

На правах рукописи



Цедилин Андрей Михайлович

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ОРИГИНАЛЬНЫХ N-ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ
ПРОИЗВОДНЫХ КАК ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ ВИЧ
И НЕЙРАМИНИДАЗЫ ВИРУСА ГРИППА**

Специальность 1.4.3. Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2025

Работа выполнена в лаборатории биомедицинской химии Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

Научный руководитель: **Макаров Вадим Альбертович**, доктор фармацевтических наук, заведующий лабораторией биомедицинской химии Федерального исследовательского центра «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук.

Официальные оппоненты: **Балакин Константин Валерьевич**, доктор химических наук, эксперт лаборатории волновых процессов и систем управления Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»;

Зарубаев Владимир Викторович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией экспериментальной вирусологии Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера».

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук» (г. Новосибирск).

Защита диссертации состоится «20» ноября 2025 г. в 12 часов 30 минут на заседании диссертационного совета 24.2.368.01, созданного на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский государственный университет им. А.Н. Косыгина (Технологии. Дизайн. Искусство)» по адресу: Москва, ул. Малая Калужская, д. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «РГУ им. А.Н. Косыгина» и на сайте университета www.rguk.ru.

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2025 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
24.2.368.01, к.т.н., доцент



Черноусова
Наталья Владимировна

Актуальность исследования. В основе противодействия вирусным эпидемиям лежат три основных подхода: меры, основанные на изменении общественных и поведенческих принципов (изоляция, карантин и т. п.), профилактика с использованием вакцин (для снижения темпов передачи и, в итоге, ликвидации вируса в популяции) и терапия с использованием низкомолекулярных соединений и моноклональных антител (для непосредственно лечения заболевания и снижения смертности у инфицированных пациентов). При этом меры общественного регулирования, несмотря на свою изначальную эффективность, в долгосрочной перспективе могут привести к серьезным экономическим и социальным последствиям, в то время как создание универсальных и эффективных вакцин от ряда вирусов, отличающихся высокой изменчивостью (таких как ВИЧ, грипп и др.), затруднительно или в принципе практически невозможно. Таким образом, одним из наиболее актуальных направлений современной органической химии является разработка новых эффективных и безопасных терапевтических средств, при этом существенное внимание сконцентрировано на разработке низкомолекулярных соединений с противовирусной активностью.

Несмотря на развитие в фармакологии в последние годы методов рационального дизайна, фенотипический скрининг остается доминирующим подходом к поиску новых лекарственных препаратов. В ходе фенотипического скрининга обширной лабораторной базы органических соединений было обнаружено три новых потенциальных класса противовирусных препаратов: N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амины (активность против ВИЧ), пирроло[2,3-*e*]индазолы и 3-индолиноны (активность против вируса гриппа).

Цель работы. 1) Разработать эффективный ненуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы ВИЧ на основе обнаруженного в ходе скрининга лабораторной библиотеки химических соединений N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминового ядра. 2) Разработать эффективные ингибиторы нейраминидазы вируса гриппа на основе обнаруженных в ходе скрининга лабораторной библиотеки химических соединений пирроло[2,3-*e*]индазольного и 3-индолинонового ядер.

Задачи. Для достижения поставленных целей было необходимо решить следующие задачи:

1. Синтезировать широкий ряд соединений с заместителями различной природы на основе N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминового, пирроло[2,3-*e*]индазольного и 3-индолинонового ядер.
2. Провести анализ «структура-свойства» в отношении противовирусной активности для синтезированных соединений.
3. Для наиболее перспективных соединений оценить релевантные параметры, такие как цитотоксичность, ADME-характеристики и др.

4. Провести для наиболее перспективных соединений моделирование методами молекулярной динамики с целью подтверждения предполагаемых механизмов ингибирования.

Научная новизна. В ходе выполнения работы впервые охарактеризованы с точки зрения противовирусной активности три класса низкомолекулярных соединений, при этом суммарно синтезировано и охарактеризовано более 100 индивидуальных соединений, подавляющее большинство из которых получено впервые.

Практическая значимость. Проведенное определение ингибирующей активности, цитотоксичности и ряда других фармакологически релевантных параметров для соединений-лидеров позволяет сделать вывод о том, что они не уступают, а в некоторых случаях существенно превосходят имеющиеся на рынке соответствующие аналоги. Таким образом, все три изученные класса соединений имеют высокий потенциал для дальнейшей разработки и применения в терапии ВИЧ и гриппа.

Положения, выносимые на защиту:

1. Синтез ряда замещенных N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминов и исследования их противовирусной (ВИЧ) активности и фармакологических свойств.
2. Синтез ряда замещенных пирроло[2,3-*e*]индазолов и исследования их противовирусной (грипп) и антибактериальной (*S. Pneumoniae*) активности и цитотоксичности.
3. Синтез ряда замещенных 3-индолинонов и исследования их противовирусной (грипп) активности и цитотоксичности.

Степень достоверности. Все эксперименты проведены на современном уровне и с соблюдением соответствующих этических норм. Состав и структура полученных соединений подтверждены с использованием комплекса физико-химических методов анализа (^1H , ^{13}C спектроскопия ядерного магнитного резонанса, масс-спектрометрия высокого разрешения, высокоэффективная жидкостная хроматография и рентгеноструктурный анализ). *In vitro* исследования проведены с использованием хорошо зарекомендовавших себя протоколов в нескольких повторениях. *In vivo* исследования проведены строго в соответствии с утвержденными стандартами. Все полученные для различных методов результаты хорошо согласуются между собой.

Апробация работы. Результаты диссертационного исследования доложены на Международной конференции по химии «Байкальские чтения – 2023» (Иркутск, Россия, 2023), Всероссийской молодежной научной школе-конференции «Актуальные проблемы органической химии (АПОХ-2024)» (Новосибирск, Россия, 2024).

Публикации. Основное содержание диссертационной работы опубликовано в 4 статьях в журналах, входящих в перечень ВАК, и 2 тезисах докладов.

Личный вклад автора состоял в поиске, анализе и систематизации литературных данных, планировании и проведении экспериментов, интерпретации полученных результатов и подготовке публикаций по теме диссертационного исследования.

Структура и объем работы. Представленная диссертационная работа изложена на 244 страницах машинописного текста, включает 12 рисунков, 28 схем и 18 таблиц и состоит из списка сокращений, введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, заключения, выводов, благодарностей и списка цитируемой литературы, включающего 371 источник.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материал работы представлен в 3 главах: литературный обзор (Глава 1), который посвящен общим сведениям о представленных на рынке и перспективных препаратах против ВИЧ и вируса гриппа, включая примеры способов их получения, обсуждение результатов (Глава 2), в которой рассматриваются основные результаты работы и экспериментальная часть (Глава 3), описывающая методики синтеза и исследования рассматриваемых в работе соединений. Основная часть диссертации описывает три новых класса потенциальных противовирусных препаратов: N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амины, пирроло[2,3-*e*]индазолы и 3-индолиноны.

Новый класс ингибиторов обратной транскриптазы N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амины

В рамках данной работы получены производные N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминов обладающих зачимой активностью в качестве ненуклеозидного ингибитора обратной транскриптазы (ИОТ). Первоначальный вариант был найден в результате фенотипического скрининга, после чего на основании классического для медицинской химии анализа зависимости «структура – активность» был проведен дизайн и синтез более 100 аналогов (в диссертационной работе представлены только 50 наиболее релевантных) с целью оптимизации активности к дикому штамму ВИЧ, штамму A17 (K103N/Y181C) и другим распространенным мутантным штаммам, устойчивым к ненуклеозидным ИОТ.

