

АДДУКТЫ ДИЛЬСА–АЛЬДЕРА N-ЗАМЕЩЕННЫХ 2-ПИРИДОНОВ С МАЛЕИНИМИДАМИ. СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2024 г. В. А. Сорокина¹, А. В. Ковальская¹, А. Н. Лобов¹, П. А. Ильина²,
В. В. Зарубаев², И. П. Цыпышева^{1,*}

¹ Уфимский институт химии, Уфимский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
Уфа, 450054 Россия

² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Санкт-Петербург, 197101 Россия
*e-mail: tsypysheva.ip@gmail.com

Поступило в редакцию 9 сентября 2024 г.

После доработки 22 сентября 2024 г.

Принято к печати 26 сентября 2024 г.

В термических условиях реакции Дильса–Альдера с выходами от 68 до 97% синтезированы аддукты N-замещенных 2-пиридонов [пиридин-2(1H)-онов] и N-замещенных иминов малеиновой кислоты. Цитотоксичность и противовирусная активность полученных соединений изучены на модели аденовирусной инфекции [аденовирус человека 5 типа (AdV5)] в культуре клеток МА-104. Показано, что синтезированные аддукты обладают низкой токсичностью и невысокой противовирусной активностью. Наиболее выраженными вирусингибирующими свойствами обладает соединение 9-гексил-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион с индексом селективности, равным 7.

Ключевые слова: реакция Дильса–Альдера, 2-пиридон, противовирусная активность, аденовирус человека 5 типа (AdV5)

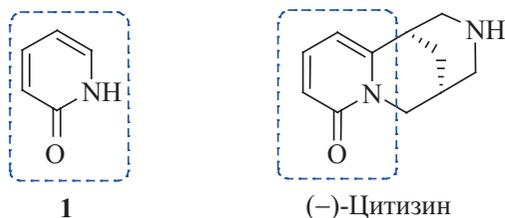
DOI: 10.31857/S0044460X24060024, **EDN:** FAESAH

ВВЕДЕНИЕ

Аденовирусная инфекция представляет собой заболевание с разнообразными клиническими проявлениями, начиная от респираторной патологии и заканчивая кишечными расстройствами, передающееся воздушно-капельным, алиментарным, контактно-бытовым и даже внутриутробным путями передачи вируса [1–3]. С 2003 по 2016 год обнаружено около 2138 разновидностей аденовирусов человека [4], способных вызывать вспышки в замкнутых коллективах (детских садах, школах, рабочих коллективах, воинских подразделениях и т. п.), и, если у иммунокомпетентных пациентов данное заболевание протекает относительно легко, то для людей с иммунодефицитами оно представ-

ляет серьезную угрозу [5, 6], приводя к тяжелым последствиям (гепатитам, кератоконъюнктивитам, пери- и миокардитам, менингоэнцефалитам, вплоть до летального исхода [7, 8]). В частности, именно аденовирусная инфекция обуславливает до 60% смертности у реципиентов костного мозга [9]. Необходимо отметить, что этиотропных лекарственных средств для лечения аденовирусной инфекции до сих пор не существует, оно сводится лишь к симптоматической терапии. Ни один из известных противовирусных препаратов не доказал своей эффективности в отношении аденовирусов, хотя относительные успехи были достигнуты при применении препаратов широкого спектра действия – рибавирина (обладающего серьезными побочными эффектами [10]), цидофовира [11, 12] и его производного – бринцидофовира [13].

Схема 1.



Таким образом, необходимость разработки новых эффективных средств противовирусной терапии аденовирусной инфекции очевидна, и решение этой проблемы является актуальным для медицинской химии и вирусологии.

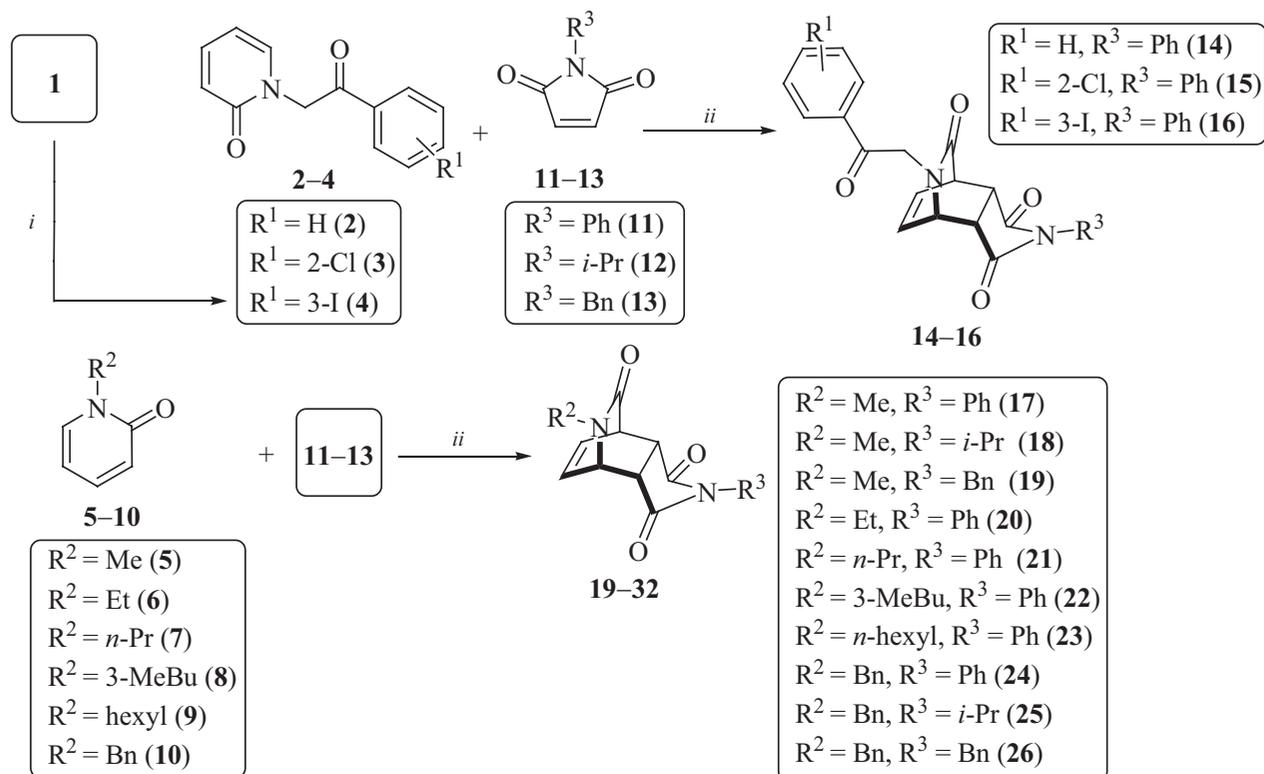
Учитывая данные о потенциальной антиаденовирусной активности ряда азотсодержащих гетероциклических соединений [14–18], включая производные хинолизинового алкалоида (-)-цитизина

