

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ФІЗИКО-ХІМІЧНИЙ ІНСТИТУТ ім. О.В. БОГАТСЬКОГО**

ЗАНОЗА СВІТЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 547.621.05 +578.24+577.113.7

**4,4'-ДИЗАМІЩЕНІ БІФЕНІЛИ ТА ЇХ АНАЛОГИ.
СИНТЕЗ, ПРОТИВІРУСНІ ВЛАСТИВОСТІ,
ІНДУКЦІЯ ІНТЕРФЕРОНУ, АФІНІТЕТ ДО ДНК**

02.00.10 – біоорганічна хімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата хімічних наук

Одеса – 2017

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у відділі медичної хімії Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Науковий керівник: – кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник

ЛЯХОВ Сергій Анатолійович,

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, старший науковий співробітник відділу медичної хімії

Офіційні опоненти: – доктор хімічних наук, професор **Шермолович Юрій Григорович**, заступник директора з наукової роботи Інституту органічної хімії НАН України (м. Київ);

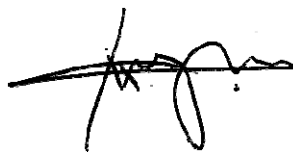
– кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник **Пальчиков Віталій Олександрович**, завідувач НДЛ теоретичних та прикладних проблем хімії кафедри органічної хімії, Дніпровського національного університету ім. Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України (м. Дніпро).

Захист відбудеться 7 липня 2017 р. о 13-30 год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.219.02 в Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України за адресою: 65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86.

З дисертацією можна ознайомитись в науковій бібліотеці Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України.

Автореферат розісланий “ ____ ” травня 2017 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
кандидат хімічних наук,
старший науковий співробітник



С.М. Плужник-Гладир

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Незважаючи на зусилля, які людство спрямовує на боротьбу з вірусними інфекціями, гострота цієї проблеми не послаблюється.

У Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України з середини 70-х років триває розробка неспецифічних полімодальних противірусних препаратів, які водночас є імуномодуляторами. Ефективність даного підходу ілюструється створенням і впровадженням в медичну практику препарату аміксин, для якого показана висока інгібуюча активність відносно 17 з 19 досліджених сімейств вірусів.

Розуміння механізму реалізації біологічної активності є ключовим фактором для раціонального створення нових ефективних лікарських препаратів.

Щодо механізму дії аміксину було сформульовано дві гіпотези. Перша (Ляхов С.А., Литвинова Л.О., 1989 р.) передбачає здатність аміксина до інтеркаляції у двоспіральні полінуклеотиди як ключовий механізм інгібування реплікації вірусного геному та дерепресії генів інтерферону хазяїна. Друга гіпотеза (Карпов О.В., 1992 р.) розглядає аміксин як дикатіон, який стабілізує тимчасові дволанцюгові ділянки односпіральної РНК. Ці дволанцюгові ділянки є природними лігандами TLR-3 рецепторів (мембранні білки, які здатні утворювати комплекс з дволанцюговими РНК вірусів). Для перевірки цих гіпотез автором дисертації у 2004 році синтезовані аналоги аміксину, імовірно позбавлені здатності до інтеркаляції: 4,4'-біс-(2-диетиламіноетокси)біфеніл (сполука 1) – відрізняється від аміксину відсутністю карбонільної групи в центральному фрагменті, 2-метоксикарбоніл-4,4'-біс-[2-(диетиламіно)етокси]-1,1'-біфеніл (сполука 2), 2,2-біс-[4-(2-(диетиламіно)етокси)феніл-1]пропан (сполука 3). Якщо більш обґрунтованою є друга гіпотеза, то сполукам 1 – 3 повинна бути притаманною приблизно однакова активність, близька до активності аміксину. Якщо основний внесок дає інтеркаляція, то сполука 1 повинна проявити більш низьку за аміксин противірусну дію, сполука 2 – набагато нижчу, сполука 3 взагалі не бути активною. Була досліджена противірусна активність та здатність до індукції інтерферону цих сполук. Сполука 3 проявила високу цитотоксичність та низькі противірусну та інтерфероніндукуючу активності. Сполука 2 проявила противірусну активність, але не індукувала інтерферон. Сполука 1, всупереч очікуванням, проявила противірусну активність, вищу за противірусну активність аміксину, низьку цитотоксичність та індукувала інтерферон.

Для більш детального вивчення отриманих результатів вважалось доцільним дослідити здатність до інтеркаляції, противірусну та інтерфероніндукуючу активності не тільки сполуки 1, а й широкої низки 4,4'-заміщених біфенілів для встановлення зв'язку між структурою та біологічною активністю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана згідно з планом науково-дослідницьких робіт Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України за темою “Структура, селективність зв'язування з біомішенями та активність сполук, що мають нейротропну, імуотропну і антитромботичну активність” (№ держ. реєстрації 0112U003037).

Мета та завдання дослідження. Мета даної роботи – закономірності зв'язку між структурою 4,4'-дизаміщених біфенілів з їх біологічною активністю. Для досягнення даної мети поставлені наступні завдання:

1. Відпрацювання ефективних методів синтезу нових похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксифенілімінометилфенолу.
2. Дослідження біологічної активності та здатності до інтеркаляції у ДНК синтезованих сполук.
3. Встановлення можливого типу взаємодії синтезованих сполук з ДНК.
4. Аналіз структура – властивості даних низок сполук.

Об'єкт дослідження – зв'язок між структурою 4,4'-дизаміщених біфенілів та їх біологічною активністю, механізм взаємодії даних сполук з ДНК.

Предмет дослідження – механізм взаємодії з ДНК, цитотоксичність, протівірусна активність, здатність до індукції інтерферону похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, афінитет до ДНК похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксифенілімінометилфенолу.

Методи дослідження – для дослідження структури синтезованих сполук були використані такі методи: інфрачервона спектроскопія, спектроскопія ядерного магнітного резонансу на ядрах ^1H та ^{13}C , мас-спектрометрія, ультрафіолетова спектроскопія. Сукупність вище наведених методів дозволяє приписувати синтезованим сполукам їх структури. Чистоту синтезованих сполук контролювали тонкошаровою хроматографією на пластинках Sorbfil. Здатність до інтеркаляції у ДНК досліджена віскозиметрією та спектрофотометрією згідно зі стандартними протоколами (Current protocols in nucleic acids). За допомогою молекулярного докінгу показана можливість зв'язування синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів та їх аналогів у малому жолобі ДНК.

Наукова новизна отриманих результатів. Встановлено, що похідним 4,4'-дигідроксибіфенілу притаманна висока протівірусна активність, титри інтерферону, які зазвичай знаходяться на рівні титру, індукованого аміксином, або перевищують його, низька чи помірна цитотоксичність, відсутня здатність до активування чи пригнічування запалення, що робить дані сполуки перспективними для подальшого дослідження як протівірусних агентів.

Основний внесок в здатність до гемолізу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів з різною довжиною вуглеводневого ланцюга відіграє довжина останнього, так само, як і в випадку цитотоксичності, тому перспективнішими слід вважати сполуки з коротшим ланцюгом.

Встановлено нездатність до інтеркаляції у ДНК похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, що говорить на користь іншого від аміксину способу взаємодії з ДНК даних сполук.

Молекулярним докінгом показана можливість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК. Встановлена значуща кореляція між константою зв'язування з ДНК та скорінг-функцією для послідовності d(CSICICSI)₂.

Практичне значення отриманих результатів. Вдосконалені методи синтезу похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксибенілімінометилфенолу, досліджені їх біологічні властивості.

Серед 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів виявлені сполуки з більшою противірусною активністю та здатністю до індукції інтерферону, ніж у препарату порівняння аміксині, та низькою цитотоксичністю.