Ключевым интермедиатом для получения целевых соединений (схема 1) является замещённый метил-N'-циано-N-фенилимидотиокарбамат **3**, который можно синтезировать разными методами. Для замещенных анилинов, содержащих электронодонорные или нейтральные заместители, использовался метод синтеза, основанный на реакции анилинов с диметилцианотиоимидокарбонатом, сопровождающейся удалением метилмеркаптана.

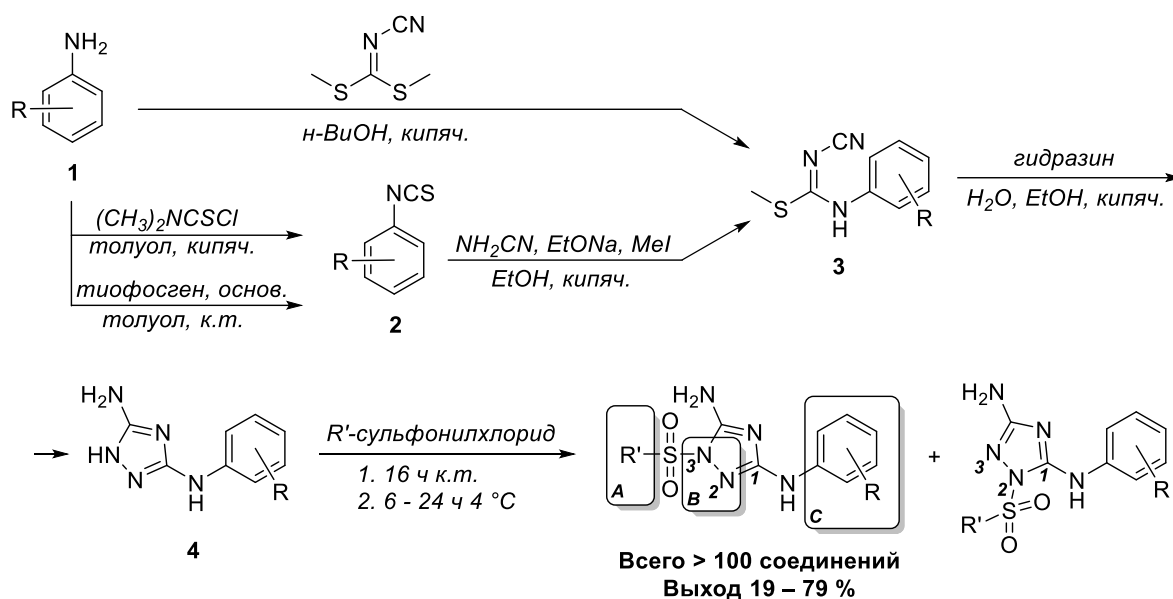


Схема 1. Общая схема синтеза N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминов.

Для синтеза соединений, имеющих электроноакцепторную группу в анилиновом фрагменте, было успешно разработано два альтернативных подхода, основанных на реакции анилина, на протекание которой не влияет наличие электронодонорных или электроноакцепторных заместителей. В первом случае был использован диметиламинотиокарбамоилхлорид в безводной среде. Соответствующий арилизотиоцианат **2**, полученный с количественным выходом, впоследствии вступает в реакцию с цианамидом в присутствии этилата натрия. Последующая обработка реакционной смеси метилйодидом приводит к образованию ключевого интермедиата — N'-циано-N-фенилимидотиокарбамата **3**. По второму пути изотиоцианат **2** может быть альтернативно синтезирован реакцией замещенных анилинов с тиофосгеном в щелочных условиях. Например, наличие триэтиламина, диизопропилэтиламина, метилата натрия, карбоната кальция и т. д. в безводном растворителе вызывает образование соответствующего изотиоцианата и его последующее превращение в N'-циано-N-фенилимидотиокарбамат **3** в реакции с цианамидом и метилйодидом. Все три метода позволяют получать целевые соединения с высоким выходом и чистотой.

Реакция полученного метил-N'-циано-N-фенилимидотиокарбамата **3** с гидразин-гидратом приводит к замыканию 1,2,4-триазольного кольца с образованием аминотриазола **4**. Последняя стадия – реакция триазола **4** с арилсульфонилхлоридом, обычно приводит к получению смеси двух изомеров, однако подбором условий реакции и кристаллизации получаемой смеси можно добиться значительного преобладания желаемого 3-сульфонил замещенного изомера. В качестве альтернативного метода разделения изомеров возможно использование хроматографии.

Для анализа зависимости «структура – активность» исходная структура N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амин была условно разделена на 3 оптимизируемых

структурных фрагмента — А, В и С, были синтезированы различные производные по этим фрагментам и проведен скрининг их активности по отношению к ВИЧ дикого типа (ШВ) и мутантного штамма А17. Среди 2-сульфонил замещенных триазолов лишь 8 соединений показали значимую активность против дикого типа, при этом не проявив никакой активности против мутантного штамма, в связи с чем было решено сосредоточить дальнейшие исследования на 3-сульфонил замещенных триазолах. В целом, высокой активности способствует замена фенила во фрагменте А на нафталин, в особенности содержащий циано-, метилциано- или акрилонитрильную группы по 6 положению, а также наличие электронодефицитной ароматической системы во фрагменте С. Для наиболее активных соединений был проведен дополнительный эксперимент в расширенном диапазоне концентраций с целью выхода нормализованного ингибирования на плато, при этом так же была строго оценена цитотоксичность.

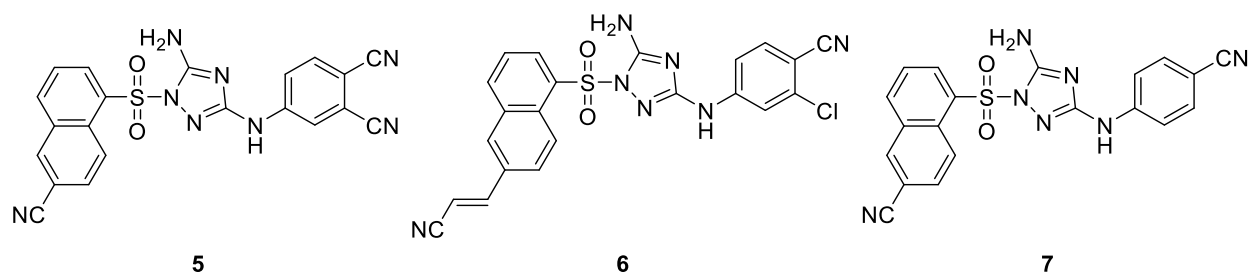


Схема 2. Наиболее перспективные N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амины.

Таким образом были выбраны наиболее перспективные соединения (схема 2), которые были дополнительно протестированы на других клинически важных мутантных штаммах. В то время как все три соединения в большинстве случаев сохраняли свою активность, для мутантных штаммов К103N существенной потери ингибирования не наблюдалось только для соединения **6**, что, по-видимому, вызвано наличием дополнительной винильной группы между нафталиновым фрагментом и нитрильной группой.

