

СИНТЕЗ І ЦИТОТОКСИЧНІСТЬ АМІНОЕТОКСИДИФЕНІЛІВ

С.О.Заноза, Г.В.Мальцев, С.А.Ляхов, С.А.Андронаті, М.Ю.Зубрицький*,
О.С.Богорад-Кобельська**, О.В.Плотка**, Н.М.Жолобак**, М.Я.Співак**

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86. E-mail: office.physchem@nas.gov.ua

* Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії ім. Л.М.Литвиненка НАН України

** Інститут мікробіології та вірусології ім. Д.К.Заболотного НАН України

Ключові слова: діаміноетоксицифеніли; противірусні препарати; цитотоксичність

Механізм реалізації противірусної активності (ПА) та індукції інтерферону (ІФН) планарними поліциклічними сполуками досі не встановлено, хоча висунута нами гіпотеза про пріоритетну роль інтеркаляції в двоспиральні нуклеїнові кислоти (НК) набула вагомих аргументів на свою користь в наших роботах та роботах іноземних колег. З іншого боку, наявність ПА та здатності індукувати ІФН у похідних дифенілу, не здатних до інтеркаляції у НК, вказує на можливість реалізації альтернативних механізмів. Це й спричинило наш інтерес до поглибленого дослідження аміноалкоксицифенілів (АЕД), початку якого – синтезу та дослідженню цитотоксичності АЕД і присвячена ця стаття. Алкілюванням дигідроксибіфенілу дихлороетаном у суміші водного розчину гідроксиду натрію (20%) з 1,2-дихлороетаном у присутності тетрабутиламонію хлориду (ТБАХ) отримано 4,4'-біс-(2-хлороетокси)біфеніл. Заміну хлору на йод проводили в суміші ксилолу з водним розчином йодиду натрію в присутності ТБАХ з наступним амінуванням низкою первинних та вторинних амінів; синтезована низка АЕД. В мас-спектрах з іонізацією БПА синтезованих сполук наявні інтенсивні піки протонованих молекулярних іонів (МІ), найбільш типовим шляхом фрагментації МІ є розрив зв'язку PhO-CH₂ з відщепленням бокового аміноалкільного фрагменту. В ІЧ-спектрах наявні смуги поглинання, характерні для зв'язків С-Н (аром.), С-Н (аліф), С-О-С та NH протонованих термінальних аміногруп. У спектрах ¹H-ЯМР наявні сигнали від ароматичних та аліфатичних протонів, мультиплетність та інтегральна інтенсивність яких відповідає приписуваним структурам. На клітинах ПТП вивчена цитотоксичність низки 4,4'-біс-(2-аміноетокси)цифенілів, значення якої зіставні з токсичністю аміксину та знаходяться в діапазоні від низьких до помірних.

SYNTHESIS AND CYTOTOXICITY OF AMINOETHOXYDIPHENYLS

S.O.Zanoza, G.V.Maltzev, S.A.Lyakhov, S.A.Andronati, M.Yu.Zubritskiy, O.S.Bogorad-Kobelska, O.V.Plotka, N.M.Zholobak, M.Ya.Spivak

Key words: diaminoethoxydiphenyls; antiviral drugs; cytotoxicity

The implementation mechanism of the antiviral activity (AA) and interferon induction (IFI) by planar polycyclic compounds has not yet been determined. However, our hypothesis of the priority role of intercalation in double strand nucleic acids (NA) has gained strong arguments in its favour in our works and the works of foreign colleagues. On the other hand, the presence of AA and the ability to induce IFI in biphenyl derivatives that are incapable to intercalate in NA indicates the possibility of implementing alternative mechanisms. This determined our interest to the study of aminoethoxydiphenyls (AED), which synthesis and investigation of cytotoxicity become the subject of this article. 4,4'-Bis-(2-chloroethoxy)diphenyl was obtained by alkylation of dihydroxydiphenyl with dichloroethane in its mixture with aqueous sodium hydroxide (20%) in the presence of tetrabutylammonium chloride (TBAC). Series of AED were synthesized by substitution of chlorine by iodine in the mixture of xylene with the aqueous solution of sodium iodide in the presence of TBAC with subsequent amination with primary and secondary amines. The protonated molecular ions (MI) intensive peaks of the compounds synthesized are observed in the mass spectra with FAB ionization. The most common way of MI fragmentation is PhO-CH₂-bond cleavage following the side aminoalkyl fragment detachment. Absorption bands typical for CH (arom.), CH (aliph.), COC bonds and NH protonated terminal amino groups are present in IR spectra. In the ¹H-NMR spectra signals from aromatic and aliphatic protons present, multiplicity and integral intensity correspond to the attributed structures. Cytotoxicity of the compounds synthesized was tested using EPT cells in vitro. All AED tested appeared to be comparable to amixine and are in the range from low to moderate cytotoxicity.

СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ АМИНОЭТОКСИДИФЕНИЛОВ

С.А.Заноза, Г.В.Мальцев, С.А.Ляхов, С.А.Андронаті, М.Ю.Зубрицький, Е.С.Богорад-Кобельская, Е.В.Плотка, Н.М.Жолобак, Н.Я.Співак

Ключевые слова: диаминэтоксицифенілы; противовирусные препараты; цитотоксичность

Механізм реалізації противовирусної активності (ПА) і індукції інтерферону (ІФН) планарними поліциклічними соединениями до сих пор не встановлен, хоча выдвинутая нами гіпотеза о пріоритетной роли інтеркаляції в двухспиральные нуклеиновые кислоты (НК) получила весомые аргументы в свою пользу в наших работах и работах зарубежных коллег. С другой стороны, наличие ПА и способности индуцировать ІФН в производных дифеніла, не способных к інтеркаляції в НК, указывает на возможность реалізації альтернативных механізмів. Это и определило наш интерес к развернутому исследованию аміноалкоксицифеніла (ААД), началу которого – синтезу и исследованию цитотоксичности ААД и посвящена эта статья. Алкілюванням дигідроксибіфеніла дихлорэтаном в смеси водного раствора гидроксида натрия (20%) с 1,2-дихлорэтаном в присутствии тетрабутиламонія хлоріда (ТБАХ) получен 4,4'-біс-(2-хлорэтокси) біфеніл. Замена хлора на йод проводили

в смесі ксилола с водним раствором йодіда натрія в присутствіи ТБАЙ с последующим аминированием рядом первичных и вторичных аминов; синтезирован ряд АЭД. В масс-спектрах с ионизацией БУА синтезированных соединений имеются интенсивные пики протонированных молекулярных ионов (МИ), наиболее типичным путем фрагментации МИ является разрыв связи PhO-CH₂ с отщеплением бокового аминоалкильного фрагмента. В ИК-спектрах наблюдаются полосы поглощения, характерные для связей CH (аром.), CH (алиф), СОС и NH протонированных терминальных аминогрупп. В спектрах ¹H-ЯМР имеются сигналы от ароматических и алифатических протонов, мультиплетность и интегральная интенсивность которых соответствуют приписываемым структурам. На клетках ПТП изучена цитотоксичность ряда 4,4'-бис-(2-аминоэтокси)дифенилов, значения сопоставимы с цитотоксичностью амиксина и находятся в диапазоне от низких до умеренных.

Одним з найефективніших противірусних засобів широкого спектра дії є аміксин (**1**), якому притаманні: здатність індукувати інтерферон [1-5], імунотропна активність [6-8], інгібування репродукції вірусів в інтерфероннезалежний спосіб [9], протизапальна [10-12] та антиканцерогенна [13] дія, протипухлинна [14, 15] та радіопротекторна активність [16-18], афінитет до α7nAHP [19], антигіпоксична активність [20], здатність інгібувати перекисне окиснення ліпідів [21]. Якщо щодо деяких видів активності аміксину механізм їхньої реалізації можна вважати встановленим більш менш точно, то стосовно механізму реалізації противірусної та інтерфероніндукуючої активності досі немає загальноприйнятої точки зору. Раніше ми висунули припущення, що здатність інтеркалювати у ДНК може бути «пусковим механізмом» цих видів активності аміксину. Для перевірки цього припущення нами були синтезовані низки планарних сполук, що належать різним класам конденсованих карбо- та гетероциклів і показано, що цим сполукам притаманні як інтеркаляція в ДНК, так і противірусна активність та здатність індукувати інтерферон [22, 23]. Більше того, аналогічні результати були отримані іншими групами дослідників [24, 25]. З іншого боку, похідні дифенілу **2**, **3**, синтезовані нами як такі, що скоріше за все не здатні до інтеркаляції, проявили противірусні та інтерфероніндукуючі властивості аналогічно аміксину [26, 27], але ж, як і передбачалось, не інтеркалювали в ДНК (схема 1).

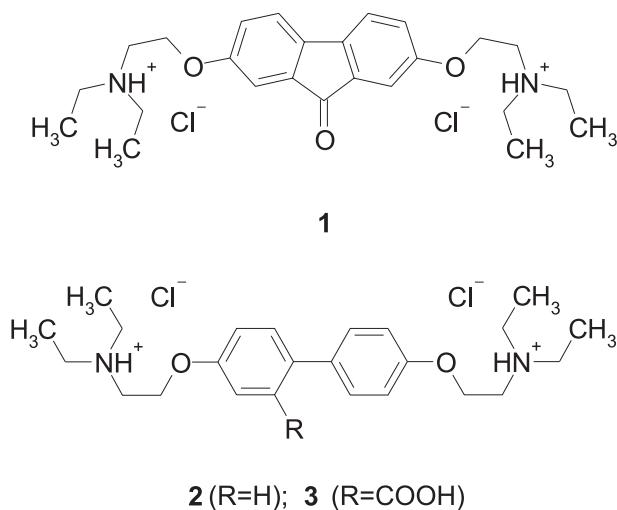


Схема 1

Саме тому похідні дифенілу, аналогічні сполукам **2** та **3**, привернули до себе нашу пильну увагу. В цій статті ми описуємо перші результати детального дослідження цих сполук, а саме їх синтез та цитотоксичні властивості.

