

Б. А. Селиванов¹, А. Я. Тихонов¹, Е. Ф. Беланов², Н. И. Бормотов²,
А. С. Кабанов², О. Ю. Мазурков², О. А. Серова², Л. Н. Шишкина²,
А. П. Агафонов², А. Н. Сергеев²

СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ 1-АРИЛ-3-{3,5-ДИОКСО-4-АЗАТЕТРАЦИКЛО- [5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}ДОДЕЦ-11-ЕН-4-ИЛ}МОЧЕВИН

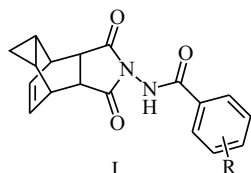
¹ ФГБУН Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН), Россия, 630090, Новосибирск 90, просп. академика Лаврентьева, д. 9; e-mail: seliboba@nioch.nsc.ru

² ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии "Вектор" (ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор"), Россия, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово.

Синтезированы новые производные 1-арил-3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}мочевины и изучена их противовирусная активность в отношении вируса осповакцины. Выраженную активность показали 3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}-1-(4-метилфенил)мочевина, гидрат 3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}-1-(3-фторфенил)мочевины и 3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}-1-(фенил)тиомочевина.

Ключевые слова: арилизоцианаты; арилизиотиоцианаты; 1-арил-3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}мочевины; вирус осповакцины; противовирусная активность; фармакологическое действие.

Среди производных трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6,7-дикарбоновой кислоты — N-амидов 4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-3,5-диона (I) — найдены высокоэффективные противовирусные препараты, обладающие высокой активностью, низкой токсичностью и продолжительным действием в отношении ортопоксвирусов [1 – 8]. Однако проблема синтеза новых противовирусных препаратов с различными структурными характеристиками и механизмами действия, а также разработка на их основе новых противовирусных лекарств является весьма важной и актуальной, так как спектр антиортопоксвирусных соединений не должен быть ограниченным, поскольку в геноме ортопоксвирусов могут появляться мутации, обуславливающие их устойчивость к лекарственным препаратам.

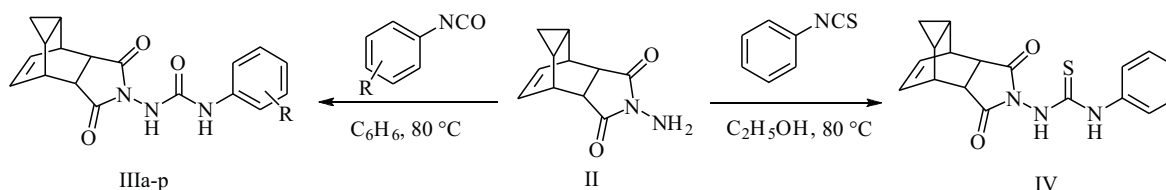


R = p-CF₃ (ST-246, Tecovirimat)

Известно, что ацилированные по N¹-атому производные семикарбазида и тиосемикарбазида обладают широким спектром биологической активности: противовирусной [9, 10], антибактериальной и противогрибковой [11 – 15], противораковой [16, 17], антиконвульсантной и нейротоксичной [18, 19], противотуберкулезной [20]. В настоящей работе осуществлен синтез производных семикарбазида и тиосемикарбазида, ацилированных по N¹-атому остатком трицикло[3.2.2.0^{2,4}]нон-8-ен-6,7-дикарбоновой кислоты, и определена их противовирусная активность в отношении ортопоксвирусов. Эти соединения можно рассматривать как близкие аналоги соединений I, в которых между карбамидной группой и ароматическим кольцом введен атом азота, поэтому есть основания полагать для этих соединений активность в отношении ортопоксвирусов.

Взаимодействием 4-амино-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-3,5-диона (II) с арилизоцианатами в бензоле при кипячении в течение 12 ч были получены 1-арил-3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]}додец-11-ен-4-ил}мочевины (IIIa-p), а реакция амина (II) с фенилизиотиоцианатом в кипящем

Схема 1



II: a) R = H; b) R = 2-Me; c) R = 3-Me; d) R = 4-Me; e) R = 2-MeO; f) R = 3-MeO; g) R = 4-MeO; h) R = 3-F; i) R = 4-Fi; j) R = 2-Cl; k) R = 3-Cl; l) R = 3,5-Cl₂; m) R = 2,6-Me₂; n) R = 2,6-Me₂; o) R = 4-CF₃; p) R = 4-CO₂Et

этиловом спирте привела к 3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}-1-(4-фенил)гиомочевине (IV) (схема 1).