Существенной проблемой для клинически применяемых нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы является их высокая нейротоксичность и, как следствие, развитие негативных нейрологических побочных эффектов при длительной терапии. В связи с этим была проведена оценка нейротоксичности по дозозависимому окрашиванию MAP2 в первичных нейронах мыши (рис. 1). Из исследованных соединений лишь триазол **7** и использовавшийся в качестве контроля эфавиренз показали выраженный дозозависимый отклик на микромолярном уровне; для остальных соединений токсичность была значительно ниже, что, в сочетании с хорошим проникновением через гематоэнцефалический барьер, для соединения-лидера **6** позволяет говорить о низком риске развития нейрологических побочных эффектов.

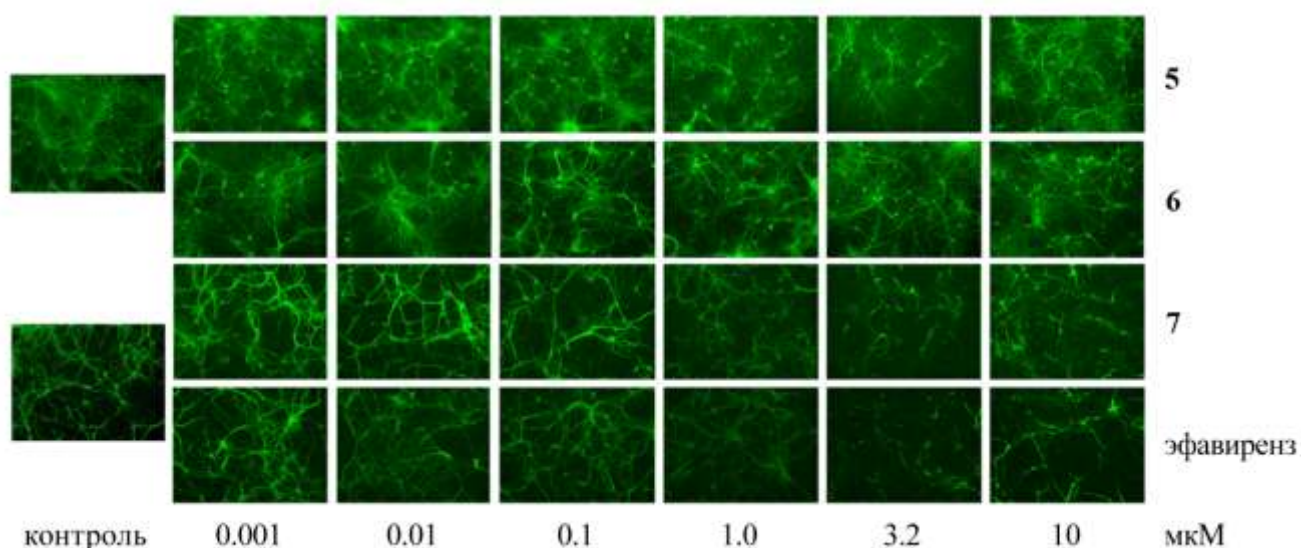


Рисунок 1. Нейротоксичность перспективных N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминов.

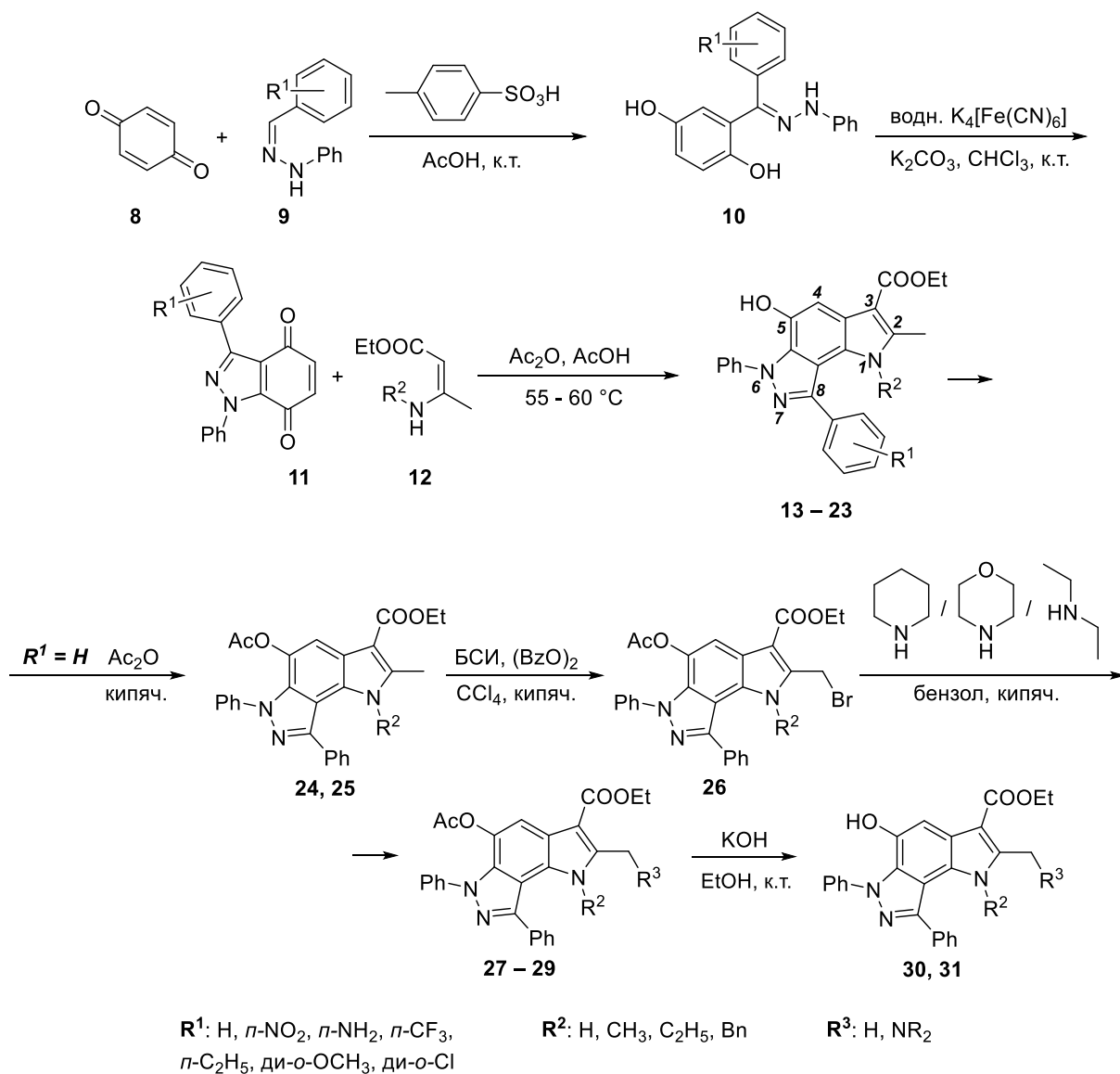
Для соединения-лидера **6** был проведен ряд фармакологических исследований. Как и прочие нуклеозидные ИОТ, оно малорастворимо в воде, тем не менее, исходя из фармакокинетических данных, этот факт не сказывается на относительной биодоступности. Соединение-лидер показало хорошую метаболическую стабильность в микросомах печени мыши и человека, относительно низкий уровень цитохромного ингибирования, высокое связывание с белками и отсутствие эффлюкса в клетках Сасо-2. Его высокая концентрация в мозге и сравнимое время полувыведения свидетельствует о легком проникновении через гематоэнцефалический барьер.