[19–22], осуществлен синтез упрощенных аналогов последних, исходя из пиридин-2(1*H*)-она **1** (2-пиридо-на) – структурного фрагмента (-)-цитизина (схема 1), и проведена оценка способности синтезированных соединений ингибировать репродукцию аденовируса человека (AdV5) *in vitro*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве исходных соединений использовали коммерчески доступные алкилированные производные 2-пиридо-на **2**, **3**, **5–10** и *N*-фенил-, *N*-изопропил- и *N*-бензилзамещенные имиды малеиновой кислоты **11–13** (схема 2). Синтез иодпроизводного **4** осуществляли путем алкилирования **1** 2-бром-1-(3-иодфенил)этан-1-оном в условиях, указанных на схеме 2. Реакцию Дильса–Альдера диенов **2–10** с диенофилами **11–13** (мольное соотношение 1:5) проводили путем кипячения исходных соединений в толуоле. Контроль за ходом реакции осуществляли

Схема 2.



Условия реакции: *i*, $R^1\text{Br}$, K_2CO_3 , ацетон, 56°C ; *ii*, *N*-замещенный малеинимид (5 экв.), толуол, 110°C .

методом ТСХ. Продукты **14–26** реакции выделяли методом колоночной хроматографии на SiO_2 . Выходы новых аддуктов **14–16** и **20–23** составили 68–97%. Соединения **17–19** и **24–26** описаны нами ранее [23], строение новых аддуктов **14–16** и **20–23** (во всех случаях также было зафиксировано образование только *эндо*-аддуктов) устанавливали по аналогии с работой [23] на основании данных спектроскопии ЯМР и литературных данных [24].

На следующем этапе исследования проведена оценка цитотоксичности и способности соединений **14–26** подавлять репродукцию аденовируса человека 5 типа (AdV5). В качестве препарата сравнения использовали рибавирин из-за широты его противовирусных свойств [25]; для каждого образца были определены значения 50% цитотоксической концентрации (CC_{50}), 50% ингибирующей концентрации (IC_{50}) и рассчитаны индексы селективности SI (отношение $\text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$). Данные о цитотоксичности и противовирусной активности соединений **14–26** представлены в табл. 1. Как показано в ходе экспериментов, полученные соединения обладали относительно низкой токсичностью для эмбрио-

Таблица 1. Активность соединений **14–26** в отношении аденовируса человека 5 типа (AdV5) в культуре клеток MA-104.

№	Биологическая активность <i>in vitro</i>		
	CC_{50} , мкМ. ^a	IC_{50} , мкМ. ^b	SI ^b
14	411±26	>259	2
15	598±41	>238	3
16	195±8	>195	1
17	>1064	>1064	1
18	1012±64	>403	3
19	338±27	>338	1
20	848±62	>338	3
21	204±14	>106	2
22	469±32	>296	2
23	>852	124±15	7
24	>838	>838	1
25	489±21	>309	2
26	>806	>806	1
Рибавирин ^г	>2049	11±2	192

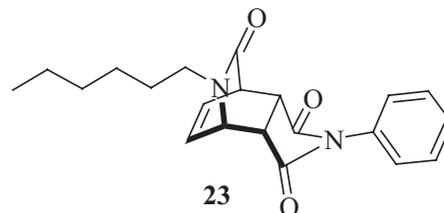
^a CC_{50} – цитотоксическая концентрация, мкМ.

^b IC_{50} – 50% ингибирующая концентрация, мкМ.

^b SI – индекс селективности, отношение $\text{CC}_{50}/\text{IC}_{50}$.

^г Препарат сравнения.

Схема 3.



$\text{CC}_{50} > 852$ мкМ.
 $\text{IC}_{50} = 124$ мкМ.
 SI = 7

нальных клеток макаки резус (MA-104). Так, 4 из 14 веществ (28.6%) не проявляли признаков цитотоксичности даже в максимальной использованной концентрации (300 мкг/мл). Наиболее токсичными в этом ряду оказались соединения **16** и **21** ($\text{CC}_{50} = 195$ и 204 мкМ соответственно); отметим, что оба этих соединения получены путем [4+2]-циклоприсоединения N-фенилмалеинида к 1-[2-(3-иодфенил)-2-оксоэтил]пиридин-2(1H)-ону **4** и 1-пропилпиридин-2(1H)-ону **7**. Подавляющее большинство протестированных соединений вирусингибирующей активности не проявили. Как оказалось, единственным образцом, способным в некоторой степени снижать вирусный цитопатогенный эффект (CPE), является 9-гексил-2-фенил-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8(2H)-трион **23** с индексом селективности 7, содержащий насыщенный гексильный заместитель атома азота 2-пиридоновой части молекулы (схема 3).

