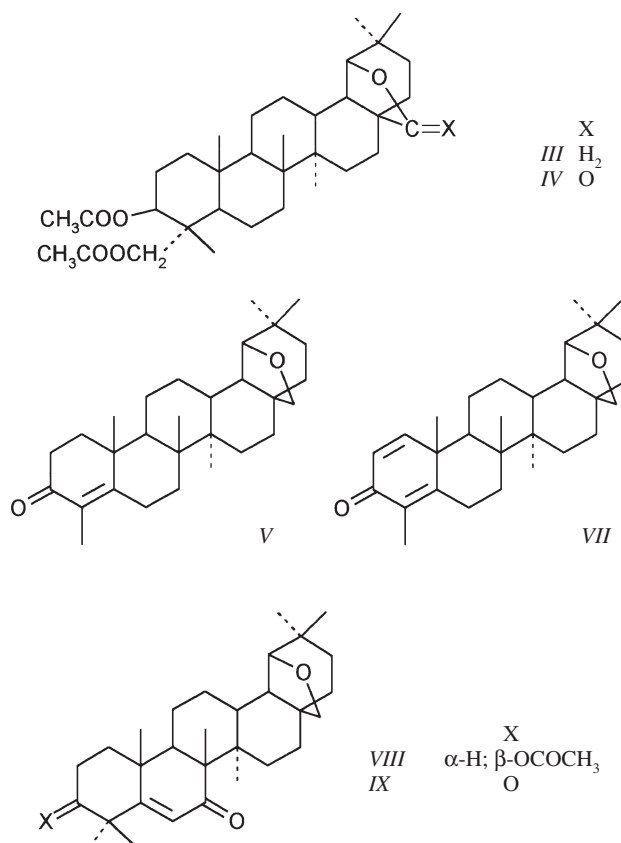
^aKatedra chemie, Pedagogická fakulta, Západočeská univerzita, Veleslavínova 42, 306 19 Plzeň, ^bKatedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha

Již dříve jsme referovali^{1,2} o některých více-
stupňových přeměnách 23-hydroxybetulinu, případně
betulinu, které umožnily zavedení dvojné vazby do
kruhu B triterpenoidního skeletu. Některé z těchto
sloučenin byly nyní využity pro přípravu dalších
kyslíkatých derivátů, včetně sloučenin s dvojnou
vazbou v kruzích A nebo B. Z 23-hydroxybetulinu
(I) byl připraven triacetát II a diacetát III, který
oxidací oxidem chromovým v kyselině octové za
varu poskytuje lakton IV. Z norketonu V získaného
buď z 23-hydroxybetulinu (I) nebo betulinu (VI)
(viz cit.¹) byl reakcí s oxidem seleničitým v
terc.butylalkoholu připraven dienon VII. Šest-
stupňovou přeměnou norketonu V byly získány
nenasycené ketony VIII a IX.

Struktury všech připravených sloučenin byly
potvrzeny infračervenými, hmotnostními a NMR
spektry.



	R ¹	R ²	R ³
I	OH	OH	OH
II	OCOCH ₃	OCOCH ₃	OCOCH ₃
VI	H	OH	OH



Práce byla financována z grantu PF ZČU č. 11074381.

LITERATURA

1. Richt V., Klinot J., Křeček V.: *Sborník abstraktů, Liblice '95*, str. 97. Praha 1995.
2. Richt V., Klinot J., Sejbál J.: Chem. Listy 91, 1020 (1997).

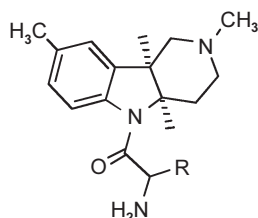
P13 DERIVÁTY γ-KARBOLINU S POTENCIÁLNÍ BIOLOGICKOU AKTIVITOU

ZUZANA PŘIBYLOVÁ a LUDEK BENEŠ

Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1-3, 612 42 Brno, e-mail: Pribylovaz@vfu.cz

Stobadin, (–)-*cis*-2,8-dimethyl-2,3,4,4α,5,9β-hexahydro-γ-karbolin, je znám svými antioxidačními¹, neuroprotektivními², antiarytmickými a kardioprotektivními účinky a také zabraňuje reperfučnímu poškození mukózy žaludku³.

Byly připraveny 5-aminoacylderiváty stobadinu (obr. 1)

Obr. 1. R = H, CH₂CH₂CO₂H, CH₂(CH₂)₂CH₂NH₂

za účelem zjistit, jak tato substituce ovlivní biologickou aktivitu původního skeletu.

Práce byla uskutečněna za podpory grantů IGA VFU č. 31/99 a č. 15/99.

