

УДК 631.4

**In vitro ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВИРУСНЫХ СВОЙСТВ
СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ ТЕТРАГИДРОПИРАНОВОГО
ПРОИЗВОДНОГО клозо-ДЕКАБОРАТНОГО АНИОНА С ОСТАТКАМИ
ЭФИРОВ АМИНОКИСЛОТ В ОТНОШЕНИИ ВИРУСА ГРИППА
A/IV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09**

© 2025 г. Т. М. Гараев^a, И. И. Юдин^a, Н. В. Бреслав^a, Т. В. Гребенникова^a, Е. И. Бурцева^a,
Е. Ю. Матвеев^{b,c}, Е. А. Ештукова-Щеглова^b, И. Е. Соколов^b, В. В. Авдеева^{c,*},
К. Ю. Жижин^{b,c}, Н. Т. Кузнецов^c

^aНациональный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи, ул. Гамалеи, 18, Москва, 123098 Россия

^bМИРЭА – Российский технологический университет, Институт тонких химических технологий
им. М.В. Ломоносова, пр-т Вернадского, 86, Москва, 119571 Россия

^cИнститут общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова РАН, Ленинский пр-т, 31, Москва, 119991 Россия

*e-mail: avdeeva.varvara@mail.ru

Поступила в редакцию 19.11.2024 г.

После доработки 30.11.2024 г.

Принята к публикации 02.12.2024 г.

Исходя из замещенного производного декагидро-клозо-декаборатного аниона $(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}]$, полученного при раскрытии тетрагидропиранового заместителя в анионе $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]^-$ под действием малонового эфира, синтезирован ряд соединений $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)X}]$, где X = Trp-OMe (**1**), His-OMe (**2**), Met-OMe (**3**), Ala(2-оксопирролидин-3-ил)-OMe (Pld-OMe) (**4**), содержащих различные аминокислотные заместители, присоединенные по пентантовой карбоксильной группе. Соединения были выделены в виде натриевых солей. Остатки L-триптофана (Trp-OMe в **Na₂1**) и L-гистидина (His-OMe в **Na₂2**) содержали в качестве боковой группы ароматические гетероциклические группы индол и имидазол соответственно. Соединения **Na₂3** и **Na₂4** содержали в качестве боковой группы замещенные алканы: L-метионин (Met-OMe в **Na₂3**) содержал метилэтилсульфидную группу, а соединение **Na₂4** содержало остаток алифатической синтетической аминокислоты, в которой боковая группа представлена γ -бутиrolактамом (2-оксопирролидин-3-ил) (Pld-OMe). Обнаружено, что соединения **Na₂1** и **Na₂2** проявляли дозозависимую противовирусную активность в отношении штамма вируса гриппа A/IV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09 *in vitro*. IC₅₀ для соединения **Na₂1** составила 5.0 мкг/мл, а для соединения **Na₂2** – 10.0 мкг/мл. Проведено молекулярное моделирование стыковки поры белка M2 и соединений **Na₂1** и **Na₂2**. Обнаружено, что наиболее вероятное расположение молекул в поре канала M2 связано с нахождением гетероцикла внутри поры канала M2 в районе остатков His37-Trp41, причем для соединения **Na₂1** такое расположение более выгодно, чем для соединения **Na₂2**, что объясняет некоторое различие в концентрациях подавления вирусной репродукции для **Na₂1** и **Na₂2**. Для соединений **Na₂3** и **Na₂4** противовирусная активность не выявлена.

Ключевые слова: противовирусная активность, виропорины, аминокислоты, полизидрические анионы бора, клозо-декаборатный анион, тетрагидропиран, раскрытие циклических заместителей

DOI: 10.31857/S0044457X25020093, EDN: ICJVHC

ВВЕДЕНИЕ

Появление новых штаммов высоковирулентных вирусов гриппа А может привести к эпидемиям и пандемиям с высокими показателями смертности, таким как пандемия 1918 г., которая

привела к 30–50 млн смертей во всем мире [1]. Недавняя пандемия 2009 г., получившая впоследствии условное название “свиной грипп”, была вызвана новым H1N1 и связана с генетической реассортацией генов разных видов гриппа,

которые возникли у свиней [2]. Еще большую озабоченность среди вирусологов и сотрудников надзора за распространением инфекций вызывает надвигающаяся угроза высокопатогенных штаммов вируса птичьего гриппа H5N1. Малочисленные случаи выявления заражения людей от домашней птицы демонстрировали показатели смертности, приближающиеся к 60% [3]. Хотя вирусы H5N1 еще не приобрели естественным образом способность к эффективной передаче от человека к человеку, это недавно было продемонстрировано на животных моделях [4, 5]. Разработка новой вакцины занимает несколько месяцев, поэтому эффективная противовирусная терапия важна в начале быстро распространяющейся пандемии.

Во время сезонных и пандемических вспышек противовирусные препараты обычно назначаются в виде монотерапии. Последствием такого лечения у людей стало появление резистентных штаммов к существующим препаратам, особенно к соединениям семейства амантаданов [6]. Альтернативные методы лечения применяются крайне редко, однако авторы [7] сообщают о применении комбинированной терапии, которая включает в себя различные сочетания противогриппозных препаратов, что, в свою очередь, синергически минимизирует лекарственную резистентность и снижает токсичность препаратов. Обычно используемые комбинированные противовирусные терапии включают осельтами-вир + занамишивир (направленные на один и тот же вирусный белок), балоксавир + фавипиравир (направленные на кэп-зависимую эндонуклеазу и РНК- зависимую РНК-полимеразу), балоксавир + осельтами-вир (направленные на кэп- зависимую эндонуклеазу и нейраминидазу) и осельтами-вир + амантадин + рибавирин (тройная комбинированная противовирусная лекарственная терапия, направленная на ионный канал M2, нейраминидазу и РНК- зависимую РНК- полимеразу) [8]. Это вызывает необходимость инновационной разработки новых противовирусных препаратов, безопасных для человека. Разработка и создание химических соединений, способных ингибировать определенные стадии репликации вируса путем непосредственного взаимодействия с самой вирусной частицей, является наиболее перспективным методом лечения и профилактики социально значимых вирусных инфекций. Возникающая устойчивость вирусов к существующим препаратам прямого действия требует постоянной разработки и

поиска новых биологически активных малотоксичных для организма молекул, способных подавлять размножение вирусов.

В последнее время появляются новые классы ингибиторов репликации вируса гриппа. Некоторые кандидатные молекулы следующего поколения, находящиеся в стадиях клинических испытаний, включают субстанции EIDD-2801 и Pimodivir. Pimodivir, аналог циклогексилкарбоновой кислоты, ингибирует процесс кэпирования (5' cap) на 5' в конце некоторых первичных транскриптов, таких как предшественники мессенджерной РНК в активном сайте субъединицы PB2, что приводит к предотвращению репликации вируса гриппа [9]. Поиск альтернативных мишеньей в репликационном цикле вируса и использование новых классов соединений для создания инновационных активных молекул, обладающих противовирусным действием непосредственно на вирион, поможет расширить спектр применяемых фармацевтических средств и получить преимущество в вопросах, связанных с быстро возникающей резистентностью.