ВЫВОДЫ

Кипячением в толуоле синтезированы аддукты Дильса–Альдера N-замещенных 2-пиридонов с N-изопропил-, -фенил- и -бензилзамещенными имидами малеиновой кислоты; изучены их цитотоксичность и активность в отношении аденовируса человека 5 типа (AdV5). Показано, что синтезированные аддукты обладают низкой токсичностью в отношении клеток MA-104. В то же время, активность соединений в отношении аденовируса человека невелика: способностью ингибировать репродукцию AdV5 обладает лишь 9-гексил-2-фенил-3a,4,7,7a-тетрагидро-1H-4,7-

(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион, его индекс селективности равен 7.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходных соединений использовали коммерчески доступные пиридин-2(1*H*)-он **1** (CAS 142-08-5), 2-бром-1-(3-иодофенил)этан-1-он (CAS 61858-38-6), 1-(2-оксо-2-фенилэтил)пиридин-2(1*H*)-он **2** (CAS 952-75-0), 1-[2-(хлорфенил)-2-оксоэтил]пиридин-2(1*H*)-он **3** (CAS 282730-01-2), 1-метилпиридин-2(1*H*)-он **5** (CAS 694-85-9), 1-этилпиридин-2(1*H*)-он **6** (CAS 13337-79-6), 1-пропилпиридин-2(1*H*)-он **7** (CAS 19006-63-4), 1-изопентилпиридин-2(1*H*)-он **8** (CAS 55475-84-8), 1-гексилпиридин-2(1*H*)-он **9** (CAS 38591-66-1), 1-бензилпиридин-2(1*H*)-он **10** (CAS 1753-62-4), *N*-фенилмалеинимид **11** (CAS 941-69-5), *N*-изопропилмалеинимид **12** (CAS 1073-93-4), *N*-бензилмалеинимид **13** (CAS 1631-26-1). Физико-химические константы аддуктов **17–18** и **24–26** соответствовали литературным [23].

Контроль за ходом реакций осуществляли методом ТСХ на пластинах ALUGRAM®. Колоночная хроматография (КХ) выполнена на силикагеле (0.05–0.1 мм) (Macherey-Nagel, Германия). Температуры плавления определены на аппарате Voetius (PHMK 05 VEB Wagetechnik Rapido, Германия). Элементный анализ выполнен на CHNS анализаторе Euro 3000 (Hekatech). Спектры ЯМР ¹H, ¹⁵N и ¹³C записаны в дейтерированном ДМСО или CDCl₃ на импульсном спектрометре Bruker Avance III с рабочей частотой 500.13 (¹H) и 125.47 МГц (¹³C).

1-[2-(3-Иодфенил)-2-оксоэтил]пиридин-2(1*H*)-он (4). К раствору 0.2 г (2.11 ммоль) пиридона **1** в 10 мл ацетона, добавляли 0.73 г (5.26 ммоль) K₂CO₃ и 0.68 г (2.11 ммоль) *m*-иод- α -бромацетофенона, смесь кипятили с обратным холодильником до полного исчезновения исходного пиридона. По окончании реакции (контроль по ТСХ), реакционную массу фильтровали, упаривали, остаток хроматографировали на SiO₂ (CHCl₃). Выход 87% (0.62 г), белые кристаллы, т. пл. 119–120°C (CHCl₃), *R*_f 0.4 (CHCl₃:MeOH = 95:5). ИК спектр (вазелиновое масло), ν , см⁻¹: 1705, 1656, 1652, 1587, 1541, 1464, 1410, 1377, 1353, 1215, 1171, 1146, 1063, 1015, 917, 843, 786, 764, 682, 563, 527, 502, 460, 369. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ , м. д. (*J*, Гц): 5.31 с (2H, H¹), 6.21 д. т (1H, H⁵, ³*J*₅₋₆ = ³*J*₅₋₄ = 6.7, ⁴*J*₅₋₃ 1.5), 6.57 д. д (1H, H³, ³*J*₃₋₄

9.2, ⁴*J*₃₋₅ 1.5), 7.22 т (1H, H^{5''}, ³*J*_{5''-4''} = ³*J*_{5''-6''} = 7.8), 7.23 д. д (1H, H⁶, ³*J*₆₋₅ 6.7, ⁴*J*₆₋₄ 2.1), 7.38 д. д. д (1H, H⁴, ³*J*₄₋₃ 9.2, ³*J*₄₋₅ 6.7, ⁴*J*₄₋₆ 2.1), 7.91 д. т (1H, H^{4''}, ³*J*_{4''-5''} 7.8, ⁴*J*_{4''-2''} 1.5), 7.94 д. т (1H, H^{6''}, ³*J*_{6''-5''} 7.8, ⁴*J*_{6''-2''} 1.5), 8.28 т (1H, H^{2''}, ⁴*J*_{2''-4''} = ⁴*J*_{2''-6''} = 1.5). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ _C, м. д.: 54.46 (C^{1'}), 94.58 (C^{3''}), 106.29 (C⁵), 120.54 (C³), 127.20 (C^{6''}), 130.52 (C^{5''}), 136.26 (C^{1''}), 136.91 (C^{2''}), 138.35 (C⁶), 140.35 (C⁴), 142.63 (C^{4''}), 162.29 (C²), 191.10 (C^{2'}). Спектр ЯМР ¹⁵N (CDCl₃), δ _N, м. д.: 165.27 (N¹). Найдено, %: С 46.05; Н 2.94; I 36.42; N 4.14. C₁₃H₁₀INO₂. Вычислено, %: С 46.04; Н 2.97; I 37.42; N 4.13.

