

Синтез, протівірусна й інтерфероніндукуюча активність карбоксипохідних планарних поліциклічних сполук

О.С. Карпенко¹, І.В. Доровських^{1,2}, М.О. Шибінська¹, Г.В. Мальцев¹,
О.А. Ляхова¹, Ю.О. Гусева¹, Н.М. Жолобак³, М.Я. Співак³,
С.А. Ляхов^{1,2}, С.А. Андронаті^{1,2}

¹ Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
Льстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

² Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

³ Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України
вул. Акад. Заболотного, 152, Київ, 03143, Україна

Резюме. Серед низькомолекулярних індукторів інтерферону (ІФН) лише карбоксиметилакридон (КМА) є молекулою, яка негативно заряджена у фізіологічних умовах (ФУ). Інші планарні поліциклічні ІФН є носіями позитивного заряду, що стало підґрунтям для спекуляцій відносно унікальності цього індуктора. Нами синтезовано низку планарних три- і тетрациклічних сполук, які містять карбоксильну групу, показано, що всі вони є ІФН і протівірусними агентами. Таким чином, КМА — не унікальний, а лише один із багатьох планарних поліциклічних ІФН із негативним зарядом у ФУ.

Ключові слова: синтез, протівірусні препарати, аніонні індуктори інтерферону, цитотоксичність.

Вступ. Інтерферони (ІФН) у різних лікарських формах і різного походження посідають одне з основних місць серед засобів профілактики і терапії вірусних захворювань людини [1]. Однак, за тривалого їх застосування спостерігається низка проблем. Так, під час лікування ряду хронічних захворювань (гепатити, герпес, злоякісні новоутворення та ін.) довготривале введення препаратів ІФН у великих дозах може викликати формування в організмі антиінтерферонових антитіл, які здатні нейтралізувати молекули ІФН при подальших введеннях, а це зводить нанівець ефект ліку-

вання [2]. Також у клінічній практиці передозування препаратів ІФН призводить до появи великої кількості небажаних побічних ефектів [3]. Значною мірою позбавленим цих недоліків є альтернативний шлях — індукція ендогенного інтерферону. Відомо, що індуктори ендогенного інтерферону є одним із найперспективніших класів протівірусних агентів [4], про що свідчить широке й успішне застосування в клінічній практиці таких препаратів, як аміксин, циклоферон, неовір, арбідол, амізон.

Аміксин (1) і похідні карбоксиметилакридону — КМА, 2-(9,10-дигідроакридин-10-іл)-оцтової кислоти (2, X=H) — неовір (2, X=Na⁺) і циклоферон (2, X=N-метилглюкамін, МГА) — є представниками численної групи поліциклічних планарних карбо- і гетероциклічних сполук, більшість із яких здатна інгібувати вірусну репродукцію й індукувати інтерферон

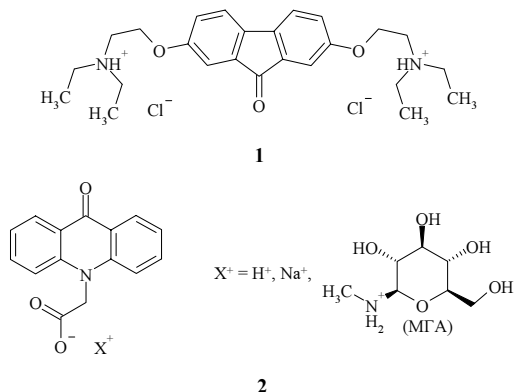
* Corresponding author.

Tel.: +38048-7659230

E-mail address: alexandr_s_karpenko@rambler.ru

© О.С. Карпенко, І.В. Доровських, М.О. Шибінська, Г.В. Мальцев, О.А. Ляхова, Ю.О. Гусева, Н.М. Жолобак, М.Я. Співак, С.А. Ляхов, С.А. Андронаті, 2008

[5]. У цій групі КМА посідає особливе місце: це єдиний описаний у літературі представник низькомолекулярних планарних поліциклічних індукторів інтерферону, що має у фізіологічних умовах негативний заряд, тоді як інші в цих умовах є катіонами.



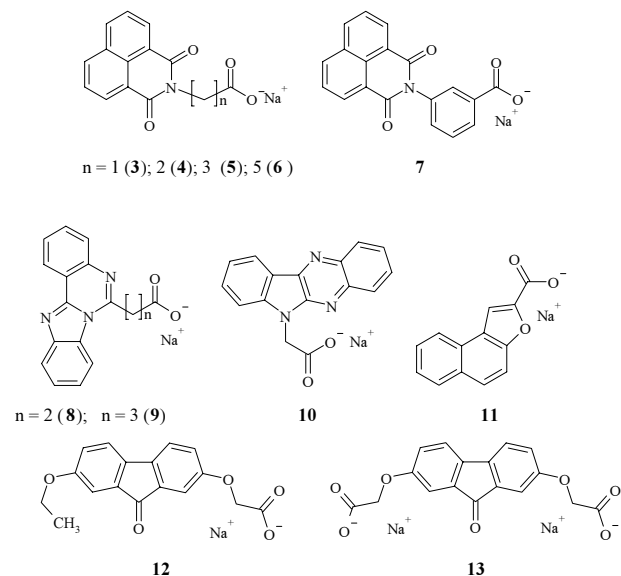
Ураховуючи здатність аміксину інтеркалювати у ДНК [6-8] і накопичуватися у клітинному ядрі [9], ми припустили, що в основі індукції інтерферону лежить дерепресія генів інтерферону як наслідок інтеркаляції [10] за рахунок конкуренції інтеркалятора із факторами транскрипції або алостеричної регуляції взаємодії факторів транскрипції з місцями зв'язування [11]. На користь цього припущення свідчать результати досліджень, у яких показана здатність численної низки інтеркаляторів індукувати інтерферон як у клітинних моделях, так і у тварин [5]. У випадку похідних КМА такий механізм індукції був неочевидним: взаємодія негативно зарядженої молекули індуктора з негативно зарядженою ДНК має бути невигідною. Імовірно, що саме ці міркування спонукали запропонувати для КМА механізм індукції, опосередкований його взаємодією з рецепторами на поверхні клітин [12]. Незважаючи на те, що ці рецептори за 20 років, що минули з моменту висунення цієї гіпотези, так і не були знайдені, вона й досі не втратила своїх прихильників [13, 14].

