

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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ЗАНОЗА СВІТЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК 547.621.05 +578.24+577.113.7

ДИСЕРТАЦІЯ

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

02.00.10 – біоорганічна хімія

хімічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, резуль-
татів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
Заноза С.О.

Науковий керівник: Ляхов Сергій Анатолійович, кандидат хімічних наук, стар-
ший науковий співробітник

ОДЕСА – 2017

АНОТАЦІЯ

Заноза С.О. 4,4'-Дизаміщені біфеніли та їх аналоги. Синтез, протівірусні властивості, індукція інтерферону, афінитет до ДНК. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата хімічних наук (доктора філософії) 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.

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, імунотропну і антитромботичну активність” (№ держ. реєстрації 0112U003037), мала метою дослідження зв'язку між структурою 4,4'-дизаміщених біфенілів з їх біологічною активністю та включала як завдання: відпрацювання ефективних методів синтезу нових похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксифенілімінометилфенолу; встановлення можливого типу взаємодії синтезованих сполук з ДНК; дослідження біологічної активності синтезованих сполук та їх афінитету до ДНК; аналіз зв'язку "структура-властивості" синтезованих низок сполук.

В оглядовій частині роботи розглянуті особливості будови та синтезу біфенілів, їх хімічні та фармакологічні властивості, описані в літературі. На багатьох прикладах проілюстрована синтетична доступність похідних біфенілу як утворенням зв'язку феніл-феніл, так і введенням замісників в заміщений чи незаміщений біфеніл. За даними літератури простежені можливі мішені та механізми реалізації протівірусної та імуномодулюючої активності, розглянуті питання потенційної мутагенності та канцерогенності.

В частині, присвяченій обговоренню власних результатів з синтезу цілю-

вих сполук, описані методи та особливості синтезу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфенілів, амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти, N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів) та [4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[4-(2-аміноетокси)-феніл]метилен}амінів.

4,4'-Біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли синтезовані галогеноалкілюванням 4,4'-дигідроксибіфенілу α,ω -дигалогеноалканами з різною довжиною вуглеводневого ланцюга та наступним аміногалогенуванням.

4,4'-Біс-(2-хлороетокси)біфеніл одержували хлороалкілюванням 4,4'-дигідроксибіфенілу 1,2-дихлороетаном у двофазній системі: водяний розчин гідроксиду натрію – 1,2-дихлороетан, із застосуванням тетрабутиламонію хлориду. Хлоропропоксибіфеніл та бромоалкоксибіфеніли синтезували галогеноалкілюванням 4,4'-дигідроксибіфенілу відповідними дигалогеноалканами в ДМФА у присутності карбонату калію. Хлор у галогеноалкоксибіфенілах заміщували на йод в двофазній системі ксилол – водний розчин йодиду натрію в присутності тетрабутиламонію йодиду. Цільові 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфеніли отримані взаємодією йодоетокси-, йодопропоксибіфенілів та бромоалкоксибіфенілів із первинними або вторинними амінами при кімнатній температурі в розчині в диметилформаміді.

Аміди 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти синтезовані алкілюванням 4,4'-дигідроксибіфенілу метилбромоацетатом, наступним лужним гідролізом та амінуванням у диметилформаміді хлороангідриду отриманої кислоти рядом первинних амінів.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетаміди) отримані хлороацилюванням бензидину хлороацетилхлоридом в киплячому ксилолі з наступним амінодехлоруванням отриманого N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетаміду) надлишком аміну в ДМФА при кімнатній температурі з виходами від помірних до високих.

[4-(2-Аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен]аміни синтезовані алкілуванням 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу дибромоетаном з наступним амінуванням отриманого дибромопохідного низкою первинних та вторинних амінів. Цільові сполуки виділені препаративною хроматографією.

Будова синтезованих сполук підтверджена сукупністю спектральних методів, включаючи мас-спектрометрію (з іонізацією методом електронного удару та бомбардуванням швидкими атомами), спектроскопію ЯМР (на ядрах ^1H та ^{13}C , двовимірну на ядрах ^1H) та ІЧ-спектроскопією.

В частині роботи, присвяченій обговоренню результатів дослідження властивостей синтезованих сполук, доводиться спосіб їх взаємодії з ДНК та визначення афінитету до неї, описані здатність до гемолізу, цитотоксичність, противірусна та протибактеріальна активності, здатність індукувати інтерферон та зв'язок структури з властивостями.

Для віднесення ліганду ДНК до інтеркаляторів згідно із загальноприйнятими протоколами необхідним є виконання всіх чотирьох умов: в електронному спектрі сполуки в присутності ДНК має спостерігатися батохромний зсув смуги поглинання з одночасним гіпохромізмом, питома в'язкість ДНК в присутності речовини має збільшуватись, сполука має викликати розкручування суперспіралізованої плазмиди та конкурувати з етидієм бромідом за місця зв'язування в ДНК. Встановлено, що 4,4'-біс(ω -аміноалкокси)біфеніли, конкуруючи з етидієм бромідом, не збільшують питому в'язкість ДНК, та в їх спектрах в присутності ДНК відсутній батохромний зсув смуги поглинання, що унеможлиблює інтеркаляцію. Відносно високий афінитет до ДНК ($\lg K = 4 - 5.5$), визначений для цих сполук методом конкуренції з етидієм бромідом, вимушує відмовитись від припущення про зовнішнє електростатичне зв'язування. Таким чином, найвірогіднішим механізмом взаємодії є зв'язування в малому жолобі. Це припущення здається тим більш раціональним, що молекулярним докінгом показана можли-

вість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК. Встановлення значущої кореляції між константою зв'язування з ДНК та скорінг-функцією для послідовності d(SSPSSSP)₂ надає можливості для прогнозування афінітету таких сполук до ДНК.

Гемолітичні властивості синтезованих сполук досліджували, використовуючи еритроцити людини (здорових донорів) 0(I) групи в ізотонічному фосфатному буферному розчині (рН = 7.4 ± 0.05) при концентрації сполук 2 мМ описаним в літературі методом. Показано, що сполуки з короткими аміноалкоксильними ланцюгами (2 – 4 метиленові ланки) практично позбавлені гемолітичних властивостей, в той час як сполуки з довгими (5 – 6 метиленових ланок) викликають гемолиз від значного до тотального. Основний внесок (73 %) в гемолітичні властивості належить довжині бокового ланцюга, на долю термінальної аміногрупи припадає 8 %. Цитотоксичність сполук, досліджена на клітинах L929, Нер-2 та ТНР-1-Blue, виявилась від низької до помірною та аналогічно до гемолітичної активності залежала від будови, – зростала із подовженням аміноалкоксильного ланцюга. Внесок в цитотоксичність довжини ланцюга сягає 83 %, внесок будови термінальної аміногрупи – 9 %.

В результаті роботи встановлено, що похідним 4,4'-дигідроксибіфенілу притаманна висока противірусна активність в експериментах *in vitro* на клітинах L929 та Нер-2 відносно вірусу везикулярного стоматиту, із подовженням бокового ланцюга активність знижується. Ця тенденція дещо менш виражена за зростання токсичності. Логарифм терапевтичного індексу в дослідженій низці сполук лінійно ($R^2 = 0.967$, $P < 0.001$) знижується із довжиною ланцюга, що вказує на перспективності подальших досліджень лише сполук із короткими боковими ланцюгами (не більше трьох метиленових ланок).

Всі досліджені сполуки проявили здатність індукувати інтерферон, причому титри індукованого ними інтерферону, здебільшого знаходяться на рівні титру, індукованого аміксином, або перевищують його. Здатність до індукції

інтерферону не пов'язана із впливом на синтез прозапальних цитокінів, який для досліджених сполук не виявлено. Інгібування їх синтезу корелює із цитотоксичністю і пов'язано, найімовірніше, із пригніченням життєздатності клітин.

Показано, що деякі синтезовані 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли в експерименті з визначення протибактеріальної активності методом секторальних посівів та у пробірках з рідким середовищем проявляють бактерицидну та бактеріостатичну дію.

Таким чином, в результаті роботи вдосконалені методи синтезу похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксифенілімінометилфенолу, 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.

Знайдено сполуку-лідера, якій притаманний високий терапевтичний індекс, противірусна активність, низька цитотоксичність, відсутня здатність до активації чи пригнічення запалення, індукція інтерферону, що робить її перспективною для подальших досліджень як противірусний агент.

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

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

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.

This work was carried out in accordance with the research plan of the O.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute National Academy of Sciences of Ukraine on the topic "Structure, selectivity of binding with biotargets and the activity of compounds that have neurotropic, immunotropic and antithrombotic activity" (State Registration No. 0112U003037). The aim of the study was to investigate the relationship between the structure of 4,4'-disubstituted biphenyls and their biological activity. We set the following tasks: the development of effective methods for the synthesis of new derivatives of 4,4'-dihydroxybiphenyl, benzidine and hydroxyphenyliminomethylphenol; the determination of a possible interaction type between synthesized compounds and DNA; the study of biological activity of synthesized compounds and their affinity to DNA; the analysis of the "structure-properties" relationship of synthesized series of compounds.

The overview part of the thesis comprises synthesis, structure features, chemical and pharmacological properties of biphenyls described in the literature. The synthetic availability of biphenyl derivatives with both the formation of a phenyl-phenyl bond and the addition of substituents to substituted or unsubstituted biphenyl was demonstrated in many examples. Possible targets and mechanisms of antiviral and immunomodulating activities were studied using literature data, potential mutagenicity and carcinogenicity were examined.

Methods and specifics of the synthesis of 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls, 2,2'-[biphenyl-4,4'-bis(oxy)]acetic acid amides, N,N'-biphenyl-4,4'-diylbis(aminoacetamides) and [4-(2-aminoethoxy)phenyl]{(1E)-[(4-(2-aminoethoxy)phenyl)methylene]}amines have been described in the part devoted to the discussion of the results of the synthesis of the desired compounds.

4,4'-Bis-aminoalkoxybiphenyls were synthesized by halohenoalkylation of 4,4'-dihydroxybiphenyl with α,ω -dihalhenoalkanes of different lengths of the hydro-

carbon chain and subsequent aminodehalogenation.

4,4'-Bis-(2-chloroethoxy)biphenyl was prepared by chloralkylation of 4,4'-dihydroxybiphenyl by 1,2-dichloroethane in a two-phase system: an aqueous solution of sodium hydroxide – 1,2-dichloroethane, using tetrabutylammonium chloride. Chloropropoxybiphenyl and bromoalkoxybiphenyls were synthesized by halohenoalkylation of 4,4'-dihydroxybiphenyl with the corresponding dihalohenoalkanes in dimethylformamide (DMF) in the presence of potassium carbonate. Chlorine in chloralkoxybiphenyls was replaced by iodine in a two-phase system with xylene-aqueous sodium iodide in the presence of tetrabutylammonium iodide. The target 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls were prepared by iodoethoxybiphenyls, iodopropoxybiphenyls and bromoalkoxybiphenyls interaction with primary and secondary amines at room temperature in DMF.

The 2,2'-[biphenyl-4,4'-bis(oxy)]acetic acid amides were synthesized by the alkylation of 4,4'-dihydroxybiphenyl with methylbromoacetate followed by alkaline hydrolysis. Amination of the obtained acid chloride was carried out in DMF.

N,N'-Biphenyl-4,4'-diylbis(aminoacetamides) were prepared by chloroacetylation of benzidine in boiling xylene followed by aminodechlorination of the resulting N,N'-biphenyl-4,4'-diylbis(chloroacetamide) with an excess of amine in DMF at room temperature with medium and high yields.

[4-(2-Aminoethoxy)phenyl]{(1E)-[(4-(2-aminoethoxy)phenyl)methylene]}amines were synthesized by the alkylation of 4{(E)-[(4-hydroxyphenyl)imino]methyl}phenol with dibromoethane, aminations of the resulting dibromoderivatives by a number of primary and secondary amines. The target compounds were isolated by preparative chromatography.

The structure of the synthesized compounds was confirmed by a combination of spectral methods, such as mass-spectrometry, NMR spectroscopy (on ^1H and ^{13}C nuclei, two-dimensional on ^1H nucleus) and IR-spectroscopy.

The discussion of the results of the study part of the thesis comprises the DNA

interaction mode of synthesized compounds, the determination of affinity to DNA, hemolytic and cytotoxic properties, antiviral and antibacterial activity, induction of interferon and the relationship of the structure of these compounds with their properties.

According to the generally accepted protocols for assigning a DNA ligand to intercalators, the fulfillment of four conditions is necessary: a bathochromic shift should be observed in the electronic spectrum of the compound in the presence of DNA with simultaneous hypochromism; the specific viscosity of the DNA solution should increase in the presence of the ligand; the substance should cause the untwist of the supercoiled plasmid and compete with the standard ligand for binding sites in the DNA. It was determined that aminoalkoxybiphenyls do not increase the specific viscosity of the DNA solution, the bathochromic shift in their electronic spectra in the presence of DNA is absent, which makes intercalation impossible. However, all synthesized compounds competed with the standard ligand (ethidium bromide) for binding sites in DNA. The relatively high affinity for DNA ($\lg K = 4 - 5.5$) allows rejecting the assumption of external electrostatic binding. Thus, binding in a DNA minor groove is most likely the mechanism of binding to DNA. This assumption is also supported by molecular docking that has shown the possibility of binding aminoalkoxybiphenyls in a DNA minor groove. A significant correlation between the DNA binding constant and the docking scoring function for the sequence d (CCIIICCCII)₂ allows predicting the DNA affinity for structurally similar compounds.

The hemolytic properties of the synthesized compounds were studied using erythrocytes of the healthy human 0 (I) group in an isotonic phosphate buffer solution ($\text{pH} = 7.4 \pm 0.05$) at a compound concentration of 2 mM as described in method. It was shown that compounds with short aminoalkoxyl chains (2 to 4 methylene units) practically do not cause hemolysis. Compounds with longer (5 to 6 methylene units) chains cause significant or full hemolysis. The main contribution (73%) to hemolytic properties belongs to the length of the side chain, the contribution of the structure of

the amino group is much less (8%). The cytotoxicity of compounds tested on L929, Hep-2 and THP-1-Blue cells turned out to vary from low to moderate and depends on the structure in the manner similar to hemolysis - it increases with the growth of aminoalkoxyl chain. The contribution of chain length to cytotoxicity is 83%, the contribution of the terminal amino group structure is 9%.

Experimental results show that the 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives exhibit high *in vitro* antiviral activity against *Vesicular stomatitis* virus in L929 and Hep-2 cells. Activity decreases with elongation of the hydrocarbon chain. This trend is slightly less evident in the cytotoxicity increase. The logarithm of the therapeutic index in the investigated series of compounds linearly ($R^2 = 0.967$, $P < 0.001$) decreases with the increase in chain length. This speaks in favor of the prospect of further studies of compounds with short chain circuits (no more than three methylene units).

All the studied compounds showed the ability to induce interferon, and the titers of the interferon which they induce are at the level of the titer that is induced by amixin or exceeds it. The ability to induce interferon, which was not detected for the compounds studied, is not associated with the synthesis of pro-inflammatory cytokines. Inhibition of their synthesis is associated with inhibition of cell viability and correlates with cytotoxicity.

It was shown that some synthesized aminoalkoxybiphenyls in the experiment on the determination of antibacterial activity by the method of sectoral inoculation method and in test tubes with a liquid nutrient medium exhibit bactericidal and bacteriostatic activity.

Thus, the methods for the synthesis of the derivatives of 4,4'-dihydroxybiphenyl, benzidine and hydroxyphenyliminomethylphenol have been improved, and their biological properties have been studied.

Aminoalkoxybiphenyls with low cytotoxicity and greater antiviral activity and ability to induce interferon than amixin were found.

The lead compound that has a high therapeutic index, antiviral activity, low cy-

totoxicity, absence of ability to activate or inhibit inflammation and the induction of interferon was found. All this makes it promising to further study this compound on antiviral activity.

An equation that is capable of predicting the DNA association constant of dibasic 4,4'-substituted biphenyls was obtained, based on the scoring function value of docking.

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

Список публікацій здобувача:

1. С. О. Заноза, 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.
2. С. О. Заноза, Г. В. Мальцев, Т. І. Бикова, С. А. Ляхов, and М. Ю. Зубрицький, С. А. Андронаті, “Синтез і гемолітичні властивості похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу,” *Ukr. Bioorganica Acta*, вип. 12, № 2, сс. 3–9, 2014.
3. S. O. Zanoza, T. I. Bykova, 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*, vol. 16, no. 4, pp. 276–281, 2014.
4. С. О. Заноза, 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.
5. С. О. Фернандес де Рівес, 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.
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. Заноза, 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. Заноза, 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. Заноза, 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. Заноза, 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 cytotoxicproperties of 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls,” *International conference for young scientists “Actual problems of microbiology and biotechnology,”* 2015, p. 60.

- 12.S. Zanoza, S. Lyakhov, T. Bykova, K. Klimenko, N. Zholobak, and S. Andronati, "Aminoalkoxybiphenyls and their analogs," *Frontiers in Medicinal Chemistry 2015*, 2015, p. 258.
- 13.S. O. Zanoza, and T. I. Bykova, "Antiviral, cytotoxic properties and interferon induction of 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls," *VI Українська конференція «Домбровські хімічні читання – 2015»*, 2016, с. Д26.

ЗМІСТ

Список скорочень та умовних позначень	17
Вступ.....	19
1 Похідні біфенілу як біологічно активні сполуки	24
1.1 Властивості біфенілу, його похідних та аналогів.....	24
1.1.1 Загальна характеристика біфенілу	24
1.1.2 Похідні біфенілу як біологічно активні сполуки.....	26
1.1.2.1 Похідні біфенілу як противірусні агенти	27
1.1.2.2 Цитотоксичність, противірусні та інтерфероніндукуючі властивості раніше синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфенілів	28
1.1.2.3 Антиканцерогенні властивості похідних біфенілу	29
1.1.3 Антиканцерогенна активність стильбенів.....	30
1.2 Синтез заміщених біфенілів.....	31
1.2.1 Введення замісників в молекулу біфенілу та їх модифікація	31
1.2.2 Синтез біфенілів утворенням зв'язку С–С	34
1.3 Мішені об'єктів дослідження	38
2 Методи синтезу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів, амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти, N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів), похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил} фенолу	40
2.1 Синтез та властивості 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів	40
2.1.1 Синтез 4,4'-дигідроксибіфенілу.....	40
2.1.2 Синтез 4,4'-біс-(2-хлороетокси)біфенілу	40
2.1.3 Синтез 4,4'-біс-(хлоропропокси)біфенілу	41
2.1.4 Синтез 4,4'-біс-(ω -галогеноалкокси)біфенілів.....	42
2.1.5 Синтез 4,4'-біс-(ω -іодоалкокси)біфенілів.....	42
2.1.6 Синтез 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів	43
2.1.7 Спектральні дані об'єктів дослідження	47
2.2 Синтез похідних 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти.....	52

2.3	Синтез N,N'-біфеніламіноацетамідів	54
2.4	Синтез похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу	56
3	Біологічна активність синтезованих сполук	60
3.1	Гемолітичні властивості похідних біфенілу похідних біфенілу	60
3.2	Цитотоксичність 4,4'-дизаміщених біфенілів	64
3.3	Противірусна активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів	68
3.4	Здатність до індукції інтерферону похідних біфенілу	71
3.5	Протибактеріальна та фунгіцидна активності 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)- біфенілів	72
3.6	Протизапальна активність похідних біфенілу	74
3.7	Взаємодія з ДНК 4,4'-заміщених біфенілів	75
3.7.1	Перевірка здатності похідних біфенілу до інтеркаляції у ДНК.	77
3.7.2	Афінитет об'єктів дослідження до ДНК	79
3.7.2.1	Дослідження афінитету похідних біфенілу.....	79
3.7.3	Докінг 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб оліго- нуклеотидів.....	87
4	Експериментальна частина	95
4.1	Методи синтезу	95
4.1.1	Методи синтезу похідних біфенілу.....	95
4.1.2	Методи синтезу похідних 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти.....	107
4.1.3	Методи синтезу похідних бензидину	110
4.1.4	Методи синтезу похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}- фенолу	112
4.2	Метод конкуренції з етидієм бромідом	114
4.2.1	Метод конкуренції з ЕБ для похідних біфенілу	114
4.2.2	Метод конкуренції з ЕБ для похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)- іміно]метил}фенолу.....	115

4.3	Метод віскозиметричного дослідження способу взаємодії з ДНК.....	117
4.4	Визначення гемолітичної активності.....	118
4.4.1	Приготування робочої суспензії еритроцитів.....	118
4.4.2	Гемоліз еритроцитів	119
4.4.3	Розрахунок рівня гемолізу із значень пропускання	119
4.5	Методи проведення докінгу.....	120
	Висновки	122
	Література	124

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ ТА УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЕБ	–	етидій бромід
ДМФА	–	диметилформахід
ДНК	–	дезоксирибонуклеїнова кислота
РНК	–	рибонуклеїнова кислота
ТБАБ	–	тетрабутіламоній бромід
ТБАІ	–	тетрабутіламоній йодид
БША	–	бомбардування швидкими атомами
ВВС	–	вірус везикулярного стоматиту
ІФН	–	інтерферон
м.ч.	–	мільйонні частки
НК	–	нуклеїнова(і) кислота(и) (ДНК або РНК)
ПТП	–	культура перевивних клітин тестикули поросяти
L929	–	культура трансформованих фібробластів миші
HEP-2	–	людські клітини пухлини гортані
T пл.	–	температура плавлення
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія
ЦПД	–	цитопатична дія
d	–	дублет
m	–	мультиплет
q	–	квадруплет
s	–	синглет
t	–	триплет
LC ₅₀	–	концентрація досліджуваної речовини, яка приводить до загибелі 50% клітин
EC ₅₀	–	концентрація досліджуваної речовини, яка приводить до 50% дії

- МБК – максимально витримувана концентрація, яка приводить до загибелі не більше 10 % клітин моношару
- SAR – structure–activity relationship, зв'язок між структурою молекули та її біологічними властивостями
- ЕФР – електрофоретична рухливість
- МПА – м'ясо-пептонний агар
- ТІ – терапевтичний індекс

ВСТУП

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 полімодалних 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 основ-

ний внесок дає інтеркаляція, то сполука 1 повинна проявити більш низьку за аміксин протівірусну дію, сполука 2 – набагато нижчу, сполука 3 взагалі не бути активною. Була досліджена протівірусна активність та здатність до індукції інтерферону цих сполук. Сполука 3 проявила високу цитотоксичність та низькі протівірусну та інтерфероніндукуючу активності. Сполука 2 проявила протівірусну активність, але не індукувала інтерферон. Сполука 1, всупереч очікуванням, проявила протівірусну активність, вищу за протівірусну активність аміксину, низьку цитотоксичність та індукувала інтерферон.

Для більш детального вивчення отриманих результатів вважалося доцільним дослідити здатність до інтеркаляції, протівірусну 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, імунотропну 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, противірусна активність, здатність до індукції інтерферону похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, афінітет 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 противірусна 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 противірусних 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'-дигідрокси-

біфенілу, 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(CSISCSSI)₂.

Практичне значення отриманих результатів.

Вдосконалені методи синтезу похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу, бензидину та гідроксифенілімінометилфенолу, досліджені їх біологічні властивості.

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

Виявлено сполуку-лідера, якій є притаманними терапевтичний індекс, вищий за терапевтичний індекс аміксина, низька цитотоксичність, висока протівірусна активність, індукція інтерферона, відсутність здатності активувати запалення, що робить її перспективною для подальших досліджень як протівірусний 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” (Антверпен, Бельгія, 14 – 16 вересня 2015); VI Українській конференції “Домбровські хімічні читання – 2015” (Чернівці, 22 – 25 вересня 2015).

Публікації.

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

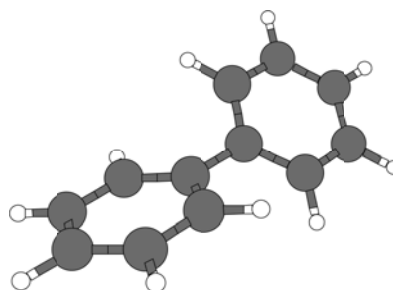
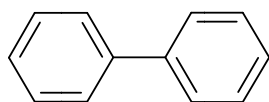
1 ПОХІДНІ БІФЕНІЛУ ЯК БІОЛОГІЧНО АКТИВНІ СПОЛУКИ

Небагато знайдеться органічних структур, з одного боку достатньо добре досліджених, з іншого – таких, що не можна для них вказати ту структурну особливість, яка б певною мірою визначила якусь фармакологічну специфічність сполуки, як це, наприклад, має місце у випадку бенздіазепінів, або похідних 9-аміноакридину. До таких сполук з невизначеним фармакофором належить біфеніл (**1.1**) та його похідні. Навіть незначна структурна модифікація може призводити до катастрофічних змін у спектрі фармакологічної активності. Саме тому, на наш погляд, біфеніл та його похідні не стали об'єктом жодного огляду літератури, присвяченого фармакологічній активності та аналізу SAR, окрім вивчення їх як лігандів рецепторів ароматичних вуглеводородів.

1.1 Властивості біфенілу, його похідних та аналогів

1.1.1 Загальна характеристика біфенілу

Незважаючи на відносну простоту будови біфенілу (**1.1**), лише нещодавно дослідження його конформаційних особливостей дійшли більш менш стабільних висновків. Можна вважати твердо встановленим, що бензольні кільця в молекулі біфенілу в найбільш вигідному розташуванні некопланарні. Торсійний кут між ними становить близько 40° (рис. 1.1).



1.1

Рисунок 1.1 – Структура біфенілу та його найбільш вигідна конформація [1]

Якщо в молекулі наявний замісник в положенні 2, то така конформація стає єдиною, а торсійний кут становить близько 90° . Можливість спряження

між двома ароматичними системами приводить до відносної стабілізації повністю планарної конформації, але вона внаслідок невідгідних стеричних взаємодій виявляється малозаселеною. Бар'єр обертання навколо зв'язку Ph–Ph при $\varphi \approx 0^\circ$ складає близько 6 кДж/моль [2].

Якщо для більшості 2,2'- та 3,3'-дизаміщених біфенілів ситуація практично однозначна, то в випадку 4-заміщених та 4,4'-дизаміщених біфенілів вона є складнішою.

Грунтуючись на інформації, що міститься в Кембриджському банку структурних даних, виконано [3] аналіз конформацій 139 молекул загальної формули **1.2** (рис. 1.2), де $R^1, R^2 = H, F, Cl, Br, I, CH_3, OH, COOH, NH_2, NO_2, CN$.

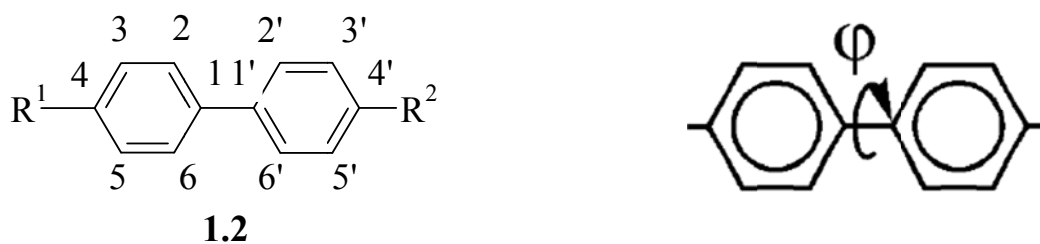


Рисунок 1.2 – Загальна структура 4,4'-дизаміщених біфенілів та позначення торсійного кута φ .

Як і слід було очікувати, частка плоских і майже плоских молекул (значення φ знаходяться в інтервалі $0 - 5^\circ$) в розглянутій групі вища (37 %) у порівнянні з біфенілами, що містять будь-які замісники в положеннях 3,3'- та 5,5'- (26 %). Виявилось, що частка майже плоских молекул помітно збільшується, якщо R^1 та/або $R^2 = OH$ (48 % серед молекул, що мають хоча б одну OH-групу), в той час як однаковість замісників ($R^1 = R^2$) не призводить до помітного збільшення відносного вмісту конформерів з величиною φ в цьому діапазоні.

З точки зору інтеркаляції у ДНК бар'єр обертання при $\varphi = 0$ не заперечує можливості інтеркаляції, оскільки ΔG зв'язування ДНК найбільш типових інтеркаляторів складає 10 – 18 кДж / моль. Крім того, пари основ ДНК можуть самі знаходитися в пропелер-твіст-конформації (рис. 1.3) [4], що, в свою чергу, додатково зменшує потребу в планарності при інтеркаляції. Більш того, показано,

що фрагменти біфенілу можуть заміщати пари основ в модифікованих дуплексах (рис. 1.4) [5].

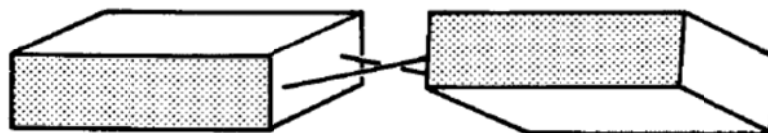


Рисунок 1.3 – Модель пропелер-конформації пари основ ДНК [4]

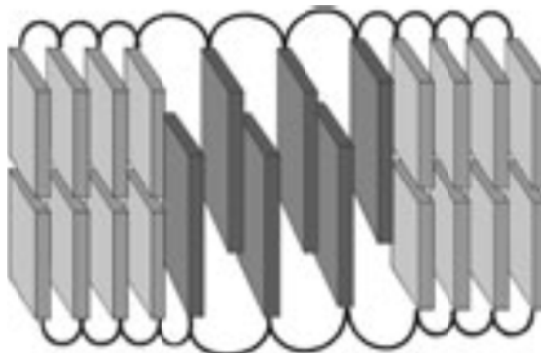


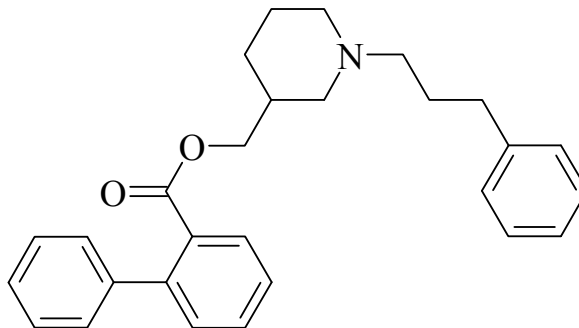
Рисунок 1.4 – Модель дуплексної ДНК із заміною деяких пар основ на залишки біфенілу. Залишки біфенілу (темні прямокутники) утворюють стопку, подібну до стопки пар основ (світлі прямокутники) [5].

1.1.2 Похідні біфенілу як біологічно активні сполуки

Як зазначалося раніше, для похідних біфенілу як структурного класу сполук до сьогодні не виявлено якогось специфічного виду фармакологічної активності, обумовленою саме наявністю біфенільного фрагменту. Напроти, похідним біфенілу притаманною є надзвичайно різноманітна низка ефектів. Так, ці сполуки проявляють противірусну активність (п. 1.1.2.1), індукують інтерферон, впливають на стан лімфоцитів та на мембранний потенціал мітохондрій, втручаються в функціонування ядерних рецепторів та їх лігандів [6] тощо. Зважаючи на це, наводити детальний аналіз літератури щодо фармакологічної активності похідних біфенілу недоцільно. Розглянемо лише роботи, що мають відношення до противірусної активності, здатності до індукції інтерферону, мутагенних властивостей, впливання на мембранний потенціал мітохондрій, здатності до інгібування тирозинази та афінитет до рецепторів ацетилхоліну даного класу сполук.

Для 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) була показана висока здатність інгібувати тирозиназу ($IC_{50} = 2 \mu M$), автори [7], ґрунтуючись на зменшенні константи Міхаелісу та сталості V_{max} при різних концентраціях **1.21**, дійшли висновку про конкурентний механізм інгібування. Вбачається, що саме цим механізмом зумовлена здатність **1.21** інгібувати меланогенну активність в клітинах В16 [8]. Водночас інгібується і низка ферментів. Ця ж сполука здатна ефективно захищати клітини від пошкодження перекисом гідрогену [9].

На відміну до аміксину, для якого показаний афінітет до $\alpha 7$ -типу нікотинових рецепторів ацетилхоліну [10], через які реалізується ацетилхоліновий протизапальний каскад [11], [12] та, можливо, й антишемічна активність [13], похідні біфенілу позбавлені таких властивостей [14], хоча сполука **1.3** (рис. 1.5) проявляє значний афінітет до $\alpha 4\beta 2$. Роль біфенільного фрагменту, однак, залишається неясною [14], [15].



1.3

Рисунк 1.5 – Будова ліганду $\alpha 4\beta 2$ рецепторів ацетилхоліну

1.1.2.1 Похідні біфенілу як противірусні агенти

Виходячи з концепції "допоміжного фрагмента" були синтезовані [16] похідні біфенілу, що містять гліюксаль.

Щодо вірусу грипу PR8 тільки одна сполука проявила помітну активність, причому у всіх випадках сполуки були активніші при підшкірному введення, ніж при пероральному. Щодо вірусу МНV велика частина сполук забезпечила більший за 50 % захист. І в цьому випадку підшкірне введення виявилось ефек-

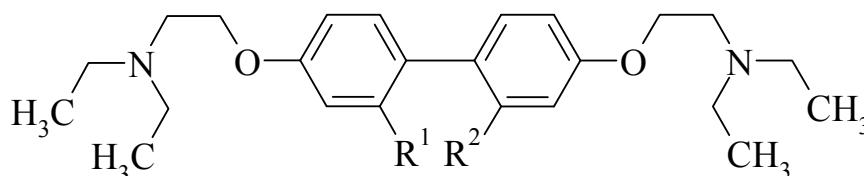
тивнішим за пероральне. Значення величин LD_{50} для мишей тільки для фенілгліоксалу становило 500 мг/кг, для інших – перевищувала 1000 мг/кг.

Основа Шиффа з пара-амінобензойної кислотою виявилася активнішою за відповідне їй похідне гліоксалу [17].

Для біфенілів характерно зв'язування з сироватковими альбумінами та з людським сироватковим преальбуміном. Введення галогенів істотно впливає на інтенсивність цієї взаємодії [18].

1.1.2.2 Цитотоксичність, протівірусні та інтерфероніндукуючі властивості раніше синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфенілів

Для клітин Vero, PST та L929 ряд MBK похідних біфенілу та сполуки **1.6** має вигляд: **1.5**>**1.4**>**1.6** (рис. 1.6), тобто дані похідні біфенілу характеризуються меншою за **1.6** цитотоксичністю [19]. В експерименті з визначення цитотоксичної дії сполук **1.4** та **1.5** на клітини *S. typhimurium* TA98 та TA100 також виявлена здатність пригнічувати ріст клітин. Для цих самих клітин показано відсутність мутагенних властивостей для даних похідних біфенілу [20], [21].



1.4 $R^2 = H; R = H$

1.5 $R^2 = H; R = COOH$

1.6 $R^2, R^1 = >CO$

Рисунок 1.6 – Будова похідних біфенілу та флуоренону **1.4** – **1.6**

Методом "ДНК-комет" на перещеплюваній культурі фібробластів мишей L929 показано відсутність генотоксичності та біобезпечності для сполук **1.4** та **1.5** [21], [22].

Сполука **1.4** проявляє протівірусну дію проти вірусу везикулярного стоматиту та вірусу простого герпесу I типу в профілактичному та лікувальному

режимах на інтерферонпродукуючих клітинах L929, PST та RF, а також на нездатних до продукції інтерферону клітинах Vero. На відміну від сполуки **1.4** сполука **1.5** є малоефективною.

Здатність до пригнічення ЦПД вірусу є важливою властивістю противірусного препарату. Сполуки **1.4** та **1.5** пригнічують розвиток ЦПД ВВС у нездатних до продукції ІФН клітинах Vero [23]–[25].

В експерименті на мишах сполука **1.4** також проявила противірусні властивості. Коефіцієнт захисту **1.4** дорівнює 100, для аміксина – 10. Індекс ефективності сполуки **1.4** дорівнює 99 % [26].

Сполука **1.4** здатна індукувати інтерферон I типу у широкому діапазоні концентрацій: 12.5 – 25.0 мкг/мл на лінії клітин PST та 6.2 – 50.0 мкг/мл на лінії клітин L929 [27]. В умовах *in vivo* сполуки **1.4** та **1.5** здатні викликати синтез ІФН у дозах 12.5 мг/кг та 0.25 мг/кг відповідно [28].

Сполуки **1.4** та **1.5** збільшують ЕФР Т-лімфоцитів селезінки мишей, здатні регулювати ланки активаційної програми Т-лімфоцитів шляхом збільшення їх сумарного негативного поверхневого заряду, тобто змінюють фізико-хімічні властивості плазматичної мембрани [29]–[31]. Сполука **1.4** стимулює мітохондріальну активність ізольованих гепатоцитів щура. [32]–[34].

Сполука **1.4** на відміну від сполуки **1.5**, має цитотоксичну дію в перещеплюваній культурі клітин лімфоцитів (гострого Т-лімфобластного лейкозу людини). Даний ефект супроводжується виділенням в культуральне середовище ІФН [35].

1.1.2.3 Антиканцерогенні властивості похідних біфенілу

Деякі похідні біфенілу мають антиканцерогенні властивості.

Гонокіол – препарат з широким спектром біологічної активності, в числі яких є антиканцерогенна, противірусна, антимікробна, протизапальна (**1.7**) (рис. 1.7) [36], [37].

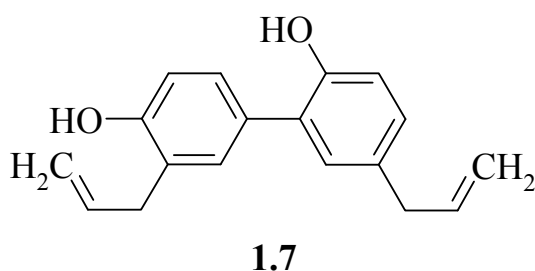
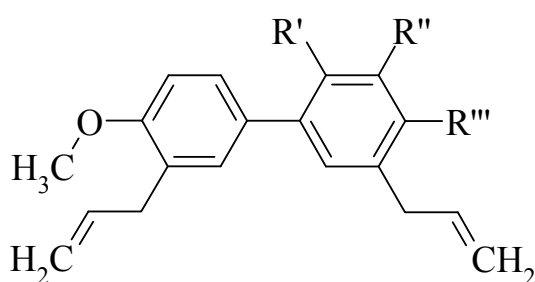


Рисунок 1.7 – Будова препарату гонокіол

Ефект проти клітин A549, UACC90, HT-29 раку легенів людини більш виражений у аналогів **1.7** – сполуках **1.8** – **1.11** (рис. 1.8) [38].



1.8 $R' = \text{OH}; R'', R''' = \text{H}$

1.9 $R' = \text{OH}; R'' = \text{Br}; R''' = \text{H}$

1.10 $R' = \text{OH}; R'' = \text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}; R''' = \text{H}$

1.11 $R', R'' = \text{H}; R''' = \text{OH}$

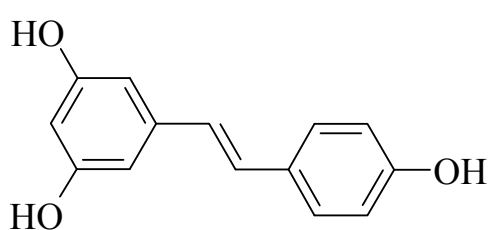
Рисунок 1.8 – Будова аналогів гонокіолу

Деякі похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу здатні інгібувати синтетази жирних кислот (FASN), які є ліпогенними ферментами, що експресуються на високому рівні в різних злоякісних пухлинах людини. Похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу виявили цитотоксичну дію проти клітин SK-Bv3 людські лінії клітин раку молочної залози [39].

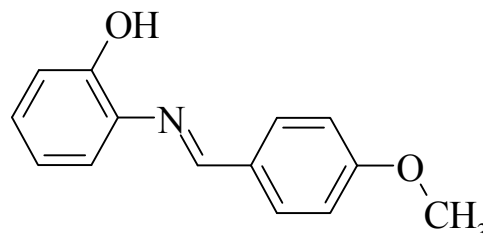
1.1.3 Антиканцерогенна активність стильбенів

Стильбени та їх іміноаналоги здатні проявляти антиканцерогенну, проти-вірусну та інші види біологічної активності. Одним з представників цієї групи є резвератрол (**1.12**) [40] (рис. 1.9), здатний пригнічувати ангиогенез в злоякісних пухлинах завдяки зниженню експресії гену, який пов'язаний з фактором ангиогенезу VEGF в пухлинних клітинах. Цей ефект виявився більш вираженим при

дослідженні монопохідних стилібену [41].