Все синтезированные соединения представляют собой бесцветные кристаллические, высокоплавкие вещества, растворимые в диметилсульфоксиде (ДМСО), диметилформамиде (ДМФА), умеренно растворимые в спиртах и хлороформе, не растворимые в диэтиловом эфире, гексане, воде. Строение полученных соединений подтверждено данными элементного анализа, ЯМР ¹H, ¹⁹F и ИК-спектров.

Экспериментальная химическая часть

ИК-спектры таблеток соединений в КВг (концентрация 0,25 %) зарегистрированы на спектрометре Bruker Vector 22 FT-IR. Спектры ЯМР ¹H и ¹⁹F записаны на приборе “Bruker AM-400” с рабочей частотой 400,136 и 376,46 МГц соответственно. В качестве внутренних стандартов использовались сигналы растворителя (ДМСО-d₆; 2,50 м.д. для ¹H) и внешний стандарт для ¹⁹F (гексафторбензол). Элементный анализ выполнен на автоматическом элементном CHNS-анализаторе “Euro EA3000” и полученные данные соответствуют вычисленным значениям. Температуры плавления определены на приборе “Mettler Toledo” и не корректировались. Контроль за ходом реакций осуществляли с помощью ТСХ на пластинках Silufol UV-254, элюент хлороформ — метанол (20:1), проявление УФ-облучением.

Все растворители очищали в соответствии с существующими стандартными методиками. 4-Амино-4-азатетрацикло-[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-3,5-дион (II) получен по методике [21].

Выходы, температуры плавления, брутто-формулы и данные ИК-спектров синтезированных соединений представлены в табл. 1, данные спектров ЯМР ¹H и ¹⁹F — в табл. 2, результаты биологических испытаний представлены в табл. 3.

1-Арил-3-{3,5-диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}мочевины (IIIa-p). (Общая методика). Раствор эквимольных количеств соединения II и арилизоцианата (10 ммоль) в 25 мл бензола кипятят до полного расходования исходных соединений (примерно в течение 12 ч). Растворитель отгоняют в вакууме водоструйного насоса. Остаток кристаллизуют из водного (60 %) метанола.

3-{3,5-Диоксо-4-азатетрацикло[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]додец-11-ен-4-ил}-1-(4-фенил)гиомочевина (IV). Раствор эквимольных количеств соединения II и фенилизотиоцианата (10 ммоль) в 25 мл этанола кипятят до полного расходования исходных соединений (в течение 10 ч). Реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре этанолом (10 мл), водой (2 раза по 10 мл), сушат на воздухе до постоянной массы.

Экспериментальная биологическая часть

Скрининг цитотоксичности и противовирусной активности. Для оценки противовирусной активно-

Таблица 1

Выходы, температуры плавления, брутто-формулы, данные ИК-спектров соединений IIIa – p, IV

