

ПРОИЗВОДНЫЕ 16-ЧЛЕННЫХ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ ЛАКТОНОВ: АНТИПАРАЗИТАРНЫЕ СВОЙСТВА И ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ГАМК_A-РЕЦЕПТОРАМИ*

М.Х. ДЖАФАРОВ¹, Ф.И. ВАСИЛЕВИЧ¹, Г.И. КОВАЛЁВ^{1, 2}, К.С. КРИВОНОС¹,
И.И. ЦЕПИЛОВА¹, И.В. ЗАВАРЗИН³, Е.В. ВАСИЛЬЕВА²

Для периодического обновления набора применяемых химических средств защиты в мире постоянно ведутся работы по поиску антипаразитарных средств с иным механизмом действия, чем у существующих препаратов, и (или) с таким же механизмом, но гораздо более эффективным. В настоящей работе впервые представлены данные по биоцидному действию новых полусинтетических производных авермектина В1, полученных нами ранее. Это 16-членные макроциклические лактоны — представители важного класса антгельминтиков. В 2015 году S. Ошуга (Япония) и W.C. Campbell (США), открывшие авермектины из этой группы, были удостоены Нобелевской премии по физиологии и медицине. В качестве тест-объектов использовались олигохеты *Tubificidal tubifex*. Всего исследовали производные авермектина В1 (абамектин), ивермектина, моносахаридных аналогов абамектина и ивермектина, абамектин, ивермектин, 5-О-сукциноилавермектин В1, метиловый эфир 5-О-сукциноилавермектина В1, этиловый эфир 5-О-сукциноилавермектина В1, диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-сукциноилавермектина В1, этиловый эфир 5-О-малоната авермектина В1, диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-дималоната авермектина В1, гемисукцинат моносахарида авермектина В1 (5-О-сукциноил-4'-дезолеандрозил-4'-гидроксиавермектин В1), этиловый эфир 5-О-сукциноил-4"-О-хлорацетилавермектина В1, 5-О-сукциноил-ивермектина, этиловый эфир 5-О-сукциноиливермектина, 5,4"-ди-О-сукциноиливермектина, диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-сукциноиливермектина, этиловый эфир 5-О-малоноиливермектина, диэтиловый эфир 5-О-4"-О-дималоната ивермектина, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-нитрофенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-хлорфенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[(4-нитробензил)-метокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[1-метил-2-(4-метилфенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-хлорфенил)-1-метил-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-[3-хлор-1-(4-хлорбензоил)-пропокси]-4-оксобутановой кислоты, моноавермектин-5-иловый эфир 4-{2-[4-метилфенил)-амино]-2-оксоэтокси}-4-оксобутановой кислоты и моноавермектин-5-иловый эфир 4-(2-[4-бромфенил)-амино]-2-оксоэтокси)-4-оксобутановой кислоты. У наиболее эффективных полученных производных — 5-О-сукциноилавермектина В1, 5-О-этилсукциноилавермектина В1, 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектина В1 изучили острую токсичность. У трех этих соединений значения LD₅₀ для белых мышей при внутрибрюшинном введении составили соответственно 37,85; 41,37 и 45,82 мг/кг. В опытах *in vitro* с препаратами мембран мозга крыс, использованных в качестве модели для скрининга и изучения механизма действия природных и полусинтетических авермектинов, мы сравнили взаимодействие авермектина В1, ивермектина и 5-О-сукциноилавермектина В1 с ГАМК_A-рецепторами (одна из биомшеней в механизме действия подобных соединений), используя радиолигандный метод. Оказалось, что по сравнению с авермектином В1 оригинальное производное гемисукцинат авермектина В1 на 30 % повышает максимальное ингибирование специфического связывания (I_{max}) радиолиганда [³H]SR 95531 с мембранами.

Ключевые слова: 16-членные макроциклические лактоны, авермектины, моносахариды авермектинов, 5-О-сукциноилавермектин В1, 5-О-этилсукциноилавермектин В1, 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектин В1, антипаразитарные средства, олигохеты *Tubifex tubifex*, ГАМК_A-рецептор, радиолигандное связывание.

Одними из самых результативных и дешевых способов борьбы с паразитами остаются химиотерапия и профилактика, а наиболее значимыми классами антгельминтиков — бензимидазолы, имидазолтиазолы, пиразини-зохинолины, макроциклические лактоны (1), особенно 16-членные макроциклические лактоны с широким спектром антипаразитарного действия. Адаптация паразитов (развитие резистентности) к применяемым субстанциям и ориентация на высокоэффективные и экологически более безопасные средства защиты стимулируют поиск веществ как с новым механизмом ан-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 15-16-00019.

