

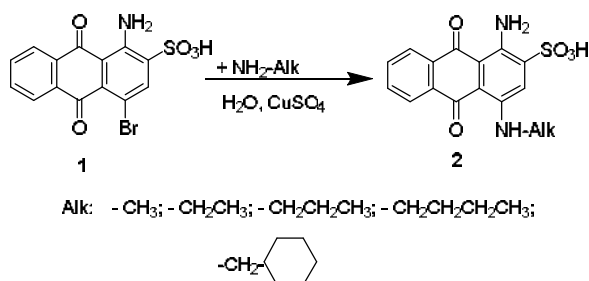
Т. М. Тарас¹, Є. Р. Лучкевич¹, В. І. Шупенюк¹, О. П. Сабадах¹, Л. Д. Болібрух², Л. Р. Журахівська²¹ Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника
кафедра хімії середовища та хімічної освіти² Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнологіїСИНТЕЗ ТА ПРОГНОЗУВАННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ
4-ЗАМІЩЕНИХ ПОХІДНИХ 9,10-АНТРАХІНОНУ<https://doi.org/10.23939/ctas2020.02.067>

За даними програми *PASS Online* для синтезованих сполук була спрогнозована проти-вірусна активність стосовно *picorna*-, *influenza* та *rhinovirus*, що вписується у сучасну стратегію створення протипухлинних препаратів на основі антрахінону з антивірусною дією, та антибактеріальним ефектом. Використано кілька способів синтезу похідних 9,10-антрахінону, які містять у своєму складі біогенні аміни у 4-положенні. Програмою *AVCpred* спрогнозовано противірусну активність у відсотках ймовірного інгібування проти смертельно небезпечних вірусів, таких як вірус імунодефіциту людини (ВІЛ), вірус гепатиту С (HCV), вірус гепатиту В (HBV), людський герпесвірус (HHV)

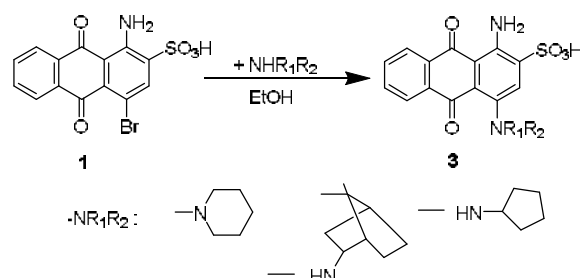
Ключові слова: противірусна активність, 4-заміщені 9,10-антрахінони, нуклеофільне заміщення, *PASS Online*, *AVCpred*.

Вступ

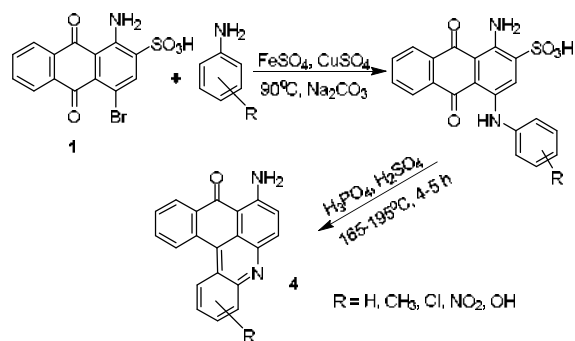
Заміщення атома бром аміногрупою є найбільш розповсюдженою реакцією нуклеофільного заміщення в ряду 9,10-антрахінону. Її широко застосовують для введення залишків амінів до молекул барвників та деяких проміжних продуктів [1–3]. Так К. Вейнанд [4], провів заміщення бром бромамінової кислоти (1-аміно-4-бромантрахінон-2-сульфонової кислоти) **1** у водному середовищі в присутності купрум сульфату, синтезувавши ряд 4-заміщених аліфатичних амінопохідних **2**, які володіють стійким, яскравим синім кольором.



Також реакцією нуклеофільного заміщення бром у 4-положення 9,10-антрахінону було введено циклічні парафіни (піперидин, борніламін, циклопентан амін), одержані сполуки **3** використовувались для фарбування волокна тваринного походження [5].