Полиэдрические анионы $[B_nH_n]^{2-}$ ($n = 10, 12$) представляют собой пример наиболее устойчивых борных кластеров, которые могут быть успешно функционализированы за счет реакций, протекающих по механизму электрофильтро-индукцируемого нуклеофильного замещения (electrophilic-induced nucleophilic substitution, EINS) [10–17]. В качестве электрофильтральных индукторов в таких процессах могут применяться различные кислоты Льюиса, галогениды элементов 4-й и 13-й групп, а также карбокатионы [18–23]. Такой подход позволяет получать обширный круг клозо-декаборатов различного строения [24–27]. Производные кластерных анионов бора, содержащих молекулы простых циклических эфиров в качестве заместителей, представляют собой удобные прекурсоры для синтеза клозо-декаборатов с пендантными C-, N-, O-, S-функциональными группами, в том числе биологически активными [28–43]. Борный кластер в таких соединениях дистанцирован от концевой группы за счет алcoxильного спейсера различного строения, это приводит к специфической реакционной способности.

Достигнутые ранее положительные результаты использования мембронотропных карбоциклических производных аминокислот и пептидов в качестве противовирусных агентов *in vitro* в отношении вирусов гриппа A, гепатита C и коронавируса позволяют надеяться на достижение

подавления репликации современных штаммов вируса гриппа А при использовании нового класса бионеоганических систем на основе производных кластерных анионов бора [44–46].

Цель работы – синтез новых замещенных производных *клоzo-декаборатного аниона* $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{X}]$, $\text{X} = \text{Trp-OMe}$, His-OMe, Met-OMe, Pld-OMe, полученного при раскрытии тетрагидропиранового заместителя в анионе $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]^-$, и определение их противовирусной активности в отношении вируса гриппа A/IIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Материалы. Тетрагидропиран (99%, Aldrich), малоновый эфир (98%, Aldrich), ацетонитрил (99%, Aldrich), карбонат калия (х. ч., Химмед), соляную кислоту (36%, х. ч., Химмед), хлорид тетрафенилfosфония (99%, Aldrich), тетрафенилборат натрия (99.5%, Aldrich) использовали без дополнительной очистки. Метиловые эфиры L-аминокислот (гистидин, триптофан, метионин, пирролидон) хлорогидратные, N-метилморфолин (NMM) и изобутилхлорформиат (IBCF) (99%, Aldrich) использовали без дополнительной очистки.

[2-(1-(тетрагидропианий))]нонагидро-*клоzo-декаборат* тетрабутиламмония ($n\text{-Bu}_4\text{N}$) $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]$ синтезирован по разработанной ранее методике [47].

Методы физико-химического анализа. ИК-спектры соединений записывали на ИК-Фурье-спектрометре ИНФРАЛЮМ ФТ-02 в области 400–4000 cm^{-1} . Образцы готовили в виде таблеток из смеси исследуемого соединения и КBr. ^1H , ^{11}B , ^{13}C ЯМР-спектры растворов исследуемых веществ в DMSO-d₆ записывали на ЯМР-спектрометре Bruker DPX-300 на частотах 300.3, 96.32 и 75.49 МГц соответственно с внутренней стабилизацией по дейтерию. Масс-спектры записывали с использованием четырехканального насоса Agilent 1200 (G1311A) и тройного квадрупольного масс-спектрометра TSQ Quantum Access MAX.

Элементный анализ на бор проводили на масс-спектрометре с индуктивно связанный плазмой ELAN DRC-e PerkinElmer. Содержание углерода, водорода и азота в образцах определяли на элементном CHNS-анализаторе Eurovector EuroEA 300.

2-(6-карбоксигексокси)нонагидро-*клоzo-декаборат* тетрафенилfosфония ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}]$).

($n\text{-Bu}_4\text{N}$) $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]$ (1.00 г, 2.24 ммоль), малоновый эфир (1.02 мл, 6.9 ммоль) карбонат калия (1.54 г, 11.2 ммоль) добавляли в 50 мл ацетонитрила, полученную суспензию кипятили при перемешивании в течение 2 ч. После охлаждения полученную систему отфильтровывали от избытка непрореагировавшего карбоната калия. Полученный светло-желтый фильтрат упаривали практически полностью до небольшого количества желтой вязкой жидкости. К ней добавляли 70 мл 11%-го раствора соляной кислоты и 15 мл этанола. Полученный раствор нагревали при температуре кипения в течение 24 ч. Далее охлажденный прозрачный раствор упаривали досуха, полученный белый порошок растворяли в воде (10 мл) и добавляли раствор Ph₄PCl (1.68 г, 4.48 ммоль) в воде (15 мл). Выпавший желтый осадок отфильтровывали, высушивали на глубоком вакууме. Получено 1.68 г (81%).

^1H ЯМР-спектр (DMSO-d₆, δ , м.д.): 0.50...–0.50 (м, 9H, B_{10}H_9), 1.36 (2H, м, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 1.38 (2H, м, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 1.41 (2H, м, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 1.45 (2H, м, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 2.31 (2H, т, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—), 3.06 (2H, т, O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 5.72 (с, 1H, COOH). ^{11}B { ^1H } ЯМР-спектр (DMSO-d₆, δ , м.д.): –30.6 (с, 1B, B(4)); –27.7 (с, 2B, B(7.8)); –21.2 (с, 4B, B (3.5) + B (6.9)); –4.1 (с, 1B, B (10)); –0.5 (с, 1B, B (1)); 2.6 (с, 1B, B (2)). ^{13}C ЯМР-спектр (DMSO-d₆, δ , м.д.): 29.7 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 20.1 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 25.4 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 31.7 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 49.6 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—), 70.8 (O—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—CH₂—); 172.2 (COOH). ИК-спектр (KBr, cm^{-1}): 3438 ($\nu(\text{O-H})$), 2456 ($\nu(\text{B-H})$), 1695 ($\nu(\text{C=O})$). ESI MS. Найдено, m/z : 601.61 { Ph_4P^+ + $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}]^{2-}$ }. ($\text{C}_{31}\text{H}_{42}\text{B}_{10}\text{O}_3\text{P}$). Вычислено: $M = 601.74$.

Метил2-[2-(2-карбонил)амино]-3-(1Н-индол-2-ил)пропаноат)этокси)этокси]нонагидро-*клоzo-декаборат* тетрафенилfosфония ($(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{Trp-OMe}]$ ((Ph_4P)₂1). (Ph_4P)₂[($\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$)] (0.3 г, 0.34 мкМ) и NMM (0.035 мл, 0.34 мкМ) растворяли в 10 мл CHCl_3 и охлаждали до –25°C. При перемешивании в реакционную массу добавляли 0.042 мл IBCF. Реакционную массу продолжали перемешивать при –25°C еще 10 мин до образования смешанного ангидрида. После этого был добавлен аминокомпонент (0.081 г, 0.34 мкМ)

HCl·H-Trp-OMe с NMM (0.035 мл, 0.34 мКМ), предварительно охлажденный до $-20\ldots-25^\circ\text{C}$. Реакционную массу перемешивали 1 ч при $-20\ldots-15^\circ\text{C}$, затем еще 1 ч при 0°C и оставляли на 18 ч при плавном поднятии температуры до 24°C . Затем реакционную массу последовательно промывали H_2O (10.0 мл $\times 1$), 0.5 N серной кислотой (4.0 мл $\times 1$), 0.5 N KHCO_3 (10.0 мл $\times 2$) и снова H_2O (5.0 мл $\times 1$). Органический слой отделяли и высушивали над безводным Na_2SO_4 . Хлороформ отгоняли на роторном испарителе (45°C , 15 мм рт. ст.) с образованием маслообразного продукта, который твердеет со временем. Выход 0.364 г (91.5%). Полученный продукт подвергали смене противоиона с Ph_4P^+ на Na^+ по следующей методике.