типаразитарного действия, так с известным, но более эффективным (2).

16-Членные макроциклические лактоны (авермектины и другие близкие по структуре природные макролиды мильбемицины, а также их полусинтетические аналоги) широко применяются против паразитов (нематоды, насекомые и клещи) человека, животных и растений. За открытие методов борьбы с инфекционными болезнями, вызываемыми паразитическими круглыми червями, на основе авермектинов С. Омура (Япония) и У. Кэмбелл (США) в 2015 году стали лауреатами Нобелевской премии по физиологии и медицине (3).

Эволюция фармацевтических субстанций на основе макроциклических лактонов предполагает, в частности, химическую модификацию природных метаболитов и получение аналогов, наиболее приемлемых для практических целей (рис. 1) (4-8).

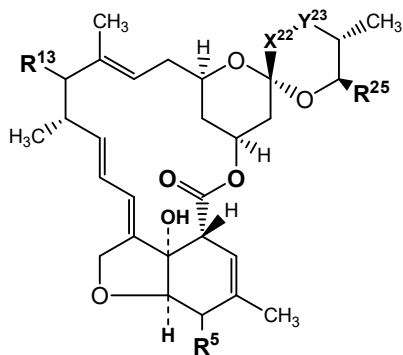


Рис. 1. Общая формула природных и полусинтетических авермектинов: R⁵ — гидроксильная группа или модифицированная функциональная группа, R¹³ — L-олеандрозил-олеандрозидный остаток, R²⁵ — различные углеводородные радикалы (2).

В медицинскую, ветеринарную и агрономическую практику внедрены различные авермектиновые и родственные им мильбемициновые субстанции: смесь авермектинов В1а и В1б (абамектин, 1979 год), ивермектин (1981 год), дорамектин (1993 год), бензоат авермектина В1 (1997 год), эприномектин (1997 год), селамектин (2000

год), а также близкие к ним мильбемектин, представляющий собой смесь А3 мильбемицинов (а3) и А4 (а4) (1990 год), лепимектин (производное мильбемектина, 2004 год), производное немадектина (моксидектин, 1989 год), гемакс (2, 4). Антипаразитарное действие всех перечисленных макролидов определяется фармакофорной группой — уникальным 16-членным лактоном (2), специфически взаимодействующим с глутамат- (9) и ГАМК_А-зависимым Cl⁻-ионными каналами (10).

Большинство работ по исследованию механизма действия авермектинов (гиперполяризация мембран в результате активация глутамат- и ГАМК_А-зависимых каналов) выполнены с ивермектином, наиболее часто применяемым на практике (11-14). В общих чертах выводы таких исследований распространяются на всех представителей этого класса, хотя лактоны неодинаковы по структуре, а их эффект может различаться (15-17).

В настоящей работе впервые представлены данные по биоцидному действию новых полусинтетических производных авермектина В1 на олигохеты, что позволило отобрать несколько перспективных соединений — 5-О-сукциноилавермектин В1, 5-О-этилсукциноилавермектин В1 и 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектин В1. Обнаружено снижение их токсичности (LD₅₀ соответственно 37,85; 41,37 и 45,82 мг/кг) по сравнению с авермектином В1 (15-20 мг/кг) (18). В опытах *in vitro* с препаратами мембран мозга крыс, использованных в качестве модели для скрининга и изучения механизма действия природных и полусинтетических авермектинов, сопоставлено взаимодействие авермектина В1, ивермектина и 5-О-сукциноилавермектина В1 с ГАМК_А-рецепторами (одна из биомишеней в механизме действия подобных соединений) и выявлено, что у этих синтезированных производных максимальное ингибирование специфического связывания, оцененное радиолигандным методом, повышается.

Цель настоящей работы — исследование биоцидных свойств полученных полусинтетических производных 16-членных макроциклических лактонов и их взаимодействия с ГАМК_A-рецепторами.

Методика. 5-О- и 5,4"-ди-О-производные авермектина В1, ивермектина, моносахаридных аналогов были синтезированы нами ранее (2, 19). Их противопаразитарную активность в концентрации 15 мкг/мл изучали в экспресс-тесте на олигохетах *Tubifex tubifex*. Острую токсичность 5-О-сукциноил-, 5-О-этилсукциноил-, 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектинов В1 определяли согласно рекомендациям по доклиническим исследованиям лекарственных средств на беспородных белых лабораторных мышах массой 18-21 г (препарат вводили внутрибрюшинно) (20).

