



**КАЧАЄВА**

**Марина Володимирівна** – кандидат хімічних наук, науковий співробітник Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії ім. В.П. Кухаря НАН України

## ПОШУК ТА СИНТЕЗ ПРОТИВІРУСНИХ АГЕНТІВ СЕРЕД ПОХІДНИХ АЗОТИСТИХ ГЕТЕРОЦИКЛІВ

**За матеріалами наукового повідомлення  
на засіданні Президії НАН України  
31 березня 2021 року**

*У статті йдеться про ряд нових синтезованих азотовмісних гетероциклічних сполук і дослідження їх активності проти вірусів, що спричиняють опортуністичні інфекції (цитомегаловірус людини, вірус папіломи людини, поліовірус і поліомавірус людини). Виявлено найактивніші сполуки – так звані структури-лідери, які характеризуються високим рівнем інгібування вірусної реплікації та значною селективністю дії щодо цитомегаловірусу, поліовірусу та папіломавірусу. Вивчено залежність їх активності від структури.*

**Ключові слова:** оксазоли, тіазоли, оксоімідазолідини, піроло[3,2-*d*]піримідини, імідазо[1,2-*c*]піримідини, піримідо[1,6-*a*]піримідини, вірус папіломи людини, цитомегаловірус, поліовірус, поліомавірус,  $\pi$ -стекінг.

Як відомо, вірусні захворювання антибіотиками не лікуються, оскільки антибіотики діють лише проти бактерій. Для більшості вірусних інфекцій ефективних препаратів немає, однак було знайдено кілька ліків проти грипу, герпесвірусів, ВІЛ та гепатиту С. Є низка серйозних захворювань людини, пов'язаних з інфекціями, що розвиваються тільки на тлі ослабленої імунної системи, – так звані опортуністичні інфекції. Вони часто стають причиною смерті хворих на СНІД, а також людей, чия імунна система виявилася пригніченою, наприклад унаслідок хіміотерапії при онкологічних захворюваннях або через імунодепресантну терапію в разі пересадки органів.

Значну небезпеку становить розвиток опортуністичних інфекцій, спричинених цитомегаловірусами, вірусами герпесу, папіломи людини і поліомавірусами.

Так, цитомегаловірус людини (HCMV) виявляють приблизно у 60 % дорослого населення в розвинених країнах і майже у 100 % дорослих у країнах, що розвиваються. HCMV

є системною інфекцією. В результаті HCMV-вірусемії можуть розвиватися мононуклеоз, шлунково-кишкові виразки, гепатит, пневмонія або ретиніт [1].

Вірус простого герпесу (HSV) може вражати будь-який орган і слизово-шкірні покриви. У імунікомпрометованих пацієнтів найчастіше розвиваються захворювання стравоходу, верхніх дихальних шляхів, легенів і печінки. У більшості випадків ці інфекції не є небезпечними для життя, але у людей з імунним дефіцитом вони здатні викликати енцефаліт, що загрожує серйозними ускладненнями і навіть смертю.

Вірус папіломи людини (HPV) є етіологічним агентом поширених дерматологічних та венеричних захворювань. У всьому світі ризик зараження людей HPV становить близько 50% [2]. Тільки інфекція HPV чітко пов'язана з усіма плоскоклітинними інтраепітеліальними виразками і раком статевих органів, шийки матки, заднього проходу.

Поліомавіруси (BKV і JCV) викликають нефропатію, геморагічний цистит, стеноз сечоводу, енцефаліт, менінгоенцефаліт, пневмонію, васкулопатію і клітинний рак тільки у людей з порушеним імунітетом [3], хоча понад 80% дорослого населення є серопозитивними до BKV [4].

Найкращою терапією при опортуністичних інфекціях було б відновлення імунної функції, але зазвичай це неможливо внаслідок обмеженого розуміння взаємодій між вірусами та організмом з порушеним імунітетом, а також через брак необхідних для цього фармакологічних засобів. На сьогодні немає доступних противірусних препаратів для лікування захворювань, пов'язаних з HPV, попри значну поширеність цих вірусів та їх етіологічну роль у розвитку аногенітальної дисплазії і раку [5]. Крім того, незважаючи на майже 50-річний досвід досліджень BKV, досі немає ефективною терапії проти нього [6]. Потреба ж у нових антигерпесвірусних сполуках зумовлена насамперед тим, що доступні зараз препарати або мають токсичні побічні ефекти, або до них розвивається резистентність, а ефективні вак-

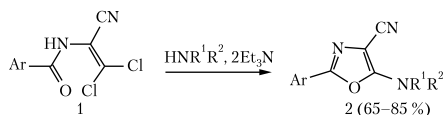
цини все ще перебувають на стадії розроблення [7]. До того ж наявні препарати проти герпесвірусів знімають симптоми і запобігають їх проявам, але не знищують вірус повністю.