Результати та їх обговорення

Синтез цільових сполук здійснювали за схемою 1 хлороалкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**4**) з наступною заміною хлору на йод та амінодейодуванням. 4,4'-Біс-(2-хлороетокси)біфеніл (**5**) одержували хлороалкілуванням **4** 1,2-дихлороетаном у суміші 20% водного розчину гідроксиду натрію з 1,2-дихлороетаном у присутності 10% (від кількості **4**) тетрабутиламонію броміду (ТБАБ).

4,4'-Біс-(2-йодоетокси)біфеніл (**6**) був отриманий кип'ятінням протягом 10 годин суміші розчину **5** в ксилолі (суміш ізомерів) із водним розчином йодиду натрію в присутності тетрабутиламонію йодиду (ТБАІ). Отримана таким чином сполука **6** містила домішки (на рівні 1-5% за ТШХ) продукту монозаміщення (за даними мас-спектрометрії), які не заважали проведенню наступної стадії.

4,4'-Біс-(2-аміноетокси)біфеніли **7-27** отримували взаємодією **6** з первинними або вторинними амінами при кімнатній температурі в розчині диметилформаміду протягом 10-30 діб. За даними ТШХ реакції за участю метил-, етил- та бензиламінів завершувались вже через 10 діб, а з участю дибензиламіну, 4-бензил-, 2- та 4-метилпіперидинів потребували не менше 21 діб для завершення.

Продукти реакції виділяли з розбавленої водою реакційної суміші вибірковою екстракцією хлороформом з водних розчинів при різних значеннях рН. Кінцеві продукти виділяли як дигідрохлориди висадженням розчином безводного хлористого водню в діоксані (схема 2).

У мас-спектрах з іонізацією БПА всіх синтезованих сполук спостерігаються піки, які відповідають протонованим молекулярним іонам. В більшості випадків вони є найінтенсивнішими піками в спектрах. Найбільш типовим є розрив зв'язку PhO-CH₂ з відщепленням бокового аміноалкильного фрагменту, іон якого, як правило, проявляється одним з найінтенсивніших сигналів спектра.

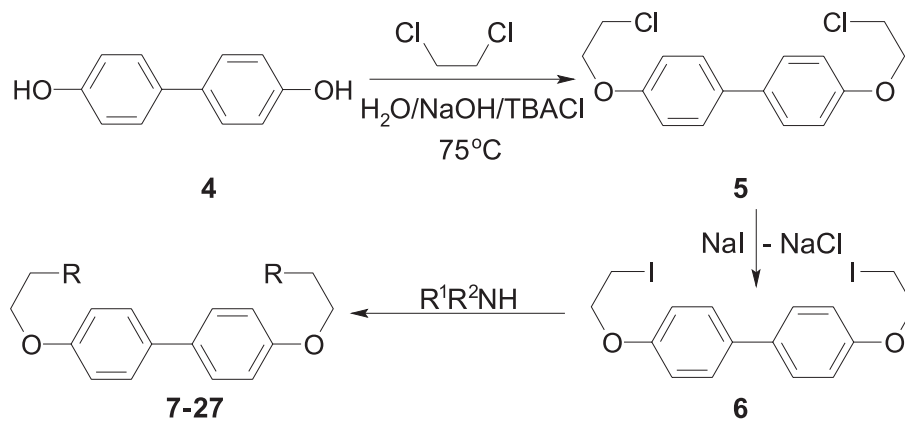


Схема 2

Таблиця 1

Будова амінів, використаних для синтезу 4,4'-біс-(2-аміноетокси)дифенілів (7-27)

Сполука	RH	Сполука	RH
7	$\text{H}_3\text{C}-\text{NH}_2$	8	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
9	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$	10	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$
11	$\text{C}_6\text{H}_{11}-\text{NH}_2$	12	$\text{H}_3\text{C}-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$
2	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	13	$\text{H}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$
14	$\text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	15	$\text{HN}(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{O}$
16	$\text{HN}(\text{C}_7\text{H}_{14})$	17	$\text{HN}(\text{C}_6\text{H}_{12})$
18	$\text{HN}(\text{C}_6\text{H}_{11})-\text{CH}_3$	19	$\text{HN}(\text{C}_6\text{H}_{11})-\text{CH}_3$
20	$\text{HN}(\text{C}_6\text{H}_{11})-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_5$	21	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$
22	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_2$	23	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$
24	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$	25	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{O}$
26	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_4)_2\text{O}$	27	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{C}_6\text{H}_{12})$

Таблиця 2

Цитотоксичність аміноетоксифенілів

Сполука	$-lgLC_{50}$	$\pm\epsilon$	Сполука	$-lgLC_{50}$	$\pm\epsilon$
1	4.28	0.01	16	5.04	0.15
2	4.85	0.03	17	4.30	0.06
7	4.41	0.02	18	4.42	0.03
8	4.97	0.06	19	3.5	
9	4.33	0.04	20	3.49	0.3
10	4.44	0.03	21	4.73	0.03
11	4.75	0.04	24	4.71	0.01
12	4.39	0.03	23	5.07	0.15
13	5.05	0.05	25	4.45	0.04
14	4.01	0.07	26	4.77	0.07
15	4.70	0.17	27	3.90	0.07

Наявність молекулярних іонів та основні шляхи їх фрагментації свідчать на користь приписуваним структурам.