Для выполнения радиорецепторного анализа авермектин В1, ивермектин и гемисукцинат авермектина В1 растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО). Влияние веществ на ГАМК_A-рецепторы *in vitro* изучали в диапазоне концентраций 10⁻¹⁰-10⁻⁴ моль/л.

Препараты мембран, содержащих ГАМК_A-рецепторы коры мозга крыс, готовили по методу J.E. Hawkinson с соавт. (21) в модификации. Биоматериал отбирали после декапитации. Отделяли фронтальную кору, размельчали в гомогенизаторе Potter S («Sartorius AG», Германия) в 20 объемах ледяной сахарозы (0,32 М, рН 7,1). Плотную фракцию гомогената отделяли на ультрацентрифуге Optima L-70K («Beckman Coulter, Inc.», США) в течение 10 мин при 1000 g. Супернатант повторно центрифугировали (20000 g, 20 мин). Осадок ресуспендировали в 20 мл холодной дистиллированной воды, центрифугировали (8000 g, 20 мин), супернатант и желтый надосадочный слой центрифугировали повторно при 48000 g 20 мин. Осадок суспендировали в свежеприготовленном 0,05 М Трис-цитратном буфере (ТЦБ) (рН 7,1) и центрифугировали (48000 g, 20 мин). Полученную мембранную фракцию замораживали и хранили при -85 °С. В день эксперимента мембраны суспендировали в 40 объемах 0,05 М ТЦБ (рН 7,1) и центрифугировали при 48000 g 20 мин. Полученный осадок суспендировали в 40 объемах 0,05 М ТЦБ (рН 7,1), инкубировали при 24 °С в течение 30 мин и снова центрифугировали при 48000 g 20 мин. Конечный осадок ресуспендировали в свежем буфере.

В экспериментах по радиолигандному связыванию использовали меченный тритием [³H]SR 95531 («Perkin Elmer», США) с удельной активностью 49,5 Ки/ммоль. Инкубационная смесь (конечный объем 0,5 мл) содержала 50 мкл [³H]SR 5531, 250 мкл буфера и 200 мкл белковой суспензии мембран, для неспецифического связывания добавляли 50 мкл немеченого лиганда SR 95531 (1 мМ). Реакционную смесь инкубировали при 4 °С в течение 1 ч. По окончании инкубации пробы пропускали через стекловолокнистые фильтры GF/B («Whatman PLC», Великобритания), предварительно помещенные в 0,3 % полиэтиленимин на 2 ч. Каждую пробирку дважды промывали холодным буфером, затем фильтры дважды промывали тем же объемом буфера. Фильтры просушивали на воздухе и переносили в сцинтилляционные флаконы и заливали 5 мл сцинтилляционной жидкости (4 г PPO, 0,2 г POPOP на 1 л толуола). Радиоактивность определяли на счетчике Tri-Carb 2900TR («Perkin Elmer», США) с эффективностью счета 42-46 %. Специфическое связывание рассчитывали как разницу между общим и неспецифическим связыванием. Результаты радиолигандного анализа выражали в виде концентрации, соответствующей 50 % ингибирования специфического связывания радиолиганда (IC₅₀) и максимальной степени ингибирования (I_{max}), отражающей разность между значениями верхнего и нижнего плато (21). Концентрацию белка измеряли

по стандартной методике (22).

Эксперименты с животными выполняли в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р 53434-2009), а также согласно рекомендациям «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)».

Для обработки кривых по замещению связывания использовали программу GraphPad Prizm 4 Demo (<https://www.graphpad.com>, «GraphPad Software, Inc.», США). Статистическую обработку проводили с помощью пакета Statistica 6 (<http://www.statsoft.ru>, «StatSoft, Inc.», США). Приведены значения среднего арифметические (m) и стандартной ошибки среднего (SEM), достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента при $p < 0,05$.

Результаты. Мы изучили биологический эффект синтезированных 5-О- и 5-О-4"-О-производных, а также ивермектина и ряда моносахаридных аналогов, полученных нами ранее (табл. 1).

Показатели противопаразитарной активности выбранных нами соединений (см. табл. 1) свидетельствовали о сильном биоцидном действии: после 30 мин пребывания олигохет в 1,5 % изопропаноловом растворе протестированных веществ (концентрация 15 мкг/мл) у половины особей наступала потеря двигательной активности (табл. 1). Из испытанных соединений три (5-О-сукциноил-, 5-О-этилсукциноил- и 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектин В1) отобрали для оценки острой токсичности.

