

УДК 547.623;547-327;577.352.46

С. О. Заноза¹, С. А. Ляхов¹, Т. І. Бикова², А. С. Ніколау²¹Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, відділ медичної хімії, 86, Люстдорфська дорога, Одеса, Україна, 65080, sa.zanoza@gmail.com²Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова, хімічний факультет, кафедра фармацевтичної хімії, 2, Дворянська, Одеса, Україна, 65082**СИНТЕЗ ТА ГЕМОЛІТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 4,4'-ДИГІДРОКСИБІФЕНІЛУ – 2,2'-[БІФЕНІЛ-4,4'-ДИЛБІС(ОКСИ)]БІС[N-(ω -АМІНОАЛКІЛ)АЦЕТАМІДІВ]**

Алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу метилбromoацетатом з наступним лужним гідролізом отриманого естеру синтезовано 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтову кислоту, дією тіонілхлоридом на яку з подальшим амінуванням відповідного хлороангідриду отримано низку амідів. Структура сполук підтверджена сукупністю спектральних методів. На еритроцитах здорових донорів 0(I)+ показано відсутність гемолітичних властивостей для синтезованих амідів, на відміну від аналогічних 4,4'-біс- ω -діаміноалкоксибіфенілів, для яких спостерігався значний гемоліз.

Ключові слова: похідні 4,4'-дигідроксибіфенілу, синтез 2,2'-[біфеніл-4,4'-дилбіс(окси)]біс[N-(ω -аміноалкіл)ацетамідів], гемолітичні властивості.

Матеріали та методи дослідження

Здатність до гемолізу є одним з негативних проявів біологічної активності лікарських засобів, одним з яких є рибавірин – противірусний препарат широкого спектру дії [1], однією з побічних дій якого є анемія, викликана гемолізом еритроцитів [2], яка, в свою чергу, обмежує використання даного препарату. Раніше була показана здатність викликати гемоліз еритроцитів низкою 4,4'-біс- ω -діаміноалкоксибіфенілів, аналогів відомого противірусного препарату аміксину, з довжиною бокового вуглеводневого ланцюга від 2 до 6 метиленових ланок [3], причому, здатність до гемолізу еритроцитів аміноалкоксибіфенілами з довжиною ланцюга від 2 до 4 метиленових ланок була практично однаковою та зростала при переході до 5 та 6 ланок. Природа цього явища не була достатньою мірою вивчена. Для дослідження впливу будови бокового ланцюга на здатність до гемолізу було синтезовано 2,2'-[біфеніл-4,4'-дилбіс(окси)]біс[N-(ω -аміноалкіл)ацетамідів], які є аналогами 4,4'-біс-5-діамінопентокси- та 4,4'-біс-6-діаміногексоксибіфенілів, в яких одна з метиленових ланок замінена на амідну групу, та вивчена їх здатність до гемолізу.

Для синтезу використані реактиви кваліфікації не нижче «ч» вітчизняного та зарубіжного виробництва.

Спектри ¹H ЯМР реєстрували в розчинах CDCl₃ відносно ТМС на приборі «Bruker Avance» з робочою частотою 400 МГц. Мас-спектри електронного удару – на спектрометрі МХ-1321 із прямим введенням зразка. Енергія іонізації електронів 70 еВ, температура джерела 220 °С, мас-спектри FAB – на спектрометрі VG 70-70 EQ. Іонізація здійснювалася пучком атомів аргону з енергією 10 кВ (речовини розчиняли у 3-нітробензиловому спирті).

Для контролю чистоти синтезованих речовин використовували метод ТШХ на пластинках «Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ».