Отже, оскільки способи лікування зазначених вище — зазвичай доброякісних — інфекцій сьогодні досить обмежені, потреба в розробленні нових ефективних антивірусних препаратів для лікування опортуністичних вірусних інфекцій, особливо з огляду на зростання кількості пацієнтів з симптомами імунідефіциту, залишається високою.

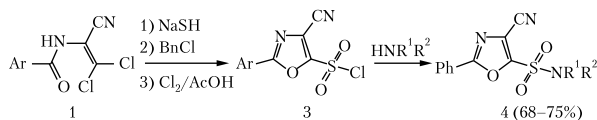
**Стратегія створення нових антивірусних агентів.** Гетероцикли є одними з актуальних об'єктів сучасної біоорганічної хімії. Поряд з низькою молекулярною масою для цих молекул характерний широкий діапазон реакційної здатності, що дає можливість вводити у структуру будь-який фармакофорний елемент, необхідний для взаємодії препарату з активними ділянками білкових молекул.

Загальновідомо, що здатність зв'язування ліганду з рецептором регулюється низкою нековалентних взаємодій, зокрема водневим зв'язком, силами Ван-дер-Ваальса та  $\pi$ -ефектами. Остання взаємодія, на нашу думку, є найбільш тонким фактором молекулярного розпізнавання.  $\pi$ - $\pi$ -Стекінг відбувається між електронними оболонками гетероциклічного ліганду та бензольного кільця амінокислотних залишків фенілаланіну, тирозину чи триптофану білкової молекули. Крім того,  $\pi$ - $\pi$  взаємодії між неподіленими парами амінокислотних залишків та гетероциклічним кільцем також можуть відігравати важливу роль у молекулярному зв'язуванні з мішенню.

Відповідно до електростатичної моделі Hunter-Sanders ароматичного  $\pi$ -стекингу, яку було підтверджено експериментально, електроноакцепторні замісники зменшують  $\pi$ -електронну густину в кільцях і тим самим поліпшують взаємодію між гетероциклом і біомолекулою. І навпаки, електронодонорні замісники послаблюють цю взаємодію [8]. Враховуючи ці фактори, доцільно створювати такі гетероцикли, які б додатково мали електроноакцепторні групи, щоб посилити загальний електро-



**Схема 1.** Синтез 5-аміно-4-ціано-1,3-оксазолів **2**



**Схема 2.** Синтез 5-сульфоніламідних похідних 1,3-оксазолу **4**

ний дефіцит гетероциклічної системи порівняно з  $\pi$ -амфотерним незаміщеним ядром.

**Синтез нових азотистих гетероциклів.** Вихідними реагентами для синтезу азагетероциклів з однією або кількома електроноакцепторними групами є ациклічні продукти **1**, **5**, **12**, **14** і **17**, які вступають у реакції гетероциклізації з утворенням нових сполук **2**, **4**, **7**, **9**, **13**, **16** і **19** (схеми 1–7).

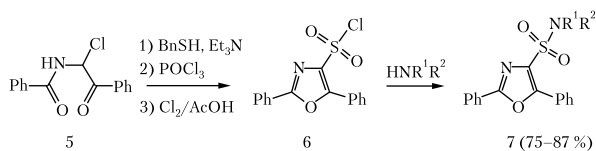
Для одержання нових 5-аміно-4-ціано-1,3-оксазолів **2** [9] нами використано реакцію дихлороакрилонітрилів **1** з первинними та вторинними амінами [10] (схема 1).

4-Ціано-1,3-оксазол-5-сульфоніламід **4** було синтезовано із 2-феніл-4-ціано-1,3-оксазол-5-сульфонілхлоридів **3** [11] реакцією їх з відповідними амінами або аміаком (схема 2).

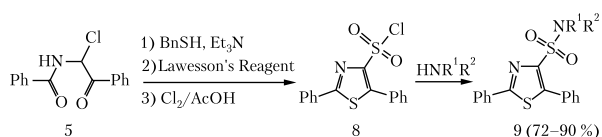
Для синтезу 1,3-оксазолів **7** або тіазолів **9** із сульфоніламідною групою в положенні 4 азольного кільця було використано відповідні 4-сульфонілхлориди **6** або **8**, утворені з відповідних амідофенаціюючих реагентів **5** [12] (схеми 3, 4).

Для синтезу сульфамідів, які містять імідазолідиновий цикл, використано відповідні сульфонілхлориди **С**, які утворюються реакцією 2-аміно-3,3-дихлороакрилонітрилу **12** та хлорсульфонілізоціанату [13] (схема 5).

