

ПРОИЗВОДНЫЕ (–)-ЦИТИЗИНА С ТИОМОЧЕВИННЫМ ФРАГМЕНТОМ. СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ

© 2024 г. А. В. Ковальская¹, А. Н. Лобов¹, 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 28 августа 2024 г.
После доработки 2 сентября 2024 г.
Принято к печати 4 сентября 2024 г.

Синтезированы новые производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина с замещенным 2-пиримидиновым ядром и тиомочевинным фрагментом в биспидиновой части молекулы. Проведена оценка способности синтезированных соединений (цитизинсодержащих тиомочевин) ингибировать репродукцию вируса парагриппа человека 3 типа. Установлено, что производные, полученные взаимодействием бензоил- или фенилизотиоцианата с (–)-цитизином, а также его 9-бром- или 9,11-производным, эффективно подавляют размножение вируса парагриппа человека 3 типа (их показатели селективности составляют 56, 58 и 95 соответственно), что подтверждает перспективность выбранного подхода к синтетическим модификациям алкалоида (–)-цитизина с целью получения на его основе эффективных противовирусных агентов.

Ключевые слова: (–)-цитизин, тиомочевина, цитотоксичность, противовирусная активность, вирус парагриппа человека 3 типа (HPIV3)

DOI: 10.31857/S0044460X24060054, **EDN:** EZGYGT

ВВЕДЕНИЕ

Согласно статистике, вирусные инфекции дыхательных путей, вызываемые более чем 200 известными респираторными вирусами, относящимися к семействам *Adenoviridae*, *Orthomyxoviridae*, *Paramyxoviridae*, *Picornaviridae* и *Coronaviridae* [1], являются наиболее распространенными сезонными заболеваниями. Одно из этих семейств – *Paramyxoviridae*, включает опасные вирусы парагриппа человека (HPIVs), вызывающие у пациентов заболевания, осложняющиеся ларинготрахеобронхитом и пневмонией [2, 3], наиболее тяжело протекающие у детей дошкольного возраста [2, 4]. Поскольку прямая химиотерапия инфекций, вызванных HPIVs, отсутствует, попытки применения для этой цели из-

вестных противовирусных средств предпринимаются регулярно, однако, и рибавирин (противовирусный препарат широкого спектра действия), и занамивир (противогриппозный препарат) оказались активными только *in vitro* [1, 5]. В свете этих обстоятельств поиск новых противовирусных агентов, активных в отношении HPIVs, остается одной из актуальных задач глобального здравоохранения.

С другой стороны, известно, что спектр биологической активности производных тиомочевины более, чем широк (в первую очередь, за счет их способности участвовать в регуляции наиболее важных функций человеческого организма), что является причиной непрекращающегося интенсивного поиска новых противовирусных средств на

основе этого класса органических соединений. Так, среди органических производных тиомочевин в течение последних нескольких десятилетий были обнаружены нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека (HIVs, *Retroviridae*) [6–9], ингибиторы репродукции вируса гепатита С (HCV, *Hepandoviridae*) [10], герпеса (HSV, *Herpesviridae*) [11, 12], вируса Коксаки, энтеровируса ЕСНО, риновируса HRV (*Picornaviridae*) [13, 14], вируса лихорадки Западного Нила (*Flaviviridae*) [15], арбовируса Чикунгунья (*Togaviridae*) [16], вируса осповакцины (*Poxviridae*) [17], вируса энцефалита Ла-Кросс (*Bunyaviridae*) [18], а также гриппа А(H1N1) (*Orthomyxoviridae*) [19, 20]. Кроме того, результаты наших собственных исследований показали, что производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина также обладают выраженной противовирусной активностью [21–24].