9-(2-Оксо-2-фенилэтил)-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1*H*-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (14). К раствору 0.2 г (0.94 ммоль) 2-*N*-замещенного производного пиридона **2** в 10 мл толуола добавляли 0.81 г (4.69 ммоль) *N*-фенилмалеинимида. Смесь кипятили. Контроль за ходом реакции осуществляли методом ТСХ. Реакционную массу упаривали, остаток хроматографировали на SiO₂ (CHCl₃). Выход 89% (0.32 г), аморфное вещество, *R*_f 0.4 (EtOAc). ИК спектр (вазелиновое масло), ν , см⁻¹: 1774, 1711, 1704, 1681, 1596, 1498, 1456, 1448, 1407, 1384, 1356, 1263, 1224, 1179, 1099, 1056, 997, 968, 924, 805, 753, 721, 691, 643, 611, 557, 492. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (*J*, Гц): 3.55 д. д (1H, H^{7a}, ³*J*_{7a-3a} 8.0, ³*J*_{7a-7} 3.4), 3.78 д. д. д (1H, H⁷, ³*J*₇₋₆ 5.8, ³*J*_{7-7a} 3.4, ⁴*J*₇₋₅ 1.7), 4.05 д. д (1H, H^{3a}, ³*J*_{3a-7a} 8.0, ³*J*_{3a-4} 4.2), 4.86 д (1H, H^{1'}_A, ²*J* 18.3), 4.88 д. д. д (1H, H⁴, ³*J*₄₋₅ 5.4, ³*J*_{4-3a} 4.2, ⁴*J*₄₋₆ 1.8), 5.07 д (1H, H^{1'}_B, ²*J* 18.3), 6.57 д. д. д (1H, H⁶, ³*J*₆₋₅ 7.6, ³*J*₆₋₇ 5.8, ⁴*J*₆₋₄ 1.8), 6.70 д. д. д (1H, H⁵, ³*J*₅₋₆ 7.6, ³*J*₅₋₄ 5.4, ⁴*J*₅₋₇ 1.7), 7.16 д (2H, H_{орто}, ³*J* 7.5), 7.43 т (1H, H_{пара}, ³*J* 7.5), 7.49 т (2H, H_{мета}, ³*J* 7.5), 7.57 т (2H, H^{3''(5'')}, ³*J* 7.4), 7.70 т (1H, H^{4''}, ³*J* 7.4), 8.00 д (2H, H^{2''(6'')}, ³*J* 7.4). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ _C, м. д.: 40.96 (C^{7a}), 45.13 (C⁷), 46.62 (C^{3a}), 51.73 (C^{1'}), 55.27 (C⁴), 126.72 (C_{орто}), 127.81 (C^{2''(6'')}), 128.50 (C_{пара}), 128.77 (C^{3''(5'')}), 128.88 (C_{мета}), 130.32 (C⁶), 131.84 (C_{инсо}), 133.21 (C⁵), 133.72 (C^{4''}), 134.49 (C^{1''}), 170.89 (C⁸), 174.66 (C³), 175.29 (C¹), 194.73 (C^{2'}). Спектр ЯМР ¹⁵N (ДМСО-*d*₆), δ _N, м. д.: 116.92 (N⁹), 193.42 (N²). Найдено, %: С 71.51; Н 4.68; N 7.26. C₂₃H₁₈N₂O₄. Вычислено, %: С 71.49; Н 4.70; N 7.25.

9-[2-(2-Хлорфенил)-2-оксоэтил]-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1*H*-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (15) получали аналогично из 0.2 г (0.81 ммоль) производного **3** и 0.81 г

(4.06 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **15** выделяли методом колоночной хроматографии на SiO₂ (CHCl₃). Выход 84% (0.28 г), аморфное вещество, R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр (вазелиновое масло), ν, см⁻¹: 1769, 1688, 1599, 1496, 1457, 1383, 1352, 1294, 1254, 1219, 1183, 1139, 1098, 1060, 991, 966, 927, 814, 753, 721, 694, 678, 643, 608, 598, 515, 491, 458, 424, 383. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 3.55 м (1H, H^{7a}), 4.09 м (1H, H⁷), 4.16 м (1H, H^{3a}), 4.52 д (1H, H_A¹, ²J 18.2), 4.74 м (1H, H⁴), 5.01 д (1H, H_B¹, ²J 18.2), 6.51 м (1H, H⁶), 6.64 м (1H, H⁵), 7.16 уш. д (2H, H_{орто}, ³J 7.5), 7.37 м (1H, H^{5''}), 7.41 м (1H, H_{пара}), 7.45 м (2H, H_{мета}), 7.45 м (1H, H^{3''}), 7.46 м (1H, H^{4''}), 7.62 уш. д (1H, H^{6''}, ³J 7.7). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ_C, м. д.: 40.99 (C^{7a}), 45.50 (C⁷), 46.87 (C^{3a}), 55.11 (C^{1'}), 56.42 (C⁴), 126.27 (C_{орто}), 127.26 (C^{5''}), 128.96 (C_{пара}), 129.22 (C_{мета}), 129.81 (C^{6''}), 130.80 (C^{3''}), 130.95 (C⁶), 131.42 (C_{унко}), 131.49 (C^{2''}), 132.65 (C⁵), 132.96 (C^{4''}), 136.08 (C^{1''}), 171.26 (C⁸), 174.33 (C³), 174.74 (C¹), 196.91 (C^{2'}). Спектр ЯМР ¹⁵N (CDCl₃), δ_N, м. д.: 117.55 (N⁹), 194.15 (N²). Найдено, %: C 65.66; H 4.06; Cl 8.43; N 6.68. C₂₃H₁₇ClN₂O₄. Вычислено, %: C 65.64; H 4.07; Cl 8.42; N 6.66.

9-[2-(3-Иодфенил)-2-оксоэтил]-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (16) получали аналогично из 0.2 г (0.59 ммоль) производного **4** и 0.51 г (2.95 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **16** выделяли методом колоночной хроматографии на SiO₂ (CHCl₃). Выход 97% (0.29 г), аморфное вещество, R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр (вазелиновое масло), ν, см⁻¹: 1781, 1712, 1679, 1608, 1597, 1560, 1500, 1455, 1384, 1352, 1265, 1222, 1194, 1110, 1051, 993, 971, 811, 745, 723, 687, 639, 618, 547, 491, 479, 437, 392. Спектр ЯМР ¹H (DMCO-d₆), δ, м. д. (J, Гц): 3.54 д. д (1H, H^{7a}, ³J_{7a-3a} 8.0, ³J_{7a-7} 3.4), 3.78 д. д. д (1H, H⁷, ³J₇₋₆ 5.8, ³J_{7-7a} 3.4, ⁴J₇₋₅ 1.7), 4.01 д. д (1H, H^{3a}, ³J_{3a-7a} 8.0, ³J_{3a-4} 4.2), 4.84 д (1H, H_A¹, ²J 18.3), 4.87 д. д. д (1H, H⁴, ³J₄₋₅ 5.4, ³J_{4-3a} 4.2, ⁴J₄₋₆ 1.8), 5.05 д (1H, H_B¹, ²J 18.3), 6.57 д. д. д (1H, H⁶, ³J₆₋₅ 7.6, ³J₆₋₇ 5.8, ⁴J₆₋₄ 1.8), 6.69 д. д. д (1H, H⁵, ³J₅₋₆ 7.6, ³J₅₋₄ 5.4, ⁴J₅₋₇ 1.7), 7.16 д (2H, H_{орто}, ³J 7.5), 7.37 т (1H, H^{5''}, ³J_{5''-4''} = ³J_{5''-6''} = 7.8), 7.43 т (1H, H_{пара}, ³J 7.5), 7.49 т (2H, H_{мета}, ³J 7.5), 8.00 д. т (1H, H^{4''}, ³J_{4''-5''} 7.8, ⁴J_{4''-6''} = ⁴J_{4''-2''} = 1.6), 8.05 д. т (1H, H^{6''}, ³J_{6''-5''} 7.8, ⁴J_{6''-2''} = ⁴J_{6''-4''} = 1.6), 8.29 т (1H, H^{2''}, ⁴J_{2''-4''} = ⁴J_{2''-6''} = 1.6). Спектр ЯМР ¹³C (DMCO-d₆), δ_C, м. д.: 40.92 (C^{7a}), 45.10 (C⁷), 46.59 (C^{3a}), 51.73 (C^{1'}), 55.20 (C⁴), 95.15 (C^{3''}), 126.71 (C_{орто}), 127.12