Виявлено сполуку-лідер, якій є притаманними терапевтичний індекс, вищий за терапевтичний індекс аміксина, низька цитотоксичність, висока противірусна активність, індукція інтерферона, відсутність здатності активувати запалення, що робить її перспективною для подальших досліджень як противірусний препарат.

Отримане рівняння, яке здатне прогнозувати константу асоціації двоосновних 4,4'-заміщених біфенілів з ДНК, виходячи зі значення скорінг-функції, отриманої в результаті докінгу.

Особистий внесок здобувача. Полягає у синтезі всіх описаних в роботі сполук – похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу та їх аналогів; проведенні фотометричних, флюорометричних та віскозиметричних досліджень; дослідженні здатності до гемолізу еритроцитів; дослідженні афінитету до ДНК; проведенні докінгу та обробці результатів; аналізі спектральних даних; обробці сукупності отриманих даних.

Спектральні дослідження проведено спільно з співробітниками ФХІ ім. О.В. Богатського НАН України: с.н.с., к.х.н. О.В. Мазепою та н.с., к.х.н. І.М. Ракіповим, Спектри ^1H ЯМР зареєстровані співробітником Інституту фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л.М. Литвиненка НАН України с.н.с., к.х.н. Зубрицьким М.Ю.

Противірусна, інтерфероніндукуюча активності та цитотоксичність *in vitro* досліджена в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України с.н.с., к.б.н. Жолобак Н.М. із співробітниками (м. Київ).

Протимікробна активність досліджена у Київському національному університеті ім. Тараса Шевченка (Навчально-науковий центр «Інститут біології», кафедра мікробіології та загальної імунології).

Постановка завдань, аналіз, обговорення результатів та формулювання висновків дисертації проведені сумісно із науковим керівником.

Апробація результатів дисертації. Основні результати роботи доповідалися й обговорювалися на VI Міжнародній конференції “Хімія азотовмісних гетероциклів” (Харків, 12 – 16 листопада 2012); XV “Конференції молодих вчених та студентів-хіміків Південного регіону України з міжнародною участю” (Одеса, 17 – 19 квітня 2013); Міжнародній науково-практичній конференції “Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології” (Одеса, 19 вересня 2014); XVII “Конференції молодих вчених та студентів-хіміків Південного регіону України з міжнародною участю” (Одеса, 28 квітня – 1 травня 2015); XV науковій конференції “Львівські хімічні читання – 2015” (Львів, 24 – 27 травня 2015); International conference for young scientists “Actual problems of microbiology and biotechnology” (Одеса, 1 – 4 червня 2015); “Frontiers in Medicinal Chemistry 2015” (Antwerp,

Belgium, 14 – 16 вересня 2015); VI Українській конференції “Домбровські хімічні читання – 2015” (Чернівці, 22 – 25 вересня 2015).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 4 статті у фахових журналах, тези 8 доповідей на міжнародних та українських конференціях, отримано 1 патент України на винахід.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається із вступу, огляду літератури (розділ 1), обговорення результатів (розділи 2 – 3), експериментальної частини (розділ 4), висновків, списку цитованої літератури (112 джерел). Робота викладена на 136 сторінках, містить 62 рисунки, 26 таблиць і додатки.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Перший розділ є оглядом літератури стосовно методів синтезу похідних біфенілу їх та біологічної активності.

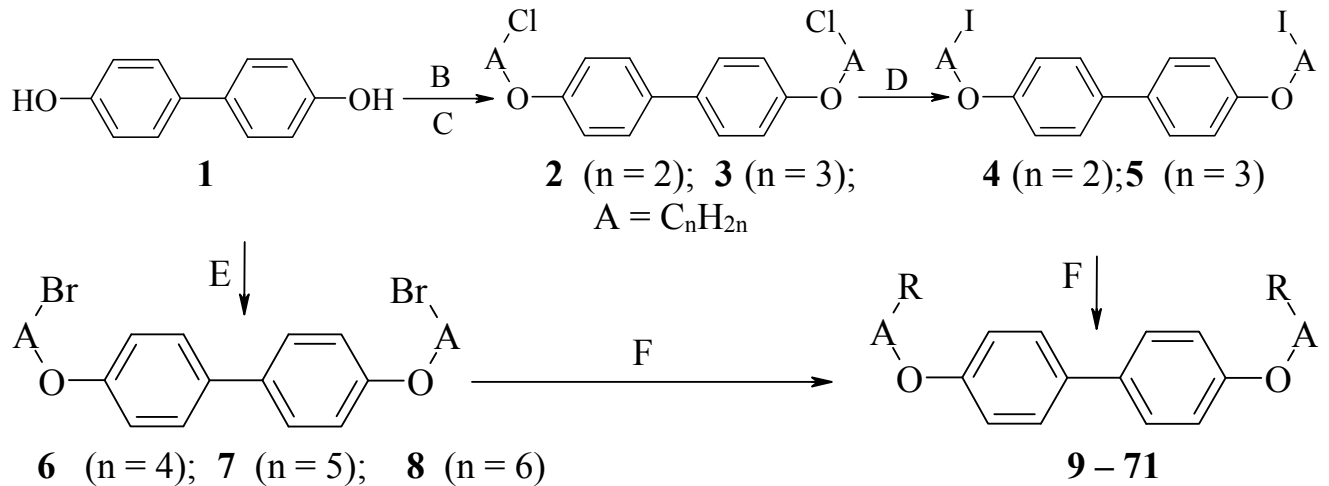
Другий розділ присвячено методам синтезу та структурним особливостям похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]-метил}фенолу.

4,4'-Біс-(2-диетиламіноетокси)біфеніл (**14**) отримували двома методами: аміноалкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1**) та амінодегалогенуванням дийодоетоксибіфенілів. Аміноалкілування проводили у суміші хлороформу, насиченого водного розчину карбонату калію, при кімнатній температурі при 50 – 250 %-ому надлишку алкілюючого агенту за умови ефективного перемішування реакційної суміші.

4,4'-Біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли (**9 – 71**) синтезовані галогеноалкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1**) α, ω -дигалогеноалканами з різною довжиною вуглеводневого ланцюга та наступним амінуванням.

4,4'-Бісхлороетоксибіфеніл (**2**) одержували хлороалкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1**) 1,2-дихлороетаном у двофазній системі: водний розчин гідроксиду натрію – 1,2-дихлороетан, із застосуванням тетрабутиламонію хлориду. Хлоропропоксибіфеніл (**3**) та бромалкоксибіфеніли (**6 – 8**) синтезували галогеноалкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу відповідними дигалогеноалканами в ДМФА у присутності карбонату калію. Хлор у сполуках **2** і **3** заміщували на йод в двофазній системі ксилол – водний розчин йодиду натрію в присутності тетрабутиламонію йодиду.

Цільові 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли **9 – 71** отримані взаємодією йодоетокси-, йодопропоксибіфенілів (**4, 5**) та бромалкоксибіфенілів (**6 – 8**) із первинними або вторинними амінами при кімнатній температурі в розчині в диметилформаміді (рис. 1). Після закінчення реакції реакційну суміш розбавляли водою, продукти реакції виділяли екстракцією хлороформом при різних значеннях рН. Кінцеві продукти виділяли залежно від будови амінного фрагмента як дигідрохлориди або тетрагідрохлориди висадженням розчином безводного хлористого водню в 1,4-діоксані з наступним кип'ятінням в ацетоні. Будова синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів **9 – 71** представлена в таблиці 1.