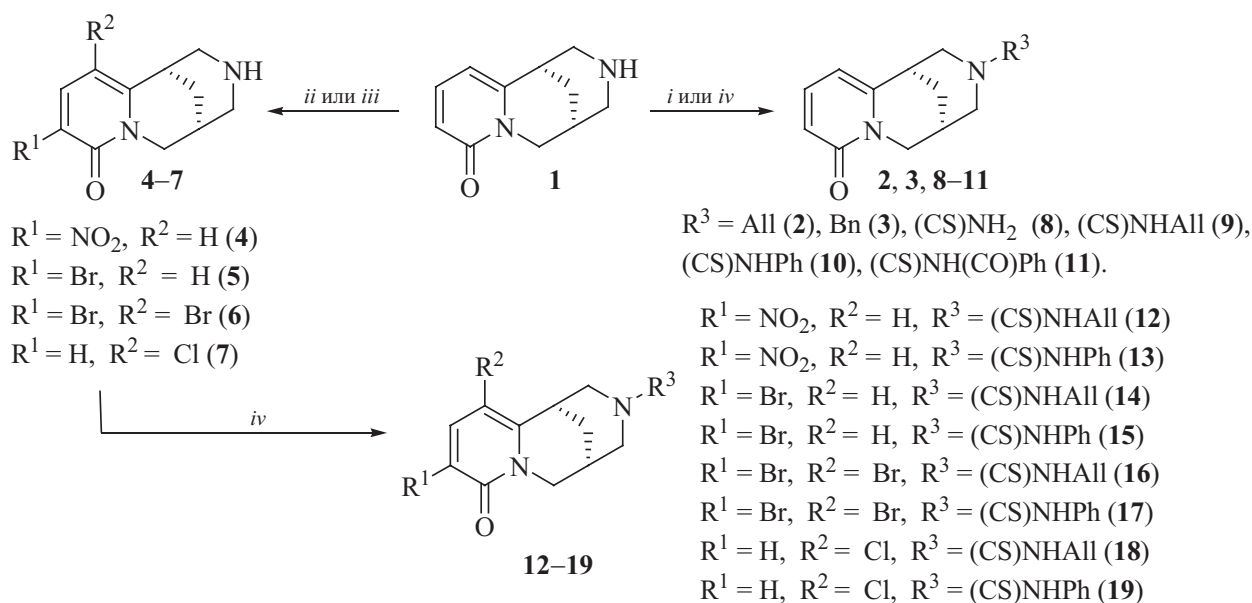
Поэтому целью настоящей работы является синтез новых производных (–)-цитизина, содержащих фрагменты замещенных тиомочевин, с параллельной оценкой их способности ингибировать репродукцию вируса парагриппа 3 типа (HPIV3) *in vitro*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хинолизидиноновый алкалоид – (–)-цитизин **1** (вторичный метаболит растений семейства *Fabaceae* [25]) – использован в качестве исходного соединения, 3-N-замещенные производные алкалоида **1** (аллилцитизин **2**, бензилцитизин **3** и 9-нитро-, 9-бром-, 9,11-дибром- и 11-хлорпроизводные **4–7**) синтезированы согласно методикам, описанным в работах [26–28]. Тиомочевинны **8–11** получены в соответствии с работами [29–31]. Взаимодействие производных **4–7** с аллил- и фенилизотиоцианатом в кипящем бензоле позволило получить новые цитизинзамещенные мочевины **12–19** с выходами от 75 до 96% (схема 1). Контроль за ходом реакции осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), соединения выделены методом колоночной хроматографии на SiO₂. Строение новых тиомочевин **12–19** установлено на основании данных элементного анализа, ЯМР и ИК спектроскопии.

Далее была проведена оценка цитотоксичности (микротетразолиевый тест, МТТ) и способности тиомочевин **8–19** подавлять репродукцию вируса парагриппа человека HPIV3. В качестве препарата сравнения использовали рибавирин (из-за широты

Схема 1.



Реагенты и условия: *i*, R³Br, K₂CO₃, ацетон, 56°C; *ii*, NaNO₃, H₂SO₄; *iii*, KHIg, H₂O₂, 50% H₂SO₄; *iv*, R³NCS, бензол, 80°C.

его противовирусных свойств [32]); для каждого образца определены значения CC_{50} , IC_{50} и рассчитаны индексы селективности SI (отношение CC_{50}/IC_{50}). Данные о цитотоксичности и противовирусной активности соединений **8–19** представлены в табл. 1.

Согласно полученным результатам, почти все соединения проявили низкую или умеренную цитотоксичность (их значения CC_{50} находятся в интервале от 304 до 2008 мкМ). Лишь тиокарбоксамиды **14**, **18** и **19** (**18** и **19** содержат в положении 11 атом хлора)

Таблица 1. Активность соединений **8–19** в отношении вируса HPIV3.

№	R ¹	R ²	R ³	HPIV3 ^a		
				CC_{50} , мкМ ^b	IC_{50} , мкМ ^b	SI ^c
8	H	H	(CS)NH ₂	>2008	2008±168	1
9	H	H	(CS)NHAll	1076±93	80±10	14
10	H	H	(CS)NHPh	1046±98	523±61	2
11	H	H	(CS)NH(CO)Ph	1144±79	20±3	58
12	NO ₂	H	(CS)NHAll	512±48	509±42	1
13	NO ₂	H	(CS)NHPh	377±21	135±20	3
14	Br	H	(CS)NHAll	121±9	25±4	5
15	Br	H	(CS)NHPh	304±17	5±1	56
16	Br	Br	(CS)NHAll	355±27	314±24	1
17	Br	Br	(CS)NHPh	500	2.5	94
18	H	Cl	(CS)NHAll	192.4	170	1.1
19	H	Cl	(CS)NHPh	227	170	1.3
Рибавирин ^d				>2049	11±2	192

^a Вирус парагриппа человека (HPIV) тип 3 (штамм HA1).

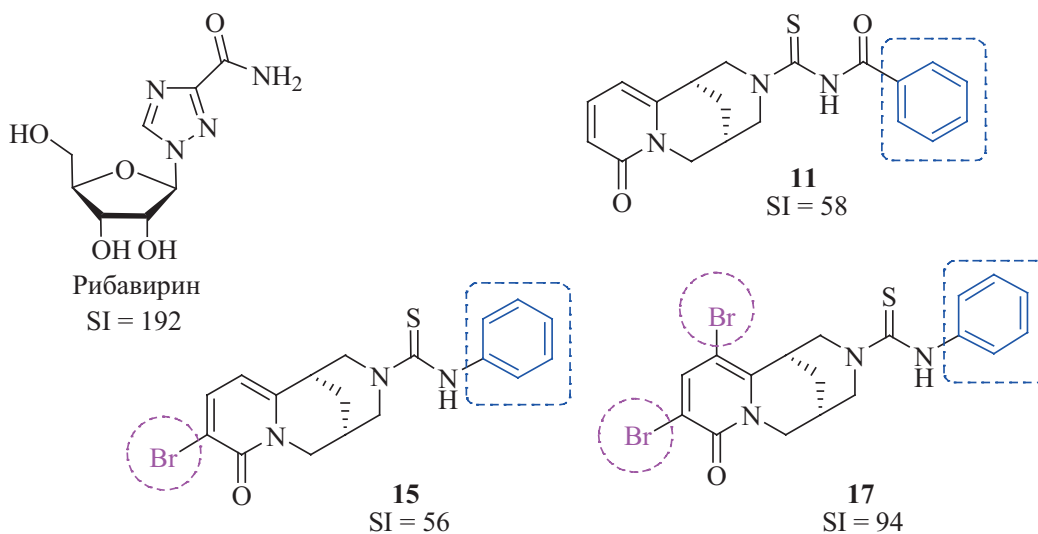
^b CC_{50} – цитотоксическая концентрация, мкМ.