LITERATURA

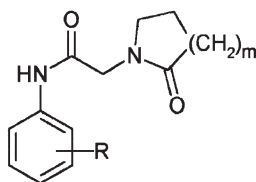
1. Horáková L., Štolc S.: Gen. Pharmacol. 30, 5 (1998).
2. Štolc S., Vlkolinský R., Pavlásek J.: Brain Res. Bull. 42, 5 (1997).
3. Mojžiš M. et al.: Physiol. Res. (Prague) 45, 399 (1996).

P14 SYNTÉZA N-SUBSTITUOVANÝCH ω-LAKTAMŮ JAKO POTENCIÁLNÍCH LÉČIV

OLDŘICH FARSA a LUDĚK BENEŠ

Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1-3, 612 42 Brno, e-mail: farsao@vf.u.cz

Na dusíku substituované ω-laktamy jsou součástí řady v posledních letech preklinicky a klinicky testovaných i v praxi používaných léčiv s účinky zejména v oblasti CNS, a to zejména jako nootropika^{1,2} a antiepileptika^{3,4}, některé sloučeniny vykazují též antiradikálovou aktivitu⁵. V rámci této práce byly připraveny různé deriváty 2-[2-oxo-1-(1-azacykloalkyl)]acetanilidu, lišící se vzájemně druhem (alkyl, alkoxy) a polohou substituentu na benzenovém jádře a velikostí laktamového kruhu (5–7 atomů).



$$R = C_nH_{2n+1}, C_nH_{2n+1}O; n = 1-7, m = 1-3$$

Vlastní syntéza byla realizována převážně přípravou na jádře substituovaného 2-halogenacetanilidu, kterým pak byl alkylován příslušný ω-laktam ve formě soli alkalického kovu⁶. Produkty byly testovány *in vitro* na antiradikálovou aktivitu a počítá se i se stanovením jejich účinnosti jako nootropik, případně antikonvulziv.

Práce byla uskutečněna s podporou grantu IGA VFU č. 15/99/FaF.

LITERATURA

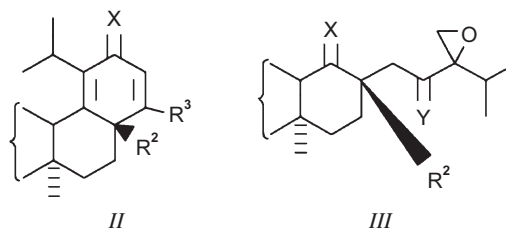
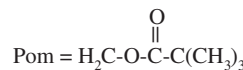
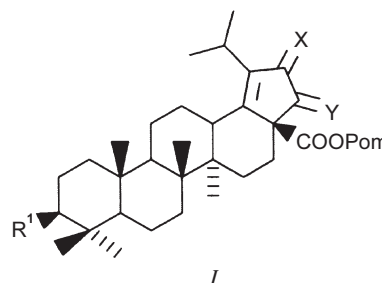
1. Dent G. W. et al.: Brain Res. 620, 7, (1993).
2. Endo H. et al.: Behav. Brain Res. 83, 234 (1997).
3. Nakamura J. et al.: J. Pharmacobiodyn. 14, 1 (1991).
4. Sasaki et al.: J. Med. Chem. 34, 628 (1991).
5. Himori N., Suzuki T., Ueno K.: J. Pharm. Pharmacol. 47, 253 (1995).
6. Johnstone R. A. W., Rose M. E.: Tetrahedron 35, 2169 (1979).

P15 REAKCE KETODERIVÁTŮ LUPANOVÉ A E-SEKOLUPANOVÉ ŘADY

JAN ŠAREK, JIŘÍ KLINOT a IVA TIŠLEROVÁ

Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
e-mail: sarek@natur.cuni.cz.

V souvislosti s cytotoxickou aktivitou některých lupanových triterpenoidů byly v této práci syntetizovány pivaloyloxymethyl (Pom) estery typu I z dříve¹ připravených ketokyselin. Pom-estery jsou, na rozdíl od běžných alkylesterů, ve fyziologickém prostředí snadno hydrolyzovatelné nespecifickými enzymy², což má pro cytotoxickou aktivitu značný význam. Jak bylo dále zjištěno, jeví Pom-esterová skupina značnou stabilitu vůči silným oxidačním činidlům (např. oxid seleničitý nebo kyselina peroxyoctová) a kyselému prostředí. Tyto vlastnosti, spolu s jejich relativně snadnou přípravou³ a popisovanou mírnou deprotekcí², je předurčují k použití jako chránící skupiny.



X, Y, R¹, R² = kyslíkaté funkční skupiny

Dále byly studovány produkty reakce 18-lupenových a 18,19-sekolupanových α -diketonů, které byly připraveny dříve několikastupňovými postupy^{1,4} z 21-oxolup-18-en-3 β ,28-diol-diacetatu, s diazomethanem. Takto byly získány E-homonoethery a homoepoxydy obecných vzorců *II* a *III*. Některé z připravených sloučenin prokázaly při *in vitro* cytotoxických testech zajímavé výsledky.

Práce byla financována z grantů GA UK č. 240/1999 a 190/1997.