1. Качественное сравнение биоцидного действия полученных 16-членных лактонов на олигохеты *Tubifex tubifex* (концентрация 15 мкг/мл)

Вещество	Время, мин		
	30	60	180
Абаемектин (контроль)	+++	++++	++++
Ивермектин	+++	++++	++++
Водопроводная вода (контроль)	0	0	0
Водопроводная вода:изопропанол 9:1 (контроль)	0	0	0
5-О-сукциноил-авермектин В1	++	+++	++++
Метилвый эфир 5-О-сукциноилавермектина В1	++	+++	++++
Этиловый эфир 5-О-сукциноилавермектина В1	++	+++	++++
Диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-сукциноилавермектина В1	++	+++	++++
Этиловый эфир 5-О-малоноилавермектина В1	++	+++	++++
Диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-дималоната авермектина В1	++	+++	++++
Гемисукцинат моносахарида авермектина В1 (5-О-сукциноил-4'-дезолеандрозил-4'-гидроксиавермектин В1)	++	+++	++++
Этиловый эфир 5-О-гемисукциноил-4"-О-хлорацетилавермектина В1	++	+++	++++
5-О-Гемисукцинат ивермектина	++	+++	++++
Этиловый эфир 5-О-гемисукцината ивермектина	++	+++	++++
5,4"-ди-О-сукциноиливермектин	++	+++	++++
Диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-сукциноиливермектина	++	+++	++++
Этиловый эфир 5-О-малоноиливермектина	++	+++	++++
Диэтиловый эфир 5,4"-ди-О-малоноиливермектина	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-нитрофенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-хлорфенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты	+++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[(4-нитробензил)-метокси]-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[1-метил-2-(4-метилфенил)-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[2-(4-хлорфенил)-1-метил-2-оксоэтокси]-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-[3-хлор-1-(4-хлорбензоил)-пропокси]-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-{2-[(4-метилфенил)-амино]-2-оксоэтокси}-4-оксобутановой кислоты	+++	+++	++++
Моноавермектин-5-иловый эфир 4-{2-[(4-бромфенил)-амино]-2-оксоэтокси}-4-оксобутановой кислоты	++	+++	++++

Примечание. 0 — нет действия, «+» — паралич менее 50 % особей, «++» — паралич 50-60 % особей, «+++» — паралич 60-80 % особей, «++++» — паралич 80-100 % особей.

У 5-О-сукциноилавермектина В1 LD₅₀ для белых мышей составила

37,85 мг/кг, LD₁₀₀ — 70,35 мг/кг, у 5-О-сукциноилавермектина В1 — соответственно 41,37 и 74,27 мг/кг, у 5,4'-ди-О-этилсукциноилавермектина В1 — 45,82 и 78,23 мг/кг. Эти величины сопоставимы со значениями LD₅₀ для применяемых в настоящее время авермектиновых препаратов: для абамектина и ивермектина — соответственно 20 и 30 мг/кг (18).

Клинические проявления токсического воздействия соединений были сходными (мышечный тремор, судороги). У всех животных наблюдали дискоординацию движений с последующим сильным угнетением: мыши лежали, реакции на внешние раздражители отсутствовали, гибель наступала через 20-30 мин. При вскрытии павших и убитых в конце опытов мышей видимых патологоанатомических изменений не отмечали. Следовательно, испытанные вещества по степени воздействия относятся ко второму классу опасности в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76.

При изучении влияния на ГАМК_A-рецепторы *in vitro* немеченый SR 95531 — бромистый 2-(3-карбоксипролил)-3-амино-6-(4метоксифенил)пиридазин (габазин, конкурентный антагонист ГАМК_A-рецепторов) почти полностью активно замещал [³H]SR 95531 в местах связывания (IC₅₀ 145 нМ). Авермектин В1 в тех же условиях ингибировал связывание [³H]SR 95531 лишь частично (I_{max} 22,0±1,2 %) (рис. 2, табл. 2).

