

О. И. Шадыро<sup>1</sup>, В. Л. Сорокин<sup>1</sup>, Г. А. Ксендзова<sup>1</sup>, С. Н. Николаева<sup>2</sup>,  
Н. И. Павлова<sup>2</sup>, О. В. Савинова<sup>2</sup>, Е. И. Бореко<sup>2</sup>

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ N-АЦИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 4,6-ДИ-(ТРЕТ-БУТИЛ)-2-АМИНОФЕНОЛА

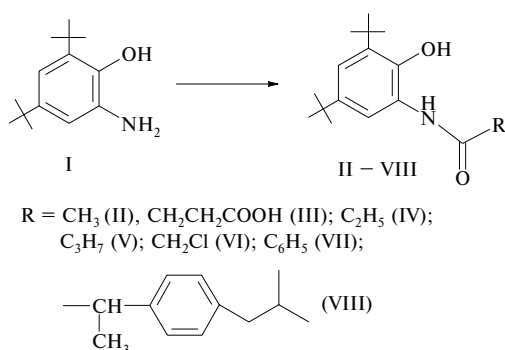
<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, Минск;

<sup>2</sup> Белорусский НИИ эпидемиологии и микробиологии, Минск

Важным свойством *o*- и *p*-аминофенолов является их способность нейтрализовать свободные радикалы и уменьшать повреждающее действие последних по отношению к важным биомакромолекулам [1, 2]. Производные *o*-аминофенола, как и многие другие синтетические и природные антиоксиданты, могут быть эффективны в предотвращении или замедлении развития целого ряда опасных заболеваний, включая и вирусные инфекции [3].

В настоящей работе приведены данные по синтезу и результатам изучения противовирусной активности производных пространственно экранированного *o*-аминофенола.

Известно, что соединения, содержащие первичную аминогруппу, как правило, весьма токсичны. Одно из наиболее эффективных направлений детоксификации аминосоединений состоит в их ацилировании, т.е. в получении амидов. С учетом этого нами были синтезированы N-ацильные производные 4,6-ди-(*трет*-бутил)-2-аминофенола (I) — амиды II и III. Соединения II, III были получены нагреванием 4,6-ди-(*трет*-бутил)-2-аминофенола (I) [4] с уксусным или янтарным ангидридами. Синтез ацильных производных IV – VIII был осуществлен взаимодействием аминофенола с хлорангидридами карбоновых кислот в присутствии триэтиламина в качестве акцептора выделяющегося HCl.



Амиды II – VIII представляют собой белые кристаллические вещества, устойчивые на воздухе, хорошо растворимые в полярных органических растворителях. Строение соединений II – VIII полностью согласуется с данными ПМР- и масс-спектроскопии.

### Экспериментальная химическая часть

Спектры ПМР получены на спектрометре Jeol JNM PS-100 с рабочей частотой 100 МГц, химические сдвиги

приведены относительно сигнала тетраметилсилана. Масс-спектры записаны на спектрометре Shimadzu QP-5000 при 70 эВ с прямым вводом образца в ионный источник, температура источника 200 °С. Температуры плавления веществ определены на нагревательном микростоліке Voetius. Контроль за ходом реакций и чистотой полученных соединений осуществлены методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254 в системе гексан – хлороформ – этилацетат, 5 : 2 : 1, или циклогексан – изопропанол – водный аммиак, 4 : 1 : 0,01.

**4,6-Ди-(*трет*-бутил)-2-(N-ацетиламино)фенол (II).** К 10,83 г (0,106 моль) уксусного ангидрида при перемешивании добавляют порциями 1 г (45 ммоль) 4,6-ди-(*трет*-бутил)-2-аминофенола [4]. Реакционную смесь перемешивают при 40 °С в течение 15 мин и выливают в 100 мл воды. Выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из петroleйного эфира. Выход 0,77 г (96 %), т.пл. 147 – 148 °С. ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 8,36 с (1H, OH), 7,75 уш. с (1H, NH), 7,20 д (1H, CH), 6,76 д (1H, CH), 2,17 с (3H, CH<sub>3</sub>), 1,42 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,24 с (9H, 3CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 263(M<sup>+</sup>, 16).

**3-[N-(3, 5-ди-*трет*-бутил-2-гидроксибензил)аминокарбонил]пропановая кислота (III).** Смесь 0,2 г (0,9 ммоль) аминофенола I и 0,11 г (1,8 ммоль) янтарного ангидрида кипятят в 10 мл 1,4-диоксана в течение 6 ч и оставляют на ночь. Диоксан удаляют в вакууме, остаток перекристаллизовывают из изопропанола. Выход 0,15 г (52 %), т.пл. 180 – 182 °С. ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 7,19 д (1H, CH), 6,97 д (1H, CH), 4,82 уш. с (3H, 2OH, NH), 2,7 уш. с (4H, 2CH<sub>2</sub>), 1,39 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,26 с (9H, 3CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 321 (M<sup>+</sup>, 11).