B: $n = 2$; $C_2H_4Cl_2/H_2O/NaOH/TBACl$

C: $n = 3$; $Br(CH_2)_3Cl/DMF/K_2CO_3$

D: $n = 2, 3$; NaI

E: $n = 4 - 6$; $BrC_nH_{2n}Br/DMF/K_2CO_3$

F: $n = 2 - 6$; RH/DMF

Рисунок 1 – Синтез 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів 9 – 71

Таблиця 1 – Будова синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів 9 – 71

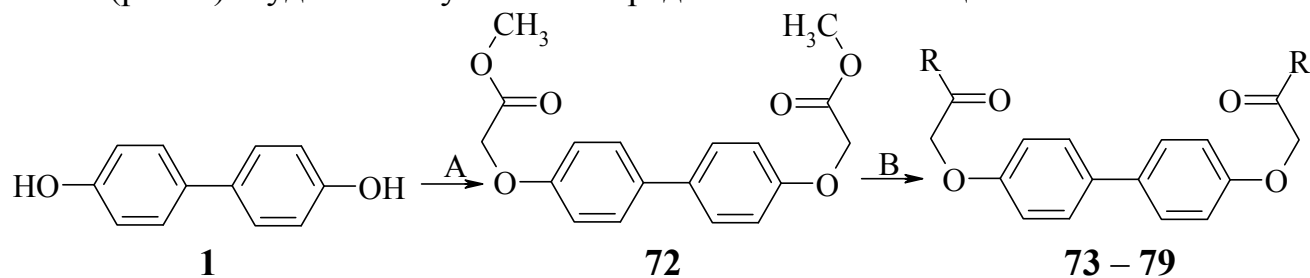
Но- мер	Структура	Но- мер	Структура	Но- мер	Структура	Но- мер	Структура
1	2	1	2	1	2	1	2
9		10		11		12	
13		14		15		16	
17		18		19		20	
21		22		23		24	
25		26		27		28	
29		30		31		32	

Продовження таблиці 1

1	2	1	2	1	2	1	2
33		34		35		36	
37		38		39		40	
41		42		43		44	
45		46		47		48	
49		50		51		52	
53		54		55		56	
57		58		59		60	
61		62		63		64	
65		66		67		68	
69		70		71			

Аміди 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти (73 – 79) отримували алкілуванням 4,4'-диоксифіфенілу (1) метилбromoацетатом з наступним лужним

гідролізом та амінуванням хлороангідриду отриманої кислоти рядом первинних амінів (рис. 2). Будова сполук **73** – **79** представлена в таблиці 2.



A: $\text{BrCH}_2\text{COOCH}_3/\text{DMF}/\text{K}_2\text{CO}_3$

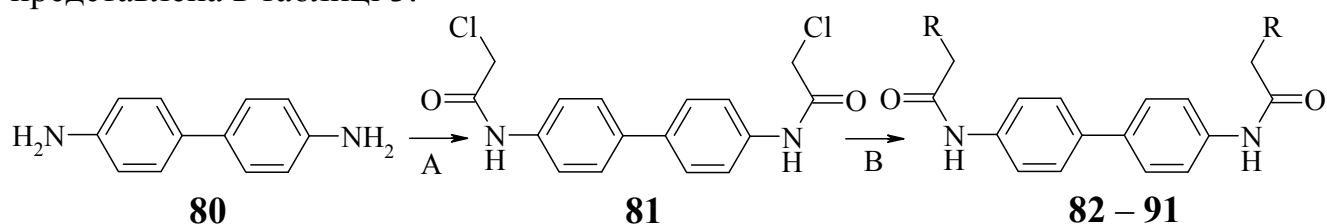
B: $\text{NaOH}/\text{HCl}/\text{SOCl}_2; \text{HR}/\text{DMF}$

Рисунок 2 – Синтез амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти **73** – **79**

Таблиця 2 – Будова синтезованих амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти **73** – **79**

Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура
73		74		75		76	
77		78		79			

N,N' -Біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетаміди) (**82** – **91**) синтезовані хлороацилюванням бензидину (**80**) з наступним амінуванням отриманого N,N' -біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетаміду) (**81**) низкою первинних та вторинних амінів. N,N' -Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетамід) отримували кип'ятінням в ксилолі суміші бензидину та хлороангідриду хлорооцтової кислоти. Амінодехлорування з виходами від помірних до високих проводили надлишком аміну в ДМФА при кімнатній температурі (рис. 3). Будова синтезованих аміноацетамідів **82** – **91** представлена в таблиці 3.



A: $\text{ClCH}_2\text{COCl}/\text{C}_6\text{H}_6$

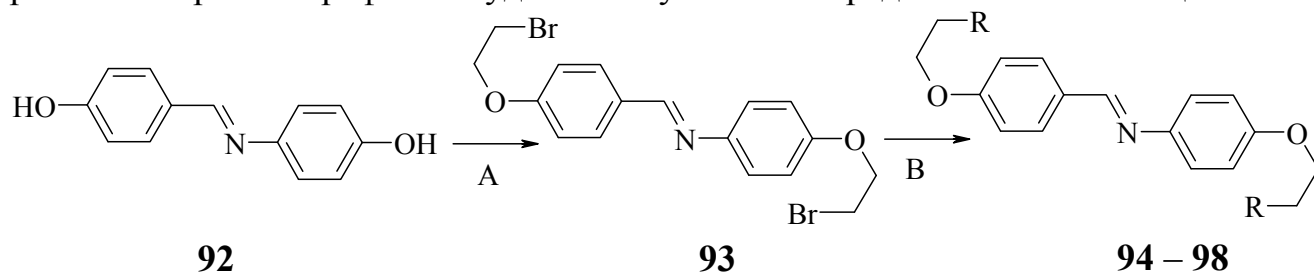
B: HR/DMF

Рисунок 3 – Синтез N,N' -Біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів) **82** – **91**

Таблиця 3 – Будова синтезованих N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів)

Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура
82		83		84		85	
86		87		88		89	
90		91					

[4-(2-Аміноетокси)феніл] {(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен] аміни (94 – 98) отримували алкілуванням 4 {(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил} фенолу (92) дибромоетаном з наступним амінуванням отриманого дибромопохідного (93) низкою первинних та вторинних амінів (рис. 4). Цільові сполуки виділені препаративною хроматографією. Будова сполук 94 – 98 представлена в таблиці 4.



A: C₂H₄Br₂/DMF/K₂CO₃

B: HR/DMF

Рисунок 4 – Синтез [4-(2-аміноетокси)феніл] {(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен] амінів 94 – 98

Таблиця 4 – Будова синтезованих [4-(2-аміноетокси)феніл] {(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен] амінів 94 – 98

Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура
94		95		96		97	
98							

Загалом синтезовано 63 4,4'-біс-(ω-аміноалкокси)біфеніла, 7 амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти, 10 N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів) та 5 [4-(2-аміноетокси)феніл] {(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен] амінів.

Третій розділ присвячено вивченню здатності до гемолізу еритроцитів, цитотоксичності, противірусної активності, здатності до індукції, типу взаємодії з ДНК, афінитету до ДНК, докінгу та зв'язку структура – властивості в низці синтезованих сполук.

Визначення здатності до гемолізу. Гемолітичні властивості синтезованих сполук досліджували, використовуючи еритроцити людини (здорових донорів) 0(I) групи в ізотонічному фосфатному буферному розчині ($\text{pH} = 7.4 \pm 0.05$) при концентрації сполук 2 мМ. Ступінь гемолізу розраховували за формулою $H_R = \frac{\bar{A}_j - \bar{A}_0}{\bar{A}_{100} - \bar{A}_0} \times 100\%$, де \bar{A}_j – оптична густина дослідного розчину, \bar{A}_0 – оптична густина K_0 , \bar{A}_{100} – оптична густина K_{100} . Як негативний контроль використовували ізотонічний буферний розчин, як позитивний контроль – 0.2 % розчин тритону X 100 в ізотонічному буферному розчині.