1.12



1.13

Рисунок 1.9 – Будова резвератролу та його аналогу з більш вираженою фото захисною дією

Препарат проявляє фотозахисну дію та здатний зменшувати виникнення злякиснених новоутворень шкіри. Для сполуки **1.13** ця властивість є більш вираженою [42].

За іншими даними резвератролу та його гетероаналогам властива інгібуюча активність проти клітин ліній MDA-MB-231 і T47D раку молочної залози. При чому антиканцерогенна активність зростає в низці резвератрол – R=F – R=Cl – R=OMe [43].

Іміноаналогі резвератролу мають виражену антиоксидантну активність, пригнічують SH-SY5Y клітини нейробластоми та оцінюються як мульти-цільові сполуки при лікуванні хвороби Альцгеймера [44].

1.2 Синтез заміщених біфенілів

1.2.1 Введення замісників в молекулу біфенілу та їх модифікація

Ймовірно, саме із порушенням спряження між бензольними кільцями пов'язана знижена реакційна здатність біфенілу порівняно із, наприклад, флуореном в реакціях ароматичного електрофільного заміщення. Так, нітрування біфенілу [45] вдається провести протягом 1 – 3 годин з виходом близько 80 % при температурі не нижче 100 °C дією концентрованої сульфатної кислоти на суміш нітрату лужного металу з біфенілом (рис. 1.10), у той час як флуорен нітрується [46] при 60 – 80 °C за 15 хв. дією концентрованої нітратної кислоти.

Нітрування [47] біфенілу нітратною кислотою в оцтовому ангідриду приз-

водить до суміші 4-(**1.14**) та 2-нітробіфенілу (**1.15**) у співвідношенні 2.15 : 1. При проведенні реакції в оцтовій кислоті переважним стає нітрування у пара-положення (0.6 : 1). Автори дійшли висновку про координацію нітроній-катиону одним з бензольних кілець з наступною атакою нуклеофілу в орто-положення іншого кільця.

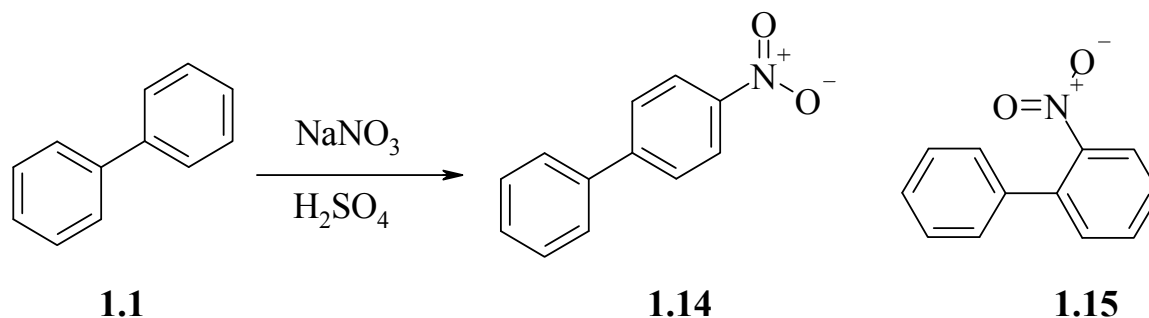


Рисунок 1.10 – Схема нітрування біфенілу

Швидкість нітрування біфенілу в середовищі фосфатної кислоти значною мірою залежить від вмісту води. Так при збільшенні концентрації фосфатної кислоти з 89.8 % до 95.5 % константа швидкості реакції збільшується практично на 2 порядки [48].

У середовищі 50 % оцтової кислоти біфеніл бромується (рис. 1.11) приблизно на 3 порядки швидше бензену, але приблизно на 2 порядки повільніше за нафталін [49].

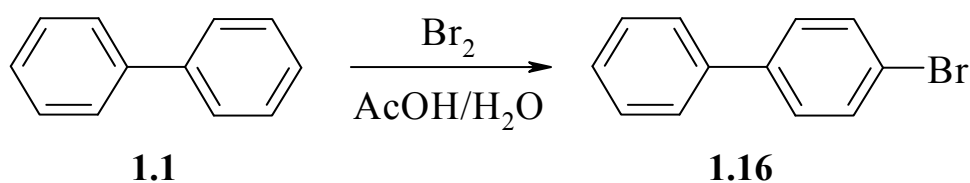


Рисунок 1.11 – Схема бромовання біфенілу

Залежно від умов проходження реакції, в процесі сульфонування може утворюватися як біфеніл-4-сульфо кислота, так і біфеніл-4,4'-дисульфокислоти. Найбільш поширеними методами є сульфонування за допомогою концентрованої сульфатної або хлорсульфонової кислот.

При нагріванні біфенілу з концентрованою сульфатною кислотою з еквімолярною її кількістю [50], 32 %-вим надлишком [51] або потрійним надлишком [52], утворюється біфеніл-4-сульфо кислота. Для підвищення виходу такі реакції прово-

дять в розчині в нітробензолі. Для отримання біфеніл-4,4'-дисульфоїкислоти так само застосовується нагрівання з надлишком сульфатної кислоти [53], [54], однак з подальшим осадженням калієвої солі 20 %-вим розчином хлориду калію і нагріванням отриманої солі, що веде до диспропорціонування з утворенням біфенілу і солі 4,4'-дисульфоїкислоти [52]. Біфеніл-4-сульфохлорид сульфується при обробці 4 %-вим олеумом в положенні 4 без втрати галоїду.

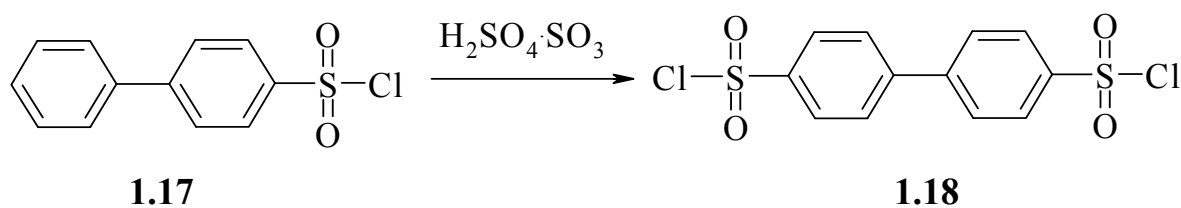


Рисунок 1.12– Схема сульфування біфеніл-4-сульфохлориду

При нагріванні біфенілу з хлорсульфоновою кислотою [55] до 50 °С в розчині тетрахлороетану утворюється біфеніл-4-сульфоїкислота (**1.18**). Для отримання 4,4'-дисульфоїкислоти (**1.18**, X = OH) використовують метод синтезу 4,4'-дисульфохлориду (**1.18**, X = Cl) з надлишком хлорсульфонової кислоти при 0 °С або еквімольною її кількістю при 18 °С. Час проходження реакції в обох випадках складає 12 годин [55].

Пряме введення гідроксильної групи в молекулу біфенілу в літературі не описане, проте, з загальних уявлень можна передбачити принципову можливість синтезу дигідроксибіфенілів з відповідних аміно-, сульфо- та ацил-похідних. В свою чергу, найпростіший підхід до біфенільної структури полягає в бензидиновій перегрупівці, 4,4'-дигідроксибіфеніл (**1.21**) може бути отриманим (рис. 1.13) diaзотуванням бензидину (**1.19**) з наступним розкладанням солі diaзонію (**1.20**) при нагріванні в розведеній сульфатній кислоті. Сирий продукт очищають через відповідне diaцетильоване похідне (**1.22**) [56].

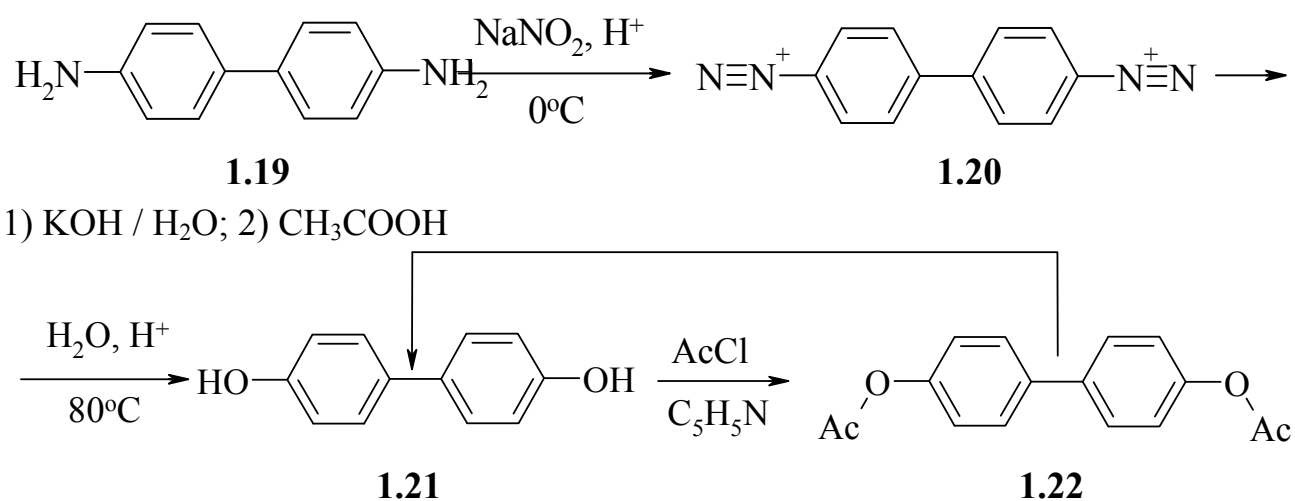


Рисунок 1.13 – Синтез 4,4'-дигідроксибіфенілу з бензидину

Незвичне перегрупування [57] дозволяє ввести тіогрупу замість гідроксильної (рис.1.14)

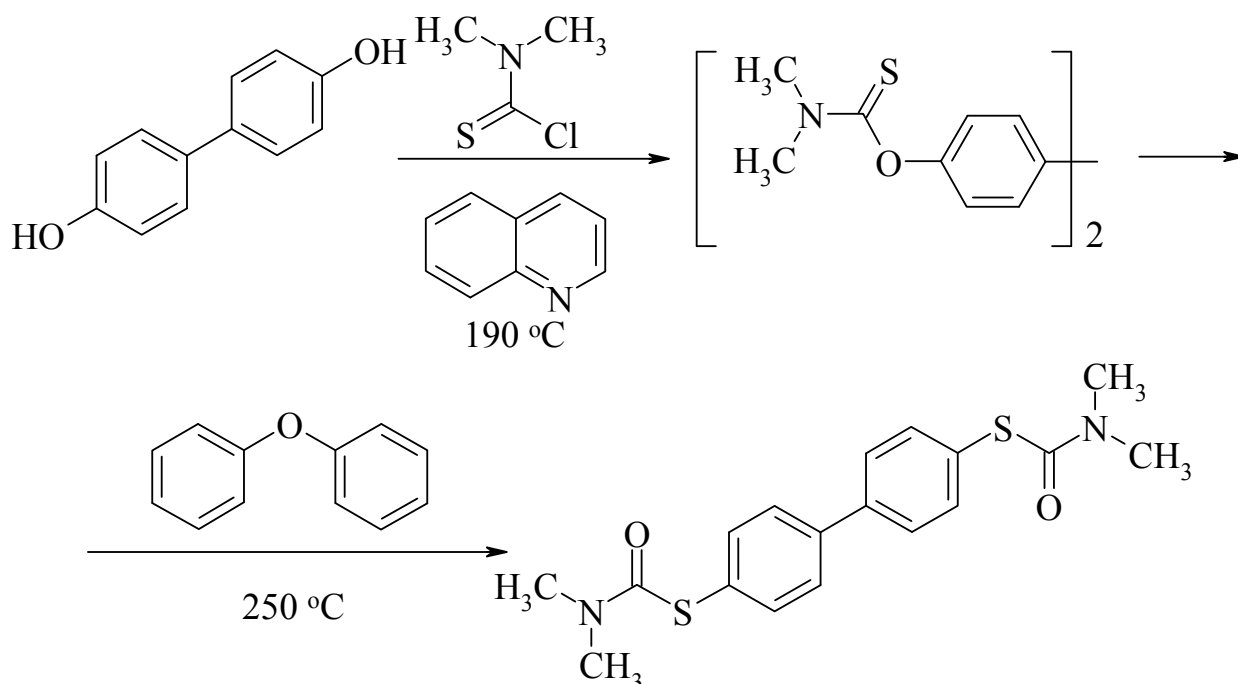


Рисунок 1.14 – Схема заміни кисню на сульфур в похідних біфенілу

1.2.2 Синтез біфенілів утворенням зв'язку С–С

Серед реакцій при яких утворюються біфеніли з відповідних похідних бензену слід згадати реакцію Ульмана [58]. Доступність реагентів та практично повна незалежність від застосування каталізаторів практично повністю нівелюється жорсткими умовами синтезу та чисельними технічними незручностями

(потреба в потужних мішалках).

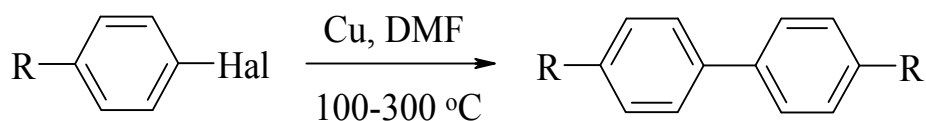


Рисунок 1.15 – Схема синтезу біфенілів в умовах реакції Ульмана

Дуже привабливим на цьому тлі виглядає метод, запропонований в [59], що передбачає кип'ятіння арилгалогеніду з порошком металевого цинку в метанолі в присутності формиату триетиламіну. На відміну від більшості методів "здвоєння" заміщених арилів, цьому методу наявність у вихідному арилі рухливих атомів гідрогену не перешкоджає. Так, вихід 4,4'-дигідроксибіфенілу за цим методом становить 90 % та лише на 6 % поступається виходу 4,4'-диметоксибіфенілу. Автори запропонували механізм цього перетворення, який ми наводимо на рисунку 1.16.

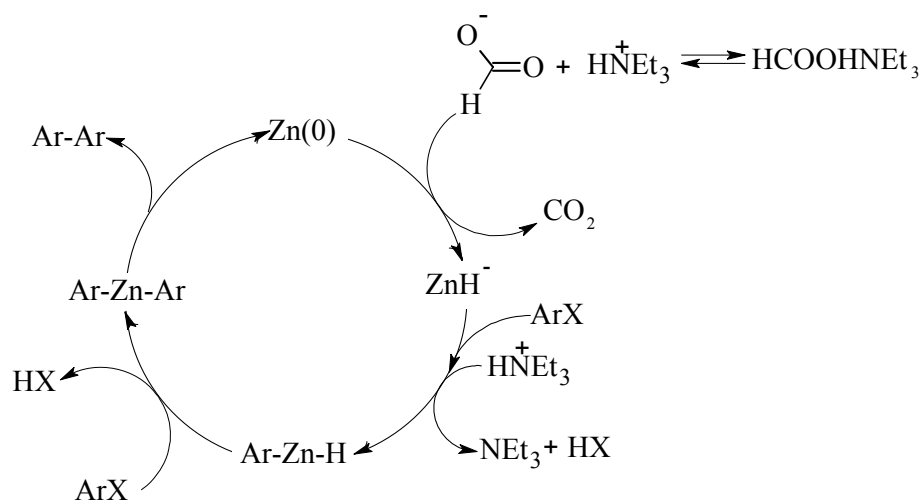


Рисунок 1.16 – Схема синтезу симетричних біфенілів за [59]

Взаємодією бромобензенів з бутіллітієм у присутності тетраклориду ванадію при 0 °С з 4-галоген-заміщених арилів утворюються (рисунок 1.17) відповідні 4,4'-дизаміщені симетричні біфеніли за механізмом, схема якого наведена на рисунку [60]. Цей метод, на відміну від інших, аналогічних методів "здвоєвання" заміщених галогенобензенів відрізняє те, що достатньо високі виходи (61 – 86 %) досягаються при низьких температурах та для галогенобензенів, які містять донорні замісники.

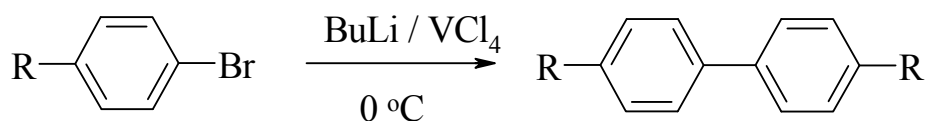


Рисунок 1.17 – Схема синтезу симетричних біфенілів в умовах каталізу тетрахлоридом ванадію [60]

Інтересним уявляється підхід, застосований в [61], який полягає в утворенні аргентоорганічної сполуки дією броміду срібла на фенілмагнійбромід з наступним термолізом (рис. 1.18).

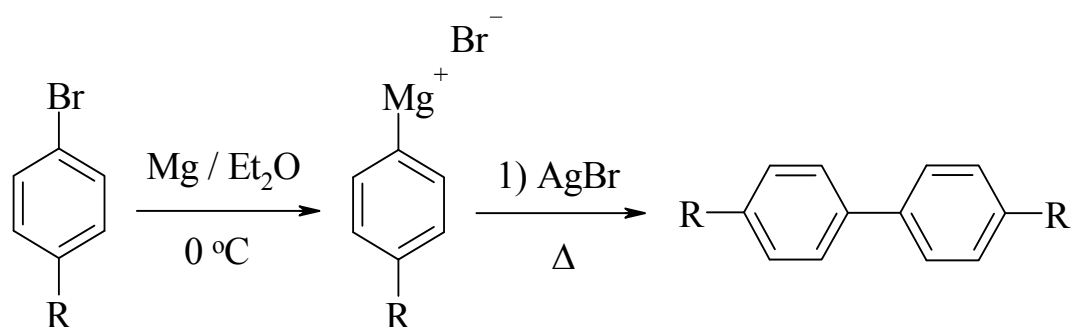


Рисунок 1.18 – Схема синтезу симетричних біфенілів із участю AgBr

При використанні трифлуорометилсульфонату міді як катализатору можуть бути отримані різні заміщенні біфеніли з виходами 50 – 98 % (рис. 1.19) [62]. Додавання у реакційну суміш, що містить галогенбензени, солей Au (I) та Au (III) приводить до утворення відповідних біфенілів з виходами до 91 % [63].

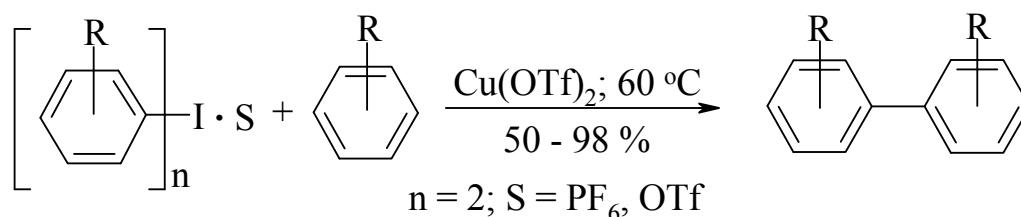


Рисунок 1.19 – Схема синтезу симетричних біфенілів із участю Cu(OTf)₂

Тетрахлорид ванадію та оксотрихлорид можуть бути успішно використаними для утворення біфенілів з відповідних бензенів і в відсутності основ. Так, в роботі [64] показано, що 4,4'-дигідроксибіфеніл утворюється з незаміщеного фенолу в одну стадію з виходом 34 %, причому вихід 2,4'-дигідроксибіфенілу становить лише 18 %.

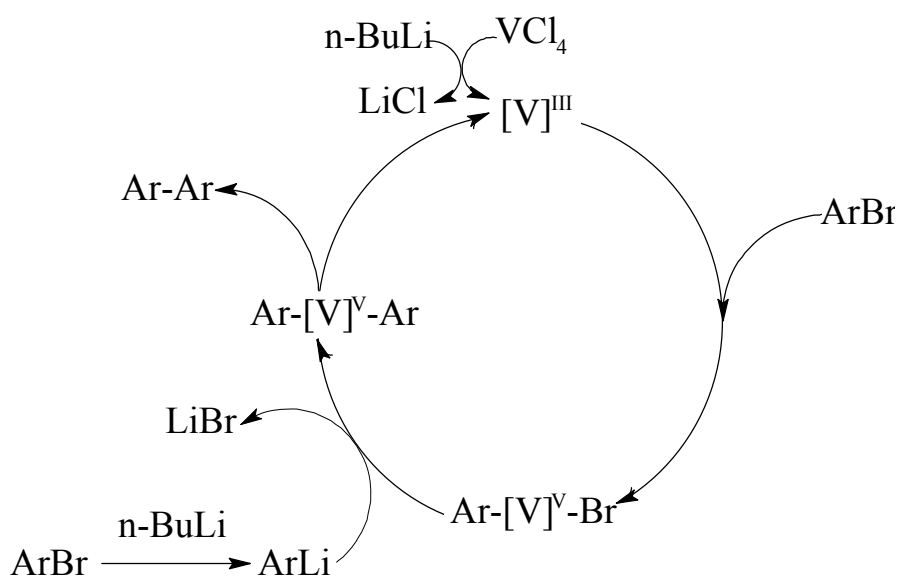


Рисунок 1.20 – Схема утворення симетричних біфенілів в умовах каталізу тетрахлоридом ванадію [60].

Реакції крос-сполучення дають змогу отримувати несиметричні біфеніли.

Так, за допомогою реакції Судзукі-Міяури, взаємодією фенілборної кислоти з бромо- чи йодоарилами у присутності карбонату натрію, використовуючи як катализатор тетракіс(трифенілфосфін)паладій, можна отримувати цільові продукти реакції з виходами до 99 % (рис. 1.21) [65].

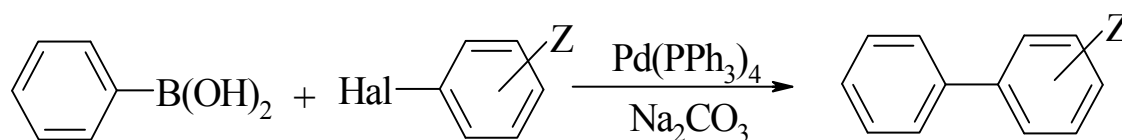


Рисунок 1.21 – Схема синтезу біфенілів за допомогою реакції Судзукі-Міяури

Заміна тетракіс(трифенілфосфін)паладію на ацетат паладію(II) в ацетоні при отриманні нітробіфенілів дозволяє збільшити виходи цільових продуктів з 23 % до 98 % [66].

Іншим різновидом реакції крос-сполучення є реакція Стиллє, яка для синтезу біфенілів передбачає взаємодію арилгалогенідами чи арилпсевдогалогенідом трифлатом з арилстананами, використовуючи як катализатор біс(трифенілфосфін)паладія(II) дихлорид (рис. 1.22) [67].

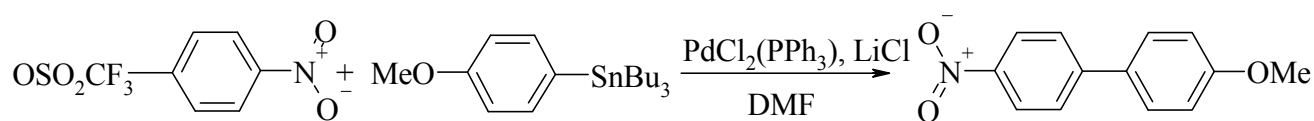


Рисунок 1.22 – Схема синтезу 4-нітро-4'-метоксибіфенілу

1.3 Мішені об'єктів дослідження

Виходячи з припущення про пріоритетну роль інтеркаляції в реалізації аміксином притаманному йому спектру біологічної активності [68]–[70], у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України на початку 90-х років минулого сторіччя розпочався синтез низки інтеркаляторів з різною будовою інтеркалюючого фрагменту та бокового ланцюга. Більшість синтезованих інтеркаляторів ДНК проявила протівірусну активність та здатність індукувати інтерферон. Більш того, сполуки, спроектовані як інтеркалятори з більшим за пересічні афінитетом до ДНК (за рахунок "додавання" бензольних кілець до тетрациклічного остову) виявляли підвищену цитотоксичність, із меншим – знижену активність. Ліганди малого жолобу виявились не менш активними протівірусними агентами та індукторами інтерферону, ніж самі "продуктивні" групи інтеркаляторів.

Окремо стоять "аніонні" індуктори інтерферону – карбо- та гетероциклічні сполуки, що містять карбоксильну групу, яка забезпечує негативний заряд молекули у фізіологічних умовах. Зважаючи на негативний заряд молекули, мова про інтеркаляцію таких "аніонних" індукторів в ДНК не йде, як із загальних міркувань, так і за даними літератури [71].

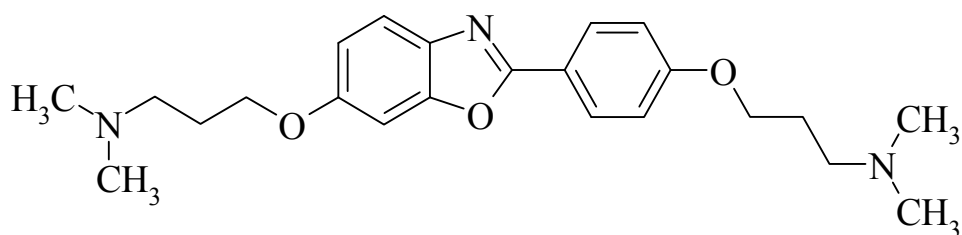
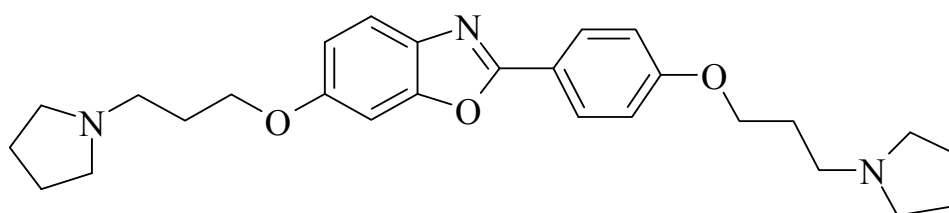
Ще одну групу індукторів інтерферону складають похідні імідазохіноліну – іміхімод та резіхімод. Незважаючи на наявність планарної трициклічної системи ці сполуки ніколи не розглядалися в літературі як інтеркалятори ДНК. Для цих сполук показана імуномодуюча дія та індукція інтерферону, опосередковані взаємодією із TLR7 [72].

Окрему групу склали похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу, для яких не відомі

якісь певні мішені. Єдиним кандидатом на роль мішеней для цих сполук вбачались рецептори ароматичних вуглеводнів (AhR), оскільки є певна структурна аналогія між похідними 4,4'-дигідроксибіфенілу та "класичним" агоністом AhR – тетрахлоробіфенілом.

Оскільки між всіма чотирма розглянутими групами сполук існує парна структурна аналогія, можна було б припустити, що кожна з них реалізує свою дію не через одну, а, щонайменш, дві мішені. При взаємодії з різними мішенями можуть запускатися синергічні та/або антагоністичні процеси, або процеси, що просто складаються (незалежні один від одного).

Нещодавно була показана [73] здатність сполук **1.23** та **1.24** інгібувати активацію TLR7/9 циркулюючими ДНК-комплексами.

**1.23****1.24**

Ці сполуки мають спільні риси з аміксином (далі – тилороном) та 4,4'-дигідроксибіфенілом. Тим самим був знайдений "місток", який поєднує тилорон та аналоги із біфенілами та "класичними" лігандами TLR7 – іміхімодом та резихімодом. Пошук спільних мішеней для них та вищезгаданих груп сполук має тривати. Лише виявивши всі сукупності спільних мішеней для низькомолекулярних індукторів інтерферону, ми можемо розраховувати на розуміння механізму імуномодуючої дії розглянутих груп індукторів інтерферону та противірусних агентів.

2 Методи синтезу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів, амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти, N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів), похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу

2.1 Синтез та властивості 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

2.1.1 Синтез 4,4'-дигідроксибіфенілу

З огляду літератури очевидним є, що 4,4'-дигідроксибіфеніл (**1.21**) може бути отриманий двома шляхами – 4,4'-димерізацією фенолу та модифікацією замісників. З одного боку, утворення зв'язку C–C привабливіше, бо дозволяє отримувати практично будь-яким чином заміщені похідні біфенілу. З іншого боку, на початковому етапі досліджень в такому різноманітті не має потреби. Крім того, коли не відпрацьовані умови синтезу цільових сполук з 4,4'-дигідроксибіфенілу, не визначений спектр термінальних груп та лінкерів, нам вбачалося недолужним розробляти метод синтезу вихідної сполуки, складний з точки зору каталізаторів, лігандів, умов. Тому ми зупинили свій вибір на діазотуванні бензидину з наступним розкладанням біс-діазонієвої солі [74] (рисунок 1.13) як на такому методі синтезу, який відповідав наявним умовам та задачам.

2.1.2 Синтез 4,4'-біс-(2-хлороетокси)біфенілу

4,4'-Біс-(2-хлороетокси)біфеніл (**2.1**) одержували алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) 1,2-дихлороетаном у двофазній системі: водяний розчин гідроксиду натрію – 1,2-дихлороетан, із застосуванням тетрабутиламонію хлориду (рис. 2.1). Вихід цільового продукту реакції склав від 90 % до 95 %.

Структура сполуки **2.1** підтверджена методами мас-спектрометрії та ІЧ-спектроскопії.

В ІЧ-спектрах присутні смуги поглинання при 3000- 3050 cm^{-1} , що відповідають коливанням ароматичних C–H-зв'язків, а коливання C–O–C, характерні

для етерів, спостерігаються при $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$.

У мас-спектрі присутній пік молекулярного іону ($m/z = 312$, $I = 12.5 \%$), найбільш інтенсивним є пік із $m/z = 186$, що відповідає відщипленню обох бокових груп за рахунок розриву зв'язку PhO–C.

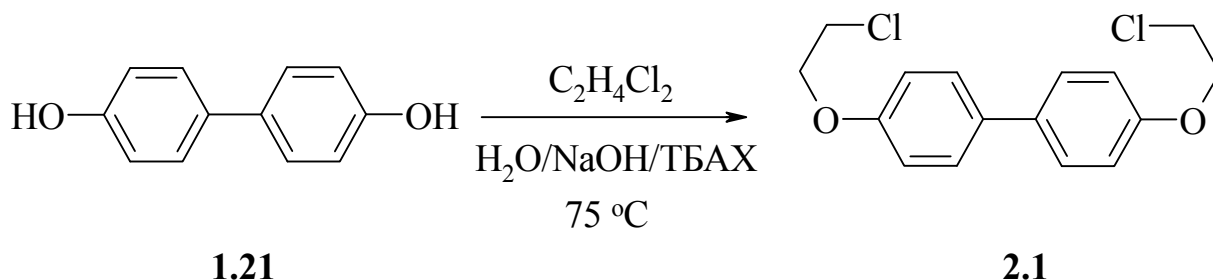


Рисунок 2.1 – Схема алкілування 4,4'-дигідроксибіфенілу 1,2-дихлороетаном

2.1.3 Синтез 4,4'-біс-(хлоропропокси)біфенілу

4,4'-Біс-(хлоропропокси)біфеніл (**2.2**) отримували алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) невеликим надлишком 1-бром-3-хлорпропану у сухому ДМФА в присутності безводного карбонату калію (рис. 2.2) при нагріванні до $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Перекристалізація з ізо-пропанолу забезпечує отримання чистого продукту.

Структура сполуки **2.2** підтверджена методами мас-спектрометрії та ІЧ-спектроскопії.

В ІЧ-спектрах присутні смуги поглинання при $3000 - 3050 \text{ cm}^{-1}$, що відповідають коливанням ароматичних C–H-зв'язків, а коливання C–O–C, характерні для етерів, спостерігаються при $1000 - 1100 \text{ cm}^{-1}$.

У мас-спектрі присутній пік молекулярного іону ($m/z = 339$, $I = 11 \%$), найбільш інтенсивним є пік із $m/z = 186$, що відповідає відщепленню обох бокових груп за рахунок розриву зв'язку PhO–C.

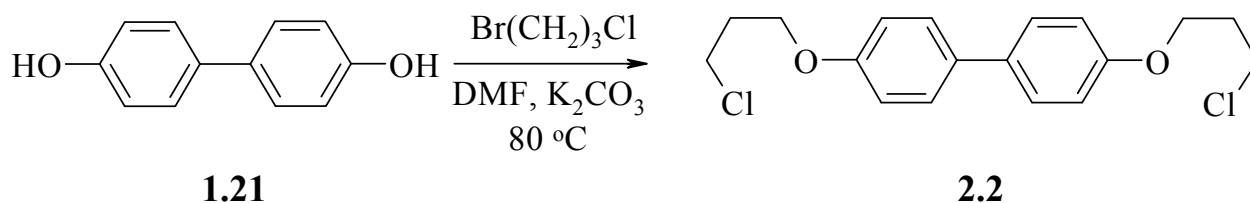


Рисунок 2.2 – Синтез 4,4'-біс-(хлоропропокси)біфенілу

2.1.4 Синтез 4,4'-біс-(ω-галогеноалкокси)біфенілів

4,4'-Біс-(ω-галогеноалкокси)біфеніли (**2.3 – 2.5**) отримували алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) в ДМФА великим надлишком α,ω-бромоалканів в присутності безводного карбонату калію (рис. 2.3). Реакційну суміш нагрівають до 80 °С та витримують. Отримані продукти перекристалізують з ізопропанолу.

Структура підтверджена методами мас-спектрометрії та ІЧ-спектроскопії.

В ІЧ-спектрах присутні смуги поглинання при 3000 – 3050 cm^{-1} , що відповідають коливанням ароматичних С-Н-зв'язків, а коливання С-О-С, характерні для етерів, спостерігаються при 1000 – 1100 cm^{-1} .

У мас-спектрах всіх отриманих сполук присутній пік молекулярного іону, найбільш інтенсивним є пік із $m/z = 186$, що відповідає відщепленню обох бокових груп за рахунок розриву зв'язку PhO-C.

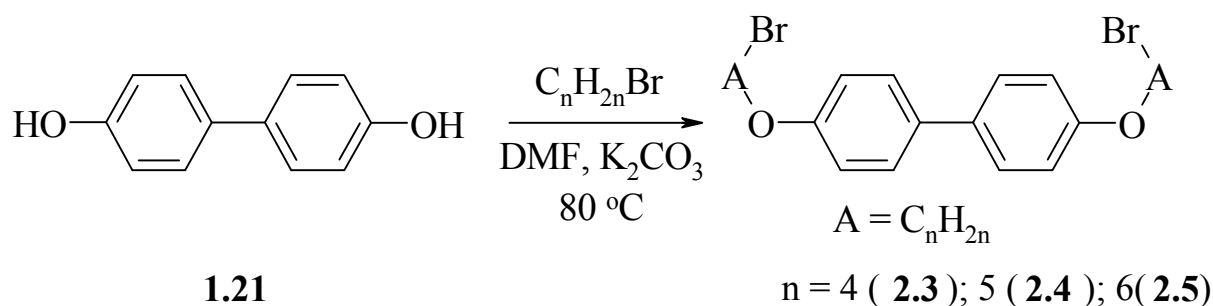


Рисунок 2.3 – Синтез 4,4'-біс-(ω-галогеналкокси)біфенілів

2.1.5 Синтез 4,4'-біс-(ω-іодоалкокси)біфенілів

Дійодиди **2.6** та **2.7** отримані в двофазній системі ксилол – водний розчин йодиду натрію в присутності тетрабутиламонію йодиду (рис. 2.4). Кип'ятіння реакційної маси дозволило за 10 годин одержати цільовий продукт реакції,

причому вміст домішки проміжного продукту не перевищував 1 %, і отриманий продукт не потребував додаткової очистки.

Проведення реакції в бензолі вимагало кип'ятіння реакційної маси протягом 20 годин, з тим що б отримана речовина відповідала якості продукту, отриманій при використанні ксилолу.

Структура 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів підтверджена сукупністю спектральних методів аналізу.

В ІЧ-спектрах (таблетки KBr) присутні смуги поглинання, що відповідають коливанням C–H-зв'язків ароматичних кілець при 3000 – 3050 cm^{-1} , а також коливанням C–O–C, характерним для етерів, при 1000 – 1100 cm^{-1} .

У мас-спектрах присутні піки молекулярних іонів; найбільш інтенсивним є пік з $M/Z = 186$, що відповідає відщипленню всіх бокових груп за рахунок розриву зв'язку PhO–C.

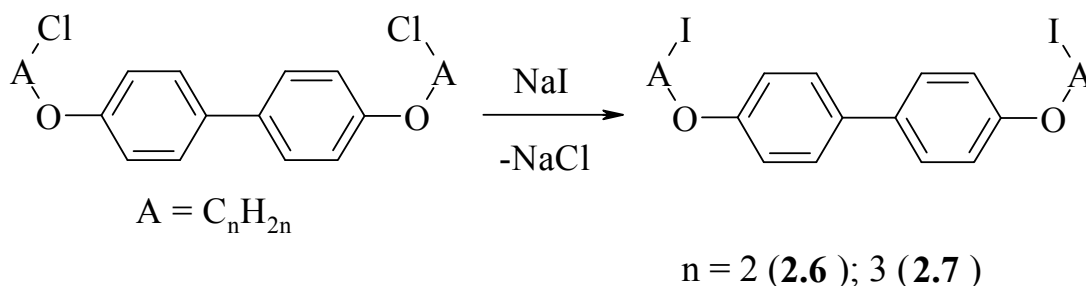


Рисунок 2.4 – Синтез 4,4'-біс-(2-йодоексокси)біфенілу

2.1.6 Синтез 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

4,4'-Біс-(2-диетиламіноексокси)біфеніл (**1.4**) отримували двома методами: аміноалкілюванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) та амінодегалогенуванням 4,4'-біс-(2-йодоексокси)-біфенілу. Аміноалкілювання проводили у суміші хлоро-органічних розчинників (хлороформ або хлористий метилен) і насиченого водного розчину карбонату калію при кімнатній температурі при 50 – 250 %-ому надлишку алкілюючого агента за умови ефективного перемішування реакційної суміші (бажано утворення стійкою емульсії) (рис. 2.2). Заміна карбонату калію на карбонат натрію призводила до значного зменшення виходу.

Деяку проблему становило видалення надлишку аміноалкілюючого агента та продуктів його гідролізу. У зв'язку з цим ми перевірили можливість застосування менших за зазначені надлишків аміноалкілюючих агентів. Встановлено, що застосування 1.5 – 2-кратного надлишку (замість 2.5 – 3-кратного) при одночасному збільшенні часу проведення реакції до 12 – 8 годин, відповідно, дозволяє спростити виділення продуктів при збереженні виходу на рівні 60 – 70 %. Доцільним, також, виявилось проведення реакції в атмосфері інертного газу (аргон, азот) [75].