LITERATURA

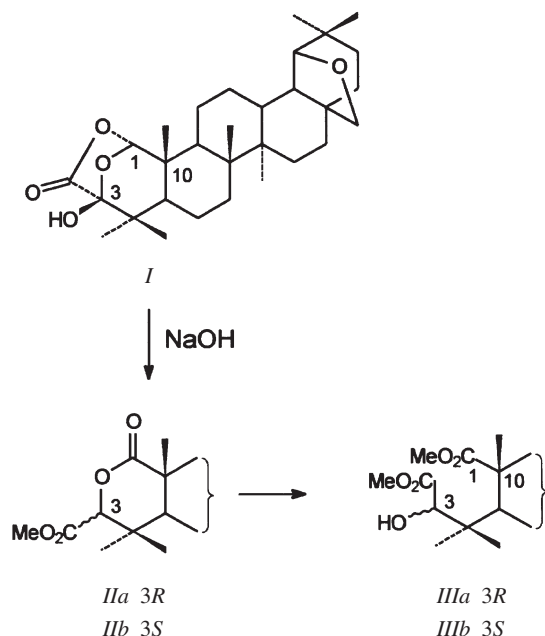
1. Šarek J., Tišlerová I., Klinot J., Sejbál J.: Chem. Listy 92, 964 (1998).
2. Mata E. G., Mascaretti O. A.: Tetrahedron Lett. 29, 6893 (1988).
3. Setti E. L., Mascaretti O. A.: J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 1988, 2059.
4. Šarek J., Tišlerová I., Rejzek M., Klinotová E., Klinot J.: Sborník abstraktů, Liblice '96, str. 105. Praha 1996.

P16 NMR STUDIE TRITERPENOIDNÍCH 1,2-SEKODERIVÁTŮ

JAN SEJBÁL, IVA TIŠLEROVÁ a VÁCLAV KŘEČEK

Katedra organické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2
e-mail: sejbál@prfdec.natur.cuni.cz

Působením oxidu chromového na triterpenoidní 3-oxoderivát allobetulon vzniká 1,2-sekoderivát *I*. Ten přechází při



alkalické hydrolyze (zpracováno v silně kyselém prostředí) následované reakcí s diazomethanem na směs obou stereoisomerů sloučeniny *II*. Hydroxydimethylestery *IIIa*, *IIIb* byly připraveny alkalickým otevřením laktonických kruhů, neutralizací slabou kyselinou a následnou methylací diazomethanem z příslušných laktonmethylesterů *IIa*, *IIb*.

U všech sloučenin byly pomocí standardních NMR technik (^1H , ^{13}C , DEPT, COSY, NOESY, gHSQC, gHMBC) přiřazeny všechny signály v ^1H a ^{13}C NMR spektrech a byla určena konfigurace v poloze 3. Zajímavé chování z hlediska NMR vykazují oba izomery hydroxydimethylesteru *III*, u kterých byla pozorována přítomnost pomalu interkonvertujících konformerů. Kombinací podrobné analýzy naměřených NMR dat (EXSY, teplotní závislosti -25°C až $+95^\circ\text{C}$) s molekulárním modelováním byly získány informace o hlavních energetických minimech a rodinách konformerů u sloučenin *IIIa* i *IIIb*. Nejvyšší energetická bariéra byla nalezena pro rotaci vazby C(1)-C(10).

Tato práce byla financována z grantu GA UK č. 190/1997 a za přispění MŠMT, projekty č. VS 96140 a LB 98233.

P17 BIS-STEROIDNÍ PYRAZINY, JEJICH VLASTNOSTI A REAKTIVITA

IVAN ČERNÝ, VLADIMÍR POUZAR a PAVEL DRAŠAR

Ústav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6
e-mail: cerny@uochb.cas.cz

Byly připraveny pyrazino-bis-steroidy kondenzované přes kruhy A nebo D a byly studovány jejich reakce s ohledem na přípravu výše kondenzovaných systémů (tris či tetrakis pyrazino-steroidy). Vzhledem k reaktivitě pyrazinového jádra nelze pro další prodlužování použít stejný postup, který slouží pro jejich přípravu. Výběr dalších možných metod je velmi omezen díky malé rozpustnosti těchto látek v organických rozpouštědlech. Zvýšení rozpustnosti nebylo dosaženo ani při silylaci (TBDMS) přítomných hydroxylových skupin. Pro zavedení dusíkatého substituentu byla použita nitrosace amyl-nitritem¹. Tato reakce je v případě A kruhu (D-bis) neselektivní, v případě D kruhu (A-bis) zase vznikají produkty s velmi omezenou rozpustností v organických rozpouštědlech.

Práce je podporována grantem GA ČR č. 203/97/0695.