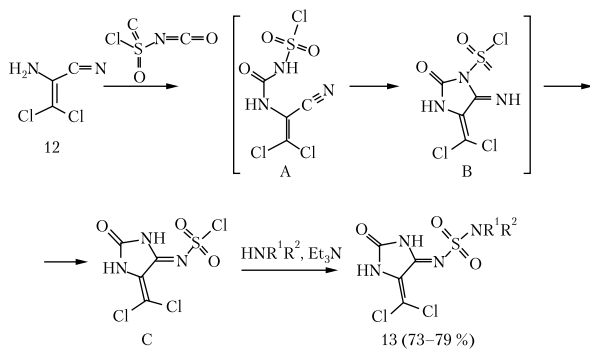
Похідні піроло[3,2-*d*]піримідину **16** було синтезовано циклізацією відповідних 3-аміно-1*H*-піроло-2-карбонітрилів **15** та аліламіну [14]. Піроли **15** одержано, у свою чергу, реакцією ациклічних енамінів **14** з хлорацетонітрилом (схема 6).



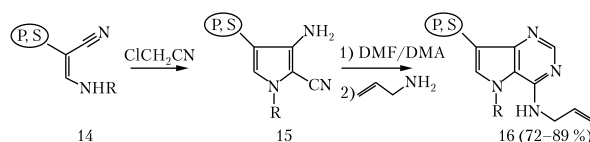
**Схема 3.** Синтез 4-сульфоніламідних похідних 1,3-оксазолу **7**



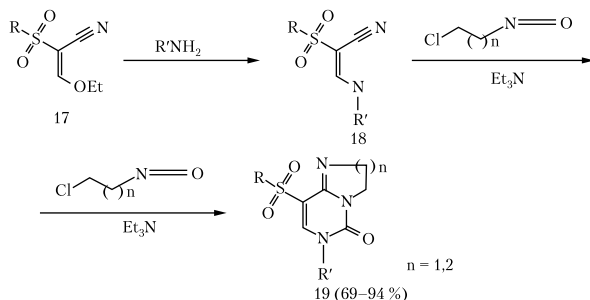
**Схема 4.** Синтез 4-сульфоніламідних похідних 1,3-тіазолу **9**