В ІЧ-спектрах смуги поглинання, які відповідають коливанням зв'язків N-H протонуваних термінальних аміногруп, знаходяться при 3200-3800 cm^{-1} . Смуги, характерні для коливань C-H зв'язків ароматичних кілець, знаходяться при 3000-3050 cm^{-1} , а коливання C-O-C, характерні для етерів, спостерігаються при 1000-1100 cm^{-1} .

У спектрах 1H -ЯМР спостерігаються сигнали від протонів як ароматичної, так і аліфатичної «частини» молекули, причому співвідношення інтегральних інтенсивностей цих сигналів відповідають розрахунковим для приписуваних структур. Протонам ароматичної частини молекули відповідають два дублети при 7.43-7.47 та 6.92-6.97 м.ч. Протони аміноетоксильного фрагменту проявляються на спектрі двома триплетами при 4.08-4.14 та 2.74-3.06 м.ч. Характер та розташування сигналів від протонів аліфатичної частини амінного фрагменту залежать від будови останнього та знаходяться при менших значеннях хімічного зсуву.

Цитотоксичність похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу

Цитотоксичність сполук *in vitro* визначали за величиною $-lgLC_{50}$ (LC_{50} – їх концентрацією, що призводила до загибелі 50% клітин). Цю величину отримували нелінійною апроксимацією (крива доза-ефект) залежності ступеня летальності від негативного логарифму концентрації досліджуваних сполук. Отримані результати наведені в табл. 2. Більшість сполук характеризується значеннями LC_{50} в діапазоні 10-100 мкМ.

Найменшу цитотоксичність проявили сполуки, які містять 4-заміщений піперидин як термінальну аміногрупу (19, 20). Сполука 17, що містить незаміщений піперидин майже на один порядок більш цитотоксична за її заміщені анало-

ги. Сполуки з найбільшою цитотоксичністю (13, 16, 23) не мають загальних структурних ознак (13 – ациклічний амін, 16 – азагетероцикл, 23 – діамін), або, принаймні, такі загальні відстежити не вдається. Більшість сполук за своєю цитотоксичністю близька до аміксину (1).

Матеріали та методи

Для синтезів використовували реактиви кваліфікації не нижче «чда». Диметилформамід очищували від амінів.

ІЧ-спектри отримані на спектрофотометрі з Фур'є-перетворенням «SHIMADZU» в таблетках KBr.

Спектри 1H ЯМР реєстрували в розчинах $DMCO-d_6$ та $CDCl_3$ відносно TMS на приладі «Varian VXR-300» (300 МГц), мас-спектри БША – на спектрометрі «VG 70-70 EQ» (іонізацію здійснювали пучком атомів аргону з енергією 10 кВ; речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті), мас-спектри електронного удару – на спектрометрі «MX-1321» (із прямим введенням зразка, температура випромінювача – 220°C, іонізацію здійснювали пучком електронів з енергією 70 eV).

Для контролю чистоти синтезованих речовин використовували метод ТШХ на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-У-254» із використанням елюентів різного складу (хлороформ-ацетон 10:1; бензол-триетиламін 10:1; бензол-триетиламін-метанол 10:2:1).

Для приготування буферних, проміжних і робочих розчинів застосовані реактиви кваліфікації не нижче «хч» і дистильована вода. Досліджувані сполуки були хроматографічно гомогенними при нанесенні на пластинку 100 мкг. Для приготування розчинів використано мірний посуд різного номіналу II класу точності.

Синтез 4,4'-біс-(2-хлороетокси)дифенілу (5).

Суміш 20 г (0,11 Моль) 4,4'-діоксидифенілу (4), 200 мл (250 г, 2,53 Моль) 1,2-дихлороетану, 50 мл 50% розчину гідроксиду натрію та 8,75 г (0,027 Моль) тетрабутиламонію хлориду інтенсивно перемішують при 75°C впродовж 16 годин. Охолоджують, органічний шар відокремлюють, промивають водою, висушують хлоридом кальцію та випаровують на ротаційному випарнику досуха. Вихід продукту реакції становить 27,4 г (80%). М.В. 311.21. $C_{16}H_{16}Cl_2O_2$. Т. пл. – 190-191°C (C_7H_{16}).

Синтез 4,4'-біс-(2-йодоетокси)дифенілу (6).

До розчину 25 г (0,08 Моль) 4,4'-біс-(2-хлороетокси)дифенілу у 200 мл ксилолу додають розчин 24 г (0,16 Моль) йодиду натрію у 70 мл води та 30,11 г (0,082 Моль) тетрабутиламонію йодиду. Кип'ятять впродовж 10 годин, охолоджують, органічний шар відокремлюють, промивають 5% розчином тіосульфату натрію, водою, висушують безводним сульфатом натрію та випаровують на ротаційному випарнику досуха. Вихід становить 35,6 г

(90%). M.W. 494.11. $C_{16}H_{16}I_2O_2$. Т. пл. – 170-171°C (C_7H_{16}).

Синтез 4,4'-біс-(2-аміноетокси)дифенілів.