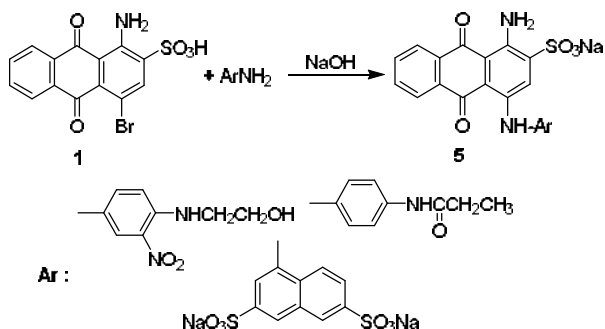


Ревал і Чаухен [6] синтезували дисперсні барвники похідні 8-амінокерамідону **4** конденсацією бромамінової кислоти **1** з різними арилами з наступним десульфуванням і циклізацією в суміші концентрованих сульфатної і ортофосфатної кислот. Барвники проявляли здатність зафарбовувати поліестер.

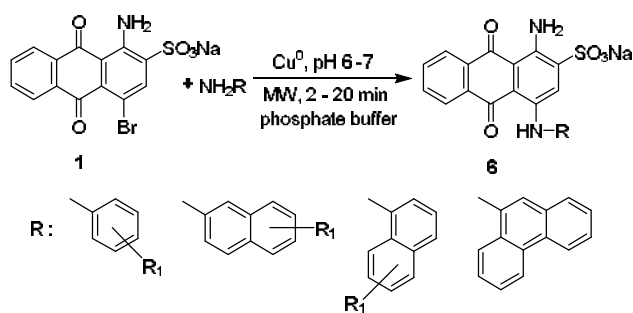


Дослідники в роботі [7], заміщення бром на ароматичні амінопохідні, проводили кип'я-

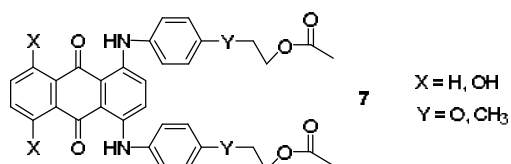
тінням у воді в лужному середовищі і одержали нові барвники **5** з виходами 79–85%.



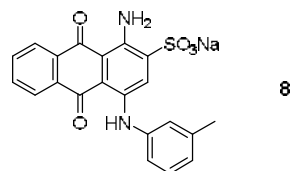
А. Фейн із співробітниками [8], використовували мікровер для проведення реакції конденсації натрієвої солі бромамінової кислоти **1** з ароматичними амінопохідними. Синтезовані ними сполуки **6**, а особливо ті які містять громіздкі гідрофобні групи, проявляють інгібуючий ефект на ектонуклеотидази Lp1NTPDase в бактеріях *Legionella pneumophila*.



К. Доллендорф зі співробітниками [9] синтезував 1,4-бісаміщені похідні 9,10-антрахінону **7** і описав можливість їхнього застосування як очних імплантів, для заміни пошкодженого кристалика.



М. Забіш із співробітниками [10] обґрунтував кристалічну структуру комплексу NTPDase2 з сульфоантрахіноновим інгібітором PSB-071 (**8**). Який утворюється завдяки водневим зв'язкам і наявності сульфогрупи в 2 положенні. Дана структура може використовуватись, як препарат для підтримки протипухлинної імунотерапії та при лікуванні імунодифіциту.



Одже інтерес до 4-заміщених похідних антрахінону, які спочатку використовувались як барвники тільки зростає, це зумовлено пошуком біологічно-активних сполук, зокрема з проти-вірусною дією.

Матеріали та методи досліджень

Реактиви виробництва “Merck” (Німеччина) та “Sigma-Aldrich” (США) були отримані з комерційних джерел і використовувались без очищення. Решта реактивів і розчинники – марки “ч” або “хч” вітчизняного виробництва. Для контролю перебігу реакцій та чистоти синтезованих речовин використовували метод ТШХ на пластинках (DC-Fertigfolien ALUGRAM Xtra SIL G/UV254, Germany) із застосування елюентів різного складу.

Для синтезованих сполук спектри ^1H та ^{13}C ЯМР отримували на спектрометрі Varian Mercury-400 (400 та 100 МГц відповідно) у розчинах DMSO, DMSO-*d*₆, та суміші DMSO-*d*₆ + CCl₄, внутрішній стандарт ТМС. Дані хромато-мас-спектрометрії отримано на вискоелективному рідинному хроматографі Agilent 1100 Series, обладнаному діодною матрицею з мас-селективним детектором Agilent LC/MSD SL, метод іонізації – хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI).