**Схема 5.** Синтез похідних 2-оксоімідазолідину **13**



**Схема 6.** Синтез похідних піроло[3,2-*d*]піримідину **16**



**Схема 7.** Синтез сульфонільних похідних імідазо[1,2-*c*]піримідинів та піримідо[1,6-*a*]піримідинів **19**

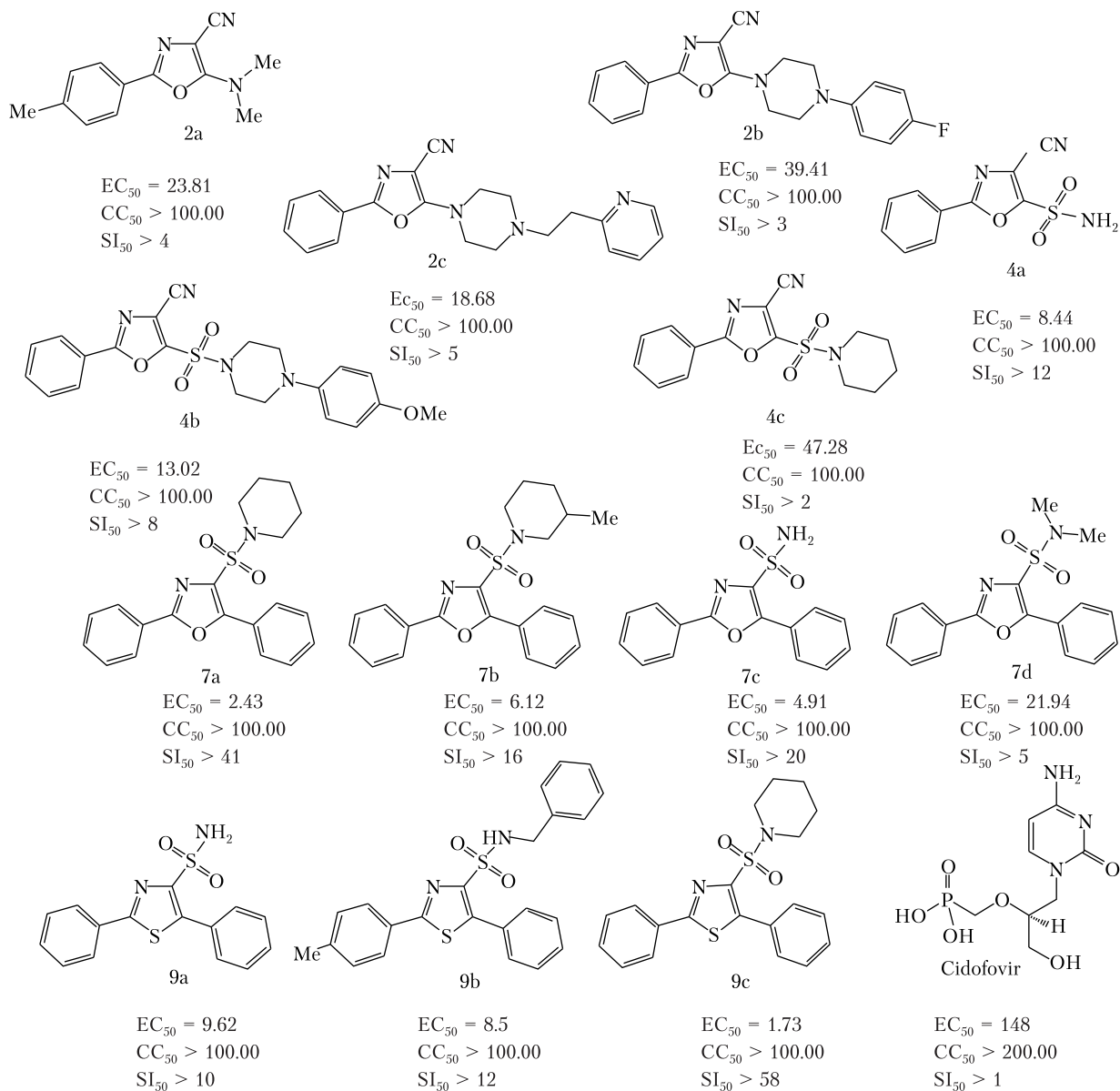
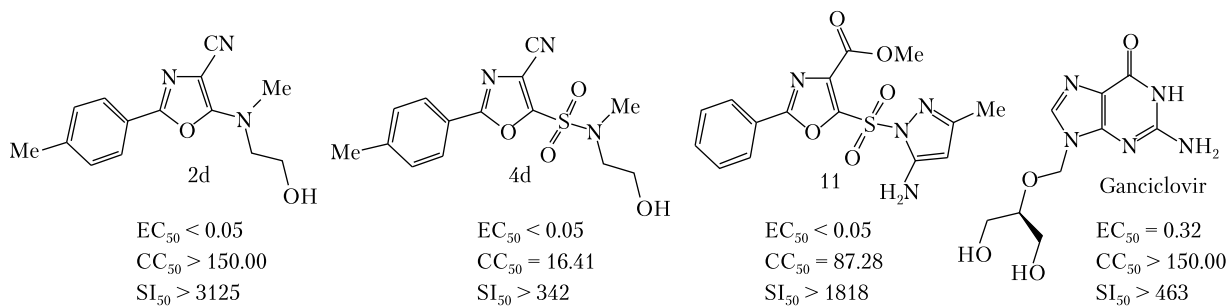