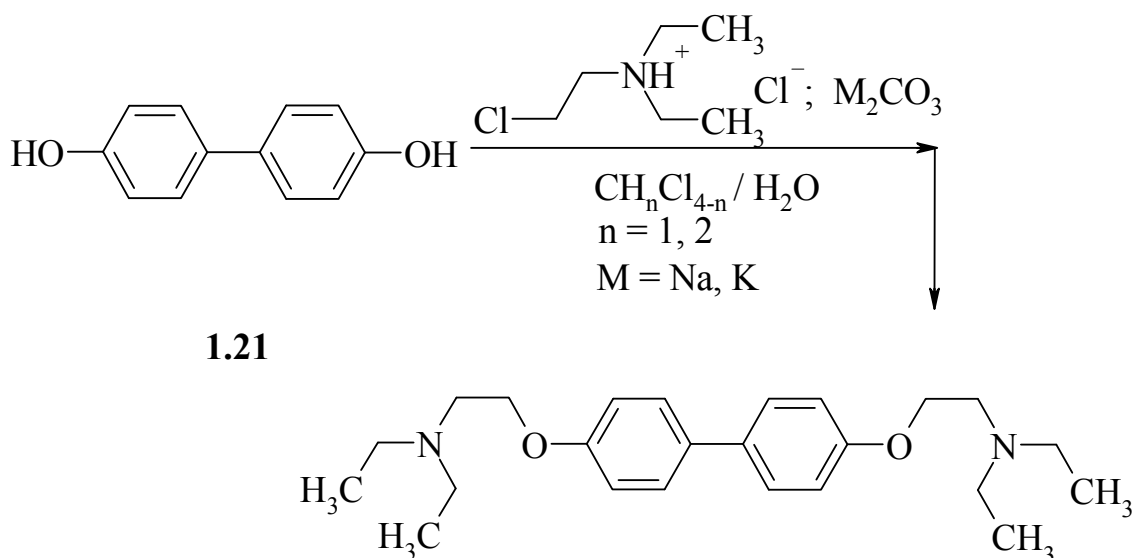
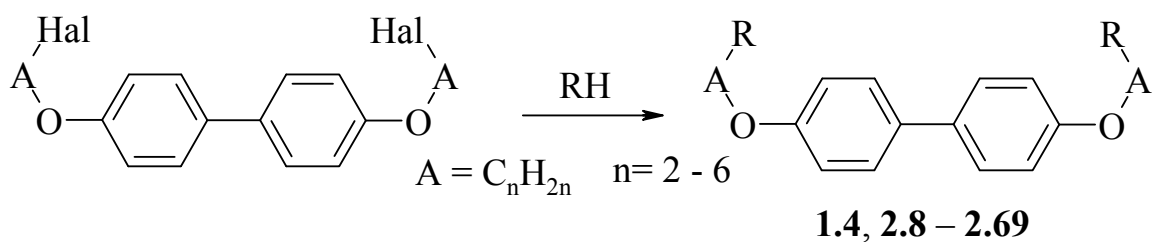


Рисунок 2.5 – Синтез 4,4'-біс-(2-диетиламіноетокси)біфенілу (**1.4**)

4,4'-Біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли (**1.4**, **2.8** – **2.69**) отримували взаємодією 4,4'-біс-(ω -галогеналкокси)біфенілів (**2.3** – **2.7**) з первинними або вторинними амінами при кімнатній температурі в диметилформаміді (рис. **2.6**). Після закінчення реакції реакційну суміш розбавляли водою, продукти реакції виділяли з органічного шару екстракцією хлороформом. Кінцеві продукти виділяли залежно від будови амінного фрагмента як дигідрохлориди або тетрагідрохлориди висадженням розчином безводного хлористого водню в діоксані з наступним кип'ятінням в ацетоні для видалення неосновних та одноосновних домішок [76]–[78].

Рисунок 2.6 – Синтез 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Будова синтезованих 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів **2.8 – 2.69** представлена в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Будова синтезованих сполук **2.8 – 2.69**

Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура
1	2	1	2	1	2
2.8		2.9		2.10	
2.11		2.12		2.13	
2.14		2.15		2.16	
2.17		2.18		2.19	
2.20		2.21		2.22	
2.23		2.24		2.25	

Продовження таблиці 2.1

2.26		2.27		2.28	
2.29		2.30		2.31	
2.32		2.33		2.34	
2.35		2.36		2.37	
2.38		2.39		2.40	
2.41		2.42		2.43	
2.44		2.45		2.46	
2.47		2.48		2.49	
2.50		2.51		2.52	

Продовження таблиці 2.1

1	2	1	2	1	2
2.53		2.54		2.55	
2.56		2.57		2.58	
2.59		2.60		2.61	
2.62		2.63		2.64	
2.65		2.66		2.67	
2.68		2.69			

2.1.7 Спектральні дані об'єктів дослідження

В електронних спектрах синтезованих сполук (рис. 2.7) спостерігаються дві інтенсивні смуги поглинання при 210 нм та 263 нм. Смуга при більшій довжині хвилі має дещо несиметричний характер (слабкий перегин при 281 нм),

що вказує на її складний характер. Вочевидь, що поряд з інтенсивною смугою при менших довжинах хвиль (менших за 263 нм) наявна ще слабка смуга при більших (можливо, близько 280 нм). Смуга при 263 нм має певні аналогії з короткохвильовим плечем в смузі при 269.5 нм в спектрі тилорону. Більш крутий довгохвильовий схил в смузі тилорону, напевне, пояснюється наявністю жорсткішого порівняно до біфенілу спряженого хромофору, в той час як для останнього, згідно з оглядом літератури, може існувати набір близьких за енергією конформерів з більшим чи меншим ступенем спряженості. Короткохвильова смуга при 210 нм, так само, як і смуга в спектрі тилорону (при довжині хвилі меншої за 200 нм – на спектрі спостерігається лише її довгохвильовий схил), зумовлена великою кількістю маловигідних переходів $\pi \rightarrow \pi^*$ окремих подвійних зв'язків бензольних кілець. У випадку тилорону, як вбачається, ці переходи є менш вигідними, ніж в похідному біфенілу, оскільки порушують спряження в флуореноновому хромофорі, в той час як в похідному біфенілу цей великий хромофор має значно меншу питому вагу. Відсутність в спектрі **1.4** довгохвильового малоінтенсивного плеча (як в спектрі тилорону) легко пояснити відсутністю в структурі **1.4** карбонільної групи, як в молекулі тилорону, якою і зумовлене це плече ($n \rightarrow \pi^*$ -переходи).

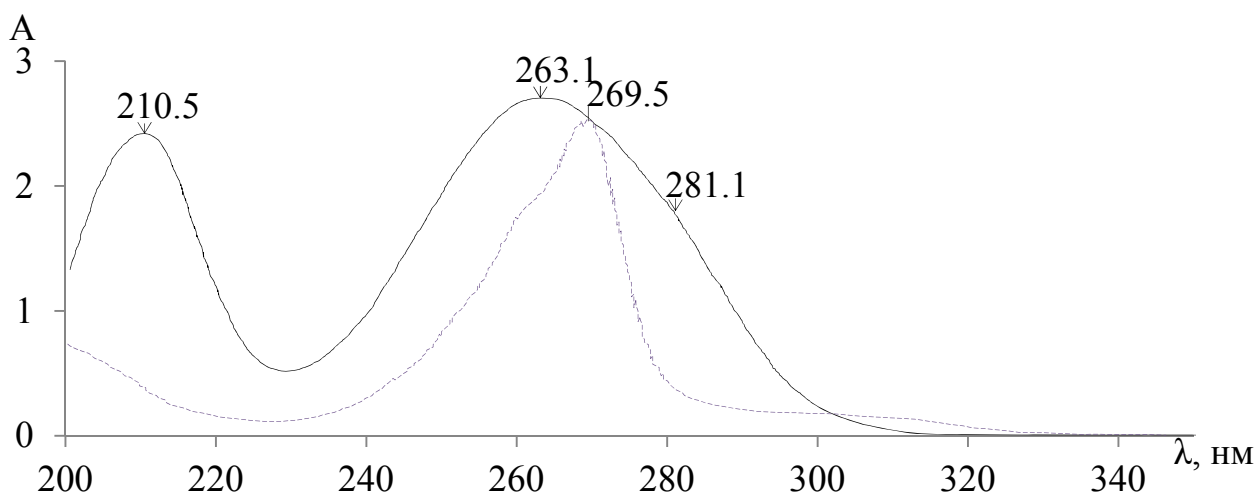


Рисунок 2.7 – Електронні спектри в УФ-діапазоні сполуки **1.4** (сплошна лінія) та тилорону (штрихова) лінія. Стрілочками позначені суттєві точки спектру **1.4**, рисочкою – спектру тилорону

ІЧ-Спектри синтезованих сполук (приклад наведено на рисунку 2.8) багато в чому подібні до спектрів аналогічних їм похідних флуоренонів. В області більших значень хвильових чисел спектрів біфенілів піки спостерігаються при тих же хвильових числах, що і в спектрах флуоренонів, але гірше розрішені, ніж останні. Смути при $3200 - 3800 \text{ см}^{-1}$ відповідають коливанням зв'язків N–H протонуваних термінальних аміногруп. Найбільші відмінності спостерігаються при хвильових числа менших 1800 см^{-1} . Так, в спектрі **1.4** відсутня смуга при $1705 - 1710 \text{ см}^{-1}$, що відповідає в спектрі тилорону коливанням карбонільної групи. Смуга при 1600 см^{-1} – одна з найбільш інтенсивних, в той час як в спектрах флуоренонів вона значно слабкіша. Слабка в спектрах флуоренонів смуга при 800 см^{-1} спостерігається в спектрах біфенілів як найінтенсивніша. Смути поглинання, характерні для коливань C–H-зв'язків ароматичних кілець знаходяться при $3000 - 3050 \text{ см}^{-1}$, а коливання C–O–C, які є характерними для етерів, спостерігаються при $1000 - 1100 \text{ см}^{-1}$.

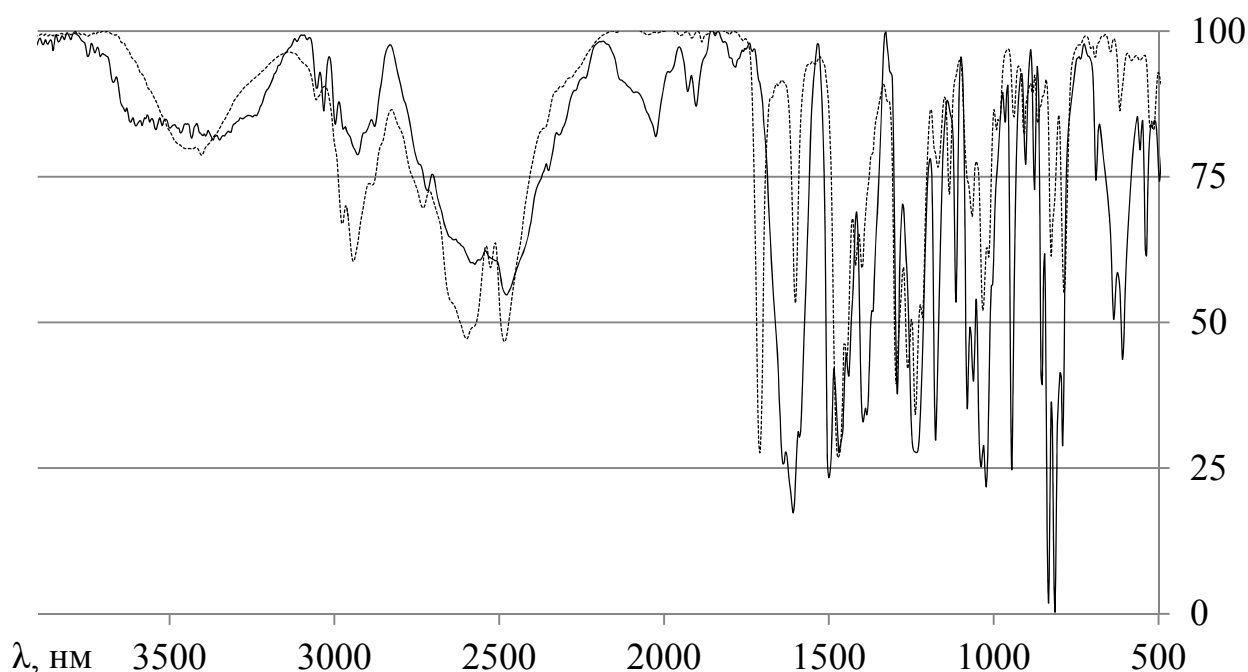


Рисунок 2.8 – Порівняння ІЧ-спектрів тилорону (спектр наведено пунктирною лінією) та **1.4** (сплошною лінією)

В мас-спектрах FAB (приклад наведено на рис. 2.9 синтезованих сполук спостерігаються інтенсивні піки, що відповідають протонуваним молекулярним

іонам (на рис. 2.9 – пік з $m/z = 385$) . В більшості випадків вони є найінтенсивнішими піками в спектрах.

Найбільш типовим є розрив зв'язку $\text{PhO}-\text{CH}_2$ з відщепленням бокового аміноалкільного фрагменту (на рис. 2.9 – пік з $m/z = 101$), іон якого, здебільшого, дає один з найінтенсивніших піків спектру. Наявність молекулярних іонів та основні шляхи їх фрагментації свідчать на користь структурам, що приписуються.

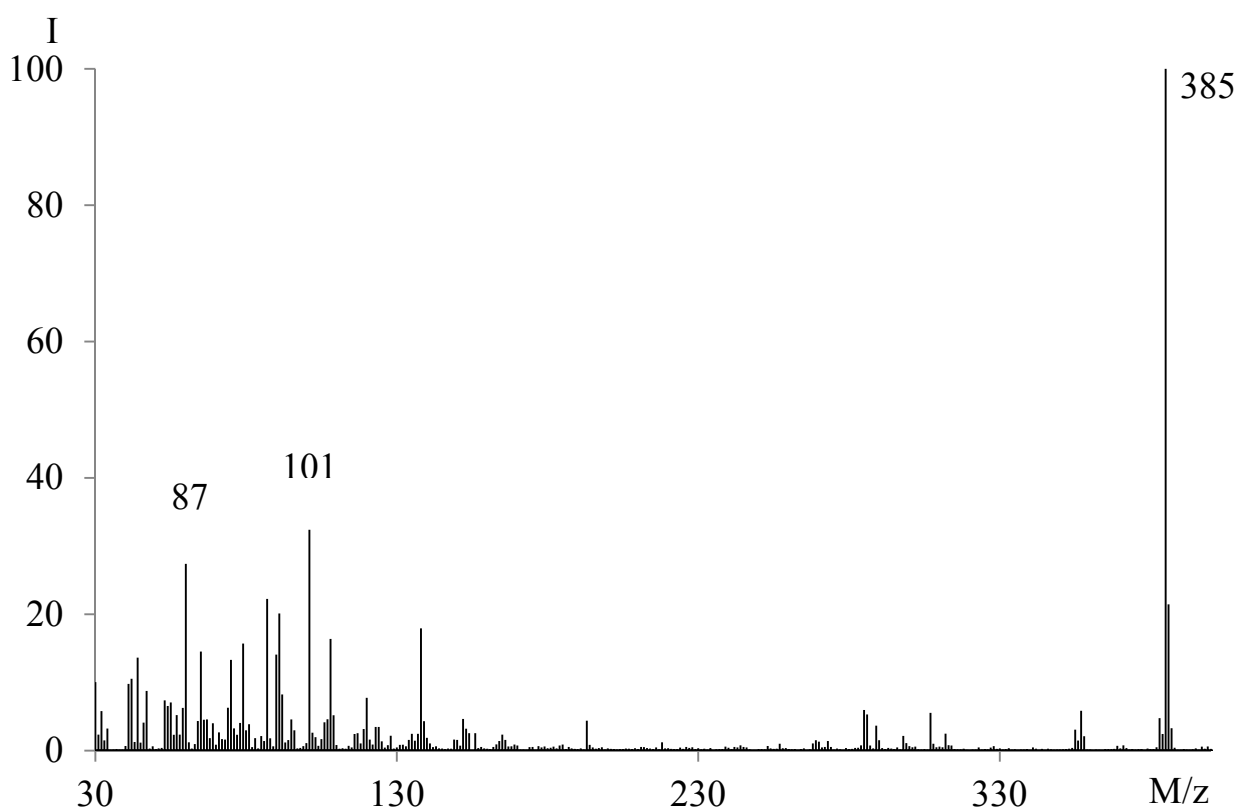


Рисунок 2.9 – Мас-спектр (FAB) сполуки **1.4**

У спектрах ^1H -ЯМР синтезованих сполук (приклад наведено на рис. 2.10) спостерігаються сигнали протонів як ароматичної, так і аліфатичної “частин” молекули, причому співвідношення інтегральних інтенсивностей цих сигналів відповідають розрахунковим для приписуваних структур. Протонам ароматичної частини молекули відповідають два дублета при 7.4 та 6.9 м.ч. Протони аміноетоксильного фрагмента дають два триплети при 4.1 та приблизно 3.0 м.ч, аліфатична частина амінного фрагменту знаходиться при менших значеннях м.ч.

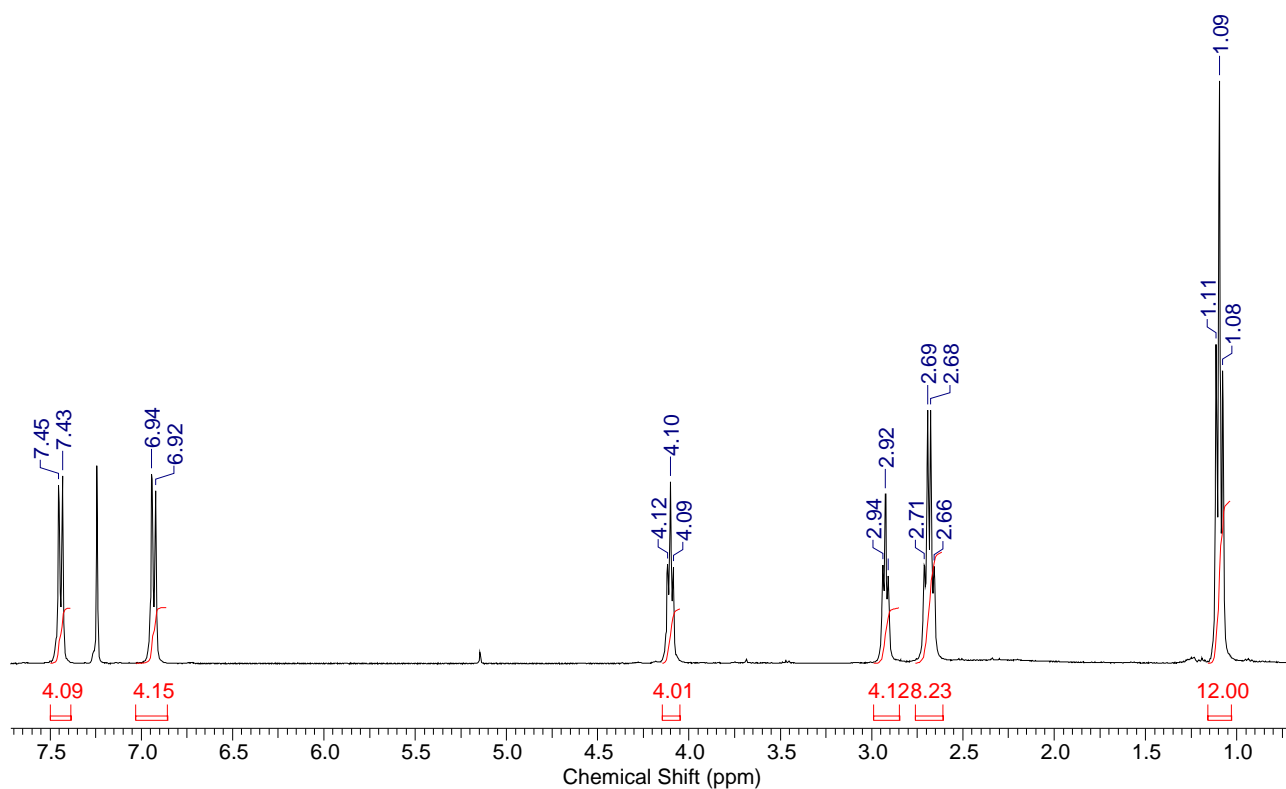


Рисунок 2.10– Спектр ^1H ЯМР сполуки **1.4**, реєстрований в CDCl_3

У спектрах ^{13}C ЯМР спостерігаються сигнали від всіх углеродів молекул (рис. 2.11). Сигнали від углеродів ароматичної частини сполуки **2.23** проявляються при 114.91 – 158.11 м.д., від аліфатичної – при 26.84 – 67.55 м.д.

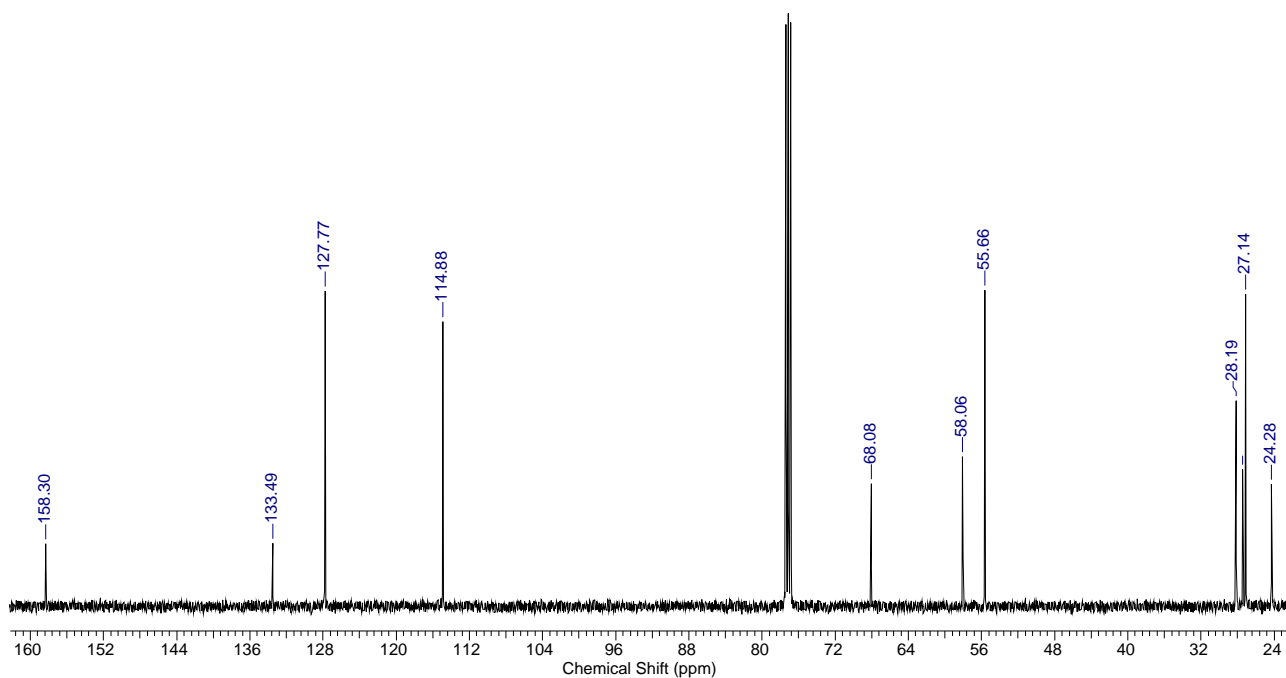


Рисунок 2.11– Спектр ^{13}C ЯМР сполуки **2.42**, реєстрований в CDCl_3

2.2 Синтез похідних 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти

Аміди 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти (**2.73** – **2.79**) отримували алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) метилбromoацетатом з наступним лужним гідролізом та амінуванням хлороангідриду отриманої кислоти рядом первинних амінів (рис. 2.12).

Диметил-2,2'-[біфеніл-4,4'-ді-іл-біс(окси)]диацетат (**2.70**) був синтезований алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**) метилбromoацетатом в ДМФА у присутності карбонату калію. 2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтова кислота (**2.71**) була отримана лужним гідролізом **2.70** в етанолі з наступною обробкою отриманої натрієвої солі соляною кислотою.

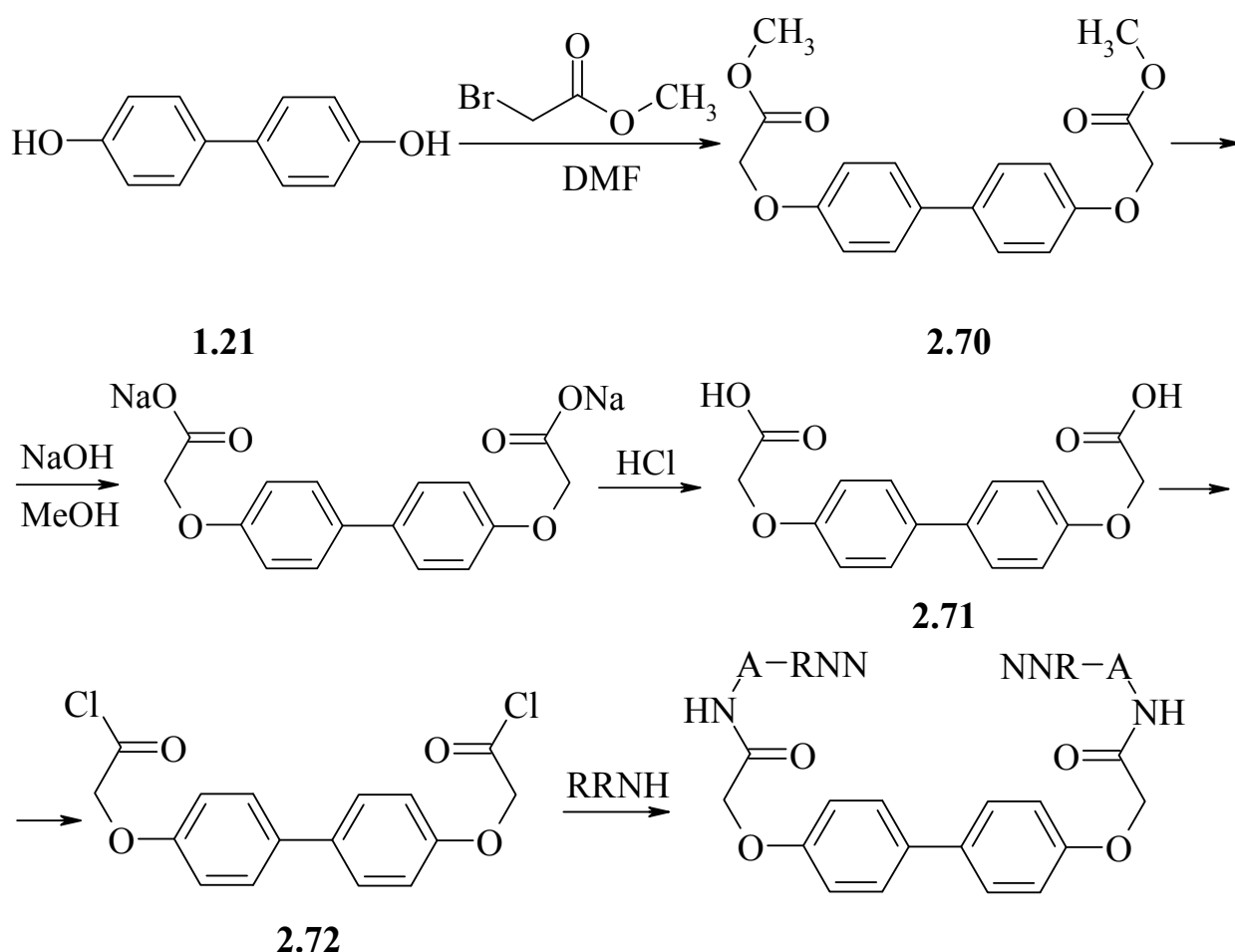


Рисунок 2.12 – Схема синтезу амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти

Аміди (**2.73** – **2.79**) синтезували додаванням розчину хлороангідриду (**2.72**) у хлористому метилені до суміші розчинів аміну в хлористому метилені та насиченого водного розчину карбонату калію. Цільові сполуки виділяли з органічного шару з помірними виходами [77].

Будова синтезованих амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти представлена в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Будова амідів **2.73** – **2.78**

Номер	Структура	Номер	Структура	Номер	Структура
2.73		2.74		2.75	
2.76		2.77		2.78	
2.79					

В ІЧ-спектрах присутні смуги поглинання при $3450 - 3150 \text{ cm}^{-1}$, обумовлені коливаннями зв'язку NH; $2950 - 2700 \text{ cm}^{-1}$, обумовлені коливаннями зв'язків CH (ароматичні і аліфатичні); 1680 cm^{-1} , обумовлені коливаннями зв'язків NH-C=O.

В мас-спектрах з іонізацією швидкими атомами всіх синтезованих сполук спостерігаються піки, що відповідають протонованим молекулярним іонам.

Найбільш типовим є розрив зв'язку PhO-CH₂ з відщепленням бокового амідного фрагменту, іон якого, здебільшого, дає один з найінтенсивніших піків

спектру. Наявність молекулярних іонів та основні шляхи їх фрагментації підтверджують структуру синтезованих сполук.

У спектрах ЯМР на ядрах ^1H спостерігаються сигнали як «ароматичної» так і «аліфатичної» частин молекул. Протони ароматичної частини молекули представлені двома дублетами при 6.90 – 6.96 м.д. та 7.40 – 7.46 м.д. Протони $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-$ групи – синглетом при 4.5 – 4.6 м.д. Протони «місткового» фрагменту проявляються триплетом для 2RNCH_2- групи та дублетом триплетів для HNCH_2- групи. Форма сигналів протонів термінальної аміногрупи відповідає структурам, що приписуються.

2.3 Синтез N,N' -біфеніламіноацетамідів

N,N' -Біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетаміди) (**2.84 – 2.88**, табл. 2.3) отримані хлороацетилюванням бензидину (**1.19**) з наступним амінуванням отриманого N,N' -біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетаміду) (**2.80**) низкою первинних та вторинних амінів (рис. 2.13). N,N' -Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетамід) (**2.80**) синтезували з виходом 80 % кип'ятінням в ксилолі суміші бензидину (**1.19**) та хлороангідриду хлорооцтової кислоти. Амінодехлорування з виходами від помірних до високих проводили надлишком аміну в ДМФА при кімнатній температурі.

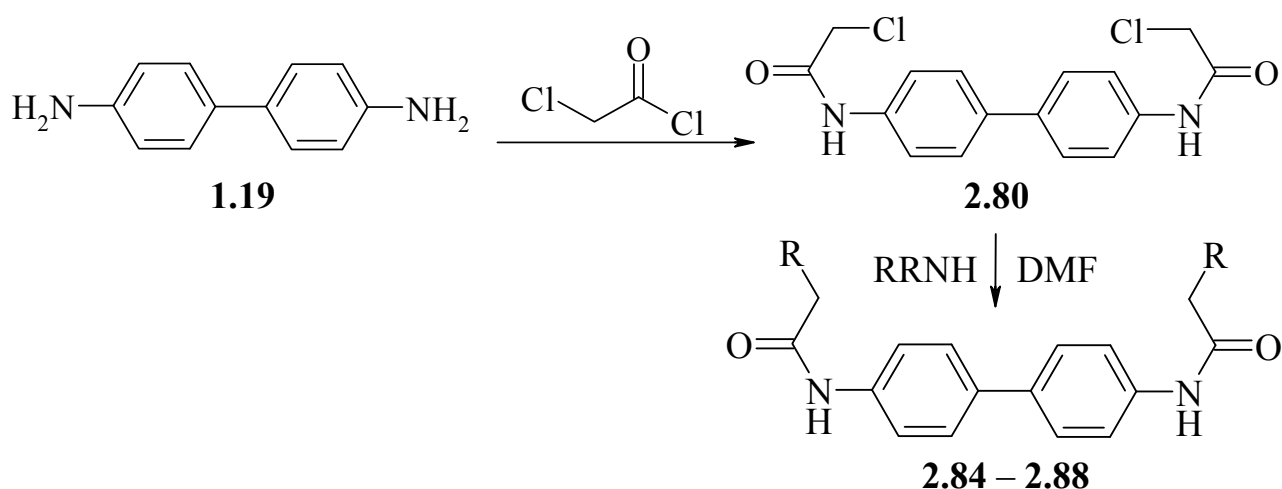
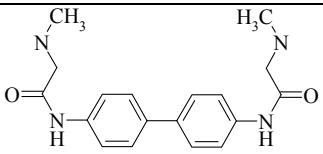
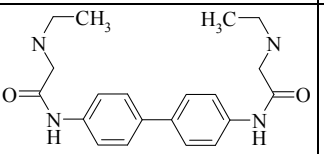
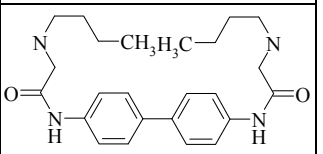
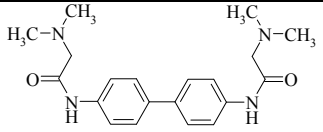
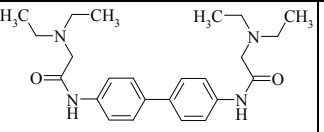
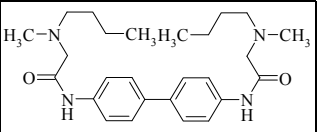
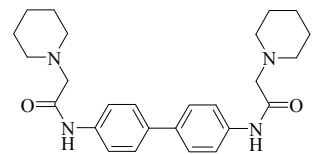
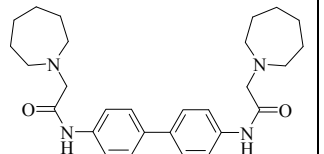
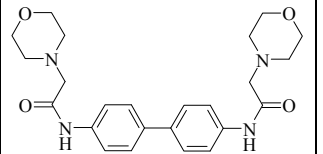
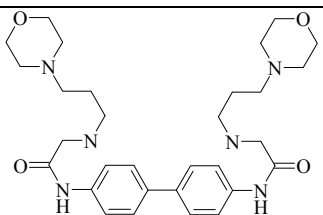


Рисунок 2.13 – Синтез N,N' -біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів)

Будова синтезованих N,N' -біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів) **2.84** – **2.88** представлена в таблиці 2.3.

Таблиця 2.3 – Будова синтезованих аміноацетамідів **2.81** – **2.90**

Номер	Структура	Номер	Структура	Номер	Структура
2.81		2.82		2.83	
2.84		2.85		2.86	
2.87		2.88		2.89	
2.90					

В мас-спектрах FAB всіх синтезованих N,N' -біфеніл-4,4'-диілбіс(аміноацетамідів) присутні піки, які відповідають протоніваним молекулярним іонам. Основним шляхом фрагментації є розрив зв'язку $RNH-CO$.

У спектрах ЯМР на ядрах 1H спостерігаються сигнали протонів як «ароматичної» так і «аліфатичної» частин молекул. Протони ароматичної частини молекули представлені двома дублетами при 7.55 – 7.58 м.д. та 7.66 – 7.68 м.д. Протони бензидинового фрагменту $Ar-NH-CO-$ проявляються як синглет при 9.14 м.д. Протони $-CO-CH_2-N-$ групи – як синглет при 3.10 – 3.12 м.д. Форма сигналів протонів термінальної аміногрупи відповідає структурам, що приписуються.

У спектрах ^{13}C ЯМР спостерігаються сигнали як ароматичної (119.69 – 169.92 м.д.), які представлені чотирима піками, так аліфатичної (26.69 – 67.07 м.д.) частин молекул. Кількість сигналів аліфатичної частини залежить від

структури амінного фрагменту.

2.4 Синтез похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил} фенолу

[4-(2-Аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен]аміни (2.93 – 2.97) синтезовані алкілуванням 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил} фенолу (2.91) дибромоетаном з наступним амінуванням отриманого дибромопохідного (2.92) низкою первинних та вторинних амінів (рис 2.14).

4{(E)-[(4-Гідроксифеніл)іміно]метил} фенол (2.91) отримували взаємодією еквімольних кількостей 4-гідроксибензальдегіду та 4-амінофенолу при інтенсивному перемішуванні протягом 4 годин при кімнатній температурі у воді [79]. [4-(2-Бромоетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-бромоетокси)феніл)метилен]амін (2.92) синтезували алкілуванням 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил} фенолу (2.91) в сухому ДМФА великим надлишком 1,2-дибромоетану в присутності безводного карбонату калію.

[4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен]аміни (2.93 – 2.97) отримані взаємодією [4-(2-бромоетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-бромоетокси)феніл)метилен]амінів з первинними або вторинними амінами при кімнатній температурі в диметилформаміді. Продукти реакції очищували за допомогою препаративної хроматографії.

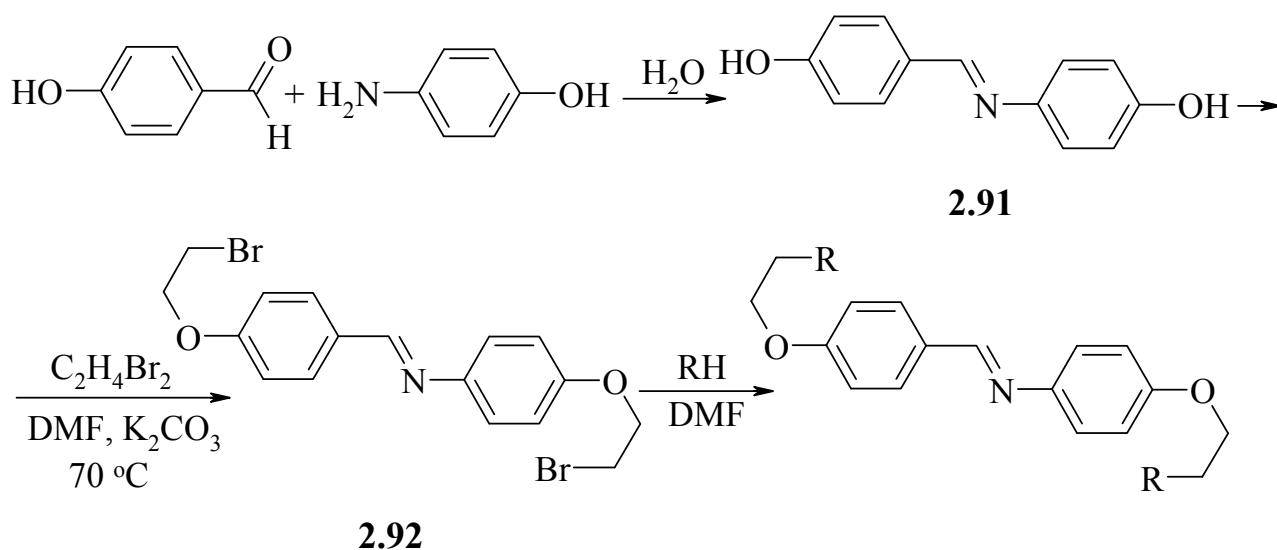


Рисунок 2.14 – Синтез [4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)метилен]амінів

Будова синтезованих [4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)-феніл]метилен}амінів **2.93** – **2.97** представлена в таблиці 2.4.

Таблиця 2.4 – Будова синтезованих [4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси) феніл]метилен}амінів **2.93** – **2.97**

Но-мер	Структура	Но-мер	Структура	Но-мер	Структура
2.93		2.94		2.95	
2.96		2.97			

В мас-спектрах FAB синтезованих сполук з іонізацією бомбардуванням прискореними атомами присутні піки, які відповідають протонованим молекулярним іонам.

Основним шляхом фрагментації є розрив зв'язку PhO–CH₂ з відщепленням аміноалкільного фрагменту, іон якого дає один з найінтенсивніших піків спектру.

У спектрах ЯМР на ядрах ¹H спостерігаються сигнали протонів як «ароматичної» так і «аліфатичної» частин молекул. Протон азометинової групи представлений синглетом при 8.34 – 8.35 м.д. Протони ароматичної частини – чотири дублетами при 7.78 – 7.80, 7.13 – 7.15, 6.86 – 6.88, 6.92 – 6.94 м.д. Протони Ar–O–CH₂– групи проявляються у вигляді двох триплетів при 4.09 – 4.12, 4.13 – 4.16 м.д. Сигнали протонів –N–CH₂– етоксильного фрагменту видно двома триплетами, які наклалися один на одного при 4.09 – 4.16 м.д. Протони кільця O–CH₂– представлені невирішеним триплетом при 3.70 м.д., N–CH₂– невирішеним триплетом при 2.57 м.д. (рис. 2.15).

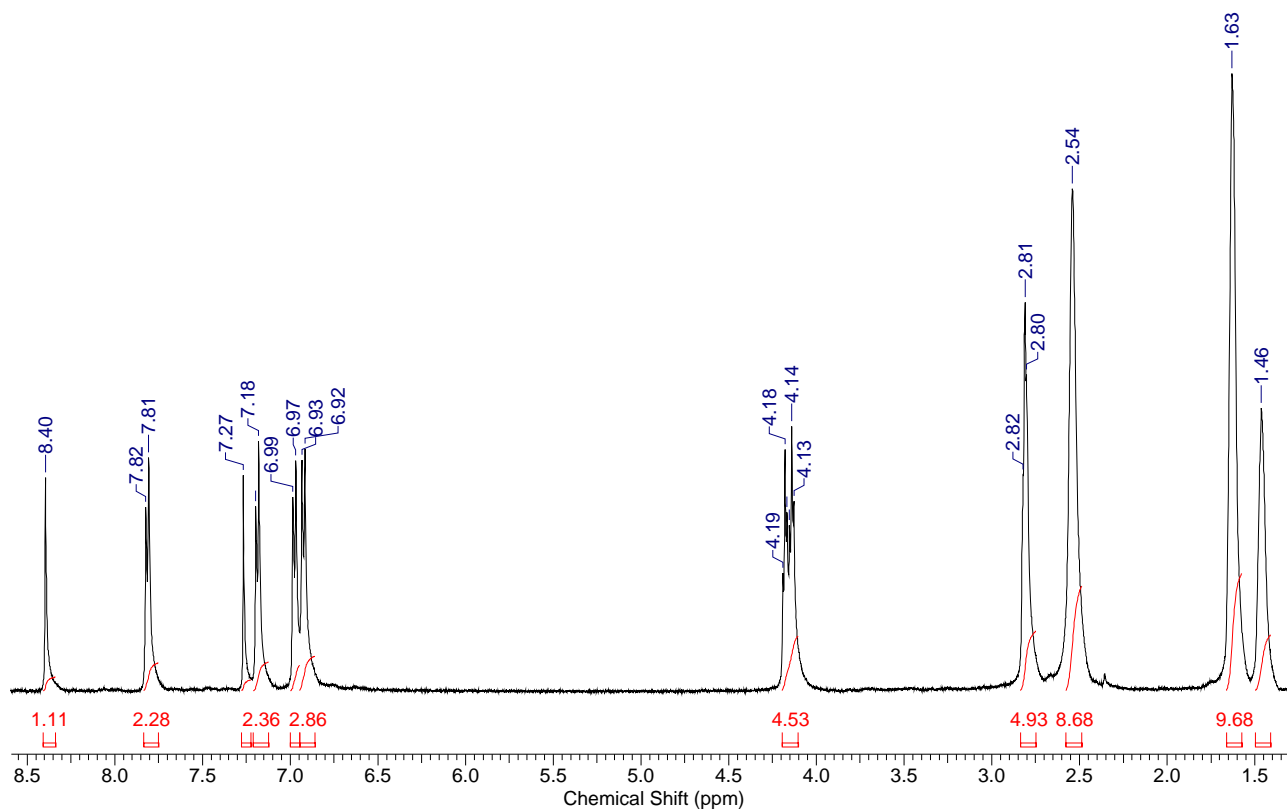


Рисунок 2.15 – Спектр ^1H ЯМР сполуки **2.95**, реєстрований в CDCl_3

У спектрах ^{13}C ЯМР спостерігаються сигнали як від ароматичної (114.90 – 161.37 м.д.), так від алифатичної (24.25 – 66.28 м.д.) частин молекул.