Загальна методика нуклеофільного заміщення

У чотирьохгорлу колбу ємністю 250 мл обладнану термометром, крапельною лійкою, зворотнім холодильником та магнітною мішалкою завантажували 100 мл амілового спирту, 0,006 моль 4-бромантрахінону та додавали 0,008 моль амінопохідного. Суміш ретельно перемішували і додавали каталізатор 0,3 г купрум (II) хлориду, 0,1 г натрій ацетату та 0,2 г натрій карбонату для створення слабо-лужного середовища. Синтез проводили впродовж 8 годин за температури 100 °С. Після закінчення реакції заміщення, реакційну суміш змішували з 300 мл води і виділяли продукт фільтруванням. Висушений продукт перекристалізували з толуолу.

N-ацетиламіно-4-[(2-гідроксіетил)аміно]-9,10-діоксо-9,10-дигідроантрацен (**14**, C₁₈H₁₆O₄N₂).

Вихід – 30 %. $T_{\text{пл.}}$ 195 °С – 197 °С. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6) δ , м.ч.: 2.27 ш.с (7H, CH₃, 2CH₂), 7.77 д (1H, H³, J 8 Гц), 7.93 т (2H, H^{6,7}, J 8.8 Гц), 8.18 д (1H, H⁵, J 7.6 Гц), 8.22 с (1H, H⁸), 8.94 д (1H, H², J 8 Гц), 12.05 с (1H, OH); Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6 + CCl₄) δ , м.ч.: 2.29 с (3H, CH₃), 2.5 с (1H, CH₂), 7.82 т (2H, H^{6,7}, J 7.6 Гц), 7.85 д (2H, H^{2,3}, J 8 Гц), 7.96 д (1H, H_{ар.}, J 5.2 Гц), 8.24 д (3H, H^{5,8}, H_{ар.}, J 5.6 Гц), 9.20 д (1H, NH), 12.20 с (1H, OH). LC-MS, m/z : 346 [M + Na]⁺.

1-аміно-4-(4-метиланіліно)антрацен-9,10-діон (16, C₂₁H₁₆O₂N₂). Вихід – 80 %. $T_{\text{пл.}}$ 298 °С – 300 °С. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO) δ , м.ч.: 1.9 ш.с (3H, CH₃), 7.26 д (4H, H_{ар.}, J 5.2 Гц), 7.36 с (1H, H_{ар.}), 7.74 с (1H, H_{ар.}), 7.89 с (2H, H_{ар.}), 8.27 с (2H, H_{ар.}), 12 с (1H, NH); Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6) δ , м.ч.: 2.33 с (3H, CH₃), 7.26 д (4H, H_{ар.}, J 8.8 Гц), 7.72 с (1H, H_{ар.}), 7.87 с (2H, H_{ар.}), 8.25 с (3H, H_{ар.}), 11.85 с (1H, NH); ^{13}C ЯМР, δ , м.ч.: 39.57 (CH₃). LC-MS, m/z : 329 [M + 1]⁺.

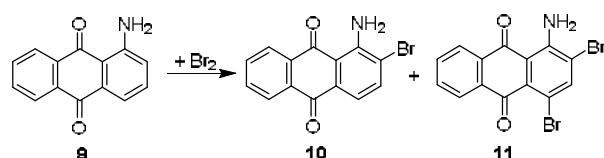
1-аміно-4-(2,4-диметиланіліно)антрацен-9,10-діон (17, C₂₂H₁₈O₂N₂). Вихід – 70 %. $T_{\text{пл.}}$ >300 °С. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6) δ , м.ч.: 2.08 ш.с (3H, CH₃), 2.28 с (3H, CH₃), 6.6 д (1H, H³, J 8.4 Гц), 7.02 с (2H, H_{ар.}), 7.21 д (1H, H_{ар.}, J 8.4 Гц), 7.83 с (2H, H_{ар.}), 8.28 с (2H, H_{ар.}), 11.81 с (1H, NH); ^{13}C ЯМР, δ , м.ч.: 39.59 (CH₃).