Показано здатність КМА інтеркалювати у ДНК за $\text{pH} < 4$ [15], але, зважаючи на наявне у клітинному ядрі pH , ця здатність препарату не може мати істотного значення у фізіологічних умовах. З іншого боку, для КМА встановлено здатність накопичуватися в ядрі при введенні його в комплексі з полікатіонним носієм [14] (про здатність препарату в інших лікарських формах проникати в ядро не повідомляється).

Можна узгодити всі властивості препарату між собою, припустивши, що комплекс КМА з клітинною ДНК стабілізується за рахунок якогось багатозарядного катіона, який виступає своєрідним компенсатором невигідних електростатичних взаємодій між негативно зарядженими КМА і поліфосфатом. Такими компенсаторами можуть бути катіони Mg^{2+} , Ca^{2+} або інших металів, поліаміни, основні амінокислоти та/або пептиди. Це припущення тим більш вірогідне, оскільки показано здатність КМА до утворення різнолігандних комплексів складу КМА- Cu^{2+} -імідазол [16].

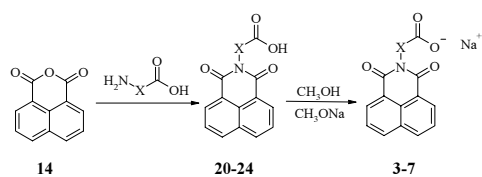
Якщо наведені вище міркування справедливі, слід очікувати, що будь-яка поліциклічна система з вільною карбоксильною групою буде здатна тією чи іншою мірою індукувати інтерферон на зразок КМА. Якщо ж справедлива гіпотеза щодо певних специфічних до КМА рецепторів клітинної поверхні, то більшість таких сполук має бути позбавлена значної інтерферонідукуючої і противірусної активності.

Для перевірки цього припущення нами було синтезовано планарні поліциклічні системи (3-13), що містять у своїй структурі карбоксильну групу, здатну до іонізації у фізіологічних умовах, і вивчено їх інтерферонідукуючу і противірусну активність.



Результати й обговорення. Синтез. Конденсацією нафталенового ангідриду з ω -амінокарбоновими кислотами і м-амінобензойною кислотою в киплячому ДМФА з видаленням води одержували відповідні нафталімідокарбонові кислоти з виходами 80-95 %, обробка

Схема 1
Схема синтезу нафталімідокарбонових кислот та їх солей



	X = (CH ₂) _m				X = 1,3-C ₆ H ₄
	m=1	m=2	m=3	m=5	
Амінокислоти	15	16	17	18	19
Напівпродукти	20	21	22	23	24
Соли	3	4	5	6	7

яких розрахунково кількістю титрованого розчину метилату натрію в метанолі давала відповідні солі **3-7** (схема 1).

Кислоти **8, 9** — похідні бензоімідазохіназоліну — отримували за схемою 2. Конденсацією *o*-фенілендіаміну з антраніловою кислотою у поліфосфорній кислоті при 250 °С за методом, описаним у роботі [17], одержано 2-(2-амінофеніл)бензімідазол (**27**) із виходом 31 %, ацилювання якого бурштиновим і глутаровим ангідридами у хлороформі призводило до утворення з високими виходами кислот відповідно **28** і **29**. Циклізацію останніх у ω -(бензо[4,5]імідазо[1,2-*c*]хіназолін-6-іл)-карбонові кислоти **30** і **31** проводили нагріванням в оцтовій кислоті. Натрієві солі **8** і **9** отримували аналогічно солям **3-7**.

Алкилуванням ізатину (**32**) дією метилбромоацетату в ДМФА у присутності карбонату калію синтезували метиловий естер 2-(2,3-діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-оцтової кислоти (**33**), конденсація якого з *o*-фенілендіаміном в оцтовій кислоті призводила до утворення метилового естеру індоло[2,3-*b*]-хіноксалін-6-іл-оцтової кислоти (**34**). Натрієву сіль **10** отримували гідролізом естеру (**34**) — кип'ятінням із гідроксидом натрію в метанолі (схема 3).

