

Аміноалкілнафталіміди як противірусні та інтерфероніндукуючі агенти. Синтез і властивості

О.С. Карпенко^{1*}, І.В. Доровських^{1,2}, С.А. Ляхов^{1,2}, С.А. Андронаті^{1,2},
Н.М. Жолобак³, М.Я. Співак³, Ю.В. Нехорошкова⁴, Л.М. Шафран⁴

¹ Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
Люстдорфська 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

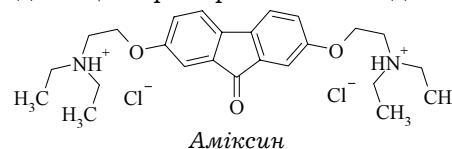
⁴ ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту» МОЗ України
вул. Канатна, 92, Одеса, 65039, Україна

Резюме. Вірусні інфекції (СНІД, гепатит С, ГРВІ та інші) є серйозною небезпекою для життя та здоров'я людини і завдають значних соціальних та економічних збитків. Раніше було показано перспективність пошуку противірусних препаратів широкого спектра дії серед планарних карбо- та гетероциклічних сполук, здатних до інтеркаляції в нуклеїнові кислоти. В експериментах *in vitro* нами вперше показано, що похідні незаміщеного в ядро нафталіміду виявляють противірусну та інтерфероніндукуючу активність, вищу від активності аміксину за помірної цитотоксичності. Морфолінвмісні нафталіміди відібрано для розширеного передклінічного дослідження.

Ключові слова: діалкіламіноалкілнафталіміди, противірусні препарати, індуктори інтерферону, інтеркалятори ДНК, цитотоксичність.

Вступ. Широке розповсюдження вірусних захворювань, таких як ВІЛ, гепатит, ГРВІ, грип, значна частина яких схильна до швидкої мутації, обумовлює актуальність цілеспрямованого пошуку нових безпечних противірусних препаратів широкого спектра дії, арсенал яких на сьогодні дуже обмежений. Можна згадати такі препарати, як рибавірин, арбідол, амізон, циклоферон та аміксин. Вони, за винятком рибавіріну, не тільки виявляють про-

тивірусну активність, а й здатні індукувати інтерферон [1]. Особливу увагу привертає аміксин, якому притаманна ще й здатність запускати низку механізмів, наприкінці яких є інгібування вірусної репродукції, що дає змогу розглядати цей препарат як полімодальний [2].



Здається, що значна частина цих ефектів зумовлена спроможністю аміксину інтеркалювати у ДНК [3–9] і РНК [10, 11]. Здатність аміксину до інтеркаляції зумовлена наявністю в його структурі планарного трициклічного

* Corresponding author.

Tel.: +38048-7659230; fax: +38048-7659602

E-mail address: alexandr_s_karpenko@rambler.ru

флуоренонового фрагмента [12]. Додатково комплекс стабілізується електростатичною взаємодією двох протонуваних за термінальними атомами азоту боковими групами з фосфатами ДНК [9, 13]. Інтеркаляція супроводжується такою зміною конформації ДНК [14], яка унеможливорює нормальну взаємодію факторів транскрипції з регуляторними ділянками генів інтерферону за рахунок безпосередньої конкуренції з цими факторами або алостеричної регуляції їх взаємодії з місцями зв'язування [15], завдяки чому й індукується інтерферон [16], інгібуються реплікація та транскрипція вірусного генетичного матеріалу [17, 18]. Таким чином, якщо припущення про провідну роль інтеркаляції у противірусній дії аміксіну правильне, то будь-якому інтеркалятору ДНК, який містить основну бокову групу, з високою ймовірністю мають бути притаманні противірусна активність і здатність індукувати інтерферон. Ця гіпотеза [19] знайшла підтвердження в наявності противірусної та інтерфероніндукуючої активності деяких інтеркаляторів ДНК (акридинів, гідразонів ізатину, цілої низки гетероциклічних аналогів аміксіну) [20-21] і починає розповсюджуватися серед наукової спільноти [23].