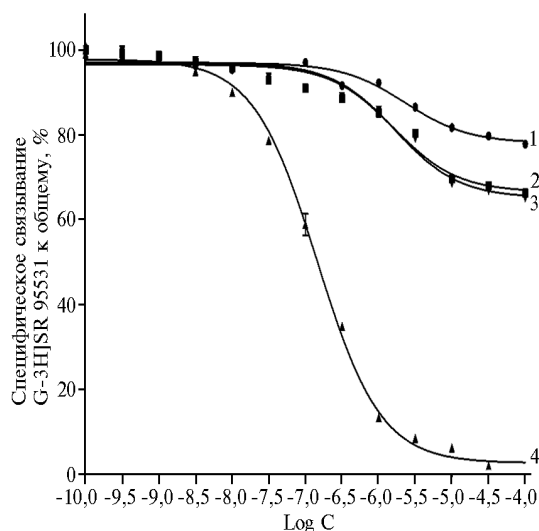


Рис. 2. Кривая вытеснения радиолиганда немеченым SR 95531 и авермектинами при специфическом связывании [³H]SR 95531 с мембранами коры мозга крыс: 1 — авермектин В1, 2 — ивермектин, 3 — гемисукцинат авермектина В1, 4 — SR 95531; Log C — логарифм молярной концентрации соединения.

Оригинальное производное авермектина В1 — гемисукцинат авермектина В1, а также ивермектин показали себя как более активные ингибиторы: у них I_{max} увеличились на треть (соответственно до 35,9±1,4 и 33,5±1,4 %; p < 0,05). При этом все три исследуемых вещества имели близкие значения IC₅₀ в микромолярном диапазоне (см. табл. 2).

Из этих результатов следует, что химическая модификация молекулы авермектина В1 существенно усиливала конкурентную активность оригинального соединения — 5-О-сукциноилавермектина за места связывания [³H]SR 95531 с ГАМК_A-рецепторами. Использование меченых антител

2. Эффективность замещения у авермектинов при специфическом рецепторном связывании [³H]SR 95531 с мембранами коры мозга крыс (m±SEM)

Вещество	IC ₅₀ , мкмоль/л	I _{max} , %
Авермектин В1	2,31±0,18	22,0±1,2
Ивермектин	1,61±0,14	33,5±1,4
Гемисукцинат авермектина В1	1,69±0,13	35,9±1,4

Примечание. IC₅₀ — концентрация, вызывающая 50 % ингибирования специфического связывания радиолиганда; I_{max} — максимальная степень ингибирования связывания лиганда, отражающая разность между значениями верхнего и нижнего плато.

против ГАМК в экспериментах с нематодами показало, что 26 из 302 нейронов *Caenorhabditis elegans* ГАМК-ергические (23), а с помощью генетического скрининга удалось идентифицировать в них шесть генов, необходимых для выпол-

нения нейрональной функции ГАМК (24).

Предполагается, что все три авермектина действуют как аллостерические модуляторы специфического конкурентного лиганда ГАМК_A-рецептора SR 95531 (габазина) (25). Это ГАМК-производное ариламинопиридазина — конкурентный антагонист рецепторов у млекопитающих, тогда как у беспозвоночных более активно вещество SR 95103 — 2-(3-карбокситроил)-3-амино-4-метил-6-фенилпиридазин (26). Недавние исследования в нескольких лабораториях показали, что первичными мишенями макроциклических лактонов служат глутамат-зависимые хлоридные каналы (4, 27). Их не обнаруживают у млекопитающих, однако они относятся к так называемому семейству Cys-петлевых канальных рецепторов, которое включает ГАМК-, глициновые, никотиновые и серотониновые-3 рецепторы. Это, в частности, позволило использовать ГАМК_A-рецептор мозга крыс в качестве модели для скрининга и изучения механизма действия природных и полусинтетических авермектинов.

Таким образом, при изучении биоцидного действия серии 5-О-замещенных авермектинов установлено, что 1,5 % раствор 5-О-сукциноил-, 5-О-этилсукциноил-, 5,4"-ди-О-этилсукциноилавермектина В1 в течение 60 мин полностью парализуют олигохет. Значения LD₅₀ этих соединений (при введении мышам внутрибрюшинно в дозе 37-47 мг/кг) ниже или сравнимы с таковыми у известных аналогов. При этом указанные вещества по степени воздействия на организм в соответствии с нормативами ГОСТ 12.1.007-76 относятся ко второму классу опасности, то есть могут рассматриваться как перспективные противопаразитарные средства.