Диметил 2,2'-[біфеніл-4,4'-диіл-біс(окси)]диацетат 2. Суміш 52.52 г (0.38 моль) карбонату калію, 14.14 г (0.08 моль) 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1**), 34.9 мл (56.54 г, 0.2 моль) метилбromoацетату та 200 мл ДМФА перемішують при 100 °С впродовж 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 %). M.W. 330.34. T. 269 – 270 °С. CHOMN 330. H NMR (400 MHz, DMSO-d) δ ppm: 4.70 (s, 4 H) 6.96 (d, J=8.68 Hz, 4 H) 7.53 (d, J=8.68 Hz, 4 H) 13.02 (s, 2 H). 3.74 (s, 6 H) 4.74 (s, 4 H) 6.96 (d, J=7.8 Hz, 4 H) 7.49 (d, J=8.1 Hz, 4 H).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтова кислота 4. Розчиняють 22.44 г (0.34 моль) гідроксиду натрію у 15 мл води, додають 80 мл метанолу та кип'ятять 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 pH < 3. Суміш охолоджують до кімнатної температури, осад, що випав, відфільтровують, промивають на фільтрі водою, доти pH фільтрату не стане близьким до pH води (що використовується для промивання) та висушують. Вихід продукту реакції 15.24 г (84 %). M.W. 302.29. CHO. T 184.5 – 185.5 °С. H NMR (400 MHz, DMSO-d) δ ppm: 4.70 (s, 4 H) 6.96 (d, J=8.68 Hz, 4 H) 7.53 (d, J=8.68 Hz, 4 H) 13.02 (s, 2 H).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-біс(окси)]диацетилхлорид 5. Суміш 1.5 г (0.005 моль) **4**, 1 краплі сухого ДМФА та 2.16 г (0.03 моль) тіонілхлориду витримують при 90 °С 4 години. Отриманий розчин випаровують на ротаційному випарнику до отримання сухого залишку, який використовують у наступній стадії без додаткової очистки. M.W. 339.18. CHClO.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-[3-(диметиламіно)пропіл]ацетамід} (6a). Суміш 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 на протязі 1 години. Додають розчин 1.68 г (0.005 моль) **5** у 20 мл дихлорометану, перемішують 7 годин. Отриману суміш розбавляють водою та екстрагують хлороформом. Екстракт промивають водою до нейтрального pH водного шару. Органічний шар відокремлюють, висушують і випаровують досуха. Сухий залишок перекристалізують з гептану. Вихід продукту реакції 1.15 г (49 %). M.W. 470.62. T 159.5 – 160.5 °С. CHNO.MN 470.

Аналогічно отримують сполуки **6b-g**.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-[2-(диетиламіно)етил]ацетамід} (6b), Вихід продукту реакції 65 %. M.W. 498.67. T 104.2 – 105.5 °С. CHNO. MN 499. H NMR (400 MHz, CDCl) δ ppm 0.97 (t, J=6.97 Hz, 12 H) 2.49 (q, J=6.93 Hz, 8 H) 2.55 (m, 6 H) 3.35 (q, J=5.38 Hz, 4 H) 4.48 (s, 4 H) 6.93 (d, J=8.56 Hz, 4 H) 7.17 (s, 2 H) 7.42 (d, J=8.56 Hz, 4 H).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)]біс{N-(2-морфолін-4-ілетил)ацетамід} (6c), Вихід продукту реакції 44 %. M.W. 526.69. T 196.5 – 197.5 °С. CHNO. MN 527. H NMR (400 MHz, CDCl) δ ppm 2.38 (t, 8 H) 2.48 (t, J=5.87 Hz, 4 H) 3.40 (dt, J=5.22 Hz, 4 H) 3.57 (t, 8 H) 4.51 (s, 4 H) 6.95 (d, J=8.31 Hz, 4 H) 7.04 (s, 2 H) 7.44 (d, J=8.31 Hz, 4 H).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс{N-(2-піперидин-1-ілетил)ацетамід}] (6d),
 Вихід продукту реакції 72 %. М.В. 522.69. Т 191 – 192 °С. СННО. МН 523.
 Н NMR (400 МГц, CDCl) δ ppm 1.41 (s, 4 Н) 1.49 (s, 8 Н) 2.33 (s, 8 Н) 2.43 (s, 4 Н)
 3.37 (d, $J=4.65$ Hz, 4 Н) 4.49 (s, 4 Н) 6.94 (d, $J=8.07$ Hz, 4 Н) 7.17 (s, 2 Н) 7.43 (d,
 $J=8.07$ Hz, 4 Н).

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс{N-[2-(диметиламіно)етил]ацетамід}] (6e),
 Вихід продукту реакції 62 %. М.В. 442.56. Т 168 – 169 °С. СННО. МН 443.
 Н NMR (400 МГц, CDCl) δ ppm 2.20 (s, 12 Н) 2.41 (t, $J=5.75$ Hz, 4 Н) 3.38 (m, 4 Н)
 4.48 (s, 4 Н) 6.95 (d, $J=8.31$ Hz, 6 Н) 7.43 (d, $J=8.31$ Hz, 4 Н).