Метил 2-[2-(2-(2-карбонил)амино]-3-(1Н-имидазол-4-ил)пропаноат]этокси]этокси] nonагидро-клоzo-декаборат натрия $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)Trp-OMe}]$ ($\text{Na}_2\text{1}$). ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)Trp-OMe}]$ (0.229 г, 0.20 ммоль) растворяли в 2 мл метанола. К этому раствору добавляли раствор $\text{Na[BPh}_4]$ (0.137 г, 0.40 ммоль) в 2 мл метанола, выпадал белый осадок. Осадок отфильтровывали, раствор упаривали с получением белого гигроскопичного порошка, который высушивали на глубоком вакууме. Выход 0.053 г (52%).

¹Н ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 0.50...-0.50 (м, 9Н, B_{10}H_9), 1.36 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-$); 1.39 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.41 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.47 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 2.18 (2Н, м, CH_2 , Trp), 2.22 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-$), 3.28 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3.38 (3Н, с, $\text{O}-\text{CH}_3$); 4.12 (1Н, CH, Trp); 6.35-7.46 (ар, Trp). ¹¹B {¹H} ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): -31.1 (с, 1B, B (4)); -27.8 (с, 2B, B (7.8)); -21.4 (с, 4B, B (3.5) + B (6.9)); -4.0 (с, 1B, B (10)); -0.5 (с, 1B, B (1)); 2.2 (с, 1B, B (2)). ¹³C ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 20.1 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 22.5 (CH_3 , His); 25.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 27.9 (CH_2 , His); 29.4 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 31.7 ($\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 48.1 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-$), 58.2 (CH , His); 70.8 ($\text{O}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 117.2-136.3 (ар, His), 169.4 (C=O , His). ИК-спектр (KBr, cm^{-1}): 2459 ($\nu(\text{B}-\text{H})$), 1719 ($(\nu(\text{C=O}))$. ESI MS. Найдено, m/z : 414.46 ($\text{H}^+ + [\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COHis}]^{2-}$). ($\text{C}_{14}\text{H}_{32}\text{B}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$). Вычислено: $M = 414.53$.

Метил 2-[2-(2-(2-карбонил)амино]-3-(1Н-имидазол-4-ил)пропаноат]этокси] nonагидро-клоzo-декаборат тетрафенилфосфония ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)-His-OMe}]$ (($\text{Ph}_4\text{P}_2\text{2}$)) был получен аналогично ($\text{Ph}_4\text{P}_2\text{1}$) исходя из ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}]$ (0.3 г, 0.34 мКМ) и $2\text{HCl}\cdot\text{H-His-OMe}$ (0.077 г, 0.34 мКМ). Выход 0.279 г (80%), маслянистый.

Метил 2-[2-(2-(2-карбонил)амино]-3-(1Н-имидазол-4-ил)пропаноат]этокси] nonагидро-клоzo-декаборат натрия $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)His-OMe}]$ ($\text{Na}_2\text{2}$). ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)His-OMe}]$ (0.220 г, 0.20 ммоль) растворяли в 2 мл метанола. К этому раствору добавляли раствор $\text{Na[BPh}_4]$ (0.137 г, 0.40 ммоль) в 2 мл метанола, выпадал белый осадок. Осадок отфильтровывали, раствор упаривали с получением белого гигроскопичного порошка, который высушивали на глубоком вакууме. Выход 0.045 г (49%).

¹Н ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 0.50...-0.50 (м, 9Н, B_{10}H_9), 1.34 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-$); 1.38 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.41 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.45 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 2.19 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 3.05 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3.31 (м, 5Н, CH_3 , CH_2 , His); 4.06 (м, 1Н, CH, His), 6.30-6.55 (ар, His). ¹¹B {¹H} ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): -31.1 (с, 1B, B (4)); -27.8 (с, 2B, B (7.8)); -21.4 (с, 4B, B (3.5) + B (6.9)); -4.0 (с, 1B, B (10)); -0.5 (с, 1B, B (1)); 2.2 (с, 1B, B (2)). ¹³C ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 20.1 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 22.5 (CH_3 , His); 25.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 27.9 (CH_2 , His); 29.4 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 31.7 ($\text{O}-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 48.1 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}}_2-$), 58.2 (CH , His); 70.8 ($\text{O}-\underline{\text{CH}}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 117.2-136.3 (ар, His), 169.4 (C=O , His). ИК-спектр (KBr, cm^{-1}): 2459 ($\nu(\text{B}-\text{H})$), 1719 ($(\nu(\text{C=O}))$. ESI MS. Найдено, m/z : 414.46 ($\text{H}^+ + [\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COHis}]^{2-}$). ($\text{C}_{14}\text{H}_{32}\text{B}_{10}\text{N}_3\text{O}_4$). Вычислено: $M = 414.53$.

Метил 2-[2-(2-(2-карбонил)амино]-4-(метилсульфанил)бутаноат]этокси]этокси] nonагидро-клоzo-декаборат тетрафенилфосфония ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C(O)-Met-OMe}]$ (($\text{Ph}_4\text{P}_2\text{3}$)) был получен аналогично ($\text{Ph}_4\text{P}_2\text{1}$) исходя из ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}]$ (0.3 г, 0.34 мКМ) и $\text{HCl}\cdot\text{H-Met-OMe}$ (0.063 г, 0.34 мКМ). Выход 0.306 г (88%), маслянистый.

Метил 2-[2-(2-карбонил)амино]-4-(метилсульфанил)бутонаат)этокси)этокси]нонагидро-клозо-декаборат натрия $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{Met}-\text{OMe}]$ ($\text{Na}_2\text{3}$). $(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{Met}-\text{OMe}]$ (0.217 г, 0.20 ммоль) растворяли в 2 мл метанола. К этому раствору добавляли раствор $\text{Na[BPh}_4]$ (0.137 г, 0.40 ммоль) в 2 мл метанола, выпадал белый осадок. Осадок отфильтровывали, раствор упаривали с получением белого гигроскопичного порошка, который высушивали на глубоком вакууме. Выход 0.048 г (53%).

^1H ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 0.50...–0.50 (м, 9Н, B_{10}H_9), 1.34 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.38 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.40 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.45 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 2.09 (3Н, с, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), 2.15 (2Н, м, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), 2.22 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 2.49 (2Н, м, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), 3.28 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3.36 (3Н, с, $\text{O}-\text{CH}_3$), 4.00 (м, 1Н, CH, Met). ^{11}B $\{{}^1\text{H}\}$ ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): –31.6 (с, 1B, B (4)); –27.8 (с, 2B, B (7.8)); –21.2 (с, 4B, B (3.5) + B (6.9)); –3.8 (с, 1B, B (10)); –0.4 (с, 1B, B (1)); 2.5 (с, 1B, B (2)). ^{13}C ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 14.2 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), 20.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 23.6 (CH_3 , Met); 25.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 28.7 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$); 29.5 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 31.4 ($-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$), 31.6 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 38.5 (CH , Met); 48.4 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 57.3 (CH , Met); 70.0 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 166.4 (C=O , Met). ИК-спектр (KBr , cm^{-1}): 2456 ($\nu(\text{B}-\text{H})$), 1724 ($(\nu(\text{C=O}))$). ESI MS. Найдено, m/z : 408.51 $\{\text{H}^+ + [\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COPld}]^{2-}\}$. ($\text{C}_{15}\text{H}_{35}\text{B}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$). Вычислено: $M = 408.58$.