**4,6-Ди-(*трет*-бутил)-2-(N-пропаноиламино)фенол (IV).** К охлажденной до 0 °С смеси 0,4 г (18 ммоль) аминофенола I и 0,26 г (25 ммоль) триэтиламина в 10 мл ТГФ добавляют по каплям 0,23 г (25 ммоль) пропаноилхлорида в 10 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивают 20 мин, отфильтровывают гидрохлорид триэтиламина, фильтрат упаривают в вакууме, остаток перекристаллизовывают из смеси гексан – этанол, 50 : 1. Выход 0,35 г (70 %), т.пл. 161 – 162 °С. ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 8,44 с (1H, OH), 7,24 уш. с (1H, NH), 7,20 д (1H, CH), 6,74 д (1H, CH), 2,50 кв (2H, CH<sub>2</sub>), 1,42 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,26 т (3H, CH<sub>3</sub>), 1,26 с (9H, 3CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 277 (M<sup>+</sup>, 12).

**4,6-Ди-(трет-бутил)-2-(N-бутаноиламино)фенол (V).** К охлажденной до 0 °С смеси 1 г (45 ммоль) аминифенола I и 0,64 г (63 ммоль) триэтиламина в 10 мл ТГФ добавляют по каплям 0,67 г (63 ммоль) бутаноил-хлорида в 15 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивают 30 мин, отфильтровывают гидрохлорид триэтиламина, фильтрат упаривают в вакууме, остаток перекристаллизовывают из смеси гексан – этанол, 50 : 1. Выход 0,94 г (72 %), т.пл. 150 – 151 °С. ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 8,46 с (1H, OH), 7,49 уш. с (1H, NH), 7,21 д (1H, CH), 6,75 д (1H, CH), 2,36 т (2H, CH<sub>2</sub>), 1,71 м (2H, CH<sub>2</sub>), 1,42 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,26 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,00 т (3H, CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 291 (M<sup>+</sup>, 9).

**4,6-Ди-(трет-бутил)-2-(N-хлорацетиламино)фенол (VI).** К охлажденной до 0 °С смеси 0,5 г (23 ммоль) аминифенола I с 0,32 г (32 ммоль) триэтиламина в 10 мл сухого хлороформа добавляют по каплям 0,36 г (32 ммоль) хлорангидрида хлоруксусной кислоты в 5 мл сухого хлороформа и перемешивают два с половиной часа. Реакционную смесь промывают 10 % соляной кислотой (3 × 20 мл), водой (5 × 20 мл) и сушат безводным сульфатом натрия; затем упаривают в вакууме. Остаток перекристаллизовывают из петролейного эфира и получают 0,5 г (74 %). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 8,40 уш. с (1H, NH), 7,24 д (1H, CH), 6,90 д (1H, CH), 4,20 с (2H, CH<sub>2</sub>), 1,42 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,27 с (9H, 3CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 297 (M<sup>+</sup>, 42).

**4,6-Ди-(трет-бутил)-2-(N-бензоиламино)фенол (VII).** К охлажденной до 0 °С смеси 1 г (4,5 ммоль) аминифенола I и 0,46 г (4,5 ммоль) триэтиламина в 10 мл ТГФ прибавляют по каплям 0,63 г (4,5 ммоль) хлористого бензоила в 5 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивают 10 мин, отфильтровывают гидрохлорид триэтиламина, упаривают фильтрат в вакууме, остаток перекристаллизовывают из бензола. Выход 1,1 г (75 %), ПМР-спектр (COCl<sub>2</sub>), δ, м.д.: 8,40 с (1H, OH), 8,07 уш. с (1H, NH), 8,00 – 7,40 (5H, 5CH), 7,24 д (1H, CH), 6,91 д (1H, CH), 1,46 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,29 с (9H, 3CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 325 (M<sup>+</sup>, 6).

**4,6-Ди-(трет-бутил)-2-[N-[2-(4-изобутилфенил)пропаноил]амино]фенол (VIII).** К охлажденной до 0 °С смеси 0,2 г (0,9 ммоль) аминифенола I и 0,11 г (1,08 ммоль) триэтиламина в 5 мл ТГФ добавляют по каплям 0,24 г (1,08 ммоль) хлорангидрида ибупрофена

в 5 мл ТГФ. Реакционную смесь перемешивают 30 мин, отфильтровывают гидрохлорид триэтиламина, фильтрат упаривают в вакууме, остаток перекристаллизовывают из смеси петролейный эфир – диэтиловый эфир, 3 : 1. Выход 0,29 г (79 %), ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д.: 8,43 с (1H, OH), 7,26 – 7,15 (6H, 5H аром., NH), 6,48 д (1H, CH), 3,76 кв (1H, CH), 2,45 д (2H, CH<sub>2</sub>), 1,65 д (3H, CH<sub>3</sub>), 1,38 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 1,19 с (9H, 3CH<sub>3</sub>), 0,88 д (6H, 2CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/z*, (*I*<sub>отн</sub>): 409 (M<sup>+</sup>, 6).