Серед низки планарних поліциклічних сполук із аміноалкільним боковим ланцюгом особливу увагу привертають до себе нафталіміди. Для цих сполук доведено здатність до інтеркаляції, а серед 3-нітро- та 3-амінонафталімідів виявлено протипухлинні агенти [24], два з яких уже пройшли дві фази клінічних випробувань [25, 26]. Показано, що незаміщені в ядрі нафталіміди характеризуються низькою цитотоксичністю [24], що вигідно визначає їх як потенційні противірусні агенти й індуктори інтерферону.

Таким чином, метою нашої роботи був синтез N- ω -аміноалкілнафталімідів, визначення їх афінитету до ДНК, дослідження противірусної та інтерфероніндукуючої активності.

Експериментальна частина. Матеріали та методи. Для синтезів використовували реактиви кваліфікації не нижче «чда».

ІЧ-спектри отримано на спектрофотометрі з фур'є-перетворенням «SHIMADZU» в таблетках KBr, спектри флуоресценції — на спектрофлуориметрі «Solar CM2203».

Спектри ^1H ЯМР реєстрували в розчинах DMCO-d_6 і CDCl_3 відносно ТМС 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 °С, іонізацію здійснювали пучком електронів з енергією 70 еВ).

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

Для приготування буферних, проміжних і робочих розчинів застосовано реактиви кваліфікації не нижче «хч» і дистильовану воду. Досліджувані сполуки були хроматографічно гомогенними при нанесенні на пластинку 100 μm .

Для приготування розчинів використано мірний посуд різного номіналу II класу точності.

Синтез похідних нафталіміду. 2-(2-Діетиламіноетил)бензо[de]ізохінолін-1,3-діон (2). Суміш 1,98 г (0,01 моль) **1** та 1,162 г (0,01 моль, 1,42 cm^3) діетиламіноетиламіну нагрівають до 115 °С і витримують за цієї температури 2-3 год. Реакційну суміш екстрагують киплячим бензолом (4 \times 30 cm^3). Бензол випарюють. Сухий залишок екстрагують киплячим гептаном (5 \times 25 cm^3), екстракт охолоджують до -18 °С, осад відфільтровують і промивають на фільтрі 5 cm^3 охолодженого до -18 °С гептану. Вихід: 2,27 г (77 %). $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_2$. М.В. 296,37; R_f : А(0,10), Б(0,38); $T_{\text{пл}}$ 105-106 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 297 (100) [$+\text{H}$] $^+$. Спектр ^1H ЯМР: 1,100 т (6H, $(\underline{\text{CH}}_3\text{CH}_2)_2\text{N}$, 7,2), 2,695 к (4H, $(\text{CH}_3\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2\text{N}$, 7,2), 2,793 ускл. т (2H, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{NCH}_2$), 4,276 ускл. т (2H, $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{NCH}_2$), 7,707 д д (2H, Н β , 7,5 і 7,5), 8,179 д д (2H, Н γ , 7,5 і 0,6), 8,557 д д (2H, Н α , 7,5 і 0,6).

Аналогічно одержують сполуки **3-10**.

2-(2-Морфолін-4-іл-етил)бензо[de]ізохінолін-1,3-діон (3). Вихід: 65 %. $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$. М.В. 310,33; R_f : А(0,21), Б(0,31); $T_{\text{пл}}$ 156,0-157,5 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 311 (100) [$+\text{H}$] $^+$. Спектр ПМР: 2,562 м (4H, $\text{O}(\text{CH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2)_2\text{NCH}_2$,

5,1), 2,689 т (2Н, $O(CH_2CH_2)_2NCH_2$, 6,6), 3,647 т (4Н, $O(CH_2CH_2)_2N$, 4,5), 4,302 т (2Н, $N_{\text{гет}}CH_2$, 6,0), 7,735 д д (2Н, Н β , 8,1 і 9,0), 8,176 д д (2Н, Н γ , 8,1 і 0,6), 8,545 д д (2Н, Н α , 6,3 і 0,9).

2-(2-Піперазин-1-іл-етил)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**4**). Вихід: 56 %. $C_{18}H_{19}N_3O_2$. М.W. 309,37; R_f : А(0,16), Б(0,12); $T_{\text{пл}}$ (гідрохлориду) 240-244 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 310 (100) [+H]⁺.