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

^c SI – индекс селективности, отношение CC_{50}/IC_{50} .

^d Препарат сравнения.

Схема 2.



продemonстрировали значения CC_{50} , равные 121, 192 и 227 мкМ соответственно.

Установлено, что тиомочевины **9**, **10** и **12**, **13** (с нитрогруппами в положении 9 2-пиридинового ядра), а также 11-хлорпроизводные **18** и **19** не проявляют противовирусной активности (табл. 1). Выраженная способность ингибировать репродукцию вируса НРIV3 обнаружена у бензоилтиомочевины **11**, 9-бромфенилтиомочевины **15** и 9,11-дибромфенилтиомочевины **17**: их ингибирующие концентрации IC_{50} составляют 20, 5 и 2.5 мкМ; индексы селективности (SI) равны 58, 56 и 94 соответственно. В то же время, индекс селективности соединений **11**, **15** и **17** несколько ниже, чем у препарата сравнения рибавирина (SI рибавирина составляет 192, табл. 1, схема 2).

Таким образом, среди протестированных соединений противовирусной активностью обладают производные с атомами брома в 2-пиридиновом ядре исходного (–)-цитизина и/или с бензоил- или фенилтиомочевинным фрагментом в биспидиновой части молекулы. Значение индекса селективности наиболее активного соединения **17**, (1*S*,5*R*)-9,11-дибром-8-оксо-N-фенил-1,5,6,8-тетрагидро-2*H*-1,5-метано-пиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4*H*)-карботиоамида, близко к 100.

ВЫВОДЫ

Синтезированы новые производные хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина с тиомочевинными фрагментами. Проведена оценка их способности ингибировать репродукцию вируса парагриппа человека типа 3. Найдены три соединения – продукты взаимодействия (–)-цитизина с бензоилизотиоцианатом и 9-бром- и 9,11-дибромцитизина с фенилизотиоцианатом, которые проявили заметную противовирусную активность с индексами селективности 56, 58 и 94 соответственно. Показано, что комбинация электрофильного бромирования 2-пиридинового ядра (–)-цитизина с введением в биспидиновую часть молекулы фенил- (или бензоил-) тиомочевинного фрагмента приводит к проявлению противовирусных свойств, что может стать основой для дальнейшего поиска новых противовирусных агентов на основе производных хинолизидинового алкалоида (–)-цитизина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходного материала использованы коммерчески доступные (–)-цитизин (CAS 485-35-8), аллилизотиоцианат (CAS 57-06-7) и фенилизотиоцианат (CAS 103-72-0). Физико-химические характеристики соединений **2–4**, **6–9** и **10–13** соответствовали литературным данным [26–31].

Контроль за ходом реакций осуществляли методом ТСХ на пластинах ALUGRAM®. Колоночная хроматография выполнена на силикагеле (0.05–0.1 мм) (MACHEREY-NAGEL, Germany). Температуры плавления определены на аппарате Boetius PHMK 05 VEB Wagetchnik Rapido (Radebeul). Оптическое вращение измерено на цифровом поляриметре PerkinElmer 341 LC с натриевой лампой (длина волны D-линии – 589 нм). Элементный анализ выполнен на CHNS анализаторе Euro 3000 (Hekatech). Спектры ЯМР 1H , ^{15}N и ^{13}C записаны в дейтерированном ДМСО на импульсном спектрометре Bruker Avance III с рабочей частотой 500.13 (1H) и 125.47 МГц (^{13}C).