Новый класс ингибиторов нейраминидазы пирроло[2,3-*e*]индазол

В ходе фенотипического скрининга библиотеки химических соединений ФИЦ Биотехнологии РАН было обнаружено, что ранее не изучавшийся класс пирроло[2,3-*e*]индазолов предотвращает репликацию вируса гриппа. Исследование химического пространства пирроло[2,3-*e*]индазолов привело к идентификации двух потенциально значимых соединений, отличающихся хорошей переносимостью клетками почек собаки Мадина-Дарби (MDCK) и способностью подавлять репликацию штаммов H1N1 и H3N1. Кроме того, данные соединения способны подавлять как вирусную, так и пневмококковую нейраминидазы.

Для изучения зависимости структура-активность был синтезирован (схемы 3, 4) ряд пирроло[2,3-*e*]индазолов с различными заместителями с использованием реакции аза-Неницеску. Коммерчески доступный 1,4-бензохинон **8** вводят в реакцию с соответствующими фенилгидразонами бензальдегида **9** с образованием гидрохиноновых аддуктов **10**. Последующее

окисление водным раствором ферроцианида натрия в присутствии карбоната натрия приводит к образованию индазолохинонов **11**. Эти промежуточные соединения вводятся в реакцию с соответствующими коммерчески доступными аминокротоновыми эфирами **12** в среде уксусной кислоты в присутствии уксусного ангидрида с циклизацией в целевые пирроло[2,3-*e*]индазолы **13–23**. Защита 5-гидроксильной группы в 8-фенилзамещенных пирролоиндазолах **14** и **15** ацетиллом с образованием пирроло[2,3-*e*]индазолов **24** и **25** соответственно и последующим bromированием последних бромсукцинимидом в присутствии перекиси бензоила дает соответствующие 2-бромметильные производные **26**. Дальнейшее нуклеофильное замещение пиперидином, диэтиламиноом или морфолином приводит к образованию 2-замещенных производных **27–29**. Щелочной гидролиз ацетильных производных **27** и **29** дает 2-гидроксипирроло[2,3-*e*]индазолы **30** и **31**.



Выход **9 – 97 %**

Схема 3. Общая схема синтеза пирроло[2,3-*e*]индазолов.

Алкилированием 8-*n*-нитрофенилзамещенного пирролоиндазола **17** соответствующими алкил йодидами в присутствии карбоната калия в N-метилпирролидоне были получены моно- и дизамещенные производные **32–35**, его O-ацилированием уксусным ангидридом получили 5-ацетилокси-8-нитрофенил-пирролоиндазол **36**, а восстановлением нитрогруппы каталитическим гидрированием на Pd на угле — аминофенилпирролоиндазол **37**. O-ацилированием последнего уксусным ангидридом получают 5-ацетилокси-8-аминофенилпирролоиндазол **38**, а конденсацией с 2,5-диметокситетра-гидрофураном в присутствии уксусной кислоты — пирроловое производное **39**.

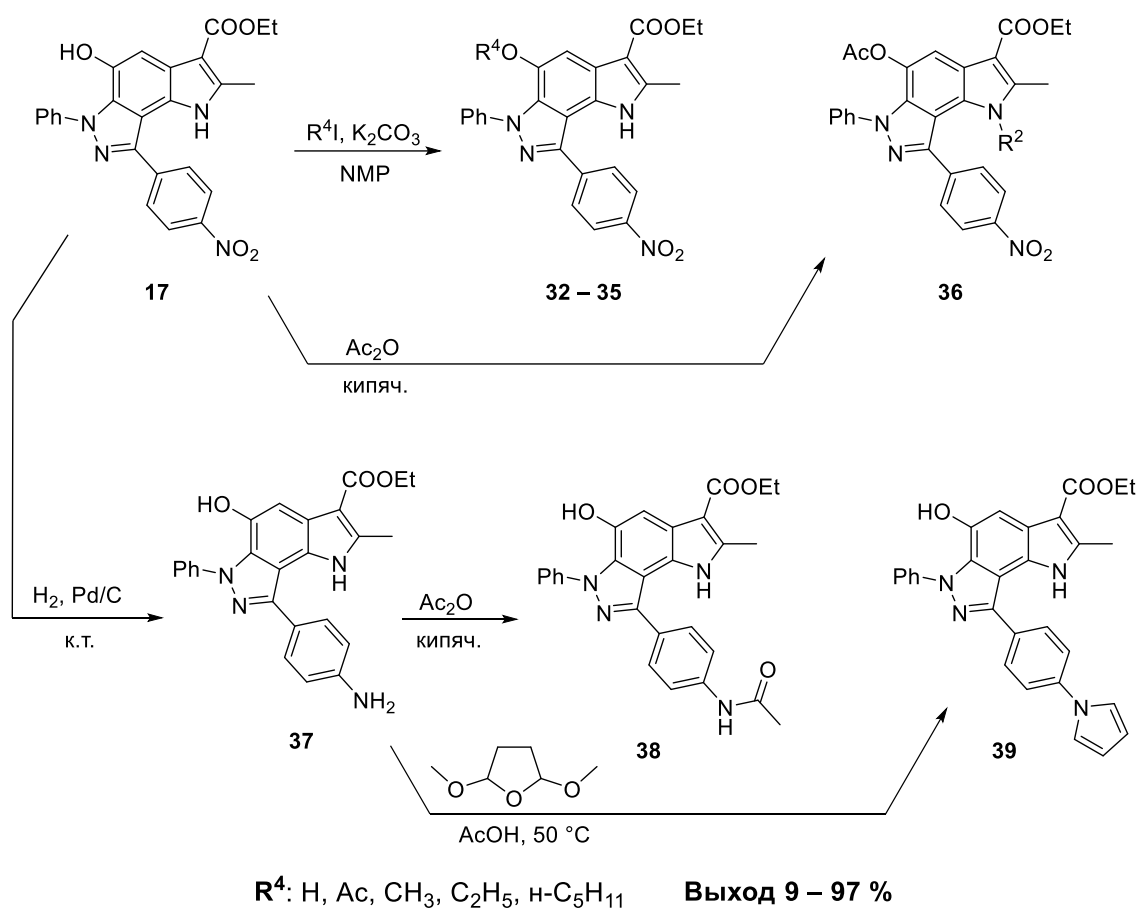


Схема 4. Общая схема синтеза пирроло[2,3-*e*]индазолов (окончание).

Результаты исследования взаимосвязи «структура-активность» указывают на специфическую по отношению к подтипу вируса активность. Так, ряд соединений, содержащих различные заместители по 1, 2 и 5 положениям индольного ядра, ингибировали исключительно цитопатический эффект вируса Йена-09, а пирролоиндазолы со стерически ненагруженным заместителем по 1 положению, либо без заместителей по 1, 2 и 5 положениям, проявляли активность только против штамма Гонконг-68. Лишь 4 соединения (схема 5) показали активность против обоих штаммов. Все они характеризуются отсутствием заместителей по 1, 2 и 5 положениям и содержат нитро-, amino- или трифторметильную группу в пара-положении 8-фенильного заместителя.

Существенная часть летальных случаев во время пандемий гриппа обусловлена не первичной инфекцией, а вторичной бактериальной пневмонией, вызываемой преимущественно пневмококком. При этом структурное сходство между активными центрами нейраминидаз гриппа и пневмококка позволяет предполагать, что низкомолекулярный ингибитор будет в равной степени действовать на обе нейраминидазы. Действительно, озельтамивир (но не занамивир) проявляет двойную активность. В связи с этим для синтезированных соединений был дополнительно проведен сравнительный анализ ингибирования нейраминидаз гриппа и пневмококка. Практически все синтезированные соединения ингибировали как вирусный, так и бактериальный ферменты в умеренных концентрациях. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод о том, что наиболее перспективными представляются соединения **20** и **37** как обладающие существенной двойной ингибирующей активностью в отношении и вирусной и микробной нейраминидазы.