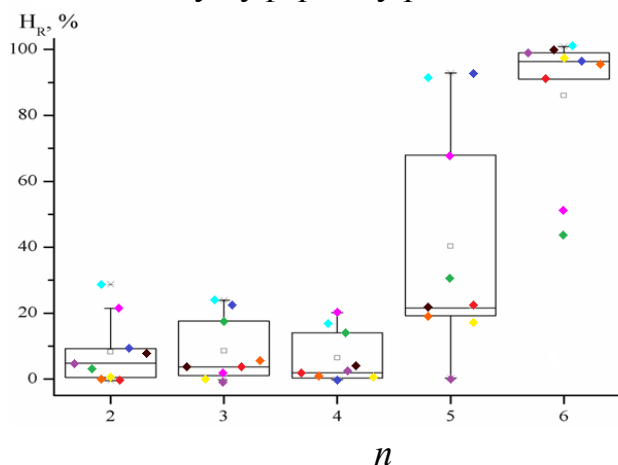


Рисунок 5 Розподіл гемолітичної активності (H_R , %) 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів за групами, утвореними за кількістю метиленових ланок в боковому ланцюзі (n) схожості на поверхнево-активні речовини, і, як наслідок, більшою здатністю до руйнування клітинної мембрани. В той же час, вплив будови термінальної аміногрупи є незначущим.

З наведеної на рис. 5 діаграми та результатів аналізу за методом Краскела-Уоліса для порівняння декількох вибірок даних випливає, що різниця між сполуками груп 2, 3 та 4 відсутня ($P < 0.85$), в той час як між цими групами та групами 5 та 6 різниця значуща на рівні $P < 3 \times 10^{-5}$. Таким чином, в низці 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів подовження бокового ланцюга понад чотири метиленові ланки призводить до стрімкого зростання гемолітичних властивостей, що може бути пов'язано зі зростанням

Таблиця 2 – Будова амінного фрагменту

$\text{R} - \left[\text{CH}_2 - \text{CH}_2 \right]_n - \text{O} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{O} - \left[\text{CH}_2 - \text{CH}_2 \right]_n - \text{R}$									
RH	Колір	RH	Колір	RH	Колір	RH	Колір	RH	Колір
<chem>CN(C)C</chem>	Жовтий	<chem>CNCC</chem>	Червоний	<chem>C1CCNCC1</chem>	Темно синій	<chem>C1CCNCCO1</chem>	Зелений	<chem>CN(C)C</chem>	Рожевий
<chem>CN(C)CCN</chem>	Білий	<chem>CN(C)CCN</chem>	Пурпурний	<chem>CN(C)CCN</chem>	Синій	<chem>CN(C)CCN</chem>	Оранжевий		

Жодне з похідних 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти не приводило до значного гемолізу. Серед похідних бензидину найбільшу здатність до гемолізу має сполука **82**, найменшу – **91**.

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

Цитотоксичність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів вивчали на клітинах ПТП та НЕР-2. Відносно клітин ПТП більшість сполук характеризується значеннями LC_{50} в діапазоні 10 – 100 мкМ. Найменшу цитотоксичність проявила сполука, яка містить 4-метилпіперидин як термінальну аміногрупу. Різниця в цитотоксичності в низці 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфенілів відносно клітин НЕР-2 сягає трьох порядків. Відносно клітин НЕР-2 найменша цитотоксичність у сполуки, яка має морфолін як термінальну аміногрупу (**20**), найбільша – у тетраосновного похідного **26**.

Цитотоксичність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів з різною довжиною вуглеводневого ланцюга оцінювали відносно клітин L929 та ТНР-1Blue. Відносно клітин L929 найменша цитотоксичність притаманна сполуці **20**, найбільша – сполуці **63** (рис. 6).

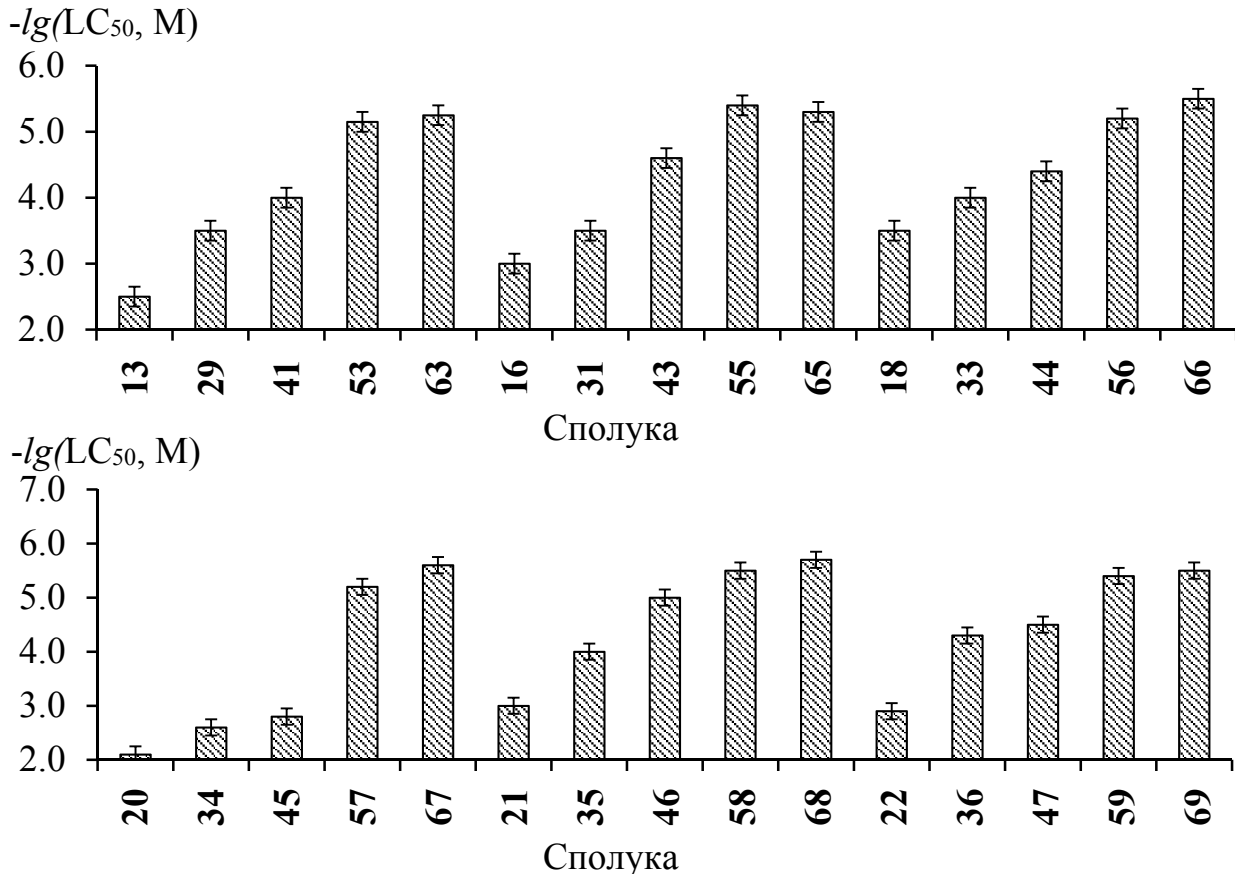


Рисунок 6 – Цитотоксичність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів на клітинах L929

Цитотоксичність відносно модифікованих клітин ТНР-1Blue також має тенденцію до зростання зі збільшенням вуглеводного ланцюга

Як і у випадку здатності до гемолізу, сполуки з коротшими боковими ланцюгами переважно менш токсичні за сполуки з довгими. Саме подовження ланцюга викликає збільшення цитотоксичності приблизно на три порядки, в той час як для сполук з ланцюгами однакової довжини, але з різними термінальними аміногрупами, розбіжність в цитотоксичності не перевищує одного порядку.