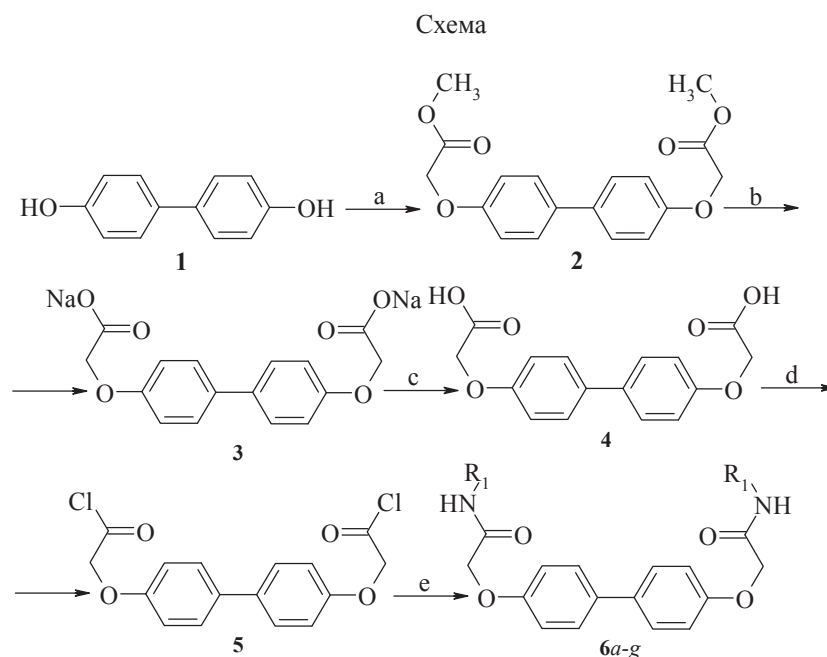
2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс{N-[2-(диетиламіно)пропіл]ацетамід}] (6f).
 Вихід продукту реакції 54 %. М.В. 526.73. Т 130.5 – 131.5 °С. СННО. МН 527.

2,2'-[Біфеніл-4,4'-диілбіс(окси)біс{N-(3-морфолін-4-ілпропіл)ацетамід}] (6g).
 Вихід продукту реакції 39 %. М.В. 554.69. Т 155 – 156.5 °С. СННО. МН 555.
 Н NMR (400 МГц, CDCl) δ ppm 1.71 (dd, $J=11.86, 5.75$ Hz, 4 Н) 2.42 (m, 12 Н) 3.46
 (q, $J=5.38$ Hz, 4 Н) 3.65 (s, 8 Н) 4.50 (s, 4 Н) 6.97 (d, $J=8.31$ Hz, 4 Н) 7.47 (d, $J=8.31$
 Hz, 6 Н).

Результати та їх обговорення

Синтез об'єктів дослідження

Аміди 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти (6a-g) були отримані алкілуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (1) метилбромоацетатом з наступним гідролізом та амінуванням хлороангідриду отриманої кислоти рядом первинних амінів (схема).



a) $\text{BrCH}_2\text{COOCH}_3$, K_2CO_3 , DMF; b) NaOH, MeOH; c) HCl; d) SOCl_2 ; e) R_1NH_2 , DMF.

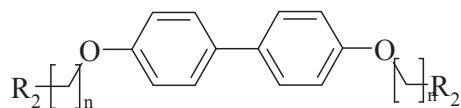
Диметил-2,2'-[біфеніл-4,4'-диіл-біс(окси)]диацетат (**2**) був синтезований алкилуванням 4,4'-дигідроксибіфенілу (**1**) метилбромоацетатом в ДМФА у присутності карбонату калію, лужний гідроліз якого з поступовою обробкою соляною кислотою та тіонілхлоридом приводив до утворення хлороангідриду 2,2'-[біфеніл-4,4'-біс(окси)]оцтової кислоти (**5**). Аміди (**6a-g**) отримували додаванням розчину хлороангідриду (**5**) у хлористому метилені до суміші розчинів аміну в хлористому метилені та насиченого водного розчину карбонату натрію. Цільові сполуки виділяли з органічного шару з помірними виходами.

Таблиця 1

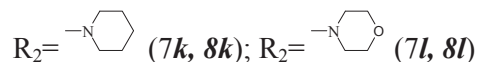
Будова використаних амінів R₁NH₂

Сполука	R ₁ NH ₂	Сполука	R ₁ NH ₂	Сполука	R ₁ NH ₂	Сполука	R ₁ NH ₂
a		b		c		d	
e		f		g			

Будова раніше синтезованих 4,4'-аміноалкоксибіфенілів **7h – 7l**, **8h – 8l**



n = 5 (**7h-l**); n = 6 (**8h-l**); R₂=N(CH₃)₂ (**7h, 8h**); R₂=N(C₂H₅)₂ (**7i, 8i**);



Чистоту синтезованих сполук контролювали за допомогою ТШХ на пластинах Sorbfil з використанням суміші бензену з триетиламіном та метанолом в співвідношенні 10:1:1 як елюенту.