Для встановлення співвідношення ізомерів сполуки **2.91** було зареєстровано ^1H 2D ЯМР спектри COSY та NOESY.

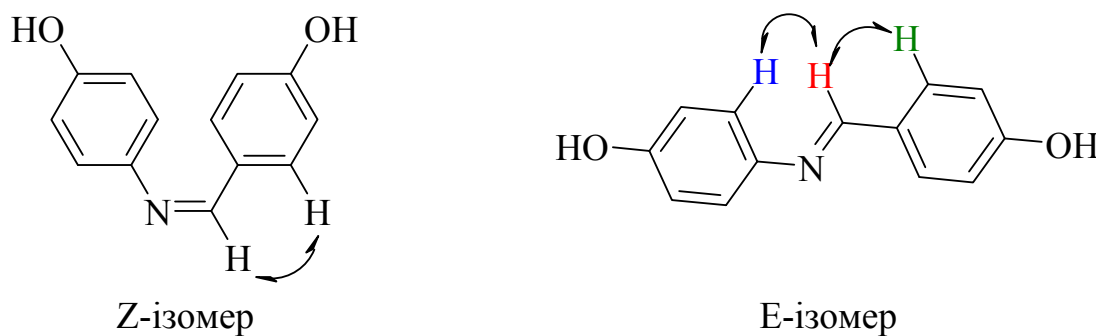


Рисунок 2.16 – Можливі ізомери сполуки **2.91**

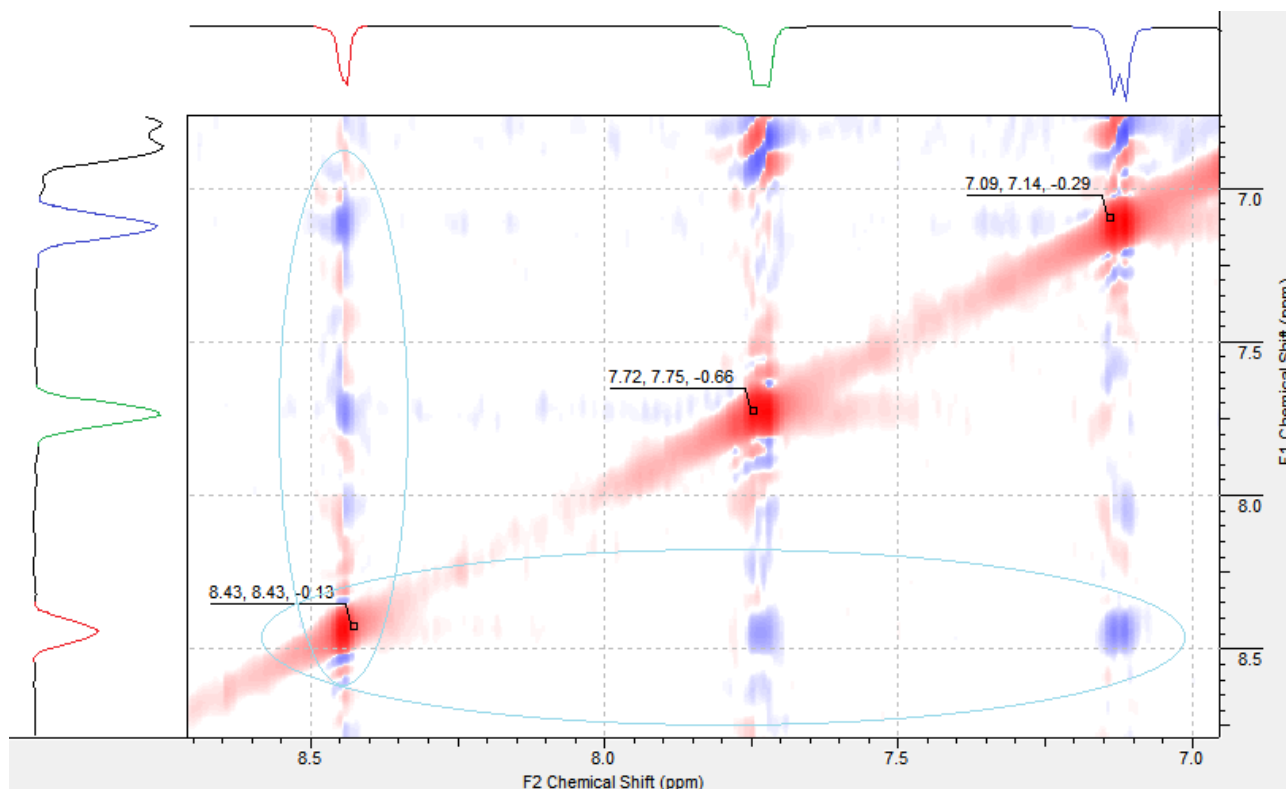


Рисунок 2.17 – Спектр ^1H ЯМР NOESY сполуки **2.91**, реєстрований в DMSO-d₆

Наявність в спектрі NOESY двох крос-пиків біля протону азометинової групи, які відповідають взаємодії даного протону з ароматичними протонами (8.4 м.д.) **2.91** говорить на користь E-ізомеру.

Взагалі синтезовано 63 нових 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів, 7 амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(оксі)]оцтової кислоти, 10 N,N'-біфеніл-4,4'-диіл-біс(аміноацетамідів) та 5 [4-(2-аміноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-аміноетокси)феніл)-метилен]}-амінів.

3 БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ СИНТЕЗОВАНИХ СПОЛУК

3.1 Гемолітичні властивості похідних біфенілу похідних біфенілу

Гемолітичні властивості синтезованих сполук досліджували описаним раніше методом [80], 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 (3.1), виходячи з оптичної густини при 400 ± 15 нм супернатанту з експериментальної пробірки та аналогічних значень для "0-контролю" та "100-контролю". Як "0-контроль" використовували ізотонічний буферний розчин, як "100-контроль" – 0.2 % розчин тритону X-100 в ізотонічному буферному розчині.

$$H_R = \frac{\bar{A}_j - \bar{A}_0}{\bar{A}_{100} - \bar{A}_0} \times 100\%. \quad (3.1)$$

Серед досліджених виявлені як сполуки, що викликають практично повний гемоліз в використаній концентрації, так і такі що практично не спричиняють гемоліз (рис. 3.1) [77], [81], [82].

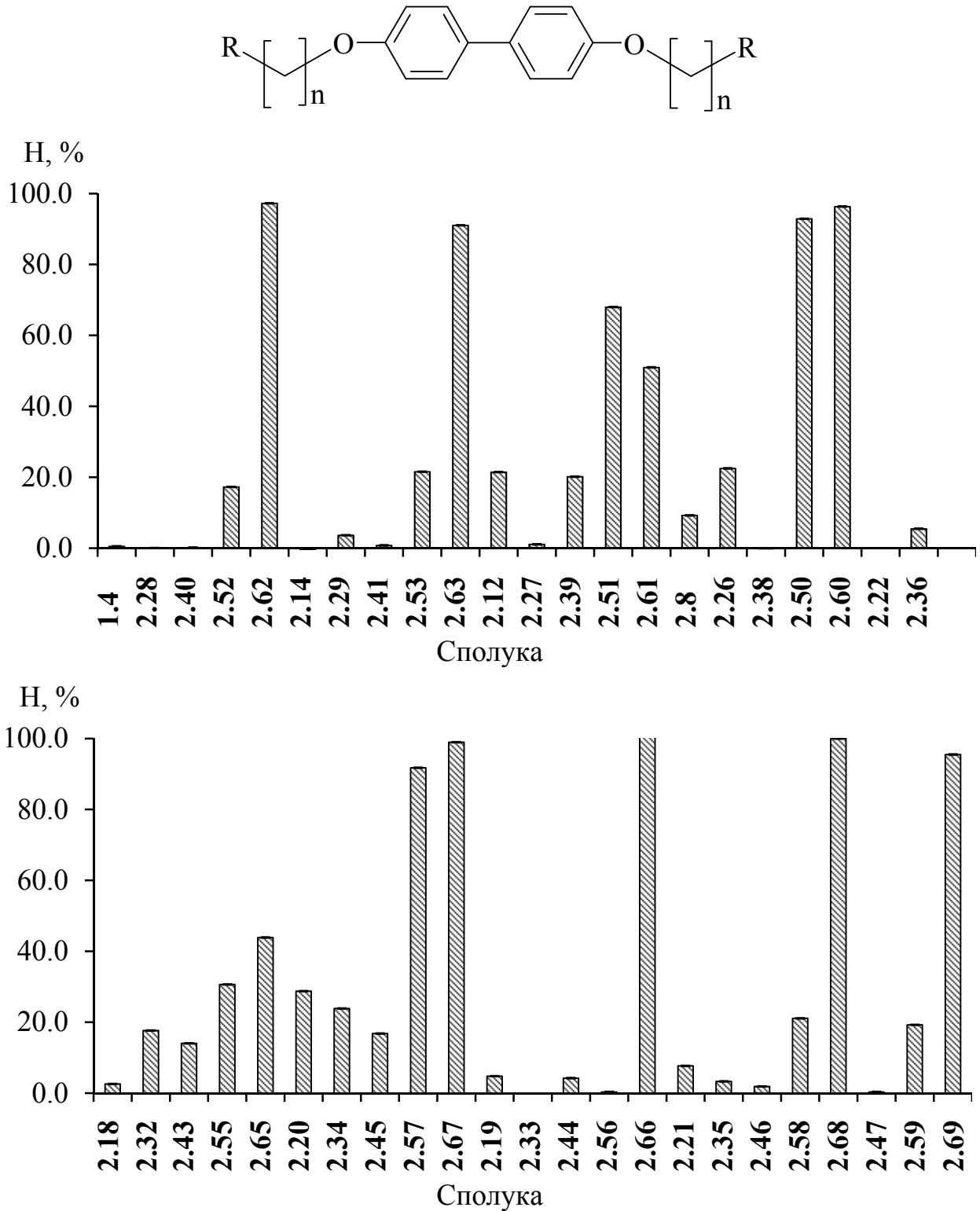


Рисунок 3.1 – Ступінь гемолізу еритроцитів (в % до контролю) синтезованих сполук, $C = 2\mu\text{M}$

Для встановлення значущості вкладів в гемолітичні властивості синтезованих сполук будови термінальної аміногрупи та довжини ланцюга був проведений двофакторний дисперсійний аналіз (ДДА) отриманих результатів. Ре-

зультати ДДА свідчать, що в дослідженій низці сполук будова термінальної аміногрупи є незначущою для гемолітичної активності на рівні $P < 0.05$ (внесок на рівні 8 %). Напроти, внесок довжини ланцюга є визначальним (73 %) і значущим на рівні $P < 1 \times 10^{-9}$ (рис. 3.2).

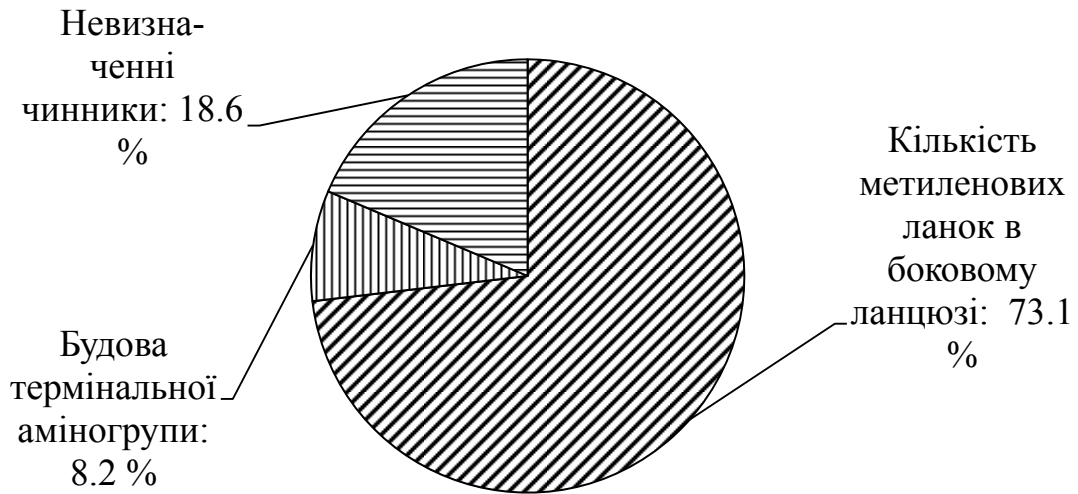


Рисунок 3.2 – Вплив окремих чинників на гемолітичну активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

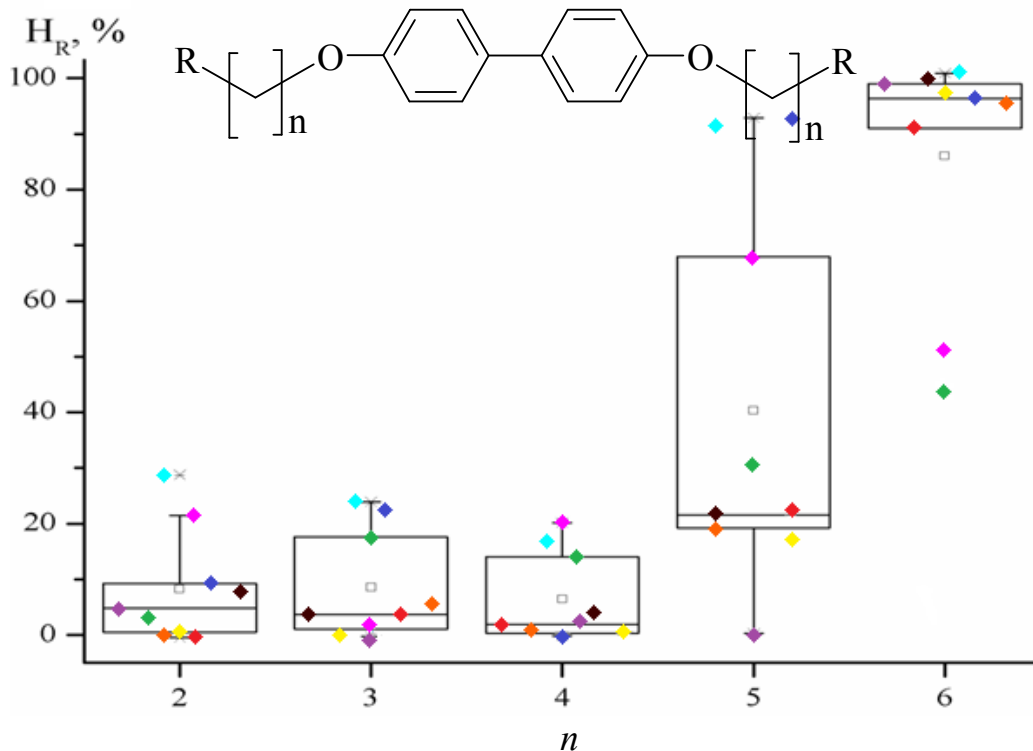
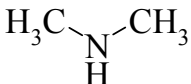

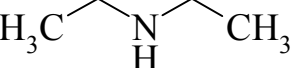

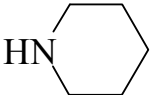

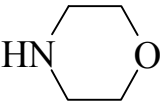

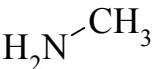

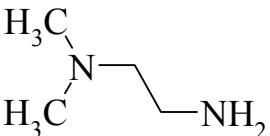

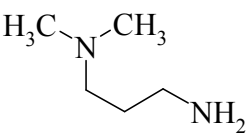

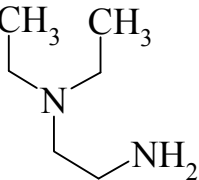

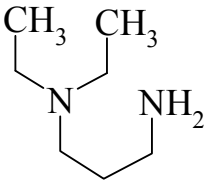



Рисунок 3.3 – Розподіл гемолітичної активності ($H_R, \%$) 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів за групами, утвореними за кількістю метиленових ланок в боковому ланцюзі (n)

З наведеної на рис. 3.3 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. В той же час, вплив будови термінальної аміногрупи є незначущим. Найвірогіднішим уявляється, що суттєву роль в прояві гемолітичних властивостей цими сполуками відіграє наявність позитивних зарядів термінальної аміногрупи на такій відстані один від іншого, яка близька до такої в сполуках з $n = 5$ та 6 .

Таблиця 3.1 – Будова амінного фрагменту

RH	Колір	RH	Колір	RH	Колір
					
					
					

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 **2.82**, найменшу – **2.89** (таб. 1 в додатках).

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 схожості на поверхнево-активні речовини, і, як наслідок, більшою здатністю до руйнування клітинної мембрани. В той же час, вплив будови термінальної аміногрупи

є незначущим.

3.2 Цитотоксичність 4,4'-дизаміщених біфенілів

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

Цитотоксичність 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфенілів вивчали на клітинах ПТП та НЕР-2. Відносно клітин ПТП більшість сполук характеризується значеннями LC_{50} в діапазоні 10 – 100 мкМ. Найменшу цитотоксичність проявили сполуки, які містять 4-заміщений піперидин як термінальну аміногрупу (**2.17**, **2.15**). Сполука **2.14**, що містить незаміщений піперидин, майже на один порядок більш цитотоксична за її заміщені аналоги. Сполуки з найбільшою цитотоксичністю (**2.16**, **2.21**) не мають загальних структурних ознак (**2.13** – ациклічний амін, **2.16** – азогетероцикл, **2.21** – діамін), або, принаймні, такі загальні відстежити не вдається. Більшість сполук за своєю цитотоксичністю близькі до тилорону (рис. 3.4) [76], [83].

Для семи сполук отримані дані щодо їх цитотоксичності на клітинах та НЕР-2 (табл. 3.2).

Цитотоксичність 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфенілів варіює в значному діапазоні концентрацій. Різниця токсичності маргінальних членів низки відносно клітин НЕР-2 сягає трьох порядків. Така розбіжність в токсичності структурно близьких сполук вказує на можливість впливу на певні рецептори та/або ферменти клітини.

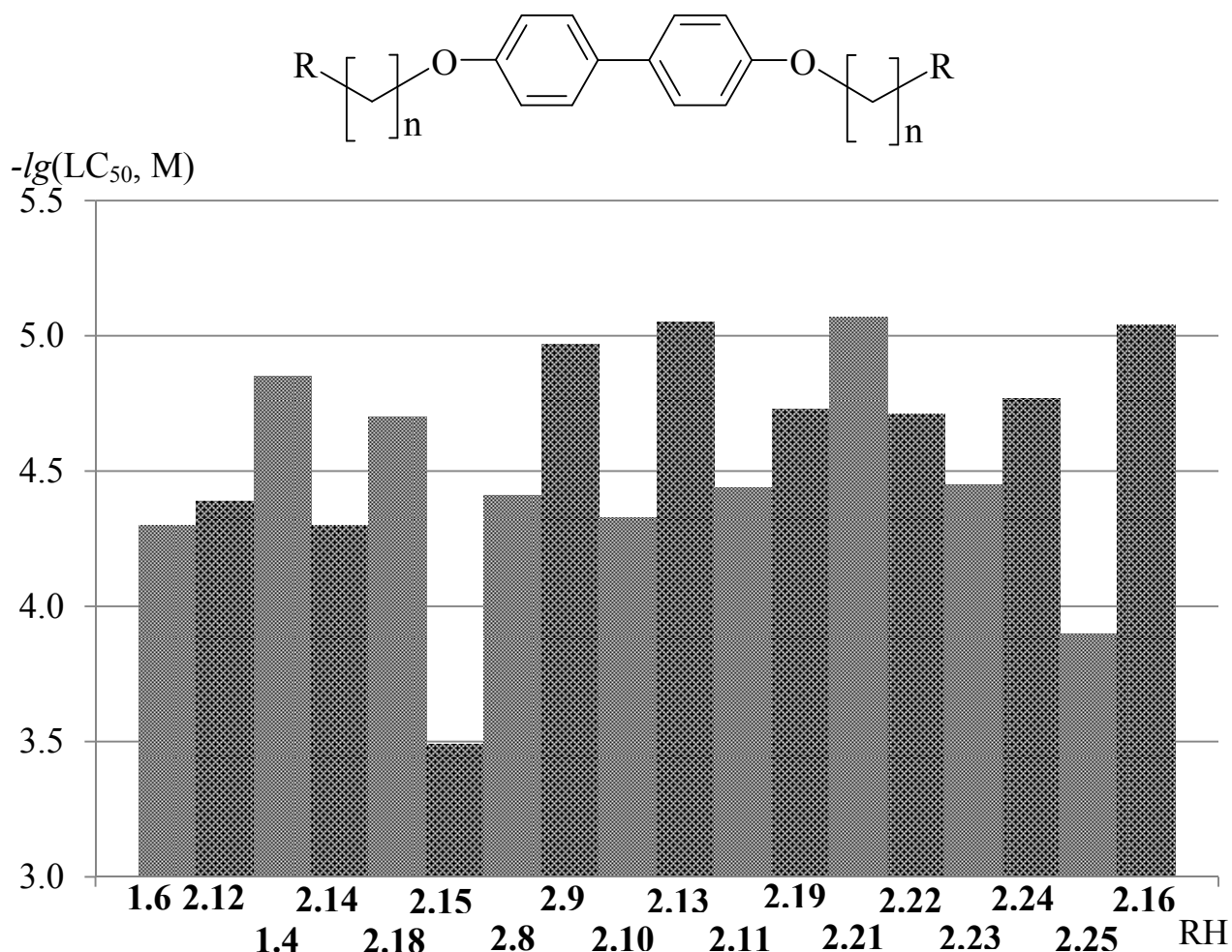


Рисунок 3.4 – Цитотоксичність 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфеніл відносно клітин ПТП

Таблиця 3.2 – Цитотоксичність 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфенілів відносно культур клітин НЕР-2

Сполука	$-\lg(LC_{50}, M)$	Сполука	$-\lg(LC_{50}, M)$
	НЕР-2		НЕР-2
2.8	4.16	2.22	4.59
2.9	4.24	2.23	4.30
2.12	4.10	2.24	4.38
2.18	1.34		

Цитотоксичність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів з різною довжиною вуглеводневого ланцюга оцінювали відносно клітин L929 (результати наведені

на рис. 3.5). Досліджувані сполуки займають широкий концентраційний діапазон – LC_{50} варіюється від 2 μ M (близько 1 мкг/см³) до 8 mM (близько 3.2 мг/см³).

Найменш токсичною є сполука **2.18**, яка містить морфолін як термінальну аміногрупу та етоксильний ланцюг як боковий. Найбільш токсичною є сполука **2.20**, яка є тетракислотною основою. Тетракислотні сполуки **2.20 – 2.22** ($n = 2$), **2.34 – 2.36** ($n = 3$), **2.45 – 2.47** ($n = 4$), **2.57 – 2.59** ($n = 5$), **2.67 – 2.69** ($n = 6$) не значущо (на рівні $P < 0.05$) є більш токсичними за двокислотні. Розглядаючи детально залежність токсичності від довжини ланцюга маємо відзначити, що практично во всіх випадках спостерігається одноманітне зростання токсичності для сполук з $n = 2 – 4$. При переході від $n = 4$ до $n = 5$ маємо більш різке збільшення токсичності. Токсичність сполук з $n = 5$ та $n = 6$ є практично однаковою. Таким чином маємо констатувати, що збільшення довжини ланцюга є ключовим фактором зростання токсичності. Найбільш перспективними для подальшого вивчення слід вважати 4,4'-біс-(2-аміноетокси)біфенілі як найменш токсичні.

Звертає на себе увагу, що 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.

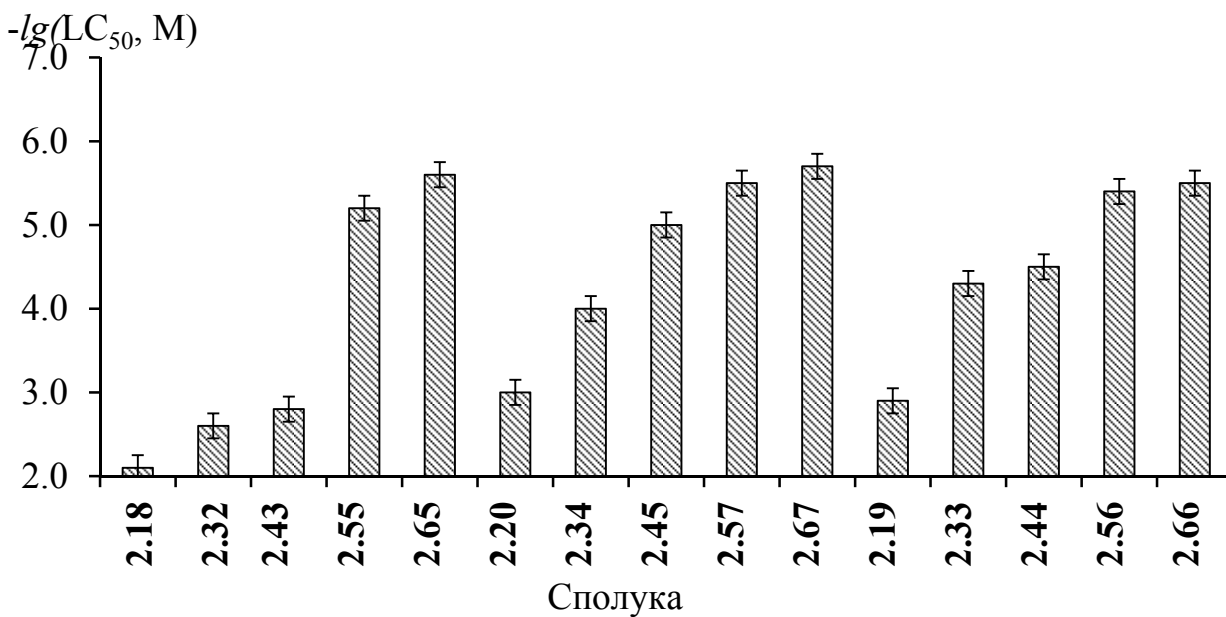
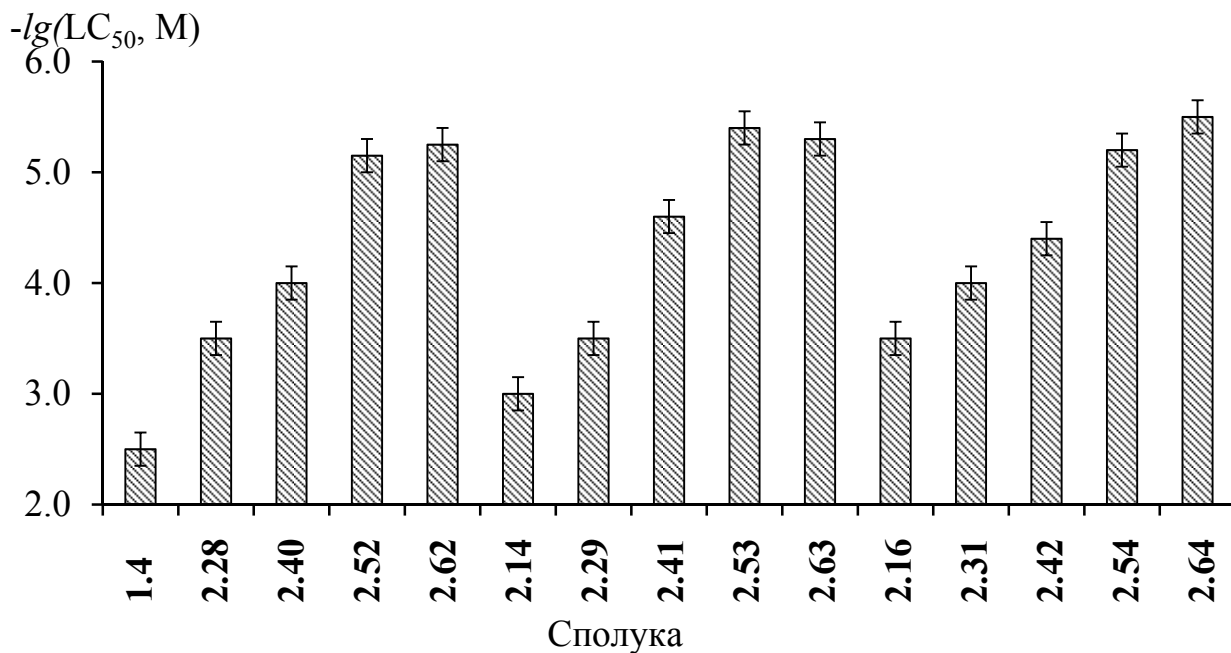
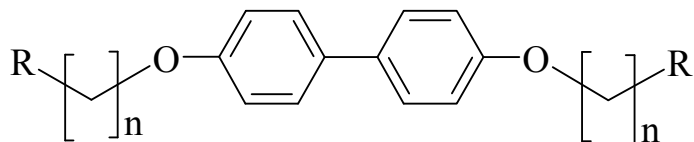


Рисунок 3.5 – Цитотоксичність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів на клітинах L929

Для оцінки значущості зазначених закономірностей нами проведений двофакторний дисперсійний аналіз усього масиву результатів дослідження цитотоксичності (3.5). Обидва фактори – будова термінальної аміногрупи та дов-

жина бокового ланцюга є значущими на високому рівні довірчої вірогідності ($P < 0.005$ та $P < 5 \times 10^{-10}$, відповідно), причому внесок довжини бокового ланцюга забезпечує майже 83 % зміни цитотоксичності, в той час, як будова термінальної аміногрупи – трохи більше 9 % (рис. 3.6).

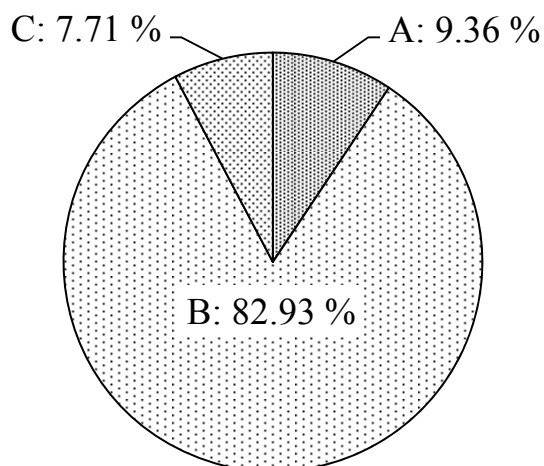


Рисунок 3.6 – Вплив окремих чинників на цитотоксичність сполук.

А – будова термінальної аміногрупи; В – довжина бокового ланцюга; С – невизначені чинники

Таким чином, з точки зору цитотоксичності слід вважати перспективнішими сполуки з коротшим ланцюгом.

3.3 Протівірусна активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Протівірусну активність 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів вивчали на перевивних лініях клітин L929 – клітин підшкірної сполучної тканини миші СЗН/Ап, сублінія «а», які характеризуються фібробластоподібною морфологією та відносяться до моношарових клітинних ліній, використовуючи вірус везикулярного стоматиту (ВВС), штам Індіана із Депозитарію Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України (інфекційний титр вірусу 10^6 ІД₅₀/см³).

Для культивування використовували середовище ЕМЕМ із 10 % ембріональної сироватки телят (ЕСТ). Процедура пересіву – зняття клітин – проводили 0.25 % розчином трипсину або розчином Версену, кратність розсіву складає 1:3 – 1:10, а оптимальна щільність – $1.0 - 3.0 \times 10^4$ клітин/см².

На відміну від цитотоксичності, протівірусна активність демонструє тен-

денцію до зниження практично на один порядок із подовженням ланцюга (рис. 3.7). Як у випадку цитотоксичності вплив термінальної аміногрупи на протівірусну активність сполук значно менше виражений. В той час, як довжина ланцюга дає основний внесок. Слід зазначити, що залежність протівірусного захисту ланцюга є менш вираженою, ніж така залежність для токсичності [83], [84].

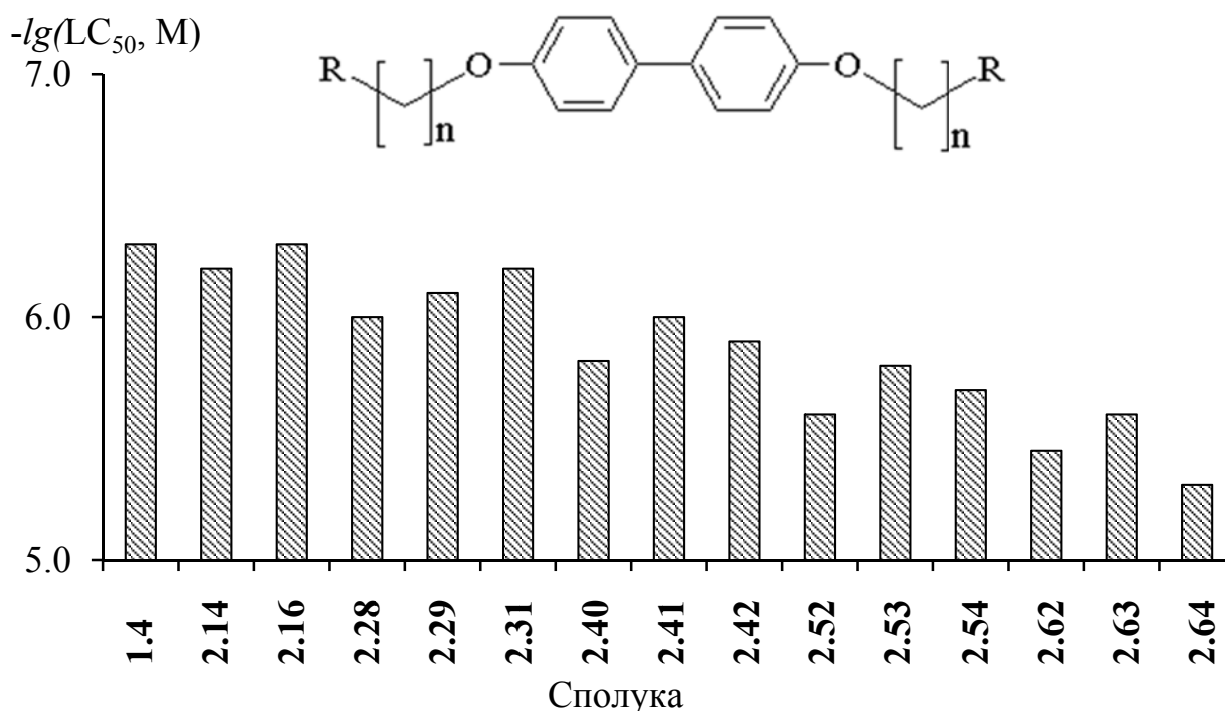


Рисунок 3.7 – Протівірусна активність 4,4'-біс-(ω-аміноалкокси)біфенілів

Терапевтичні індекси 4,4'-біс-(ω-аміноалкокси)біфенілів зменшуються зі збільшенням вуглеводневого ланцюга (табл. 3.3).

Таблиця 3.3 – Терапевтичні індекси похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу

Сполука	ТІ	Сполука	ТІ	Сполука	ТІ
2.12	1585	2.41	25	2.54	3
2.16	631	2.42	32	2.63	2
2.29	398	2.53	3	2.64	1
2.31	158				

Виявлена значуща залежність терапевтичного індексу від довжини вуглеводневого ланцюга для 4,4'-біс-(ω-аміноалкокси)біфенілів (рис. 3.8).

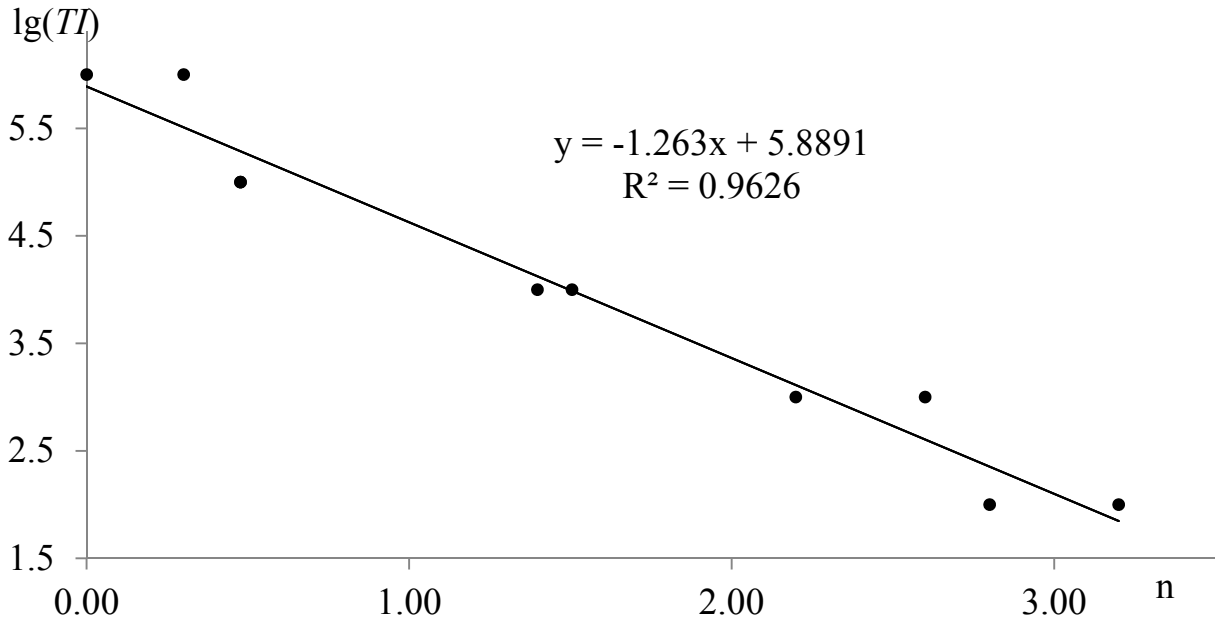


Рисунок 3.8 – Залежність $\lg(TI)$ від довжини вуглеводневого ланцюга (n)

Для оцінки значущості залежності протівірусної активності від будови сполук нами проведений двофакторний дисперсійний аналіз усього масиву результатів дослідження. У випадку протівірусної активності будова термінальної аміногрупи є незначущим чинником ($P = 0.287$), в той час як вплив довжини бокового ланцюга є значущим на високому рівні довірчої вірогідності ($P = 5.5 \times 10^{-5}$), причому внесок довжини бокового ланцюга забезпечує більше 92 % зміни активності, в той час, як будова термінальної аміногрупи – трохи більше 2 % (рис. 3.9).

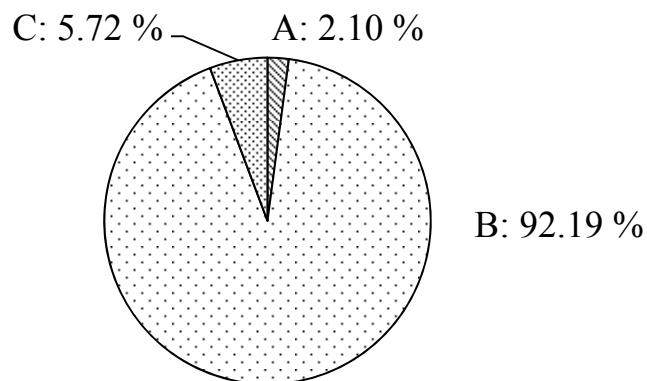


Рисунок 3.9 – Вплив окремих чинників на протівірусну активність сполук.