(1*R*,5*R*)-N-Аллил-9-нитро-8-оксо-1,5,6,8-тетрагидро-2*H*-1,5-метано-пиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4*H*)-карботиоамид (12**).** Смесь 9-нитроцитизина **4** (0.2 г, 0.85 ммоль) и аллилизотиоцианата (0.08 г, 0.85 ммоль) кипятили в бензоле (20 мл). После завершения реакции (контроль по ТСХ) реакционную смесь концентрировали, остаток хроматографировали на SiO_2 ($CHCl_3:MeOH = 97:3$). Выход 71% (0.20 г), $[\alpha]_D^{20} -330.0$ (ДМСО, $c = 0.9$), желтые кристаллы, т. пл. 207°C (MeOH), R_f 0.57 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν , cm^{-1} : 3337, 3070, 2929, 1668, 1552, 1471, 1426, 1407, 1343, 1318, 1294, 1260, 1221, 1174, 1156, 1124, 1091, 1064, 1038, 1002, 918, 852, 778, 683, 626. Спектр ЯМР 1H (ДМСО- d_6), δ , м. д. (J , Гц): 1.95 д. т. т (1*H*, $H_{син}^{12}$, 2J 12.7, 3J $_{12син-1}$ 3.4, 3J $_{12син-5}$ 3.4, 4J $_{12син-4эндо}$ 1.7, 4J $_{12син-2эндо}$ 1.7), 2.03 д. т. д (1*H*, $H_{анти}^{12}$, 2J 12.7, 3J $_{12анти-1}$ 3.3, 3J $_{12анти-5}$ 3.3, 4J $_{12анти-6эндо}$ 1.3), 2.58 м (1*H*, H^5), 3.17 д. д. д (1*H*, $H_{экзо}^4$, 2J 13.3, 3J $_{4экзо-5}$ 2.1, 4J $_{4экзо-6экзо}$ 1.2), 3.30 д. д (1*H*, $H_{экзо}^2$, 2J 13.3, 3J $_{2экзо-1}$ 2.5), 3.38 м (1*H*, H^1), 3.80 д. д. д (1*H*, $H_{экзо}^6$, 2J 15.8, 3J $_{6экзо-5}$ 6.5, 4J $_{6экзо-4экзо}$ 1.2), 3.90 д. д. т (1*H*, $H_A^{1'}$, 2J 15.8, 3J $_{1'A-2'}$ 5.1, 4J $_{1'A-3'цис}$ 1.6, 4J $_{1'A-3'транс}$ 1.6), 4.10 д. д. т (1*H*, $H_B^{1'}$, 2J 15.8, 3J $_{1'B-2'}$ 5.1, 4J $_{1'B-3'цис}$ 1.6, 4J $_{1'B-3'транс}$ 1.6), 4.17 д. т (1*H*, $H_{эндо}^6$, 2J 15.8, 3J $_{6эндо-5}$ 1.0, 4J $_{6эндо-12анти}$ 1.0), 4.82 д. к (1*H*, $H_{транс}^{3'}$, 2J 1.6, 3J $_{3транс-2'}$ 17.1, 4J $_{3'транс-1'A}$ 1.6, 4J $_{3'транс-1'B}$ 1.6), 4.88 д. д. т (1*H*, $H_{эндо}^2$, 2J 13.3, 3J $_{2эндо-1}$ 3.1, 4J $_{2эндо-4эндо}$ 1.7, 4J $_{2эндо-12син}$ 1.7),

4.89 д. к (1H, H^{3'}_{цис}, ²J 1.6, ³J_{3'цис-2'} 10.6, ⁴J_{3'транс-1'А} 1.6, ⁴J_{3'цис-1'В} 1.6), 4.93 д. д. т (1H, H⁴_{эндо}, ²J 13.3, ³J_{4эндо-5} 3.3, ⁴J_{4эндо-2эндо} 1.7, ⁴J_{4эндо-12син} 1.7), 5.64 д. д. т (1H, H^{2'}, ³J_{2'-3'транс} 17.1, ³J_{2'-3'цис} 10.6, ³J_{2'-1'А} 5.1, ³J_{2'-1'В} 5.1), 6.44 д (1H, ³J₁₁₋₁₀ 8.2, H¹¹), 8.36 д (1H, H¹⁰, ³J₁₀₋₁₁ 8.2). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ_C, м. д.: 24.9 (C¹²), 27.6 (C⁵), 35.7 (C¹), 47.6 (C^{1'}), 50.0 (C⁶), 52.8 (C⁴), 53.3 (C²), 104.5 (C¹¹), 115.2 (C^{3'}), 134.6 (C⁹), 135.3 (C^{2'}), 138.1 (C¹⁰), 154.7 (C⁸), 159.2 (C^{11a}), 182.4 (C=S). Спектр ЯМР ¹⁵N (ДМСО-*d*₆), δ_N, м. д.: 111.1 (NH), 190.4 (N⁷), 368.3 (NO₂). Найдено, %: С 53.87; Н 5.44; N 16.75; S 9.58. C₁₅H₁₈N₄O₃S. Вычислено, %: С 53.88; Н 5.43; N 16.76; S 9.59.