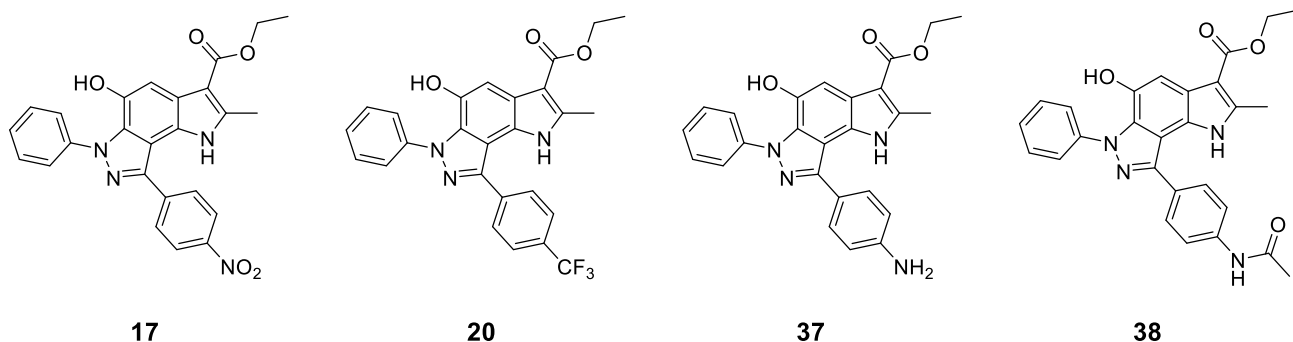


Схема 5. Наиболее перспективные пирроло[2,3-*e*]индазолы.

Классические ингибиторы нейраминидазы, такие как озельтамивир и занамивир, содержат общую структурную особенность — карбоксильную группу, захватывающую три гуанидиновые группы в аргининовых остатках активного центра. Этот структурный мотив схож с переходным состоянием, образующимся в активном центре нейраминидазы при расщеплении сиаловой кислоты гликоконъюгатов. Исследуемые соединения, напротив, не содержат ни только карбоксильных заместителей, но и каких-либо других анионных групп. Вследствие этого поиск сайта связывания представляется сложной задачей, тем более что исследуемые соединения активны против как вирусных, так и бактериальных нейраминидаз и, следовательно, должны одинаково стабильно связываться с обоими белками.

Изначально был проведен докинг соединения-лидера **37** по широкой области вокруг активных центров вирусной и бактериальных нейраминидаз, а полученные комплексы затем были смоделированы методами классической молекулярной динамики (рис. 2). Несмотря на низкое сходство аминокислотных последовательностей вирусного и бактериального белков, характер связывания пирроло[2,3-*e*]индазола **37** с ними схож. Этот ингибитор закреплен двумя

водородными связями: с карбоксильной группой и с положительно заряженной боковой цепью аргинина. Соединение-лидер **37** так же имеет гидрофобные фрагменты, комплиментарные гидрофобным фрагментам сайтов связывания нейраминидазы.

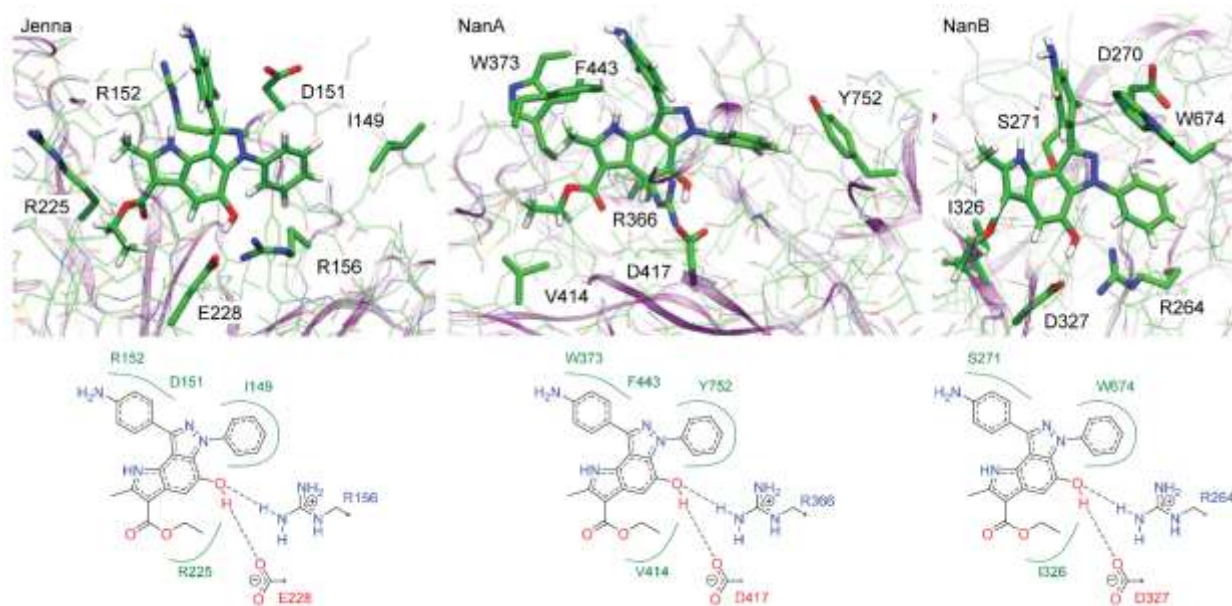


Рисунок 2. Докинг пирроло[2,3-*e*]индазола **37** с вирусной и бактериальными нейраминидазами.

Известно, что пневмококковая нейраминидаза может влиять на образование биопленок, из чего можно сделать вывод о том, что, возможно, ингибиторы нейраминидазы могут его подавлять. В то же время подобное подавление не наблюдается для озельтамивира и занамивира. Аналогично, для большинства синтезированных в данной работе соединений не наблюдалось значимого подавления планктонного роста и/или образования биопленок у пневмококка. При этом отсутствуют достаточные доказательства того, что для синтезированных соединений, продемонстрировавших подавление роста биопленок, оно было вызвано именно ингибированием этими соединениями нейраминидазы.

Ингибиторы нейраминидазы на основе 3-индолинонового ядра, использующие в качестве мишени полость-430

Помимо собственно каталитической полости, связывающей с последующим расщеплением гликозидной связи остаток сиаловой кислоты олигосахаридного субстрата (полость-SA), активный центр нейраминидазы вируса гриппа А так же содержит так называемые полости 150 и 430, которые, по-видимому, играют важную роль в динамическом процессе связывания лигандов и представляют существенный интерес для рационального дизайна ингибиторов нейраминидазы (рис. 3). Полость-150 образуется петлей из аминокислотных остатков 147–152 у нейраминидаз вирусов подтипов N1 и, по-видимому, закрывается в ответ на связывание занамивира и озельтамивира. В то же время, ее отсутствие в кристаллической

структуре NA подтипов N2 и N1 образца 2009 г. означает, что ингибиторы, нацеленные на эту полость, будут эффективны только против конкретного подтипов вируса. С другой стороны, идентифицированная в области аминокислотных остатков 430-439 с использованием вычислительного картирования растворителем полость-430 присутствует как в подтипе N1, так и в подтипе N2.