4,4'-Біс-(2-метиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (7). Розчиняють 1 г (0,002 Моль) 4,4'-біс-(2-йодоетокси)дифенілу у 5 мл диметилформаміду та додають 1,35 г (0,01 Моль) водного розчину метиламіну. Витримують при кімнатній температурі 5 днів. Розбавляють 200 мл води, доводять додаванням соляної кислоти рН до 2-3, екстрагують хлороформом. До водного шару додають розчин гідроксиду натрію до рН 12-13, ретельно екстрагують хлороформом, екстракт промивають водою до нейтрального рН водного шару. Органічний шар висушують безводним сульфатом натрію, випаровують на ротаційному випарнику досуха, залишок розчиняють у діоксані, переводять розчином хлористого водню в діоксані до стану дигідрохлориду, фільтрують. Осад кип'ятять у 20 мл ацетону, фільтрують. Процедуру кип'ятіння в ацетоні з наступним фільтруванням повторюють, доки речовина не буде хроматографічно гомогенною. Вихід продукту реакції – 0,220 г (30%). M.W. 373.32. Т. пл. – 221-222°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.36 с (6H, $2CH_3$); 2.76 т (J=5.7 Hz, 4H, $2CH_2$); 4.11 т (J=5.6 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.97 д (J=8.3 Hz, 4H, 4CH); 7.47 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 72.06; H 8.08; N 9.43. $C_{18}H_{24}N_2O_2$. MH^+ 301. Вирахувано, %: C 71.97; H 8.05; N 9.33.

Аналогічно одержують сполуки 8-27.

4,4'-Біс-(2-етиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (8). Вихід продукту реакції – 0,254 г (31%). M.W. 401.38. Т. пл. – 228-229°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.17 т (J=7.1 Hz, 6H, $2CH_3$); 2.73 – 2.78 к (J=7.0 Hz, 4H, $2CH_2$); 3.04 т (J=4.9 Hz, 4H, $2CH_2$); 4.13 т (J=5.3 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.96 д (J=8.3 Hz, 4H, 4CH); 7.47 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 73.07; H 8.55; N 8.58. $C_{20}H_{28}N_2O_2$. MH^+ 329. Вирахувано, %: C 73.14; H 8.59; N 8.53.

4,4'-Біс-(2-бутиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (9). Вихід продукту реакції – 0,315 г (34%). M.W. 457.49. Т. пл. – 232-233°C. Знайдено, %: C 74.97; H 9.40; N 7.33. $C_{24}H_{36}N_2O_2$. MH^+ 385. Вирахувано, %: C 74.96; H 9.44; N 7.28.

4,4'-Біс-(2-бензиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (10). Вихід продукту реакції – 0,322 г (35%). M.W. 425.52. Т. пл. – 260-261°C. Знайдено, %: C 79.51; H 7.14; N 6.23. $C_{30}H_{32}N_2O_2$. MH^+ 453. Вирахувано, %: C 79.61; H 7.13; N 6.19.

4,4'-Біс-(2-циклогексиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (11). Вихід продукту реакції – 0,371 г (30%). M.W. 509.56. Т. пл. – 264-265°C. Знайдено, %: C 77.04; H 9.18; N 6.33. $C_{28}H_{40}N_2O_2$. MH^+ 437. Вирахувано, %: C 77.02; H 9.23; N 6.42.

4,4'-Біс-(2-диметиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (12). Вихід продукту реакції – 0,269 г (34%). M.W. 401.38. Т. пл. – 255-256°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.34 с (12H, $4CH_3$); 2.74 т (J=5.6 Hz, 4H, $2CH_2$);

4.08 т (J=5.7 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.94 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH); 7.43 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 73.17; H 8.65; N 8.49. $C_{20}H_{28}N_2O_2$. MH^+ 329. Вирахувано, %: C 73.14; H 8.59; N 8.53.

4,4'-Біс-(2-діетиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (2). Вихід продукту реакції – 0,283 г (31%). M.W. 457.49. Т. пл. – 235-236°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.09 т (J=7.1 Hz, 12H, $4CH_3$); 2.66-2.71 к (J=7.1 Hz, 8H, $4CH_2$); 2.92 т (J=6.0 Hz, 4H, $2CH_2$); 4.10 т (J=6.1 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.92 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH); 7.43 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 74.99; H 9.39; N 7.35. $C_{24}H_{36}N_2O_2$. MH^+ 385. Вирахувано, %: C 74.96; H 9.44; N 7.28.

4,4'-Біс-(2-метилбутиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (13). Вихід продукту реакції – 0,272 г (28%). M.W. 485.54. Т. пл. – 244-244,5°C. Знайдено, %: C 75.72; H 9.81; N 6.83. $C_{26}H_{40}N_2O_2$. MH^+ 413. Вирахувано, %: C 75.68; H 9.77; N 6.79.

4,4'-Біс-(2-добензиламіноетокси)дифеніл дигідрохлорид (14). Вихід продукту реакції – 0,491 г (35%). M.W. 705.77. Т. пл. – 265-265,5°C. Знайдено, %: C 83.49; H 7.01; N 4.47. $C_{44}H_{44}N_2O_2$. MH^+ 633. Вирахувано, %: C 83.51; H 7.01; N 4.43.