Соединение	Выход, %	T _{пл} , °C	Брутто-формула	ИК-спектр, ν _{max} , см ⁻¹
IIIa	89	204 – 201	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O ₃	733, 1157, 1192, 1225, 1313, 1417, 1442, 1497, 1558, 1601, 1724, 1788, 2956, 3047, 3101, 3147, 3209, 3338
IIIb	95	120 – 121	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₃	733, 1200, 1298, 1543, 1726, 1788, 2954, 3010, 3321
IIIc	84	188 – 189	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₃ · 0,5H ₂ O	731, 1240, 1308, 1491, 1558, 1610, 1716, 1786, 2954, 3319, 3452
IIIд	95	211 – 212	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₃	737, 822, 1157, 1200, 1412, 1556, 1603, 1657, 1724, 1790, 3012, 3030, 3051, 3319
IIIe	90	202 – 203	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₄	733, 1041, 1223, 1462, 1543, 1607, 1726, 1788, 2943, 3014, 3435
IIIf	93	178 – 179	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₄	731, 777, 854, 1043, 1157, 1209, 1238, 1304, 1462, 1493, 1560, 1603, 1713, 1790, 2837, 2954, 3350
IIIg	84	117 – 118	C ₁₉ H ₁₉ N ₃ O ₄ · H ₂ O	733, 825, 1041, 1246, 1298, 1414, 1512, 1547, 1603, 1720, 1786, 2834, 2953, 3313, 3458
IIIh	86	160 – 161	C ₁₈ H ₁₆ FN ₃ O ₃ · H ₂ O	733, 1219, 1238, 1282, 1444, 1493, 1549, 1610, 1718, 1784, 2953, 3007, 3309, 3444
IIIi	79	182 – 183	C ₁₈ H ₁₆ FN ₃ O ₃	731, 823, 1211, 1313, 1512, 1566, 1620, 1718, 1778, 2958, 3338
IIIj	71	117 – 119	C ₁₈ H ₁₆ ClN ₃ O ₃ · 0,5H ₂ O	735, 1200, 1306, 1441, 1539, 1595, 1714, 1790, 2958, 3010, 3349, 3400
IIIk	73	194 – 196	C ₁₈ H ₁₆ ClN ₃ O ₃	733, 771, 831, 1203, 1273, 1423, 1481, 1552, 1601, 1716, 1776, 2951, 3020, 3053, 3346
IIIл	75	233 – 234	C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ O ₃	733, 835, 1203, 1448, 1552, 1595, 1711, 1776, 2947, 3196, 3309, 3350
IIIm	75	206 – 207	C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ N ₃ O ₃ · 0,5H ₂ O	735, 785, 1198, 1234, 1493, 1533, 1720, 1790, 3007, 3315, 3390, 3440
IIIn	90	195 – 196	C ₂₀ H ₂₁ N ₃ O ₃ · H ₂ O	733, 1205, 1520, 1545, 1639, 1718, 1784, 2953, 3008, 3161, 3309, 3471
IIIo	97	229 – 230	C ₁₉ H ₁₆ F ₃ N ₃ O ₃	729, 837, 1070, 1115, 1159, 1201, 1221, 1333, 1414, 1558, 1610, 1720, 1778, 2956, 3007, 3323
IIIp	87	140 – 142	C ₂₁ H ₂₁ N ₃ O ₅ · H ₂ O	735, 1111, 1244, 1277, 1412, 1541, 1601, 1718, 1784, 2978, 3315, 3448
IV	85	176 – 177	C ₁₈ H ₁₇ N ₃ O ₂ S	733, 1205, 1358, 1497, 1539, 1720, 1780, 2953, 3007, 3315, 3471

сти и токсичности синтезированных соединений использовали культуру клеток почки африканской зеленой мартышки (*Vero*) из коллекции ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор”. Инфицирование клеток производили типичным представителем ортопоксвирусов — вирусом ос-

повакцины (штамм Копенгаген), полученным из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ “Вектор”. Монослой клеток *Vero* выращивали в лунках 96-луночных планшетов в среде DMEM (ООО “БиолоТ”,