В ІЧ-спектрах сполук **6a-g** присутні смуги поглинання при 3450 – 3150 см⁻¹, обумовлені валентними коливаннями зв'язку NH; смуги при 2950 – 2700 см⁻¹ – зв'язків СН (ароматичні і аліфатичні); коливання зв'язку карбонільної групи NH–С=О проявляються при 1680 см⁻¹.

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

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 R_2NCH_2 -групи та дублетом триплетів для HNCH_2 -групи.

Здатність до гемолізу

Здатність до гемолізу еритроцитів сполуками **6a-g** вивчали описаним методом [3, 4], використовуючи еритроцити здорових донорів O(I)+ в ізотонічному буфері. Концентрація досліджуваних сполук складала 2 мМ. Як нульовий контроль брали ізотонічний буфер, як 100 % контроль – 0.2 % розчин трітону X-100 в ізотонічному буфері.

Всі досліджені сполуки, всупереч очікуванням, показали відсутність гемолітичних властивостей (таб. 2).

Таблиця 2
Ступінь гемолізу (%) для амідів **6a-g** та аміноалкоксифенілів **7h-l – 8h-l**

Аміди 6a-g	% Гемолізу	Аміноалкоксифеніли 7h-l – 8h-l	% Гемолізу
6a	0.0	7h	17.3
6b	0.0	7i	21.6
6c	0.0	7k	92.9
6d	0.0	7l	30.6
6e	0.2	8h	97.3
6f	0.0	8i	91.0
6g	0.0	8l	43.9

Згідно з результатами непараметричного тесту порівняння двох виборок Краскела-Уолліса (при $P = 0.05$) здатність визивати гемоліз еритроцитів сполуками **6a-g** достовірно відрізняється від такої здатності для сполук **7h-l – 8h-l**.

Всі синтезовані сполуки не визивали гемоліз, на відміну від аналогічних аміноалкоксипохідних біфенілу, які визивали гемоліз від 17 до 97 %. Таким чином, введення амідної групи у боковий ланцюг значно знижує здатність сполук викликати гемоліз.

ЛІТЕРАТУРА

1. Crotty Sh., Maag D., Arnold J.J., Zhong W., Lau J.Y.N., Hong Zh., Andino R., Cameron C.E. The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen. // Nature Medicine – 2000. – N 6, P. 1375 – 1379. doi: 10.1038/82191.
2. Koren G., King S., Knowles S., Phillips E. Ribavirin in the treatment of SARS: A new trick for an old drug? // Canadian Medical Association Journal – 2003. – Vol. 168, N 10. – P. 1289 – 1292.

3. Зано́за С.О., Ма́льцев Г.В., Би́кова Т.І., Ляхов С.А., Зубри́тський М.Ю., Андрона́ті С.А. Синтез та гемолітичні властивості похідних 4,4'-дигідроксибіфенілу. // *Ukrainica Bioorganica ACTA* – 2014. – Vol. 12, N 3. – P. 38 – 44.
4. Metwally K.A., AbdelAziz L.M., Lashine E., Husseiny M.I., Badawy R.H. Hydrazones of 2-aryl-quinolone-4-carboxylic acid hydrazides: synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents // *Bioorganic & Medicinal Chemistry* – 2006. – Vol. 14, N 24. – P. 8675 – 8682. doi: 10.1016/j.bmc.2006.08.022.

Стаття надійшла до редакції 02.02.2016

С. А. Зано́за¹, С. А. Ляхов¹, Т. И. Би́кова², А. С. Николау²

¹Физико-химический институт им. А.В. Богатского НАН Украины, отдел медицинской химии, 86, Люстдорфская дорога, Одесса, Украина, 65080, sa.zanoza@gmail.com
²Одесский национальный университет им. И.И. Мечникова, химический факультет, кафедра фармацевтической химии, 2, Дворянская, Одесса, Украина, 65082

СИНТЕЗ И ГЕМОЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПРОИЗВОДНЫХ 4,4'-ДИГИДРОКСИБИФЕНИЛА – 2,2'-[БИФЕНИЛ-4,4'-ДИИЛБИС(ОКСИ)]БИС[N-(ω-АМИНОАЛКИЛ)АЦЕТАМИДОВ]