Схема 3
Схема синтезу індоло[2,3-*b*]-хіноксалін-6-іл-оцтової кислоти та її солі

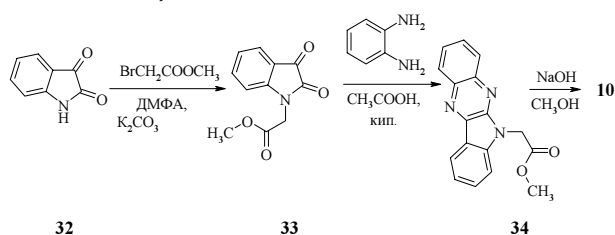
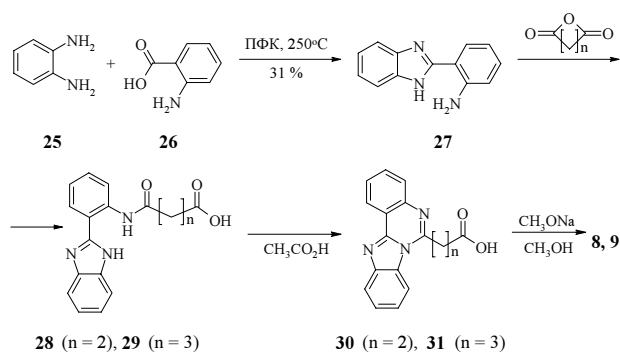


Схема 2
Схема синтезу ω -[2-(1*H*-бензімідазол-2-іл)фенілкарбамоіл]-карбонових кислот та їх солей



28 (n = 2), **29** (n = 3)

30 (n = 2), **31** (n = 3)

Сполуку **11** синтезували формілуванням 2-гідроксинафталіну за Реймером-Тіманом [18] із наступним алкилуванням дією метилбромоацетату в ацетоні в присутності карбонату калію і циклізацією естеру **36** метилатом натрію в метанолі, підкисленням розчину та перекристалізацією. Натрієву сіль **11** для біологічних досліджень отримували обробкою нафто[2,1-*b*]фуранкарбонової кислоти (**37**) розчином еквімолярної кількості метилату натрію в метанолі (схема 4).

Сполуки **12** і **13** синтезовано алкилуванням 2,7-дигідроксифлуоренону-9 і 2-гідрокси-7-етоксифлуоренону-9 (синтез цих фенолів описано відповідно у [19] і [20]) дією метилбромоацетату в ацетоні в присутності карбонату калію із наступним гідролізом дією гідроксиду натрію в метанолі за схемою 5.

Сполуки **3-13**, одержані нами як аналоги циклоферону за ознакою наявності водночас поліциклічної системи й аніоногенної карбоксильної групи, у цілому виявились аналогами циклоферону за дією.

Біологічні властивості синтезованих сполук (цитотоксичність, протівірусна й інтерфероногенна активність) вивчено в Інституті мікро-

Схема 4
Схема синтезу нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбонової кислоти та її солі

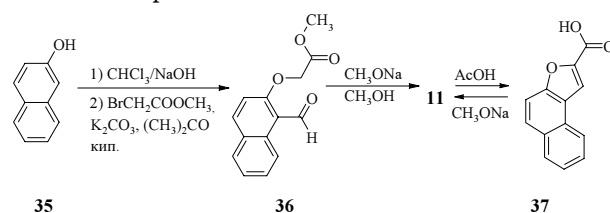
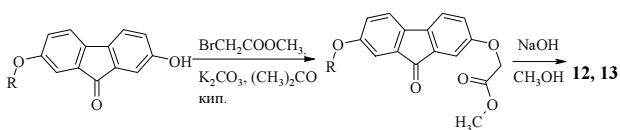


Схема 5
Схема синтезу оксифлуренілоцетових кислот та їх солей



біології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України за методами, описаними у [21].

Цитотоксичність синтезованих сполук на клітинах ПТП (перещеплювана культура клітин тестикул поросяти) виявилася дуже низькою. Для всіх сполук діапазон прояву цитотоксичних ефектів знаходиться в мілімолярному діапазоні концентрацій. Найменша токсична концентрація складає близько 1,3 мМ для сполуки **10**, а найменш токсичні сполуки (**3** і **7**) практично однакові за токсичністю із циклофероном (табл. 1).

Синтезовані сполуки, за винятком сполуки **3**, на клітинах L929 (фібробласти мишей) аналогічно циклоферону індукували інтерферон у мікромолярному діапазоні концентрацій, причому сполука **12** виявилася активнішою за циклоферон, індукуючи синтез тих же титрів, але за меншої концентрації, на відміну від останнього (табл. 2).

Ступінь противірусної дії синтезованих сполук за одночасного їх уведення з вірусом везикулярного стоматиту (ВВС) у цілому виявився дещо нижчим за дію циклоферону, хоча для

Таблиця 2
Інтерфероніндукуючі властивості на клітинах L929

Сполука	Т ІФН	С, μМ
3	Н.в.	–
4	1:12	0,5
5	1:10	1
6	1:24	0,9
7	1:16	0,9
8	1:32	2,3
9	1:32	2,3
10	1:28	1
11	1:8	25,6
12	1:32	0,9
13	1:8	0,5
Циклоферон	1:32	1,2

Примітки: Т ІФН — титри індукованого інтерферону; Н.в. — інтерферон у культуральному середовищі не визначається; титр інтерферону в контролі становив 2-4.

Таблиця 1

Цитотоксичність синтезованих сполук

Сполука	LC ₅₀ , μМ
3	>36
4	3,1
5	16,4
6	15
7	>30,5
8	>1,5
9	>1,4
10	>1,3
11	2,4
12	>2,6
13	>1,4
Циклоферон	34

Примітка. LC₅₀ — концентрація досліджуваної речовини, що призводить до загибелі 50 % клітин.