Таблица 2

Данные спектров ЯМР ^1H и ^{19}F синтезированных в работе соединений

Соединение	Химические сдвиги протонов, δ , м.д., J, Гц
Ша	0,05 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,6 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,14 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (м, 2H, H-C=C-H), 6,98 (т, 1H, J 7,3 Гц, Ar (H ⁴)), 7,26 (т, 2H, J 7,6 Гц, Ar (H ^{3,5})), 7,40 (д, 2H, J 7,6 Гц, Ar (H ^{2,6})), 8,52 (уш. с, 1H, NH), 8,93 (уш. с, 1H, NH)
Шб	0,05 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 2,19 (с, 3H, CH ₃), 3,13 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (уш. с, 2H, H-C=C-H), 7,01 (т, 1H, J 7,1 Гц, Ar (H ⁴)), 7,13 (д, 1H, J 7,6 Гц, Ar (H ³)), 7,17 (т, 1H, J 7,6 Гц, Ar (H ⁵)), 7,52 (уш. с, 1H, Ar (H ⁶)), 8,16 (уш. с, 1H, NH), 8,95 (уш. с, 1H, NH)
Шс	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 2,25 (с, 3H, CH ₃), 3,13 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (дт, 2H, J 3,7 Гц, J 4,8 Гц, H-C=C-H), 6,80 (д, 1H, J 7,0 Гц, Ar (H ⁴)), 7,19 (м, 3H, Ar (H ^{2,5,6})), 8,85 (уш. м, 2H, NH)
Шд	0,06 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,17 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 2,24 (с, 3H, CH ₃), 3,13 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (дт, 2H, J 3,5 Гц, J 4,8 Гц, H-C=C-H), 7,07 (д, 2H, J 8,3 Гц, Ar (H ^{3,5})), 7,28 (д, 2H, J 8,3 Гц, Ar (H ^{2,6})), 8,61 (уш. с, 1H, NH), 8,70 (уш. с, 1H, NH)
Ше	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,15 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 3,86 (с, 3H, CH ₃ O), 5,74 (м, 2H, H-C=C-H), 6,87 (дт, 1H, J 1,2 Гц, J 7,6 Гц, Ar (H ⁵)), 6,97 (дт, 1H, J 1,2 Гц, J 7,6 Гц, Ar (H ⁴)), 7,01 (дт, 1H, J 1,2 Гц, J 7,6 Гц, Ar (H ³)), 7,90 (д, 1H, J 7,6 Гц, Ar (H ⁶)), 8,24 (уш. с, 1H, NH), 9,11 (уш. с, 1H, NH)
Шф	0,05 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,14 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 3,71 (с, 3H, CH ₃ O), 5,73 (м, 2H, H-C=C-H), 6,56 (дт, 1H, J 2,4 Гц, J 8,2 Гц, Ar (H ⁴)), 6,94 (дт, 1H, J 1,0 Гц, J 8,2 Гц, Ar (H ⁶)), 7,08 (уш. с, 1H, Ar (H ²)), 7,16 (т, 1H, J 8,2 Гц, Ar (H ⁵)), 8,47 (уш. с, 1H, NH), 8,94 (уш. с, 1H, NH)
Шг	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,15 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,12 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 3,70 (с, 3H, CH ₃ O), 5,72 (м, 2H, H-C=C-H), 6,84 (д, 2H, J 9,0 Гц, Ar (H ^{3,5})), 7,30 (д, 2H, J 9,0 Гц, Ar (H ^{2,6})), 8,41 (уш. с, 1H, NH), 8,80 (уш. с, 1H, NH)
Шh ¹⁾	0,05 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,22 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,0 Гц, H-C-H циклопропана), 1,14 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,14 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (м, 2H, H-C=C-H), 6,79 (дт, 1H, J 2,0 Гц, J 8,0 Гц, Ar (H ⁴)), 7,16 (д, 1H, J 7,9 Гц, Ar (H ⁶)), 7,28 (дт, 1H, J 7,2 Гц, J 8,0 Гц, Ar (H ⁵)), 7,39 (д, 1H, J 11,7 Гц, Ar (H ²)), 8,64 (уш. с, 1H, NH), 9,17 (уш. с, 1H, NH)
Шi ²⁾	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана), 1,15 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,13 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,72 (м, 2H, H-C=C-H), 7,10 (т, 2H, J 8,8 Гц, Ar (H ^{3,5})), 7,41 (дт, 2H, J 5,0 Гц, J 8,8 Гц, Ar (H ^{2,6})), 8,52 (уш. с, 1H, NH), 9,00 (уш. с, 1H, NH)
Шj	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,8 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,15 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,16 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,74 (м, 2H, H-C=C-H), 7,06 (т, 1H, J 7,9 Гц, Ar (H ⁴)), 7,28 (т, 1H, J 7,9 Гц, Ar (H ⁵)), 7,46 (д, 1H, J 7,9 Гц, Ar (H ³)), 7,94 (уш. с, Ar (H ⁶)), 8,40 (уш. с, 1H, NH), 9,20 (уш. с, 1H, NH)
Шк	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,14 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,73 (м, 2H, H-C=C-H), 7,03 (д, 1H, J 7,3 Гц, Ar (H ⁴)), 7,29 (м, 2H, Ar (H ^{3,5,6})), 7,60 (с, 1H, Ar (H ²)), 8,65 (уш. с, 1H, NH), 9,18 (уш. с, 1H, NH)
Шл	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,25 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,4 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,15 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,74 (м, 2H, H-C=C-H), 7,19 (с, 1H, Ar (H ⁴)), 7,51 (с, 2H, Ar (H ^{2,6})), 8,89 (уш. с, 1H, NH); 9,45 (уш. с, 1H, NH)
Шm	0,03 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,23 (дт, 1H, J 5,6 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,11 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,24 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,70 (м, 2H, H-C=C-H), 7,31 (т, 1H, J 8,1 Гц, Ar (H ⁴)), 7,50 (д, 2H, J 8,1 Гц, Ar (H ^{3,5})), 8,60 (уш. с, 1H, NH), 9,08 (уш. с, 1H, NH)
Шn	0,03 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,23 (дт, 1H, J 5,7 Гц, J 7,2 Гц, H-C-H циклопропана), 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 2,13 (с, 6H, CH ₃), 3,11 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,24 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,70 (м, 2H, H-C=C-H), 7,05 (м, 3H, Ar (H ^{3,4,5})), 8,11 (уш. с, 1H, NH), 8,79 (уш. с, 1H, NH)
Шo ³⁾	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана); 0,24 (дт, J 5,6 Гц, 1H, J 7,3 Гц, H-C-H циклопропана); 1,16 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана); 3,15 (м, 2H, H-C-CH=CH); 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O); 5,74 (м, 2H, H-C=C-H); 7,63 (с, 4H, Ar-H), 8,71 (уш. с, 1H, NH); 9,34 (уш. с, 1H, NH)
Шр	0,04 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,4 Гц, H-C-H циклопропана), 1,15 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 1,29 (т, 3H, J 7,1 Гц, CH ₃), 3,15 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,26 (м, 2H, HC-CH-C=O), 4,26 (кв, 2H, J 7,1 Гц, CH ₃ CH ₂ O), 5,73 (дт, 2H, J 3,7 Гц, J 4,9 Гц, H-C=C-H), 7,55 (д, 2H, J 8,6 Гц, Ar (H ^{2,6})), 7,87 (д, 2H, J 8,6 Гц, Ar (H ^{3,5})), 8,68 (уш. с, 1H, NH), 9,25 (уш. с, 1H, NH)
IV	0,03 (м, 1H, H-C-H циклопропана), 0,24 (дт, 1H, J 5,5 Гц, J 7,4 Гц, H-C-H циклопропана), 1,17 (м, 2H, H-C-C-H циклопропана), 3,13 (м, 2H, H-C-CH=CH), 3,25 (м, 2H, HC-CH-C=O), 5,72 (м, 2H, H-C=C-H), 7,15 – 7,45 (м, 5H, C ₆ H ₅), 9,81 (уш. с, 1H, NH), 10,17 (уш. с, 1H, NH)