(1R,5S)-9-Нитро-8-оксо-N-фенил-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4H)-карботиоамид (13) получали аналогично из 9-нитроцитизина **4** (0.2 г, 0.85 ммоль) и фенилизотиоцианата (0.11 г, 0.85 ммоль). Продукт **13** выделен методом колоночной хроматографии на SiO₂ (EtOAc). Выход 85% (0.27 г), [α]_D²⁰ –99.0 (ДМСО, *c* = 0.51), желтые кристаллы, т. пл. 184°C (EtOAc), *R*_f 0.6 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν, см^{–1}: 3268, 1668, 1553, 1524, 1501, 1464, 1456, 1446, 1426, 1407, 1386, 1377, 1361, 1346, 1339, 1332, 1315, 1298, 1259, 1229, 1222, 1157, 1104, 1038, 1002, 946, 920, 806, 792, 702, 611. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д. (J, Гц): 1.97 д. т. т (1H, H¹²_{син}, ²J 12.7, ³J_{12син-1} 3.4, ³J_{12син-5} 3.4, ⁴J_{12син-4эндо} 1.7, ⁴J_{12син-2эндо} 1.7), 2.07 д. т. д (1H, H¹²_{анти}, ²J 12.7, ³J_{12анти-1} 3.3, ³J_{12анти-5} 3.3, ⁴J_{12анти-бэндо} 1.3), 2.59 м (1H, H⁵), 3.29 д. д. д (1H, H⁴_{экзо}, ²J 13.3, ³J_{4экзо-5} 2.1, ⁴J_{4экзо-бэкзо} 1.2), 3.39 м (1H, H¹), 3.43 д. д (1H, H²_{экзо}, ²J 13.1, ³J_{2экзо-1} 2.5), 3.77 д. д. д (1H, H⁶_{экзо}, ²J 15.3, ³J_{бэкзо-5} 6.5, ⁴J_{бэкзо-4экзо} 1.2), 4.36 д. т (1H, H⁶_{эндо}, ²J 15.3, ³J_{бэндо-5} 1.0, ⁴J_{бэндо-12анти} 1.0), 4.87 д. д. т (1H, ²J 13.1, ³J_{2эндо-1} 3.1, ⁴J_{2эндо-4эндо} 1.7, ⁴J_{2эндо-12син} 1.7, H_{эндо-2}), 5.03 д. д. т (1H, H⁴_{эндо}, ²J 13.3, ³J_{4эндо-5} 3.3, ⁴J_{4эндо-2эндо} 1.7, ⁴J_{4эндо-12син} 1.7), 6.44 д (1H, H¹¹, ³J₁₁₋₁₀ 8.2), 6.91 д. д (2H, H^{2'(6')}, ³J_{2'(6')-3'(5')} 8.5, ⁴J_{2'(6')-4'} 1.3), 7.05 т. т (1H, H^{4'}, ³J_{4'-3'(5')} 7.4, ⁴J_{4'-2'(6')} 1.3), 7.18 д. д (2H, H^{3'(5')}, ³J_{3'(5')-2'(6')} 8.5, ³J_{3'(5')-4'} 7.4), 8.32 д (1H, H¹⁰, ³J₁₀₋₁₁ 8.2). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆) δ_C, м. д.: 25.0 (C¹²), 28.1 (C⁵), 36.0 (C¹), 49.9 (C⁶), 53.5 (C⁴), 54.3 (C²), 104.7 (C¹¹), 124.9 (C^{4'}), 125.5 (C^{2'(6')}), 128.4 (C^{3'(5')}), 134.9 (C⁹), 137.9 (C¹⁰), 141.0 (C^{1'}), 154.8 (C⁸), 158.9 (C^{11a}), 182.7 (C=S). Найдено, %: С 58.38; Н 4.91; N 15.11; S 8.66. C₁₈H₁₈N₄O₃S. Вычислено, %: С 58.36; Н 4.90; N 15.13; S 8.65.

(1S,5R)-N-Аллил-9-бром-8-оксо-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4H)-карботиоамид (14) получали аналогично из 9-бромцитизина **5** (0.2 г, 0.74 ммоль) и аллилизотиоцианата (0.07 г, 0.74 ммоль). Продукт **14** выделен методом колоночной хроматографии на SiO₂ (EtOAc). Выход 92% (0.25 г), [α]_D²⁰ –95.0 (CH₃OH, *c* = 0.57), белые кристаллы, т. пл. 189–190°C (EtOAc), *R*_f 0.43 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν, см^{–1}: 3276, 1640, 1577, 1539, 1464, 1456, 1436, 1377, 1339, 1328, 1303, 1264, 1245, 1212, 1152, 1110, 1088, 959, 901, 879, 721, 609. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ, м. д. (J, Гц): 1.89 м (1H, H¹²_{син}), 1.96 м (1H, H¹²_{анти}), 2.52 м (1H, H⁵), 3.10 д. д. д (1H, H⁴_{экзо}, ²J 13.2, ³J_{4экзо-5} 2.1, ⁴J_{4экзо-бэкзо} 1.4), 3.19 д. д (1H, H²_{экзо}, ²J 13.4, ³J_{2экзо-1} 2.3), 3.21 м (1H, H¹), 3.74 д. д. д (1H, H⁶_{экзо}, ²J 15.6, ³J_{бэкзо-5} 6.6, ⁴J_{бэкзо-4экзо} 1.4), 3.91 д. т. т (1H, H^{1'}_А, ²J 15.9, ³J_{1'А-NH} 5.3, ³J_{1'А-2'} 5.3, ⁴J_{1'А-3'цис} 1.6, ⁴J_{1'А-3'транс} 1.6), 4.08 д. т (1H, H⁶_{эндо}, ²J 15.6, ³J_{бэндо-5} 1.1, ⁴J_{бэндо-12анти} 1.1), 4.15 д. т. т (1H, H^{1'}_В, ²J 15.9, ³J_{1'В-NH} 5.3, ³J_{1'В-2'} 5.3, ⁴J_{1'В-3'цис} 1.6, ⁴J_{1'В-3'транс} 1.6), 4.79 д. д. т (1H, H²_{эндо}, ²J 13.4, ³J_{2эндо-1} 3.1, ⁴J_{2эндо-4эндо} 1.7, ⁴J_{2эндо-12син} 1.7), 4.82 д. к (1H, H^{3'}_{транс}, ²J 1.6, ³J_{3'транс-2'} 17.1, ⁴J_{3'транс-1'А} 1.6, ⁴J_{3'транс-1'В} 1.6), 4.92 д. к (1H, H^{3'}_{цис}, ²J 1.6, ³J_{3'цис-2'} 10.4, ⁴J_{3'транс-1'А} 1.6, ⁴J_{3'цис-1'В} 1.6), 4.96 д. д. т (1H, H⁴_{эндо}, ²J 13.2, ³J_{4эндо-5} 3.2, ⁴J_{4эндо-2эндо} 1.7, ⁴J_{4эндо-12син} 1.7), 5.66 д. д. т (1H, H^{2'}, ³J_{2'-3'транс} 17.1, ³J_{2'-3'цис} 10.4, ³J_{2'-1'А} 5.1, ³J_{2'-1'В} 5.1), 6.15 д (1H, H¹¹, ³J₁₁₋₁₀ 7.6), 7.77 т (1H, NH, ³J_{NH-1'А} 5.3, ³J_{NH-1'В} 5.3), 7.80 д (1H, H¹⁰, ³J₁₀₋₁₁ 7.6). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ_C, м. д.: 24.9 (C¹²), 27.3 (C⁵), 34.0 (C¹), 47.3 (C^{1'}), 49.5 (C⁶), 52.5 (C⁴), 53.4 (C²), 105.1 (C¹¹), 110.8 (C⁹), 114.5 (C^{3'}), 135.1 (C^{2'}), 140.7 (C¹⁰), 149.5 (C^{11a}), 158.1 (C⁸), 182.2 (C=S). Спектр ¹⁵N ЯМР (ДМСО-*d*₆), δ_N, м. д.: 104.4 (N³), 111.7 (NH), 175.6 (N⁷). Найдено, %: С 48.90; Н 4.94; Br 21.73; N 11.40; S 8.69. C₁₅H₁₈BrN₃OS. Вычислено, %: С 48.92; Н 4.93; Br 21.70; N 11.41; S 8.71.