А – будова термінальної аміногрупи; В – довжина бокового ланцюга; С – невизначені чинники

3.4 Здатність до індукції інтерферону похідних біфенілу

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 тилорону або перевищує його (таб. 3.4). Звертає на себе увагу, що для двох сполук – **2.52** та **2.53** 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 3.4 – Титр ІФН, індукованого 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілами при різних концентраціях досліджуваних сполук, μM

Сполука	$-\log(C)=5.36$	$-\log(C)=5.06$	$-\log(C)=4.76$	$-\log(C)=4.46$
1	2	3	4	5
1.4	16	32	32	16
2.20	32	32	16	16
2.28	32	64	32	16
2.29	64	64	16	8
2.36	0	32	32	32
2.31	64	64	16	16
2.39	16	32	32	32
2.40	64	32	32	32
2.47	0	32	32	16
2.52	32	32	32	32
2.53	32	64	32	32
2.57	32	128	64	8
2.58	64	64	32	16
2.56	64	32	32	16

Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4	5
2.59	64	32	32	32
2.61	32	32	64	32
2.62	0	16	32	16
2.65	64	64	64	32
2.69	8	64	32	16
2.64	32	32	8	16
1.6	16	16	32	0

3.5 Протибактеріальна та фунгіцидна активності 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Наявність бактерицидного, бактериостатичного та фунгіцидного впливу 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів вивчалась методом Голда (метод секторальних посівів) [85] при трьох концентраціях досліджуваних речовин (5 мкг/мл, 2.5 мкг/мл, 1.25 мкг/мл) на даних штаммах мікроорганізмів: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (*P. aeruginosa*), *Proteus vulgaris* ATCC 6896 (*P. vulgaris*), *Staphylococcus aureus* ATCC 25925 (*S. aureus*), *Escherichia coli* UKM B-926 (*E. coli* UKM), *Escherichia coli* B-926 (*E. coli*), *Enterobacter aerogenes* 243521 (*E. aerogenes*), *Micrococcus luteus* ATCC 4698 (*M. luteus*), *Bacillus subtilis* UKM 13-500 (*B. subtilis*), *Candida albicans* (*C. albicans*), використовуючи три типи поживного середовища: АГВ (для визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків), МПА (для швидкого накопичення біомаси) та пептонну воду (для визначення характеристики росту бактерій).

В експерименті з визначення протимікробної та фунгіцидної дії у пробірках з рідким середовищем сполука **1.4** проявила протимікробну на фунгіцидну дію проти *S. aureus*, *E. coli*, *E. aerogenes*, *B. subtilis* та *C. albicans*, **2.28** – активність проти *S. aureus*, *E. coli* – *C. albicans*, аміксин - проти *P. vulgaris* – *B. subtilis*. Сполуки **2.14**, **2.18**, **2.32**, **2.53**, **2.65** не проявили активності у даному експерименті (табл. 3.5).

Таблиця 3.5 – Рост мікроорганізмів у пробірках з рідким середовищем*

Сполука	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> УКМ	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
1.4	+	+/-	-	+/-	-	-	+/-	-	-
2.14	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.18	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.28	+	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-
2.29	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+
2.32	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.52	+	+/-	+/-	+	+/-	+	+	+	+
2.53	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.65	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1.6	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-

*+; -; +/- - наявність або відсутність росту мікроорганізмів

Для кількісного оцінювання впливу досліджуваних речовин був проведений посів за Голдом на середовище МПА та порівняно кількість умовних одиниць (КУО) у чашках Петрі з контрольними пробами (Контроль 1 використовувався для визначення бактеріцидної дії, Контроль 2 – бактеріостатичної) із чашками Петрі з розчином суспензій досліджуваних речовин та мікроорганізмів. Сполука **1.4** проявила бактеріостатичну дію проти *P. aeruginosa* та *P. vulgaris*, бактеріцидну – проти *S. aureus* – *M. luteus*, *C. albicans*; **2.14** – бактеріостатичну дію проти *E. coli* УКМ, *E. aerogenes*, бактеріцидну – проти *P. aeruginosa* – *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*; **2.18** проявила бактеріостатичну дію проти *E. coli*, *E. aerogenes*, бактеріцидну – проти *P. vulgaris* та *E. coli* УКМ; **2.28** – бактеріостатичну дію проти *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *B. subtilis*, бактеріцидну – проти *P. vulgaris* – *M. luteus*, *C. albicans*; **2.29** – бактеріостатичну дію проти *P. aeruginosa*, *E. coli* УКМ, *E. aerogenes*, *C. albicans*, бактеріцидну проти *P. vulgaris*, *S. aureus*, *E. coli*; **2.32** – бактеріостатичну проти *E. coli* УКМ та *E. aerogenes*, бактеріцидну проти *S. aureus*; **2.52** проявила бактеріостатичну дію проти *E. aerogenes* та *B. subtilis*, бактеріцидну – проти *P. vulgaris* – *E. coli*, *C. albicans*; **2.53** – бактеріос-

татичну дію проти *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *E. coli* УКМ, *E. aerogenes*, бактерицидну – проти *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*; **2.65** – бактериостатичну дію проти *S. aureus* – *E. coli*, бактерицидну проти *P. vulgaris*, аміксин проявил бактериостатичну дію проти *P. aeruginosa* та бактерицидну проти *P. vulgaris* – *C. albicans* (Табл. 3.6).

Таблиця 3.6 – Вплив досліджуваних речовин на КУО мікроорганізмів

Сполука	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i> УКМ	<i>E. coli</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>M. luteus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>C. albicans</i>
Конт. 1	10^6	10^6	10^7	$5 \cdot 10^7$	10^6	$5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^4$		
Конт. 2	$5 \cdot 10^8$	10^7	10^7	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^6$	10^6	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6$
1.4	10^6	10^7	$5 \cdot 10^5$	0	0	0	$<10^3$	10^8	0
2.14	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	10^6	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	10^6	10^8	10^8	$5 \cdot 10^4$
2.18	10^9	10^3	$5 \cdot 10^8$	10^5	10^6	$5 \cdot 10^7$	10^7	10^8	10^9
2.28	10^7	10^7	0	$<10^3$	10^4	10^3	$<10^3$	$5 \cdot 10^6$	0
2.29	$5 \cdot 10^7$	10^5	10^5	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^4$	10^6	$5 \cdot 10^7$	10^8	$5 \cdot 10^6$
2.32	$5 \cdot 10^9$	10^3	10^8	$5 \cdot 10^7$	10^6	10^8	10^8	$5 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^7$
2.52	$5 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^5$	$<10^3$	0	$5 \cdot 10^4$	10^6	10^8	$5 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^4$
2.53	10^7	10^7	10^5	10^6	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^6$	10^8	10^8	$<10^3$
2.65	$5 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^4$	10^7	10^7	10^6	10^8	$5 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^7$
1.6	$5 \cdot 10^6$	0	10^3	0	0	0	0	10^3	0

3.6 Протизапальна активність похідних біфенілу

Запалення є невід'ємною частиною неспецифічної імунної відповіді на появу в організмі патогенів. Протизапальну активність досліджували як описано в [86] по здатності до інгібування NF-κB. Результати досліджень **1.4**, **2.14** – **2.69** наведені в таблиці 2 (Додаток 1).

Звертає на себе увагу, що більшість сполук із лінкерним ланцюгом в дві метиленові ланки не проявляють ані токсичність, ані здатність інгібувати NF-κB. З ростом довжини лінкеру обидві властивості стають виразнішими, причому найбільше

проявляються при $n = 4$, незначно зменшуючись з подальшим подовженням лінкеру.

Цитотоксичність на модифікованих клітинах THP-1Blue, як і в випадку цитотоксичністю на клітинах L929, має тенденцію до зростання зі збільшенням вуглеводневого ланцюга.

Наявність кореляції між цитотоксичністю та здатністю до інгібування NF- κ B говорить на користь інгібування за рахунок цитотоксичності (див. рис. 3.10).

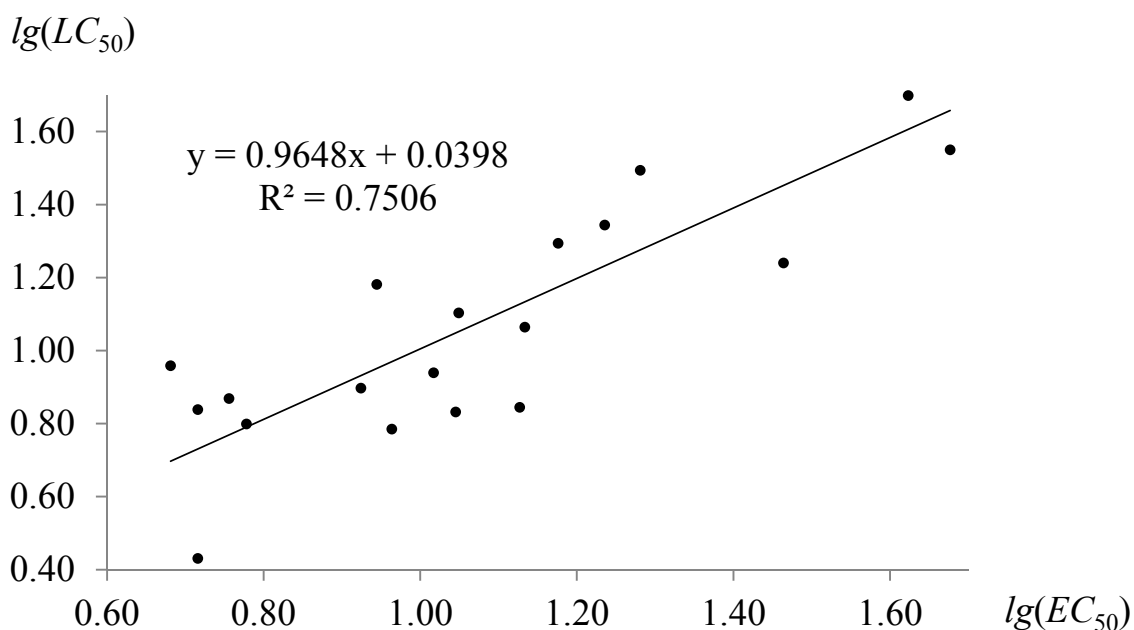


Рисунок 3.10 – Кореляція між цитотоксичністю та інгібуванням NF- κ B

Таким чином, можемо констатувати, що незважаючи на близьку до флуоренонів будову, протівірусну активність та здатність індукувати інтерферон, біфеніли суттєво відрізняються від перших за своїм впливом на запальну ланку неспецифічної імунної дії та потребують подальшого порівняльного дослідження.

3.7 Взаємодія з ДНК 4,4'-заміщених біфенілів

Серед усіх відомих типів зворотних взаємодій низькомолекулярних сполук з ДНК (зовнішня електростатична [87], зовнішня електростатична з утворенням асоціатів лігандів [88], [89], взаємодія в малому жолобі ДНК [90], [91] та інтеркаляція [92]) саме остання має водночас найбільші наслідки з точки зо-

ру конформаційних змін полінуклеотиду [93], [94] та в найбільшому ступені відповідає за численні біологічні наслідки. З точки зору будови та властивостей комплексів, що утворюються, інтеркаляція відрізняється від інших типів взаємодії унікальним сполученням розташування ліганду в тісній гідрофобній порожнині (формується внаслідок розкручування подвійної спіралі) між двома сусідніми парами основ (відстань між “верхом” однієї та “низом” іншої пари складає 3.4 \AA – практично дорівнює “товщині” планарної ароматичної молекули) із значним зниженням ефективності світопоглинання (природа останнього досі є предметом дискусії, хоча найбільш “проста” модель – “затінювання” хромофору гостя хромофорами молекули хазяїна [95] – схоже, найкраще узгоджена із більшістю експериментальних даних) та підсиленням інтенсивності світловипромінювання лігандами, здатними до флуоресценції. Така особливість інтеркаляції з структурної точки зору ставить достатньо жорсткі вимоги, щодо будови ліганду – плоска молекула, що не має в безпосередній близькості до планарної частини об'ємних замісників.

З іншого боку, розворот пар основ, утворюючих місце зв'язування, однієї відносно другої, достатньо велика відстань між обома цукро-фосфатними ланцюгами ДНК (близько 11 \AA) та можливість розташування бокових фрагментів інтеркалятора (здебільшого аміноалкільної природи) як у малому, так і в великому жолобах ДНК, зумовлює відносну невибагливість хазяїна до кута між більшою віссю пар основ та більшою віссю інтеркалятора. Інакше кажучи, особливості місця зв'язування інтеркалятора дозволяють йому в достатньо широкі межі підлашуватися під місце зв'язування для найвигіднішого розташування. В крайніх випадках вдаються до так званої “часткової” інтеркаляції [96] – утворення комплексу при якому лише частина планарної системи “занурюється” в простір між парами основ, в той час як інша залишається поза спіраллю [97], але ця точка зору (така модель) не є загальноприйнятною. Ми схильні вважати, що для тієї ж самої сполуки між станами “інтеркалятор” та “неінтеркалятор” існує множина більш менш стабільних “проміжних” форм, виявити

межу між якими достатньо важко з огляду на близькість їх структур та фізико-хімічних властивостей (що часто-густо спостерігається в наукових працях, присвячених інтеркаляції, коли автори “бачать” та згадують про лише одну форму комплексу).

Особливістю інтеркаляції є те, що розкручування ДНК для формування місця зв'язування призводить, крім іншого і до збільшення її контурної довжини, характеристичної в'язкості та, як наслідок, в'язкості розчину постійної концентрації при додаванні інтеркалятора.

Таким чином, вочевидь, із наведеного випливає три основні способи дослідження інтеркаляції плоских молекул у ДНК та дискримінація лігандів за типами взаємодій:

- дослідження гіпохромізму із батохромним зсувом смуги поглинання ліганду в присутності ДНК;
- якісне дослідження впливу змінних концентрацій ліганду на в'язкість (а при можливості, ще й кількісне – на характеристичну в'язкість) розчинів ДНК постійної концентрації;
- дослідження здатності ліганду конкурувати з відомими інтеркаляторами (тип взаємодії яких з ДНК доведено незалежними методами та цілком надійно) за місця зв'язування.

Ці три методи (сукупно з дослідженням впливу речовини на електрофоретичну рухливість суперспіралізованих плазмід) в їх сукупності лежать в основі протоколу для встановлення типу взаємодії досліджуваної речовини з ДНК [98].

3.7.1 Перевірка здатності похідних біфенілу до інтеркаляції у ДНК

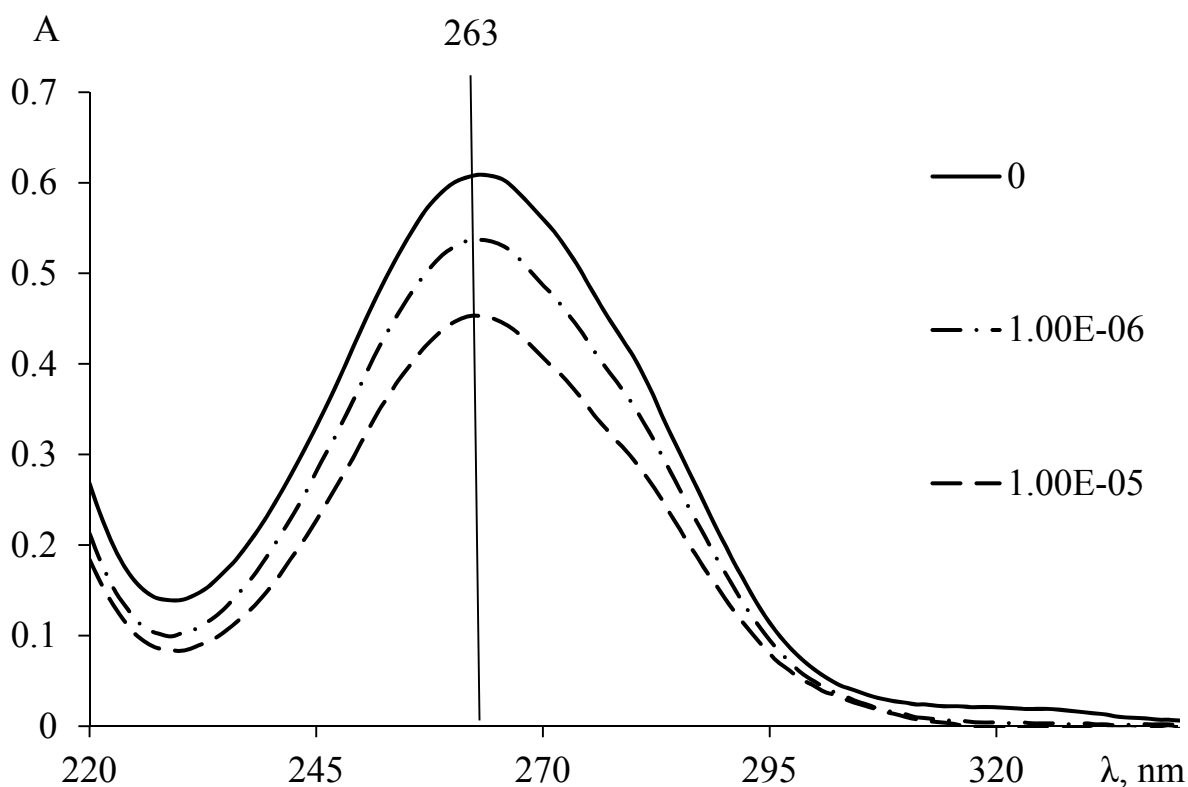
Перевірку здатності синтезованих сполук до інтеркаляції проводили згідно з міркуваннями, викладеними вище, методом віскозиметрії, спектрофотометрії та конкуренції з етидієм бромідом.

Жодна з досліджених сполук не приводила до збільшення питомої в'язкості розчину ДНК при надлишках сполуки 2.5:1, на відміну від похідних 2,7-дигідроксифлуоренону (табл. 3.7).

Таблиця 3.7 – Питома в'язкість розчинів сполук

Сполука	η	σ	Сполука	η	σ
ДНК	0.156	0.002			
1.6	0.213	0.003	1.4	0.158	0.003
3.10	0.216	0.003	2.40	0.155	0.002
3.18	0.168	0.001	2.62	0.122	0.003

Для перевірки наявності ознак інтеркаляції нами зареєстровані електронні спектри розчинів 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів. На рисунку 3.11 наведено спектр сполуки **1.4**, ДНК та їх суміші. Як видно, в спектрі суміші ДНК із сполукою **1.4** 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 тилорона (**1.6**) (рис. 3.12).

Рисунок 3.11– Електронні спектри в УФ-діапазоні сполуки **1.4**

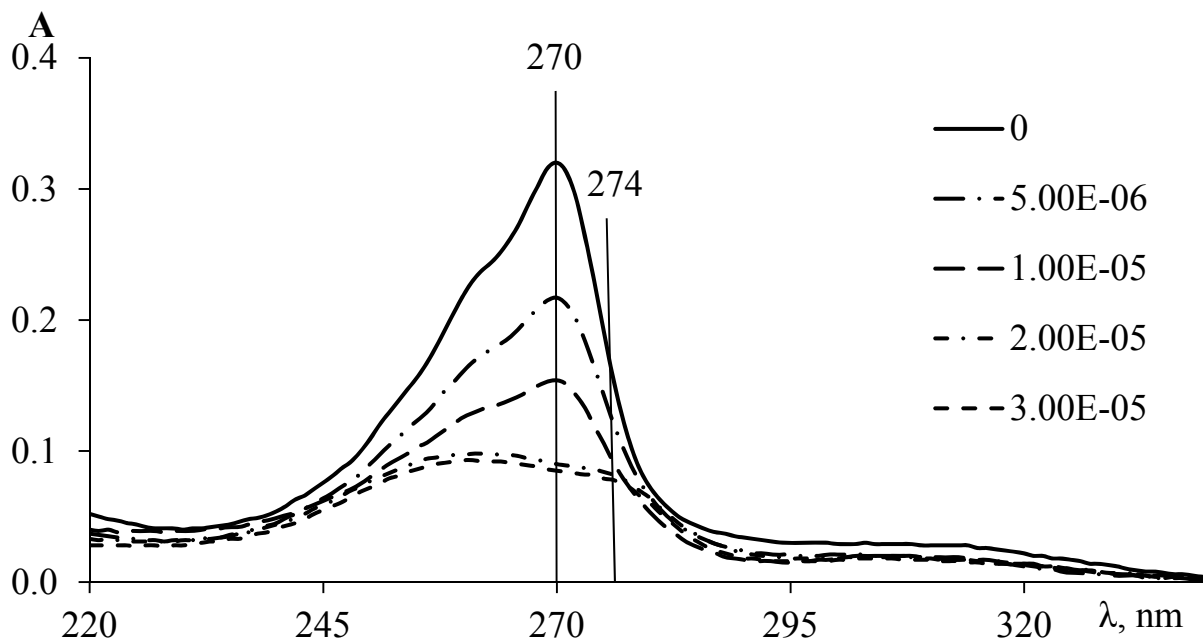


Рисунок 3.12– Електронні спектри в УФ-діапазоні сполуки **1.6**

A – оптична густина

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.

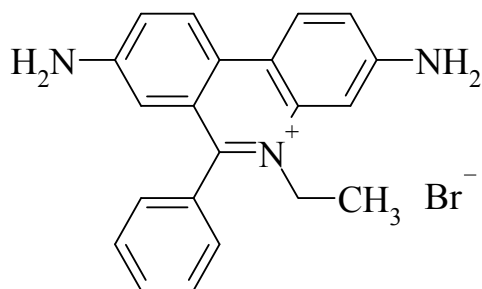
3.7.2 Афінітет об'єктів дослідження до ДНК

Афінітет синтезованих сполук до ДНК досліджували методом конкуренції з ЕБ в його мікро-варіанті – методом титрування в планшетах.

Підготований планшет із внесеною в лунки стандартною серією розчинів (у декількох повторях або – із декількома різними серіями) поміщають на транслюмінатор, де він попадає під дію ультрафіолетового проміння ($\lambda \approx 360\text{nm}$), а результати експерименту реєструються.

3.7.2.1 Дослідження афінітету похідних біфенілу

Всі дослідженні сполуки конкурували з **3.1** за місця зв'язування на ДНК [99]–[101], що призводило до сигмоїдального зменшення інтенсивності флуоресценції інтеркальованої форми **3.1** (рис. 3.14).



3.1

Рисунок 3.13 – Будова стандартного інтеркалятора етидію броміду

Суттєвим для виявлення афінитету є значення концентрації ліганду, яке приводить до 50 %-го зниження інтенсивності флуоресценції етидію броміду. Саме з цього значення і обраховується за [102] константа асоціації сполуки до ДНК в експериментах з конкуренції.

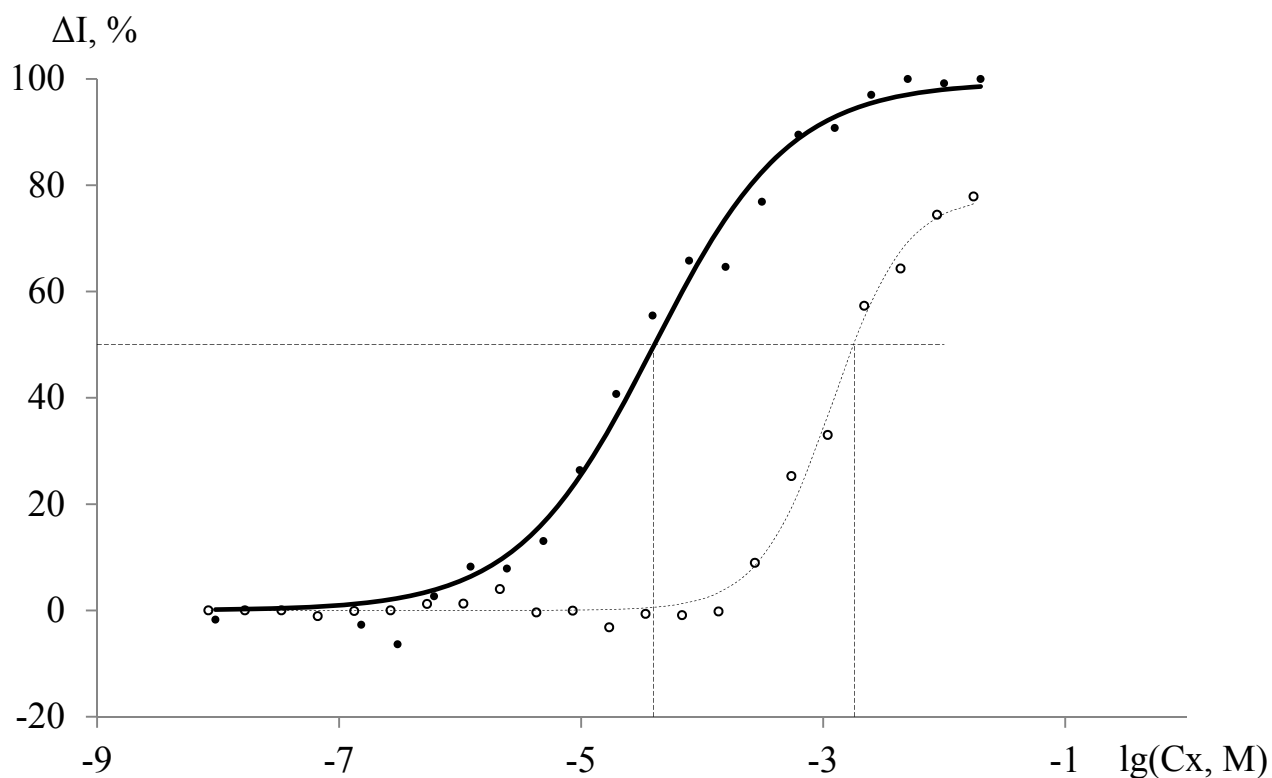


Рисунок 3.14 – Криві витиснення ЕБ з його комплексу з ДНК **1.4** (●) та сполукою **1.4** (○). Штриховою лінією показаний рівень 50 % тушіння флуоресценції інтеркальованого ЕБ та значення $\lg C_{50}$.

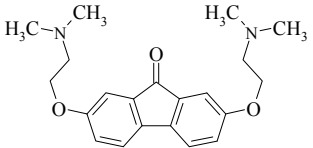
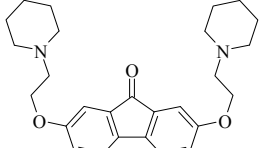
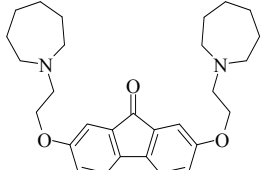
Таблиця 3.8 – Значення величин $\lg K$ та $\lg C_{50}$ для 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Сполука	$-\lg K$	$\lg C_{50}$	Сполука	$\lg K$	$\lg C_{50}$
1.4	4.74	-2.63	2.43	5.12	-3.02
2.12	4.95	-2.95	2.51	5.59	-3.49
2.14	4.82	-2.72	2.52	5.51	-3.41
2.16	4.78	-2.68	2.53	5.71	-3.61
2.18	4.94	-2.84	2.54	5.62	-3.52
2.27	4.85	-2.75	2.55	5.05	-2.95
2.28	5.07	-2.97	2.61	5.31	-3.21
2.29	5.47	-3.37	2.62	5.93	-3.83
2.31	5.22	-3.12	2.63	5.57	-3.47
2.32	5.03	-2.93	2.64	5.36	-3.26

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, що пов'язано, насамперед, зі збільшенням основності в цій низці сполук, далі вклад великої кількості ступенів свободи стає більш вагомим, та константи знов зменшуються.

Значний інтерес становить порівняльний аналіз афінітету похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу з аналогічними похідними 2,7-дигідроксифлуоренону [103], [104], структура яких наведена у таблиці 3.9.

Таблиця 3.9 – Будова використаних 2,7-біс-(ω -аміноалкокси)флуоренонів 3.2 – 3.20

Номер	Структура	Номер	Структура	Номер	Структура
1	2	3	4	5	6
3.2		3.3		3.4	

Продовження таблиці 3.9

1	2	3	4	5	6
3.5		3.6		3.7	
3.8		3.9		3.10	
3.11		3.12		3.13	
3.14		3.15		3.16	
3.17		3.18		3.19	
3.20					

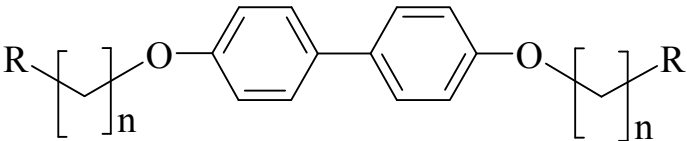
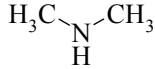
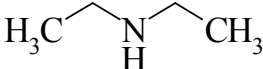
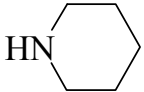
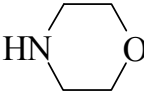
Із застосуванням простого ортогонального трифакторного дисперсійного аналізу встановлено, що всі три незалежні структурні фактори (Фактор А – будова термінальної аміногрупи, Фактор В – довжина поліметиленового фрагменту та Фактор С – тип поліциклічної системи) значущо впливають на афінитет. Очікувано,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

Внесок довжини поліметиленового ланцюга приблизно в 30 разів менший, роль термінальної аміногрупи складає 0.64 %.

Таблиця 3.10 – Афінітет біфенілів та флуоренонів до ДНК

R	Біфеніли					Флуоренони				
	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6
3.21	5.00	5.26	5.63	5.59	5.49	7.26	7.68	7.69	7.78	7.68
3.22	4.74	5.07	5.23	5.51	5.93	6.89	7.23	7.50	7.58	7.78
3.23	4.82	5.47	5.81	5.71	5.57	7.44	7.74	7.77	7.87	7.80
3.24	5.11	5.45	5.47	5.59	5.26	7.33	7.61	7.76	7.73	7.61

Таблиця 3.11 – Будова амінного фрагменту RH

							
Номер	RH	Номер	RH	Номер	RH	Номер	RH
3.21		3.22		3.23		3.24	

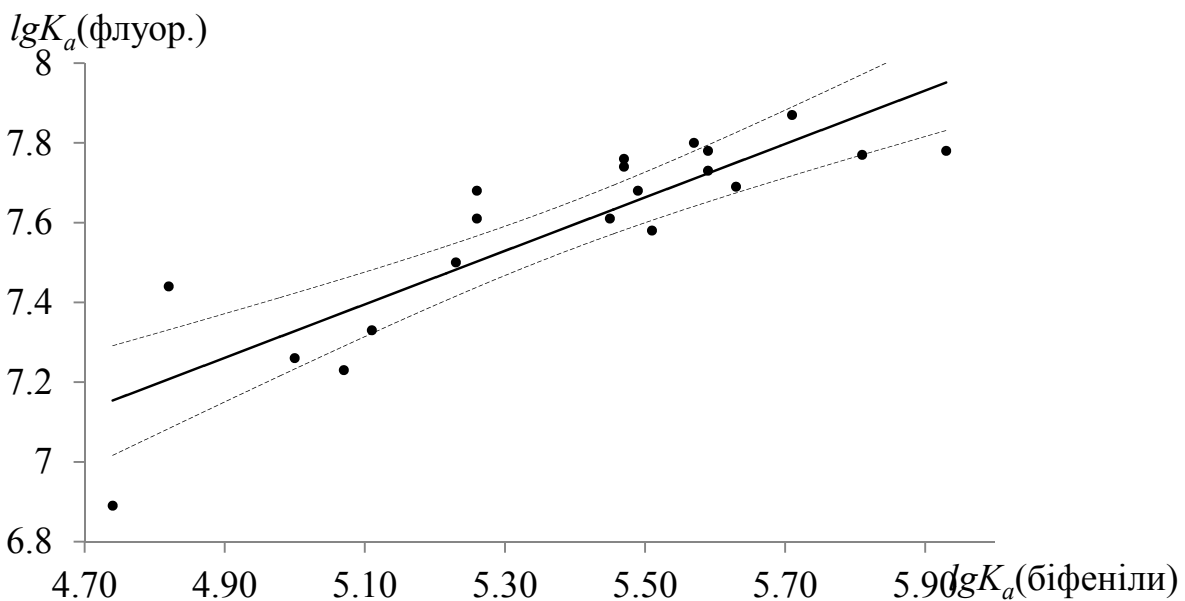


Рисунок 3.15 – Взаємозв'язок між експериментальними значеннями lgK_a біфенілів та флуоренонів (апроксимація функцією $Y = a + bx$)

Зважаючи на значущий лінійний зв'язок між логарифмами констант асоціації з ДНК біфенілів і флуоренонів, ми застосували для аналізу адитивну модель, розроблену раніше [105], в межах якої афінитет сполуки до ДНК є сумою інкрементів кожного з структурних фрагментів (3.2).

$$\lg K_a = \sum_{j=1}^{j=N} I_j, \quad (3.2)$$

де:

$\lg K_a$ – афінитет сполуки до ДНК;

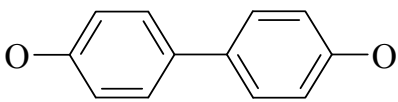
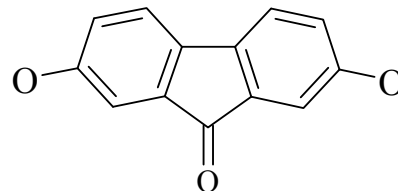

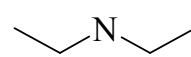
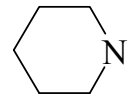
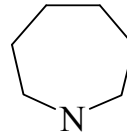
N – загальна кількість певних типів структурних фрагментів;

I_j – інкремент фрагменту певного типу.

Розрахунок значень інкрементів проводили чисельною процедурою "Поиск решения" в програмі Excel, як критерій збіжності розрахованих за 3.2 логарифмів констант з їх експериментально отриманими значеннями використовували суму квадратів відхилень розрахункових і експериментальних значень. Розрахунок проводили в чотири етапи оптимізації: перші три оптимізували значення інкрементів кожного з факторів в порядку зменшення їх внеску в константу, на останньому – всі інкременти разом. Розраховані інкременти (табл. 3.12) дали розрахункові значення афінитету, які добре узгоджуються із експериментально визначеними (рис. 3.16, табл. 3.13). Лінійна апроксимація даних за рівнянням 3.3 призвела до статистично незначущої величини a ($t = 0.019 < t_{\text{крит}}$), вільний член був виключений та апроксимацію вели без його врахування.

$$Y = a + b \times \quad (3.3)$$

Таблиця 3.12 – Значення розрахованих інкрементів структурних "фрагментів"

Структурний "фрагмент"	Інкремент	Структурний "фрагмент"	Інкремент
	3.3855		5.5865
$n = 2$	0.2939	$n = 3$	0.4764
$n = 4$	0.5607	$n = 5$	0.5920
$n = 6$	0.5770		0.5000
	0.4300		0.5065
	0.5570		

Таким чином, незважаючи на вочевидь різні механізми взаємодії біфенілів та флуоренонів із ДНК, обидва класи сполук подібні один до одного з точки зору стабільності комплексів, що утворюються. Найсуттєвіша різниця між ними полягає лише в інкрементах поліциклічних фрагментів і має бути віднесеною до стекінг-взаємодії, характерної для флуоренонів і нехарактерної для біфенілів.

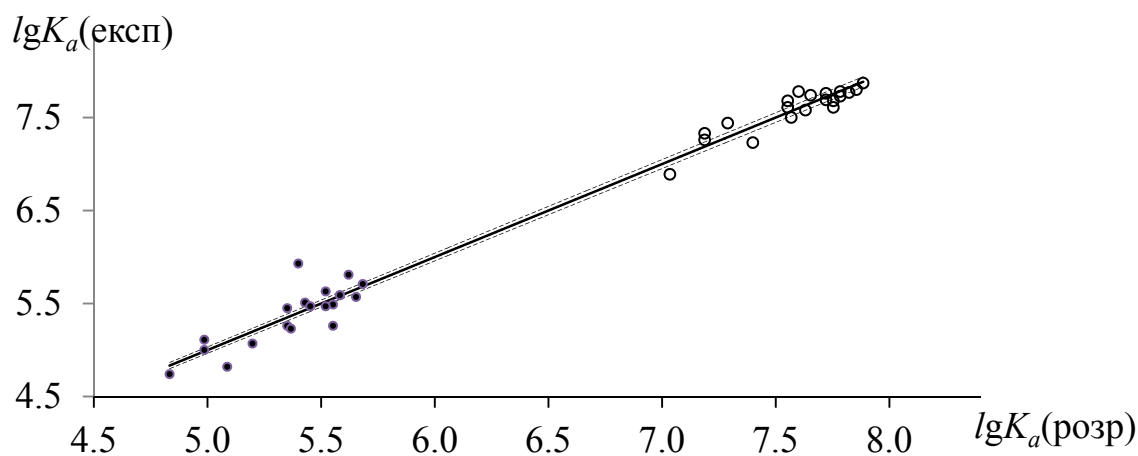
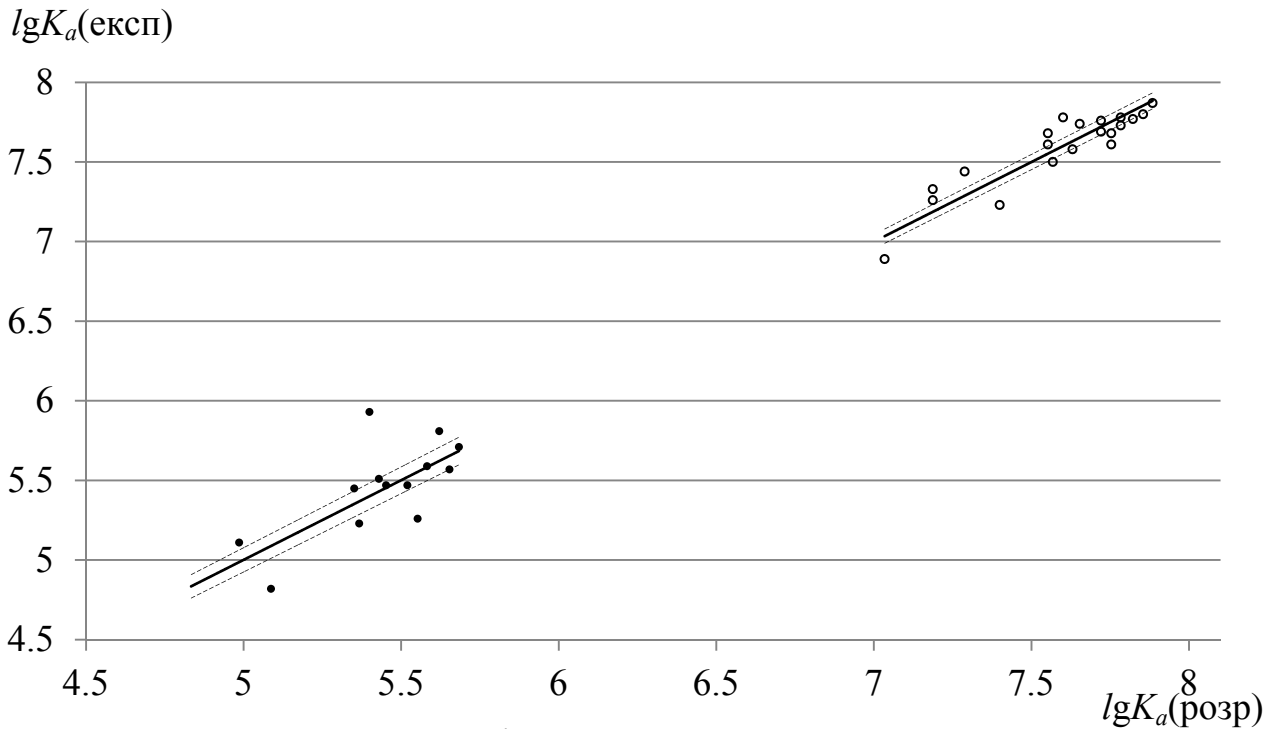


Рисунок 3.16 – Взаємозв'язок між експериментальними та розрахованими значеннями констант асоціації похідних біфенілу (●) та флуоренону (○), оброблені як один блок даних рівнянням 3.3 ($a = 0$)

Таблиця 3.13 – Статистичні параметри апроксимації на рис. 3.16

	a	SE_a	b	SE_b	R^2	F	Prob>F
Обидва класа ($n = 40$)	0	--	1	0.00341	0.99953	85937.440	0



Рисунк 3.17 – Взаємозв'язок між експериментальними та розрахунковими значеннями констант асоціації похідних біфенілу (●) та флуоренону (○), оброблені як два окремих блока даних

Таблиця 3.14 – Статистичні параметри апроксимації на рис. 3.17

	a	SE_a	b	SE_b	R^2	F	Prob>F
Біфеніли ($n = 20$)	0	--	1.00017	0.00728	0.99894	18893.133	0
Флуоренони ($n = 20$)	0	--	0.99992	0.00304	0.99982	108385.650	0

Також досліджені константи асоціації з ДНК інших похідних біфенілу (табл. 3.15).