більшості сполук він проявлявся за концентрацій менших, ніж для останнього (таблиця 3). Так, найбільш ефективна концентрація сполук **10** і **13** виявилася у 30 разів, а сполуки **12** — у 15 разів меншою, ніж максимально активна концентрація циклоферону. На клітинах L929, які є значно кращими продуцентами, ніж ПТП, противірусна активність аніонних індукторів виявилася значно вищою і здебільшого не поступалася активності циклоферону.

Досліджені нами карбоксилвмісні поліциклічні планарні сполуки, що становлять досить структурно широку групу, у цілому проявили себе як індуктори інтерферону і противірусні агенти із цілком зрозумілими, з огляду на різноманітність будови, відхиленнями у ступені

Таблиця 3
Противірусна активність сполук **3-13** (клітини ПТП, 100 LD₅₀ ВВС, уведення одночасне з вірусом)

Сполука	IC ₅₀ , μМ	E _{max} , %	С, μМ
3	1,13	50	1,13
4	1	50	1,07
5	1	50	1,02
6	0,23	70	0,94
7	0,23	80	0,92
8	–	0	–
9	–	0	–
10	0,26	80	0,04
11	13,2	50	13,2
12	–	80	0,09
13	0,5	50	0,04
Циклоферон	–	100	1,30

Примітки: IC₅₀ — концентрація досліджуваної речовини, що призводить до захисту 50 % клітин від цитопатичної дії ВВС; E_{max} — величина максимального противірусного ефекту сполуки.

Таблиця 4
Противірусна активність сполук **3-13**
(клітини L929, 100 LD₅₀ ВВС,
уведення за 24 год перед вірусом)

Сполука	IC ₅₀ , μМ	E _{max} , %	C, μМ
3	1,13	100	18
4	4,3	50	4,3
5	–	100	2
6	1	100	1,9
7	–	0	–
8	–	0	–
9	–	0	–
10	3	100	4,2
11	–	25	534
12	<0,2	100	2
13	–	100	2
Циклоферон	–	100	1,3

Примітки: IC₅₀ — концентрація вивченої речовини, що призводить до захисту 50 % клітин від цитопатичної дії ВВС; E_{max} — величина максимального противірусного ефекту сполуки.

прояву активності і концентраційних діапазонів дії. Таким чином, КМА (у його різних формах) є не якоюсь унікальною сполукою — індуктором інтерферону та противірусним засобом, а лише одним із представників загальної широкої групи сполук, істотними структурними дескрипторами якої є наявність планарної поліциклічної системи і карбоксильної групи.

Важко уявити будь-який, окрім ДНК, загальний для всієї групи рецептор. Водночас, можливість взаємодії із ДНК синтезованих сполук із карбоксильною групою у структурі є настільки неочевидною за фізіологічних умов, що це питання потребує окремого дослідження. Роботи в цьому напрямі зараз ведуться, а їх результати будуть викладені в наших наступних публікаціях.

Експериментальна частина. (1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-оцтова кислота (15). Розчин 13,97 г (0,0705 моль) нафталевого ангідриду і 9,16 г (0,07 моль) гліцину в 50 см³ ДМФА кип'ятили зі зворотним холодильником 2 год, заміняли цей холодильник насадкою В'юрца, приєднаною до прямого холодильника. Відганяли дистилят до досягнення температури парів 153 °С. Реакційну суміш охолоджували, осад, що випав, відфільтровували, промивали водою й висушували. Маточний розчин нагрівали до 100 °С, додавали гарячу воду до помутніння і відфільтровували. Осад, що випав після охолодження, відфільтровували, з'єднували з першим осадом, вису-

шували і перекристалізовували із тетрахлорометану. Вихід: 74 %. C₁₄H₉NO₄. М.W. 255,23. T_{пл} 274-275 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 256 (100) [M+H]⁺. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: с. 4,913 м.ч. (2H); ароматичні протони: д.д. 7,937 м.ч. (2H); д.д. 8,548 м.ч. (2H); д.д. 8,585 м.ч. (2H).

Аналогічно одержано сполуки **16-19**.

4-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-пропанова кислота (16). Вихід: 67 %. C₁₅H₁₁NO₄. М.W. 269,26. T_{пл} 225-227 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 270 (100) [M+H]⁺. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: т. 2,780 м.ч. (2H), т. 4,413 м.ч. (2H); ароматичні протони: д.д. 7,943 м.ч. (2H); д.д. 8,510 м.ч. (2H); д.д. 8,569 м.ч. (2H).

4-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-бутанова кислота (17). Вихід: 91 %. C₁₆H₁₃NO₄. М.W. 283,37. T_{пл} 180-183 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 284 (100) [M+H]⁺. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: м. 2,049 м.ч. (2H), т. 2,465 м.ч. (2H), т. 4,225 м.ч. (2H); ароматичні протони: д.д. 7,909 м.ч. (2H); д.д. 8,499 м.ч. (2H); д.д. 8,554 м.ч. (2H).

6-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-гексанова кислота (18). Вихід: 93 %. C₁₈H₁₇NO₄. М.W. 311,34. T_{пл} 144-146 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 312 (100) [M+H]⁺. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: м. 1,489 м.ч. (2H), м. 1,697 м.ч. (2H), т. 2,344 м.ч. (2H), т. 4,120 м.ч. (2H); ароматичні протони: д.д. 7,907 м.ч. (2H); д.д. 8,462 м.ч. (2H); д.д. 8,523 м.ч. (2H).