(1S,5R)-9-Бром-8-оксо-N-фенил-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4H)-карботиоамид (15) получали аналогично из 9-бромцитизина **5** (0.2 г, 0.74 ммоль) и фенилизотиоцианата (0.1 г, 0.74 ммоль). Выпавший осадок отфильтровывали, промывали бензолом (3×10 мл) и сушили. Выход 84% (0.25 г), [α]_D²⁰ –5.0 (ДМСО, *c* = 0.93), белые кристаллы, т. пл. 229°C (MeOH), *R*_f 0.5 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν, см^{–1}: 3209, 3032, 1639, 1597, 1575, 1534, 1497, 1462, 1410, 1377, 1352, 1326, 1302, 1261, 1150, 1102, 1087, 960,

942, 724, 610. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д. (J , Гц): 1.94 м (1H, $\text{H}_{\text{син}}^{12}$), 2.05 м (1H, $\text{H}_{\text{анти}}^{12}$), 2.55 м (1H, H^5), 3.22 м (1H, H^1), 3.25 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^4$), 2J 13.2, $^3J_{4\text{экзо}-5}$ 2.1, $^4J_{4\text{экзо}-6\text{экзо}}$ 1.4), 3.35 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^2$), 2J 13.4, $^3J_{2\text{экзо}-1}$ 2.3), 3.74 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^6$), 2J 15.6, $^3J_{6\text{экзо}-5}$ 6.6, $^4J_{6\text{экзо}-4\text{экзо}}$ 1.4), 4.32 д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^6$), 2J 15.6, $^3J_{6\text{экзо}-5}$ 1.1, $^4J_{6\text{экзо}-12\text{анти}}$ 1.1), 4.81 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^2$), 2J 13.4, $^3J_{2\text{эндо}-1}$ 3.1, $^4J_{2\text{эндо}-4\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{2\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 5.11 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^4$), 2J 13.2, $^3J_{4\text{эндо}-5}$ 3.2, $^4J_{4\text{эндо}-2\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{4\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 6.13 д (1H, H^{11}), $^3J_{11-10}$ 7.6), 6.97 д (1H, $\text{H}^{2'(6')}$), 3J 7.7), 7.04 т (1H, $\text{H}^{4'}$), 3J 7.3), 7.20 д. д (1H, $\text{H}^{3'(5')}$), 3J 7.7, 3J 7.3), 7.75 д (1H, H^{10}), $^3J_{10-11}$ 7.6), 9.01 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ_{C} , м. д.: 25.3 (C^{12}), 27.7 (C^5), 34.7 (C^1), 49.5 (C^6), 53.3 (C^2), 54.6 (C^4), 105.2 (C^{11}), 111.0 (C^9), 124.2 ($\text{C}^{4'}$), 125.1 ($\text{C}^{2'(6')}$), 127.8 ($\text{C}^{3'(5')}$), 140.6 (C^{10}), 141.0 ($\text{C}^{1'}$), 149.3 (C^{11a}), 158.3 (C^8), 182.9 ($\text{C}=\text{S}$). Спектр ^{15}N ЯМР (ДМСО- d_6), δ_{N} , м. д.: 127.2 (NH), 175.2 (N^7). Найдено, %: C 53.45; H 4.50; Br 19.79; N 10.340; S 7.91. $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{BrN}_3\text{OS}$. Вычислено, %: C 53.47; H 4.49; Br 19.76; N 10.39; S 7.93.