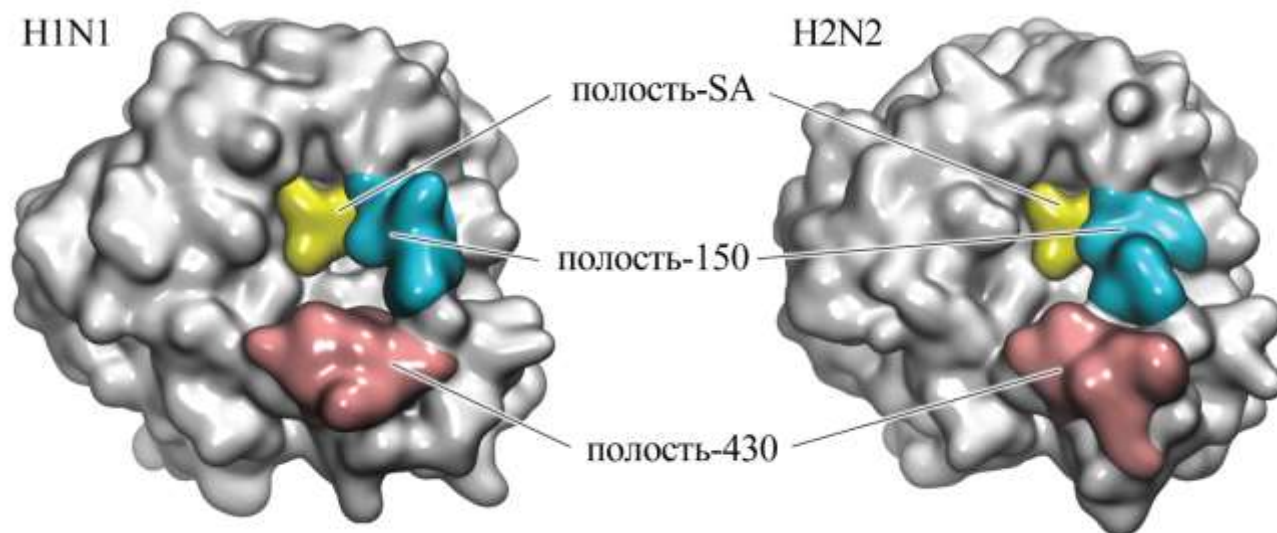


Рисунок 3. Локализация полостей активного центра нейраминидаз H1N1.

Проведенное молекулярно-динамическое моделирование нейраминидазы H5N1 указывает на то, что эта полость может взаимодействовать с остатком сиаловой кислоты и озельтамивиром, влияя таким образом на их связывание с активным центром. В рамках диссертационного исследования на основании данных анализа лабораторной химической библиотеки в качестве ингибитора нейраминидазы был предложен класс соединений на основе 3-индолинового ядра, который, по данным молекулярно-динамического моделирования, связывается с полостью-430. Для исследования взаимосвязи «структура-активность» был синтезирован ряд замещенных 3-индолинов (схема 6). Первая группа соединений содержит гидрофобные заместители в 1 положении индольного ядра. Во второй группе соединений были проварьированы различные гидрофобные заместители в 2-(фениламино)метиленовом фрагменте исходя из предположения, что подобные модификации могут быть полезны для усиления антинейраминидазной активности. Третья группа соединений содержит гидрофобные хлор- или метокси-заместители в 5 положении индольного ядра. Дополнительно было изучено влияние незначительных структурных изменений в индолиновом ядре на активности в отношении нейраминидазы вируса гриппа.

1-Замещенные 2-ариламинометилениндонил-3-оны были синтезированы нами в 4 стадии. Коммерчески доступная антрониловая кислота **40** вводится в реакцию с хлоруксусной кислотой в присутствии карбоната натрия в воде с образованием N-(2-карбоксифенил)глицина

41, который затем опционально N-ацилируется уксусным или пропионовым ангидридом или N-метилируется метилйодидом с образованием соответствующей замещенной кислоты **42**. Дальнейшая обработка уксусным ангидридом в присутствии триэтиламина приводит к внутримолекулярной циклизации с образованием замещенного индола **43**, который затем реакцией Вильсмейера-Хаака переводят в индолин-3-ол **44**, образование енаминокетона из которого под действием диметилацетала пиперидинкарбоксальдегида с последующим *in situ* трансаминированием последнего приводит к образованию целевых 3-индолинонов.

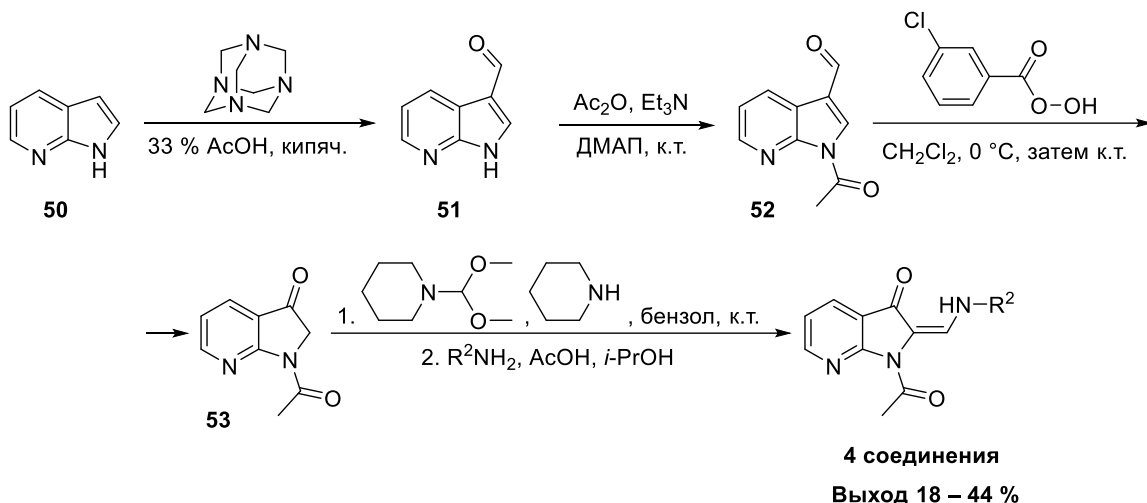
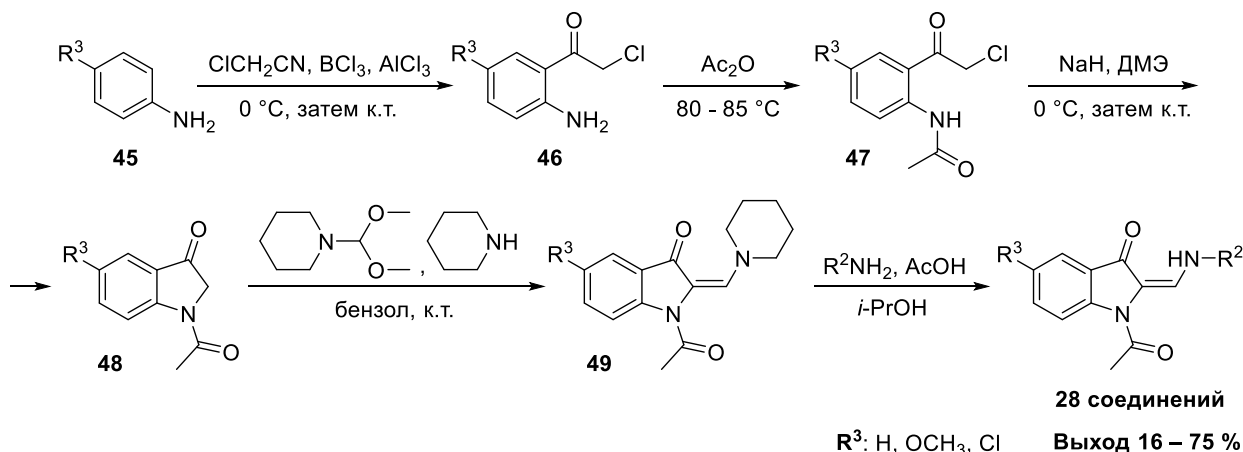
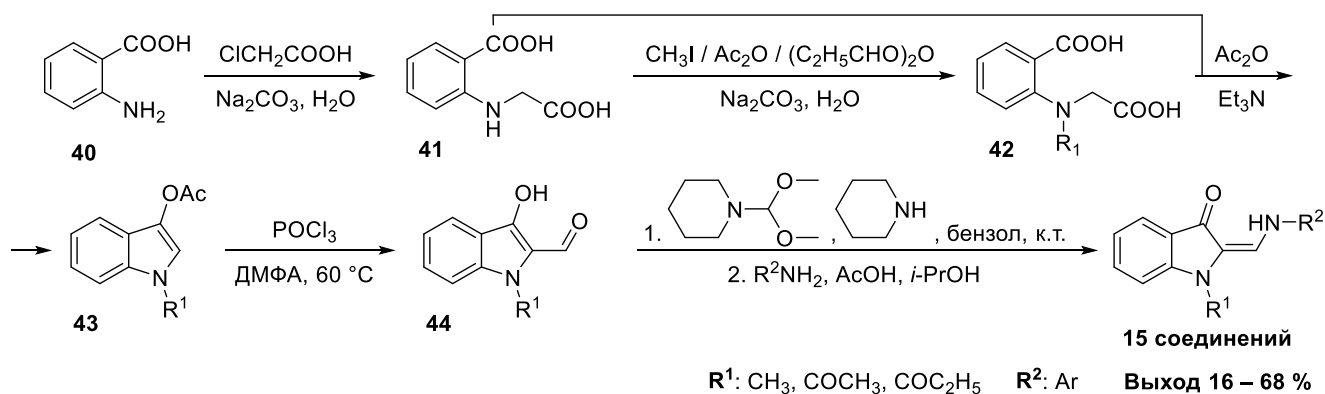