¹⁾ Спектр ЯМР ^{19}F (δ , м.д.): 51,40. ²⁾ Спектр ЯМР ^{19}F (δ , м.д.): 42,72. ³⁾ Спектр ЯМР ^{19}F (δ , м.д.): 103,45.

Таблица 3
Противовирусная активность соединений IIIa – p, IV и ST-246 в отношении вируса осповакцины (штамм Копенгаген) в культуре клеток Vero

Соединение	TC ₅₀ , мкг/мл	IC ₅₀ , мкг/мл	IS (TC ₅₀ /IC ₅₀)
IIIa	100	0,94	> 100
IIIb	> 100	1,15	> 87
IIIc	> 100	3,83	> 26
IIIд	100	0,19	> 520
IIIe	33	> 33	1
IIIf	80	> 80	1
IIIg	> 100	9,41	> 10
IIIh	> 100	0,175	> 570
IIIi	> 100	0,695	> 140
IIIj	59	0,352	167
IIIk	> 100	0,328	305
III	37	> 37	1
IIIм	> 100	3,06	> 30
IIIн	> 100	3,27	> 30
IIIо	> 100	13,0	> 7,6
IIIр	100	19,25	5
IV	> 100	0,175	> 570
ST-246 (препарат сравнения)	> 100	0,001	> 100000