2-[2-(2-Гідроксиетиламіно)етил]бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**5**). Вихід: 51 %. $C_{16}H_{16}N_2O_3$. М.W. 284,32; R_f : А(0,04), Б(0,04), В(0,22); $T_{\text{пл}}$ 103-105 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 285 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,890 дшс ($HOCH_2CH_2N$), 3,034 т (2Н, $N_{\text{гет}}CH_2CH_2NCH_2$, 6,6), 3,627 д д (2Н, $HOCH_2CH_2N$, 5,1), 4,343 т (2Н, $N_{\text{гет}}CH_2CH_2NCH_2$, 6,3), 7,774 д д (2Н, Н β , 7,2 і 8,1), 8,225 д д (2Н, Н γ , 8,4 і 0,9), 8,608 д д (2Н, Н α , 8,4 і 0,9).

2-(3-Діетиламінопропіл)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**6**). Вихід: 72 %. $C_{19}H_{22}N_2O_2$. М.W. 310,40; R_f : А(0,04), Б(0,36); $T_{\text{пл}}$ 53-55 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 311 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,013 т (6Н, $(CH_3CH_2)_2N$, 7,2), 2,625 кв (4Н, $(CH_3CH_2)_2N$, 7,2), 2,700-2,750 м (+ розчинник $(CH_3CH_2)_2NCH_2$), 3,580 ш с (+ вода, $NCH_2CH_2CH_2N$), 4,227 т (2Н, $N_{\text{гет}}CH_2CH_2CH_2N$, 7,2), 7,957 д д (2Н, Н β , 7,2 і 9,2), 8,526 д д (2Н, Н γ , 9,2 і 0,6), 8,590 д д (2Н, Н α , 7,2 і 0,6).

2-(3-Морфолін-4-іл-пропіл)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**7**). Вихід: 66 %. $C_{19}H_{20}N_2O_3$. М.W. 324,38; R_f : А(0,08), Б(0,35); $T_{\text{пл}}$ 137-138 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 325 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,880-1,976 м (2Н, $NCH_2CH_2CH_2N$), 2,417 пошт (4Н, $O(CH_2CH_2)_2N$), 2,492 т (4Н, $O(CH_2CH_2)_2NCH_2$, 7,2), 3,569 т (4Н, $O(CH_2CH_2)_2N$, 7,5), 4,251 т (2Н, $NCH_2CH_2CH_2N$, 7,2), 7,767 д д (2Н, Н β , 7,2 і 9,2), 8,215 д д (2Н, Н γ , 8,1 і 1,2), 8,591 д д (2Н, Н α , 7,5 і 1,2).

2-(3-Диметиламінопропіл)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**8**). Вихід: 70 %. $C_{17}H_{18}N_2O_2$. М.W. 282,35; R_f : А(0,03), Б(0,36); $T_{\text{пл}}$ 116,0-117,5 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 283 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,845-1,946 м (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 2,235 с (6Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 2,414 т (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 4,215 т (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 7,731 д д (2Н, Н β , 8,1 і 7,2), 8,200 д (2Н, Н γ , 8,1), 8,586 д (2Н, Н α , 6,9).

2-(3-Метиламінопропіл)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**9**). Вихід: 67 %; $C_{16}H_{16}N_2O_2$. М.W. 268,32; R_f : А(0,04), Б(0,04), В(0,22); $T_{\text{пл}}$ 111,0-112,5 °С.

Мас-спектр (БША), m/z (%): 269 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,904-1,951 м (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 2,419 с (3Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$), 2,646 т (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$, 7,2), 4,229 т (2Н, $CH_3NCH_2CH_2CH_2N$, 7,2), 7,718 д д (2Н, Н β , 7,1 і 7,4), 8,190 д д (2Н, Н γ , 7,1 і 0,9), 8,569 д д (2Н, Н α , 6,9 і 0,9).