¹ФГБОУ ВО Московская государственная академия
ветеринарной медицины и биотехнологии—МВА
им. К.И. Скрябина,

109472 Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23,
e-mail: mxd123@mail.ru;

²ФГБНУ НИИ фармакологии им. В.В. Закусова,
125315 Россия, г. Москва, ул. Балтийская, 8,
e-mail: kovalev@academpharm.ru;

³ФГБУН Институт органической химии
им. Н.Д. Зелинского РАН,
119991 Россия, г. Москва, Ленинский просп., 47,
e-mail: zavi@ioc.ac.ru

Получила в редакцию
8 июня 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2016, V. 51, № 6, pp. 875-882

DERIVATIVES OF 16-MEMBERED MACROCYCLIC LACTONES: ANTIPARASITIC PROPERTIES AND INTERACTION WITH GABA_A RECEPTORS

*M.Kh. Dzhabarov¹, F.I. Vasilevich¹, G.I. Kovalev^{1, 2}, K.S. Krivonos¹, I.I. Tsepilova¹,
I.V. Zavarzin³, E.V. Vasil'eva²*

¹Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology—K.I. Skryabin Moscow Veterinary Academy, 23, ul. Akademika Skryabina, Moscow, 109472 Russia, e-mail mxd123@mail.ru;

²V.V. Zakusov Research Institute of Pharmacology, Federal Agency of Scientific Organizations, 8, ul. Baltiiskaya, Moscow, 125315 Russia, e-mail kovalev@academpharm.ru;

³N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Federal Agency of Scientific Organizations, 47, Leninskii prosp., 119991 Russia, e-mail zavi@ioc.ac.ru

Acknowledgements:

Supported by Russian Science Foundation, grant № 15-16-00019

Received June 8, 2016

doi: 10.15389/agrobiol.2016.6.875eng

Abstract

Searching for antiparasitics with a different mode of action than existing drugs, and (or) with the same but much more effective mechanisms is necessary to periodically update the applicable protection chemicals. For the first time we here present data on the biocidal action of new semisynthetic derivatives of avermectin B1 that we have synthesized earlier. These are the 16-membered

macrocyclic lactones, the representatives of an important class of anthelmintics. In 2015 S. Omura (Japan) and W. Campbell (USA) who discovered this avermectin group, were awarded the Nobel Prize in physiology and medicine. In our study the oligochaetes *Tubificoides tubifex* were used as a test-object. The original chemicals and synthesized derivatives tested were avermectin B1 (abamectin), ivermectin, monosaccharide analogues of abamectin and ivermectin, namely abamectin, ivermectin, 5-O-succinyl avermectin B1, methyl ester of 5-O-succinyl avermectin B1, ethyl ester of 5-O-succinyl avermectin B1, diethyl ester of 5,4"-di-O-succinyl avermectin B1, ethyl ester of 5-O-malonyl avermectin B1, diethyl ester of 5,4"-di-O-dimalonyl avermectin B1, monosaccharide hemisuccinate of avermectin B1 (5-O-succinyl-4'-dezeoleandrozyl-4'-hydroxyavermectin B1), ethyl ester of 5-O-succinyl-4-O-chloroacetyl avermectin B1, 5-O-succinyl ivermectin, ethyl ester of 5-O-succinyl ivermectin, 5,4"-di-O-succinyl ivermectin, diethyl ester of 5,4"-di-O-succinyl-ivermectin, ethyl ester of 5-O-malonylivermectin, diethyl ester of 5,4"-di-O-dimalonyl ivermectin, monoavermectin-5-yl ester of 4-[2-(4-nitrophenyl)-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid, monoavermectin-5-yl ester of 4-[2-(4-chlorophenyl)-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid, monoavermectin-5-yl ester of 4-[1-methyl-2-(4-methylphenyl)-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid, monoavermectin-5-yl ester of 4-[2-(4-chlorophenyl)-1-methyl-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid, monoavermectin-5-yl ester of 4-[3-chloro-1-(4-chlorobenzoil)-propoxy]-4-oxobutanoic acid, monoavermectin-5-yl ester of 4-[2-[(4-methylphenyl)-amino]-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid and monoavermectin-5-yl ester of 4-[2-[(4-bromophenyl)-amino]-2-oxoethoxy]-4-oxobutanoic acid. The acute toxicity (LD₅₀) of the most effective ones, 5-O-succinyl avermectin B1, 5-O-ethylsuccinyl avermectin B1 and 5,4"-di-O-ethylsuccinyl avermectin B1, for intraperitoneally challenged white mice was 37.85; 41.37 and 45.82 mg/kg, respectively. We also used membrane preparations of rat brain as in vitro model for screening and studying activity of natural and semi-synthetic avermectins. A radioligand [³H]SR 95531 binding assay of avermectin B1, ivermectin, and 5-O-succinyl avermectin B1 interaction with GABA_A-receptors (the biotargets for these compounds) showed a 30 % increase of maximal inhibition (I_{max}) of specific binding by hemisuccinate derivative of avermectin B1 when compared to original avermectin B1.