LITERATURA

1. Smith H. E., Hicks A. A.: J. Org. Chem. 36, 3659 (1971).

P18 MOLEKULÁRNÍ MODELOVÁNÍ STEROIDNÍCH PORFYRINŮ A CALIX[n]PYRROLŮ A PREDIKCE JEJICH SPEKTER

PAVEL DRAŠAR^a, MIKHAILO DUKH^b,
MAREK URBANSKÝ^a, IVAN ČERNÝ^a,
VLADIMÍR POUZAR^a a VLADIMÍR M. KRÁL^b

^aÚstav organické chemie a biochemie, Akademie věd České republiky, Flemingovo nám. 2, 166 10 Praha 6, e-mail: drasar@uochb.cas.cz, ^bVysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Příprava calix[n]pyrrolů a porfyrinů substituovaných v polohách *meso* steroidními substituenty¹ provedená v návaznosti na srovnání reaktivity různých steroidních karbonylových sloučenin² umožnila zahájení studia fyzikálně-chemických vlastností této nové skupiny sloučenin, u nichž se předpokládá významná komplexující aktivita³.

Výpočty pomocí databázového algoritmu ACD byla navržena ¹H NMR spektra, která byla v dobré shodě se spektry naměřenými i přesto, že podobné sloučeniny nemohly být v databázi ACD obsaženy. Řešení možného prostorového uspořádání a prostorových vlastností bylo prováděno molekulárním modelováním, v prvním přiblížení metodou MM2 z balíku CS-Chem3D. Zatímco *meso*-substituované calix[4]pyrroly tvoří trubcovité molekuly porfyriny, ve shodě s očekáváním, ploché hvězdice. U obou je předpokládá významná možnost sebeskladby do supramolekulárních struktur mj. i vzhledem k tomu, že rotační bariéra steroidního substituentu leží významně pod 0,1 kcal.mol⁻¹ [<400 J.mol⁻¹]. Vzhledem k tomu byly navrženy možné samoskladebné supramolekuly.

Práce je podporována grantem GA ČR č. 203/97/0695.

LITERATURA

1. Dukh M., Černý I., Urbanský M., Pouzar V., Král V. M., Drašar P.: Příhláška vynálezu PV 3098-99 (31/8 1999).
2. Dukh M., Král V. M., Černý I., Pouzar V., Urbanský M., Drašar P.: *Sborník abstraktů Liblice '98*, poster č. P27. Praha 1998.
3. Sessler J. L., Gale P. A., Genge J. W.: *Chem. Eur. J.* 4, 1095 (1998).

P19 NOVÉ PŘÍSTUPY KE STANOVENÍ ANTIRADIKÁLOVÉ AKTIVITY

JOSEF DOVOLIL^a, LUDEK BENEŠ^{a*},
LADISLAV DEDÍK^b a MÁRIA ĎURIŠOVÁ^c

^aÚstav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1-3, Brno 612 42, e-mail: ludekbenes@post.cz, ^bKatedra automatizace a merania, Strojnická fakulta, Slovenská technická univerzita, Bratislava, ^cÚstav experimentálnej farmakológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

V rámci studia látek s potenciálními antioxidačními a scavengerovými účinky byla vypracována originální metoda pro

stanovení antiradikálové aktivity těchto látek vůči hydroxylovému radikálu. Metoda je založena na změně struktury vhodného barviva, a tím i jeho absorpce v oblasti ultrafialového a viditelného spektra po ataku hydroxylovým radikálem. Hydroxylové radikály byly generovány ve vodném prostředí systémem Fe²⁺-EDTA-H₂O₂-askorbát. Za přítomnosti vychytávače hydroxylových radikálů potom dochází ke kompetici o [•]OH mezi molekulami barviva a vychytávače, což se projeví snížením intenzity změn absorpce barviva. Tento pokles je potom mírou účinnosti scavengeru [•]OH.

Pro ověření chování vybraného barviva byly v uvedeném systému použity látky s dříve zjištěným účinkem na hydroxylové radikály (stobadin, kyselina askorbová, BM 23.0339, manitol, kreatinin fosfát) při použití deoxyribosové metody¹.

Z experimentálních výsledků vyplývá, že z jedenácti použitých indikátorových barviv se některé vyznačují zřetelnou interakcí s hydroxylovým radikálem. Signifikantní změny byly však zjištěny pouze u jednoho z použitých barviv, což je předpokladem pro využití originální metody v modelových pokusech na stanovení aktivity látek vůči [•]OH v podmínkách *in vitro*.