Схема 6. Общая схема синтеза 3-индолинонов.

Для получения некоторых 1-ацетил-3-индолинонов данная схема была незначительно модифицирована. Так, 5-замещенные 2-аминохлорацетофеноны **46** получают ацилированием соответствующего коммерчески доступного замещенного анилина **45** с использованием хлорацетонитрила в присутствии треххлористого бора и/или хлорида алюминия в качестве кислот Льюиса. Дальнейшее ацетилирование уксусным ангидридом приводит к образованию *N*-ацетамидов **47**, претерпевающих внутримолекулярную циклизацию в основных условиях в ДМЭ при комнатной температуре с образованием *N*-ацетилованных 3-индолинонов **48**. Реакция последних с диметилацеталем пиперидинкарбоксальдегида в бензоле приводит к образованию выделяемых енаминкетонов **49**, реакцией которых с замещенными анилинами получают целевые 1-ацетил-3-индолиноны.

Для исследования влияния введения атома азота в бензольное кольцо 3-индолинона дополнительно было синтезировано четыре 7-азаиндол-3-она. 7-азаиндол **50** переводят в карбосальдегид **51** в условиях реакции Даффа с последующим *N*-ацетилизацией с образованием промежуточного продукта **52**. Это формильное производное окисляют *m*-хлорпероксибензойной кислотой с образованием 1-ацетил-1,2-дигидро-3*H*-пирроло-[2,3-*b*]пиридин-3-она **53**, из которого целевые 3-индолиноны получают через образование енаминкетона с его последующим *in situ* трансаминированием.

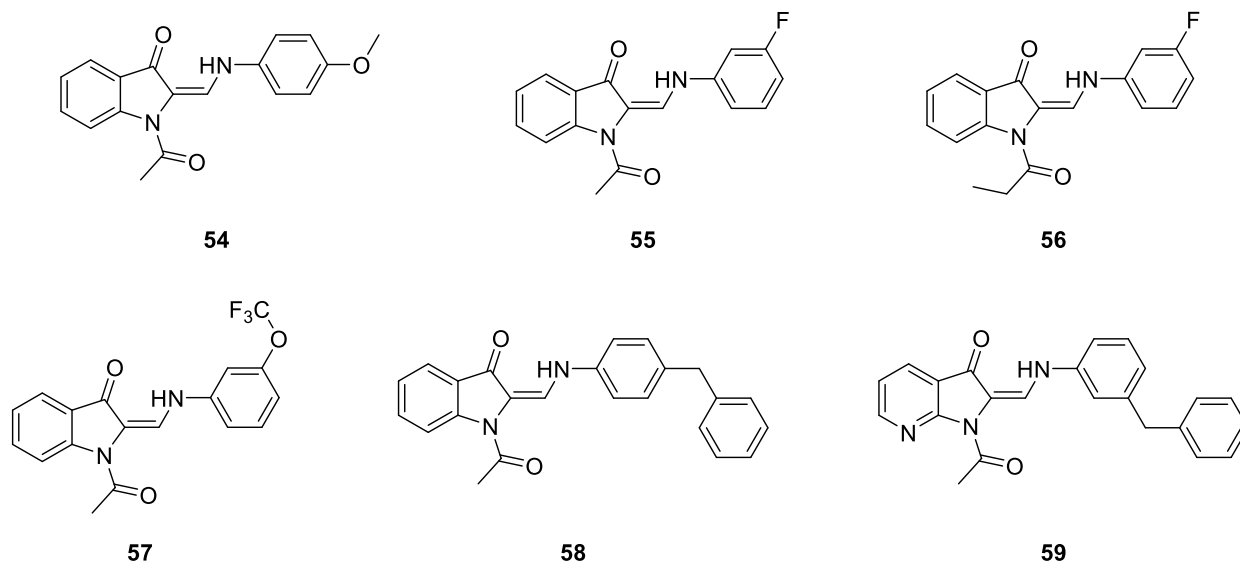


Схема 7. Наиболее перспективные пирроло[2,3-*e*]индазолы.

Для показавших наибольшую антинейраминидазную активность соединений **54** – **59** (схема 7) был проведен анализ *in vitro* активности против штамма PR/8/34 вируса гриппа А (H1N1) на клетках MDCK. Цитотоксичность не выявлена для индолинонов **54**, **55**, **58** и **59**, в то время как для соединений **56** и **57** наблюдается умеренная цитотоксичность. Индолиноны **58** и **59** неактивны *in vitro* против вируса гриппа, в то время как для соединений **54** и **56** ингибирование находится на приемлемом уровне. Соединение **55**, обладающее наибольшей

антинейраминидазной активностью, также показывает умеренное ингибирование вируса в культуре клеток, в то время как наибольшую противовирусную активность показывает индолинон **57**. Оба этих соединения содержат *m*-фтор-заместитель в 2-(фениламино)метиленовом фрагменте и отличаются лишь длиной алифатической цепи *N*-ацильного заместителя.