Противірусна активність. Противірусну активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів вивчали на перевивних лініях клітин L929 – клітин підшкірної сполучної тканини миші СЗН/An, сублінія "а", використовуючи вірус везикулярного стоматиту.

Противірусна активність (захист від цитопатичної дії вірусів) демонструє тенденцію до зниження практично на один порядок із подовженням ланцюга, що може бути пов'язано насамперед зі збільшенням цитотоксичності в даній низці сполук. Як у випадку цитотоксичності вплив термінальної аміногрупи на противірусну активність сполук значно менше виражений, в той час як довжина ланцюга дає основний внесок. Слід зазначити, що залежність противірусного захисту від довжини ланцюга є менш вираженою, ніж така залежність для цитотоксичності (табл. 5).

Таблиця 5 – Противірусна активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Сполука	-lgIC ₅₀ , М	Сполука	-lgIC ₅₀ , М	Сполука	-lgIC ₅₀ , М
13	6.3	33	6.2	55	5.8
16	6.2	41	5.8	56	5.7
18	6.3	43	6.0	63	5.5
29	6.0	44	5.9	65	5.6
31	6.1	53	5.6	66	5.3

Терапевтичні індекси 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів зменшуються зі збільшенням вуглеводного ланцюга (табл. 6).

Таблиця 6 – Терапевтичні індекси похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу

Сполука	ТІ	Сполука	ТІ	Сполука	ТІ
16	1585	43	25	56	3
18	631	44	32	65	2
31	398	55	3	66	1
33	158				

Здатність до індукції інтерферону. Здатність до індукції інтерферону вивчали на клітинах L41, які культивували у присутності досліджених сполук з послідовним двократним розведенням впродовж 24 годин при 37 °С в умовах постійного рівня CO₂.

Титр більшості похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу знаходиться на рівні титру аміксіну або перевищує його (табл. 7). Звертає на себе увагу, що для двох сполук – **54** та **55** рівень індукції практично не залежить від концентрації, інші проявляють пряму або зворотну дозозалежність. Обмежена кількість досліджених сполук та вузький діапазон концентрацій не дозволяють зробити більш конкретні висновки щодо впливу структури на активність. Тим не менш, практично всі сполуки індують інтерферон в концентраціях зіставних з нетоксичними.

Таблиця 7 – Титр ІФН, індукованого 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілами при різних концентраціях досліджуваних сполук

Сполука	-log(C, μ M)				Сполука	-log(C, μ M)				Сполука	-log(C, μ M)			
	5.36	5.06	4.76	4.46		5.36	5.06	4.76	4.46		5.36	5.06	4.76	4.46
21	32	32	16	16	49	64	32	32	32	60	64	64	32	16
13	16	32	32	16	41	0	32	32	16	62	32	32	64	32
38	0	32	32	32	61	64	32	32	32	71	8	64	32	16
31	64	64	16	8	55	32	64	32	32	67	64	64	64	32
33	64	64	16	16	58	32	128	64	8	66	32	32	8	16
29	32	64	32	16	59	64	32	32	16	63	0	16	32	16
40	16	32	32	32	53	32	32	32	32	Аміксин	16	16	32	0

Протибактеріальна активність. Наявність бактерицидного, бактеріостатичного та фунгіцидного впливу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів вивчалась методом Голда (метод секторальних посівів). Показано, що більшість сполук проявляють бактеріостатичну дію проти грамположитивних та грамнегативних бактерій.

Протизапальна активність.

Більшість сполук із лінкерним ланцюгом в дві метиленові ланки не проявляють ані токсичність, ані здатність інгібувати NF- κ B (ядерний фактор транскрипції, активація якого може приводити до запалення, злоякісних новоутворень, лімфоми, контролює експресію генів імунної відповіді, клітинного циклу та апоптозу). З ростом довжини лінкеру обидві властивості стають виразнішими, причому найбільше проявляються при $n = 4$, незначно зменшуючись з подальшим подовженням лінкеру.

Наявність кореляції між цитотоксичністю та здатністю до інгібування NF- κ B свідчить на користь інгібування за рахунок цитотоксичності.

Взаємодія з ДНК.

Перевірка здатності похідних біфенілу до інтеркаляції у ДНК. Перевірку здатності синтезованих сполук до інтеркаляції проводили методом віскозиметрії, спектрофотометрії та конкуренції з етидієм бромідом (ЕБ).

Жодна з досліджених сполук не приводила до збільшення в'язкості розчину (як міру в'язкості використовували час витікання розчину ДНК в присутності досліджених сполук) ДНК при надлишках сполуки 2.5:1 (табл. 8), на відміну від похідних 2,7-дигідроксифлуоренону: 2,7-біс-(2-диетиламіноетокси)флуоренону

(сполука **117**), 2,7-біс-(2-диетиламінобутоксифлуоренону (сполука **118**) та 2,7-біс-(2-диетиламіногексоксифлуоренону (сполука **119**)).

Таблиця 8 – Характеристична в'язкість розчинів сполук

Сполука	η	σ	Сполука	η	σ
ДНК	0.156	0.002			
117	0.213	0.003	14	0.158	0.003
118	0.216	0.003	40	0.155	0.002
119	0.168	0.001	64	0.122	0.003

Для перевірки наявності ознак інтеркаляції нами були зареєстровані електронні спектри розчинів 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів. В спектрі суміші ДНК із сполукою **14** смуга поглинання має максимум при тій самій довжині хвилі, що й спектр розчину сполуки, тобто батохромний зсув відсутній, на відміну від аналогічного спектру, зареєстрованого для сполуки відомого інтеркалятора аміксина.

Всі синтезовані сполуки конкурували з ЕБ за місця зв'язування з ДНК.

Відсутність батохромного зсуву, збільшення в'язкості розчину ДНК у присутності ліганду однозначно вказує на те, що 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли не є інтеркаляторами ДНК.

Афінитет об'єктів дослідження до ДНК. Значення констант асоціації 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів з ДНК залежить від довжини вуглеводневого ланцюга. При збільшенні останнього до 4 – 5 вуглеводневих ланок, константи збільшуються.

Значний інтерес становить порівняльний аналіз афінитету похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу з аналогічними похідними 2,7-дигідроксифлуоренону.

Із застосуванням простого ортогонального трифакторного дисперсійного аналізу встановлено, що всі три незалежні структурні фактори (Фактор А – будова термінальної аміногрупи, Фактор В – довжина поліметиленового фрагменту та Фактор С – тип поліциклічної системи) значущо впливають на афінитет. Очікувано, найбільший внесок (94 %) належить поліциклічному фрагментові. Внесок довжини поліметиленового ланцюга приблизно в 30 разів менший, роль термінальної аміногрупи складає 0.64 %

Докінг 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб ДНК.

Зважаючи на утворення комплексу ліганд – ДНК та відсутність інтеркаляційних властивостей для низки 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів, був проведений докінг даних сполук у малий жолоб ДНК для перевірки припущення про зв'язування в малому жолобі.