Метил 2-[2-(2-карбонил)амино]-3-(2-оксопирролидин-3-ил)пропаноат)этокси)этокси]нонагидро-клозо-декаборат тетрафенилfosфония $(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{C}(\text{O})-\text{Pld-OMe}]$ ((Ph_4P) $_2\text{4}$) получен аналогично (Ph_4P) $_2$ исходя из $(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}]$ (0.3 г, 0.34 мкМ) и HCl-H-Pld-OMe (0.071 г, 0.34 мкМ). Выход 0.287 г (81%), маслянистый.

Метил 2-[2-(2-карбонил)амино]-3-(2-оксопирролидин-3-ил)пропаноат)этокси)этокси]нонагидро-клозо-декаборат натрия $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{Pld-OMe}]$ ($\text{Na}_2\text{4}$). $(\text{Ph}_4\text{P})_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{Pld-OMe}]$ (0.220 г, 0.20 ммоль) растворяли в 2 мл метанола. К этому

раствору добавляли раствор $\text{Na[BPh}_4]$ (0.137 г, 0.40 ммоль) в 2 мл метанола, выпадал белый осадок. Осадок отфильтровывали; раствор упаривали с получением белого гигроскопичного порошка, который высушивали на глубоком вакууме. Выход 0.046 г (48%).

^1H ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 0.50...–0.50 (м, 9Н, B_{10}H_9), 1.35 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.38 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.41 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 1.45 (2Н, м, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 2.11 (3Н, м, CH_2 , CH, Pld), 2.20 (2Н, м, CH_2 , Pld), 2.26 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 3.09 (2Н, т, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 3.29 (5Н, м, CH_2 , Pld), 3.38 (3Н, с, CH_3 , Pld) 4.02 (м, 1Н, CH, Pld). ^{11}B $\{{}^1\text{H}\}$ ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): –31.4 (с, 1B, B (4)); –27.9 (с, 2B, B (7.8)); –21.2 (с, 4B, B (3.5) + B (6.9)); –3.8 (с, 1B, B (10)); –0.3 (с, 1B, B (1)); 2.3 (с, 1B, B (2)). ^{13}C ЯМР-спектр (DMSO-d_6 , δ , м.д.): 20.1 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 23.6 (CH_3 , Pld); 25.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 28.5 (CH_2 , Pld); 29.5 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 31.9 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 35.1 (CH_2 , Pld); 39.4 (CH_2 , Pld); 41.2 (CH , Pld); 48.3 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$), 57.3 (CH , Pld); 71.0 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$); 165.2 (C=O , Pld), 173.8 (C=O в цикле, Pld), ИК-спектр (KBr , cm^{-1}): 2452 ($\nu(\text{B}-\text{H})$), 1721 ($(\nu(\text{C=O}))$). ESI MS. Найдено, m/z : 431.49 $\{\text{H}^+ + [\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{COPld}]^{2-}\}$. ($\text{C}_{15}\text{H}_{35}\text{B}_{10}\text{N}_2\text{O}_5$). Вычислено: $M = 431.55$.

Проведение испытания противовирусной активности *in vitro*. Исследование противовирусных свойств соединений проводили в экспериментах *in vitro* на 96-луночных планшетах с использованием клеточной линии MDCK (MDCK (NBL-2: CCL-34, полученных от ATCC). В опыте были использованы три концентрации соединений: 5.0; 10.0 и 20.0 мкг/мл. Стоковые разведения готовили в деионизированной воде (Milli-Q Lab Water) с получением концентрации 1.0 мг Na-солей конечных соединений, полученных по схеме 1. Полученные стоковые растворы соединений $\text{Na}_2\text{1-Na}_2\text{4}$ подвергали последовательному разбавлению питательной средой для клеток и объемом вирусодержащего материала до тестируемых концентраций. Испытываемые соединения наносили одномоментно с заражением клеток актуальным штаммом вируса гриппа A/IIV-Orenburg/83/2012(H1N1) pdm09. Штамм имеет аминокислотную замену

в белке M2 ионного канала вируса (Ser31Asn), что свидетельствует о резистентности штамма к препаратам адамантанового ряда. Планшеты, содержащие зараженный клеточный монослои, выдерживали с веществами при 37°C 24 ч, контролируя состояние клеточного монослоя под микроскопом. Затем клетки фиксировали 80%-ным ацетоном на фосфатно-солевом буфере и проводили постановку клеточного ИФА по методике, описанной ранее [48], подробнее смотри в файле с доп. материалами.

Молекулярный докинг. Молекулярный докинг был выполнен с применением онлайн-сервиса Neurosnap, который позволяет любому пользователю, имеющему учетную запись Neurosnap, запускать и получать доступ к DiffDock-L (<https://neurosnap.ai/service/DiffDock-L>). Этот сервис использует DiffDock-L и AutoDock VINA для высокоточного предсказания взаимодействия белок–лиганд [49, 50]. Полноразмерная структура канала M2 вируса гриппа А (код PDB:2KIH) получена из открытой базы RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Структуры лигандов (Na₂**1** и Na₂**2**) заданы в виде SMILE-строки: Na₂**1**: COC(O)C(CC2Cc1ccccc1N2)NC(=O)-CCCCCO[B-]47B3BBB6B5B3B4B5B67 и Na₂**2**: COC(O)C(Cc1c[nH]cn1)NC(=O)CCCCCO[B-]-36B2BBB5B4B2B3B4B56, как это было предложено разработчиками DiffDock-L.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Синтез соединений на основе тетрагидропиранового производного клозо-декаборатного аниона с остатками эфиров аминокислот Na₂**1**–Na₂**4***

Направленный синтез нового класса бионе-органических систем на основе производных кластерных анионов бора [51, 52] с химически связанными эфирами L-аминокислот позволяет получать соединения, обладающие сродством к белкам, мишням вируса и способностью проникать в клетки для ингибирования процесса репликации РНК-содержащих вирусов человека и животных. Соединения кластерных анионов бора могут обладать как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами, так как они являются анионами, а варьирование природы и размера катиона позволяет управлять растворимостью этих веществ в растворителях различной природы. В частности, калиевые/натриевые соли целевых производных клозо-бороводородных анионов и

аминокислот будут обладать значительной водорастворимостью. Это свойство чрезвычайно важно для мембранотропных препаратов. Также эта способность крайне важна в вопросах биодоступности будущего препарата и его токсичности в отношении клеток и организма.

В качестве неорганических объектов исследования выбраны производные кластерных анионов бора [B₁₀H₁₀]²⁻, химически связанные с остатками метиловых эфиров аминокислот, таких как триптофан, гистидин, метионин и остаток синтетической аминокислоты, боковая группа которой представлена бутиrolактом (pyrrolidin-2-one). В начале синтеза борный кластер в виде соли (n-Bu₄N)₂[B₁₀H₁₀] модифицируется тетрагидропираном с образованием производного (n-Bu₄N)₂[B₁₀H₉OC₅H₁₀] с последующим раскрытием оксониевого циклического заместителя и окислением концевой группы до карбоновой кислоты с образованием 2-(6-карбоксигексокси) nonагидро-клозо-декабората тетрафенилфосфония (аналогично методу, описанному в [53]). Впоследствии методами пептидного синтеза (метод смешанных ангидридов) проводили конденсацию с эфиrom аминокислоты (схема 1) с образованием целевых соединений в виде тетрафенилфосфонивых солей [B₁₀H₉O(CH₂)₆C(O)X]²⁻, где X = Trp-OMe (1), His-OMe (2), Met-OMe (3), Pld-OMe (4), далее в виде соответствующих натриевых солей Na₂**1**–Na₂**4** (схема 1).

Полученный таким образом ряд анионов **1**²⁻–**4**²⁻ содержит различные аминокислотные заместители, присоединенные по пendantной карбоксильной группе через алcoxильный спейсер к борному кластеру.