1-аміно-4-[(фуран-2-іл)метил]аміно-9,10-діоксо-9,10-дигідроантрацен-2-сульфонова кислота (19, C₁₈H₁₄O₆N₂S). Вихід – 18.19 %. $T_{\text{пл.}}$ >300 °С. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6) δ , м.ч.: 2.85 д (2H, CH₂, J 27.6 Гц), 7.55 с (1H, H³), 7.81 м (4H, H_{ар.}), 8.17 т (3H, H_{ар.}); ^{13}C ЯМР, δ , м.ч.: 42.24 (CH₂), 49.47, 53.22 (C-O); 113.48, 114.19, 123.18, 125.18, 126.41, 131.91, 133.05, 134.73, 140.98, 143.98, 144.34, 145.34, 148.43 (C_{ар.}); 154.95 (C-NH₂); 181.43, 186.69 (C=O). LC-MS, m/z : 398 [M + 1]⁺.

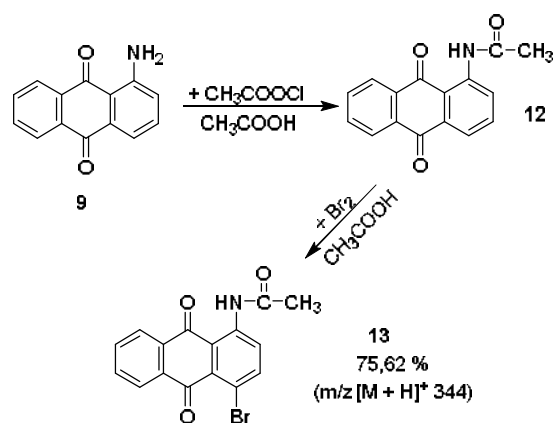
1-аміно-4-[(2-гідроксіетил)аміно]-2-метилантрацен-9,10-діон (20, C₁₇H₁₆O₃N₂). Вихід – 65.13 %. $T_{\text{пл.}}$ >300 °С. Спектр ^1H -ЯМР (DMSO- d_6) δ , м.ч.: 2.3 ш.с (3H, CH₃), 3.5 м (2H, CH₂, J 4.8 Гц), 3.67 д (2H, CH₂, J 5.2 Гц), 7.34 с (1H, H³), 7.68 с (1H, H_{ар.}), 7.77 т (2H, H_{ар.}, J 6.8 Гц), 7.86 т (2H, H_{ар.}, J 6.8 Гц), 8.23 с (1H, H_{ар.}). LC-MS, m/z : 298 [M + 1]⁺.

Результати досліджень та їх обговорення

З метою введення біогенного аміну в 4-положення до аміногрупи 9,10-антрахінону, було використано доступний 1-аміно-9,10-антрахінон, який після бромовання, може використовуватись для введення різних функціональних груп.



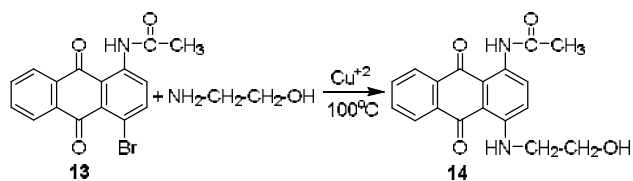
У всіх випадках бромовання проходило в орто-(10), або в орто- і пара-положення(11) до аміногрупи антрахінону, що є недоцільним в нашому випадку. Ефективним рішенням виявилось ацилювання аміногрупи. Його проводили в оцтовій кислоті ацетилхлоридом з кількісним виходом цільового продукту 12 (m/z [M + H]⁺ 288.2).



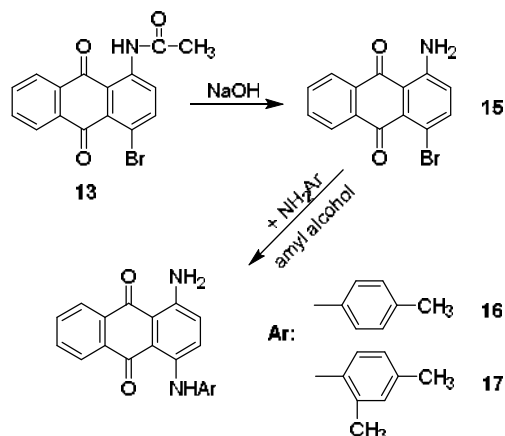
Бромовання 1-N-ацетиламіноантрахінону (12) проводили в оцтовій кислоті [11-12]. Для більш раціонального використання бром ми використовували окислювальне бромовання, додаванням до реакційної маси після введення всієї розрахованої кількості бром натрій гіпохлориту з активним хлором не менше 80 г/л, який отримували безпосередньо перед реакцією *in vitro*.