Рис. 1. Протівірусна дія похідних 1,3-оксазолу та 1,3-тіазолу на папіломавірус людини HVP-11 (cell line: HEK 293)

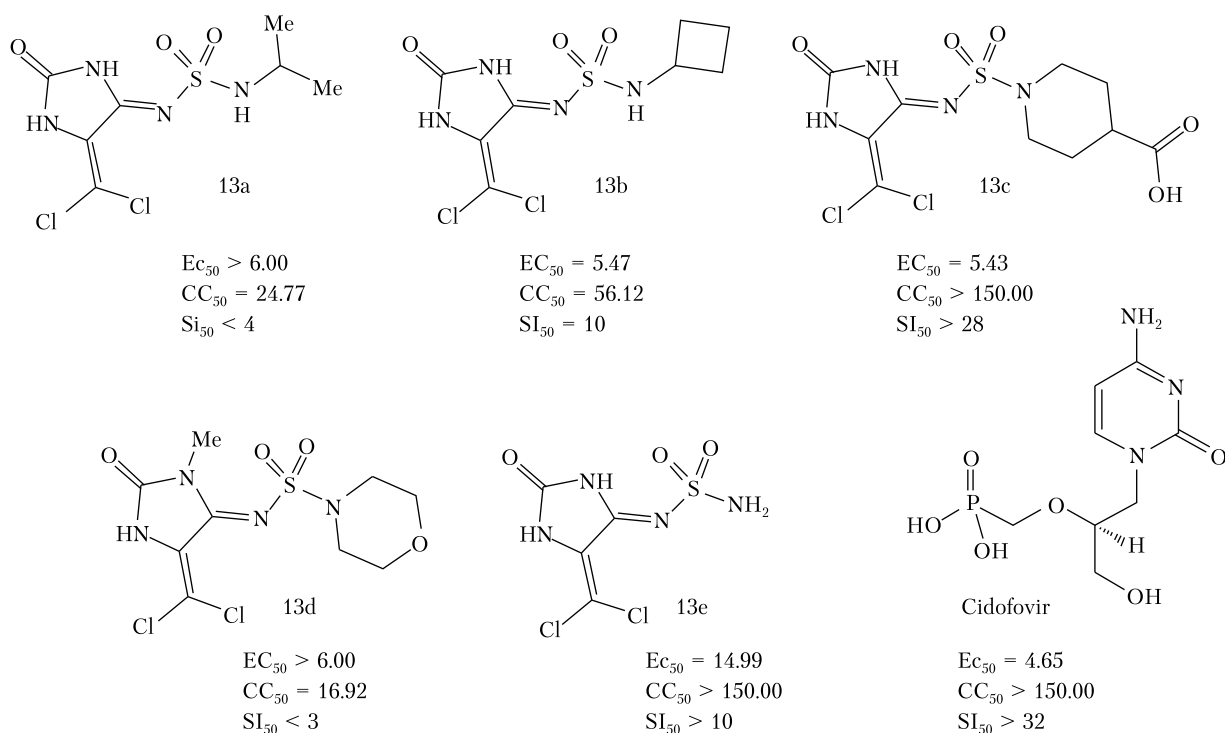
Для синтезу нових імідазо[1,2-*c*]піримідинів та піримідо[1,6-*a*]піримідинів **19** було використано реакцію *N*-заміщених 3-аміно-2-сульфонілакрилонітрилів **18** з 2-хлороетил(пропіл) ізоціанатом (схема 7) [15].