Таблиця 3.15 – Значення величин $\lg K$ та $\lg C_{50}$ для амідів 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти та N,N'-біфеніламіноацетамідів*

Сполука	$\lg K$	$\lg C_{50}$	Сполука	$\lg K$	$\lg C_{50}$
2.73	5.23	-3.13	2.82	5.98	-3.88
2.74	5.47	-3.37	2.83	6.03	-3.93
2.75	5.18	-3.08	2.84	6.09	-3.98
2.76	5.35	-3.25	2.85	5.96	-3.86
2.77	5.28	-3.18	2.87	6.10	-3.99
2.78	4.99	-2.88	2.88	6.01	-3.91
2.79	5.51	-3.41	2.89	6.10	-3.99
2.81	6.15	-4.05	2.90	5.87	-3.77

Примітка: * Стандартна похибка не перевищує 0.08.

У зв'язку з низькою стійкістю 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолів вивчення афінитету проводили при рН 7.2 із додаванням ДМСО.

Таблиця 3.16 – Значення величин $\lg K$ для похідних 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу

Сполука	$\lg K$	$\lg C_{50}$	Сполука	$\lg K$	$\lg C_{50}$
2.93	5.39	-3.29	2.94	5.25	-3.15
2.95	5.18	-3.08	2.96	5.11	-3.01
2.97	5.90	-3.80			

Примітка: *Стандартна похибка не перевищує 0.06

3.7.3 Докінг 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб олігонуклеотидів

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 встановлення можливого типу взаємодії.

Докінгом 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб комплексів олігонуклеотидів та нетропсина [106] була показана можливість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК (рис. 3.10). Отримані значення скорінг-функції (SF) – математичного метода, який використовується

для прогнозування міцності нековалентної взаємодії між лігандом та рецептором та є фактично виграшем енергії при утворенні комплексу ліганд – рецептор. У відповідності з рівнянням Гіббса-Гельмгольца, існує залежність між ΔG взаємодії та $\ln K_a$. З використанням параметру рангової кореляції Kendall tau була встановлена кореляція між SF і константою зв'язування з ДНК ($\lg K_a$) для послідовності d(CСІІСІССІІ)₂.

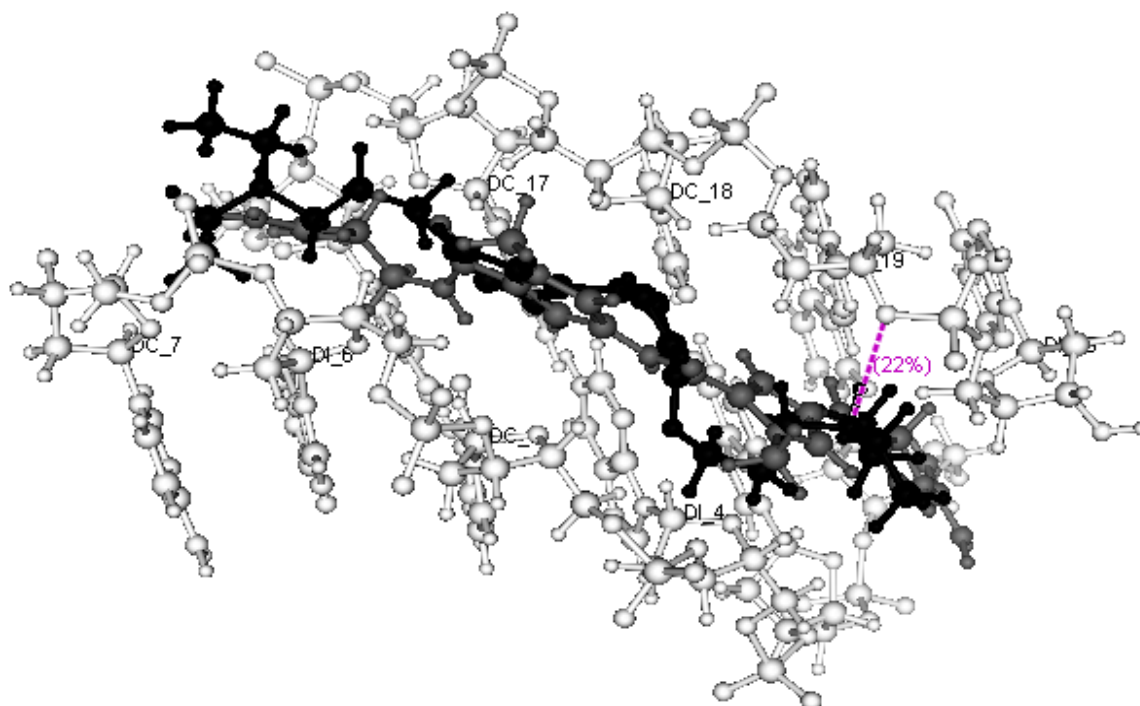
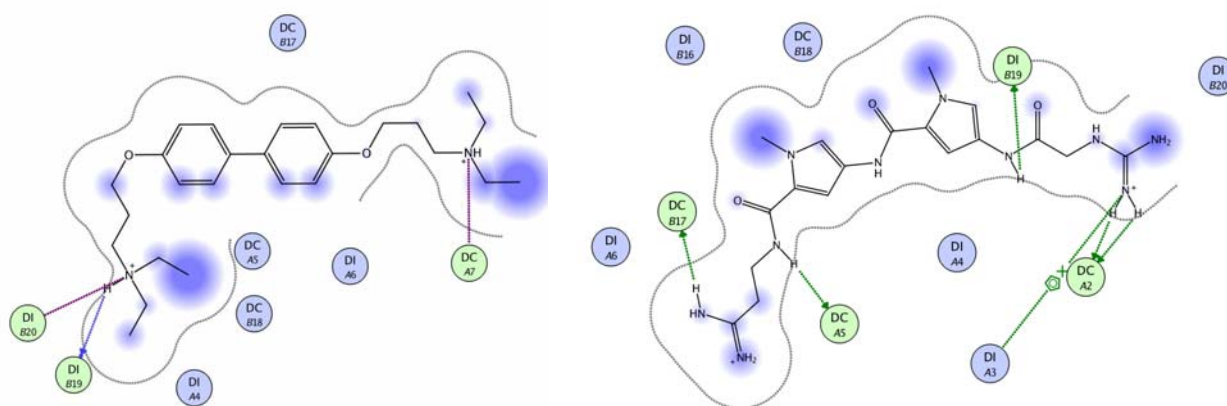


Рисунок 3.18 – Зв'язування сполуки 2.29 з комплексом олігонуклеотида та Нетропсина [106]



Центри зв'язування сполуки 2.29

Центри зв'язування нетропсина [106]

Рисунок 3.19 – Центри зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів

Сполуці **2.29** притаманне оточення, аналогічне оточенню вихідного ліганду – нетропсину, з одного боку вона взаємодіє з цитозином, з іншого – з інозином (рис. 3.18, 3.19).

Для оцінки нормальності розподілу експериментально отриманих значень $\lg K_a$ 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 (рис 3.20 та 3.21 відповідно).

Оскільки отримані точки з високим коефіцієнтом детермінації апроксимуються прямою, то за сутністю Q-Q-тесту вибірки, що їх утворюють є нормально розподіленими. Оцінка нормальності розподілу за Q-Q-тестом співпадає з результатами за тестами Шапіро-Уїлка, Лілієфорса, Андерсона-Дарлінга, д'Агостіно-K2, Колмогорова-Смірнова, Чена-Шапіро¹. За всіма цими тестами дані розподілені нормально на рівні $P < 0.001$.

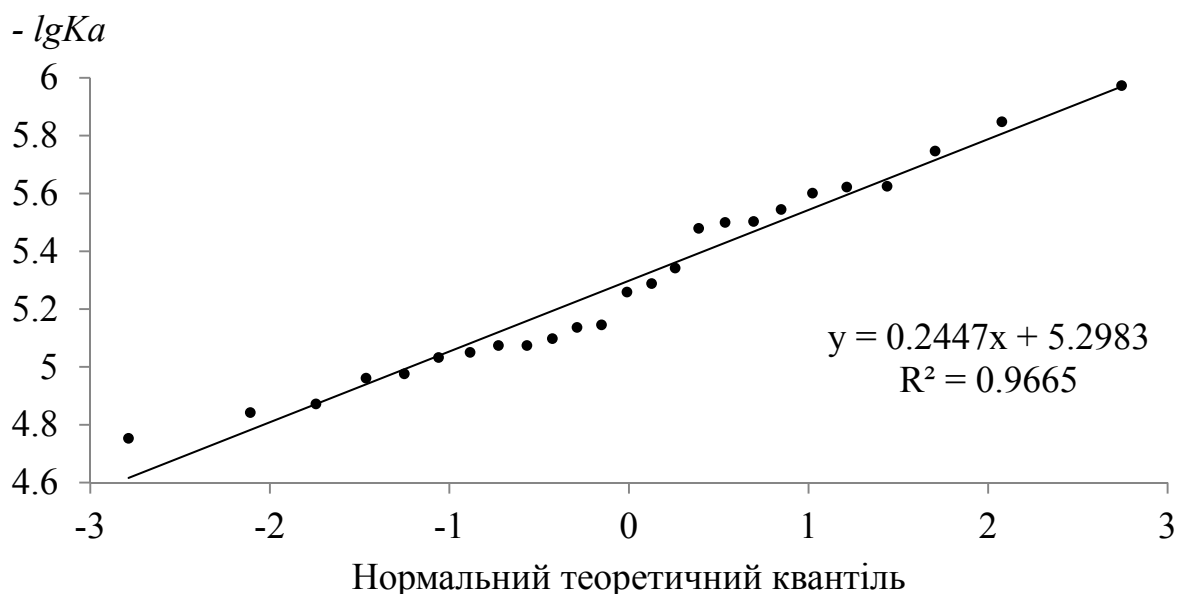


Рисунок 3.20 – Квантіль-квантільні ділянки розподілу значень $\lg K_a$ проти нормального розподілу

¹ Тестування проводили засобами програми OriginPro2015

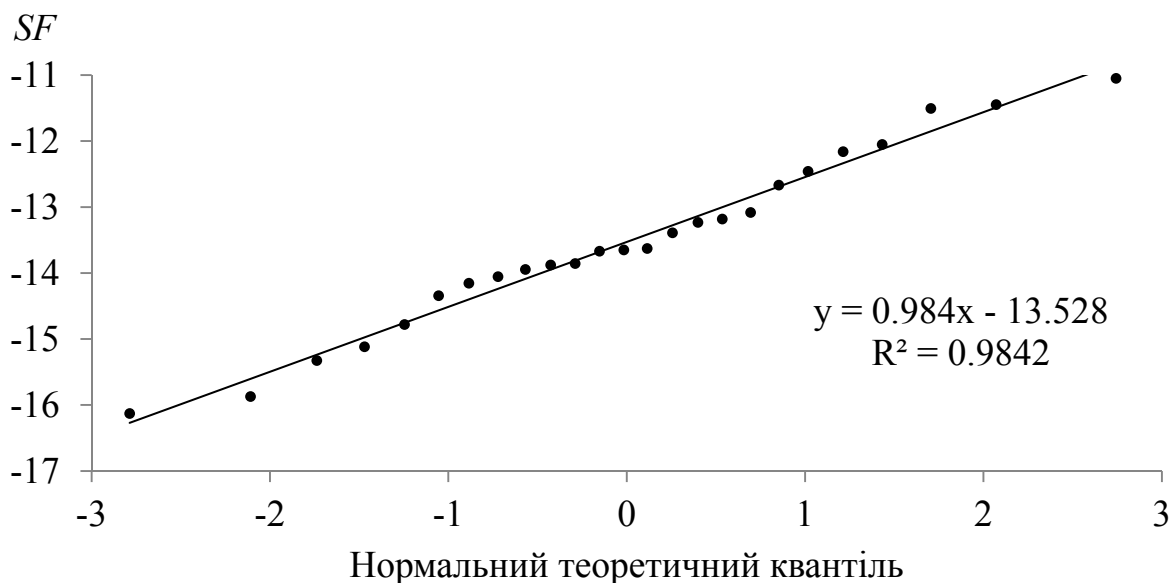


Рисунок 3.21 – Квантіль-квантільні ділянки розподілу значень $\lg K_a$ проти нормального розподілу

Таким чином, в цьому випадку виправдано використання параметричної статистики. З використанням методу найменших квадратів був проведений лінійний регресійний аналіз.

$$SF = -2.158(\pm 0.481) \lg \lg K_a - 2.3636(\pm 2.5361) \quad (3.4)$$

Таблиця 3.17 – Значення величин скорінг-функції для 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)-біфенілів при докінгу у малий жолоб ДНК з послідовністю $d(\text{CCICCCII})_2$

Сполука	SF	Сполука	SF	Сполука	SF
1.4	-11.72	2.32	-13.63	2.53	-15.66
2.12	-12.5	2.39	-13.11	2.54	-13.66
2.14	-13.26	2.40	-14.09	2.55	-15.32
2.16	-11.91	2.41	-13.48	2.61	-13.85
2.18	-12.34	2.42	-13.65	2.62	-15.37
2.27	-13.33	2.43	-14.00	2.63	-13.97
2.28	-12.76	2.51	-14.8	2.64	-14.89
2.29	-14.57	2.52	-14.41	2.65	-13.47
2.31	-13.42				

Для оцінки лінійної регресії вирішальне значення має критерій узгодженості, а також перевірка наявності значень, що випадають. Ці значення були визначені як точки даних, для яких спостерігається різниця між експериментальними та розрахунковими значеннями більше, ніж $3 \times \sigma$. Загальна кількість значень, що випадають, дається у відсотках від усіх точок даних.

Таблиця	3.18	Значення величин SF для 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів
τ		0.61
ν		4.48 %
σ		0.76
R^2		0.465
Значення, що випадають		0 %

τ – середня абсолютна похибка; ν – середня абсолютна похибка у відсотках; σ – середньоквадратичне відхилення.

Варто відзначити, що значення SF мають низький розподіл. Максимальне значення скорінг-функції дорівнює -11.72, мінімальне -15.66, середнє значення -13.73, стандартна похибка 1.033.

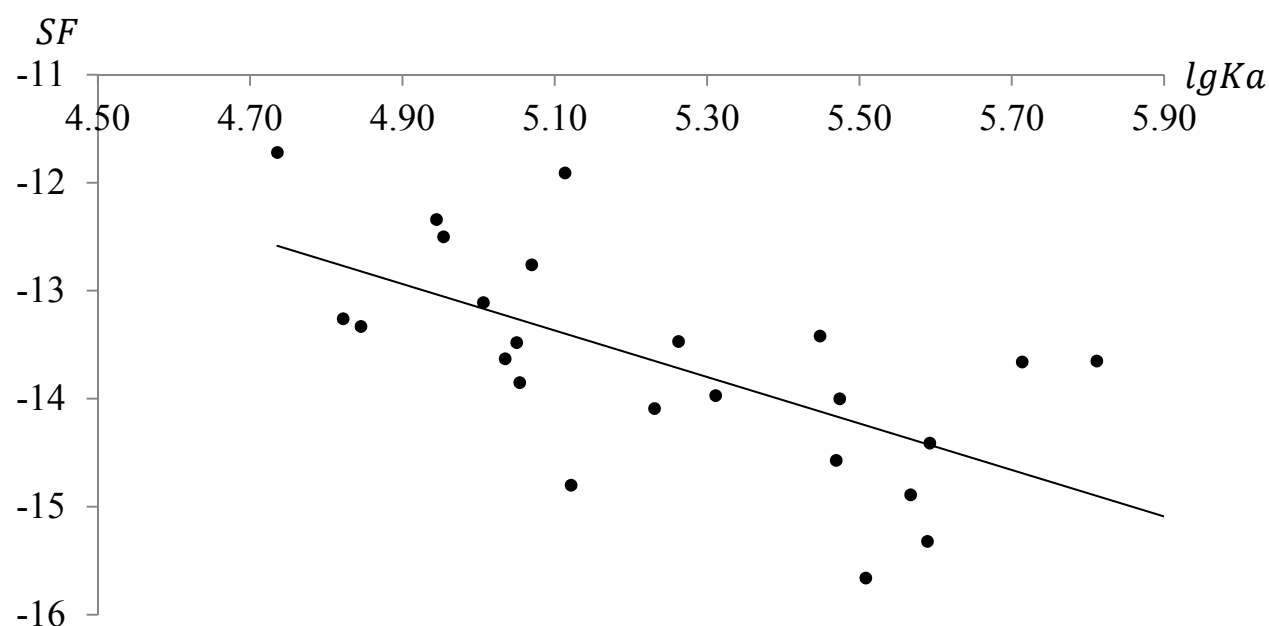


Рисунок 3.22 – Залежність SF від $\lg K_a$ для послідовності $d(\text{CCICCCII})_2$

Рівняння 3.4 було використане для прогнозування констант зв'язування з ДНК похідних бензидину **2.84** – **2.89**, **2.88**, для яких отриманні експериментальні значення $\lg K_a$ та проведений докінг у малий жолоб ДНК тої самої послідовності ($d(\text{CCPCICCP})_2$). Порівняння експериментально отриманих значень $\lg K_a$ з теоретично розрахованими за допомогою рівняння 3.4 показало, що розрахункове значення близько до теоретичного: середня абсолютна похибка дорівнює 0.38, середньоквадратичне відхилення дорівнює 0.43.

Таблиця 3.19 – Значення величин SF для похідних бензидину для послідовності $d(\text{CCPCICCP})_2$

Сполука	$\lg K_a$	SF	Сполука	$\lg K_a$	SF
2.84	4.95	-12.50	2.85	4.74	-11.72
2.87	4.82	-13.26	2.89	5.11	-11.91
2.88	4.94	-12.34			

Така передбачуваність дозволяє нам використовувати рівняння 3.4 для прогнозування афінитету до ДНК похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу та близьких за структурою сполук.

Докінг низки 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малий жолоб комплексу ДНК (з послідовністю $d(\text{CGCGAATTCGCG})_2$) з 4,4'-заміщеним біфенілом N,N'-біс[3-(4,5-дигідро-1H-імідазол-2-іл)феніл]біфеніл-4,4'-дикарбоксамідом [107] показав можливість зв'язування даних сполук аналогічно нативному ліганду, але в ланках ДНК, багатих на GC пари (рис. 3.23).

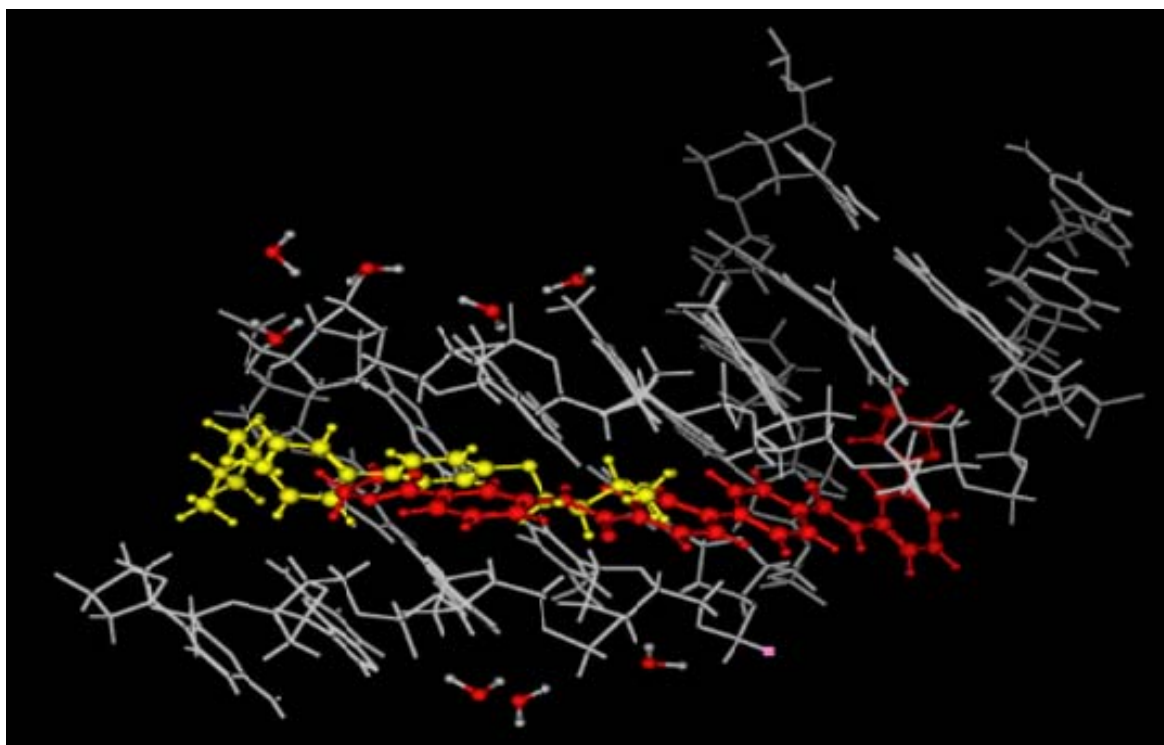


Рисунок 3.23 – Зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК з послідовністю d(CGCGAATTCGCG)₂ [107]

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 (табл. 3.20).

Таблиця 3.20 – Значення величин SF для похідних біфенілу при докінгу у малий жолоб ДНК з послідовністю d(CGCGAATTCGCG)₂

Сполука	SF	Сполука	SF	Сполука	SF
1.4	-11.77	2.32	-11.54	2.53	-12.09
2.12	-12.34	2.39	-11.63	2.54	-12.60
2.14	-12.30	2.40	-12.57	2.55	-14.46
2.16	-9.73	2.41	-13.65	2.61	-13.50
2.18	-14.10	2.42	-12.93	2.62	-12.85
2.27	-12.07	2.43	-12.57	2.63	-12.60
2.28	-12.55	2.51	-14.15	2.64	-12.23
2.29	-13.00	2.52	-13.19	2.65	-14.31
2.31	-12.20				

В даному випадку кореляція між значеннями SF і lgK_a відсутня ($R^2 = 0.014$).

Всі синтезовані сполуки проявили значущий афінитет до ДНК в експерименті з конкуруванням з етидієм бромідом. 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 до ДНК досліджених похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу приблизно на 2 порядки нижчий за афінитет до ДНК аналогічних похідних 2,7-дигідроксифлуоренону. Молекулярним докінгом показана можливість зв'язування 4,4'-біс-(ω -аміноалкокси)біфенілів у малому жолобі ДНК та встановлено лінійний зв'язок між значенням скорінг-функції та константою зв'язування їх з ДНК, що дає можливість прогнозування афінитету до ДНК близьких за структурою сполук.

4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Спектри ^1H (500 МГц) та ^{13}C (125 МГц) ЯМР реєстрували в розчинах CDCl_3 та DMSO-d_6 відносно ТМС на приборах Bruker Avance 500 MHz, мас-спектри електронного удару – на спектрометрі MX-1321 із прямим введенням зразка. Енергія іонізації електронів 70 еВ, температура джерела 220 °С. Іонізація здійснювалася пучком атомів Аргону з енергією 10 кV (речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті). Чистоту синтезованих речовин контролювали методом тонкошарової хроматографії на пластінах “Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ”.

4.1 Методи синтезу

4.1.1 Методи синтезу похідних біфенілу

4,4'-Дигідроксибіфеніл (1.21). 40 г (0.218 моль) бензидину розчиняють у 0.44 л гарячої води, яка містить 42 мл концентрованої хлоридної кислоти. Охолоджують розчин до 25 °С та додають ще 47 мл концентрованої хлоридної кислоти. Отриману суспензію охолоджують до температури нижче 0 °С та додають розчин 30.2 г (0.438 моль) нітриту натрію у 90 мл води так, щоб температура реакційної суміші не перевищувала 8 °С. Суміш перемішують ще 20 хвилин та додають 0.2 г (0.003 моль) сечовини. Отриманий розчин поступово додають до попередньо розігрітого до 80 – 90 °С розчину 43 мл (81.27 г, 0.83 моль) фосфатної кислоти у 880 мл води на протязі приблизно двох годин. Після завершення додавання суміш витримують при той самій температурі ще 20 хвилин, охолоджують до температури +3 °С, отриманий осад відфільтровують та промивають водою. Вихід сирого продукту реакції становить приблизно 70 % від теоретичного. Розчиняють 40 г (0.22 моль) технічного (після попереднього синтезу) дигідроксибіфенілу в 80 мл (1 моль) піридину та додають 17.7 мл (19.5 г, 0.25 моль) хлористого ацетилу. Суміш ретельно перемішують 6 годин та фільтрують. Протягом 5 хвилин розчиняють 75 г (0.28 моль) диацетоксибіфенілу у 200 мл етилового спирту та додають розчин 22 г (0.55 моль) гідроксиду натрію у 50

мл води. Отриману суміш кип'ятять 30 хвилин, охолоджують, фільтрують, осад ретельно промивають етанолом, маточний розчин випаровують для видалення половини від всієї кількості спирту та знов фільтрують. Осад промивають етиловим спиртом, об'єднують з попереднім та розмішують у 400 мл води. Додають ортофосфорну кислоту до рН 1 – 2 та витримують 4 години на водяній бані при температурі 70 – 80 °С. Охолоджують, фільтрують та промивають водою. Сумарний вихід становить 40 %. Т пл. 160 – 161 °С.

4,4'-Біс-(2-хлороетокси)біфеніл (2.1). 20 г (0.108 моль) дигідроксибіфенілу розчиняють у 200 мл 1,2-дихлороетану (250 г, 2.53 моль), додають 50 мл 20 % розчину гідроксиду натрію та 8.75 г (0.027 моль). Інтенсивно перемішують при 75 °С 16 годин. Охолоджують, фільтрують, промивають водою. Вихід продукту реакції 27.39 г (80 %). Т пл. 190 – 191 °С.

4,4'-Біс-(3-хлоропропокси)біфеніл (2.2). 20 г (0.108 моль) 4,4'-дигідроксибіфенілу розчиняють у 150 мл сухого ДМФА. Додають 64 г (0.46 моль) безводного карбонату калію та 47.1г (0.3 моль) 1-бром-3-хлорпропану. Суміш нагрівають, ретельно перемішуючи до 80 °С протягом 18-24 годин. Розбавляють 600 мл води, осад, який утворився, фільтрують та перекристалізують зі спирту. Вихід продукту реакції 27.85 г (76 %). Т пл. 137 – 138 °С.

4,4'-Біс-(4-бромобутокси)біфеніл (2.3). 20 г (0.108 моль) 4,4'-дигідроксибіфенілу розчиняють у 150 мл сухого ДМФА. Додають 64 г (0.46 моль) безводного карбонату калію та 215 г (1 моль) 1,4-дибромобутану. Суміш нагрівають, ретельно перемішуючи до 80 °С протягом 18-24 годин. Розбавляють 600 мл води, осад, який утворився, фільтрують та перекристалізують зі спирту. Вихід продукту реакції 33.50 г (68 %). Т пл. 132 – 133 °С.

Аналогічно отримують сполуки **2.4** та **2.5**

4,4'-Біс-(5-бромопентокси)біфеніл (2.4). Вихід продукту реакції 38.75 г (74 %). Т пл. 122 – 123 °С.

4,4'-Біс-(6-бромогексокси)біфеніл (2.5). Вихід продукту реакції 38.76 г (70 %). Т пл. 120 – 121 °С.

4,4'-Біс-(2-йодоетокси)біфеніл (2.6). 25 г (0.08 моль) 4,4'-біс-(2-хлороетокси)біфенілу розчиняють у 60 мл хлороформу, додають розчин 24 г (0.16 моль) йодистого натрію у 70 мл води та 30.11 г (0.082 моль) ТБАІ. Суміш кип'ятять 10 годин, після чого охолоджують, фільтрують, промивають 5 % розчином тіосульфату натрію та водою. Вихід продукту реакції 48.01 г (90 %). Т пл. 170 – 171 °С.

Аналогічно отримують сполуку **2.7**.

4,4'-Біс-(3-йодопророкси)біфеніл (2.7). Вихід продукту реакції 47.35 г (84 %). Т пл. 109 – 110 °С.

4,4'-Біс-(2-диетиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (1.4).

Метод 1.

При кімнатній температурі інтенсивно перемішують суміш 1.86 г (0.01 моль) 4-(4-гідроксифеніл)фенолу, 10.3 г (0.06 моль) гідрохлориду 2-(діетиламіно)етилхлориду, 15 см³ насиченого розчину карбонату калію та 15 см³ хлороформу протягом 8 годин. Органічний шар відокремлюють, промивають 1 %-им розчином карбонату калію (3×5 см³), водою (3×5 см³) та випарюють у вакуумі. Залишок кип'ятять 10 хв у воді, охолоджують, воду декантують з олієподібного залишку, який розчиняють у 15 см³ бензолу. Розчин висушують сульфатом магнію, упарюють досуха, залишок перекристалізують з гексану. Вихід продукту реакції 3.2 г (70 %). Т пл. 231 – 232 °С. МН⁺ 385.

Метод 2.

1 г (0.002 моль) 4,4'-біс-(2-йодоетокси)біфенілу розчиняють у 5 мл ретельно підготовленого диметилформаміду та додають 0.73 г (0.01 моль) диетиламіну. Витримують при кімнатній температурі 5 днів. Розбавляють 200 мл води, доводять додаванням соляної кислоти рН до 2 – 3, екстрагують хлороформом. До водного шару додають розчин гідроксиду натрію до рН 12 – 13, ретельно екстрагують хлороформом, екстракт промивають водою до нейтрального рН водного шару. Органічний шар висушують безводним сульфатом натрію, випаровують на ротаційному випарнику досуха, залишок розчиняють у діоксані, пе-

реводять розчином хлористого водню в діоксані до стану дигідрохлориду, фільтрують. Осад кип'яють у 20 мл ацетону, фільтрують. Процедуру кип'ятіння в ацетоні з наступним фільтруванням повторюють, доки речовина не буде хроматографічно гомогенною. Вихід продукту реакції 0.283 г (31 %). Т пл. 235 – 236 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.09 (t, $J=7.1$ Hz, 12H, 4CH₃); 2.66 – 2.71 (q, $J=7.1$ Hz, 8H, 4CH₂); 2.92 (t, $J=6.0$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.10 (t, $J=6.1$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.92 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH); 7.43 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). МН⁺ 385.

За методом 2 отримують сполуки **2.8** – **2.69**.

4,4'-Біс-(2-метиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.8). Вихід продукту реакції 0.220 г (30 %). Т пл. 221 – 222 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.36 (s, 6H, 2CH₃); 2.76 (t, $J=5.7$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.11 (t, $J=5.6$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.97 (d, $J=8.3$ Hz, 4H, 4CH); 7.47 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). МН⁺ 301.

4,4'-Біс-(2-етиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.9). Вихід продукту реакції 0.254 г (31 %). Т пл. 228 – 229 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.17 (t, $J=7.1$ Hz, 6H, 2CH₃); 2.73 – 2.78 (q, $J=7.0$ Hz, 4H, 2CH₂); 3.04 (t, $J=4.9$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.13 (t, $J=5.3$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.96 (d, $J=8.3$ Hz, 4H, 4CH); 7.47 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). МН⁺ 329.

4,4'-Біс-(2-бутиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.10). Вихід продукту реакції 0.315 г (34 %). Т пл. 232 – 233 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.9 (t, $J=7.4$ Hz, 6 H, 2CH₃); 1.4 (m, 4 H, 2CH₂); 1.5 (m, 4 H, 2CH₂); 2.7 (t, $J=7.3$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.0 (t, $J=5.1$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=5.1$ Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.1; 20.6; 32.4; 49.1; 49.8; 67.7; 114.9; 127.8; 133.7; 158.2. МН⁺ 385.

4,4'-Біс-(2-бензиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.11). Вихід продукту реакції 0.322 г (35 %). Т пл. 260 – 261 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.1 (t, $J=4.3$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.9 (s, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=4.4$ Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=8.1$ Hz, 4 H, 4CH); 7.3 (m, 2 H, 2CH); 7.3 (m, 8 H, 4CH + 4CH); 7.5 (d, $J=8.0$ Hz, 4 H, 4CH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 48.4; 53.9; 67.7; 114.9; 127.1; 127.8; 128.3; 128.6; 133.7; 140.3; 158.1. МН⁺ 453.

4,4'-Біс-(2-диметиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.12). Вихід продукту реакції 0.269 г (34 %). Т пл. 255 – 256 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.34 (s, 12H, 4CH₃); 2.74 (t, $J=5.6$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.08 (t, $J=5.7$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.94 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH); 7.43 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). МН⁺ 329.

4,4'-Біс-(2-метилбутиламіноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.13). Вихід продукту реакції 0.272 г (28 %). Т пл. 244 – 244.5 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.9 (t, $J=7.3$ Hz, 6 H, 2CH₃); 1.3 (m, 4 H, 2CH₂); 1.5 (m, 7.4 Hz, 4 H, 2CH₂); 2.4 (s, 6 H, 2CH₃); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 2.8 (t, $J=5.9$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=6.0$ Hz, 4 H, 2CH₂), 7.0 (d, $J=8.5$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.5$ Hz, 4 H, 4CH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.2; 20.8; 29.5; 43.1; 56.3; 58.1; 66.4; 114.9; 127.8; 133.6; 158.1. МН⁺ 413.

4,4'-Біс-(2-піперидиноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.14). Вихід продукту реакції 0.345 г (35 %). Т пл. 255 – 255.6 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.44 (m, 4H, 2CH₂); 1.61 (m, 8H, 4CH₂); 2.52 (m, 8H, 4CH₂); 2.79 (t, $J=6.0$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.13 (t, $J=6.0$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.92 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH); 7.43 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). МН⁺ 409.

4,4'-Біс-(2-гексаметиленіміноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.16). Вихід продукту реакції 0.327 г (31 %). Т пл. 235 – 236 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.6 (m, 8 H, 4CH₂); 1.7 (m, 8 H, 4CH₂); 2.8 (t, 8 H, 4CH₂); 3.0 (t, $J=6.4$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=6.4$ Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 436.

4,4'-Біс-(2-(4-метил)піперидиноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.17). Вихід продукту реакції 0.305 г (29 %). Т пл. 280 – 280.5 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 0.9 (d, $J=6.1$ Hz, 6 H, 2CH₃); 1.3 (m, 10 H, 4CH₂+2CH); 2.8 (t, $J=6.0$ Hz, 8 H, 4CH₂); 3.0 (t, $J=11.5$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=6.0$ Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 437.

4,4'-Біс-(2-(4-бензил)піперидиноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.15). Вихід продукту реакції 0.441 г (33 %). Т пл. 245 – 246 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 3.1 (t, 4 H, 2CH₂); 3.9 (s, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=8.5$ Hz, 4 H, 4CH); 7.3 (m, 2 H, 2CH); 7.3 (m, 8 H, 4CH + 4CH); 7.5 (d, $J=8.0$ Hz, 4 H, 4CH).

Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 48.4; 53.9; 67.7; 114.9; 127.1; 127.8; 128.3; 128.6; 133.7; 140.3; 158.1. MH^+ 589.

4,4'-Біс-(2-морфоліноетокси)біфеніл дигідрохлорид (2.18). Вихід продукту реакції 0.312 г (32 %). Т пл. 248 – 249 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.59 (t, 8H, 4CH₂); 2.82 (t, $J=5.6$ Hz, 4H, 2CH₂); 3.74 (m, 8H, 4CH₂); 4.14 (t, $J=5.6$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.93 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH); 7.43 (d, $J=8.3$ Hz, 4H, 4CH). MH^+ 413.

4,4'-Біс-(2-диметиламіноетиламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.20). Вихід продукту реакції 0.381 г (34 %). Т пл. 258 – 258.5 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.1 (s, 12 H, 4CH₃); 2.3 (t, 4 H, 2CH₂); 2.6 (t, 4 H, 2CH₂); 2.9 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, 2 H); 7.5 (d, 2 H). MH^+ 415.

4,4'-Біс-(2-диметиламінопропіламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.19). Вихід продукту реакції 0.374 г (30 %). Т пл. 263 – 264 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.6 (m, 4 H, 2CH₂); 2.1 (s, 12 H, 4CH₃); 2.3 (t, 4 H, 2CH₂); 2.6 (t, 4 H, 2CH₂); 2.9 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, $J=6.2$ Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 471.

4,4'-Біс-(2-диетиламіноетиламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.21). Вихід продукту реакції 0.437 г (36 %). Т пл. 262 – 263 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.1$ Hz, 12 H, 4CH₃); 2.5 (m, 12 H, 4CH₂ + 2CH₂); 2.7 (t, $J=5.9$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.0 (t, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, $J=4.6$ Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 443.

4,4'-Біс-(2-диетиламінопропіламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.22). Вихід продукту реакції 0.371 г (29 %). Т пл. 267 – 267.5 °С. MH^+ 499.

4,4'-Біс-(2-морфоліноетиламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.23). Вихід продукту реакції 0.392 г (30 %). Т пл. 271 – 272 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.47 (t, 8H, 4CH₂); 2.54 (t, $J=6.1$ Hz, 4H, 2CH₂); 2.81 (t, $J=6.1$ Hz, 4H, 2CH₂); 3.06 (t, $J=5.0$ Hz, 4H, 2CH₂); 3.72 (t, 8H, 4CH₂); 4.13 (t, $J=5.1$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.96 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH); 7.47 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). MH^+ 499.

4,4'-Біс-(2-морфолінопропіламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.24). Вихід продукту реакції 0.386 г (28 %). Т пл. 277 – 277.5 °С. Спектр ЯМР

^1H , δ , м.д.: 1.7 (qd, $J=6.9$, 6.7 Hz, 1 H) 2.4 (m, 3 H) 2.7 (t, $J=6.9$ Hz, 1 H) 3.0 (t, $J=4.8$ Hz, 1 H) 3.7 (m, 2 H) 4.1 (t, $J=4.8$ Hz, 1 H) 6.9 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H) 7.5 (d, $J=8.5$ Hz, 1 H). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 26.8; 48.6; 49.1; 53.9; 57.5; 67.1; 67.6; 114.9; 127.8; 133.7; 158.1. MH^+ 527.

4,4'-Біс-(2-піперидиноетиламіноетокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.25). Вихід продукту реакції 0.412 г (32 %). Т пл. 274 – 275 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.44 (m, 4H, 2CH₂); 1.56 – 1.62 (m, 8H, 4CH₂); 2.40 (t, 8H, 4CH₂); 2.49 (t, $J=6.4$ Hz, 4H, 2CH₂); 2.81 (t, $J=6.4$ Hz, 4H, 2CH₂); 3.05 (t, $J=5.3$ Hz, 4H, 2CH₂); 4.12 (t, $J=5.3$ Hz, 4H, 2CH₂); 6.96 (d, $J=8.8$ Hz, 4H, 4CH); 7.46 (d, $J=8.6$ Hz, 4H, 4CH). MH^+ 495.

4,4'-Біс-(3-диметиламінопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.27). Вихід продукту реакції 0.273 г (32 %). Т пл. 244 – 245 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.9 (m, 4 H, 2CH₂); 2.2 (s, 12 H, 4CH₃); 2.4 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, $J=6.2$ Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 357.

4,4'-Біс-(3-диетиламінопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.28). Вихід продукту реакції 0.289 г (30 %). Т пл. 216 – 217 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.0$ Hz, 12 H, 4CH₃); 1.8 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (q, 8 H, 2CH₂); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, $J=6.2$ Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, $J=7.9$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.8$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 413.

4,4'-Біс-(3-піперидинопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.29). Вихід продукту реакції 0.355 г (35 %). Т пл. 222 – 223 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.4 (m, 4 H, 2CH₂); 1.6 (m, 8 H, 4CH₂); 2.0 (t, 8 H, 4CH₂); 2.4 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). MH^+ 437.

4,4'-Біс-(3-гексаметиленамінопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.31). Вихід продукту реакції 0.368 г (34 %). Т пл. 261 – 262 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.6 (m, 8 H, 4CH₂); 1.6 (m, 8 H, 4CH₂); 2.0 (m, 4 H, 2CH₂); 2.7 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 4.0 (t, $J=6.4$ Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 465.

4,4'-Біс-(3-(4-бензил)піперидинопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.30).