Вихід цільового продукту 13 був невисокий, проте на хромато-мас-спектрі не було знайдено побічних продуктів бромовання 2-, та 2,4-дибромантрахінонів, а тільки вихідний 1-N-ацетиламіноантрахінон (12).

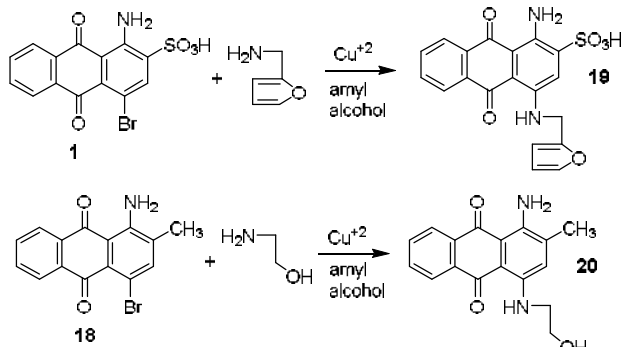
Нуклеофільне заміщення бромом в 1-N-ацетиламіно-4-бромантрахіноні (13) проводили у присутності каталізатора – солі купруму (II). В якості біогенного аміну нами був обраний моноетаноламін, який за структурою подібний до біогенних амінів. Реакційну масу витримували при перемішуванні декілька годин, підтримуючи слабо-лужне середовище. Вихід потрібного N-ацетиламіно-4-[(2-гідроксіетил)аміно]антрахінон 14 склав 30,4 % (m/z [M + Na]⁺ 346).



Аміно групу відновили і провели заміщення бромароматичними амінами в органічному розчиннику – аміловому спирті, який відганяли з реакційної суміші перегонкою з водяною парою.



Вихід потрібних продуктів **16–17** склав 70–80 %, структуру підтверджено даними ^1H та ^{13}C ЯМР-спектрами. Метильний фрагмент присутній в ^{13}C ЯМР спектрі зміщення при 39.57–39.59 м.ч.



За данною методикою було проведено нуклеофільне заміщення бромароматичної кислоти **1** та її 2-метильного похідного **18**. Проте у випадку фурфуриламину за високих температур відбувалась його полімеризація, а за кімнатної температури реакція проходила дуже довго із низьким виходом 18% на хроматомаспектрі було присутнє 4-гідроксипохідне 50 % (m/z $[M + 1]^+$ 318.1). Очищували продукт **19** колонковою хроматографією в ^1H ЯМР спектрі наявний мультиплет протонів фурфуриламину хімізсув при 7.81 м.ч. і 3H-протону антрахінону при 7.55 м.ч. У ^{13}C ЯМР спектрі

присутні фрагменти метилової групи з хімізсувом при 39.08, також сигнали карбонів двох карбонільних груп при 181.43 і 186.69 м.ч. В сполуки **20** (вихід 65 %) в ^1H ЯМР спектрі наяві хімізсуви етильної групи при 3.5 і 3.67 м.ч.

Прогнозування *in silico* протівірусної активності

Результати прогнозованої фармакологічної активності 4-заміщених похідних 9,10-антрахінону (**14**, **16–17**, **19–20**), за програмою *PASS Online* [13] показали, що для переважної більшості структур найбільш вираженими є такі види активності, як, антипротозойна (Antiprotozoal), протівірусна (Antiviral), протипухлинна (Antineoplastic) та ін. (табл. 1). Також для всіх сполук (окрім **2**) слід перевірити наявність лікувального ефекту гострих неврологічних розладів (Acute neurologic disorders treatment).