**Дослідження антивірусної активності і цитотоксичності синтезованих сполук.** Скринінг синтезованих сполук проводився в На-

ціональному інституті алергії та інфекційних хвороб Національного інституту охорони здоров'я США (National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health). Для дослідження біологічної активності синтезованих сполук було застосовано комерційні тести CellTiter 96® і CellTiter-Glo™ (Promega). Це кількісні методи визначення



**Рис. 2.** Протівірусна дія похідних 1,3-оксазолу на цитомегаловірус людини AD169 (cell line: HFF)

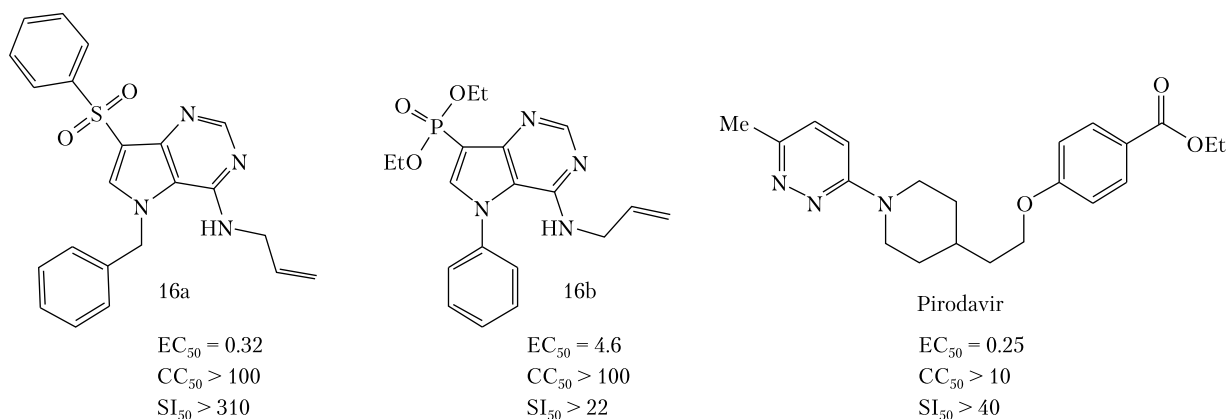


**Рис. 3.** Протівірусна активність похідних 2-оксоімідазолідину на ВК-поліомавірус людини (type 1) (cell line: HFF)

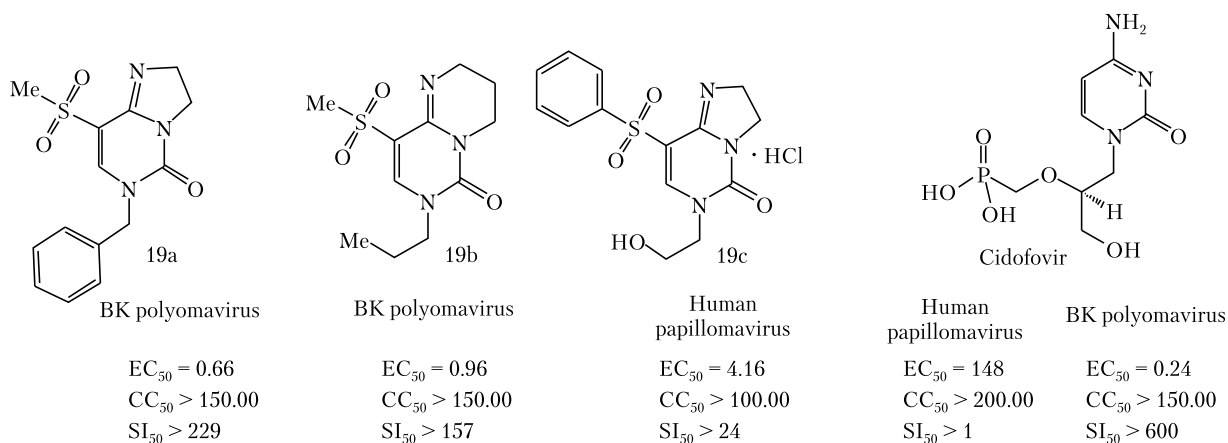
вірусопатогенних ефектів, викликаних літичними віріонами, або вірусної продукції у клітинах, з використанням відповідних барвників [16]. Вони засновані на кількісному визначенні присутнього АТФ, показника метаболічно активних клітин. CellTiter 96® використовує спектрофотометричну оцінку ферментативного відновлення солі тетразолію, а CellTiter-Glo™ – фермент люциферазу, яка генерує ста-

більний люмінесцентний сигнал. Також буде використано кількісну полімеразну ланцюгову реакцію (Q-PCR), що являє собою метод, за допомогою якого визначають експресію генів у режимі реального часу [17].

При оцінці протівірусної активності ми брали до уваги індекси інгібування вірусного цитопатичного ефекту ( $EC_{50}$  – концентрація сполуки, що знижує вірусну реплікацію на



**Рис. 4.** Протівірусна активність похідних піроло[3,2-*d*]піримідину на поліовірус людини (type 3, strain WM-3) (cell line: Vero 76)



**Рис. 5.** Протівірусна активність сульфонільних похідних імідазо[1,2-*c*]піримідинів та піримідо[1,6-*a*]піримідинів

50% (μмоль/л)), цитотоксичну дію речовин на клітини ( $CC_{50}$  — концентрація сполуки, що знижує життєдіяльність клітин на 50% (μмоль/л)) та хімотерапевтичний індекс, або індекс селективності,  $SI_{50} = CC_{50}/EC_{50}$ .

Для пошуку нових активних сполук щодо вірусу папіломи людини було відібрано оксазоли **2**, **4** і **7**, а також тіазоли **9**. Всі вони виявилися ефективнішими за відомий препарат Цидофовір, для якого хімотерапевтичний індекс близький до 1 (рис. 1) [9].

Порівняння біоактивності щодо папіломавірусу похідних 1,3-оксазолу **2** з донорними аміногрупами та оксазолів **4** з акцепторними сульфамідними замісниками показало, що

сульфаміди **4** виявили вищий цитопатичний ефект (за винятком сполуки **4c**).

Кращу протівірусну активність порівняно зі сполуками **2** і **4** виявили оксазоли **7**, у яких сульфамідна група знаходиться не в 5-му, а в 4-му положенні кільця. Як видно з рис. 1, індекс селективності для найактивнішої сполуки **7a** досягає значення 41.

Цікаво було б дослідити протівірусну дію іншого структурно близького до оксазолів класу сполук — тіазолів **9**. Як видно з рис. 1, параметри цих сполук **9a-c** перевищували аналогічні показники контрольного препарату, а сполука **9c** не лише була найактивнішою серед похідних тіазолу, а й перевершила дію оксазолів.



Ще однією поширеною групою є цитомегаловіруси. З метою пошуку нових сполук, які б діяли на цитомегаловірус, було синтезовано ряд 5-амінооксазолів **2**, а також оксазолів **4** і **11** із сульфамідною групою в положенні 5 кільця. Синтезовані похідні проявили дуже високу активність, яка значно перевищувала активність контрольного препарату, а на особливу увагу заслуговують сполуки **2d** і **11** (рис. 2) [18].

З метою створення сполук проти поліомавірусу було відібрано нові похідні 2-оксоімідазолідину **13**, які проявили близьку до контрольного препарату активність. Найкращою виявилася сполука **13c** (рис. 3) [19].

Важливу роль у пошуку нових противірусних агентів відіграють також конденсовані похідні азагетероциклів. Для пошуку нових біоактивних речовин проти поліовірусу було відібрано ряд нових піролопіримідинів **16**, серед яких сполука **16a** проявила високу активність щодо поліовірусу — значно вищу, ніж для контрольного препарату Піродавір (рис. 4). Слід зазначити, що пошук нових препаратів щодо поліовірусу є сьогодні актуальним, оскільки цей вірус особливо небезпечний ускладненнями для здоров'я, насамперед

розвитком такої тяжкої хвороби, як поліомієліт [20].