Россия) в присутствии 2 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (“HyClone”, США) с добавлением гентамицина (40 МЕ/мл) и амфотерицина В (5 мкг/мл). При культивировании клеток с вирусом использовали поддерживающую питательную среду такого же состава. Оценку противовирусной эффективности препаратов проводили следующим образом. Готовили растворы исследуемых соединений в ДМСО с концентрацией 20 мг/мл, из которых делали 3 – 5-кратные разведения в культуральной питательной среде DMEM. При этом начальная концентрация препаратов в лунках планшета составляла 100 мкг/мл. В половину лунок 96-луночных планшетов, содержащих монослой клеток Vero в 100 мкл среды DMEM с 2 % эмбриональной сыворотки, сначала вносили по 50 мкл серийных разведений исследуемых соединений, а потом — по 50 мкл суспензии вируса осповакцины в дозе 1000 БОЕ/лунку (бляшкообразующих единиц на лунку). Вторую половину лунок планшета использовали для оценки токсичности соединений. Токсическую активность соединений определяли по гибели клеток под воздействием препарата в лунках планшета, в которые вирус не вносили. В качестве контроля использовали монослой клеток в лунках планшета, в которые вносили вирус без соединений (контроль вируса) и монослой клеток в лунках, в которые не вносили ни вирус, ни соединения (контроль клеток). В качестве положительного контроля использовали химическое соединение с установленной противооспенной активностью ST-246 (I, R = 4-CF₃), синтезированное по описанной методике [1, 2].

Через 4 сут инкубирования в лунки добавляли витальный краситель нейтральный красный, который поглощался живыми клетками. В лунках, где клетки были разрушены вирусом или повреждены в результа-

те токсического воздействия соединения, поглощения красителя не происходило. После удаления красителя и отмывки лунок от его несвязавшейся фракции добавляли лизирующий буфер. Количество красителя, адсорбированное живыми клетками монослоя, оценивали по оптической плотности (ОП), которая является показателем количества жизнеспособных клеток в монослое. ОП в лунках с препаратом и вирусом в сравнении с ОП контроля вируса отражает противовирусную активность соединения, а в сравнении с ОП контроля клеток — его токсичность. ОП растворов в лунках планшетов измеряли при помощи планшетного спектрофотометра E-Max (Molecular Devices США) при длине волны 490 нм. Результаты обрабатывали с помощью программы Soft Max Pro 4.0, которая высчитывала значения 50 % токсической концентрации (TC₅₀ в мкг/мл) и 50 % ингибирующей концентрации (IC₅₀ в мкг/мл) препаратов. По соотношению 50 % токсической и ингибирующей концентраций определяли индекс селективности (IS) препаратов: IS = TC₅₀/IC₅₀.

Таким образом, соединения IIIa, d, h – k и IV обладают заметной активностью в отношении вируса осповакцины, судя по показателям IS (табл. 3) [22]. Вместе с тем относительно невысокие значения IS по сравнению с аналогичным показателем для ST-246 у исследованных соединений предполагают дальнейший поиск и исследование соединений данного класса, обладающих большей эффективностью в отношении ортопоксвирусов.