3-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-бензойна кислота (19). Вихід: 79 %. C₁₉H₁₁NO₄. М.W. 317,30. T_{пл} 180-183 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 318 (100) [M+H]⁺.

(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-оцтової кислоти натрієва сіль (3). До розчину 0,255 г (0,001 моль) **15** у 5 см³ метанолу покрупинно додавали 1 см³ розчину метилату натрію в метанолі (C_M(CH₃ONa)=1 моль/л). Осад, що випав, відфільтровували, промивали метанолом і висушували на фільтрі. Вихід: 87 %. C₁₄H₈NO₄Na. М.W. 277,24. T_{пл}>340 °С.

Аналогічно одержано сполуки **4-7, 11**.

4-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-пропанової кислоти натрієва сіль (4). Вихід: 88 %. C₁₅H₁₀NO₄Na. М.W. 291,24. T_{пл}>300 °С.

4-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-бутанової кислоти натрієва сіль (5). Вихід: 92 %. C₁₆H₁₂NO₄Na. М.W. 305,35. T_{пл}>250 °С.

6-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-гексанової кислоти натрієва сіль (6). Вихід: 95 %. $C_{18}H_{16}NO_4Na$. M.W. 333,32. $T_{пл} > 250$ °С.

3-(1,3-Діоксо-1Н,3Н-бензо[de]ізохінолін-2-іл)-бензойної кислоти натрієва сіль (7). Вихід: 96 %. $C_{19}H_{10}NO_4Na$. M.W. 339,28. $T_{пл} > 340$ °С.

Нафто[2,1-b]фуран-2-карбонової кислоти натрієва сіль (11). Вихід: 94 %. $C_{13}H_9O_3Na$. M.W. 334,26. $T_{пл} > 350$ °С.

2-(2-Амінофеніл)бензімідазол (27). У 400 см³ поліфосфорної кислоти вносять суху суміш, що складається з тонко розтертої 28,1 г (0,2 моль) сполуки **26** і 21,6 г (0,2 моль) **25** і нагрівають за інтенсивного перемішування до 250-260 °С протягом 2,5 год. Потім реакційну суміш охолоджують до 100 °С, за інтенсивного перемішування виливають у 4000 см³ дистильованої води, доводять рН розчину до 8-9, додаючи 50%-ний розчин NaOH. Осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі водою до нейтрального рН. Осад є технічним продуктом, який перекристалізують з етанолу. Вихід: 13,2 г (31 %). $C_{13}H_{11}N_3$. M.W. 209,25. $T_{пл}$ 214,5-215,0 °С. (літ. $T_{пл}$ 213-214 °С [17]). $R_f=0,36$ (хлороформ : ацетон (10:1), $R_f=0,55$ (бензол : триетиламін (10:1), в UV-254 пляма флуоресцює. Мас-спектр (електронний удар), m/z (%): 209 (100) [M]⁺, 182 (12), 118 (7), 104 (17).

3-[2-(1Н-бензімідазол-2-іл)фенілкарбамоїл]-пропіонова кислота (28). До гарячої суспензії 2 г (0,01 моль) **27** у 150 см³ хлороформу додають гарячий розчин 3 г бурштинового ангідриду в 20 см³ хлороформу, кип'ятять 2 хв, після чого нагрівання припиняють. Випадає осад продукту. Реакційну суміш знову доводять до кипіння й кип'ятять ще 5 хв, після чого нагрівання знову припиняють. Операцію повторюють 5-7 разів, після чого фільтрують реакційну суміш гарячою. Осад із фільтра переносять у стакан, додають 20 см³ чистого хлороформу, доводять до кипіння й відфільтровують. Повторюють тричі. Продукт використовують на наступній стадії без додаткового очищення. За необхідності перекристалізують з ізопропанолу. Вихід 2,8 г (91 %) M.W. 309,33 $C_{17}H_{15}N_3O_3$. $T_{пл} > 220$ °С (розкл.). $R_f=0,02$ (елюент — бензол : триетиламін : метанол, 10:1:1).

3-Бензімідазо[1,2-с]хіназолін-6-іл-пропанова кислота (30). Розчиняють 6,2 г (0,02 моль) **28** у суміші 30 см³ крижаної оцтової кислоти й

60 см³ оцтового ангідриду, фільтрують через паперовий фільтр і охолоджують. Осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі оцтовою кислотою, дистильованою водою до нейтрального рН і ретельно висушують. Вихід 4,8 г (82 %). M.W. 291,31 $C_{17}H_{13}N_3O_2$.

3-Бензімідазо[1,2-с]хіназолін-6-іл-пропанової кислоти натрієва сіль (8). Суспендують 1,46 г (0,005 моль) **30** у 5 см³ абсолютного метанолу й додають в один прийом розчин 0,32 г (0,006 моль) метилату натрію в 0,5 см³ метанолу. Суспензія гомогенізується. До отриманого розчину додають 15 см³ ефіру, осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі ефіром. Вихід 1,3 г (83 %). M.W. 313,29 $C_{17}H_{12}N_3NaO_2$.