4,4'-Біс-(2-морфоліноетокси)дифеніл дигідрохлорид (15). Вихід продукту реакції – 0,312 г (32%). M.W. 485.45. Т. пл. – 248-249°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.59 нер. т. (8H, $4CH_2$); 2.82 т (J=5.6 Hz, 4H, $2CH_2$); 3.74 м (8H, $3CH_2$); 4.14 т (J=5.6 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.93 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH); 7.43 д (J=8.3 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 69.80; H 7.78; N 6.88. $C_{24}H_{32}N_2O_4$. MH^+ 413. Вирахувано, %: C 69.88; H 7.82; N 6.79.

4,4'-Біс-(2-гексаметиленаміноетокси)дифеніл дигідрохлорид (16). Вихід продукту реакції – 0,327 г (31%). M.W. 509.56. Т. пл. – 235-236°C. Знайдено, %: C 76.97; H 9.18; N 6.43. $C_{28}H_{40}N_2O_2$. MH^+ 436. Вирахувано, %: C 77.02; H 9.23; N 6.42.

4,4'-Біс-(2-піперидиноетокси)дифеніл дигідрохлорид (17). Вихід продукту реакції – 0,345 г (35%). M.W. 481.51. Т. пл. – 255-255,6°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.44 м (4H, $2CH_2$); 1.61 м (8H, $4CH_2$); 2.52 м (8H, $4CH_2$); 2.79 т (J=6.0 Hz, 4H, $2CH_2$); 4.13 т (J=6.0 Hz, 4H, $2CH_2$); 6.92 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH); 7.43 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: C 76.38; H 8.79; N 6.93. $C_{26}H_{36}N_2O_2$. MH^+ 409. Вирахувано, %: C 76.43; H 8.88; N 6.86.

4,4'-Біс-(2-(2-метилпіперидино)етокси)дифеніл дигідрохлорид (18). Вихід продукту реакції – 0,311 г (30%). M.W. 509.56. Т. пл. – 275-275,5°C. Знайдено, %: C 77.02; H 9.17; N 6.35. $C_{28}H_{40}N_2O_2$. MH^+ 437. Вирахувано, %: C 77.02; H 9.23; N 6.42.

4,4'-Біс-(2-(4-метилпіперидино)етокси)дифеніл дигідрохлорид (19). Вихід продукту реакції – 0,305 г (29%). M.W. 509.56. Т. пл. – 280-280,5°C. Знайдено, %: C 76.93; H 9.13; N 6.44. $C_{28}H_{40}N_2O_2$. MH^+ 437. Вирахувано, %: C 77.02; H 9.23; N 6.42.

4,4'-Біс-(2-(4-бензилпіперидино)етокси)дифеніл дигідрохлорид (20). Вихід продукту реакції –

0,441 г (33%). М.В. 661.76. Т. пл. – 245-246°C. Знайдено, %: С 81.68; Н 8.28; N 4.69. $C_{40}H_{48}N_2O_2$. MH^+ 589. Вираховано, %: С 81.59; Н 8.22; N 4.76.

4,4'-Біс-(2-диметиламіноетиламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**21**). Вихід продукту реакції – 0,381 г (34%). М.В. 560.44. Т. пл. – 258-258,5°C. Знайдено, %: С 69.58; Н 9.22; N 13.49. $C_{24}H_{38}N_4O_2$. MH^+ 415. Вираховано, %: С 69.53; Н 9.24; N 13.51.

4,4'-Біс-(2-диметиламінопропіламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**22**). Вихід продукту реакції – 0,437 г (36%). М.В. 588.49. Т. пл. – 262-263°C. Знайдено, %: С 70.57; Н 9.61; N 12.65. $C_{26}H_{42}N_4O_2$. MH^+ 443. Вираховано, %: С 70.55; Н 9.56; N 12.66.

4,4'-Біс-(2-діетиламіноетиламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**23**). Вихід продукту реакції – 0,374 г (30%). М.В. 616.54. Т. пл. – 263-263,5°C. Знайдено, %: С 71.38; Н 9.85; N 11.83. $C_{28}H_{46}N_4O_2$. MH^+ 471. Вираховано, %: С 71.45; Н 9.85; N 11.9.

4,4'-Біс-(2-діетиламінопропіламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**24**). Вихід продукту реакції – 0,371 г (29%). М.В. 644.60. Т. пл. – 267-267,5°C. Знайдено, %: С 72.22; Н 10.16; N 11.17. $C_{30}H_{50}N_4O_2$. MH^+ 499. Вираховано, %: С 72.25; Н 10.1; N 11.23.

4,4'-Біс-(2-морфоліноетиламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**25**). Вихід продукту реакції – 0,392 г (30%). М.В. 644.51. Т. пл. – 271-272°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.47 нер. т (8H, 4CH₂); 2.54 т (J=6.1 Hz, 4H, 2CH₂); 2.81 т (J=6.1 Hz, 4H, 2CH₂); 3.06 т (J=5.0 Hz, 4H, 2CH₂); 3.72 т (8H, 4CH₂); 4.13 т (J=5.1 Hz, 4H, 2CH₂) 6.96 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH) 7.47 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: С 67.50; Н 8.47; N 11.23. $C_{28}H_{42}N_4O_4$. MH^+ 499. Вираховано, %: С 67.44; Н 8.49; N 11.24.