2-(4-Діетиламіно-1-метилбутил)бензо[де]ізохінолін-1,3-діон (**10**). Вихід: 47 %. $C_{19}H_{20}N_4O_3$. М.W. 296,37; R_f : А(0,11), Б(0,36); $T_{\text{пл}}$ (гідрохлориду) 221-223 °С. Мас-спектр (БША), m/z (%): 339 (100) [+H]⁺. Спектр ПМР: 1,310 т (6Н, $(CH_3CH_2)_2N$), 1,562 д (3Н, $CHCH_3$), 1,758 м (2Н, $(CH_3CH_2)_2NCH_2CH_2$), 1,903 м (1Н, $CHCH_3$), 2,326 м (2Н, CH_2CHCH_3), 3,015 м (6Н, $(CH_3CH_2)_2NCH_2$), 7,719 д д (2Н, Н β , 7,5), 8,568 д д (2Н, Н γ , 5,1 і 0,9), 8,529 д д (2Н, Н α , 7,2 і 0,9).

Вивчення афінитету до ДНК. Розчин, який містить $2,12 \times 10^{-5}$ М ДНК великої рогаатої худоби (ДНК ВРХ), $2,54 \times 10^{-5}$ М етидію броміду, $3,73 \times 10^{-2}$ М натрію хлориду, $8,00 \times 10^{-3}$ М натрію ацетату (у складі ацетатного буфера із рН 5,5) і $4,23 \times 10^{-4}$ М ЕДТА (розчин А), розводять дистильованою водою вдвічі (отримують розчин А'). Змішують 3 см³ розчину досліджуваної сполуки у воді та 3 см³ розчину А (отримують розчин сполуки). Робочі розчини готують змішуванням розчину А' із розчином сполуки таким чином, щоб одержати серію розчинів із концентрацією досліджуваної сполуки в діапазоні 10^{-2} - 10^{-6} М.

За допомогою спектрофлуориметра отримують спектр флуоресценції робочих розчинів у діапазоні довжин хвиль 550-800 нм за опромінення світлом із довжиною хвилі 525 нм.

Визначення цитотоксичності, протівірусної активності та інтерфероніндукуючих властивостей. Цитотоксичність, протівірусну активність та інтерфероніндукуючі властивості синтезованих сполук вивчали відповідно до методичних рекомендацій [27].

Результати й обговорення. Цільові алкіламіноалкілнафталіміди (**2-10**) отримано конденсацією нафталенового ангідриду (**1**) із відповідними первинними амінами без розчинника при температурі близько 115 °С (рис. 1).

У мас-спектрах БША синтезованих сполук присутні інтенсивні піки молекулярних іонів. У мас-спектрах електронного удару молекулярні іони присутні в незначних кількостях, а

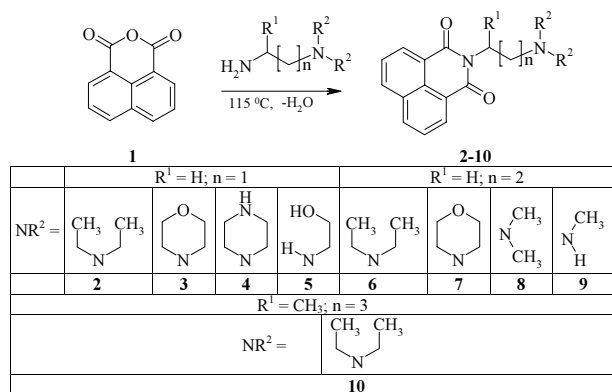


Рис. 1. Схема синтезу діалкіламіноалкілнафталімідів.

фрагментація сполук відповідає очікуваній структурі. Фрагментація спостерігається в напрямку елімінування відповідної четвертинної амонієвої основи.

В ІЧ-спектрах похідних нафталіміду **2-10** спостерігаються смуги при 3000-3090 см⁻¹ і 2750-2990 см⁻¹ (валентні коливання відповідно ароматичних і аліфатичних С-Н-зв'язків); 1680-1740 см⁻¹ (валентні коливання карбонільних груп).

У спектрах ¹H ЯМР сполук **2-10** присутні сигнали від протонів як ароматичної, так і аліфатичної «частин» молекули, причому співвідношення інтегральних інтенсивностей цих сигналів відповідають обчисленим для очікуваних структур. Віднесення сигналів, значення хімічних зсувів і констант спин-спінової взаємодії для сполук **2-10** наведено в експериментальній частині, а умовні позначення ароматичних протонів подано на рис. 2.