4-[2-(1Н-бензімідазол-2-іл)фенілкарбамоїл]-бутанова кислота (29). Вихід 3,4 г (53 %). M.W. 323,35. $C_{18}H_{17}N_3O_3$. $T_{пл}$ 315-316 °С (із розкл.). Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: м. 1,95-2,04 м.ч. (2H), т. 2,35 м.ч. (2H), т. 2,54 м.ч. (2H); ароматичні протони: м. 7,22-7,31 м.ч. (3H); м. 7,45-7,50 м.ч. (1H); д. 7,58 м.ч. (1H); д. 7,76 (1H); д. 8,10 м.ч. (1H); д. 8,69 м.ч. (1H); протони, що обмінюються: д.ш.с. 12,15 м.ч. (1H); с. 13,01 м.ч. (1H); ш.с. 13,15 м.ч. (1H).

4-Бензімідазо[1,2-с]хіназолін-6-іл-бутанової кислоти (31). Вихід 4,7 г (77 %). M.W. 305,34 $C_{18}H_{15}N_3O_2$. $T_{пл} > 315$ °С (возг. із розкл.). Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: м. 2,18-2,28 м.ч. (2H), т. 2,56 м.ч. (2H), т. 3,52 м.ч. (2H); ароматичні протони: м. 7,48-7,53 м.ч. (1H); м. 7,56-7,61 м.ч. (1H); м. 7,67-7,73 м.ч. (1H); м. 7,80-7,92 м.ч. (2H); д. 7,95 м.ч. (1H); д. 8,25 м.ч. (1H); д. 8,54 м.ч. (1H).

4-Бензімідазо[1,2-с]хіназолін-6-іл-бутанової кислоти натрієва сіль (9). Вихід 1,1 г (83 %). M.W. 328,33 $C_{18}H_{15}N_3NaO_2$. $T_{пл} > 350$ °С (розкл.).

2-(2,3-Діоксо-2,3-дигідроіндол-1-іл)-оцтової кислоти метиловий естер (33). До розчину 10 г (0,068 моль) **32** у диметилформаміді додають 13,8 г (0,1 моль) карбонату калію і 7,6 см³ (12,2 г, 0,08 моль) метилбромоацетату. Суміш перемішують 8-10 год, охолоджують, осад відфільтровують, промивають на фільтрі ДМФА 3x15 см³. Фільтрат випаровують, сухий залишок розчиняють водою (500 см³), екстрагують хлороформом 4x150 см³. Хлороформ сушать сульфатом натрію й випаровують. Сухий залишок перекристалізують із бензолу. Вихід: 11,7 г (78 %). $C_{11}H_9NO_4$; M.W. 219,20. $T_{пл}$ 119-120 °С. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні прото-

ни: с. 3,755 м.ч. (3H), с. 4,480 м.ч. (2H); ароматичні протони: д. 6,790 м.ч. (1H); т. 7,130 м.ч. (1H); м. 7,523-7,643 м.ч. (2H).

Індоло[2,3-*b*]-хіноксалін-6-іл-оцтової кислоти метиловий естер (34). Суміш 24,5 г (0,112 моль) **33** і 14,5 г (0,134 моль) о-фенілендіаміну розчиняють в оцтовій кислоті і кип'яють при перемішуванні протягом 6 год. Реакційну суміш охолоджують. Осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі оцтовою кислотою 3x15 см³, висушують і перекристалізують із діоксану. Вихід: 20 г (61 %). C₁₇H₁₃N₃O₂; M.W. 291,31. T_{пл} 210-211 °C. R_f=0,85 (бензол : триетиламін : метанол, 10:1:1), R_f=0,62 (бензол : триетиламін : метанол, 20:2:1). Мас-спектр, m/z (%): 291 (31), 232 (100), 129 (6), 102 (6). Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: с. 3,747 м.ч. (3H), с. 5,222 м.ч. (2H); ароматичні протони: д. 7,332 м.ч. (1H), т. 7,392 м.ч. (1H); м. 7,595-7,788 м.ч. (3H); д.д. 8,110 м.ч. (1H); д.д. 8,340 м.ч. (1H); д. 8,519 м.ч. (1H).

Натрію індоло[2,3-*b*]-хіноксалін-6-карбоксилат (10). У розчин 5,1 г (0,0175 моль) **34** у 200 см³ метанолу додають розчин 0,876 г (0,0219 моль) NaOH у 10 см³ води. Реакційну суміш кип'яють при перемішуванні протягом 2 год, потім охолоджують. Осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі метанолом 3x5 см³. Вихід: 5 г (95 %). C₁₆H₁₀N₃NaO₂; M.W. 299,27. T_{пл}>250 °C.

Метиловий естер (1-формілнафталін-2-оксі)-оцтової кислоти (36). До конічної колби об'ємом 300 см³ вносили 17,2 г (0,1 моль) 2-гідроксинафталальдегіду, 20,7 г (0,15 моль) карбонату калію, 150 см³ ацетону, 14,2 см³ (23 г, 0,15 моль) метилбромоацетату і кип'ятили із

зворотним холодильником за ретельного перемішування 5-8 год. Контролювали хід синтезу методом ТПХ (елюент — суміш хлороформу з ацетоном, 10:1), обробляючи хроматограму розчином хлористого заліза. Реакційну суміш охолоджували, відфільтрували, осад на фільтрі промивали ацетоном. Фільтрат випаровували досуха. Сухий залишок промивали гарячою водою 4x50 см³. Після цього залишок кристалізувався. Тверду речовину перекристалізували з метанолу і висушували. Вихід 72,5 %. C₁₄H₁₂O₄. M.W. 244,25. T_{пл} 112,5-114,0 °C. Спектр ¹H ЯМР: аліфатичні протони: с. 3,804 м.ч. (6H); с. 4,866 м.ч. (2H); ароматичні протони: д. 7,119 м.ч. (1H), м. 7,456 м.ч. (1H); м. 7,648 м.ч. (1H); д. 7,773 м.ч. (1H), д. 8,025 м.ч. (1H), д. 9,281 м.ч. (1H), с. 10,971 м.ч. (1H).