(C^{4''}), 128.52 (C_{пара}), 128.88 (C_{мета}), 130.33 (C⁶), 130.88 (C^{5''}), 131.81 (C_{унко}), 133.14 (C⁵), 136.11 (C^{2''}), 136.41 (C^{1''}), 142.01 (C^{6''}), 170.90 (C⁸), 174.63 (C³), 175.26 (C¹), 193.86 (C^{2'}). Спектр ЯМР ¹⁵N (CDCl₃), δ_N, м. д.: 116.87 (N⁹), 193.49 (N²). Найдено, %: C 53.93; H 3.31; I 24.76; N 5.46. C₂₃H₁₇IN₂O₄. Вычислено, %: C 53.92; H 3.34; I 24.77; N 5.47.

9-Этил-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (20) получали аналогично из 0.2 г (1.62 ммоль) производного **6** и 1.40 г (8.1 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **20** выделен методом колоночной хроматографии на SiO₂ (C₆H₆:MeOH = 99:1). Выход 72% (0.34 г), белые кристаллы, т. пл. 159–160°C (EtOAc), R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр (вазелиновое масло), ν, см⁻¹: 2977, 1778, 1709, 1674, 1598, 1497, 1456, 1432, 1385, 1316, 1261, 1243, 1188, 1046, 885, 830, 757, 718, 693, 672, 604. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 1.09 т (3H, H^{2'}, ³J 7.1), 3.25 д. т (1H, H_A¹, ²J 14.1, ³J 7.1), 3.37 д. д (1H, H^{7a}, ³J_{7a-3a} 8.1, ³J_{7a-7} 3.4), 3.52 д. т (1H, H_B¹, ²J 14.1, ³J 7.1), 3.53 д. д (1H, H^{3a}, ³J_{3a-7a} 8.1, ³J_{3a-4} 3.9), 4.01 д. д. д (1H, H⁷, ³J₇₋₆ 5.8, ³J_{7-7a} 3.4, ⁴J₇₋₅ 1.7), 4.69 д. д. д (1H, H⁴, ³J₄₋₅ 5.5, ³J_{4-3a} 3.9, ⁴J₄₋₆ 1.8), 6.48 д. д. д (1H, H⁶, ³J₆₋₅ 7.6, ³J₆₋₇ 5.8, ⁴J₆₋₄ 1.8), 6.55 д. д. д (1H, H⁵, ³J₅₋₆ 7.6, ³J₅₋₄ 5.5, ⁴J₅₋₇ 1.7), 7.14 д (2H, H_{орто}, ³J 7.5), 7.38 т (1H, H_{пара}, ³J 7.5), 7.44 т (2H, H_{мета}, ³J 7.5). Спектр ЯМР ¹³C (CDCl₃), δ_C, м. д.: 13.08 (C^{2'}), 39.68 (C¹), 40.77 (C^{7a}), 46.03 (C⁷), 47.09 (C^{3a}), 54.18 (C⁴), 126.21 (C_{орто}), 128.94 (C_{пара}), 129.16 (C_{мета}), 131.36 (C_{унко}), 131.67 (C⁶), 132.14 (C⁵), 170.50 (C⁸), 174.10 (C³), 174.69 (C¹). Спектр ЯМР ¹⁵N (CDCl₃), δ_N, м. д.: 128.29 (N⁹), 193.65 (N²). Найдено, %: C 68.92; H 5.46; N 9.46. C₁₇H₁₆N₂O₃. Вычислено, %: C 68.91; H 5.44; N 9.45.

2-Фенил-9-пропил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (21) получали аналогично из 0.2 г (1.5 ммоль) производного **7** и 1.29 г (7.50 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **21** выделяли методом колоночной хроматографии на SiO₂ (гексан:этилацетат = 7:3). Выход 71% (0.32 г), аморфное вещество, R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр (вазелиновое масло), ν, см⁻¹: 1779, 1708, 1650, 1606, 1499, 1465, 1434, 1398, 1300, 1263, 1247, 1205, 1167, 1069, 1053, 901, 829, 811, 751, 720, 693, 674, 642, 608, 481. Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃), δ, м. д. (J, Гц): 0.85 т (3H, H^{3'}, ³J 6.9), 1.49 м (1H, H^{2'}, ³J 6.9), 3.10 д. т (1H, H_A¹, ²J 14.0, ³J 6.9), 3.33 д. д (1H, H^{7a}, ³J_{7a-3a} 8.1, ³J_{7a-7} 3.4), 3.44 д. т (1H, H_B¹, ²J 14.0, ³J 6.9), 3.50 д. д (1H,