Данные ИК- и мультиядерной ЯМР-спектроскопии позволяют однозначно судить о типе присоединенной пendantной группы через спейсерный фрагмент раскрытоого тетрагидропиранового цикла. В частности, в ИК-спектрах продуктов присутствуют полосы поглощения валентных связей B–H от борного кластера (при ~2450 cm⁻¹), а также ряд характеристических полос от введенной аминокислотной составляющей. Спектры на ядрах ¹¹B позволяют принципиально судить о раскрытии экзополиэтического циклического заместителя, а спектры ¹H и ¹³C содержат полный набор сигналов от алcoxильной спейсерной цепи и пendantной группы. Совокупность спектральных данных свидетельствует о получении функционализированных клозо-декаборатов с введенной аминокислотной компонентой.

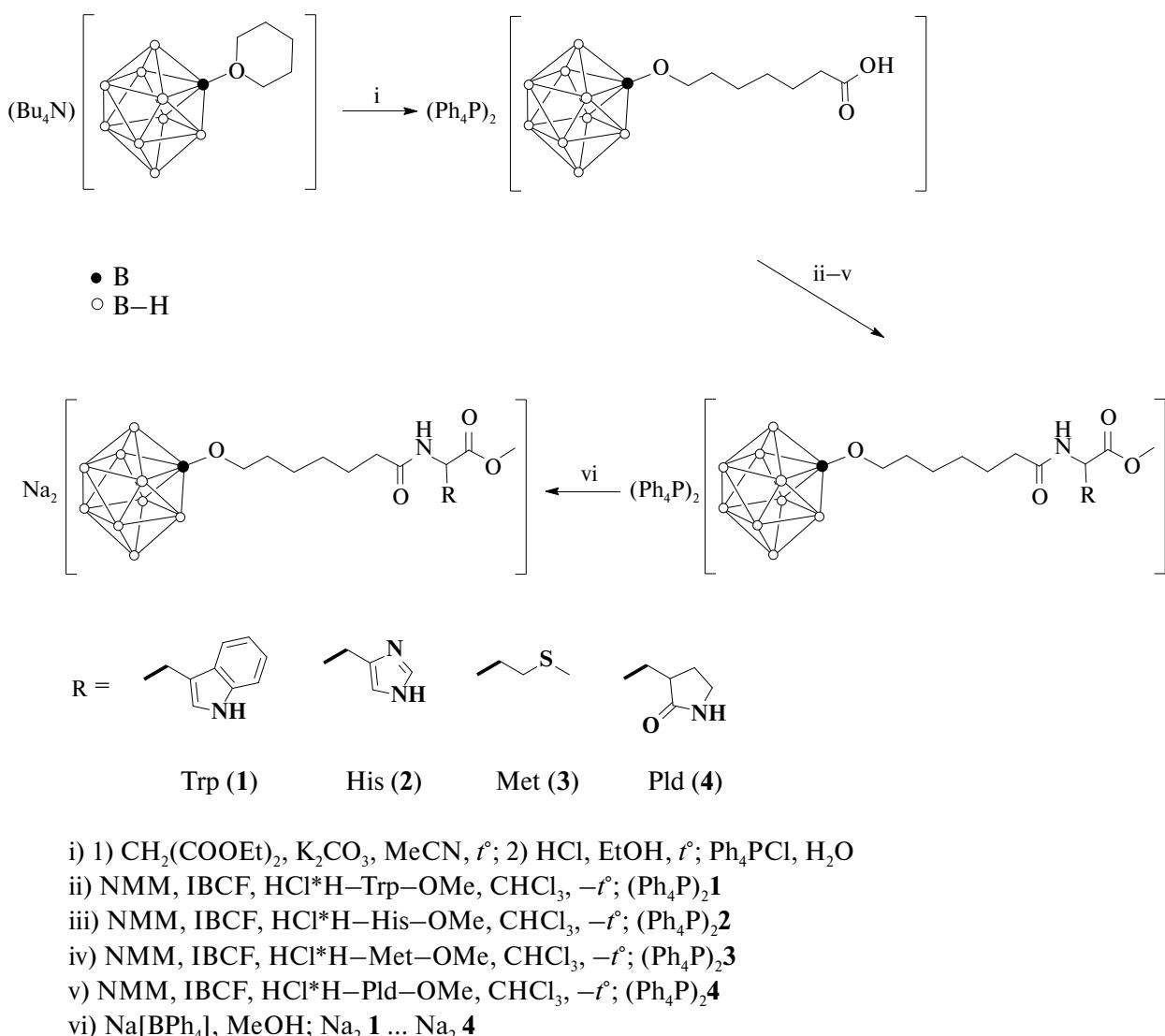


Схема 1. Синтез аминокислотных производных *клозо*-декабораного аниона **1**²⁻–**4**²⁻ с эфирами аминокислот, отстоящих от борного кластера на величину линкера (раскрытым цикла молекулы тетрагидропирана).

На финальной стадии соли $\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{An}]$ ($[\text{An}] = \mathbf{1}-\mathbf{4}$) переводили в натриевые соли $\text{Na}_2[\text{An}]$ для обеспечения водной растворимости конечных соединений. Остатки метиловых эфиров L-триптофана, Trp-OMe ($\text{Na}_2\mathbf{1}$) и L-гистидина, His-OMe ($\text{Na}_2\mathbf{2}$) содержали в качестве боковой группы ароматические гетероциклические группы индол и имидазол соответственно. L-метионин Met-OMe ($\text{Na}_2\mathbf{3}$) содержал метилэтилсульфидную группу, а соединение $\text{Na}_2\mathbf{4}$ — остаток алифатической аминокислоты L-аланамина, в которую синтетически добавлена боковая группа, представленная γ -бутиrolактамом (2-оксопирролидин-3-ил), Pld-OMe.

Проведение испытаний противовирусной активности соединений $\text{Na}_2\mathbf{1}-\text{Na}_2\mathbf{4}$ в отношении вируса гриппа A *in vitro*

Ранее нами было высказано предположение [44, 54], что каркасный фрагмент молекул, таких как карбоциклы адамантана, норборнена, спироциклов и т.д., способен как мембранотропный носитель транспортировать функциональную группу аминокислоты в пору канала M2 вируса гриппа A, так как внутренняя поверхность канала выстлана преимущественно остатками алифатических аминокислот.

Изучение противовирусных свойств соединений $\text{Na}_2\mathbf{1}-\text{Na}_2\mathbf{4}$ проводили *in vitro* при

одномоментном добавлении вируса и соединений к монослою клеток MDCK. Тестирование противовирусных свойств соединений было проведено при четырех разведениях вируса (в рабочей дозе 10^{-2} – 10^{-4} ТЦИД₅₀). Данные о проценте подавления вирусной репродукции соединениями Na₂**1**–Na₂**4** представлены в табл. 1.

В табл. 1 представлены значения подавления вирусной репродукции *in vitro* в виде процента от соответствующего значения оптической плотности для контроля вируса (без соединений). Значение табл. 1 соответствуют среднему из пяти параллельных опытов. Из табл. 1 видно, что соединения Na₂**1** и Na₂**2**, содержащие ароматические гетероциклические заместители (His и Trp), проявляли дозозависимую противовирусную активность в отношении штамма вируса гриппа A/PIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09. 50%-ная ингибирующая концентрация (IC₅₀) для соединения Na₂**1** составила 5.0 мкг/мл, а для соединения Na₂**2** – 10.0 мкг/мл. Для соединений Na₂**3** и Na₂**4**, содержащих алифатические заместители, обнаружить противовирусные свойства в исследуемых концентрациях не удалось.