(1R,5R)-N-Аллил-9,11-дибром-8-оксо-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2- a][1,5]дiazоцин-3(4H)-карботиоамид (16) получали аналогично из 9,11-дибромцитизина **6** (0.2 г, 0.57 ммоль) и аллилизотиоцианата (0.056 г, 0.57 ммоль). Продукт **16** выделен методом колоночной хроматографии на SiO_2 (EtOAc). Выход 91% (0.23 г), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –78.0 (ДМСО, $c = 1.04$), аморфное вещество, R_f 0.56 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν , см^{-1} : 3250, 1635, 1568, 1540, 1518, 1457, 1411, 1400, 1377, 1357, 1334, 1327, 1303, 1263, 1241, 1213, 1144, 1097, 957, 856, 759, 738, 705, 658, 600. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д. (J , Гц): 1.93 д. т. т (1H, $\text{H}_{\text{син}}^{12}$), 2J 12.7, $^3J_{12\text{син}-1}$ 3.4, $^3J_{12\text{син}-5}$ 3.4, $^4J_{12\text{син}-4\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{12\text{син}-2\text{эндо}}$ 1.7), 2.06 д. т. д (1H, $\text{H}_{\text{анти}}^{12}$), 2J 12.7, $^3J_{12\text{анти}-1}$ 3.3, $^3J_{12\text{анти}-5}$ 3.3, $^4J_{12\text{анти}-эндо}$ 1.3), 2.51 м (1H, H^5), 3.17 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^4$), 2J 13.3, $^3J_{4\text{экзо}-5}$ 2.1, $^4J_{4\text{экзо}-6\text{экзо}}$ 1.2), 3.18 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^2$), 2J 13.2, $^3J_{2\text{экзо}-1}$ 2.5), 3.43 м (1H, H^1), 3.77 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^6$), 2J 15.4, $^3J_{6\text{экзо}-5}$ 6.5, $^4J_{6\text{экзо}-4\text{экзо}}$ 1.2), 3.95 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{А}}^{1'}$), 2J 15.8, $^3J_{1'\text{А}-2'}$ 5.1, $^4J_{1'\text{А}-3'\text{цис}}$ 1.6, $^4J_{1'\text{А}-3'\text{транс}}$ 1.6), 4.08 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{В}}^{1'}$), 2J 15.8, $^3J_{1'\text{В}-2'}$ 5.1, $^4J_{1'\text{В}-3'\text{цис}}$ 1.6, $^4J_{1'\text{В}-3'\text{транс}}$ 1.6), 4.11 д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^6$), 2J 15.4, $^3J_{6\text{эндо}-5}$ 1.0, $^4J_{6\text{эндо}-12\text{анти}}$ 1.0), 4.75 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^4$), 2J 13.3, $^3J_{4\text{эндо}-5}$ 3.3, $^4J_{4\text{эндо}-2\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{4\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 4.84 д. к (1H, $\text{H}^{3'}$), 2J 1.6, $^3J_{3'\text{транс}-2'}$ 17.1, $^4J_{3'\text{транс}-1'\text{А}}$ 1.6, $^4J_{3'\text{транс}-1'\text{В}}$ 1.6), 4.94 д. к (1H, $\text{H}^{3'}$), 2J 1.6, $^3J_{3'\text{цис}-2'}$ 10.6, $^4J_{3'\text{цис}-1'\text{А}}$ 1.6, $^4J_{3'\text{цис}-1'\text{В}}$ 1.6), 5.09 д. д. т (1H,

$\text{H}_{\text{эндо}}^2$), 2J 13.2, $^3J_{2\text{эндо}-1}$ 3.1, $^4J_{2\text{эндо}-4\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{2\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 5.66 д. д. т (1H, $\text{H}^{2'}$), $^3J_{2'-3'\text{транс}}$ 17.1, $^3J_{2'-3'\text{цис}}$ 10.6, $^3J_{2'-1'\text{А}}$ 5.1, $^3J_{2'-1'\text{В}}$ 5.1), 8.07 с (1H, H^{10}). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ_{C} , м. д.: 25.1 (C^{12}), 27.2 (C^5), 34.3 (C^1), 47.1 ($\text{C}^{1'}$), 50.8 (C^6), 50.8 (C^2), 51.6 (C^4), 97.5 (C^{11}), 111.7 (C^9), 114.7 ($\text{C}^{3'}$), 134.9 ($\text{C}^{2'}$), 143.2 (C^{10}), 146.3 (C^{11a}), 157.6 (C^8), 182.1 ($\text{C}=\text{S}$). Спектр ^{15}N ЯМР (ДМСО- d_6), δ_{N} , м. д.: 110.6 (NH), 177.5 (N^7). Найдено, %: C 40.31; H 3.82; Br 35.75; N 9.420; S 7.19. $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{Br}_2\text{N}_3\text{OS}$. Вычислено, %: C 40.29; H 3.83; Br 35.74; N 9.40; S 7.17.