#### Экспериментальная биологическая часть

Противовирусные свойства определяли в экспериментах на культурах клеток с вирусами герпеса простого I типа (ВГП-1), гриппа А/FPV/Rostock/34 (H7N1). Исследования выполняли методом редукции бляшек на культуре первичных фибробластов эмбрионов кур (ФЭК) с FPV и методом оценки цитопатического эффекта (ЦПЭ) на культуре клеток рабдомиосаркомы человека (RD) с ВГП-1, как описано нами ранее [5]. Изучаемые соединения предварительно растворяли в 10 % этаноле. Необходимые концентрации веществ получали путем последовательных разведений этого раствора в среде 199 (Sigma). Критерием противовирусного действия соединений считали снижение титра вируса в сравнении с контролем. Вычисляли также концентрации, вызывающие 50 % (EC<sub>50</sub>) и 90 % (EC<sub>90</sub>) подавление размножения вируса, и отношение максимальной переносимой концентрации (МПК) к эффективной. МПК соединений для неинфицированных культур клеток определяли после 72 ч инкубации.

#### Результаты и их обсуждение

Результаты исследования противовирусной активности N-ацильных производных 4,6-ди-трет-бутил-2-аминофенола (II – VIII) приведены в таблице.

Установлено, что исследуемые соединения обладают низкой токсичностью в отношении культур клеток ФЭК и RD. В пределах нетоксичных концентраций соединения II, IV – VI подавляют размножение ВГП-1 со снижением его титра на величину более 2 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл (> 100 раз). Среди этих веществ наиболь-

#### Противовирусные свойства N-ацильных производных 4,6-ди-(трет-бутил)-2-аминофенола

Соединение	ВГП-1		Вирус гриппа А/FPV/Rostock/34	
	EC <sub>50</sub> (I <sub>95</sub> ), мкМ	МПК/EC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub> (I <sub>95</sub> ), мкМ	МПК/EC <sub>50</sub>
II	8,54 (10,54 ÷ 6,9)	44,4	11,48 (14,9 ÷ 8,4)	17,2
III	123,0 (228,9 ÷ 66,1)	2,53	> 77,8	< 1
IV	38,2 (41,3 ÷ 35,3)	18,87	> 1441,9	< 1
V	3,8 (7,2 ÷ 2,0)	90,09	> 686,2	< 1
VI	12,99 (13,8 ÷ 12,2)	25,8	16,1 (22,5 ÷ 11,4)	1,3
VII	131,7 (168,6 ÷ 102,9)	9,33	> 1229,0	< 1
VIII	> 488,2	< 1	> 976,5	< 1

Примечание: I<sub>95</sub> — доверительный интервал.

шую противовирусную активность проявляет соединение V, имеющее также и наиболее широкий диапазон активных концентраций (МПК/ЕС<sub>50</sub>). Более высокие значения ЕС<sub>50</sub> (меньшая активность) и низкие отношения МПК/ЕС<sub>50</sub> вычислены для соединений II, IV, VI. Вместе с тем, с учетом минимальной концентрации, снижающей титр вируса на величину 1,0 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл (ЕС<sub>90</sub>) и более, все эти соединения (II, IV – VI) относятся к высокоактивным. Значительно менее активно соединение VII. Остальные исследованные вещества (III и VIII) обладают незначительными вирусингибирующими свойствами в МПК и близких к ней концентрациях. Максимальное снижение

титра вируса в их присутствии не достигает 1 lg ТЦИД<sub>50</sub>/мл.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Yamamura, K. Suzuki, T. Yamaguchi, T. Nishiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 413 – 419 (1997).
2. Л. А. Масловская, Д. К. Петрикевич, В. А. Тимошук, О. И. Шадыро, *Ж. общ. химии*, **66**(11), 1893 – 1898 (1996).
3. V. Halliwell, J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed.; Clarendon Press, Oxford (1999), pp. 761 – 767.
4. В. Б. Вольева, Т. И. Прокофьева, А. М. Прокофьев, *Изв. АН СССР, Сер. хим.*, № 9, 1789 – 1793 (1995).
5. Е. И. Бореко, Н. И. Павлова, Г. В. Зайцева, И. А. Михайлопуло, *Вопросы вирусол.*, № 5, 40 – 42 (2001).

Поступила 20.05.02