Как было показано нами ранее на примере аллоксильного спейсера, представленного раскрытым тетрагидрофураном с остатком метилового эфира L-гистидина [45], ароматические гетероциклы способствуют возникновению противовирусных свойств у данного класса соединений. Механизм противовирусного действия такого класса соединений в настоящий момент не ясен, однако можно предположить, что он аналогичен действию адамантансодержащих препаратов (римантидин, амантадин) на оболочку вируса гриппа А. Основной предположительной мишенью этих соединений являются порообразующие белки РНК-содержащих вирусов, в частности протонный канал M2 вируса гриппа А. Можно предположить, что каркасное ядро боргидридного

кластера служит носителем для функциональной группы аминокислоты. Такая молекулярная конструкция способна заблокировать пору канала M2 и нарушить процесс распаковки вирусной частицы в эндосоме клетки хозяина.

Компьютерное моделирование образования комплекса I²⁻/2²⁻ с белком M2

Кластерные анионы бора обладают трехмерной ароматичностью, при этом внутри борного каркаса сосредоточена электронная плотность, не позволяющая кластерам бора участвовать в образовании эндоэдральных комплексов. Поэтому все реакции с сохранением борного остова протекают “снаружи” кластера. Трехмерная ароматичность и делокализация связей по кластеру обусловливают высокую кинетическую стабильность и термическую устойчивость кло-зо-борводородных анионов, что важно в условиях образования нековалентных связей с белком-мишенью. Гетероцикл, расположенный на конце аллоксильной группы спейсера, способен вызвать конкурирующие процессы протонирования имидазольного сопряжения остатков His37 [55], служащих движущей силой для транспорта ионов водорода сквозь пору канала внутрь вирусной частицы.

Для проверки этой гипотезы было проведено компьютерное моделированиестыковки белка мишени (канал M2) и лигандов **1** и **2**. Молекулярный докинг не учитывает связи с противоионами, так как они находятся в дислоцированном (диссоциированном) состоянии от молекулы ингибитора (лиганда).

В результате проведенного молекулярного моделированиястыковки поры белка M2 и соединений Na₂**1** и Na₂**2** наиболее предпочтительным решением было нахождение лиганда в поре канала, когда боргидридный остов расположен между областью имидазольного сопряжения остатков

Таблица 1. Ингибирование репродукции пандемического штамма вируса гриппа A/PIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09 соединениями Na₂**1**–Na₂**4** в культуре клеток MDCK

Синтезированные соединения	Ингибирование вирусной репродукции (\pm SD), %		
	5.0 мкг/мл	10.0 мкг/мл	20.0 мкг/мл
Na ₂ 1	46 \pm 12	86 \pm 7	89 \pm 11
Na ₂ 2	26 \pm 9	56 \pm 15	81 \pm 6
Na ₂ 3	0	0	1
Na ₂ 4	0	2 \pm 1	3 \pm 1
Римантадин гидрохлорид	0	0	0

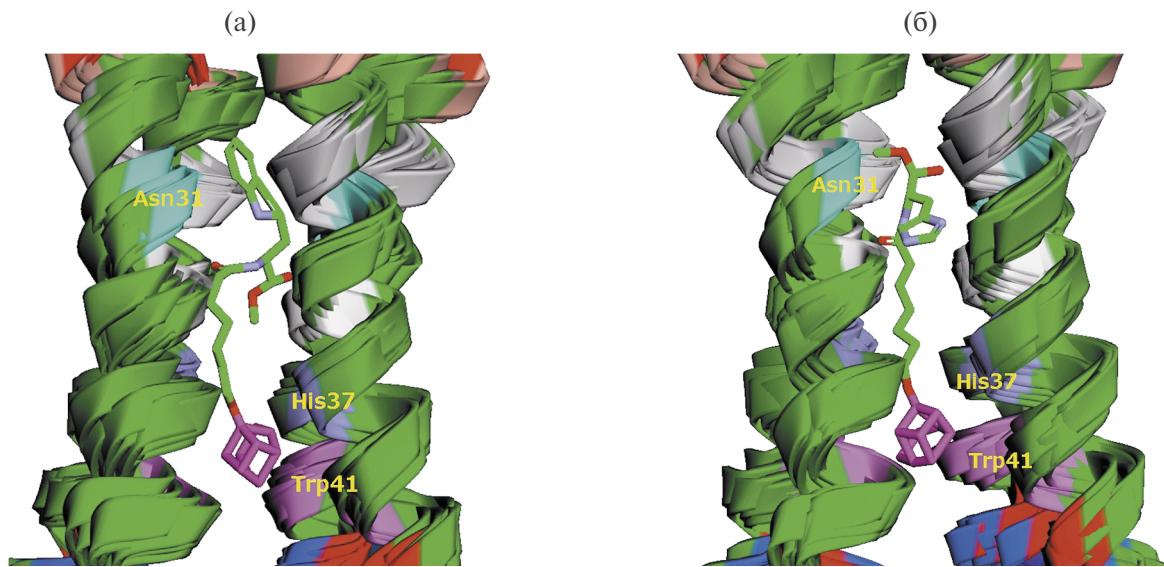


Рис. 1. а) Комплекс 1²⁻ и трансмембранный домена протон-проводящего канала М2 вируса гриппа А. б) Комплекс 2²⁻ и трансмембранный домена протон-проводящего канала М2 вируса гриппа А. Отмечены важные аминокислотные остатки внутри поры канала. Зеленым отмечены валин, лейцин, изолейцин; белым — глицин, аланин; голубым — аспарагин (Asn31); фиолетовым — гистидин (His37); лиловым — триптофан (Trp41).

His37 и “запирающих” пору канала остатков Trp41, что, вероятно, препятствует протонной проводимости путем нарушения механизма разрыва и восстановления водородных связей между парами остатков His37 в трансмембранным домене М2. Более того, как сообщалось выше, борный кластер несет на себе заряд, что также дестабилизирует нормальное функционирование поры канала М2 (рис. 1а). Сложноэфирная группа концевого триптофана (соединение Na₂1) расположена в гидрофобной области канала в окружении остатков Gly34–Ile35. При этом индольное кольцо С-концевого остатка триптофана расположено непосредственно в области маркерной замены Ser/Asn31 и физически закрывает пору канала для прохода ионов гидроксония. Для соединения Na₂2, напротив, имидазольная и сложноэфирная группы расположены в районе алифатических остатков Ile32 и Ile33 и недостаточно перекрывают пору канала (рис. 1б).

Из рис. 1 можно сделать предварительный вывод, что несколько более низкие значения давления вирусной репродукции, полученные в ходе испытаний соединения Na₂2 *in vitro*, вероятно, связаны с тем, что в случае производного гистидина (Na₂2) имидазольное кольцо остатка гистидина не располагается непосредственно вблизи остатка Asn31, что менее стабильно удерживает лиганд в поре протонного канала М2, в отличие от соединения Na₂1, где индольное кольцо, по-видимому, участвует в образовании

межмолекулярных взаимодействий с остатком Asn31 и максимально затрудняет функционирование протонного насоса М2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В рамках данной работы синтезирован ряд новых замещенных производных клозо-декаборатного аниона ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{X}]$, где X = Trp-OMe (1), His-OMe (2), Met-OMe (3), Pld-OMe (4), полученного при раскрытии тетрагидропиранового заместителя в анионе $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]^-$ под действием малонового эфира. Полученные соединения, выделенные в виде натриевых солей $\text{Na}_2[\text{An}]$ ($[\text{An}] = 1–4$), протестированы на способность подавлять репликацию актуального римантадин-резистентного штамма вируса гриппа A/IIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09. В ходе биологических испытаний установлено, что соединения Na₂1 и Na₂2, содержащие на концах алcoxильного спейсера гетероциклические группы, достаточно эффективно подавляли развитие цитопатического действия вируса на монослой клеток MDCK. Соединения Na₂3 и Na₂4, содержащие алифатические заместители, в исследуемых концентрациях оказались неактивны.