LITERATURA

1. Halliwell B., Gutteridge J. M. C., Aruoma O. I.: *Arch. Biochem.* 165, 215 (1987).

P20 STUDIUM MECHANISMU DIALKOXYKARBONYLACE FENYLGUANIDINŮ POMOCÍ KVANTOVÉ MECHANIKY

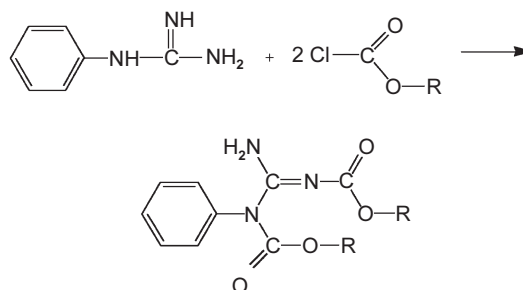
K. PALÁT

Farmaceutická fakulta, Univerzita Karlova, Heyrovského 1203, 500 05 Hradec Králové, e-mail: palat@faf.cuni.cz

Při reakci fenyloguanidinů s alkylchlorformiáty v slabě alkalickém prostředí vzniká v dobrém výtěžku^{1,2} odpovídající 1,2-disubstituovaný derivát – dialkyl-(1-fenyl-1,2-guandindikarboxylat).

Při studiu této elektrofilní substituce se nepodařilo připravit monosubstituovaný derivát ani nebyl pozorován vznik jiných polohových izomerů.

Cílem práce bylo objasnit průběh této reakce za použití kvantové mechanických výpočtů – pomocí vypočítaného rozložení nábojů na guanidinové skupině, lokalizace nejvyššího obsazeného molekulového orbitalu (HOMO) a energie mezi-produktů vznikajících v průběhu reakce.



Práce vznikla za podpory výzkumným záměrem UK CEZ J 13/98:11600001.

LITERATURA

1. Lyčka A., Palát K. jr.: Collect. Czech. Chem. Commun. 56, 1505 (1991).
2. Palát K. jr., Čeladník M., Daněk J., Varkonda Š.: Collect. Czech. Chem. Commun. 57, 1127 (1992).

P21 SYNTÉZA NOVÉ SKUPINY DERIVÁTŮ PYRAZOLO[4,3-*d*]PYRIMIDINU

LIBOR HAVLÍČEK^a a DANIELA MORAVCOVÁ^b

^aÚstav nukleární medicíny, 1. Lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Kateřinská 32, 122 08 Praha 2, ^bÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 128 66 Praha 6, e-mail: Moravcovad@seznam.cz

Velký zájem o syntézu pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinového skeletu a biologické účinky jeho derivátů vzbudil v šedesátých letech objev C-nukleosidových antibiotik¹, která inhibovala růst krysích nádorových buněk.

U skupiny 7-alkyl- a 7-alkyl-3-methylsubstituovaných derivátů pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinu byla prokázána anticytokininová aktivita². Anticytokininy představují účinný nástroj ke sledování mechanismu působení cytokininů, což je samostatná skupina rostlinných hormonů, která se vyznačuje stimulačním působením na buněčné dělení. Naše práce se zabývá syntézou nové skupiny pyrazolo[4,3-*d*]pyrimidinových derivátů s potenciální anticytokininovou aktivitou. Látky jsou substituovány v poloze 3 isopropylem a v poloze 7 alkylaminoskupinou. Klíčovým meziproduktem pro celou skupinu disubstituovaných derivátů je 5-isopropyl-4-nitropyrazol-3-karboxylová kyselina³.

LITERATURA

1. Bobek M., Farkaš J., Šorm F.: Tetrahedron Lett. 23, 4611 (1970).
2. Robins R. K., Holum L. B., Furcht F. W.: J. Org. Chem. 21, 833 (1956).
3. Baraldi P. G. et al: Il Farmaco 46, 1337 (1991); Chem. Abstr. 112, 95335 (1990).

P22 SYNTÉZA 2,6,8,9-TETRASUBSTITUOVANÝCH PURINŮ

JAN HANUŠ^a a JIŘÍ MORAVEC^b

^aIzotopová laboratoř, ÚEB, Akademie věd České republiky, Videňská 1083, 142 00 Praha 4, ^bÚstav chemie přírodních látek, Vysoká škola chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6, e-mail: Jirka_Moravec@seznam.cz

2,6,9-Trisubstituované puriny¹ působí jako účinné inhibitory cyklin-dependentních kinas (CDK), enzymů, které hrají rozhodující úlohu při dělení eukaryontních buněk.

V *in vitro* testech na vybraných tkáňových kulturách bylo u řady 2,6,9-trisubstituovaných purinů zjištěno snížení inhibiční účinnosti ve srovnání s enzymatickým (kinázovým) testem. Tyto rozdíly jsou pravděpodobně způsobeny odbouráním trisubstituovaných purinů metabolickými pochody a problémy s jejich rozpustností a transportem do buňky. Řešením druhého problému se zabývá naše práce. Zavedením polárního substituentu do polohy 8 purinového skeletu jsme sledovali zvýšení rozpustnosti připravených 2,6,8,9-tetrasubstituovaných derivátů purinu při zachování nebo i zvýšení inhibiční aktivity.

Jako prekurzorů k syntéze 2,6,8,9-tetrasubstituovaných purinů bylo použito 2,6,9-trisubstituovaných purinů. Reakcí s bromem v chloroformu jsme připravili jejich 8-brom deriváty², které následující nukleofilní substitucí poskytly cílové sloučeniny. Uvedená metoda je vhodná k přípravě většího množství různých 2,6,8,9-tetrasubstituovaných purinů.