Вихід продукту реакції 0.428 г (31 %). Т пл. 267 – 268 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.6 (m 8 H, 4CH₂); 1.9 (m, 6 H, 2CH₂+2CH); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 2.5 (d, 4 H, 2CH₂); 2.9 (m 8 H, 4CH₂); 4.0 (t, $J=6.1$ Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=8.1$ Hz, 4 H, 4CH); 7.1 (d, $J=7.6$ Hz, 4 H, 4CH); 7.1 (m, 2 H, 2CH); 7.2 (m, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 617.

4,4'-Біс-(3-морфолінопропокси)біфеніл дигідрохлорид (2.32). Вихід продукту реакції 0.359 г (35 %). Т пл. 238 – 239 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.0 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 3.8 (m, 8 H, 4CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 441.

4,4'-Біс-(3-диметиламіноетиламінопропокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.34). Вихід продукту реакції 0.342 г (29 %). Т пл. 242 – 243 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.0 (m, 4 H, 2CH₂); 2.2 (s, 12 H, 4CH₃); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 2.7 (t, 4 H, 2CH₂); 2.8 (t, $J=6.0$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, $J=6.4$ Hz, 4 H, 4CH), 7.5 (d, $J=6.6$ Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 443.

4,4'-Біс-(3-диметиламінопропиламінопропокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.33). Вихід продукту реакції 0.432 г (35 %). Т пл. 277 – 278 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.7 (m, 4 H, 2CH₂); 2.2 (m, 12 H, 4CH₃); 2.3 (m, 4 H, 2CH₂); 2.7 (m, 4 H, 2CH₂); 2.8 (t, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, 4 H, 4CH); 7.5 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 471.

4,4'-Біс-(3-диетиламіноетиламінопропокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.35). Вихід продукту реакції 0.401 г (31 %). Т пл. 215 – 216 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.0 (t, 12 H, 4CH₃); 2.0 (m, 4 H, 2CH₂); 2.6 (m, 12 H, 4CH₂+, 2CH₂); 2.7 (m, 4 H, 2CH₂); 2.8 (t, 4 H, 2CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 499.

4,4'-Біс-(3-диетиламінопропиламінопропокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.36). Вихід продукту реакції 0.422 г (31 %). Т пл. 231 – 232 °С. МН⁺ 527.

4,4'-Біс-(3-морфолінопропіламінопропокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.37). Вихід продукту реакції 0.403 г (29 %). Т пл. 262 – 263 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.7 (m, 4 H, 2CH₂); 2.0 (m, 4 H, 2CH₂); 2.4 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 2.7

(t, 4 H, 2CH₂); 2.8 (t, 4 H, 2CH₂); 3.7 (m, 8 H, 4CH₂); 4.1 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.5 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 555.

4,4'-Біс-(4-метиламінобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.38). Вихід продукту реакції 0.271 г (32 %). Т пл. 228 – 229 °С. МН⁺ 357.

4,4'-Біс-(4-диметиламінобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.39). Вихід продукту реакції 0.278 г (31 %). Т пл. 238 – 239 °С. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.6 (m, 4 H, 2CH₂); 1.7 (m, 4 H, 2CH₂); 2.1 (s, 12 H, 4CH₃); 2.3 (t, J=6.6 Hz, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, J=6.6 Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, J=8.8 Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, J=8.8 Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 385.

4,4'-Біс-(4-диетиламінобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.40). Вихід продукту реакції 0.282 г (27%). Т пл. 227 – 228 °С. МН⁺ 441.

4,4'-Біс-(4-піперидинобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.41). Вихід продукту реакції 0.318 г (30 %). Т пл. 211 – 212 °С. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.2 (m, 4 H, 2CH₂); 1.4 (m, 4 H, 2CH₂); 1.5 (m, 8 H, 4CH₂); 1.6 (m, 4 H, 2CH₂); 1.7 (t, 4 H, 2CH₂); 2.3 (t, J=5.3 Hz, 8 H, 2CH₂); 4.0 (t, J=6.2 Hz, 4 H, 2CH₂); 7.0 (d, J=8.8 Hz, 2 H, 4CH); 7.5 (d, J=8.8 Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 465.

4,4'-Біс-(4-гексаметиленімінобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.42). Вихід продукту реакції 0.352 г (31 %). Т пл. 226 – 227 °С. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.6 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 1.7 (m, 12 H, 2CH₂+2CH₂+2CH₂); 1.8 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (t, 4 H, 2CH₂); 2.6 (t, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 4.0 (t, J=6.4 Hz, 4 H); 6.9 (d, J=8.8 Hz, 4 H); 7.5 (d, J=8.8 Hz, 4 H). Спектр ЯМР ¹³С, δ, м.д.: 24.3; 27.1; 27.5; 28.2; 55.7; 58.1; 68.1; 114.9; 127.8; 133.5; 158.3. МН⁺ 493.

4,4'-Біс-(4-морфолінобутокс)біфеніл дигідрохлорид (2.43). Вихід продукту реакції 0.349 г (32 %). Т пл. 225 – 226 °С. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.8 (m, 4 H, 2CH₂); 1.9 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 3.8 (t, 8 H, 2CH₂); 4.0 (t, J=6.1 Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, J=8.8 Hz, 4 H); 7.5 (d, J=8.6 Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 469.

4,4'-Біс-(4-диметиламіноетиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.45). Вихід продукту реакції 0.373 г (30 %). Т пл. 228 – 229 °С. МН⁺ 471.

4,4'-Біс-(4-диметиламінопропиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.44). Вихід продукту реакції 0.411 г (32%). Т пл. 266 – 267 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.9 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (m, 12 H, 4CH_3); 2.3 (t, $J=7.1$ Hz, 4 H, 2CH_2); 2.7 (t, 4 H, 2CH_2); 4.0 (t, $J=6.1$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 499.

4,4'-Біс-(4-диетиламіноетиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.46). Вихід продукту реакції 0.376 г (28 %). Т пл. 226 – 227 °С. 191 – 192 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.1$ Hz, 12 H, 4CH_3); 1.7 (m, 4 H, 2CH_2); 1.9 (m, 4 H, 2CH_2); 2.5 (q, 8 H, 4CH_2); 2.6 (t, 4 H, 2CH_2); 2.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 4.0 (t, $J=6.1$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 527.

4,4'-Біс-(4-диетиламінопропиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.47). Вихід продукту реакції 0.390 г (28 %). Т пл. 227 – 228 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.1$ Hz, 12 H, 4CH_3) 1.7 (m, 4 H, 2CH_2) 1.9 (m, 4 H, 2CH_2) 2.5 (q, 8 H, 4CH_2) 2.6 (t, 4 H, 2CH_2) 2.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$) 4.0 (t, $J=6.1$ Hz, 4 H, 2CH_2) 6.9 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH) 7.4 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 555.

4,4'-Біс-(4-морфоліноетиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.48). Вихід продукту реакції 0.406 г (29 %). Т пл. 231 – 232 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.7 (m, 4 H, 2CH_2); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.4 (t, 8 H, 4CH_2); 2.5 (t, $J=6.0$ Hz, 4 H, 2CH_2); 2.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 3.7 (m, 8 H, 4CH_2); 4.0 (t, $J=6.2$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.6$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 555.

4,4'-Біс-(4-морфолінопропиламінобутокс)біфеніл тетрагідрохлорид (2.49). Вихід продукту реакції 0.364 г (25 %). Т пл. 238 – 329 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.9 (m, 4 H, 2CH_2); 2.4 (m, 12 H, $4\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 2.7 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 3.7 (t, 8 H, 4CH_2); 4.0 (t, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). MH^+ 583.

4,4'-Біс-(5-метиламінопентокс)біфеніл дигідрохлорид (2.50). Вихід продукту реакції 0.282 г (31 %). Т пл. 218 – 219 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.5 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (s, 6 H, 2CH_3); 2.6 (m, 4 H, 2CH_2);

4.0 (t, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 385.

4,4'-Біс-(5-диметиламінопентокси)біфеніл дигідрохлорид (2.51). Вихід продукту реакції 0.287 г (30 %). Т пл. 231 – 232 °С. МН⁺ 413.

4,4'-Біс-(5-диетиламінопентокси)біфеніл дигідрохлорид (2.52). Вихід продукту реакції 0.276 г (26 %). Т пл. 225 – 226 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.0 (t, J=7.1 Hz, 12 H, 4CH₃); 1.5 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 1.8 (m, J=6.9, 6.9, 6.9, 6.9 Hz, 4 H, 2CH₂); 2.5 (m, 4 H, 2CH₂); 2.5 (q, J=7.1 Hz, 8 H, 4CH₂); 4.0 (t, J=6.3 Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, J=8.5 Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, J=8.5 Hz, 4 H, 4CH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м.д.: 11.8; 24.3; 27.0; 29.4; 47.1; 53.0; 68.1; 114.9; 127.8; 133.5; 158.3. МН⁺ 469.

4,4'-Біс-(5-піперидинопентокси)біфеніл дигідрохлорид (2.53). Вихід продукту реакції 0.345 г (31 %). Т пл. 260 – 261 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.5 (m, 4 H, 2CH₂); 1.6 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 1.8 (m, 4 H, 2CH₂); 2.3 (t, 8 H, 4CH₂); 2.4 (t, 4 H, 2CH₂); 4.0 (t, J=6.2 Hz, 4 H, 2CH₂); 6.9 (d, J=8.5 Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, J=8.6 Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 493.

4,4'-Біс-(5-гексаметиленімінопентокси)біфеніл дигідрохлорид (2.54). Вихід продукту реакції 0.423 г (29 %). Т пл. 248 – 249 °С. МН⁺ 583.

4,4'-Біс-(5-морфолінопентокси)біфеніл дигідрохлорид (2.55). Вихід продукту реакції 0.326 г (29 %). Т пл. 258 – 259 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.5 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 1.8 (m, 4 H, 2CH₂); 2.3 (t, 4 H, 2CH₂); 2.4 (t, 8 H, 4CH₂); 3.7 (t, 8 H, 4CH₂); 3.9 (t, 4 H, 2CH₂); 6.8 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). МН⁺ 497.

4,4'-Біс-(5-диметиламіноетиламінопентокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.57). Вихід продукту реакції 0.531 г (41 %). Т пл. 224 – 225 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.6 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂), 1.8 (m, 4 H, 2CH₂), 2.2 (s, 12 H, 4CH₃), 2.4 (t, J=5.9 Hz, 4 H, 2CH₂), 2.6 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂), 4.0 (t, J=5.6 Hz, 4H, 2CH₂), 6.9 (d, J=8.1 Hz, 4 H, 4CH), 7.4 (d, J=8.1 Hz, 4 H, 4CH). МН⁺ 499.

4,4'-Біс-(5-диметиламінопропиламінопентокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.56). Вихід продукту реакції 0.480 г (36 %). Т пл. 228 – 229 °С. МН⁺ 527.

4,4'-Біс-(5-диетиламіноетиламінопентокси)біфеніл тетрагідрохлорид

(2.58). Вихід продукту реакції 0.421 г (30 %). Т пл. 218 – 219 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.5 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.6 (t, 12 H, 4CH_3); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (m, 8 H, 4CH_2); 2.3 (t, 4 H, 2CH_2); 2.6 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 4.0 (t, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). MH^+ 555.

4,4'-Біс-(5-диетиламінопропиламінопентокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.59). Вихід продукту реакції 0.352 г (30 %). Т пл. 229 – 230 °С. MH^+ 521.

4,4'-Біс-(6-метиламіногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.60). Вихід продукту реакції 0.272 г (28 %). Т пл. 159 – 160 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.4 (m, 4 H, 2CH_2); 1.5 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (s, 6 H, 2CH_3); 2.3 (m, 4 H, 2CH_2); 3.9 (t, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). MH^+ 413.

4,4'-Біс-(6-диметиламіногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.61). Вихід продукту реакції 0.277 г (27 %). Т пл. 217 – 218 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.4 (m, 4 H, 2CH_2); 1.5 (m, 4 H, 2CH_2); 1.6 (m, 4 H, 2CH_2); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (s, 12 H, 4CH_3); 2.3 (t, 4 H, 2CH_2); 4.0 (t, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.7$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.7$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 441.

4,4'-Біс-(6-диетиламіногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.62). Вихід продукту реакції 0.342 г (30 %). Т пл. 211 – 212 °С. MH^+ 497.

4,4'-Біс-(6-піперидиногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.63). Вихід продукту реакції 0.318 г (27 %). Т пл. 224– 225 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.3 (m, 4 H, 2CH_2); 1.4 (m, 4 H, 2CH_2); 1.4 (m, 12 H, $4\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.7 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (m, 4 H, 2CH_2); 2.3 (t, 4 H, 2CH_2); 3.3 (m, 8 H, 4CH_2); 4.0 (t, 4 H, 2CH_2); 7.0 (d, $J=7.1$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=7.7$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 521.

4,4'-Біс-(6-гексаметиленаміногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.64). Вихід продукту реакції 0.375 г (30 %). Т пл. 232 – 233 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.5 (m, 4 H, 2CH_2); 1.6 (m, 12 H, $4\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.7 (m, 8 H, 4CH_2); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.6 (t, 4 H, 2CH_2); 2.7 (t, 8 H, 4CH_2); 4.0 (t, $J=6.4$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.0$ Hz, 4 H, 4CH); 7.5 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 549.

4,4'-Біс-(6-морфоліногексокси)біфеніл дигідрохлорид (2.65). Вихід про-

дукту реакції 0.335 г (28 %). Т пл. 210 – 211 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.4 (m, 4 H, 2CH_2); 1.5 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.3 (t, 4 H, 2CH_2); 2.4 (t, 8 H, 4CH_2); 3.6 (t, 8 H, 4CH_2); 4.0 (t, $J=6.1$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=7.8$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=7.8$ Hz, 4 H, 4CH). Mn^+ 525.

4,4'-Біс-(6-диметиламіноетиламіногексокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.67). Вихід продукту реакції 0.427 г (32 %). Т пл. 239 – 240 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.5 (m, 12 H, $4\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (s, 12 H, 4CH_3); 2.4 (t, $J=5.7$ Hz, 4 H, 2CH_2); 2.6 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 4.0 (t, $J=6.0$ Hz, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, $J=8.1$ Hz, 4 H, 4CH); 7.4 (d, $J=8.1$ Hz, 4 H, 4CH). Mn^+ 527.

4,4'-Біс-(6-диметиламінопропиламіногексокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.66). Вихід продукту реакції 0.421 г (30 %). Т пл. 218 – 219 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 1.4 (m, 4 H, 2CH_2); 1.5 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 1.6 (m, 4 H, 2CH_2); 1.8 (m, 4 H, 2CH_2); 2.2 (s, 12 H, 4CH_3); 2.3 (m, 4 H, 2CH_2); 2.3 (m, 4 H, 2CH_2); 2.6 (m, 8 H, $2\text{CH}_2+2\text{CH}_2$); 4.0 (t, 4 H, 2CH_2); 6.9 (d, 4 H, 4CH); 7.4 (d, 4 H, 4CH). Mn^+ 555.

4,4'-Біс-(6-диетиламіноетиламіногексокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.68). Вихід продукту реакції 0.384 г (26 %). Т пл. 211 – 212 °С. Mn^+ 583.

4,4'-Біс-(6-диетиламінопропиламіногексокси)біфеніл тетрагідрохлорид (2.69). Вихід продукту реакції 0.473 г (31 %). Т пл. 220 – 221 °С. Mn^+ 612.

4.1.2 Методи синтезу похідних 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти

Диметил-2,2'-[біфеніл-4,4'-диіл-біс(окси)]диацетат (2.70). Суміш 52.52 г (0.38 моль) карбонату калію, 14.14 г (0.08 моль) 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1.21**), 34.9 мл (56.54 г, 0.2 моль) метилбromoацетату та 200 мл ДМФА витримують при 100 °С протягом 5 годин. Утворений осад відфільтровують, промивають на фільтрі ДМФА (3×50 мл) та водою (5×100 мл). Об'єднаний фільтрат розбавляють водою до 2 л, осад, що випав, відфільтровують, перекристалізують з етанолу та приєднують до основної частини осаду. Об'єднаний осад перекристалізують з етанолу. Вихід продукту реакції 22.7 г (86 %). Тпл. 269 – 270 °С. ^1H NMR

(400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 3.7 (s, 6 H, 2CH₃); 4.70 (s, 4 H, 2CH₂); 6.96 (d, $J=8.68$ Hz, 4 H, 4CH) 7.53 (d, $J=8.68$ Hz, 4 H, 4CH). MH⁺ 330.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтова кислота (2.71). Розчиняють 22.44 г (0.34 моль) гідроксиду натрію у 15 мл води, додають 80 мл метанолу та 18 г (0.06 моль). Реакційну суміш кип'яють зі зворотним холодильником 3 години, охолоджують, осад, що випав відфільтровують, промивають на фільтрі метанолом, розчиняють в 500 мл гарячої води та додають концентрований розчин хлоридної кислоти до рН < 3. Суміш охолоджують до кімнатної температури, осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі водою, доти рН фільтрату не стане близьким до рН води (що використовується для промивання) та висушують. Вихід продукту реакції 15.24 г (84 %). Тпл. 184.5 – 185.5 °С.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]діацетилхлорид (2.72). Метод 1. 1.5 г (0.005 моль) **2.71**, 15 мл хлороформу, 0.9 г (0.01 моль) тіонілхлоїду та 1 краплю сухого ДМФА кип'яють зі зворотним холодильником при 90 °С 4 години. Отриманий розчин випаровують на ротаційному випарнику до отримання сухого залишку, який використовують у наступній стадії без додаткової очистки.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]діацетилхлорид (2.72). Метод 2. 1.5 г (0.005 моль) **2.71**, 15 мл хлороформу, 2.1 мл (0.03 моль) оксалілхлориду суспензію перемішують до гомогенного стану при 20 °С 3 – 4 години. Отриманий розчин випаровують на ротаційному випарнику до отримання сухого залишку, який використовують у наступній стадії без додаткової очистки.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]діацетилхлорид (2.72). Метод 3. 1.5 г (0.005 моль) **2.71**, 1 краплю сухого ДМФА та 2.16 г (0.03 моль) тіонілхлоїду. Реакційну суміш витримують зі зворотним холодильником при 90 °С 4 години. Отриманий розчин випаровують на ротаційному випарнику до отримання сухого залишку, який використовують у наступній стадії без додаткової очистки.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс-{N-[3-(диметиламіно)пропіл]ацетамід} (2.73). Метод 1. Суміш 1.6 мл (0.0125 моль) 3-діметиламінопропіламіну, 5 мл ТГФ, 1.5 г (0.005 моль) **2.72**. охолоджують до 0 °С, додають розчин 2.05 г

(0.1 моль) ДЦГК у 10 мл ТГФ. Витримують при кімнатній температурі 12 годин. Фільтрують, промивають холодним ТГФ, висушують. Вихід продукту реакції 0.94 г (40 %).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-[3-(диметиламіно)пропіл]ацетамід} (2.73). **Метод 2.** 5 мл дихлорометану, 20 мл насиченого розчину карбонату натрію, 3 г гідрокарбонату натрію, 1.4 мл (0.011 моль) 3-діметиламінопропіламіну інтенсивно перемішують при 0 °С. Протягом 1 години додають розчин 1.68 г (0.005 моль) **2.72** у 20 мл дихлорометану та інтенсивно перемішують 7 годин. Отриману суміш розбавляють водою та екстрагують хлороформом. Екстракт промивають водою до нейтрального рН водного шару. Органічний шар відокремлюють, висушують і випаровують досуха. Сухий залишок перекристалізують з гептану. Вихід продукту реакції 1.15 г (49 %).

За методом 2 отримують сполуки **2.74** – **2.79**.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-[2-(диметиламіно)етил]ацетамід} (2.74). Вихід продукту реакції 62 %. Тпл. 168 – 169 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 2.20 (s, 12 H, 4CH₃); 2.41 (t, J=5.75 Hz, 4 H, 2CH₂); 3.38 (m, 4 H, 2CH₂); 4.48 (s, 4 H, 2CH₂); 6.95 (d, J=8.31 Hz, 4 H, 4CH); 7.43 (d, J=8.31 Hz, 6 H, 4CH+2NH). МН⁺ 443.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-[2-(диетиламіно)пропіл]ацетамід} (2.75). Вихід продукту реакції 54 %. Тпл. 130.5 – 131.5 °С. МН⁺ 527.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс[N-(3-морфолін-4-ілпропіл)ацетамід] (2.76). Вихід продукту реакції 39 %. Тпл. 155 – 156.5 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.71 (dd, J=11.86, 5.75 Hz, 4 H, 2CH₂); 2.42 (m, 12 H, 4CH₂+2CH₂); 3.46 (q, J=5.38 Hz, 4 H, 2CH₂); 3.65 (m, 8 H, 4CH₂) 4.50 (s, 4 H, 2CH₂) 6.97 (d, J=8.31 Hz, 4 H, 4CH) 7.47 (d, J=8.31 Hz, 6 H, 4CH+2NH). МН⁺ 555.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс[N-(2-піперидин-1-ілетил)ацетамід] (2.77). Вихід продукту реакції 72 %.. 191 – 192 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.41 (m, 4 H, 2CH₂); 1.49 (m, 8 H, 4CH₂); 2.33 (t, 8 H, 4CH₂); 2.43 (t, 4 H, 2CH₂); 3.37 (m, J=4.65 Hz, 4 H, 2CH₂); 4.49 (s, 4 H, 2CH₂); 6.94 (d, J=8.07 Hz, 4 H, 4CH); 7.17

(s, 2 H, 2NH); 7.43 (d, $J=8.07$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 523.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс[N-(2-морфолін-4-ілетил)ацетамід]
(2.78). Вихід продукту реакції 44 %. Тпл. 196.5 – 197.5 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.38 (t, 8 H, 4CH₂); 2.48 (t, $J=5.87$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.40 (dt, $J=5.22$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.57 (t, 8 H, 4CH₂); 4.51 (s, 4 H, 2CH₂); 6.95 (d, $J=8.31$ Hz, 4 H, 4CH); 7.04 (s, 2 H, 2NH); 7.44 (d, $J=8.31$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 527.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс{N-[2-(диетиламіно)етил]ацетамід}
(2.79). Вихід продукту реакції 65 %. Тпл. 104.2 – 105.5 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: δ ppm 0.97 (t, $J=6.97$ Hz, 12 H, 4CH₃); 2.49 (q, $J=6.93$ Hz, 8 H, 4CH₂); 2.55 (t, 4 H, 2CH₂); 3.35 (m, $J=5.38$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.48 (s, 4 H, 2CH₂); 6.93 (d, $J=8.56$ Hz, 4 H, 4CH); 7.17 (s, 2 H, 2NH); 7.42 (d, $J=8.56$ Hz, 4 H, 4CH). MH^+ 499.

4.1.3 Методи синтезу похідних бензидину

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетамід) (2.80). До доведеного до кипіння розчину 0.12 моль (22.11 г) бензидину у 0.5 л ксилолу додають по краплях 0.312 моль (35.24 г) хлороангідриду хлорооцтової кислоти та кип'яють 2 години. Реакційну суміш випаровують на ротаційному випарнику, додають 0.5 л хлороформу та кип'яють 30 хвилин. Охолоджують, осад відфільтровують, промивають хлороформом. Вихід продукту реакції 32.38 г (80 %). Т пл. 275 – 276.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-диметиламіноацетаміду) дигідрохлорид (2.84). Розчиняють 1.01 г (0.003 моль) N,N'-біфеніл-4,4'-диілбіс(2-хлороацетаміду) (2.80) в 5 мл диметилформаміду та додають 1.35 г (0.015 моль) водного розчину диметиламіну. Після закінчення реакції розбавляють водою та екстрагують хлороформом. Екстракт промивають водою до нейтрального рН водного шару. Органічний шар випаровують на ротаційному випарнику до сухого залишку, який розчиняють у бензолі та додають розчин хлористого водню у діоксані. Отриманий осад відфільтровують, кип'яють в ацетоні та фільтрують. Вихід продукту реакції 0.830 г (65 %). Т пл. 265 – 266 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.4 (s, 12 H, 4CH₃); 3.1 (s, 4 H, 2CH₂); 7.6 (d, $J=8.1$ Hz, 4 H, 4CH); 7.7 (d, $J=8.1$

Hz, 4 H, 4CH); 9.1 (s, 2 H, 2NH). MH^+ 355.

Аналогічно отримують сполуки **2.81** – **2.90**.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-метиламіноацетамід) дигідрохлорид (2.81).

Вихід продукту реакції 0.655 г (55 %). Т пл. 233 – 234 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 2.1 (s, 6 H, 2CH₃); 3.3 (s, 4 H, 2CH₂); 7.6 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 7.7 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 9.21 (s, 2 H, 2 NH). MH^+ 327.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-етиламіноацетамід) дигідрохлорид (2.82).

Вихід продукту реакції 0.658 г (51 %). Т пл. 238 – 239 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.6 (t, 6 H, 2CH₃); 2.7 (m, 4 H, 2CH₂); 3.3 (s, 4 H, 2CH₂); 7.5 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH); 7.6 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH); 9.31 (s, 2 H, 2 NH). MH^+ 355.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-бутиламіноацетамід) дигідрохлорид (2.83).

Вихід продукту реакції 0.680 г (47 %). Т пл. 242 – 243 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.2$ Hz, 6 H, 2CH₃); 1.5 (m, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 2.7 (t, $J=6.8$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.3 (s, 4 H, 2CH₂); 7.5 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH); 7.6 (d, $J=8.3$ Hz, 4 H, 4CH); 9.31 (s, 2 H, 2NH). MH^+ 411.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-диетиламіноацетамід) дигідрохлорид (2.85).

Вихід продукту реакції 0.990 г (68 %). Т пл. 274 – 275 °С. MH^+ 411. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.1 (t, $J=7.3$ Hz, 12 H, 4CH₃); 2.6 (q, 8 H, 2CH₂+2CH₂); 3.2 (s, 4 H, 2CH₂); 7.5 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 7.6 (d, $J=8.2$ Hz, 4 H, 4CH); 9.4 (s, 2 H, 2NH).

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-метилбутиламіноацетамід) дигідрохлорид (2.86). Вихід продукту реакції 0.720 г (47 %). Т пл. 255 – 256 °С. Спектр ЯМР 1H , δ , м.д.: 1.0 (t, $J=7.3$ Hz, 6 H, 2CH₃); 1.4 (m, $J=14.5, 7.3$ Hz, 4 H, 2CH₂); 1.5 (m, 4 H, 2CH₂); 2.4 (s, 6 H, 2CH₃); 2.5 (t, $J=7.3$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.1 (s, 4 H, 2CH₂); 7.6 (d, $J=8.5$ Hz, 4 H, 4CH); 7.6 (d, $J=8.5$ Hz, 4 H, 4CH); 9.3 (s, 2 H, 2NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м.д.: 14.1; 20.6; 29.8; 43.3; 58.1; 62.1; 119.8; 127.4; 136.5; 137.0; 169.4. MH^+ 439.

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-піперидиноацетамід) дигідрохлорид (2.87).

Вихід продукту реакції 0.946 г (62 %). Т пл. 280 – 281 °С. МН⁺ 435. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.5 (m, 4 Н, 2СН₂); 1.6 (m, 8 Н, 2СН₂+2СН₂); 2.5 (t, 8 Н, 2СН₂+2СН₂); 3.1 (s, 4 Н, 2СН₂); 7.5 (d, *J*=8.2 Hz, 4 Н, 4СН); 7.6 (d, *J*=8.7 Hz, 4 Н, 4СН); 9.3 (s, 2 Н, 2NH).

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-гексаметиленаміноацетамід) дигідрохлорид (2.88). Вихід продукту реакції 1.125 г (70 %). Т пл. 263 – 264 °С. МН⁺ 463. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.7 (m, 16 Н, 4СН₂+4СН₂); 2.8 (t, *J*=5.5 Hz, 8 Н, 4СН₂); 3.3 (s, 4 Н, 2СН₂); 7.5 (d, *J*=9.1 Hz, 4 Н, 4СН); 7.6 (d, *J*=8.2 Hz, 4 Н, 4СН), 9.4 (s, 2 Н, 2NH).

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-морфоліноацетамід) дигідрохлорид (2.89). Вихід продукту реакції 1.075 г (70 %). Т пл. 285 – 286 °С. МН⁺ 439. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 2.6 (t, 8 Н, 2СН₂+2СН₂); 3.1 (s, 4 Н, 2СН₂); 3.8 (t, 8 Н, 2СН₂+2СН₂); 7.5 (d, *J*=8.2 Hz, 4 Н, 4СН); 7.6 (d, *J*=8.2 Hz, 4 Н, 4СН); 9.1 (s, 2 Н, 2NH).

N,N'-Біфеніл-4,4'-диілбіс(2-морфолінопропіламіноацетамід) тетрагідрохлорид (2.90). Вихід продукту реакції 1.360 г (65 %). Т пл. 290 – 291 °С. Спектр ЯМР ¹Н, δ, м.д.: 1.7 (m, *J*=13.6, 6.7, 6.6 Hz, 4 Н, 2СН₂); 2.5 (t, *J*=6.3 Hz, 8 Н, 4СН₂+2СН₂); 2.8 (t, *J*=6.6 Hz, 4 Н, 2СН₂) 3.4 (s, 4 Н, 2СН₂); 3.7 (t, 8 Н, 4СН₂); 7.5 (d, *J*=8.5 Hz, 4 Н, 4СН); 7.6 (d, *J*=8.5 Hz, 4 Н, 4СН); 9.4 (s, 2 Н, 2NH). Спектр ЯМР ¹³С, δ, м.д.: 26.7; 49.1; 53.2; 54.0; 57.3; 67.1; 119.9; 127.4; 136.5; 136.9; 169.9. МН⁺ 553.

4.1.4 Методи синтезу похідних 4{(Е)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}-фенолу

4{(Е)-[(4-Гідроксифеніл)іміно]метил}фенол (2.91). 20 г. (0.164 моль) 5-гідроксибензальдегіду, 17.88 г. (0.164 моль) 4-гідроксианіліну та 250 мл води інтенсивно перемішують при кімнатній температурі протягом 4 годин. Осад, який утворився, відфільтровують та промивають 1 л води. Вихід продукту реакції 29.02 г (83 %). МН⁺ 214.

[4-(2-Бромоетокси)феніл]{(1Е)-[(4-(2-бромоеокси) феніл]метилен}-

амін (2.92). 20 г (0.094 моль) 4{(E)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу (2.91) розчиняють у 150 мл сухого ДМФА. Додають 64 г (0.46 моль) безводного карбонату калію та 215 г (1 моль) 1,4-дибромбутану. Суміш нагрівають, ретельно перемішуючи до 60 °С протягом 24 годин. Розбавляють 600 мл води, промивають хлороформом, органічний шар висушують та розділяють на фракції за допомогою колоночної хроматографії на силікагелі. Вихід реакції становить 8.03 г. (20 %). Т пл. 122 – 124 °С (без розкл.).

[4-(2-Диметиламіноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-диметиламіноетокси)феніл]метилен}амін (2.93). 0.85 г (0.002 моль) [4-(2-бромоетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-бромоетокси)феніл]метилен}аміну (2.92) в 5 мл ретельно підготовленого диметилформаміду та додають 1.35 г (0.01 моль) водного розчину диметиламіну. Після закінчення реакції реакційну суміш розбавляють водою, промивають хлороформом. Екстракт промивають водою до нейтрального рН водного шару. Органічний шар висушують та розділяють на фракції за допомогою колоночної хроматографії на силікагелі. Вихід продукту реакції 0.178 г (25 %). Т пл. 156 – 157 °С. МН⁺ 356.

Аналогічно отримують сполуки 2.94 – 2.97.

[4-(2-Диетиламіноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-диетиламіноетокси)феніл]метилен}амін (2.94). Вихід продукту реакції 0.230 г (28 %). Т пл. 161 – 162 °С. МН⁺ 412.

[4-(2-Піперидиноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-піперидиноетокси)феніл]метилен}амін (2.95). Вихід продукту реакції 0.183 г (21 %). Т пл. 170 – 171 °С. Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д.: 1.5 (m, 4 H₂CH₂); 1.6 (m, 8 H, 4CH₂); 2.5 (t, 8 H, 4CH₂); 2.8 (t, 4 H, 2CH₂); 4.2 (t, J=5.9 Hz, 2 H, CH₂); 4.2 (t, J=5.9 Hz, 2 H, CH₂); 6.9 (d, J=8.8 Hz, 2 H, 2CH); 7.0 (d, J=8.5 Hz, 2 H, 2CH); 7.2 (d, J=8.8 Hz, 2 H, 2CH); 7.8 (d, J=8.8 Hz, 2 H, 2CH); 8.4 (s, 1 H, CH). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м.д.: 24.3; 26.0; 55.1; 57.9; 58.0; 66.3; 114.9; 115.2; 122.1; 129.7; 130.3; 145.5; 157.3; 158.0; 161.4. МН⁺ 436.

[4-(2-Морфоліноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-морфоліноетокси)феніл]ме-

тилен}амін (2.96). Вихід продукту реакції 0.176 г (20 %). Т пл. 175 – 176 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.6 (t, 8 H, 4CH₂); 2.8 (dt, $J=5.1$ Hz, 4 H, 2CH₂); 3.7 (t, 8 H, 4CH₂); 4.1 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H, CH₂); 4.1 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H, CH₂); 6.9 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 6.9 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 7.1 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 7.8 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 8.4 (s, 1 H, CH). Mn^+ 440.

[4-(2-Метиламіноетокси)феніл]{(1E)-[(4-(2-метиламіноаміноетокси)феніл]метилен}амін (2.97). Вихід продукту реакції 0.118 г (18 %). Т пл. 155 – 156 °С. Спектр ЯМР ^1H , δ , м.д.: 2.4 (s, 6 H, 2CH₃); 2.8 (dt, $J=5.1$ Hz, 4 H, 2CH₂); 4.2 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H, CH₂); 4.2 (t, $J=5.6$ Hz, 2 H, CH₂); 6.9 (d, $J=8.6$ Hz, 2 H, 2CH); 6.9 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 7.1 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 7.8 (d, $J=8.3$ Hz, 2 H, 2CH); 8.4 (s, 1 H, CH). Mn^+ 328.

4.2 Метод конкуренції з етидієм бромідом

4.2.1 Метод конкуренції з ЕБ для похідних біфенілу

Приготування вихідних концентрованих розчинів

Розчиняють 0.014 г ДНК селезінки великої рогатої худоби у 100 см³ води (одержують р-н “*AI*”). Розчиняють 2.18 г NaCl у 100 см³ води (одержують р-н “*BI*”). Розчиняють 0.144 г ЕДТА у 100 см³ води (одержують р-н “*CI*”). Розчиняють 0.02 г етидію броміду у 100 см³ води; одержують розчин з концентрацією 2.536×10^{-4} М (р-н “*EI*”).

Приготування концентрованого буферного розчину (р-н “*D1*”)

Розчиняють у склянці на 50 см³ 1.64 г безводного ацетату натрію в 20 см³ води і додають крапля за краплею розведenu водою (1:3) оцтову кислоту світлофільтру транслюмінатору до рН = 5 (контролюють рН за допомогою повіреного й відкаліброваного рН-метру). Вміст склянки кількісно переносять у мірну колбу на 1000 см³ і доводять водою до відмітини.

Приготування концентрованого робочого розчину “*S1*”

Вносять у мірну колбу на 500 см³ 50 см³ розчину *AI*, 50 см³ розчину *BI*, 50 см³ розчину *EI*, 50 см³ розчину *CI* та 200 см³ розчину *D1*. Доводять водою до

відмітини.

Приготування розведеного робочого розчину “S2”

До мірної колби об'ємом 100 см³ додають 50 см³ розчину *S1* та доводять водою до відмітини.

Приготування розчину ліганду

У склянку об'ємом 25 см³ додають розраховану кількість ліганду та розчиняють у 10 см³ води.

Підготовка планшету

Для експериментів використовують 96-лункові планшети для імуноферментного аналізу з плоскими дном лунок, виготовлені з полістиролу. Перед експериментами та між експериментами лунки планшету ретельно промивають 20 % водним етанолом, дистильованою водою (тричі), струшують та висушують на повітрі при кімнатній температурі, або підсушують побутовим феном при мінімальному нагріві.

Приготування розчинів в планшеті

Для проведення експерименту в лунки A1, C1, E1, G1 додають 100 мкл розчину *S1* (за п. 0), в лунки A2 – A12 та B1 – B11 – 100 мкл розчину *S2* (за п. 0). В лунку B12 додають 100 мкл води дистильованої. Аналогічно поступають з наступними серіями розчинів (паралельні експерименти та/або інші сполуки), відводячи для них рядки C-D, E-F, G-H.

Відбирають дозатором 100 мкл розчину з лунки A1, додають їх в лунку A2, ретельно перемішують піпетуванням, відбирають 100 мкл та переносять в лунку A3, і т.д. Такі послідовні розведення проводять до лунки A12, з якої переносять розчин до лунки B1 та продовжують до лунки B10, з якої відбирають надмірні 100 мкл розчину, які викидають. Аналогічно поступають з рештою розчинів в рядках C-D, E-F, G-H.

4.2.2 Метод конкуренції з ЕБ для похідних 4{(Е)-[(4-гідроксифеніл)іміно]метил}фенолу

Приготування вихідних концентрованих розчинів

Розчиняють 0.014 г ДНК селезінки великої рогатої худоби у 100 см³ води (одержують р-н “*AI*”). Розчиняють 2.18 г NaCl у 100 см³ води (одержують р-н “*BI*”). Розчиняють 0.144 г ЕДТА у 100 см³ води (одержують р-н “*CI*”). Розчиняють 0.02 г етидію броміду у 100 см³ води; одержують розчин з концентрацією 2.536×10^{-4} М (р-н “*EI*”).

Приготування концентрованого буферного розчину (р-н “*D1*”)

Розчиняють у склянці на 50 см³ 1.64 г безводного ацетату натрію в 20 см³ води і додають крапля за краплею розведену водою (1:3) оцтову кислоту до рН = 7.4 (контролюють рН за допомогою повіреного й відкаліброваного рН-метра). Вміст склянки кількісно переносять у мірну колбу на 1000 см³ і доводять водою до відмітини.

Приготування концентрованого робочого розчину “*S1*”

Вносять у мірну колбу на 500 см³ 50 см³ розчину *AI*, 50 см³ розчину *BI*, 50 см³ розчину *EI*, 50 см³ розчину *CI* та 200 см³ розчину *DI*. Доводять водою до відмітини.

Приготування розведеного робочого розчину “*S2*”

До мірної колби об'ємом 100 см³ додають 50 см³ розчину *S1* та доводять водою до відмітини.

Приготування розчину ліганду

У пеніциліновий флакон додають розраховану кількість ліганду та розчиняють у 0.2 см³ диметилсульфоксиду.

Підготовка планшету

Для експериментів використовують 96-лункові планшети для імуноферментного аналізу з плоскими дном лунок, виготовлені з полістиролу. Перед експериментами та між експериментами лунки планшету ретельно промивають 20 % водним етанолом, дистильованою водою (тричі), струшують та висушують на повітрі при кімнатній температурі, або підсушують побутовим

феном при мінімальному нагріві.

Приготування розчинів в планшеті

Для проведення експерименту в лунки A1, C1, E1, G1 додають 160 мкл розчину S2 та 40 мкл розчину ліганду XI, в лунки A2 – A12 та B1 – B11 – 80 мкл розчину S2 (за п. 0) та 20 мкл диметилсульфоксиду. Аналогічно поступають з наступними серіями розчинів (паралельні експерименти та/або інші сполуки), відводячи для них рядки C-D, E-F, G-H.

Відбирають дозатором 100 мкл розчину з лунки A1, додають їх в лунку A2, ретельно перемішують піпетуванням, відбирають 100 мкл та переносять в лунку A3, і т.д. Такі послідовні розведення проводять до лунки A12, з якої переносять розчин до лунки B1 та продовжують до лунки B10, з якої відбирають надмірні 100 мкл розчину, які викидають. Аналогічно поступають з рештою розчинів в рядках C-D, E-F, G-H.

4.3 Метод віскозиметричного дослідження способу взаємодії з ДНК

Визначення в'язкості розчинів проводять методом, що описано в [108]. Для вимірів готують розчини ліганду різної концентрації з використанням буферних розчинів χ .

Додають 10 см³ буферного розчину через скляний фільтр в ліву, розширену, частину віскозиметру. Через гумову трубку, надіту на кінець, всмоктують розчин у вимірювальну кульку вище мітки *a*. Потім всмоктування припиняють і дають рідині стікати вниз під впливом власної ваги. Відлік часу, необхідного для повного витікання об'єму рідини між двома позначками на вимірювальній кульці, ведуть за допомогою секундоміру. Час витікання (в секундах) використовують для розрахунку в'язкості (η) рідини. Кожний вимір повторюють щонайменше тричі, використовуючи для розрахунків середньо арифметичне.