Біологічна активність похідних нафталіміду. Афінітет до ДНК алкіламіноалкілнафталімідів. Афінітет синтезованих сполук до ДНК вивчено методом витіснення етидію броміду з його комплексу із ДНК ВРХ, аналогічно до описаного раніше [28]. Концентрацію ліганду, що призводить до 50%-го зниження інтенсивності флуоресценції етидію броміду,

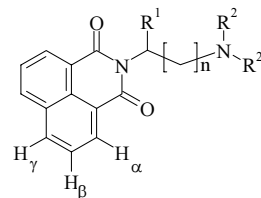


Рис. 2. Умовні позначення ароматичних протонів для сполук **2-10**.

визначали як абсцису точки перегику кривої залежності I, % — lg(C₅₀), де I — ступінь зменшення інтенсивності флуоресценції розчину (у % до контролю) за постійної концентрації етидію броміду та ДНК, аналогічно до роботи [28].

Статистичну обробку результатів виконували методом нелінійної апроксимації згідно з [29; 298-303] за P<0,05. Значення lgC₅₀ досліджуваних сполук наведено в табл. 1.

У низці аміноалкілнафталімідів **2-10** найбільш афінним є диметиламінопропілпохідне **8**. Сполука **9**, яка містить метиламіногрупу, виявилася менш афінною до ДНК на півтори логарифмічні одиниці від її диметильного аналога **8**. У цілому, похідні, що містять вторинні аміногрупи, виявляються найменш афінними в низці. Слід також зазначити протилежне подовження сполук, що містять діетиламіногрупу (**2** і **6**) і морфолін (**3** і **7**) як термінальні, із подовженням ланцюга.

Зазначені закономірності вказують на те, що будова бокового ланцюга в ряді похідних нафталіміду має трохи більше значення для афінітету до ДНК, ніж в інших рядах вивчених інтеркаляторів [20-22].

Токсичність похідних нафталіміду. Цитотоксичність похідних нафталіміду досліджено на культурі клітин ПТП і виражено величиною LC₅₀ (табл. 2).

Як видно з наведених даних, сполуки **3** та **10** в експериментах *in vitro* виявилися значно менш цитотоксичними від аміксину, сполуки **4**, **7** і **8** за токсичними властивостями трохи по-

Таблиця 1
Афінітет до ДНК досліджуваних сполук

Сполука	lg C ₅₀	Сполука	lg C ₅₀
2	-5,18±0,18	7	-5,13±0,22
3	-3,58±0,12	8	-5,27±0,19
4	-3,49±0,19	9	-3,77±0,10
5	-3,77±0,10	10	-3,70±0,15
6	-4,76±0,16	Аміксин	-4,2

Таблиця 2
Токсичність нафталімідів відносно клітин ПТП

Сполука	LC ₅₀ , μM	Сполука	LC ₅₀ , μM
2	24,8	7	83,63
3	184,6	8	85,5
4	99,8	9	27,1
5	23,8	10	170,7
6	24,8	Аміксин	100,0

Таблиця 3
Інтерфероніндукуюча активність
нафталімідів на клітинах L929

Сполука	С, μМ	Т ІФН	Сполука	С, μМ	Т ІФН
2	10,5	1:32	7	9,9	1:128
3	11,0	1:23	8	0,98	1:26
4	11,8	1:128	9	12,5	1:91
5	11,0	1:128	10	10,1	1:128
6	11,4	1:64	Аміксин	25,0	1:16

ступаються аміксину, а сполуки **2, 5, 6 і 9** виявилися токсичніше аміксину в 4 рази.

Інтерфероніндукуюча активність. Інтерфероніндукуюча активність вивчалася на клітинах L929. Титри індукованого інтерферону (Т ІФН) і концентрації речовин, які ведуть до індукції (С, мкМ), наведено в табл. 3.

Синтезовані сполуки індукують інтерферон у титрах, більших від 1:20. Високі рівні індукованого інтерферону за використання концентрацій, що значно менші від летальних, указують на те, що індукція не має передлетального характеру, щонайменш для сполук **3, 4, 7, 8, 10**.