Інші представники азопіримідину **19** було протестовано щодо ВК-поліомавірусу та вірусу папіломи людини (рис. 5) [21]. Щодо першого штаму проаналізовано дві сполуки **19a** і **19b**. Активність їх виявилася помірною. Третю сполуку **19c** було відібрано для дослідження активності щодо папіломавірусу людини, і вона виявила значну дію, яка перевищувала дію контрольного препарату.

**Висновки.** Синтезовано нові азотовмісні гетероциклічні сполуки з різними азото-, фосforo- та сірковмісними замісниками, серед яких відібрано перспективні сполуки для подальшого вивчення їх противірусної активності щодо папіломавірусу людини, цитомегаловірусу та поліовірусу людини. Порівняння результатів скринінгу подібних сполук щодо вірусу папіломи людини засвідчило, що введення в молекулу електроноакцепторної сульфамідної групи сприяє підвищенню противірусної активності. Протестовані сполуки виявили високий цитопатичний ефект і низьку цитотоксичність, перевершивши за цими показниками препарати, які наразі застосовують у медицині.

## REFERENCES

### [СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ]

1. Griffiths P., Baraniak I., Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus. *J. Pathol.* 2015. **235**(2): 288–297. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.4437>
2. Handler M.Z., Handler N.S., Majewski S., Schwartz R.A. Human papillomavirus vaccine trials and tribulations. *J. Am. Acad. Dermatol.* 2015. **73**(5): 743–756. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2015.05.040>
3. Prado J.C.M., Monezi T.A., Amorim A.T., Lino V., Paladino A., Boccardo E. Human polyomaviruses and cancer: an overview. *Clinics (San Paulo)*. 2018. **73**(1): e558s. DOI: <https://doi.org/10.6061/clinics/2018/e558s>
4. Dalianis T., Eriksson B.-M., Felldin M., Friman V., Hammarin A.-L., Herthelius M., Ljungman P., Moln J., Wennberg L., Swartling L. Management of BK-virus infection – Swedish recommendations. *Infect. Dis. (Lond.)*. 2019. **51**(7): 479–484. DOI: <https://doi.org/10.1080/23744235.2019.1595130>
5. Fradet-Turcotte A., Archambault J. Recent advances in the search for antiviral agents against human papillomaviruses. *Antivir. Ther.* 2007. **12**(4): 431–451.
6. Ambalathingal G.R., Francis R.S., Smyth M.J., Smith C., Khanna R. BK Polyomavirus: Clinical Aspects, Immune Regulation, and Emerging Therapies. *Clin. Microbiol. Rev.* 2017. **30**: 503–528. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.00074-16>
7. Krishna B.A., Wills M.R., Sinclair J.H. Advances in the treatment of cytomegalovirus. *Br. Med. Bull.* 2019. **131**(1): 5–17. DOI: <https://doi.org/10.1093/bmb/ldz031>
8. Riwar L.-J., Trapp N., Kuhn B., Diederich F. Substituent Effects in Parallel-Displaced p–p Stacking Interactions: Distance Matters. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017. **56**(37): 11252–11257. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.201703744>