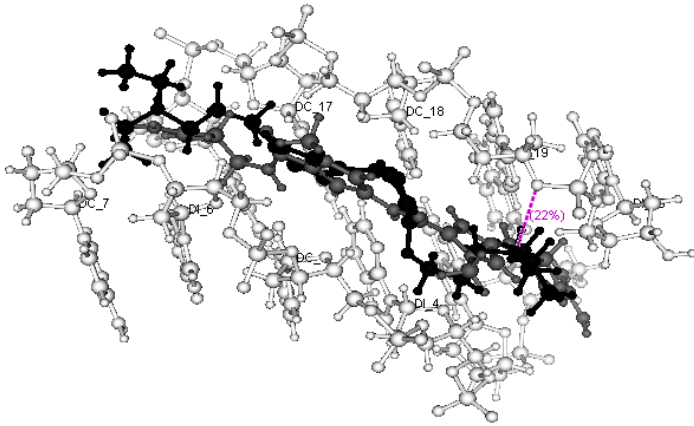
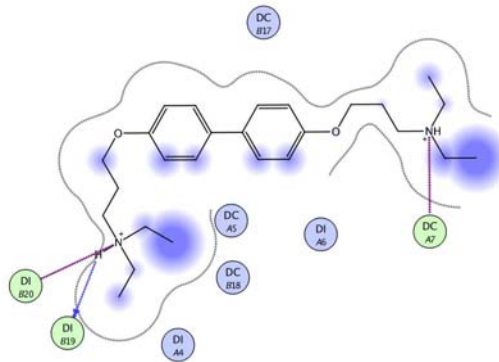
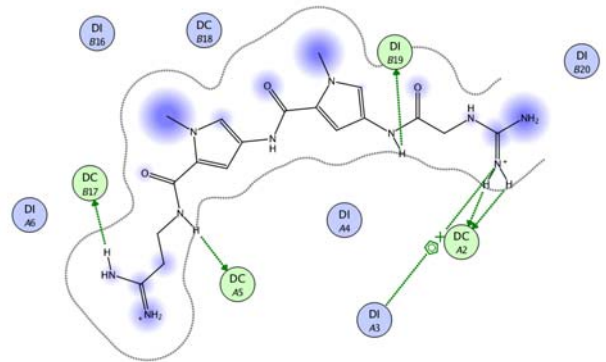


Рисунок 7 – Зв'язування сполуки **30** з комплексом олігонуклеотида та нетропсина

Докінгом 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб комплексів олігонуклеотидів та нетропсина (комплекси завантажені з інтернет ресурсу <http://www.rcsb.org/pdb/>) за допомогою програми МОЕ 2011.10 (CCG) з використанням силового поля amber99 була показана можливість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК (рис.7,8).



Центри зв'язування сполуки **30**



Центри зв'язування нетропсина

Рисунок 8 – Центри зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів та нетропсина

Сполучі **30** притаманне оточення, аналогічне оточенню вихідного ліганду – нетропсину, з одного боку вона взаємодіє з цитозином, з іншого – з інозином.

Отримані в результаті докінгу (математичного метода, який використовується для прогнозування міцності нековалентної взаємодії між лігандом та рецептором) значення скорінг-функції (SF) є фактично виграшом енергії при утворенні комплексу. З використанням параметру рангової кореляції Kendall tau була встановлена кореляція між SF і константою зв'язування з ДНК (lgK_a) для послідовності d(CСІІСІСІІ)₂.

Для оцінки нормальності розподілу експериментально отриманих значень lgK_a та теоретично отриманих значень SF було проведено порівняння розподілу цих даних за квантилями (Q-Q-тест, графічний метод оцінки нормальності розподілу даних) проти нормального розподілу та показано, що в даному випадку виправдано використання параметричної статистики. Кореляція між SF та lgK_a була розрахована з використанням мінімального значення SF . З використанням методу найменших квадратів був проведений лінійний регресійний аналіз (рис. 9) та отримане рівняння 1.

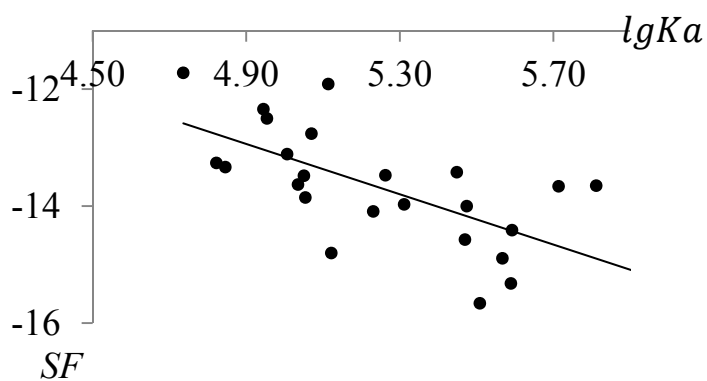


Рисунок 9 – Залежність SF від $lgKa$ для послідовності $d(CSPICSP)_2$

Рівняння 1 було використане для прогнозування констант зв'язування з ДНК похідних бензидину **86**, **91**, **88** – **85**, для яких були отримані експериментальні значення $lgKa$ та проведений докінг у малий жолоб ДНК тої самої послідовності ($d(CSPICSP)_2$). Порівняння експериментально отриманих значень $lgKa$ з теоретично розрахованими за допомогою рівняння 1 показало, що розрахункове значення близько до теоретичного: середня абсолютна похибка дорівнює 0.38, середньоквадратичне відхилення дорівнює 0.43, що дозволяє нам використовувати рівняння 1 для прогнозування афінитету до ДНК похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу та близьких за структурою сполук.

$$SF = -2.158(\pm 0.481)lgKa - 2.3636(\pm 2.5361) \quad (1)$$

Проведено докінг низки 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб комплексу ДНК (з послідовністю $d(CGCGAATTCGCG)_2$) з 4,4'-заміщеним біфенілом N,N' -біс[3-(4,5-дигідро-1H-імідазол-2-іл)феніл]біфеніл-4,4'-дикарбоксамідом та показано можливість зв'язування даних сполук аналогічно вихідному ліганду, але в ланках ДНК, багатих на GC пари.

Як і в випадку докінгу похідних біфенілу у малий жолоб ДНК комплексу ДНК з нетропсином, для подальшої оцінки зв'язування використовувалось мінімальне значення скорінг-функції отриманого комплексу. В даному випадку кореляція між значеннями SF и $lgKa$ відсутня ($R^2 = 0.014$).

У **четвертому розділі** наводяться методики отримання синтезованих сполук та визначення їх властивостей.

ВИСНОВКИ

1. Показано, що 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілам притаманними є здатність утворювати комплекси з ДНК, інгібувати вірусну репродукцію та індукувати інтерферони I типу в культурі клітин. Збільшення довжини аміноалкоксильного ланцюга призводить до зменшення терапевтичного індексу сполук, перш за все через збільшення токсичності, яка симбатна здатності сполук викликати гемоліз еритроцитів. Найбільший вплив на активність чинить довжина бокового ланцюга, внесок будови термінальної аміногрупи є незначним або, навіть, незначущим.
2. Показано, що галогеноалкілування 4,4'-дигідроксибіфенілу з наступним амінодегалогенуванням є ефективним методом синтезу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфенілів з аміноалкільними ланцюгами довжиною від двох до шести метиленових ланок та термінальними аміногрупами, що містять гідроксильні групи та вторинні аміни, із загальним виходом 17 – 32 % за двома стадіями.