Алкилированием 4,4'-дигидроксибифенила метилбромацетатом с последующим щелочным гидролизом полученного эфира синтезирована 2,2'-[бифенил-4,4'-бис(окси)]уксусная кислота, действием тионила хлористого на которую с последующим аминированием полученного хлорангидрида, получен ряд амидов. Структура соединений подтверждена совокупностью спектральных методов. На эритроцитах здоровых доноров O(1)+ показано отсутствие гемолитических свойств для синтезированных амидов, в отличие от аналогичных 4,4'-аминоалкоксибифенилов, для которых наблюдался значительный гемолиз.

Ключевые слова: производные 4,4'-дигидроксибифенила, синтез 2,2'-[бифенил-4,4'-диилбис(окси)]біс[N-(ω-аміноалкіл)ацетамідов], гемолитические свойства.

S. O. Zanoza¹, S. A. Lyakhov¹, T. I. Bykova², A. S. Nikolau²

¹A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of NAS of Ukraine, Medicinal chemistry department, Lyustdorfskaya Doroga 86, Odessa, 65080, Ukraine, sa.zanoza@gmail.com
²Odessa National University, Pharmaceutical chemistry department, Dvoryanskaya St. 2., Odessa, 65026, Ukraine

SYNTHESIS AND HEMOLYTIC PROPERTIES OF DERIVATIVES OF 4,4'-DIHYDROXYBIPHENYL – 2,2'-[BIPHENYL-4,4'-DIYLBIS(OXY)]BIS[N-(ω-AMINOALKYL)ACETAMIDES]

Summary

The purpose of this work was synthesis of 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives, namely 2,2'-[biphenyl-4,4'-diylbis(oxy)]bis[N-(2-aminoalkyl)acetamide], study of their hemolytic properties and the effect of the side chain structure on hemolytic properties.

2,2'-[Biphenyl-4,4'-diylbis(oxy)]diacetic acid was synthesized by alkylation of 4,4'-dihydroxybiphenyl with methylbromoacetate, followed by alkaline hydrolysis. Chloroanhydride was obtained by treatment of this acid with thionyl chloride. 2,2'-[Biphenyl-4,4'-diylbis(oxy)]bis-[N-(2-aminoalkyl)acetamides] were synthesized in the biphasic media (dichloromethane/aqueous sodium carbonate). Structures of synthesized compounds were proved by mass-spectrometry and ¹H NMR.

Hemolytic properties were studied using healthy donors' erythrocytes 0(I)/Rh+. The absence of hemolytic properties for obtained compounds was shown, unlike similar 4,4'-aminoalkoxybiphenyls for which a significant hemolysis was shown.

Thus, replacement of the ethylene group with amide group in the side chain of 4,4'-bis-substituted biphenyls significantly reduces hemolytic properties.

Keywords: derivatives of 4,4'-dihydroxybiphenyl, synthesis of 2,2'-[biphenyl-4,4'-diylbis(oxy)]bis[N-(ω -aminoalkyl)acetamides], hemolytic properties.

REFERENCES

1. Crotty Sh., Maag D., Arnold J.J., Zhong W., Lau J.Y.N., Hong Zh., Andino R., Cameron C.E. *The broad-spectrum antiviral ribonucleoside ribavirin is an RNA virus mutagen*. Nature Medicine, 2000, no 6, pp. 1375 – 1379. doi: 10.1038/82191.
2. Koren G., King S., Knowles S., Phillips E. *Ribavirin in the treatment of SARS: A new trick for an old drug?* Canadian Medical Association Journal, 2003, vol. 168, no 10, pp. 1289 – 1292.
3. Zanoza S.O., Maltzev G.V., Bykova T.I., Lyakhov S.A., Zubritski M.Yu., Andronati S.A. Synthesis and hemolytic properties of the 4,4'-dihydroxybiphenyl derivatives. *Ukrainica Bioorganica ACTA*, 2014, vol. 12, no 3, pp. 38 – 44 (*in Ukrainian*).
4. Metwally K.A., AbdelAziz L.M., Lashine E., Husseiny M.I., Badawy R.H. *Hydrazones of 2-aryl-quinoline-4-carboxylic acid hydrazides: synthesis and preliminary evaluation as antimicrobial agents* Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2006, vol. 14, no 24, pp. 8675 – 8682. doi: 10.1016/j.bmc.2006.08.022.