9. Kachaeva M.V., Pilyo S.G., Kornienko A.M., Prokopenko V.M., Zhirnov V.V., Prichard M.N., Keith K.A., Yang G., Wang H.-K., Banerjee N.S., Chow L.T., Broker T.R., Brovarets V.S. In vitro Activity of Novel 1,3-Oxazole Derivatives against Human Papillomavirus. *Ibnosina J. Med. Biomed. Sci.* 2017. **9**(4): 111–118. DOI: [https://doi.org/10.4103/ijmbs.ijmbs\\_9\\_17](https://doi.org/10.4103/ijmbs.ijmbs_9_17)
10. Drach B.S., Sviridov E.P., Kisilenko A.A., Kirsanov A.V. *Zhurnal organicheskoi khimii.* 1973. **9**(9): 1818–1824 (in Russian).  
[Драч Б.С., Свиридов Э.П., Кисиленко А.А., Кирсанов А.В. Взаимодействие вторичных аминов с N-ацил-2,2-дихлорвиниламинами и N-ацил-1-циано-2,2-дихлорвиниламинами. *Журнал органической химии.* 1973. Т. 9, № 9. С. 1818–1824.]
11. Kornienko A.N., Pil’o S.G., Prokopenko V.M., Brovarets V.S. Synthesis of 2-aryl-4-cyano-1,3-oxazole-5-sulfonyl chlorides and N-substituted sulfonamides. *Russ. J. Gen. Chem.* 2012. **82**(11): 1855–1858. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1070363212110229>
12. Kornienko A.N., Pil’o S.G., Prokopenko V.M., Brovarets V.S. Amidophenacylating reagents in synthesis of new derivatives of 1,3-oxazole and 1,3-thiazole-4-sulfonyl chlorides and corresponding sulfonamides. *Russ. J. Gen. Chem.*, 2014. **84**(4): 686–692. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1070363214040148>
13. Shablykin O.V., Kornii Y.E., Brovarets V.S., Shablykina O.V., Khilya V.P. Synthesis of new oxoimidazolidine sulfonamides with anticancer activity. *Dopov. Nac. Akad. Nauk Ukr.* 2019. (1): 79–85. DOI: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2019.01.079>
14. Solomyannyi R.N., Slivchuk S.R., Vasilenko A.N., Rusanov E.B., Brovarets V.S. Synthesis of and preparation of related pyrrolo[3,2-d]pyrimidines. *Russ. J. Gen. Chem.* 2012. **82**(2): 317–322. DOI: <https://doi.org/10.1134/S1070363212020235>
15. Solomyannyi R.N., Shablykina O.V., Moskvina V.S., Khilya V.P., Rusanov E.B., Brovarets V.S. 8-(Methyl(phenyl)sulfonyl)-2,6-dihydroimidazo[1,2-c]-pyrimidin-5(3H)-ones and 9-(methyl(phenyl)sulfonyl)-2,3,4,7-dihydro-6H-pyrimido[1,6-a]pyrimidin-6-ones: synthesis and antiviral activity. *Chem. Het. Comp.*, 2019, **55**(4/5): 401–407. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10593-019-02472-y>
16. Smee D.F., Hurst B.L., Evans W.J., Clyde N., Wright S., Peterson C., Jung K.-H., Day C.W. Evaluation of Cell Viability Dyes in Antiviral Assays with RNA Viruses that Exhibit Different Cytopathogenic Properties. *J. Virol. Methods.* 2017. **246**: 51–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2017.03.012>
17. Peirson S.N., Butler J.N. RNA extraction from mammalian tissues. *Methods Mol. Biol.* 2007. **362**: 315–327. DOI: [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-257-1\\_22](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-257-1_22)
18. Kachaeva M.V., Pilyo S.G., Hartline C.B., Harden E.A., Prichard M.N., Zhirnov V.V., Brovarets V.S. In vitro activity of novel derivatives of 1,3-oxazole-4-carboxylate and 1,3-oxazole-4-carbonitrile against human cytomegalovirus. *Med. Chem. Res.* 2019. **28**(8): 1205–1211. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02365-x>
19. Kornii Yu., Chumachenko S., Shablykin O., Prichard M.N., James S.H., Hartline C., Zhirnov V., Brovarets V. New 2-Oxoimidazolidine Derivatives: Design, Synthesis and Evaluation of Anti-BK Virus Activities in Vitro. *Chem. Biodiversity.* 2019. **16**: e1900391. DOI: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900391>
20. Solomyannyi R., Slivchuk S., Smee D., Choi J., Rusanov E., Zhirnov V., Brovarets V. In vitro Activity of the Novel Pyrimidines and Their Condensed Derivatives Against Poliovirus. *Curr. Bioact. Compd.* 2019. **15**(5): 582–591. DOI: <https://doi.org/10.2174/1573407214666180720120509>
21. Solomyannyi R., Mitiukhin O., Prichard M., James S., Hartline C., Zhirnov V., Brovarets V. In vitro anti-BK polyomavirus activity of imidazo[1,2-c]pyrimidine and pyrimido[1,6-a]pyrimidine derivatives. *Curr. Chem. Lett.* 2020. **9**(2): 89–96. DOI: <https://doi.org/10.5267/j.ccl.2019.9.001>



*Maryna V. Kachaeva*

Kukhar Institute of Bioorganic Chemistry and Petrochemistry  
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1517-4807>

#### SEARCH AND SYNTHESIS OF ANTIVIRAL AGENTS AMONG DERIVATIVES OF NITROGEN CONTAINING HETEROCYCLES

According to the scientific report at the meeting of the Presidium of the NAS of Ukraine, March 31, 2021

A number of new nitrogen-containing heterocyclic compounds have been synthesized and investigated against viruses causing opportunistic infections in humans (human cytomegalovirus, human papilloma virus, poliovirus and human polyomavirus). The most active compounds – "leader structures" were identified, they are characterized by a high level of inhibition of viral replication, and significant selectivity against cytomegalovirus, poliovirus and papilloma virus. The structure–activity relationship is studied.

**Keywords:** oxazoles, thiazoles, oxoimidazolidines, pyrrolo[3,2-d]pyrimidines, imidazo[1,2-c]pyrimidines, pyrimido[1,6-a]pyrimidines, human papilloma virus, cytomegalovirus, poliovirus, polyomavirus,  $\pi$ -stacking.