4,4'-Біс-(2-морфолінопропіламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**26**). Вихід продукту реакції – 0,386 г (28%). М.В. 672.57. Т. пл. – 277-277,5°C. Знайдено, %: С 68.38; Н 8.70; N 10.55. $C_{30}H_{46}N_4O_4$. MH^+ 527. Вираховано, %: С 68.41; Н 8.8; N 10.64.

4,4'-Біс-(2-піперидиноетиламіноетокси)дифеніл тетрагідрохлорид (**27**). Вихід продукту реакції – 0,412 г (32%). М.В. 640.57. Т. пл. – 274-275°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.44 нер. м (4H, 2CH₂); 1.56-1.62 м (8H, 4CH₂); 2.40 нер. т. (8H, 4CH₂); 2.49 т (J=6.4 Hz, 4H, 2CH₂); 2.81 т (J=6.4 Hz, 4H, 2CH₂); 3.05 т (J=5.3 Hz, 4H, 2CH₂); 4.12 т (J=5.3 Hz, 4H, 2CH₂); 6.96 д (J=8.8 Hz, 4H, 4CH); 7.46 д (J=8.6 Hz, 4H, 4CH). Знайдено, %: С 72.93; Н 9.42; N 11.25. $C_{30}H_{46}N_4O_2$. MH^+ 495. Вираховано, %: С 72.83; Н 9.37; N 11.33.

Визначення цитотоксичності

До сформованого моношару клітин ПТП у 96-луноквих планшетах («Sarstedt») додавали досліджені сполуки у концентраціях 1,0-2,0 мг/мл з послідовним двократним розведенням та вирощували клітини впродовж 24-48 годин при 37°C. На кожну концентрацію речовин використовували по 3 лунки із клітинами. Цілісність плазматичної мембрани досліджених клітин визначали за відсутністю їх забарвлення 0,5% розчином трипанового синього («Sigma»), який не проникає у живі клітини, тоді як інтенсивно накопичується у клітинах із пошкодженою мембраною. Як контроль використовували клітини, не оброблені дослідженими сполуками. Облік кількості живих клітин проводили під мікроскопом за допомогою камери Горяєва.

Висновки

Показано, що постадійне нарощування аміноалкоксильного ланцюга є ефективним та ресурсозберігаючим шляхом при синтезі низки сполук із варіюванням термінальної аміногрупи.

Синтезовані аміноетоксидифеніли, будова яких підтверджена сучасними спектральними методами, характеризуються цитотоксичністю від низької до помірної (зіставною з цитотоксичністю аміксину), що робить доцільним їх подальше дослідження як потенційних противірусних агентів та індукторів інтерферону.

Література

1. Mayer G. D., Krueger R. F. Antiviral activity of bis-DEAE-fluorenone, an oral interferone inducer – *Fed. Proc.*, 1970, Vol. 29, No.2, pp.635-640.
2. Ермольєва З. В., Корнеєва Л. Е., Балезина Т. И., Николаєва О. В., Гвазава И. С. Тилорон как индуктор интерферона – *Антибиотики*, 1973, Т. 18, No.6, с.517-520.
3. DeClercq E. Synthetic interferon inducers – *Topics in Cur. Chem.*, 1974, Vol. 52, No.2, pp.173-208.
4. Чижов Н. П., Строганов В. И. Низкомолекулярные индукторы интерферона – *Физиологически активный журнал*, 1981, №13, с.3-9.
5. Тазулахова Е. Б., Амитина Н. Н., Ершов Ф. И. Интерферониндуцирующая активность тилорона гидрохлорида – *Антибиот. мед. биотехнол.*, 1985, Т. 30, No.9, с.668-671.
6. Chandra P., Wright G. J. Tilorone hydrochloride: the drug profile – *Top. Curr. Chem.*, 1977, Vol. 72, No.1, pp.125-148.
7. Філіпова Т. О., Головенко М. Я. Тилорон: профіль біологічної активності. I. Фармакологічні властивості – *Інтегративна Антропологія*, 2006., No.1, pp.18-23.
8. Філіпова Т. О., Головенко М. Я. Тилорон: профіль біологічної активності. II. Фармакокінетика, токсичність, механізми дії – *Інтегративна Антропологія*, 2006., No.2, pp.36-41.
9. Katz E., Margalith E., Winer B. The effect of tilorone hydrochloride on the growth of several animal viruses in tissue cultures – *J. Gen. Virol.*, 1976, Vol. 31, No.1, pp.125-129.
10. Chang Y. H. Adjuvant polyarthrititis. Suppression by tilorone – *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1977, Vol. 203, No.1, pp.156-161.
11. Pasternak R. D., Marks R. L., Hubbs S. J., DiPasquale G. Effect of antirheumatic agents on the mitogen response of arthritic rat spleen cells – *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1985, Vol. 48, No.3, pp.353-367.
12. Hiyama Y., Kuriyama K. Dissociation between antiinflammatory action of tilorone and its interferon inducing activity – *Agents Actions*, 1991, Vol. 33, No.3-4, pp.229-232.
13. Логинова Т. С., Кинзирский А. С., Паршина О. В. Мирская Е. Е., Ершов Ф. И. Влияние индукторов интерферона на химически индуцированный мутагенез и канцерогенез – *Вест. Рос. Акад. мед. наук*, 1996, No.3, с.28-33.