3. Всі синтезовані сполуки проявляють значущий афінитет до ДНК, конкуруючи з етидієм бромідом за місця зв'язування. Відсутність збільшення питомої в'язкості ДНК в присутності ліганду та відсутність батохромного зсуву смуг поглинання сполук в присутності ДНК однозначно вказують, що похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу та їх аналоги не є інтеркаляторами ДНК. Афінитет до ДНК досліджених похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу приблизно на 2 порядки нижчий за афінитет до ДНК аналогічних похідних 2,7-дигідроксифлуоренону.
4. Молекулярним докінгом показана можливість зв'язування похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу та бензидину у малому жолобі ДНК аналогічно стандартному ліганду малого жолобу нетропсину та встановлена наявність лінійного взаємозв'язку між значенням скорінг-функції та константою зв'язування їх з ДНК, що дає можливість прогнозування афінитету до ДНК близьких за структурою сполук.
5. 4,4'-Біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли проявили противірусну активність проти вірусу везикулярного стоматиту на клітинах L929. Подовження аміноалкоксильного ланцюга призводить до зниження противірусної активності та водночас до зростання цитотоксичності та здатності до гемолізу. Найвищі показники противірусної активності та терапевтичного індексу демонструють сполуки із двома – трьома метиленовими ланками в боковому ланцюзі, що спонукає розглядати такі сполуки як найбільш перспективні в цій низці.
6. Показана здатність всіх досліджених сполук до індукції інтерферону в культурі клітин L929, при чому титри індукованого інтерферону знаходяться на рівні титрів, індукованих аміксином або перевищують його; наявність бактеріостатичної та бактеріцидної дії у сукупності з високою противірусною активністю та низькою цитотоксичністю дозволяє розглядати 4,4'-заміщені біфеніли як перспективні сполуки для подальшого дослідження.

Список робіт, опублікованих за темою дисертації

1. **С. О. Зано́за**, Г. В. Мальцев, С. А. Ляхов, С. А. Андронаті, О. С. Зубрицький, М.Ю. Богорад-Кобельська, О. В. Плотка, Н. М. Жолобак, and М. Я. Співак, “Синтез і цитотоксичність аміноетоксибіфенілів,” *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*, вип. 12, №. 3, сс. 38–44, 2014. (*Синтез аміноетоксибіфенілів, обробка та обговорення результатів, інтерпретація спектральних даних, участь у написанні статті*).
2. **С. О. Зано́за**, Г. В. Мальцев, Т. І. Бикова, С. А. Ляхов, and С. А. Зубрицький, М.Ю. Андронаті, “Синтез і гемолітичні властивості похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу,” *Ukr. Bioorganica Acta*, вип. 12, №. 2, сс. 3–9, 2014. (*Синтез 4,4'-біс-аміноалкоксибіфенілів з різною довжиною вуглеводневого ланцюга, проведення експерименту з визначення здатності до гемолізу, обробка та обговорення результатів, інтерпретація спектральних даних, участь у написанні статті*).
3. **S. O. Zanoza**, T. I. Vykhova, S. A. Lyakhov, S. A. Andronati, and N. M. Zholobak, I. A. Levandovskiy, “Cytotoxic and antiviral properties of 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls,” *Journal of Health Science*, вип. 16, №. 4, сс. 276–281, 2014. (*Обробка та обговорення*

результатів експерименту, обговорення залежності між цитотоксичністю та противірусною активністю, участь у написанні статті).

4. **С. О. Зано́за**, С. А. Ляхов, Т. І. Бикова, and А. С. Ніколау, “Синтез та гемолітичні властивості похідних 4,4’-дигідроксибіфенілу-2,2’-біфеніл-4,4’-диілбіс(окси)біс-N-(ω-аміноалкіл)ацетамідів,” *Вісник Одеського національного університету. Хімія*, no. 21, вип. 1, сс. 102–108, 2016. (Синтез та проведення експерименту з визначення здатності до гемолізу 2,2’-[біфеніл-4,4’-диілбіс(окси)]біс[n-(ω-аміноалкіл)ацетамідів], інтерпретація спектральних даних, участь у написанні статті).
5. **С. О. Фернандес де Рі́вес**, Т. М. Біла, М. Я. Співак, Н. М. Жолобак, та З. М. Олевінська, “Спосіб одержання 4,4’-біс[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу та 4,4’-біс-[2-(діетиламіно)етокси]дифеніл-2 карбонової кислоти метилового естеру.” Пат. на винахід № 86035, МПК (2009) С 07С 213/00, 215/00, бюл. 6, с. 2, 2009. (Відпрацювання методики синтезу 4,4’-біс[2-(діетиламіно)етокси]дифенілу).
6. **S.A. Zanoza**, G.V. Maltzev, and S.A. Lyakhov, “2,7-Bis-substituted fluoren-9-on and 1,4-bis-substituted biphenyl derivatives with heterocyclic moieties in the substitutes: synthesis, DNA affinity, physico-chemical properties, antiviral activity and interferon inuction,” *VI Міжнародна конференція “Хімія азотовмісних гетероциклів,”* 2012, с. 167.
7. **С. А. Зано́за**, та Г. В. Мальцев, “Бис-основные производные бифенила. Синтез, биологическая актив-ность, аффинитет к ДНК и физико-химические свойства,” *XV “Конференція молодих вчених та студентів-хіміків Південного регіону України з міжнародною участю,”* 2013, с. 32.
8. **С. О. Зано́за**, С. А. Ляхов, та Т. І. Бикова, “Гемолітичні властивості похідних 4,4’-дигідроксибіфенілу,” *Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології»*, 2014, с. 53.
9. **С. О. Зано́за**, та Т. І. Бикова, “Аміноалкоксибіфеніли та їх аналоги. Синтез, властивості,” *XVII “Конференція молодих вчених та студентів-хіміків Південного регіону України з міжнародною участю,”* 2015, с. 17.
10. **С. О. Зано́за**, С. А. Ляхов, та Т. І. Бикова, “Аміноалкоксибіфеніли та їх аналоги,” *П’ятнадцята наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2015»*, 2015, с. 21.
11. Т. І. Вукова and **S. A. Zanoza**, “Antiviral, hemolitical and cytotoxic properties of 4,4’-bis-aminoalkoxybiphenyls,” *International conference for young scientists “Actual problems of microbiology and biotechnology,”* 2015, p. 60.
12. **S. Zanoza**, S. Lyakhov, Т. Вукова, К. Клименко, N. Zholobak, and S. Andronati, “Aminoalkoxybiphenyls and their analogs,” *“Frontiers in Medicinal Chemistry 2015,”* 2015, p. 258.
13. **S. O. Zanoza**, and Т. І. Вукова, “Antiviral, cytotoxic properties and interferon induction of 4,4’-bis-aminoalkoxybiphenyls,” *VI Українська конференція «Домбровські хімічні читання – 2015»*, 2016, с. Д26.

Заноза С.О. 4,4'-Дизаміщені біфеніли та їх аналоги. Синтез, протівірусні властивості, індукція інтерферону, афінитет до ДНК. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія. Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, Одеса, 2017.

Дисертація присвячена синтезу та встановленню зв'язку структура – властивості в низці похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу та його аналогів.

Вдосконалені методи синтезу похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксибенілімінометилфенолу, досліджені їх спектральні властивості.

Вивчено цитотоксичність, протівірусні, протизапальні та протибактеріальні властивості, здатність до індукції інтерферону та показано, що похідним 4,4'-дигідроксибіфенілу властиві низька чи помірна цитотоксичність, висока протівірусна активність, титри інтерферону, які зазвичай перевищують титри, індуковані відомим протівірусним препаратом аміксином, та відсутні протизапальні властивості.

Показано, що вирішальне значення в здатності до гемолізу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів відіграє довжина вуглеводневого ланцюга, так само, як і для цитотоксичності. Будова амінного фрагмента не значуща.

Методами спектрофлуориметрії, спектрофотометрії та віскозиметрії встановлено нездатність до інтеркаляції похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу. Докінгом показана можливість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК, особливо в ділянках, багатих на GC пари.

Встановлена значуща кореляція між константою зв'язування з ДНК та скорінг-функцією для послідовності d(CSPICSP)₂.