Нафто[2,1-*b*]фуран-2-карбонова кислота (37). У конічній плоскодонній колбі розчиняли 12,2 г (0,05 моль) альдегіду **36** у 150 см³ теплого (45 °C) метанолу. При перемішуванні повільно додавали 57 см³ розчину метилату натрію в метанолі (6 г натрію у 250 см³ метанолу) і кип'ятили при перемішуванні 4 год (контроль за ТПХ: елюент — суміш хлороформ : ацетон, 10:1). Після закінчення реакції синтез охолоджували, випаровували 200 см³ метанолу та розбавляли п'ятикратним об'ємом 10%-го розчину оцтової кислоти. Осад відфільтровували і промивали водою. Вихід 76 %. C₁₃H₈O₃. M.W. 212,21. T_{пл}>335 °C. Спектр ¹H ЯМР: м. 7,52-7,47 м.ч. (1H); м. 7,62-7,68 м.ч. (1H); д. 7,83 м.ч. (1H); д. 7,95 м.ч. (1H); д. 8,06 м.ч. (1H); с. 8,08 (1H); д. 8,39 м.ч. (1H).

Надійшла в редакцію 28.07.2008 р.

Synthesis, antiviral and interferon inducing activities of the carboxy-derivatives of the planar polycyclic compounds

A.S. Karpenko¹, I.V. Dorovskiykh^{1,2}, M.O. Shibinskaya¹, G.V. Maltsev¹, H.A. Lyakhova¹, Ju.O. Gusyeva¹, N.M. Zholobak³, N.Ya. Spivak³, S.A. Lyakhov^{1,2}, S.A. Andronati^{1,2}

¹ O.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute, NAS of Ukraine
86 Lustdorfska doroga, Odesa, 65080, Ukraine

² I.I. Mechnikov Odesa National University
2 Dvoryanska Str., Odesa, 65026, Ukraine

³ Danylo Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine
152 Zabolotnoho Str., Kyiv, 03143, Ukraine

Summary. Amixine and Carboxymethylacridone (CMA) are representatives of the structurally broad class of the planar polycyclic compounds, most of which are active antivirals and IFN-inductors. CMA stands out of this class due

to the presence of negative charge in the physiological conditions contrary to the positively charged other inducers, what, possibly, caused a speculation about uniqueness of this drug. We have synthesized and tested as antiviral and interferon inducers sodium salts of some planar polycyclic acids, notably: (1,3-dioxobenz[de]isoquinolin-2-yl)-(3), benzoimidazo[1,2c]quinazolin-6-yl-(8), indoloqui-noxalin-6-yl-(10), (7-ethoxy-9-oxofluoren-2-yloxy)-(12), (7-carboxymethoxy-9-oxofluoren-2-yloxy)-(13) acetic acids, 3-(1,3-dioxobenz[de]isoquinolin-2-yl)-(4) 3-benzoimidazo[1,2c]quinazolin-6-yl-(9) propionic acid, 4-(1,3-dioxobenz[de]isoquinolin-2-yl)-butyric acid (5), 6-(1,3-dioxobenz[de]isoquinolin-2-yl)-hexanoic acid (6), 3-(1,3-dioxobenz[de]isoquinolin-2-yl)-benzoic acid (7), naphthofuran carboxylic acid (11). Cytotoxicity, IFN-inducing and antiviral properties were tested in the cell-culture assays. All tested compounds demonstrate low cytotoxicity ranking in the order: 3(>36)<CMA(34)≈7(>30.5)<5(16.4)≈6(15)<4(3.1)<12(>2.6)<11(2.4)<8(>1.5)<9(>1.4)=13(>1.4)<10(>1.3). All synthesized compounds with the exception of 3 demonstrate significant interferon induction in the micromolar concentration range, ranking in the order (IFN titer/concentration, μM): 12(1:32/0.9)>CMA(1:32/1.2)>8(1:32/2.3)=9(1:32/2.3)>10(1:28/1)>6(1:24/0.9)>7(1:16/0.9)>4(1:12/0.5)>5(1:10/1)>13(1:8/0.5)>>11(1:8/25.6). So, CMA isn't the only one, but one from the set of planar anionic interferon inducers.

Keywords: synthesis, antiviral drugs, anionic interferon inducers, cytotoxicity.