Keywords: 16-membered macrocyclic lactones, avermectins, avermectin monosaccharides, 5-O-succinyl avermectin B1, 5-O-ethylsuccinyl avermectin B1, 5,4"-di-O-ethylsuccinyl avermectin B1, antiparasitics, oligochaeta *Tubifex tubifex*, GABA_A-receptor, radioligand binding assay.

REFERENCES

1. Arkhipov I.A. *Antigel'mintiki: farmakologiya i primeneniye* [Anthelmintics: pharmacology and use]. Moscow, 2009 (ISBN 978-5-85941-305-8) (in Russ.).
2. Dzhamfarov M.Kh. Evolution in chemotherapy of human and animal helminthiasis (review). *Agricultural Biology*, 2013, 4: 26-44 (doi: 10.15389/agrobiology.2013.4.26eng) (in Engl.).
3. Nobel Forsamlingen. *The Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The 2015 Nobel Prize in Physiology or Medicine*. Available http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2015/press.pdf. No date.
4. Campbell W.C. History of avermectin and ivermectin, with notes on the history of other macrocyclic lactone antiparasitic agents. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2012, 13(6): 853-865 (doi: 10.2174/138920112800399095).
5. Omura S. Ivermectin: 25 years and still going strong. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 2008, 31: 91-98 (doi: 10.1016/j.ijantimicag.2007.08.023).
6. Pitterna T., Cassayre J., Huter O., Jung P.M., Maienfisch P., Kessabi F.M., Quaranta L., Tobler H. New ventures in the chemistry of avermectins. *Bioorg. Med. Chem.*, 2009, 17: 4085-4095 (doi: 10.1016/j.bmc.2008.12.069).
7. Dzhamfarov M.Kh., Mirzaev M.N., Urazaev D.N., Maksimov V.I. Antiparasitic activity of avermectin and compounds of a steroid nature. *Russian Agricultural Sciences*, 2010, 36(2): 130-132 (doi: 10.3103/S1068367410020163).
8. Dzhamfarov M.Kh., Myrzaev M.N., Zavarsin I.V. Antiparasitic activity of famectin and some compounds of different chemical nature. *Agricultural Biology*, 2011, 2: 108-111. Available <http://www.agrobiology.ru/2-2011dzhamfarov-eng.html>. No date (in Engl.).
9. Raymond V., Sattelle D.B. Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2002, 1: 427-436 (doi: 10.1038/nrd821).
10. Estrada-Mondragon A., Lynch J.W. Functional characterization of ivermectin binding sites in $\alpha 1\beta 2\gamma 2$ LGABA(A) receptors. *Front. Mol. Neurosci.*, 2015, 8: 55 (doi: 10.3389/fnmol.2015.00055).
11. Wolstenholme A.J., Rogers A.T. Glutamate-gated chloride channels and the mode of action of the avermectin/milbemycin anthelmintics. *Parasitology*, 2005, 131: S85-S95 (doi: 10.1017/S0031182005008218).
12. Lynagh T., Lynch J.W. Molecular mechanisms of Cys-loop ion channel receptor modulation by ivermectin. *Front. Mol. Neurosci.*, 2012, 5: 60 (doi: 10.3389/fnmol.2012.00060).
13. Yoluk Ö., Brömstrup T., Bertaccini E.J., Trudell J.R., Lindahl E. Stabilization of the GluCl ligand-gated ion channel in the presence and absence of ivermectin. *Biophys.*