Аналогічно чинять з розчинами ДНК та суміші ДНК і досліджуваного ліганду. Якщо досліджувана речовина є інтеркалятором ДНК, в'язкість розчину ДНК у присутності ліганду має перевищувати в'язкість розчину ДНК тої ж самої концентрації за відсутності ліганду. Враховують тільки в тому випадку, як-

що

$$\frac{\eta_x - \eta_0}{\eta_0} \geq 0.05,$$

де η_x – в'язкість розчину, що містить ДНК та досліджувану речовину, η_0 – в'язкість розчину, що містить тільки ДНК. При перших експериментах замість значень в'язкості можна використовувати час витікання розчину з віскозиметру.

4.4 Визначення гемолітичної активності

4.4.1 Приготування робочої суспензії еритроцитів

Отриману суспензію еритроцитів здорових донорів 0(I) групи Rh + переносять у поліпропіленові пробірки для центрифугування місткістю 15 см³, центрифугують за допомогою центрифуги лабораторної клінічної ОПн-3.02 протягом 10 хвилин при 3000 об/хв. Супернатант ретельно відбирають. До осаду додають 7 – 8 см³ ізотонічного фосфатного буфера. Повільно (обережно) перемішують, центрифугують протягом 10 хвилин при 3000 об/хв. Процедуру повторюють двічі. До осаду додають 10 см³ ізотонічного фосфатного буфера, повільно перемішують.

Розрахунок концентрації суспензії еритроцитів проводять підрахунком кількості еритроцитів за допомогою камери Горяєва в світовому мікроскопі.

У мірну колбу об'ємом 25 см³ приливають приблизно 15 см³ ізотонічного фосфатного буфера, додають 0.025 см³ суспензії еритроцитів. Повільно перемішують, доводять ізотонічним фосфатним буфером до мітки. Для підрахунку еритроцитів беруть краплю отриманого розчину, вносять під покривне скло камери Горяєва. Заповнену камеру поміщають під мікроскоп, за допомогою малого збільшення проводять підрахунок еритроцитів у 5 більших квадратах сітки, що в свою чергу розділені на 16 малих.

Концентрацію суспензії еритроцитів розраховують за 4.1:

$$N = 5 \times 10^4 \times \frac{v_E + v_B}{v_E} \sum_{i=1}^5 n_i, \quad (4.1)$$

де N – кількість еритроцитів в 1 см^3 зразку суспензії еритроцитів; v_E – об'єм суспензії еритроцитів, взятої для визначення; v_B – об'єм ізотонічного буферного розчину, взятого для розбавлення суспензії еритроцитів; n_i – кількість еритроцитів, підрахована в великому квадраті камери Горяєва

Концентрація робочої суспензії еритроцитів становить $2 \times 10^4 \text{ кл/см}^3$.

4.4.2 Гемоліз еритроцитів

У пробірку типу Епендорф об'ємом 1.5 см^3 додають 0.65 см^3 робочої суспензії еритроцитів. У пробірку К0 ("нульовий контроль") додають 0.65 см^3 ізотонічного фосфатного буфера. У пробірку К100 ("контроль 100") додають 0.62 см^3 ізотонічного фосфатного буфера та 0.03 см^3 10 % розчину Triton X-100 в ізотонічному фосфатному буфері. У експериментальні пробірки додають по 0.65 см^3 відповідних розчинів речовин, що вивчаються. Вміст пробірок повільно перемішують. Інкують протягом 30 хвилин при температурі 37°C . Центрифугують протягом 5 хвилин при 10000 об/хв у мікроцентрифузі (type-320a, Mechanica Precyzyjna, Польща). Супернатант переносять до фотометричної кювети. Для кожної концентрації досліджуваної речовини проводять три незалежних паралельних експерименти.

Використовуючи ФЕК, реєструють значення пропускання ($T, \%$) із світлофільтром "400 нм" (чутливість 2, товщина кювети 3.13 мм). Якщо значення $T, \%$ менші за 30 %, супернатант розбавляють ізотонічним буферним розчином, враховуючи це при визначенні оптичної густини супернатанту (множенням отриманого значення оптичної густини на ступінь розбавлення).

4.4.3 Розрахунок рівня гемолізу із значень пропускання

З кожного отриманого значення T розраховують оптичну густину (для використаної кювети) за формулою 4.2 [109]:

$$A = 2 - \lg T, \% \quad (4.2)$$

Із значень оптичної густини для паралельних експериментів за рівняннями

4.3 та 4.4 вираховують середнє та дисперсію (для $\alpha = 0.95$) [110]:

$$\bar{A} = \frac{1}{3} \sum A_i; \quad (4.3)$$

$$s_n^2 = \frac{\sum(\bar{A} - A_i)^2}{3}. \quad (4.4)$$

Значення рівня гемолізу для кожної конкретної експериментальної серії (з трьох паралельних) вираховують за рівнянням 4.5 [80]:

$$H_R = \frac{\bar{A}_j - \bar{A}_0}{\bar{A}_{100} - \bar{A}_0} \times 100\%. \quad (4.5)$$

У всіх експериментах довірчий інтервал для отриманих значень H_R не перевищував 1 % (значення H_R).

4.5 Методи проведення докінгу

Докінг аміноалкоксибіфенілів був проведений за допомогою програми МОЕ 2011.10. Комплекси ДНК з нетропсином завантажені з інтернет сайту <http://www.rcsb.org/pdb> та використовувались як мішені для докінгу. Мішені підготовлені протонуванням, видаленням води, яка не зв'язана з комплексом, та мінімізацією енергії. Мінімізація енергії виконувалась за допомогою силового поля Amber99. Для оцінки коректності підготовки мішені був проведений редокінг, результати якого представлені в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Результати редокінга

pdb	195D	1DNE	1Z8V	1DVL	2LWH	4U8B
<i>SF</i>	-18.87	-15.30	-16.19	-16.73	-16.96	-13.98
σ	1.65	1.99	2.08	1.78	2.13	0.92

σ – середньоквадратична похибка

Результати редокінга показали, що всі мішені можуть бути використані для докінга цільових сполук. Докінг похідних біфенілу виконували за допомогою скорінг-функції London dG [111] та Triangle Matcher Placement. Для оцінки якості зв'язування випадку комплексів з нетропсином використовувалось два підходи: позиція з найменшою енергією та позиція з найкращим накладанням на нетропсин у сокупності з співпадінням центрів зв'язування.

Таблиця 4.2 – Значення коефіцієнта рангової кореляції Kendall tau

pdb	195D	1DNE	1Z8V	1DVL	2LWH
Kendall tau	0.19	-0.05	-0.04	-0.75*	-0.08
p	0.36	0.79	0.86	1.7×10^{-4}	0.7
Kendall tau	-0.24	-0.19	0.18	-0.82	-0.13
p	0.25	0.36	0.4	1.2×10^{-5}	0.52

^a мінімальне значення SF , ^b схожість механізму зв'язування, * на рівні значущості $(\alpha) = 0.01$ значення коефіцієнту Kendall tau повинно бути не менше, ніж $|-0.64|$ для підтвердження кореляції [112].

Враховуючи дані, представлені в табл. 4.2, кореляція між SF та $lgKa$ була розрахована з використанням мінімального значення SF .

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. Найбільший вплив на активність чинить довжина бокового ланцюга, внесок будови термінальної аміногрупи є незначним або, навіть, незначущим.
2. Показано, що галогеноалкілювання 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 афінітет 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 дигідроксибіфенілу та їх аналоги не є інтеркаляторами ДНК. Афінітет до ДНК досліджених похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу приблизно на 2 порядки нижчий за афінітет 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 афінітету до ДНК близьких за структурою сполук.

5. 4,4'-Біс-(ω -аміноалкокси)біфеніли проявили протівірусну активність проти вірусу везикулярного стоматиту на клітинах L929. Подовження аміноалкоксильного ланцюга призводить до зниження протівірусної активності та водночас до зростання цитотоксичності та здатності до гемолізу. Найвищі показники протівірусної 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 індукваного інтерферону знаходяться на рівні титрів, індукваних аміксином або перевищують його; наявність бактеріостатичної та бактеріцидної дії у сукупності з високою протівірусною активністю та низькою цитотоксичністю дозволяє розглядати 4,4'-заміщені біфеніли як перспективні сполуки для подальшого дослідження.

JIITEPATYPA

- [1] M. P. Johansson and J. Olsen, "Torsional barriers and equilibrium angle of biphenyl: Reconciling theory with experiment," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 4, no. 9, pp. 1460–1471, 2008.
- [2] F. Grein, "Twist angles and rotational energy barriers of biphenyl and substituted biphenyls," *J. Phys. Chem. A*, vol. 106, no. 15, pp. 3823–3827, 2002.
- [3] O. V Grineva, "Conformations and intermolecular contacts of 4- and 4,4'-substituted biphenyl molecules in crystals," *J. Struct. Chem.*, vol. 50, no. 4, pp. 727–734, 2009.
- [4] M. A. El Hassan and C. R. Calladine, "Propeller-Twisting of Base-pairs and the Conformational Mobility of Dinucleotide Steps in DNA," *J. Mol. Biol.*, vol. 259, no. 1, pp. 95–103, 1996.
- [5] C. Brotschi, G. Mathis, and C. J. Leumann, "Bipyridyl- and biphenyl-DNA: A recognition motif based on interstrand aromatic stacking," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 11, no. 6, pp. 1911–1923, 2005.
- [6] P. T. Weiser, A. B. Williams, C.-Y. Chang, D. P. McDonnell, and R. N. Hanson, "3,3'-Disubstituted bipolar biphenyls as inhibitors of nuclear receptor coactivator binding," 2012.
- [7] Y. J. Kim, J. K. No, J. H. Lee, and H. Y. Chung, "4,4'-prime;-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor," *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 28, no. 2, pp. 323–327, 2005.
- [8] J. K. No, Y. J. Kim, J. S. Lee, and H. Y. Chung, "Inhibition of Melanogenic Activity by 4,4'-Dihydroxybiphenyl in Melanoma Cells," *Biol. Pharm. Bull.*, vol. 29, no. 1, pp. 14–16, 2006.
- [9] A. Yoshikawa, Y. Saito, and K. Maruyama, "Lignan compounds and 4,4'-dihydroxybiphenyl protect C2C12 cells against damage from oxidative stress," *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 344, no. 1, pp. 394–399, 2006.

- [10] C. A. Briggs, M. R. Schrimpf, D. J. Anderson, E. J. Gubbins, J. H. Grønlien, M. Håkerud, H. Ween, K. Thorin-Hagene, J. Malysz, J. Li, W. H. Bunnelle, M. Gopalakrishnan, and M. D. Meyer, “ $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist properties of tilorone and related tricyclic analogues,” *Br. J. Pharmacol.*, vol. 153, no. 5, pp. 1054–1061, 2009.
- [11] K. J. Tracey, L. V. Borovikova, S. Ivanova, M. Zhang, H. Yang, G. I. Botchkina, L. R. Watkins, H. Wang, N. Abumrad, and J. W. Eaton, “Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin,” *Nature*, vol. 405, no. 6785, pp. 458–462, May 2000.
- [12] V. a Pavlov and K. J. Tracey, “Controlling inflammation: the cholinergic anti-inflammatory pathway,” *Biochem. Soc. Trans.*, vol. 34, no. Pt 6, pp. 1037–1040, 2006.
- [13] R. R. Ratan, A. Siddiq, L. Aminova, B. Langley, S. McConoughey, K. Karpisheva, H.-H. Lee, T. Carmichael, H. Kornblum, G. Coppola, D. H. Geschwind, A. Hoke, N. Smirnova, C. Rink, S. Roy, C. Sen, M. S. Beattie, R. P. Hart, M. Grumet, D. Sun, R. S. Freeman, G. L. Semenza, and I. Gazaryan, “Small molecule activation of adaptive gene expression,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1147, pp. 383–394, 2008.
- [14] M. R. Schrimpf, K. B. Sippy, C. A. Briggs, D. J. Anderson, T. Li, J. Ji, J. M. Frost, C. S. Surowy, W. H. Bunnelle, M. Gopalakrishnan, and M. D. Meyer, “SAR of $\alpha 7$ nicotinic receptor agonists derived from tilorone: Exploration of a novel nicotinic pharmacophore,” *Bioorganic & Med. Chem. Lett.*, vol. 22, no. 4, pp. 1633–1638, 2012.
- [15] E. Mantione, S. Micheloni, C. Alcaino, K. New, S. Mazzaferro, and I. Bermudez, “Allosteric modulators of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors: a new direction for antidepressant drug discovery,” *Future Med. Chem.*, vol. 4, no. 17, pp. 2217–2230, 2012.
- [16] G. Cavallini and E. Massarani, “The Concept of a Supporting Moiety as Applied to the Synthesis of Anti-viral Compounds,” *J. Med. Pharm. Chem.*,

- vol. 1, no. 4, pp. 365–370, 1959.
- [17] G. Cavallini, E. Massarani, and D. Nardi, “Antiviral Compounds--II. Reaction of 4-Biphenylglyoxal with p-Aminobenzoic Acid and Related Structures,” *J. Med. Pharm. Chem.*, vol. 2, no. 1, pp. 99–106, 1960.
- [18] L. G. Pedersen, T. A. Darden, S. J. Oatley, and J. D. McKinney, “A theoretical study of the binding of polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzodioxins, and dibenzofuran to human plasma prealbumin,” *J Med Chem*, vol. 29, no. 12, pp. 2451–2457, 1986.
- [19] O. S. Bogorad-Kobelska, N. M. Zholobak, O. V Dolga, G. V Maltzev, S. A. Lyakhov, S. A. Andronati, and M. Y. Spivak, “Diphenyl Derivatives: Cytotoxicity, Antiviral and IFN-inducing Activities in vitro,” *Int. J. Biomed.*, vol. 1, no. 3, pp. 153–157, 2011.
- [20] А. Н. Дуган, В. С. Журков, та С. К. Абелев, “Критерии учета мутагенных эффектов в тесте Эймса,” *Цитология и генетика*, вип. 24, № 6, сс. 41–45, 1990.
- [21] O. S. Bogorad-Kobelska, Y. M. Bogdan, N. M. Zholobak, G. V Maltzev, S. A. Lyakhov, S. A. Andronati, and M. Y. Spivak, “Effect of diphenyl derivatives on the spontaneous mutagenesis in *Salmonella typhimurium*,” *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, вип. 3, № 1, сс. 3–6, 2011.
- [22] O. S. Богорад-Кобельська, С. М. Дибкова, та З. М. Олевінська, “Вивчення генотоксичності нових противірусних сполук – похідних дифенілу,” *Тези Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених “Актуальні питання сучасної медицини”, 19-20 квітня, 2012, Харків, 2012*, сс. 31–32.
- [23] O. S. Богорад-Кобельська, Н. М. Жолобак, З. М. Олевінська, та М. Я. Співак, “Активність похідних дифенілу на різних модельних системах вірус - клітина,” *Фізіологічний журнал*, вип. 58, № 1, сс. 36–42, 2012.
- [24] O. S. Кобельська, Н. М. Жолобак, З. М. Олевінська, та М. Я. Співак,

- “Вивчення можливостей використання ‘Аміксину’ та похідних дифенілу при герпесвірусній інфекції *in vitro*,” *Нове у діагностиці, лікуванні і профілактиці імунно- та алергопатологій, 14-16 жовтня, 2009, Львів., 2009*, сс. 148–149.
- [25] G. V Antonovych, O. S. Bogorad-Kobelska, and N. M. Zholobak, “New antiviral substances of indoloquinoline and diphenyl nature,” *Abstracts of the 24-th International Conference on Antiviral Research, May 8–11, 2011, Sofia, Bulgaria, 2011*, p. A35.
- [26] Д. С. Шай, Н. М. Жолобак, та М. Я. Співак, “Протигерпетична та інтерфероногенна дія нових оригінальних індукторів інтерферону – аналогів аміксину,” *Імунологія та алергологія наука і практика*, вип. 3, № 2, с. 74, 2007.
- [27] О. С. Богорад-Кобельська, Н. М. Жолобак, та З. М. Олевінська, “Продукція інтерферона Т-лимфоцитами миши, обробленими аміксином и его аналогами,” *Імунологія та алергологія наука і практика*, вип. 6, № 2, сс. 32–36, 2010.
- [28] Д. С. Шай, Н. М. Жолобак, та М. Я. Співак, “Стан системи інтерферону у мишей, оброблених аміксином та його аналогами,” *Імунологія та алергологія наука і практика.*, вип. 3, № 1, сс. 22–23, 2007.
- [29] О. В. Долга, Н. Х. Погорела, О. С. Богорад-Кобельська, Н. М. Жолобак, С. О. Заноза, С. А. Ляхов, та І. С. Магура, “Вплив похідних дифенілу на електрофоретичну рухомість Т-лімфоцитів селезінки миші,” *Фізіологічний журнал*, вип. 59, № 3, сс. 31–38, 2013.
- [30] Е. С. Кобельская, Н. М. Жолобак, Е. В. Долгая, И. С. Магура, “Сравнение электрофоретической подвижности Т-лимфоцитов под действием ‘Амиксина’ и производных дифенила,” *Матеріали IV Міжнародної конференції молодих науковців “Біологія: від молекули до біосфери”, 17–21 листопада, 2009, Харків., 2009*, сс. 86–87.
- [31] Е. В. Долгая, Н. Х. Погорелая, Е. С. Богорад–Кобельская, “Влияние

- производных дифенила на поверхностный заряд Т-лимфоцитов селезенки мыши,” *Научные труды III Съезда физиологов СНГ, 1 – 6 октября, 2011, Ялта, 2011, с. 173.*
- [32] N. M. Zholobak, N. S. Kavok, O. S. Bogorad-Kobelska, I. A. Borovoy, M. Y. Maluyukina, та M. Y. Spivak, “Effect of tilorone and its analogues on the change of mitochondrial potential of rat hepatocytes,” *Fiziol. Zh.*, vol. 58, no. 2, pp. 39–43, 2012.
- [33] О. С. Богорад–Кобельська, Н. М. Жолобак, та Н. С. Кавок, “Зміна потенціалу плазматичної мембрани клітини під дією похідних дифенілу,” *Матеріали II Міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих учених “Фундаментальні та прикладні дослідження в біології”, 19 – 22 вересня, 2011, Донецьк, 2011, сс. 220–221.*
- [34] О. С. Богорад-Кобельська, Н. М. Жолобак, З. М. Олевінська, та М. Я. Співак, “Мембранотропна дія похідних дифенілу як основа їх інтерферогенної активності,” *Тези конференції, присвяченої 50-річчю кафедри вірусології “Вірусологія: минуле, сьогодні, майбутнє”, 12 квітня, 2012, Київ, 2012, сс. 11–12.*
- [35] О. С. Кобельська, Н. М. Жолобак, М. Я. Співак, О. М. Перепелиціна, Г. В. Мальцев, та С. А. Ляхов, “Похідні дифенілу: Токсичність та здатність до індукції інтерферону в культурі пухлинних клітин,” *Ветеринарні біотехнології, № 15, сс. 151–156, 2009.*
- [36] J. Lee, E. Jung, J. Park, K. Jung, S. Lee, S. Hong, J. Park, E. Park, J. Kim, S. Park, and D. Park, “Anti-Inflammatory Effects of Magnolol and Honokiol are Mediated through Inhibition of the Downstream Pathway of MEKK-1 in NF- κ B Activation Signaling,” *Planta Med.*, vol. 71, no. 4, pp. 338–343, 2005.
- [37] X. Bai, F. Cerimele, M. Ushio-Fukai, M. Waqas, P. M. Campbell, B. Govindarajan, C. J. Der, T. Battle, D. A. Frank, K. Ye, E. Murad, W. Dubiel, G. Soff, and J. L. Arbiser, “Honokiol, a small molecular weight natural product, inhibits angiogenesis in vitro and tumor growth in vivo,” *J. Biol. Chem.*, vol.

- 278, no. 37, pp. 35501–35507, 2003.
- [38] J. M. Lin, a S. Prakasha Gowda, A. K. Sharma, and S. Amin, “In vitro growth inhibition of human cancer cells by novel honokiol analogs.,” *Bioorganic & Med. Chem.*, vol. 20, no. 10, pp. 3202–3211, 2012.
- [39] C. Turrado, T. Puig, J. García-Cárceles, M. Artola, B. Benhamú, S. Ortega-Gutiérrez, J. Relat, G. Oliveras, A. Blancafort, D. Haro, P. F. Marrero, R. Colomer, and M. L. López-Rodríguez, “New Synthetic Inhibitors of Fatty Acid Synthase with Anticancer Activity,” *J. Med. Chem.*, vol. 55, no. 11, pp. 5013–5023, 2012.
- [40] B. Lin, K. McGuire, B. Liu, J. Jamison, and C. Tsai, “Synthesis and anticancer activity of a hydroxytolan series,” *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, vol. 26, no. 18, pp. 4451–4454, Sep. 2016.
- [41] R. Martí-Centelles, R. Cejudo-Marín, E. Falomir, J. Murga, M. Carda, and J. Alberto Marco, “Inhibition of VEGF expression in cancer cells and endothelial cell differentiation by synthetic stilbene derivatives,” *Bioorganic & Med. Chem.*, vol. 21, no. 11, pp. 3010–3015, 2013.
- [42] H. C. Polonini, L. L. Lima, K. M. Gonçalves, A. M. R. Do Carmo, A. D. Da Silva, and N. R. B. Raposo, “Photoprotective activity of resveratrol analogues,” *Bioorganic & Med. Chem.*, vol. 21, no. 4, pp. 964–968, 2013.
- [43] A. Siddiqui, P. Dandawate, R. Rub, S. Padhye, S. Aphale, A. Moghe, A. Jagyasi, K. V. Swamy, B. Singh, A. Chatterjee, A. Ronghe, and H. K. Bhat, “Novel Aza-resveratrol analogs: Synthesis, characterization and anticancer activity against breast cancer cell lines,” *Bioorganic & Med. Chem. Lett.*, vol. 23, no. 3, pp. 635–640, 2013.
- [44] S. Y. Li, X. B. Wang, and L. Y. Kong, “Design, synthesis and biological evaluation of imine resveratrol derivatives as multi-targeted agents against Alzheimer’s disease,” *Eur. J. Med. Chem.*, vol. 71, pp. 36–45, 2014.
- [45] J. L. Ballard and R. L. Jenkins, “Nitration of diphenyl.” Google Patents, 1936.
- [46] А. Ф. Платэ, *Синтезы органических препаратов: Пер. с англ.Т2*. Москва:

- Гос. изд-во иностр. лит., 1949.
- [47] R. Taylor, "The ortho: para ratio in the nitration of biphenyl," *J. Chem. Soc. B Phys. Org.*, no. 0, pp. 727–733, 1966.
- [48] R. B. Moodie, K. Schofield, and A. R. Wait, "Electrophilic aromatic substitution. Part 31. The kinetics and products of nitration of naphthalene, biphenyl, and some reactive monocyclic aromatic substrates in aqueous phosphoric acid containing nitric acid or propyl nitrate," *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, no. 5, pp. 921–926, 1984.
- [49] E. Berliner and J. C. Powers, "The Bromination of Biphenyl and Benzene in 50% Aqueous Acetic Acid," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 83, no. 4, pp. 905–909, 1961.
- [50] A. J. Grant and C. James, "A STUDY OF SOME RARE EARTH COMPOUNDS.," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 39, no. 5, pp. 933–937, 1917.
- [51] W. C. Stoesser and R. F. Marschner, "Sodium diphenyl-para-sulphonate and method of making same." Google Patents, 1934.
- [52] F. Wreden, "aus St. Petersburg vom 6./18. Februar 1873," *Berichte der Dtsch. Chem. Gesellschaft*, vol. 6, no. 1, pp. 193–197, 1873.
- [53] J. Feldmann, "Neue Derivate des Diphenyls," *Helv. Chim. Acta*, vol. 14, no. 4, pp. 751–778, 1931.
- [54] R. Fittig, "Ueber einige Derivate des Diphenyls," *Ann. der Chemie und Pharm.*, vol. 132, no. 2, pp. 201–215, 1864.
- [55] J. Pollak, M. Heimberg-Krauß, E. Katscher, and O. Lustig, "Über die Einwirkung von Chlorsulfonsäure auf zyklische Kohlenwasserstoffe," *Monatshefte für Chemie*, vol. 55, no. 1, pp. 358–378, 1930.
- [56] Д. Стилл та Т. Кеипбел., *Мономеры для поликонденсации: Пер. с англ.* Москва: Мир, 1976.
- [57] Y. Ding, A. R. Hlil, A. S. Hay, E. Tsuchida, and K. Miyatake, "Syntheses of Semicrystalline Aromatic Poly(thioether thioether ketone)s (PTTK and PTBTK) and Their Copolymers with Ether Analogues," *Macromolecules*, vol.

- 32, no. 2, pp. 315–321, 1999.
- [58] К. В. Вацуро та Г. Л. Мищенко, *Именные реакции в органической химии: Справочник*. Москва: Химия, 1976.
- [59] K. Abiraj, G. R. Srinivasa, and D. C. Gowda, “Novel and Efficient Synthesis of Symmetrical Functionalized Biaryls Using Zinc and Triethylammonium Formate,” *Synlett*, no. 5, pp. 877–879, 2004.
- [60] F. Lu, “Vanadium(IV) tetrachloride catalyzed oxidative homo-coupling of aryl lithium under mild reaction condition,” *Tetrahedron Lett.*, vol. 53, no. 19, pp. 2444–2446, 2012.
- [61] E. A. Bickley and J. H. Gardner, “The action of grignard reagents on heavy metal salts. IV. The mechanism of the reaction with silver bromide,” *J. Org. Chem.*, vol. 5, no. 2, pp. 126–132, 1940.
- [62] X. Wang, D. Huang, X. Wang, X. Zeng, X. Wang, and Y. Hu, “Copper(II) triflate-catalyzed direct arylation for synthesis of biphenyls using diaryliodonium salts as arylating reagents,” *Tetrahedron Lett.*, vol. 57, no. 37, pp. 4235–4238, 2016.
- [63] H. Tran, T. McCallum, M. Morin, and L. Barriault, “Homocoupling of Iodoarenes and Bromoalkanes Using Photoredox Gold Catalysis: A Light Enabled Au(III) Reductive Elimination,” *Org. Lett.*, vol. 18, no. 17, pp. 4308–4311, 2016.
- [64] W. L. Carrick, G. L. Karapinka, and G. T. Kwiatkowski, “Oxidative coupling of phenols using vanadium tetrachloride and vanadium oxytrichloride,” *J. Org. Chem.*, vol. 34, no. 8, pp. 2388–2392, 1969.
- [65] N. Miyaura, T. Yanagi, and A. Suzuki, “The Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Phenylboronic Acid with Haloarenes in the Presence of Bases,” *Synth. Commun.*, vol. 11, no. 7, pp. 513–519, 1981.
- [66] N. Miyaura and A. Suzuki, “Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds,” *Chem. Rev.*, vol. 95, no. 7, pp. 2457–2483, 1995.
- [67] J. K. Stille, A. M. Echavarren, R. M. Williams, and J. A. Hendrix, “4-Methoxy-

- 4'-nitrobiphenyl," *Org. Synth.*, vol. 71, p. 97, 1993.
- [68] S. A. Lyakhov and S. A. Andronati, "Polymodal antiviral fluorenones and acridine derivatives," *Международный семинар «Организация научных исследований и высшего образования в Израиле и Украине»*, 1994, сс. 52–53.
- [69] S. A. Lyakhov, S. A. Andronati, and Y. I. Suveyzdis, "New approach to the antiviral drug design," *XIVth international symposium on medicinal chemistry*, 1996, с. 1.34.
- [70] S. A. Lyakhov, "Intercalative antiviral drugs: mode of action," *6th International Symposium on Molecular Aspects Of Chemotherapy*, 1997, с. 137.
- [71] Ф. И. Ершов, *Интерфероны и их индукторы (от молекул до лекарств)*. Москва: Гэотар-Медиа, 2005.
- [72] R. L. Miller, T.-C. Meng, and M. A. Tomai, "The antiviral activity of Toll-like receptor 7 and 7/8 agonists.," *Drug news & Perspect.*, vol. 21, no. 2, pp. 69–87, 2008.
- [73] M. Lamphier, W. Zheng, E. Latz, M. Spyvee, H. Hansen, J. Rose, M. Genest, H. Yang, C. Shaffer, Y. Zhao, Y. Shen, C. Liu, D. Liu, T. R. Mempel, C. Rowbottom, J. Chow, N. C. Twine, M. Yu, F. Gusovsky, and S. T. Ishizaka, "Novel Small Molecule Inhibitors of TLR7 and TLR9: Mechanism of Action and Efficacy In Vivo," *Mol. Pharmacol.*, vol. 85, no. 3, pp. 429–440, 2014.
- [74] A. L. Wilds, C. H. Shunk, and C. H. Hoffman, "Steroid Analogs Lacking Ring C. III. Synthesis of 4-(trans-4'-Hydroxycyclohexyl)-cyclohexanone," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 76, no. 7, pp. 1733–1736, 1954.
- [75] С. О. Фернандес де Рівес, 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.
- [76] С. О. Заноза, Г. В. Мальцев, С. А. Ляхов, С. А. Андронаті,

- О. С. Зубрицький, М.Ю. Богорад-Кобельська, О. В. Плотка, Н. М. Жолобак, та М. Я. Співак, “Синтез і цитотоксичність аміноетоксибіфенілів,” *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*, вип. 12, № 3, сс. 38–44, 2014.
- [77] С. О. Заноза, С. А. Ляхов, Т. І. Бикова, та 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*, вип. 1, № 21, сс. 102–108, 2016.
- [78] 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.
- [79] K. Tanaka, R. Shiraishi, F. Toda, and G. Kaupp, “Clean and efficient condensation reactions of aldehydes and amines in a water suspension medium,” *Green Chem.*, vol. 2, no. 6, pp. 272–273, 2000.
- [80] K. A. Metwally, L. M. Abdel-Aziz, E.-S. M. Lashine, M. I. Husseiny, and R. H. Badawy, “Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides: Synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents,” *Bioorganic & Med. Chem.*, vol. 14, no. 24, pp. 8675–8682, 2006.
- [81] С. О. Заноза, Г. В. Мальцев, Т. І. Бикова, С. А. Ляхов, М. Ю. Зубрицький, та С. А. Андронаті, “Синтез і гемолітичні властивості похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу,” *Ukr. Bioorganica Acta*, вип. 12, № 2, сс. 3–9, 2014.
- [82] С. О. Заноза, 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.
- [83] 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*, vol. 16, no. 4, pp. 276–

281, 2014.

- [84] T. I. Bykova and S. A. Zanoza, “Antiviral, hemolitical and cytotoxic properties of 4,4’-bis-aminoalkoxybiphenyls,” in *International conference for young scientists “Actual problems of microbiology and biotechnology,”* 2015, p. 60.
- [85] Т. М. Фурзікова, М. Г. Сергійчук, В. В. Власенко, Ю. В. Швець, та В. К. Позур, *Мікробіологія. Практикум*. Київ, 2006.
- [86] I. A. Schepetkin, L. N. Kirpotina, A. I. Khlebnikov, T. S. Hanks, I. Kochetkova, D. W. Pascual, M. A. Jutila, and M. T. Quinn, “Identification and Characterization of a Novel Class of c-Jun N-terminal Kinase Inhibitors,” *Mol. Pharmacol.*, vol. 81, no. 6, pp. 832–845, 2012.
- [87] P. Kovacic and L. P. Wakelin, “Review: DNA molecular electrostatic potential: novel perspectives for the mechanism of action of anticancer drugs involving electron transfer and oxidative stress.,” *Anticancer. Drug Des.*, vol. 16, no. 4–5, pp. 175–184.
- [88] С. М. Ярмолюк, “Дизайн флуоресцентних зондів на основі ціанінових барвників для нук-леїнових кислот та білків (дис.),” Київ, 2005.
- [89] B. H. Geierstanger and D. E. Wemmer, “Complexes of the Minor Groove of DNA,” *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, vol. 24, no. 1, pp. 463–493, 1995.
- [90] F. Zunino, F. Animati, and G. Capranico, “DNA Minor-Groove Binding Drugs,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 1, no. 1, pp. 83–94, 1995.
- [91] C. Bailly and J. B. Chaires, “Sequence-Specific DNA Minor Groove Binders. Design and Synthesis of Netropsin and Distamycin Analogues,” *Bioconjug. Chem.*, vol. 9, no. 5, pp. 513–538, 1998.
- [92] L. S. Lerman, “Structural considerations in the interaction of DNA and acridines,” *J. Mol. Biol.*, vol. 3, no. 1, p. 18--IN14, 1961.
- [93] A. Mukherjee, R. Lavery, B. Bagchi, and J. T. Hynes, “On the Molecular Mechanism of Drug Intercalation into DNA: A Simulation Study of the Intercalation Pathway, Free Energy, and DNA Structural Changes,” *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 130, no. 30, pp. 9747–9755, 2008.

- [94] V. V Kostjukov, N. M. Khomytova, and M. P. Evstigneev, "Partition of thermodynamic energies of drug-DNA complexation," *Biopolymers*, vol. 91, no. 9, pp. 773–790, 2009.
- [95] Н. Л. Векшин, *Фотоника биологических структур*. Пушино: АН СССР, 1988.
- [96] H. S. Rye and A. N. Glazer, "Interaction of dimeric intercalating dyes with single-stranded DNA.," *Nucleic Acids Res.*, vol. 23, no. 7, pp. 1215–1222, 1995.
- [97] J. R. Aldrich-Wright, *Chiral discrimination processes in some metal chelate systems of biological interest [manuscript] / by Janice Rae Aldrich-Wright. - Version details - Trove*. 1993.
- [98] M. Egli, P. Herdewijn, A. Matusda, and Y. S. Sanghvi, Eds., *Current Protocols in Nucleic Acid Chemistry*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2001.
- [99] С. А. Заноза, 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.
- [100] С. О. Заноза, 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.
- [101] С. О. Заноза, С. А. Ляхов, та Т. І. Бикова, "Аміноалкоксибіфеніли та їх аналоги," *П'ятнадцята наукова конференція «Львівські хімічні читання – 2015»*, 2015, с. 21.
- [102] I. Antonini, P. Polucci, L. R. Kelland, E. Menta, N. Pescalli, and S. Martelli, "2,3-Dihydro-1 H ,7 H -pyrimido[5,6,1- d e]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.*, vol. 42, no. 14, pp. 2535–2541, Jul. 1999.
- [103] S. Zanoza, S. Lyakhov, T. Bykova, K. Klimenko, N. Zholobak, and

- S. Andronati, "Aminoalkoxybiphenyls and their analogs," *Frontiers in Medicinal Chemistry 2015*, 2015, p. 258.
- [104] S. O. Zanoza, and T. I. Vykova, "Antiviral, cytotoxic properties and interferon induction of 4,4'-bis-aminoalkoxybiphenyls," *VI Українська конференція «Домбровські хімічні читання – 2015»*, 2016, с. Д26.
- [105] "Синтез і структурно-функціональне вивчення лігандів рецепторів ЦНС, GP IIb/IIIa та нуклеїнових кислот: Звіт з НДР (заключний)," Одеса, 2004.
- [106] K. Shi, S. N. Mitra, and M. Sundaralingam, "Crystal structure of the 1:1 netropsin-decamer d(CСІІСІСІІ)₂ complex with only one drug bound at one end".
- [107] W. Zhu and E. Oldfield, "Crystal structure of d(CGCGAATTGCG)₂ complexed with ВРН-1358".
- [108] Т. Л. Алейникова and Г. В. Рубцова, *Руководство к практическим занятиям по биологической химии: Уч. пособие для мед. ВУЗов, под ред. А.Я. Николаева*. Москва: Высшая школа, 1988.
- [109] А. П. Крешков, *Основы аналитической химии. Физико-химические (инструментальные) методы анализа*. Москва: Химия, 1970.
- [110] Г. Ф. Лакин, *Биометрия. – 4-е изд., перераб. и доп.* Москва: Высшая школа, 1990.
- [111] W. D. Cornell, P. Cieplak, C. I. Bayly, I. R. Gould, K. M. Merz, D. M. Ferguson, D. C. Spellmeyer, T. Fox, J. W. Caldwell, and P. A. Kollman, "A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 117, no. 19, pp. 5179–5197, May 1995.
- [112] С. Гланц, *Медико-биологическая статистика: Пер. с англ.* Москва: Практика, 1998.

ДОДАТКИ

Додаток 1

Таблиця 1 – Ступінь гемолізу еритроцитів (в % до контролю) синтезованих сполук (C = 2μM)

Сполука	% Гемолізу	Сполука	% Гемолізу	Сполука	% Гемолізу
1.6	-0.41	2.32	17.66	2.62	91.04
2.8	21.47	2.34	-0.29	2.63	96.34
2.9	55.41	2.33	3.32	2.65	43.89
2.10	24.57	2.35	23.87	2.67	100.92
2.11	34.51	2.36	5.48	2.66	100.00
2.12	0.53	2.39	0.17	2.68	98.95
2.13	5.96	2.40	0.80	2.69	95.49
2.14	9.25	2.41	-0.14	2.73	0.00
2.16	24.56	2.43	14.05	2.74	0.00
2.18	2.60	2.45	4.24	2.75	0.00
2.20	4.79	2.44	1.88	2.76	0.00
2.19	7.69	2.46	16.82	2.77	0.18
2.21	28.76	2.47	0.34	2.78	0.00
2.22	-0.07	2.51	17.28	2.79	0.00
2.23	-0.77	2.52	21.56	2.84	7.84
2.24	-0.97	2.53	96.34	2.85	15.30
2.25	25.26	2.57	0.34	2.87	4.83
2.27	0.04	2.56	21.09	2.89	3.38
2.28	3.66	2.58	91.75	2.82	50.70
2.29	22.50	2.59	19.26	2.88	30.13
				2.61	97.25

Таблиця 2 – Цитотоксичність та інгібування NF-κB похідними біфенілу

Сполука	Цитотоксичність		Активність NF-κB	
	<i>LC</i> ₅₀ , μM	Ефект, %	<i>EC</i> ₅₀ , μM	Ефект, %
1	2	3	4	5
1.6	N/A	0	50	0
2.14	N/A	0	50	0
2.18	N/A	0	50	0
2.20	N/A	0	25	30
2.21	29.1	50	17.4	50
2.22	42	50	50	45
2.16	N/A	0	50	0
2.27	L/A*	40	19.3	50
2.28	L/A	30	50	0
2.29	13.6	50	11.6	50
2.32	L/A	30	50	25
2.34	11.1	50	6.8	50
2.35	19.1	50	31.2	50
2.33	L/A	30	25	35
2.36	N/A	0	50	0
2.31	L/A	40	50	0
2.39	N/A**	0	19.6	50
2.40	L/A	30	50	0
2.41	17.2	50	22.1	50
2.46	4.8	50	9.1	50
2.47	L/A	45	50	30
2.42	5.2	50	2.7	50
2.52	15	50	19.7	50
2.53	5.2	50	6.9	50
2.55	47.5	50	35.5	50
2.59	13.4	50	7	50
2.54	8.8	50	15.2	50

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5
2.61	10.4	50	8.7	50
2.62	11.2	50	12.7	50
2.63	8.4	50	7.9	50
2.65	44.6	50	64.7	50
2.67	5.7	50	7.4	50
2.66	6	50	6.3	50
2.69	9.2	50	6.1	50

*L/A – концентрація, яка приводить до загибелі 50 % клітин, не досягнута;

** N/A – неактивна сполука.

Додаток 2

Список публікацій здобувача наукового ступеня кандидата хімічних наук за спеціальністю 02.00.10 – біоорганічна хімія Занози Світлани Олександрівни

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.
2. С. О. Зано́за, Г. В. Мальцев, Т. І. Бикова, С. А. Ляхов, and М. Ю. Зубрицький, С. А. Андронаті, “Синтез і гемолітичні властивості похідних 4,4’-дигідроксибіфенілу,” *Ukr. Bioorganica Acta*, вип. 12, № 2, сс. 3–9, 2014.
3. S. O. Zanoza, T. I. Bykova, 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*, vol. 16, no. 4, pp. 276–281, 2014.
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*, № 21, вип. 1, сс. 102–108, 2016.
5. С. О. Фернандес де Рівес, 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.
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 induction,” *VI Міжнародна конференція “Хімія азотовмісних гетероциклів,”* 2012, с. 167.
7. С. А. Заноза, 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. Заноза, 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. Заноза, 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. Заноза, 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. Вуківа 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. Вуківа, 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. I. Вуківа, “Antiviral, cytotoxic properties and interferon induction of 4,4’-bis-aminoalkoxybiphenyls,” *VI Українська конференція «Домбровські хімічні читання – 2015»*, 2016, с. Д26.