Предложенный механизм действия соединений Na₂1 и Na₂2 протестирован методом *in silico* и показано, что наиболее вероятное расположение лиганда (лекарства) в поре канала М2

связано с нахождением боргидридного остова внутри поры канала M2 в районе остатков His37-Trp41, отвечающих за перекачку ионов водорода и стерического запирания канала соответственно. Для соединения **Na₂1** расположение индольной группы в районе остатка Asn31 наиболее выгодно удерживает соединение в поре канала, чем для соединения **Na₂2**, в котором гетероцикл лишен такого межмолекулярного взаимодействия, что объясняет некоторое различие в значении IC₅₀, обнаруженное для **Na₂1** и **Na₂2**. Таким образом, предложенные соединения перспективны с точки зрения обнаружения противовирусных свойств в отношении РНК-содержащих вирусов не только вируса гриппа А, но и таких как РСИ, ВГС, коронавирус, ВИЧ, вирус диареи рогатого скота (BVDV) и других РНК-вирусов, имеющих ион-селективные каналы (виропорины).

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы благодарят к.б.н. В.Г. Тищенко за графический абстракт.

Спектральные исследования выполнены при поддержке Центра коллективного пользования Института тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова МИРЭА-Российского технологического университета

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда № 24-23-00056, <https://rscf.ru/project/24-23-00056/>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Дополнительные материалы размещены в электронном виде по DOI статьи: <https://doi.org/10.31857/S0044457X25020093>.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reid A.H., Taubenberger J.K., Fanning T.G. // *Microbes Infect.* 2001. V. 3. P. 81. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(00\)01351-4](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(00)01351-4)
2. Garten R.J., Davis C.T., Russell C.A., Shu B. // *Science*. 2009. V. 325. P. 197. <https://doi.org/10.1126/science.1176225>
3. WHO. Avian influenza in humans. 2012. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/
4. Imai M., Watanabe T., Hatta M. et al. // *Nature*. 2012. V. 486. P. 420. <https://doi.org/10.1038/nature10831>
5. Herfst S., Schrauwen E.J.A., Linster M. et al. // *Science*. 2012. V. 336. P. 1534. <https://doi.org/10.1126/science.1213362>
6. WHO. Global Influenza Programme. 2012. Available: <http://www.who.int/influenza/en/>
7. Mohanty P., Panda P., Acharya R.K. et al. // *World J. Virol.* 2023. V. 12. P. 242. <https://doi.org/10.5501/wjv.v12.i5.242>
8. Batoor S., Chokkakula S., Song M.S. // *Microorganisms*. 2023. V. 11. P. 183. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010183>
9. Toots M., Plempner R.K. // *Transl Res.* 2020. V. 220. P. 33. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2020.01.005>
10. Нелюбин А.В., Клюкин И.Н., Жданов А.П. и др. // Журн. неорган. химии. 2021. Т. 66. № 2. С. 134. <https://doi.org/10.31857/S0044457X21020136>
11. Nelyubin A.V., Klyukin I.N., Zhdanov A.P. et al. // Russ. J. Inorg. Chem. 2019. V. 64. № 14. P. 1750. <https://doi.org/10.1134/S0036023619140043>
12. Zhizhin K.Y., Zhdanov A.P., Kuznetsov N.T. // Russ. J. Inorg. Chem. 2010. V. 55. № 14. P. 2089. <https://doi.org/10.1134/S0036023610140019>
13. Акимов С.С., Матвеев Е.Ю., Разгоняева Г.А. и др. // Изв. АН. Сер. хим. 2010. № 2. С. 364.
14. Klyukin I.N., Zhdanov A.P., Matveev E.Yu. et al. // Inorg. Chem. Commun. 2014. V. 50. P. 28. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2014.10.008>
15. Klyukin I.N., Kubasov A.S., Limarev I.P. et al. // Polyhedron. 2015. V. 101. P. 215. <https://doi.org/10.1016/j.poly.2015.09.025>
16. Клюкин И.Н., Воинова В.В., Селиванов Н.А. и др. // Журн. неорган. химии. 2018. Т. 63. № 12. С. 1536.
17. Матвеев Е.Ю., Кубасов А.С., Разгоняева Г.А. и др. // Журн. неорган. химии. 2015. Т. 60. № 7. С. 858.
18. Retivov V.M., Matveev E.Yu., Lisovskiy M.V. et al. // Russ. Chem. Bull. 2010. V. 59. P. 550. <https://doi.org/10.1007/s11172-010-0123-2>
19. Al-Joumhawy M., Cendoya P., Shmalko A. et al. // J. Organomet. Chem. 2021. V. 949. P. 121967. <https://doi.org/10.1016/j.jorgancchem.2021.121967>
20. Laila Z., Ghaida F., Anwar S. et al. // Main Group Chem. 2015. V. 14. P. 301. <https://doi.org/10.3233/MGC-150173>
21. Hawthorne M.F., Mavunkal I.J., Knobler C.B. // J. Am. Chem. Soc. 1992. V. 114. P. 4427. <https://doi.org/10.1021/ja00037a074>
22. Laila Z., Yazbeck O., Ghaida F. et al. // J. Organomet. Chem. 2020. V. 910. P. 121132. <https://doi.org/10.1016/j.jorgancchem.2020.121132>
23. Norman A.H., Kaczmareczyk A. // Inorg. Chem. 1974. V. 13. P. 2316. <https://doi.org/10.1021/ic50140a005>