14. Ершов Ф. И. Влияние индукторов интерферона на химически индуцированный мутагенез и канцерогенез – *Вестн. Рос. акад. мед. наук*, 1996, No.3, с.28-33.
15. Fung K., Ng S. W., Ha D. K., Choy Y. M. *Suppression of glucose transport of Ehrlich ascites tumour cell by interferon inducers – Chemotherapy*, 1986, Vol. 32, No.5, pp.458-463.
16. Кавецкий Р. Е., Балацкий К. П., Векслер И. Г., Ветрова Е. П. Тилорон – синтетический иммуностимулятор, обладающий противоопухолевой активностью – *Вопр. онкологии*, 1977, No.11, с.88-93.
17. Talas M., Fedorenko B., Batkai L., Stoger I. *Interferon production by and radioprotective effect of poly I : C and tilorone in mice exposed to helium alpha irradiation – Acta Microbiol.Hung*, 1985, Vol. 32, No.3, pp.225-231.
18. Чертков К. С., Талос М., Мосина З. М., Преображенский Ю. Ю. Радиопротекторная эффективность тилорона – *Радиобиология*, 1979, Т. 19, No.3, с.455-458.
19. Kim K., Pollard J. M., Norris A. J., McDonald J. T., Sun Y., Micewicz E., Pettijohn K., Damoiseaux R., Iwamoto K. S., Sayre J. W., Price B. D., Gatti R. A., McBride W. H. *High-throughput screening identifies two classes of antibiotics as radioprotectors: Tetracyclines and fluoroquinolones – Clinical Cancer Research*, 2009, Vol. 15, No.23, pp.7238-7245.
20. Briggs C. A., Schrimpf M. R., Anderson D. J., Gubbins E. J., Ween H., Thorin-Hagene K. $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist properties of tilorone and related tricyclic analogues – *British Journal of Pharmacology*, 2008, Vol. 153, No.5, pp.1054-1061.
21. Ratan R. R., Siddiq A., Aminova L., Langley B. McConoughey S., Karpisheva K., Lee H. H., Carmichael T., Kornblum H., Coppola G., Geschwind D. H., Hoke A., Smirnova N., Rink C., Roy S., Sen C., Beattie M. S., Hart R. P., Grumet M., Sun D., Freeman R. S., Semenza G. L., Gazaryan I. *Small molecule activation of adaptive gene expression: tilorone or its analogs are novel potent activators of hypoxia inducible factor-1 that provide prophylaxis against stroke and spinal cord injury – Ann. N. Y. Acad. Sci*, 2008, Vol. 1147, pp.383-394.
22. Галкин Б. Н., Баринов В. А., Туинов Л. А., Филиппова Т. О., Иванова В. А., Головенко Н. Я., Литвинова Л. А. Влияние тилорона на системы перекисного окисления и антиперекисной защиты в норме и при гипоксии – *Вопросы медицинской химии*, 1990, Т. 36, No.1, с.60-62.
23. Доровських І. В., Карпенко О. С., Андронаті С. А., Жолобак Н. М., Співак М. Я. Аміноалкілнафтальміди як протівірусні та інтерфероніндукуючі агенти. Синтез та властивості – *Ukrainica Bioorganica Acta*, 2008, No.1, с.42-48.
24. Shibinskaya M. O., Mazepa A. V., Andronati S. A., Turov A. V., Zholobak N. M., Spivak N. Ya. *Synthesis, cytotoxicity, antiviral activity and interferon inducing ability of 6-(2-aminoethyl)-6h-indolo[2,3-b]quinoxalines – European Journal of Medicinal Chemistry*, 2010, Vol. 45, I. 3, pp.1237-1243.
25. Mucsi I., Molnar J., Tanaka M., Santelli-Rouvier C., Patelis A. M., Galy J. P., Barbe J. *Effect of acridine derivatives on the multiplication of herpes simplex virus – Anticancer Res*, 1998, Vol. 18, No.4C, pp.3011-3015.
26. Alcaro S., Arena A., Neri S., Ottana R., Ortuso F., Pavone B., Vigorita M. G. *Design and synthesis of DNA-intercalating 9-fluoren-beta-O-glycosides as potential IFN-inducers, and antiviral and cytostatic agents – Bioorg. Med. Chem*, 2004, Vol. 12, No.7, pp.1781-1791.
27. Шай Д. С., Жолобак Н. М., Мальцев Г. В., Фернандес де Рівас С. О., Литвинова Л. О., Андронаті С. А., Співак М. Я. Інтерфероногена активність аналогів аміксину та похідних дифенілу – *Мікробіологічний журнал*, 2007, Т. 69, No.5, pp.59-64.
28. Bogorad-Kobelska O. S., Zholobak N. M., Dolga O. V., Maltzev G. V., Andronati S. A., Spivak M. Ya. *Diphenyl derivatives: cytotoxicity, antiviral and IFN-inducing activities in vitro – International Journal of Biomedicine*, 2011, Vol. 1, No.3, pp.153-157.

Надійшла до редакції 10.07.2014 р.