Противірусна активність. Противірусну активність нафталімідів досліджено на клітинах ПТП і Vero за умов попередньої (за 24 години) й одночасної інкубації з вірусом везикулярного стоматиту (ВВС), на клітинах Vero за одночасного застосування. Здобуті результати виявилися досить неоднозначними. Так, за попереднього застосування препаратів на кліти-

Таблиця 5
Противірусна активність нафталімідів
(клітини Vero, 100 LD₅₀ ВВС
уведено одночасно з вірусом)

Сполука	-lgIC ₅₀	E _{max}	С, μМ	Сполука	-lgIC ₅₀	E _{max}	С, μМ
2	4,42	92	9,0	6	>5,06	92	8,6
3	4,01	89	8,7	7	5,19	99	33,3
4	4,41	100	65,4	9	>5,01	78	9,8
5	>5,03	81	9,4	10	>5,10	89	8,0

Таблиця 4
Противірусна активність нафталімідів
(клітини ПТП, 100 LD₅₀ ВВС,
24 год до внесення вірусу)

Сполука	E _{max} ¹ %	С, μМ	Сполука	E _{max} ¹ %	С, μМ
2	18,2	0,4	6	36,4	1,5
3	27,3	1,4	7	36,4	1,4
4	36,4	1,3	9	54,5	1,6
5	45,5	1,6	10	63,6	1,3

нах ПТП рівень противірусного захисту (E_{max}, %) не перевищував 65 %, але спостерігався за дуже низької концентрації (С, мкМ; табл. 4).

Високий рівень противірусного захисту похідними нафталіміду за одночасного внесення препаратів з вірусом на дефектній за продукцією інтерферону клітинній лінії Vero (табл. 5) свідчить про те, що індукція інтерферону — не єдиний чинник противірусної активності цих сполук, а може реалізовуватися за рахунок інших механізмів.

Висновки. Таким чином, нами вперше показано здатність аміноалкілнафталімідів до індукції інтерферону, яка, ймовірно, зумовлена їх афінитетом до ДНК. Зважаючи на високу противірусну активність досліджених похідних нафталіміду на клітинній лінії, дефектній за продукцією ІФН, можна припустити наявність декількох механізмів противірусної активності цих сполук. Водночас відсутність значної кореляції між нуклеотропністю, цитотоксичністю, противірусною та інтерферогенною активністю також свідчить про наявність декількох, можливо, окремих механізмів біологічної активності сполук. Відносна низька цитотоксичність і виражена противірусна активність указують на перспективність подальшого дослідження морфолінвмісних похідних нафталіміду як індукторів інтерферону та противірусних агентів.

Надійшла в редакцію 28.03.2008 р.

Aminoalkyl-naphthalimides as antiviral and interferon inducing agents. Synthesis and properties

O.S. Karpenko¹, I.V. Dorovskikh^{1,2}, S.A. Lyakhov^{1,2}, S.A. Andronati^{1,2}, N.M. Zholobak³,
N.Ya. Spivak³, J.V. Nekhoroshkova⁴, L.M. Shafran⁴

¹ O.V. Bogatsky Physicochemical Institute, NAS of Ukraine
86 Lustdorska doroga, Odesa, 65080, Ukraine

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

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

⁴ Ukrainian Scientific and Research Institute of Medicine on Transport
92 Kanatna Str., Odesa, 65039, Ukraine

Summary. Viral infections and epidemics are currently among the most severe factors of human mortality. HIV, hepatitis (A, B, C), acute respiratory infections including influenza and SARS are only the most mentioned examples. Given the rate of viral mutability and high risk of the new virus species appearing, developing of the effective antivirals is extremely actual. Ribavirin, arbidol, amizon, CMA (as cycloferon or neovir) and amixine (tilorone) may be referred as such drugs. The last one seems as the most perspective as capable of interferon inducing activity, indirect antiviral action, immunomodulation, and some other activities. No side effects' are observed under therapeutics doses. These drugs DNA and RNA intercalation ability was speculated as a start point of their action. Multiple mechanisms of antiviral activity (see the title) permitted us to postulate amixine as a polymodal antiviral drug. Thus, if intercalation really plays the main role in the amixine activities, any intercalator containing positively charged side chain should demonstrate similar antiviral and interferon inducing activity. Naphthalimides unsubstituted in the ring are attractive candidates because of proved intercalation ability and low cytotoxicity.