ЛИТЕРАТУРА

1. T. R. Bailey, S. R. Rippin, E. Opsitnick, et al., *J. Med. Chem.*, **50**(7), 1442 – 1444 (2007).
2. Патент США 20120020922, *Chem. Abstr.*, **156**, 222467 (2012).
3. Патент РФ 2412168 (2011), *Chem. Abstr.*, **154**, 276035 (2011).
4. Патент РФ 2440983 (2012), *Chem. Abstr.*, **156**, 230441 (2012).
5. Патент РФ 2423359 (2011), *Chem. Abstr.*, **155**, 173303 (2011).
6. Патент РФ 2424800 (2011), *Chem. Abstr.*, **155**, 231116 (2011).
7. Патент РФ 2412167 (2011), *Chem. Abstr.*, **154**, 276034 (2011).
8. Б. А. Селиванов, Е. Ф. Беланов, Н. И. Бормотов и др., *Докл. АН*, **441**(3), 414 – 418 (2011).
9. T. K. Venkatachalam, C. Mao, F. M. Uckun, *Bioorg. Med. Chem.*, **12**(15), 4275 – 4284 (2004).
10. M. Verma, K. N. Singh, E. D. Clercq, *Heterocycles*, **68**(1), 11 – 22 (2006).
11. J. D. Bloom, R. G. Dushin, K. J. Curran, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**(13), 3401 – 3406 (2004).
12. P. P. Seth, R. Ranken, D. E. Robinson, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**(22), 5569 – 5572 (2004).
13. M. S. Mohamed, M. M. Kamel, E. M. M. Kassem, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **45**(10), 3311 – 3319 (2010).
14. M. A. Hassan, A. M. M. Younes, M. M. Taha, et al., *Eur. J. Chem.*, **2**(4), 514 – 518 (2011).
15. M. Struga, J. Kossakowski, E. Kedzierska, et al., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**(5), 796 – 799 (2007).
16. Патент США 20060014770, *Chem. Abstr.*, **144**, 121774 (2006).
17. Патент США 5591842, *Chem. Abstr.*, **126**, 157762 (1997).
18. P. Yogeewari, D. Sriram, V. Saraswat, et al., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **20**(3), 341 – 346 (2003).
19. M. J. Kornet, W. Beaven, T. Varia, *J. Het. Chem.*, **22**(4), 1089 – 1091 (1985).
20. D. Atukuri, P. Kattimani, R. Kamble, *Org. Commun.*, **4**(4), 94 – 104 (2011).

21. B. Stanovnik, M. Tisler, *Org. Prep. Proceed. Int.*, **5**(2), 87 – 93 (1973).
22. А. Н. Миронов, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, часть 1, Министер-

ство здравоохранения и социального развития РФ, ФГБУ “Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва (2012).

Поступила 17.03.15

SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF 1-ARYL-3-{3,5-DIOXO-4-AZATETRACYCLO[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]-DODEC-11-EN-4-YL}UREAS

B. A. Selivanov^{1*}, A. Ya. Tikhonov¹, E. F. Belanov², N. I. Bormotov², A. S. Kabanov², O. Yu. Mazurkov², O. A. Serova², L. N. Shishkina², A. P. Agafonov², and A. N. Sergeev²

¹ N. N. Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

² VECTOR State Research Center of Virology and Biotechnology, Koltsovo, Novosibirsk oblast, 630559 Russia

* e-mail: seliboba@nioch.nsc.ru

A series of new 1-aryl-3-{3,5-dioxo-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-4-yl}ureas have been synthesized by reaction of 4-amino-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-3,5-dione (II) with aryl isocyanates and phenyl isothiocyanate. The structures of obtained compounds have been confirmed by means of IR and ¹H NMR spectroscopy. Some of these compounds possess pronounced antiviral activity against smallpox vaccine virus. The maximum level of activity was observed for 3-{3,5-dioxo-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-4-yl}-1-(4-methylphenyl)urea, 3-{3,5-dioxo-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-4-yl}-1-(3-fluorophenyl)urea hydrate, and 3-{3,5-dioxo-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-4-yl}-1-(phenyl)thiourea.

Keywords: arylisocyanates, arylisothiocyanates; 1-aryl-3-{3,5-dioxo-4-azatetracyclo[5.3.2.0^{2,6}.0^{8,10}]dodec-11-en-4-yl}ureas; smallpox vaccine virus; antiviral activity; pharmacological properties.

Индийский государственный банк «Export-Import Bank of India», сотрудничающий с Индийской ассоциацией производителей фармацевтического оборудования – **Indian Pharma Machinery Manufacturers Association (IPMMA)**,



предоставит **кредит на длительный срок по низкой ставке (2-4 % годовых в валюте)** под закупку оборудования для производства фармацевтической продукции, изготовленной индийскими компаниями.



На вопросы по получению кредита готовы ответить по тел.: +7 985 211-99-64; email: dg_fatkulin@elliron.com