H^{3a} , $^3J_{3a-7a}$ 8.1, $^3J_{3a-4}$ 4.0), 3.98 д. д. д (1H, H^7 , $^3J_{7-6}$ 5.8, $^3J_{7-7a}$ 3.4, $^4J_{7-5}$ 1.7), 4.63 д. д. д (1H, H^4 , $^3J_{4-5}$ 5.5, $^3J_{4-3a}$ 4.0, $^4J_{4-6}$ 1.8), 6.46 д. д. д (1H, H^6 , $^3J_{6-5}$ 7.6, $^3J_{6-7}$ 5.8, $^4J_{6-4}$ 1.8), 6.52 д. д. д (1H, H^5 , $^3J_{5-6}$ 7.6, $^3J_{5-4}$ 5.5, $^4J_{5-7}$ 1.7), 7.14 д (2H, $H_{орто}$, 3J 7.5), 7.37 т (1H, $H_{пара}$, 3J 7.5), 7.43 т (2H, $H_{мета}$, 3J 7.5). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ_C , м. д.: 11.11 (C^3), 21.34 (C^2), 40.79 (C^{7a}), 46.03 (C^7), 46.46 (C^1), 46.95 (C^{3a}), 54.59 (C^4), 126.21 ($C_{орто}$), 128.88 ($C_{пара}$), 129.11 ($C_{мета}$), 131.42 (C_{unco}), 131.67 (C^6), 132.07 (C^5), 170.73 (C^8), 174.10 (C^3), 174.69 (C^1). Спектр ЯМР ^{15}N ($CDCl_3$), δ_N , м. д.: 126.19 (N^9), 193.66 (N^2). Найдено, %: C 69.67; H 5.84; N 9.01. $C_{18}H_{18}N_2O_3$. Вычислено, %: C 69.66; H 5.85; N 9.03.

9-(3-Метилбутил)-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (22) получали аналогично из 0.2 г (1.21 ммоль) производного **8** и 1.0 г (6.0 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **22** выделяли методом колоночной хроматографии на SiO_2 ($C_6H_6:MeOH = 99:1$). Выход 78% (0.32 г), белые кристаллы, т. пл. 173–175°C (EtOAc), R_f 0.5 (EtOAc). ИК спектр (пленка), ν , cm^{-1} : 2956, 1712, 1673, 1611, 1497, 1457, 1431, 1388, 1237, 1190, 759, 742, 718, 692, 671, 598, 515. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , м. д. (J , Гц): 0.91 д (3H, H^5 , 3J 6.6), 0.93 д (3H, H^4 , 3J 6.6), 3.50 т. д (2H, H^2 , $^3J_{2-1A(1'B)}$ 7.2, $^3J_{2-3}$ 6.6), 1.51 м (1H, H^3 , 3J 6.6), 3.20 д. т (1H, H'_A , 2J 14.2, 3J 7.2), 3.37 д. д (1H, H^{7a} , $^3J_{7a-3a}$ 8.1, $^3J_{7a-7}$ 3.3), 3.50 д. т (1H, H'_B , 2J 14.2, 3J 7.2), 3.53 д. д (1H, H^{3a} , $^3J_{3a-7a}$ 8.1, $^3J_{3a-4}$ 4.0), 4.02 д. д. д (1H, H^7 , $^3J_{7-6}$ 5.8, $^3J_{7-7a}$ 3.3, $^4J_{7-5}$ 1.7), 4.66 д. д. д (1H, H^4 , $^3J_{4-5}$ 5.5, $^3J_{4-3a}$ 4.0, $^4J_{4-6}$ 1.8), 6.48 д. д. д (1H, H^6 , $^3J_{6-5}$ 7.6, $^3J_{6-7}$ 5.8, $^4J_{6-4}$ 1.8), 6.54 д. д. д (1H, H^5 , $^3J_{5-6}$ 7.6, $^3J_{5-4}$ 5.5, $^4J_{5-7}$ 1.7), 7.14 д (2H, $H_{орто}$, 3J 7.5), 7.38 т (1H, $H_{пара}$, 3J 7.5), 7.44 т (2H, $H_{мета}$, 3J 7.5). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ_C , м. д.: 22.36 (C^5), 22.54 (C^4), 25.76 (C^3), 36.73 (C^2), 40.83 (C^{7a}), 43.26 (C^1), 46.05 (C^7), 47.00 (C^{3a}), 54.43 (C^4), 126.21 ($C_{орто}$), 128.95 ($C_{пара}$), 129.18 ($C_{мета}$), 131.35 (C_{unco}), 131.75 (C^6), 132.04 (C^5), 170.58 (C^8), 174.14 (C^3), 174.66 (C^1). Спектр ЯМР ^{15}N ($CDCl_3$), δ_N , м. д.: 126.29 (N^9), 193.69 (N^2). Найдено, %: C 70.97; H 6.56; N 8.26. $C_{20}H_{22}N_2O_3$. Вычислено, %: C 70.99; H 6.55; N 8.28.

9-Гексил-2-фенил-3а,4,7,7а-тетрагидро-1H-4,7-(эпиминометано)изоиндол-1,3,8-трион (23) получали аналогично из 0.2 г (1.12 ммоль) производного **9** и 0.97 г (5.59 ммоль) N-фенилмалеинимида **11**. Продукт **23** выделяли методом колоночной хроматографии на SiO_2 (бензол). Выход 68% (0.27 г), белые кристаллы,

т. пл. 131–133°C ($CHCl_3$), R_f 0.3 ($CHCl_3$). ИК спектр (пленка), ν , cm^{-1} : 2955, 2930, 2871, 1779, 1713, 1668, 1608, 1598, 1497, 1457, 1433, 1383, 1318, 1291, 1263, 1192, 1133, 1059, 1003, 830, 810, 792, 749, 719, 690, 672, 639, 607, 515, 485. Спектр ЯМР 1H ($CDCl_3$), δ , м. д. (J , Гц): 0.88 т (3H, H^6 , 3J 7.2), 1.22–1.31 м (1H, H^5), 1.47 м (1H, H^2 , 3J 6.9), 3.16 д. т (1H, H'_A , 2J 14.0, 3J 6.9), 3.37 д. д (1H, H^{7a} , $^3J_{7a-3a}$ 8.1, $^3J_{7a-7}$ 3.4), 3.48 д. т (1H, H'_B , 2J 14.0, 3J 6.9), 3.53 д. д (1H, H^{3a} , $^3J_{3a-7a}$ 8.1, $^3J_{3a-4}$ 4.0), 4.02 д. д. д (1H, H^7 , $^3J_{7-6}$ 5.8, $^3J_{7-7a}$ 3.4, $^4J_{7-5}$ 1.7), 4.66 д. д. д (1H, H^4 , $^3J_{4-5}$ 5.5, $^3J_{4-3a}$ 4.0, $^4J_{4-6}$ 1.8), 6.48 д. д. д (1H, H^6 , $^3J_{6-5}$ 7.6, $^3J_{6-7}$ 5.8, $^4J_{6-4}$ 1.8), 6.54 д. д. д (1H, H^5 , $^3J_{5-6}$ 7.6, $^3J_{5-4}$ 5.5, $^4J_{5-7}$ 1.7), 7.14 д (2H, $H_{орто}$, 3J 7.5), 7.38 т (1H, $H_{пара}$, 3J 7.5), 7.43 т (2H, $H_{мета}$, 3J 7.5). Спектр ЯМР ^{13}C ($CDCl_3$), δ_C , м. д.: 13.98 (C^6), 22.46 (C^5), 26.28 (C^3), 28.03 (C^2), 31.40 (C^4), 40.84 (C^{7a}), 44.95 (C^1), 46.06 (C^7), 47.00 (C^{3a}), 54.60 (C^4), 126.22 ($C_{орто}$), 128.94 ($C_{пара}$), 129.17 ($C_{мета}$), 131.38 (C_{unco}), 131.75 (C^6), 132.06 (C^5), 170.68 (C^8), 174.13 (C^3), 174.68 (C^1). Спектр ЯМР ^{15}N ($CDCl_3$), δ_N , м. д.: 126.44 (N^9), 193.69 (N^2). Найдено, %: C 71.55; H 6.87; N 7.96. $C_{21}H_{24}N_2O_3$. Вычислено, %: C 71.57; H 6.86; N 7.95.