Synthesis of the compounds was performed using naphthalic anhydride condensation with N,N-di(mono)-substituted α,ω -diamines in the solvent free media under heating up to 115 °C during 2-3 h. Structures of the synthesized compounds were proved by the FAB mass-spectrometry and ¹H-NMR (300 MHz). Their affinity to CTDNA was evaluated using ethidium bromide competition test under pH=5.5 and appeared in a range of 1×10^6 - 5×10^6 M⁻¹. Cytotoxicity of the synthesized compounds was tested using L929 cell line under standard conditions. Most of the compounds appeared less toxic as tilorone. Interferon inducing activity was tested using EPT cell line after 24 h incubation after drug inoculation in the culture. All tested compounds demonstrated high level of interferon induction and appeared to be more active as tilorone under the same protocol. All compounds also demonstrated the high levels of the antiviral protection in the decamicromol range of concentrations when inoculated simultaneously with virus and much less when inoculated 24 h before viral infection start. So it may be concluded that the mechanisms of these antiviral actions are plural. Thus, capable of DNA intercalation ring unsubstituted N-(ω -aminoalkyl)naphthalimides are moderately cytotoxic active antivirals and interferon inducers, as we have speculated previously for DNA intercalators.

Keywords: dialkylaminoalkylnaphthalimides, antiviral drugs, interferon inducers, DNA intercalators, cytotoxicity.

Перелік літератури

1. Співак М.Я., Андронаті С.А., Ляхов С.А., Карпов О.В., Жолобак Н.М., Литвинова Л.О., Шай Д.Р. Індуктори інтерферону як противірусні агенти: нові аспекти старої проблеми // Журн. орг. та фарм. хімії. — 2007. — Т. 5, Вип. 1 (17). — С. 4-20.
2. Литвинова Л.А., Андронаті С.А., Головенко Н.Я. Пероральний індуктор ендогенного інтерферона амиксин і його аналоги (Обзор літератури) // Журн. Акад. мед. наук України. — 1999. — Т. 5, № 1. — С. 53-66.
3. 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.
4. Chandra P., Woltersdorf M. Tilorone hydrochloride — a specific probe for A-T regions of duplex deoxyribonucleic acid // Biochem. Pharmacol. — 1976. — Vol. 25, No. 8. — P. 877-880.
5. Hahn F.E. Nucleic acid complexing compounds // Antibiot. Chemother. — 1980. — Vol. 27. — P. 70-92.
6. 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.
7. 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.
8. Nishimura T., Takeda Y., Shimada N., Sakurai K. DNA conformational switching by use of an intercalator and its receptor // Chem. Lett. — 2007. — Vol. 36, No. 3. — P. 388-389.
9. Nishimura T., Okobira T., Kelly A.M., Shimada N., Takeda Y., Sakurai K. DNA binding of tilorone: ¹H NMR and calorimetric studies of the intercalation // Biochemistry. — 2007. — Vol. 46, No. 27. — P. 8156-8163.
10. Карпов О.В. Спектрофотометричне вивчення взаємодії одноланцюгової РНК з тилороном // Укр. біохім. журн. — 1997. — Т. 69. — С. 122-125.
11. Карпов О.В. Температурна денатурація молекулярних комплексів одноланцюгової РНК з тилороном // Укр. біохім. журн. — 1997. — Т. 69. — С. 49-52.
12. Попова Е.Г., Четкіна Л.А., Соболев А.Н., Литвинова Л.А., Ляхов С.А., Андронаті С.А., Поплавський А.Н. Стрoение кристаллов 2,7-диокси- и 2,7-диациетоксифлуоренонов // Кристаллография. — 1991. — Т. 36, № 1. — С. 82-85.
13. Chen K.X., Gresh N., Pullman B. Energetics and stereochemistry of DNA complexation with the antitumor AT specific intercalators tilorone and m-AMSA // Nucleic Acids Res. — 1988. — Vol. 16, No. 7. — P. 3061-3073.
14. Neidle S., Pearl L.H., Skelly J.V. DNA structure and perturbation by drug binding // Biochem. J. — 1987. — Vol. 243, No. 1. — P. 1-13.
15. Gniazdowski M., Denny W.A., Nelson S.M., Czyz M. Transcription factors as targets for DNA-interacting drugs // Curr. Med. Chem. — 2003. — Vol. 10, No. 11. — P. 909-924.
16. Ляхов С.А., Литвинова Л.А. О взаимодействии аміноалкоксифлуоренонов с нуклеиновими 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.
17. Ляхов С.А., Ляхова Е.А., Литвинова Л.А., Анд-