Перелік літератури

1. Ершов Ф.И. Система интерферона в норме и патологии. — М.: Медицина, 1996. — 240 с.
2. Bendtzen K., Hansen M.B., Diamant M. et al. Naturally occurring autoantibodies to interleukin-1α, interleukin-6, interleukin-10 and interferon-α // *J. Interferon Res.* — 1994. — Vol. 14. — P. 157-159.
3. Bottomley J.M., Toy J.L. Clinical side effects and toxicities of interferon / In: *Interferon 4. In vivo and clinical studies.* — ed. Friedman R.M. — Elsevier-Amsterdam. — N.Y. — Oxford, 1984. — P. 125-138.
4. Співак М.Я., Карпов О.В., Жолобак Н.М., Лазаренко Л.М., Тимошок Н.О., Зоценко В.М., Грабченко Н.І., Ганова Л.О., Михайленко О.М. Индукторы интерферону — від теорії до практики // *Мікробіол. журнал.* — 2003. — Т. 65, № 1-2. — С. 191-204.
5. Співак М.Я., Андронаті С.А., Ляхов С.А., Карпов О.В., Жолобак Н.М., Литвинова Л.О., Шай Д.Р. Индукторы интерферону як противірусні агенти: нові аспекти старої проблеми // *Журнал органічної та фармацевтичної хімії.* — 2007. — Т. 5, № 1. — С. 4-20.
6. Chandra P., Zunino F., Gaur V.P., Zaccara A., Woltersdorf M., Luoni G., Gotz A. Mode of tilorone hydrochloride interaction to DNA and polydeoxyribonucleotides // *FEBS Lett.* — 1972. — Vol. 28, No. 1. — P. 5-9.
7. Sturm J., Schreiber L., Daune M. Binding of ligands to a one-dimensional heterogeneous lattice. II. Intercalation of tilorone with DNA and polynucleotides // *Biopolymers.* — 1981. — Vol. 20, No. 4. — P. 765-785.
8. Sturm J. Binding of ligands to a one-dimensional heterogeneous lattice. III. Kinetic model and relaxation study of the interaction of tilorone with DNA and polynucleotides // *Biopolymers.* — 1982. — Vol. 21, No. 6. — P. 1189-1206.
9. Gaur V., Chandra P. Subcellular distribution of ¹⁴C-tilorone hydrochloride in tissues of mice and rats // *Naturwissenschaften.* — 1973. — Vol. 60, No. 5. — P. 263.
10. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. О взаимодействии аминокислотфлуоренонов с нуклеиновыми кислотами и олигонуклеотидами // Депонированная научная работа. Физико-химический институт им. А.В. Богатского АН УССР. — Одесса, 1989. — 13 с. — Рус. — Деп. в ВИНТИ № 6264-В89 // Анот. В РЖ Химия. ВИНТИ, 5Е200 Деп, 1990.
11. Gniazdowski M., Denny W.A., Nelson S.M., Czyz M. Effects of anticancer drugs on transcription factor-DNA interactions // *Expert Opin. Ther. Targets.* — 2005. — Vol. 9, No. 3. — P. 471-489.
12. Piasecki E., Inglot A.D., Czyski J.A. et al. Interaction of sodium salt of 9-oxo-10-acrideneacetic acid (CMA) and its analogs with serum albumin. A model for study on binding of the interferon inducer with receptor // *Arch. Immunol. Ther. Exp.* — 1985. — Vol. 33. — P. 299-310.
13. Киселев О.И., Ткаченко Б.И., Ершов Ф.И. Индукция интерферонов: Новые подходы к созданию функциональных индукторов / В кн.: *Фундаментальные направления молекулярной медицины.* — СПб.: Росток, 2005. — 400 с.
14. Ершов Ф.И., Киселев О.И. Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств). — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. — С. 229-247.
15. Коваленко А.Л., Казаков В.И., Слута А.В., Зарубаев В.В., Сухинин В.П. Внутриклеточная локализация циклоферона, его связывание с ДНК и стимуляция экспрессии цитокинов после введения циклоферона // *Цитология.* — 2000. — Т. 42, № 7. — С. 659-664.
16. Dobrzynska D., Duczmal M., Julia Jezierska, Jerzykiewicz L.B. Synthesis and structure of the mixed ligand complex of copper(II), bis(9,10-dihydro-9-oxo-10-acridineacetato)bis(imidazole)copper(II) tetrahydrate // *Polyhedron.* — Vol. 21, No. 23. — P. 2381-2385.
17. Hein D.W., Alheim R.J., Leavitt J.J. The use of polyphosphoric acid in the synthesis of 2-aryl and 2-alkyl-substituted benzimidazoles, benzoxazoles and benzothiazoles // *J. Am. Chem. Soc.* — 1957. — Vol. 79. — P. 427-429.
18. Препаративная органическая химия / Под ред. Н.С. Вульфсона. — М.: Госхимиздат, 1959. — 326 с.
19. Andrews E.R., Fleming R.W., Grisar J.M., Kihm J.C., Wenstrup D.L., Mayer G.D. Bis-basic-substituted polycyclic aromatic compounds. A new class of antiviral agents. 2. Tilorone and related bis-basic ethers of fluorenone, fluorenone, and fluorene // *J. Med. Chem.* — 1974. — Vol. 17, No. 8. — P. 882-886.
20. Ляхов С.А., Ляхова Е.А., Карпенко А.С., Мальцев Г.В., Вельчева И.В., Литвинова Л.А., Лебедюк М.Н., Хорошорина Г.А., Федчук В.П. ДНК-связывающие свойства несимметричных производных флуоренона // *Хим.-фарм. журн.* — 2004. — Т. 38, № 3. — С. 13-15.
21. Карпенко О.С., Доровських І.В., Ляхов С.А., Андронаті С.А., Жолобак Н.М., Співак М.Я., Нехорошкова Ю.В., Шафран Л.М. Аміноалкілнафталіміди як противірусні та інтерфероніндукуючі агенти. Синтез і властивості // *Ukrainica Bioorganica Acta.* — 2008. — Т. 1, № 1. — С. 42-48.