LITERATURA

1. Havlíček L., Hanuš J., Veselý J., Leclerc S., Meijer L., Shaw G., Strnad M.: J. Med. Chem. 40, 408 (1997).
2. Cassidy F., Olsen R. K., Robins R. K.: J. Heterocycl. Chem. 5, 461 (1968).

P23 CHEMOPROTEKTIVNÍ AKTIVITA CHALKONŮ

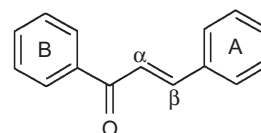
**RENATA KUBÍNOVÁ^a, DAGMAR VESELÁ^a,
KAMILA LUNEROVÁ^a, LUKÁŠ KRÁLÍK^b
a VÁCLAV SUCHÝ^a**

^aÚstav přírodních léčiv, Farmaceutická fakulta, Veterinární a farmaceutická univerzita, Palackého 1-3, 612 42 Brno, ^bÚstav pro expertízy a řešení mimořádných situací, Hvězdoslava 29, 627 00 Brno

Chalkony jsou přírodní látky, které se v rostlinách vyskytují jako prekurzory flavonoidů. Farmakologicky významné chalkony byly izolovány z celé řady rostlinných druhů, např. *Glycyrrhiza glabra*, *Myrica gale*, *Dracaena cinnabari* a *Caesalpinia pulcherrima*. U některých z nich byla prokázána protizánětlivá, antialergická, protinádorová a antioxidační aktivita.

Předložená práce se zabývá komplexním studiem vztahů struktury různě substituovaných chalkonů a jejich chemoprotektivních účinků, mezi které zahrnujeme jednak antioxidační aktivitu, ale také inhibici bioaktivního izoenzymu cytochromu P4501A1 (EROD).

Bylo testováno 12 chalkonů, které byly získány jednak izolací z *Dracaena cinnabari* a jednak syntézou. Izolace se prováděly pomocí sloupcové chromatografie na silikagelu a polyamidu a pomocí semipreparativní separace na HPLC. Synteticky byly chalkony připraveny kondenzací vhodně sub-



stituovaných acetofenonů s aromatickými aldehydy. Testování inhibice lipoperoxidace se provádělo spektrofotometricky metodou kyseliny thiobarbiturové. EROD aktivita a její modulace testovanými látkami byla měřena přímou fluorimetrickou metodou za použití ethoxyresorufinu. Z výsledků vyplývá, že pro chemoprotektivní aktivitu chalkonů je rozhodující dvojná vazba α,β a charakter a lokalizace substituentů na kruhu A.

Finanční podporu poskytla IGA MZ, grant č. 997/1999.

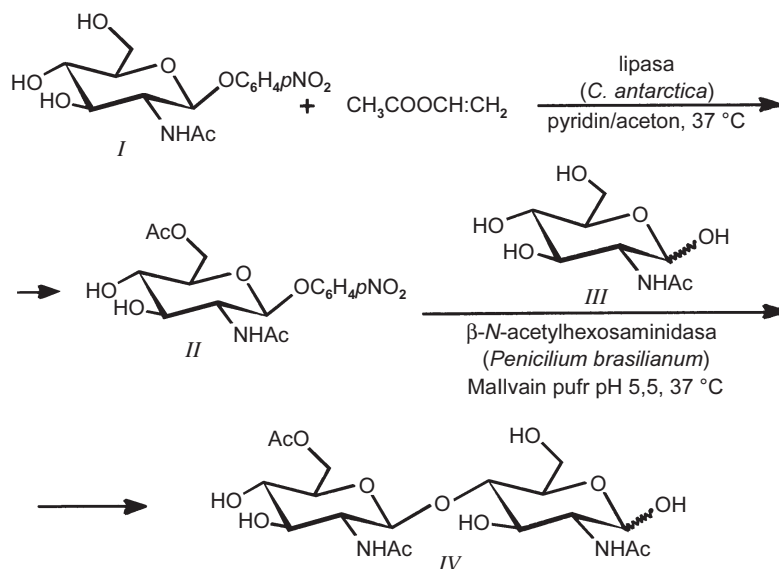
P24 ENZYMOVÝ PŘENOS 6-ACYLOVANÉHO GLYKOSYLU

**LUCIE HUŠÁKOVÁ^a, JANA DVOŘÁKOVÁ^{a*},
SERGIO RIVA^b, ZDENKA HUŇKOVÁ^a
a VLADIMÍR KŘEN^a**

^aLaboratoř biotransformací, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, Česká republika, e-mail: dvorjana@biomed.cas.cz, ^bCNR, Ist. di Biocatalisi e Riconoscimento Molecolare, Via Mario Bionco, 9, 20133 Milano, Itálie

Glykosidy, které jsou důležité informační mediátory v imunitních reakcích, jsou předmětem zájmu glykobiologie a též farmakologie. Studie závislosti funkce sacharidů na jejich struktuře vyžadují stále nové, modifikované glykosidy s velkou strukturní diversitou.