ронати С.А., Егорова А.В., Вельчева И.В., Грень А.И., Лебедюк М.Н., Федчук В.П., Хорохорина Г.А. Синтез и свойства нового типа лигандов ДНК — комблексина и бисинтерлексинов на основе амиксина // Хим.-фарм. журн. — 2003. — Т. 37, № 9. — С. 36-41.

18. Chandra P., Will G., Gericke D., Gotz A. Inhibition of DNA polymerases from RNA tumor viruses by tilorone and congeners: site of action // *Biochem. Pharmacol.* — 1974. — Vol. 23, No. 23. — P. 3259-3265.

19. Lyakhov S.A. Intercalative antiviral drugs: Mode of action 6th // *International Symposium on Molecular Aspects of Chemotherapy.* — Gdansk (Poland), 1997. — P. 137.

20. Карпенко А.С., Шибинская М.О., Ляхов С.А., Жолобак Н.М., Олевинская З.М., Литвинова Л.А., Спивак Н.Я., Андронати С.А. Синтез, ДНК-связывающие и интерферониндуцирующие свойства гидразонов изатина и бензоизатина // Хим.-фарм. журн. — 2006. — Т. 40, № 11. — С. 15-22.

21. Ляхова Е.А., Ляхов С.А., Литвинова Л.А., Андронати С.А., Лебедюк М.Н., Федчук В.П., Хорохорина Г.А. Синтез и ДНК-связывающие свойства аминокетилгидразонов 9-формилакридина и 9-формилантрацена // Хим.-фарм. журн. — 2005. — Т. 39, № 4. — С. 16-20.

22. Карпенко А.С., Ляхов С.А., Литвинова Л.А., Андронати С.А., Лебедюк М.Н., Хорохорина Г.А. Синтез и аффинитет к ДНК N-[2-(диалкиламино)ацетиламино]нафталимидов // *Вісник Одеського національного університету. Сер. «Хімія».* — Т. 10, № 2. — С. 176-183.

23. Alcaro S., Arena A., Neri S., Ottana R., Ortuso F., Pavone B., Vigorita M.G. Design and synthesis of DNA-intercalating 9-fluorenyl-beta-O-glycosides as potential IFN-inducers, and antiviral and cytostatic agents // *Bioorg. Med. Chem.* — 2004. — Vol. 12, No. 7. — P. 1781-1791.

24. Brana M.F. and Ramos A. Naphthalimides as anticancer agents: synthesis and biological activity // *Curr. Med. Chem. — Anticancer Agents.* — 2001. — Vol. 1. — P. 237-255.

25. Malviya V.K., Liu P.Y., Alberts D.S., Craig J.B. Evaluation of amonafide in cervical cancer, phase II. A SWOG study // *Am. J. Clin. Oncol.* — 1992. — Vol. 15. — P. 42-44.

26. Sami S.M., Dorr R.T., Alberts D.S., Remers W.A. 2-Substituted 1,2-dihydro-3H-dibenz[de,h]isoquinoline-1,3-diones. A new class of antitumor agent // *J. Med. Chem.* — 1993. — Vol. 36, No. 6. — P. 765-770.

27. Носач Л.М., Повниця О.Ю. Доклінічні дослідження специфічної антивірусної дії лікарських засобів у культурі клітин на моделі аденовірусу. Методичні рекомендації // *Вісник фармакології та фармації.* — 2007. — № 9. — С. 52.

28. Antonini I., Polucci P., Kelland L.R., et al. 2,3-Dihydro-1H,7H-pyrimido[5,6,1-de]acridine-1,3,7-trione derivatives, a class of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines: Synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships // *J. Med. Chem.* — 1999. — Vol. 42, No. 14. — P. 2535-2541.

29. Лакин Г.Ф. Биометрия. — Москва: Высшая школа, 1990.