24. *Peymann T., Hawthorne M.F.* // Inorg. Chem. 2000. V. 39. P.1163.
25. *Hall H.D., Ulrich B.D., Kultyshev R.G. et al.* // Collect. Czech. Chem. Commun. 2002. V. 67. P. 1007. <https://doi.org/10.1135/cccc20021007>
26. *Sivaev I.B., Prikaznov A.V., Naoufal D.* // Collect. Czech. Chem. Commun. 2010. V. 75. P. 1149. <https://doi.org/10.1135/cccc2010054>
27. *Sivaev I.B., Bregadze V.I., Sjöberg S.* // Collect. Czech. Chem. Commun. 2002. V. 67. P. 679. <https://doi.org/10.1135/cccc20020679>
28. *Peymann T., Gabel D.* // Inorg. Chem. 1997. V. 36. P. 5138. <https://doi.org/10.1021/ic970647t>
29. *Prikaznov A.V., Semioshkin A.A., Sivaev I.B. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2011. V. 60. P. 2550. <https://doi.org/10.1007/s11172-011-0392>
30. *Justus E., Izteleuova D.T., Kasantsev A.V. et al.* // Collect. Czech. Chem. Commun. 2007. V. 72. P. 1740. <https://doi.org/10.1135/cccc20071740>
31. *Serdyukov A., Kosenko I., Druzina A. et al.* // J. Organomet. Chem. 2021. V. 946. P. 121905. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2021.121905>
32. *Matveev E.Y., Kubasov A.S., Nichugovskii A.I. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2023. V. 68. P. 644. <https://doi.org/10.1134/S0036023623600545>
33. *Imperio D., Muz B., Azab A.K. et al.* // Eur. J. Org. Chem. 2019. V. 2019. P. 7228. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201901412>
34. *Matveev E.Y., Razgonyaeva G.A., Mustyatsa V.N. et al.* // Russ. Chem. Bull. 2010. V. 59. P. 556. <https://doi.org/10.3390/inorganics10120238>
35. *Semioshkin A., Laskova J., Ilinova A. et al.* // J. Organomet. Chem. 2011. V. 696. P. 539.
36. *Matveev E.Y., Retivov V.M., Razgonyaeva G.A. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2011. V. 56. P. 1549. <https://doi.org/10.1134/S0036023611100160>
37. *Матвеев Е.Ю., Лимарев И.П., Ничуговский А.И. и др.* // Журн. неорган. химии. 2019. Т. 64. № 8. С. 811. <https://doi.org/10.1134/S0044457X19080087>
38. *Матвеев Е.Ю., Левицкая В.Я., Новиков С.С. и др.* // Журн. неорган. химии. 2022. Т. 67. С. 1717. <https://doi.org/10.31857/S0044457X22601031>
39. *Orlova A.V., Kondakov N.N., Kimel B.G. et al.* // Appl. Organomet. Chem. 2007. V. 21. P. 98. <https://doi.org/10.1002/aoc.1151>
40. *Druzina A.A., Zhidkova O.B., Kosenko I.D.* // Russ. Chem. Bull. 2020. V. 69. P. 1080. <https://doi.org/10.1007/s11172-020-2870-z>
41. *Meschaninova M.I., Novopashina D.S., Semikolenova O.A. et al.* // Molecules. 2019. V. 24. № 23. P. 4266. <https://doi.org/10.3390/molecules24234266>
42. *Druzina A.A., Grammatikova N.E., Zhidkova O.B. et al.* // Molecules. 2022. V. 27. P. 2920. <https://doi.org/10.3390/molecules27092920>
43. *Semioshkin A., Laskova J., Wojtczak B. et al.* // J. Organomet. Chem. 2009. V. 694. P. 1375. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2008.12.024>
44. *Shibnev V.A., Deryabin P.G., Garaev T.M. et al.* // Russ. J. Bioorg. Chem. 2017. V. 43. P. 517. <https://doi.org/10.1134/S1068162017050132>
45. *Avdeeva V.V., Garaev T.M., Breslav N.V. et al.* // J. Biol. Inorg. Chem. 2022. V. 27. P. 421. <https://doi.org/10.1007/s00775-022-01937-4>
46. *Garaev T.M., Grebennikova T.V., Avdeeva V.V. et al.* // Probl. Virol. (Vopr. Virusol.). 2023. V. 68. P. 18. <https://doi.org/10.36233/0507-4088-147>
47. *Жижин К.Ю., Мустяца В.Н., Малинина Е.А. и др.* // Журн. неорган. химии. 2004. Т. 49. № 2. С. 221.
48. *Shibnev V.A., Garaev T.M., Finogenova M.P. et al.* // Bull. Exp. Biol. Med. 2012. V. 153. P. 233. <https://doi.org/10.1007/s10517-012-1684-x>
49. *Corso G., Jing H., Barzilay B., Jaakkola R.* // DiffDock: Diffusion Steps, Twists, and Turns for Molecular Docking. 2022. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2210.01776>
50. *Eberhardt J., Santos-Martins D., Tillack A.F., Forli S.* // J. Chem. Inf. Model. 2021. V. 23. P. 3891. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
51. *Ryabchikova M.N., Nelyubin A.V., Klyukin I.N. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2024. <https://doi.org/10.1134/S0036023624601892>
52. *Ryabchikova M.N., Nelyubin A.V., Smirnova A.V. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2024. <https://doi.org/10.1134/S003602362460093X>
53. *Сиваев И.Б.* Дис. ... докт. хим. наук. М., 2014.
54. *Avdeeva V.V., Garaev T.M., Malinina E.A. et al.* // Russ. J. Inorg. Chem. 2022. V. 67. P. 28. <https://doi.org/10.1134/S0036023622010028>
55. *Fu R., Miao Y., Qin H.* // J. Am. Chem. Soc. 2020. V. 142. P. 2115. <https://doi.org/10.1021/jacs.9b09985>

In vitro STUDY OF ANTIVIRAL PROPERTIES OF COMPOUNDS BASED ON TETRAHYDROPYRAN DERIVATIVE OF *closو*-DECABORATE ANION WITH AMINO ACID ESTER RESIDUES AGAINST INFLUENZA VIRUS A/IIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09

T. M. Garaev^a, I. I. Yudin^a, N. V. Breslav^a, T. V. Grebennikova^a, E. I. Burtseva^a, E. Yu. Matveev^{b, c}, E. A. Eshtukova-Shcheglova^b, I. E. Sokolov^b, V. V. Avdeeva^{c, *}, K. Yu. Zhizhin^{b, c}, N. T. Kuznetsov^c

^aGamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology,
Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, 123098 Russia

^bMIREA – Russian Technological University, Lomonosov Institute of Fine Chemical Technologies, Moscow, 119571 Russia

^cKurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Moscow, 119991 Russia

*e-mail: avdeeva.varvara@mail.ru

Based on the substituted derivative of the decahydro-*closо*-decaborate anion ($\text{Ph}_4\text{P}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5\text{COOH}]$) obtained by opening the tetrahydropyran substituent in the anion $[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_5]^-$, a series of compounds $\text{Na}_2[\text{B}_{10}\text{H}_9\text{O}(\text{CH}_2)_6\text{C}(\text{O})\text{X}]$, where $\text{X} = \text{Trp-OMe}$ (**1**), His-OMe (**2**), Met-OMe (**3**), Pld-OMe (**4**), containing various amino acid substituents attached to the pendant carboxyl group, were synthesized. The compounds were isolated as sodium salts. The residues of L-tryptophan ($\text{Na}_2\text{1}$) and L-histidine ($\text{Na}_2\text{2}$) contained aromatic heterocyclic groups indole and imidazole, respectively, as a side group. Compounds $\text{Na}_2\text{3}$ and $\text{Na}_2\text{4}$ contained substituted alkanes as a side group: L-methionine ($\text{Na}_2\text{3}$) contained a methyl ethyl sulfide group, and compound $\text{Na}_2\text{4}$ contained the residue of an aliphatic synthetic amino acid in which the side group was represented by γ -butyrolactam (pyrrolidin-2-one). Compounds $\text{Na}_2\text{1}$ and $\text{Na}_2\text{2}$ were found to exhibit dose-dependent antiviral activity against the influenza virus strain A/IIV-Orenburg/83/2012(H1N1)pdm09 *in vitro*. IC_{50} for compound $\text{Na}_2\text{1}$ was 5.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$, and for compound $\text{Na}_2\text{2}$ it was found to be 10.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Molecular docking of the M2 protein pore and compounds $\text{Na}_2\text{1}$ and $\text{Na}_2\text{2}$ was performed. It was found that the most probable arrangement of molecules in the pore of the M2 channel is associated with the location of the heterocycle inside the pore of the M2 channel in the region of the residues His37–Trp41, and for the compound $\text{Na}_2\text{1}$ this arrangement is more favorable than for $\text{Na}_2\text{2}$, which explains some difference in the concentrations of suppression of viral reproduction for $\text{Na}_2\text{1}$ and $\text{Na}_2\text{2}$. For compounds $\text{Na}_2\text{3}$ and $\text{Na}_2\text{4}$, antiviral activity was not detected.

Keywords: antiviral activity, viroporins, amino acids, polyhedral boron anions, *closо*-decaborate anion, tetrahydropyran, opening of cyclic substituents