Derivát chitobiosy IV byl připraven enzymovou transglykosylací 6-O-acetyl-GlcNAc z II na III za katalýzy β -N-acetylhexosaminidasou z *Penicillium brasilianum*. Modifikovaný donor glykosylu II byl připraven enzymovou acetylací I, katalyzovanou lipasou (*Candida antarctica*) ve směsi Py/Me₂CO. Úspěšný enzymový přenos modifikovaného glykosylu umožňuje inkorporovat substituční skupinu do molekuly již na úrovni donoru glykosylu a významně tak rozšiřuje možnosti využití glykosidas při přípravě modifikovaných sacharidů.



Toto je první dokumentovaný případ enzymového štěpení a přenosu 6-acetylovaného glykosylu.

Podporováno GA ČR, grant č. 303/99/1382.

P25 CHEMOENZYMATICKÁ SYNTÉZA IMUNOAKTIVNÍCH AMINOCUKRŮ

**EVA RAJNOCHOVÁ^a, JANA DVOŘÁKOVÁ^a,
PETR SEDMERA^a, KAREL BEZOUŠKA^b,
PAVEL KRIST^a a VLADIMÍR KŘEN^a**

^aLaboratoř biotransformací, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, e-mail: rajnocho@biomed.cas.cz, ^bÚstav biochemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Hlavova 8, 128 43 Praha 2

Protein NKR-P1 je aktivačním receptorem krysích NK buněk, vykazujících protinádorovou aktivitu. Vazbou ligandů na uvedený receptor jsou NK buňky aktivovány, přičemž jejich aktivita závisí na síle vazby ligandu k receptoru.

S cílem syntetizovat ligand s vysokou vazebnou aktivitou k NKR-P1 proteinu byla připravena řada aminocukrů a testována jejich afinita k aktivačnímu receptoru. β -N-Acetylhexosaminidasa z *Aspergillus oryzae* byla použita k přenosu GlcNAc (z pNP-GlcNAc jako donoru) na volnou manosu za vzniku dvou hlavních produktů: GlcNAc β (1 $\rightarrow$ 3)Man a GlcNAc β (1 $\rightarrow$ 1)Man. Disacharid GlcNAc β (1 $\rightarrow$ 4)ManNAc byl připraven z chitobiosy reakcí podle Lobry de Bruyna-Alberda van Ekesteina s použitím Ca(OH)₂ jako katalyzátoru. Stejným způsobem byl epimerizován GlcNAc na ManNAc a GalNAc na TalNAc.

Imunologické testy prokázaly desetkrát vyšší afinitu diglykosidu GlcNAc β (1 $\rightarrow$ 4)ManNAc k NKR-P1 proteinu než vykazuje chitobiosa. Z testovaných monosacharidů se ukázal být nejlepším ligandem ManNAc.

Tento výzkum byl podporován GA ČR, g. č. 303/99/1382 a nadací Volkswagenu.

P26 ENZYMOVÁ EXTENZE CHITOOLIGOMERŮ

**JANA DVOŘÁKOVÁ^a, DIRK SCHMIDT^b,
ZDENKA HUŇKOVÁ^a, JOACHIM THIEM^b
a VLADIMÍR KŘEN^a**

^aLaboratoř biotransformací, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, e-mail: dvorjana@biomed.cas.cz, ^bInstitut für Organische Chemie, Universität Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 6, D-201 46 Hamburg, SRN

Chitoooligomery (chitobiosa – chitoheptaosa) se díky svým biologickým aktivitám (jako např. antibakteriální, imunostimulační) stávají velmi žádanými v medicíně a fytopatologii. Obvykle jsou získávány chemickou nebo enzymovou hydrolýzou chitinu, eventuelně chitosanu. Hydrolytické metody však vedou ve většině případů k nižším chitoooligomerům (chitobiosa – chitopentaosa), zatímco výtěžek vyšších oligomerů (chitoheptaosa a chitoheptaosa) vykazujících protinádorovou aktivitu¹ a spouštějících u rostlin obranný mechanismus proti plísňovým patogenům² je velmi nízký nebo dokonce nulový.

Transglykosylační aktivita plísňové β -N-acetyl hexosaminidasy (*Aspergillus oryzae*) byla úspěšně využita k syntéze požadovaných vyšších chitoooligomerů ze směsi nižších chitoooligosacharidů (připravené kyselou hydrolýzou chitinu). Řízená enzymová extenze chitoooligosacharidů katalyzovaná β -N-acetyl hexosaminidasou je elegantní a relativně jednoduchá metoda přípravy vyšších chitoooligomerů aplikovaných v medicíně.