Вирусы и клетки. В работе использовали аденовирус человека 5 типа (AdV5) из коллекции вирусов Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Вирус культивировали в эмбриональных клетках почки макаки резус МА-104 (ATCC CRL-2378.1) при 36°C в атмосфере 5% CO_2 . Клетки МА-104 в среде альфа-МЕМ (Биолот, Санкт-Петербург) рассевали на 96-луночные планшеты для клеточных культур и инкубировали при 36°C в 5% CO_2 до образования однородного монослоя.

Анализ цитотоксичности *in vitro*. Цитотоксичность соединений изучали в микротетразолиевом тесте (МТТ). Для этого из каждого соединения готовили серию трехкратных разведений (3.7–300 мкг/мл) в среде альфа-МЕМ. Вещества в соответствующих разведениях вносили в лунки планшета и инкубировали с клетками инкубировали в течение 96 ч 36°C в 5% CO_2 . По окончании инкубации клетки дважды промывали физиологическим фосфатным буфером (PBS) и добавляли раствор 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (0.5 мг/мл) в альфа-МЕМ. После 1 ч инкубации лунки промывали PBS, остаток формазана растворяли в 0.1 мл ДМСО на лунку. Оптическую плотность в лунках измеряли с помощью планшетного анализатора Multiskan FC

(Thermo Scientific) при длине волны 540 нм. Каждую концентрацию производных **14–26** тестировали в трех параллелях. На основании полученных результатов для каждого анализируемого соединения рассчитывали 50%-ную цитотоксическую концентрацию (CC_{50} , концентрацию соединения, которая снижала оптическую плотность в два раза по сравнению с контрольными лунками). Расчет проводили при помощи программного обеспечения GraphPad Prism 6.01 (4-параметрическое уравнение доза–эффект). Полученные данные в мкг/мл переводили в молярные концентрации.

Противовирусная активность *in vitro*. Ингибирующую активность тестируемых соединений **14–26** определяли по эффекту цитопротекции, оценивая снижение вирус-индуцированного цитопатогенного эффекта (CPE) под их действием. После добавления соединений в диапазоне концентраций и 1 ч инкубации клетки заражали AdV5 (m.o.i. 0.01). После 96 ч инкубации проводили МТТ-тест, как описано выше. На основании полученных результатов рассчитывали 50%-ную ингибирующую концентрацию (IC_{50}), т. е. концентрацию соединения, которая защищала 50% клеток по сравнению с плацебо-контролем. Полученные данные из весовых концентраций (мкг/мл) переводили в молярные. Каждую концентрацию соединений тестировали в трех параллелях. Для каждого соединения рассчитывали индекс селективности (SI, отношение CC_{50} к IC_{50}).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Ковальская Алёна Витальевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7772-2894>

Лобов Александр Николаевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9223-508X>

Цыпышева Инна Петровна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5025-8742>

Зарубаев Владимир Викторович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6837-5242>

Сорокина Валерия Андреевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-9580>

БЛАГОДАРНОСТЬ

Все эксперименты выполнены на оборудовании Центра коллективного пользования «Химия» Уфимского института химии Уфимского федерального

исследовательского центра РАН и Регионального центра коллективного пользования «Агидель» Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 24-23-00363 «Синтез и исследование противовирусной активности производных тритерпеновых кислот солодки и хинолизиновых алкалоидов термопсиса как ингибиторов аденовирусов»).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Российский терапевтический справочник / Под ред. А.Г. Чучалина. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 860 с.
2. Arnold A., MacMahon E. // *Medicine*. 2021. Vol. 49. N 12. P. 790. doi 10.1016/j.mpmed.2021.09.013
3. Rowe W.P., Huebner R.J., Gilmore L.K., Parrott R.H., Ward T.G. // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1953. Vol. 84. N 3. P. 570. doi 10.3181/00379727-84-20714
4. Binder A.M., Bigg H.M., Hayne A.K., Chommanard C., Lu X., Erdma D.D., Watson J., Gerber S.I. // *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2017. Vol. 66. P. 1039. doi 10.15585/mmwr.mm6639a2
5. Munoz F.M., Piedra P.A., Demmler G.J. // *Clin. Infect. Dis.* 1998. Vol. 27. N 5. P. 1194. doi 10.1086/514978
6. Abzug M.J., Levin M.J. // *Pediatrics*. 1991. Vol. 87. N 6. P. 890.
7. Rosario R.F., Kimbrough R.C., Van Buren D.H., Laszki M.E. // *Transpl. Infect. Dis.* 2006. Vol. 8. N 1. P. 54. doi 10.1111/j.1399-3062.2006.00137.x
8. Abarca V.K., Le Corre P.N., Perret P.C., Wietstruck P.A., Oddó B.D., Barriga C.F. // *Rev. Chilena Infectol.* 2008. Vol. 25. N 2. P. 127.
9. Hierholzer J.C. // *Clin. Microbiol. Rev.* 1992. Vol. 5. N 3. P. 262. doi 10.1128/CMR.5.3.262
10. Cox M.M. // *Yale J. Biol. Med.* 2005. Vol. 78. N 5. P. 321.
11. Cesaro S., Porta F. // *J. Clin. Med.* 2022. Vol. 11. N 16. P. 4827. doi 10.3390/jcm11164827
12. Mazzotta S., Berastegui-Cabrera J., Vega-Holm M., García-Lozano M.D.R., Carretero-Ledesma M., Aiello F., Vega-Pérez J.M., Pachón J., Iglesias-Guerra F., Sánchez-Céspedes J. // *Bioorg. Chem.* 2021. Vol. 114. P. 105095. doi 10.1016/j.bioorg.2021.105095