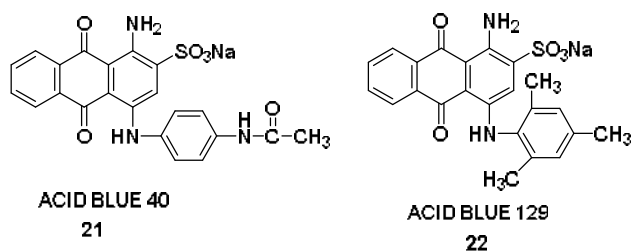
Таблиця 1

Прогнозована фармакологічна активність синтезованих сполук за умови $P_a > 40\%$

| Активність | Сполуки | | | | |
|---|---------|----|----|----|----|
| | 14 | 16 | 17 | 19 | 20 |
| Antiviral (Influenza) | 48 | 46 | – | 47 | 40 |
| Antiviral (Picornavirus) | – | – | – | 43 | 41 |
| Antiprotozoal (Amoeba) | 40 | – | – | 65 | 40 |
| Antiprotozoal (Trypanosoma) | 42 | 51 | – | 48 | 44 |
| Antiinfective | – | 41 | 41 | 55 | – |
| Antineoplastic | 61 | 79 | 74 | – | 64 |
| Acute neurologic disorders treatment | 43 | 49 | 47 | – | 50 |
| Antineoplastic (non-Hodgkin's lymphoma) | 56 | 56 | 50 | | 56 |
| Alopecia treatment | 43 | 58 | 53 | – | 47 |
| Antineoplastic (multiple myeloma) | – | 49 | 48 | – | 53 |

Структури синтезованих сполук були оброблені з використанням вебресурсу *Antiviral Compound Prediction AVCPred* [14], який прогнозує протівірусну активність у відсотках ймовірного інгібування стосовно вірусів ВІЛ (HIV), гепатитів В (HCV) і С (HBV) та герпесу (HHV) (табл. 2). Як сполуки порівняння використовували 4-заміщенні похідні 9,10-антрахінону: Acid

Blue 40 (21) і Acid Blue 129 (22) які є лідерами за даними видами активності і їх дані цілковито узгоджуються з експериментальними [15].



Таблиця 2

Прогнозований відсоток інгібування за програмою *AVCPred*

| Сполука | ВІЛ (HIV) | Вірус гепатиту С (HCV) | Вірус гепатиту В (HBV) | Вірус герпесу людини (HHV) |
|-----------|-----------|------------------------|------------------------|----------------------------|
| 14 | 56 | 43 | 14 | 47 |
| 16 | 58 | 40 | 22 | 29 |
| 17 | 60 | 50 | 20 | 39 |
| 19 | 51 | 65 | 20 | 26 |
| 20 | 54 | 59 | 31 | 35 |
| 21 | 54 | 59 | 24 | 62 |
| 22 | 59 | 42 | 23 | 24 |

Аналіз даних за *AVCPred* показує, що всі досліджувані похідні, ймовірно, можуть спричинити інгібуючий ефект на вірус імунодефіциту людини. Найбільший відсоток інгібування ВІЛ має сполука **17** (60 %). Одержані результати також свідчать, що інгібуюча дія деяких досліджуваних похідних може проявитися стосовно вірусу гепатиту С (сполука лідер **19** (65 %)). Стосовно ймовірності впливу 4-заміщених похідних 9,10-антрахінонів на вірус герпесу людини, то лише для **14** прогнозується інгібування вище рівня 40 %, тоді як інші мають невисокі значення інгібуючого ефекту, слід відмітити що сполука порівняння **21** інгібує вірус герпесу людини на (62 %). Дослідження *in silico* стосовно можливості інгібування вірусу гепатиту В показали найменші значення (14–31 %) для всіх досліджуваних сполук і для Acid Blue 40 та Acid Blue 129, у порівнянні з ВІЛ, вірусами гепатиту С та герпесу.

Висновки

Експериментально встановлено, що мультистадійний шлях отримання 4-заміщених 9,10-антрахінонів, який включає ацилювання 1-аміноантра-

хінону з наступним бромованням в 4-положенні і нуклеофільним заміщенням бром амінопохідним, неефективний через низьку чистоту утворених продуктів і великі втрати органічного розчинника.

Визначено перспективні сполуки серед синтезованих 4-заміщених похідних для яких доцільно провести експериментальні дослідження противірусної і протибактеріальної активності.

Подяка

Робота проводилася за фінансової підтримки Міністерства освіти і науки України (проект № 0119U103131).