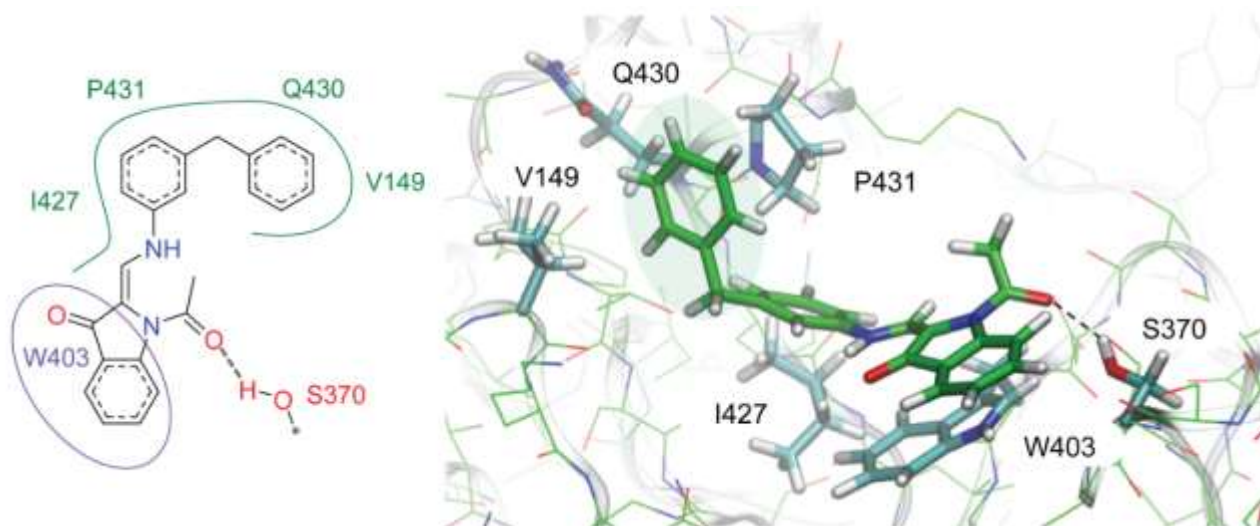


Рисунок 4. Пример докинга замещенного 3-индолинона с полостью-430.

Проведенное нами молекулярно-динамическое моделирование (рис. 4) показывает, что существенную роль в комплексообразовании, по-видимому, играет 1-ацетильная группа, образующая стабильную водородную связь с боковой цепью серина 370, обеспечивающую правильную ориентацию со стабилизацией π - π -взаимодействий между ароматическими кольцами 3-индолинона и триптофана 403. Заместители в 2-фениламинометиленовом фрагменте могут привносить в структуру дополнительные свойства, еще более увеличивающие эффективность ингибирования. Одним из вариантов является введение крупного гидрофобного заместителя комплиментарно сайту связывания, образуемому пролином 431 и алифатическими фрагментами боковых цепей валина 149 и глутамина 430.

Для оценки *in vivo* эффективности соединения-лидеры **55** и **57** вводились мышам, летально зараженным гриппом California-2009, дважды в день в течение 5 дней в дозе 50 мг/кг, используя озельтамивир в качестве положительного контроля и оценивая выживаемость, легочный титр вируса и изменение массы тела. Все 10 отрицательных контролей постоянно теряли массу тела и полностью погибли к 11 дню после инокуляции. У всех животных, получавших ингибиторы нейраминидазы, была предотвращена потеря массы тела, и к концу исследования наблюдалось ее значительное увеличение. Выживаемость составила 30% для исследуемых индолинонов **55** и **57** и 50% для озельтамивира. Показано, что лечение исследованными соединениями подавляет репликацию вируса в легких по сравнению с отрицательным контролем.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ ПО РАБОТЕ

1. Обнаружен и описан новый класс эффективных нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ на основе N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-аминового ядра. Предложено три альтернативных масштабируемых пути синтеза в зависимости от природы заместителя в анилиновом фрагменте.
2. Показано, что N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амины обладают высокой активностью в отношении ВИЧ, в том числе резистентных штаммов. Их низкая нейротоксичность и способность проникать через гематоэнцефалический барьер при высокой противовирусной активности говорит о потенциально возможном элиминировании вируса из нейронов при низком риске возникновения неврологических осложнений.
3. Впервые синтезирован и изучен новый класс полизамещенных производных пирроло[2,3-*e*]индазолов, обладающих высокой ингибирующей активностью в отношении нейраминидазы вируса гриппа и нейраминидазы пневмококка, что делает их перспективными в качестве потенциальных лекарственных препаратов для лечения бактериально осложненных вирусных инфекций.
4. Разработан метод синтеза оригинальных производных 3-индолинонов и показана их ингибирующая активность в отношении вируса гриппа. Установлено, что их мишенью является ранее неиспользуемая в качестве мишени полость-430 нейраминидазы вируса, и их существенная эффективность и потенциал для дальнейшей разработки продемонстрированы *in vivo* на модели вирусной пневмонии на мышах.

Публикации, отражающие основное содержание диссертации

*Публикации в научных рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК
и входящих в международные базы цитирования*

1. Lane T., Makarov V., Nelson J. A. E., Meeker R. B., Sanna G., Riabova O., Kazakova E., Monakhova N., **Tsedilin A.**, Urbina F., Jones T., Suchy A., Ekins S. N-Phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1H-1,2,4-triazol-3-amine as a New Class of HIV-1 Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor // Journal of Medicinal Chemistry. 2023. Т. 66, № 9. С. 6193–6217.
2. Egorova A., Richter M., Khrenova M., Dietrich E., **Tsedilin A.**, Kazakova E., Lepioshkin A., Jahn B., Chernyshev V., Schmidtke M., Makarov V. Pyrrolo[2,3-*e*]indazole as a novel chemotype for both influenza A virus and pneumococcal neuraminidase inhibitors // RSC Advances. 2023. Т. 13, № 27. С. 18253–18261.
3. **Tsedilin A.**, Schmidtke M., Monakhova N., Leneva I., Falynskova I., Khrenova M., Lane T., Ekins S., Makarov V. Indole-Core Inhibitors of Influenza A Neuraminidase: Iterative Medicinal Chemistry and Molecular Modeling // European Journal of Medicinal Chemistry.

2024. Т. 277. С. 116768.

4. Young M., Lane T., Raman R., Nelson J., Riabova O., Kazakova E., Monakhova N., **Tsedilin A.**, Rees S., Quinnell D., Makarov V., Chang G., Ekins S. Cryo-EM Structure of HIV-1 Reverse Transcriptase with N-Phenyl-1-(phenylsulfonyl)-1H-1,2,4-triazol-3-amine: A New HIV-1 Non-nucleoside Inhibitor // ACS Infectious Diseases. 2025. Т. 11, № 5. С. 1257-1267.

Публикации в сборниках научных конференций

1. **А.М. Цедилин**, В.А. Макаров N-фенил-1-(фенилсульфонил)-1H-1,2,4-триазол-3-амин как новый класс ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ-1 // Международная конференция по химии «Байкальские чтения-2023», посвященная 65-летию Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН и 85-летию академика Бориса Александровича Трофимова: Сборник тезисов докладов. 2023. С. 272.

2. **А.М. Цедилин**, В.А. Макаров Пирроло[2,3-*e*]индазол как новый хемотип ингибиторов нейранимидазы вирусов гриппа типа А и пневмококка Всероссийская молодежная научная школа-конференция «Актуальные проблемы органической химии»: Сборник тезисов. 2024. С. 194.