13. Ehlert K., Schulte J.H., Kühl J.S., Lang P., Eggert A., Voigt S. // *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2021. Vol. 10. N 11. P. 987. doi 10.1093/jpids/piab072
14. Dahal S., Cheng R., Cheung P.K., Been T., Maly R., Geng M., Manianis S., Shkreta L., Jahanshahi S., Toutant J., Chan R., Park S., Brockman M.A., Babu M., Mubareka S., Mossman K., Banerjee A., Gray-Owen S., Brown M., Houry W.A., Chabot B., Grierson D., Cochrane A. // *Viruses*. 2022. Vol. 14. P. 60. doi 10.3390/v14010060
15. Nikitenko N.A., Gureeva E.S., Ozerov A.A., Tukhvatulin A.I., Izhava F.M., Prassolov V.S., Deryabin P.G., Novikov M.S., Logunov D.Y. // *Acta Naturae*. 2018. Vol. 10. N 2. P. 58.
16. Kang D., Zhang H., Zhou Z., Huang B., Naesens L., Zhan P., Liu X. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2016. Vol. 26. N 21. P. 5182. doi 10.1016/j.bmcl.2016.09.071
17. Sánchez-Céspedes J., Martínez-Aguado P., Vega-Holm M., Serna-Gallego A., Candela J.I., Marrugal-Lorenzo J.A., Pachón J., Iglesias-Guerra F., Vega-Pérez J.M. // *J. Med. Chem.* 2016. Vol. 59. N 11. P. 5432. doi 10.1021/acs.jmedchem.6b00300
18. Mazzotta S., Marrugal-Lorenzo J.A., Vega-Holm M., Serna-Gallego A., Álvarez-Vidal J., Berastegui-Cabrera J., Pérez Del Palacio J., Díaz C., Aiello F., Pachón J., Iglesias-Guerra F., Vega-Pérez J.M., Sánchez-Céspedes J. // *Eur. J. Med. Chem.* 2020. Vol. 185. P. 111840. doi 10.1016/j.ejmech.2019.111840
19. Fedorova V.A., Kadyrova R.A., Slita A.V., Muryleva A.A., Petrova P.R., Koval'skaya A.V., Lobov A.N., Tsypyshev D.O., Borisevich S.S., Tsypysheva I.P., Zileeva Z.R., Vakhitova J.V., Zarubaev V.V. // *Nat. Prod. Res.* 2021. Vol. 35. P. 4256. doi 10.1080/14786419.2019.1696791
20. Tsypysheva I.P., Lai Hs.-Ch., Kiu Y.-T., Koval'skaya A.V., Tsypyshev D.O., Huang S.-H., Lin Ch.-W. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2021. Vol. 54. P. 128437. doi 10.1016/j.bmcl.2021.128437
21. Lin C.S., Lu C.H., Lin T.H., Kiu Y.T., Kan J.Y., Chang Y.J., Hung P.Y., Koval'skaya A.V., Tsypyshev D.O., Tsypysheva I.P., Lin C.W. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2024. Vol. 99. P. 129623. doi 10.1016/j.bmcl.2024.129623
22. Tsypysheva I., Koval'skaya A., Petrova P., Lobov A., Borisevich S., Tsypyshev D., Fedorova V., Gorbunova E., Galochkina A., Zarubaev V. // *Tetrahedron*. 2019. Vol. 75. P. 2933. doi 10.1016/j.tet.2019.04.021
23. Фарафонтובה-Антипина Е.И., Ковальская А.В., Петрова П.Р., Сайфутдиярова Р.Р., Цытышев Д.О., Федорова В.А., Лобов А.Н., Борисевич С.С. // *Вестн. Башкирск. унив.* 2018. № 1. С. 27.
24. Afarinkia K., Vinader V., Nelson T.D., Posner G.H. // *Tetrahedron*. 1992. Vol. 48. N 42. P. 9111. doi 10.1021/jo00041a010
25. Leyssen P., de Clercq E., Neyts J. // *Mol. Pharmacol.* 2006. Vol. 69. P. 1461. doi 10.1124/mol.105.020057

Diels–Alder Adducts of *N*-Substituted 2-Pyridones with Maleinimides. Synthesis and Antiviral Activity

V. A. Sorokina¹, A. V. Koval'skaya¹, A. N. Lobov¹, P. A. Ilyina²,
V. V. Zarubaev², and I. P. Tsypysheva^{1,*}

¹ Ufa Institute of Chemistry, Ufa Federal Research Center of the Russian Academy of Sciences,
Ufa, 450054 Russia

² St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, 197101 Russia

*e-mail: tsypysheva.ip@gmail.com

Received September 9, 2024; revised September 22, 2024; accepted September 26, 2024

Adducts of *N*-substituted 2-pyridones [pyridine-2(1*H*)-ones] and *N*-substituted maleic acid imides were synthesized under thermal conditions of the Diels–Alder reaction with yields from 68 to 97%. Cytotoxicity and antiviral activity of the obtained compounds were studied using a model of adenovirus infection [human adenovirus type 5 (AdV5)] in MA-104 cell culture. It was shown that the synthesized adducts have low toxicity and medium antiviral activity. Only 9-hexyl-2-phenyl-3a,4,7,7a-tetrahydro-1*H*-4,7-(epiminomethano)isoindole-1,3,8-trione has the most pronounced viral inhibitory properties with a selectivity index of 7.

Keywords: Diels–Alder reaction, 2-pyridone, antiviral activity, human adenovirus type 5 (AdV5)