References

- Malik, E. M., Rashed, M., Wingen, L., Baqi, Y., Muller, C. E. (2016). Ullmann reactions of 1-amino-4-bromoanthraquinone bearing various 2-substituents furnishing novel dyes. *Dyes and Pigments*, 131, 33 – 40. DOI: 10.1016/j.dyepig.2016.03.023
- Malik, E. M., Baqi, Y., Muller, C. E. (2015). Syntheses of 2-substituted 1-amino-4-bromo anthraquinones (bromaminic acid analogues) – precursors for dyes and drugs. *Beilstein J. Org. Chem.*, 11, 2326–2333. DOI: 10.3762/bioci.11.253
- Shupeniuk, V. I., Taras, T. M., Sabadakh, O. P., Bolibrukh, L. D., Zhurakhivska, L. R. (2019). Triazines on the basis of 4-imidazole substituted anthraquinone as the potential inhibitors of proteins. *Chem., Technol. and Application of Substances*, 2(2), 135–141. DOI: 10.23939/ctas2019.02.135
- Weinand, K. (1929). US. Patent No. 1735147. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Weinand, K. (1928). US. Patent No.1688256. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Raval, D. A., Chauhan, Y. B. (1997). Synthesis of 8-aminoceramidone derivatives by modified two steep process. *Indian J. of Chem. Technology*, 4, 53–56. Retrieved from <http://hdl.handle.net/123456789/30894>
- Oprisan, L., Slavila, N., Sabe, I. (2007). Bromamine acid derivated dyes. *U. P. B. Sci. Bull., Series B.*, 69(2), 43–48.
- Fiene, A., Baqi, Y., Malik, E. M. (2016). Inhibitors for the bacterial ectonucleotidase Lp1NTPDase from *Legionella pneumophila*. *Bioorganic & Medical Chemistry*, 24(18), 4363–4371. DOI 10.1016/j.bmc.2016.07.027
- Dollendorf, C., Kreth, S. K., Choi, S. W., Ritter, H. (2013). Polymerization novel methacrylated anthraquinone dyes. *Beistein J. Org. Chem.*, 9, 453–459. Doi:10.3762/bjoc.9.48

10. Zebisch, M., Baqi, Y., Schafer, P. (2014). Crystal structure of NTPDase2 in complex with the sulfoanthraquinone inhibitor PSB-071. *J. St. Biology*, 185, 336 – 341. doi.org/10.1016/j.jsb.2014.01.005
11. Ghaieni, H., Sharifi, M., Fattollahy, M. (2006). A new method for the preparation of 1-amino-2,4-dibromo-anthra-9,10-quinone. *Dyes and Pigments*, 71, 73–76. doi:10.1016/j.dyepig.2005.06.005
12. Patil, V. V., Gayakwad, E. M., Patel, K. P., Shankarling G. S. (2017). Efficient, facile metal free protocols for the bromination of commercially important deactivated aminoanthracene-9,10-diones. *Tetrahedron Letters*, 58, 2608–2613. doi.org/10.1016/j.tetlet.2017.05.078
13. Lagunin, A., Stepanchikova, A., Filimonov, D., Poroikov, V. (2000). PASS: prediction of activity spectra for biologically active substances. *Bioinformatics*, 16(8), 747–748. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.8.747
14. Qureshi, A., Kaur, G., Kumar, M. (2017) AVCpred an integrated web server for prediction and design of antiviral compounds. *Chem. Biol. Drug. Des.*, 89, 74–83. Doi:10.1111/cbdd.12834
15. Bamard, D. L., Fairbairn, D. W., O'Neill, K. L., Gage, T. L., Sidwell, R. W. (1995). Anti-human cytomegalovirus activity and toxicity of sulfonated anthraquinones and anthraquinone derivatives. *Antiviral Research*, 28, 317–329. https://doi.org/10.1016/0166-3542(95)00057-7

T. M. Taras¹, E. R. Luchkevich¹, V. I. Shupeniuk¹, O. P. Sabadakh¹,
L. D. Bolibrukh², L. R. Zhurakhivska²

¹Vasyl Stefanyk Precarpathian National University

Department of Environmental Chemistry and Chemistry Education

²Lviv Polytechnic National University,

Department of Technology of Biologically Active Substances, Pharmacy and Biotechnology

SYNTHESIS AND PREDICTED ANTIVIRAL ACTIVITY OF 4-SUBSTITUTED 9,10-ANTHRAQUINONE DERIVATIVES

Antiviral activity was predicted by using data from program PASS Online for synthesized compounds against picornavirus, the influenza and the rhinovirus, what fits in today's strategy of creating of the anthraquinone-based anticancer drugs and with antibacterial effect. There are several current methods to synthesize 9,10-anthraquinone, which contain the biogenic amines in the 4-position. Antiviral activity was predicted by using program AVCpred in a percentage of inhibition against deadly viruses like Human immunodeficiency virus (HIV), Hepatitis C virus (HCV), Hepatitis B virus (HBV), Human herpesvirus (HHV)

Key words: antiviral activity, 4-substituted 9,10-anthraquinones, nucleophilic substitution, PASS Online, AVCpred