- J., 2013, 105: 640-647 (doi: 10.1016/j.bpj.2013.06.037).
14. Pang S., Qi S., Ran Z., Song X., Li X., Wang C., Duan L. Synergistic effect of gamma-aminobutyric acid with avermectin on *Bombyx mori*. *J. Food Agric. Environ.*, 2013, 11(1): 1022-1024.
 15. Cobb R., Boeckh A. Moxidectin: a review of chemistry, pharmacokinetics and use in horses. *Parasites Vectors*, 2009, 2(Suppl 2): S5 (doi: 10.1186/1756-3305-2-S2-S5).
 16. Prichard R., Ménez C., Lespine A. Moxidectin and the avermectins: Consanguinity but not identity. *International Journal of Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2012, 2: 134-153 (doi: 10.1016/j.ijpddr.2012.04.001).
 17. Menez C., Sutra J.-F., Prichard R., Lespine A. Relative neurotoxicity of ivermectin and moxidectin in Mdr1ab (2/2) mice and effects on mammalian GABA(A) channel activity. *PLOS*, 2012, 6(11): e1883 (doi: 10.1111/jnc.13644).
 18. Lankas G.R., Gordon L.R. Toxicology. In: *Ivermectin and avermectin*. W.C. Campbell (ed.). Springer-Verlag, NY, 1989: 89-112.
 19. Chernoburova E.I., Lishchuk V.A., Ovchinnikov K.L., Kolobov A.V., Dzhaferov M.Kh., Vasilevich F.I., Zavarzin I.V. *Izvestiya RAN. Seriya khimicheskaya*, 2016, 12: 2965-2969 (in Russ.).
 20. Mironov A.N., Bunyatyan N.D., Vasil'ev A.N., Verstakova O.L., Zhuravleva M.V., Lepakhin V.K., Korobov N.V., Merkulov V.A., Orekhov S.N., Sakaeva I.V., Utsheshev D.B., Yavorskii A.N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' I* [Preclinical studies of drugs — guidelines. Part I]. Moscow, 2012: 13-25 (in Russ.).
 21. Hawkinson J.E., Acosta-Burrueal M., Kimbrough C.L., Goodnough D.B., Wood P.L. Steroid inhibition of [³H]SR 95531 binding to the GABA_A recognition site. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 304: 141-146 (doi: 10.1016/0014-2999(96)00090-8).
 22. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, 193: 265-275.
 23. Schuske K., Beg A.A., Jørgensen E.M. The GABA nervous system in *C. elegans*. *Trends Neurosci.*, 2004, 27: 407-414 (doi: 10.1016/j.tins.2004.05.005).
 24. Wolstenholme A.J. Surviving in a toxic world. *Science*, 2012, 335: 545-546 (doi: 10.1126/science.1218166).
 25. Maksay G. Differential effects of thiocyanate on the binding thermodynamics of bicuculline methiodide versus SR95531 (Gabazine) to the γ -aminobutyric acid receptor-ionophore complex. *Biochem. Pharmacol.*, 1998, 56: 729-731 (doi: 10.1016/S0006-2952(98)00064-1).
 26. Duittoz A.H., Martin R.J. Effects of the arylaminopyridazine-GABA derivatives, SR95103 and SR95531 on the *Ascaris* muscle GABA receptor: the relative potency of the antagonists in the *Ascaris* is different to that at vertebrate GABA_A receptors. *Comp. Biochem. Physiol.*, 1991, 98C: 417-422 (doi: 10.1016/0742-8413(91)90227-K).
 27. Nakao T., Banba Sh., Hirase K. Comparison between the modes of action of novel meta-diamide and macrocyclic lactone insecticides on the RDL GABA receptor. *Pestic. Biochem. Phys.*, 2015, 120: 101-108 (doi: 10.1016/j.pestbp.2014.09.011).

Научные собрания
БАКТЕРИОФАЖ 2017

(17-19 January 2017, online event, United Kingdom)

Organization: Euroscicon

Subdisciplines: biology, microbiology, molecular biology, biochemistry, medicine, biotechnology, virology

This is the FIRST live streamed only, three day professional conference discussing bacteriophages. This annual event will discuss emerging research relating to bacteriophage structure and mechanism of action, and their application in medical and industrial biotechnologies.

As one of the most abundant biological entities on earth, bacteriophages are major drivers of bacterial adaptive evolution through the predator-prey roles of the phage-bacterium interaction and through the adaptive impacts of lysogeny and lysogenic conversion. Bacteriophage biology underpins many biochemical reagents and technologies, indispensable for modern molecular biology, and phages continue to be exploited in several areas of biotechnology, including diagnostics, prophylaxis and other aspects of food microbiology. Furthermore, the use of bacteriophages as natural alternatives to antibiotics (known as phage therapy) are of increasing interest for the treatment of human and animal disease in the face of rising levels of antibiotic resistance. This meeting will bring together researchers working with phages across these disciplines to encourage collaboration and knowledge sharing. This event is aimed at those interested in the biology of bacteriophages and their applications in biotechnology, including research scientists, academics and pharmaceutical professionals.

Contacts: <http://lifescienceevents.com/page2017/>

Information: <http://www.globaleventslist.elsevier.com/events/2017/01/bacteriophage-2017/>