Показано, що всі похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та 4{(E)-[(4-гідроксифеніл) іміно] метил} фенолу конкурують зі стандартним лігандом ДНК за місця зв'язування, але константи асоціації приблизно на 2 порядки нижчі, ніж у інтеркаляторів – похідних 2,7-дигідроксифлуоренону.

Ключові слова: похідні біфенілу, афінитет до ДНК, протівірусна активність, цитотоксичність, молекулярний докінг.

АННОТАЦІЯ

Заноза С.А. 4,4'-Дизамещенные бифенилы и их аналоги. Синтез, противовирусные свойства, индукция интерферона, аффинитет к ДНК. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук по специальности 02.00.10 – биорганическая химия. Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, Одесса, 2017.

Диссертация посвящена синтезу и установлению связи структура - свойства в ряде производных 4,4'-дигидроксибифенила и его аналогов.

Усовершенствованы методы синтеза производных 4,4'-дигидроксибифенила, бензида и гидроксифенилиминометилфенола, исследованы их спектральные свойства, биологическая активность, аффинитет к ДНК.

4,4'-Бис-(ω -аминоалкокси)бифенилы синтезированы галогеналкилированием 4,4'-дигидроксибифенила α, ω -дигалогеналканами с разной длиной углеводородной цепи с последующим аминодегалогенированием.

Амиды 2,2'-[бифенил-4,4'-бис(окси)]уксусной кислоты получены алкилированием 4,4'-дигидроксибифенила метилбромацетатом, последующим щелочным гидролизом и аминированием в диметилформаиде хлорангидрида полученной кислоты рядом первичных и вторичных аминов.

N,N'-Бифенил-4,4'-диилбис(амиоацетамиды) синтезированы хлорацелированием бензида хлорацетилхлоридом в кипящем ксилоле, аминодегалогенированием полученного N,N'-бифенил-4,4'-диилбис(2-хлорацетамида) избытком амина в ДМФА при комнатной температуре.

Алкилированием 4{(E)-[(4-гидроксифенил)имино]метил}фенола дибромэтаном с последующим аминированием полученного дибромпроизводного первичными и вторичными аминами получен ряд [4-(2-аминоэтокси)фенил]{(1E)-[(4-(2-аминоэтокси)фенил]метилен}аминов.

Исследована цитотоксичность, способность вызывать гемолиз, противовирусное, противовоспалительное и противобактериальное действие, индукция интерферона для 4,4'-бис-(ω -аминоалкокси)бифенилов. Показано, что данным соединениям свойственна высокая противовирусная активность в экспериментах *in vitro* на клетках L929 и Her-2 против вируса везикулярного стоматита. При удлинении углеводородной цепи данная активность снижается, в отличие от цитотоксичности, которая увеличивается. Логарифм терапевтического индекса в исследованном ряду соединений линейно ($R^2 = 0.967$, $P < 0.001$) снижается с увеличением длины углеводородной цепи, что говорит в пользу перспективности синтеза соединений с длиной цепи не более трех метиленовых звеньев.

Показано, что соединения с длиной углеводородной цепи от 2 до 4 метиленовых звеньев практически лишены способности вызывать гемолиз эритроцитов, в то время как соединения с 5 и 6 звеньями вызывают значительный гемолиз (до 100 %). Вклад строения аминогруппы намного менее значим.

Способность Показано, что решающее значение в способности к гемолизу аминоалкоксибифенилов играет длина углеводородной цепи, так же, как и для цитотоксичности. Строение аминного фрагмента не значимо.

Все исследованные соединения проявили способность к индукции интерферона, при чем титры индуцированного ими интерферона, в основном, находятся на уровне титра, индуцированного амиксином или превышают его. Способность к индукции интерферона не связана с влиянием на синтез провоспалительных цитокинов, который для исследованных соединений не обнаружен. Ингибирование их синтеза коррелирует с цитотоксичностью, что говорит в пользу ингибирования за счет цитотоксичности.

Показано, что некоторые синтезированные 4,4'-бис-(ω -аминоалкокси)бифенилы в эксперименте по определению противобактериальной активности методом

секторальных посевов и в пробирках с жидкой питательной средой проявляют бактерицидное и бактериостатическое действие.

Согласно общепринятым протоколам для отнесения лиганда ДНК к интеркаляторам необходимо выполнение четырех условий: в электронном спектре смеси лиганда с ДНК должен наблюдаться bathochromный сдвиг максимума полосы поглощения с одновременным гипохромизмом; удельная вязкость раствора ДНК должна увеличиваться в присутствии лиганда; соединение должно конкурировать с этидием бромистым за места связывания с ДНК; должно наблюдаться раскручивание суперспирализованной плазмиды в присутствии лиганда. Ни одно из исследованных производных 4,4'-дигидроксибифенила не приводило к увеличению вязкости раствора ДНК, в электронных спектрах смеси данных соединений с ДНК не наблюдался bathochromный сдвиг максимума полосы поглощения, что говорит об отсутствии у 4,4'-бис-(ω -аминоалкокси)бифенилов способности к интеркаляции.

Однако, все исследованные соединения конкурировали с этидием бромистым за места связывания в ДНК. Относительно высокий аффинитет к ДНК ($\lg K = 4 - 5.5$) заставляет отказаться от предположения о внешнем электростатическом связывании. Таким образом, наиболее вероятным механизмом взаимодействия с ДНК является связывание в малом желобе. Данное предположение кажется тем более обоснованным, что докинг показана возможность связывания 4,4'-бис-(ω -аминоалкокси)бифенилов в малом желобе ДНК. Установление значимой корреляции между константой связывания с ДНК и скоринг-функцией для последовательности $d(CSICCSII)_2$ дает возможность прогнозирования аффинитета близкий по структуре соединений.

Ключевые слова: производные бифенила, аффинитет к ДНК, противовирусная активность, цитотоксичность, молекулярный докинг.

SUMMARY

Zanoza S.O. 4,4'-Disubstituted biphenyls and their analogs. Synthesis, antiviral properties, interferon induction, DNA affinity. – Manuscript.

PhD thesis for Ph.D. degree in the discipline 02.00.10 – bioorganic chemistry. A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the NAS of Ukraine, Odesa, 2017.

The dissertation describes the synthesis and the structure-properties relationship in a series of 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives and their analogs.

Methods of synthesis of 4,4'-dihydroxybiphenyl, benzidine, and 4{(E)-[(4-hydroxyphenyl)imino]methyl}phenol derivatives have been improved, their spectral properties have been studied.

Cytotoxicity, antiviral, anti-inflammatory and antibacterial activity, the ability to induce interferon have been examined, and it has been shown that 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives are characterized by low or moderate cytotoxicity, high antiviral activity, titers of interferon usually higher than those induced by a well-known antiviral drug Amiksin, and no anti-inflammatory properties.

It has been demonstrated that the length of hydrocarbon chain plays a critical role for the ability of aminoalkoxybiphenyls to hemolysis, as well as for cytotoxicity. The structure of the amine fragment does not matter.

The inability of 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives to intercalate has been established by spectrofluorometry, spectrophotometry, and viscometry methods. The possibility of binding aminoalkoxybiphenyls in the DNA minor groove has been shown by molecular docking.

A significant correlation between the DNA binding constant and scoring function for the d(CCIICICCI)₂ sequence has been found.

It has been shown that all 4,4'-dihydroxybiphenyl, benzidine, and 4{(E)-[(4-hydroxyphenyl)imino]methyl}phenol derivatives compete with the conventional DNA ligand for binding sites, but the association constants are approximately two orders of magnitude lower than in intercalators - 2,7-dihydroxyfluorenon derivatives.

Keywords: biphenyl derivatives, DNA affinity, antiviral activity, cytotoxicity, molecular docking.