Podporováno GA ČR, g. č. 303/99/1382 a nadací Volkswagenu.

LITERATURA

1. Suzuki K., Mikami K., Okawa Y., Tokoro S., Suzuki S., Suzuki M.: Carbohydr. Res. 151, 403 (1986).
2. Roby D., Gabelle A., Toppan A.: Biochim. Biophys. Res. Commun. 143, 885 (1987).

P27 BIOTRANSFORMACE NITRILŮ V PŘÍTOMNOSTI ORGANICKÝCH ROZPOUŠTĚDEL

LUDMILA MARTÍNKOVÁ a IRENA PŘEPECHALOVÁ

Laboratoř biotransformací, Mikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4, e-mail: martinko@biomed.cas.cz

Jednofázové a dvoufázové systémy obsahující organická rozpouštědla se často užívají jako prostředí enzymových reakcí katalyzovaných esterasami a lipasami¹. V menší míře byla

tato reakční media zkoušena pro enzymy transformující nitrily².

Nitrilhydratasa z *Rhodococcus equi* A4 byla aktivní v 5–98 % *n*-hexanu, *n*-heptanu, 2,2,4-trimethylpentanu (isooktanu), *n*-hexadekanu, 2,6,10,14-tetramethylpentadekanu (pristanu) a diisopropyl etheru a 5–10 % *tert*-butyl methyl etheru. V 5 % rozpouštědlech se aktivita nitrilhydratasy pohybovala mezi 50 a 95 % kontroly. V 98 % hexanu, heptanu, isooktanu nebo pristanu si nitrilhydratasa zachovala 3–4 % kontrolní aktivity. V rozpouštědlech mísitelných s vodou byla nitrilhydratasa dostatečně aktivní (>20 % kontroly) při nižších podílech organického rozpouštědla, např. 20 % methanolu nebo ethanolu, 5 % dimethylsulfoxidu, *N,N*-dimethylformamidu a 2-propanolu.

n-Hexan, *n*-heptan, isooktan, *n*-hexadekan, pristan a methanol měly v množství 5 % vliv na enantioselektivitu konverze (*R,S*)-2-(6-methoxynafthyl)propionitrilu na příslušný *S*-amid, který je prekursorem farmaceuticky důležitého *S*-naproxenu. Hodnota *E* reakce se přidavkem těchto rozpouštědel zvýšila z 15 (ve vodném prostředí) na 22–41.

Tento projekt byl financován GA AV ČR, č. A4020802.

LITERATURA

1. Carrea G., Gianluca O., Riva S.: TIBTECH 13, 63 (1995).
2. Layh N., Willetts A.: Biotechnol. Lett. 20, 329 (1998).

P28 BIOTRANSFORMACE 2- A 3-HYDROXYNITRILŮ NITRILHYDRATASOU RHODOCOCCLUS EQUI A4

**MÁRIA OVESNÁ^a, LUDMILA MARTÍNKOVÁ^a,
ELEN RAABE^b, JOSEPH BARDAKJI^b,
NORBERT KLEMPIER^b, HELFRIED GRIENGL^b,
R. LIZ^c, A. M. TESTERA^c, VINCENTE GOTOR^c,
PETR SEDMERA^a, TEREZA FELLEROVÁ^a,
IRENA PŘEPECHALOVÁ^a a VLADIMÍR JIRKŮ^d**

^aMikrobiologický ústav, Akademie věd České republiky, 142 20 Praha 4, e-mail: ovesna@biomed.cas.cz, ^bInstitut für Organische Chemie, Technische Universität Graz, A-8010 Graz, Rakousko, ^cUniversidad Oviedo, E-33071 Oviedo, Španělsko, ^dÚstav kvasné chemie a bioinženýrství, Vysoká škola chemicko-technologická, 166 28 Praha 6

Hydroxynitrily jsou prekurzory syntéz biologicky účinných látek, jako např. inhibitorů proteas a inhibitorů syntézy cholesterolu. Tyto nitrily jsou často nestabilní, jejich izomery podléhají racemizaci, proto jsou důležité metody biotransformace těchto substrátů za mírných podmínek.

V této práci byla studována substrátová specifita nitrilhydratasy z *Rhodococcus equi* A4 vůči různým 2- a 3-hydroxynitrilům. Z kyanhydrinů 4-methylbenzaldehydu, 3-fenoxibenzenaldehydu, 2-chlorobenzenaldehydu a krotonaldehydu, 2-hydroxy-4-fenylbutyronitrilu, 3-fenyl-3-hydroxypropionitrilu, 3-(2-furyl)-3-hydroxypropionitrilu a 3-hydroxy-4,4-dimethylvaleronitrilu byly enzymem připraveny příslušné amidy. Esterifikované hydroxynitrily – 2-*O*-acetyl-2-(2-furyl)acetonitril a methyl 3-*O*-benzoyl-4-kyanobutanoát – byly také substráty nitrilhydratasy.