(1S,5R)-9,11-Дибром-8-оксо-N-фенил-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2- a][1,5]дiazоцин-3(4H)-карботиоамид (17) получали аналогично из 9,11-дибромцитизина **6** (0.2 г, 0.57 ммоль) и фенилизотиоцианата (0.076 г, 0.57 ммоль). Продукт **17** выделен методом колоночной хроматографии на SiO_2 (EtOAc). Выход 98% (0.27 г), $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ –87.0 (ДМСО, $c = 1.12$), аморфное вещество, R_f 0.55 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν , см^{-1} : 3292, 2940, 1643, 1596, 1546, 1518, 1406, 1320, 1260, 1225, 1181, 1143, 1112, 1069, 1032, 913, 848, 800, 734, 701, 665, 536. Спектр ЯМР ^1H (ДМСО- d_6), δ , м. д. (J , Гц): 1.98 д. т. т (1H, $\text{H}_{\text{син}}^{12}$), 2J 12.9, $^3J_{12\text{син}-1}$ 3.4, $^3J_{12\text{син}-5}$ 3.4, $^4J_{12\text{син}-4\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{12\text{син}-2\text{эндо}}$ 1.7), 2.13 д. т. д (1H, $\text{H}_{\text{анти}}^{12}$), 2J 12.9, $^3J_{12\text{анти}-1}$ 3.1, $^3J_{12\text{анти}-5}$ 3.1, $^4J_{12\text{анти}-6\text{эндо}}$ 1.0), 2.55 м (1H, H^5), 3.33 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^4$), 2J 13.0, $^3J_{4\text{экзо}-5}$ 2.3, $^4J_{4\text{экзо}-6\text{экзо}}$ 1.0), 3.35 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^2$), 2J 13.2, $^3J_{2\text{экзо}-1}$ 2.3), 3.48 м (1H, H^1), 3.76 д. д. (1H, $\text{H}_{\text{экзо}}^6$), 2J 15.5, $^3J_{6\text{экзо}-5}$ 6.6, $^4J_{6\text{экзо}-4\text{экзо}}$ 1.0), 4.33 д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^6$), 2J 15.5, $^3J_{6\text{эндо}-5}$ 1.1, $^4J_{6\text{эндо}-12\text{анти}}$ 1.1), 4.94 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^4$), 2J 13.0, $^3J_{4\text{эндо}-5}$ 3.2, $^4J_{4\text{эндо}-2\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{4\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 5.06 д. д. т (1H, $\text{H}_{\text{эндо}}^2$), 2J 13.2, $^3J_{2\text{эндо}-1}$ 3.1, $^4J_{2\text{эндо}-4\text{эндо}}$ 1.7, $^4J_{2\text{эндо}-12\text{син}}$ 1.7), 6.92 д. д. (2H, $\text{H}^{2'(6')}$), $^3J_{2'(6')-3'(5')}$ 8.7, $^4J_{2'(6')-4'}$ 1.3), 7.08 т. т (1H, $\text{H}^{4'}$), $^3J_{4'-3'(5')}$ 7.1, $^4J_{4'-2'(6')}$ 1.3), 7.23 д. д. (2H, $\text{H}^{3'(5')}$), $^3J_{3'(5')-2'(6')}$ 8.7, $^3J_{3'(5')-4'}$ 7.1), 8.07 с (1H, H^{10}). Спектр ЯМР ^{13}C (ДМСО- d_6), δ_{C} , м. д.: 25.2 (C^{12}), 27.6 (C^5), 34.7 (C^1), 50.7 (C^6), 51.4 (C^2), 52.6 (C^4), 97.9 (C^{11}), 111.9 (C^9), 124.3 ($\text{C}^{4'}$), 124.8 ($\text{C}^{2'(6')}$), 128.0 ($\text{C}^{3'(5')}$), 140.7 ($\text{C}^{1'}$), 143.2 (C^{10}), 145.9 (C^{11a}), 157.8 (C^8), 182.3 ($\text{C}=\text{S}$). Спектр ^{15}N ЯМР (ДМСО- d_6), δ_{N} , м. д.: 126.7 (NH). Найдено, %: C 44.73; H 3.57; Br 33.09; N 8.72; S 6.60. $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{Br}_2\text{N}_3\text{OS}$. Вычислено, %: C 44.74; H 3.55; Br 33.07; N 8.70; S 6.63.

(1S,5R)-N-Аллил-11-хлор-8-оксо-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2- a][1,5]дiazоцин-3(4H)-карботиоамид (18) получали аналогично из

11-хлороцитизина **7** (0.2 г, 0.78 ммоль) и аллилизотиоцианата (0.05 г, 0.78 ммоль). Продукт **18** выделен методом колоночной хроматографии на SiO₂ (EtOAc). Выход 75% (0.21 г), $[\alpha]_D^{20}$ –142.0 (ДМСО, $c = 0.29$), аморфное вещество, R_f 0.57 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν , см^{–1}: 3316, 1650, 1569, 1544, 1524, 1461, 1401, 1377, 1340, 1325, 1308, 1262, 1244, 1186, 1167, 1149, 1114, 1085, 1030, 990, 968, 922, 827, 722, 692, 640, 557. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (J , Гц): 1.92 д. т. т (1H, H¹²_{син}, ² J 13.2, ³ J _{12син-1} 3.4, ³ J _{12син-5} 3.4, ⁴ J _{12син-4эндо} 1.7, ⁴ J _{12син-4эндо} 1.7), 2.07 д. т. д (1H, H¹²_{анти}, ² J 13.2, ³ J _{12анти-1} 3.1, ³ J _{12анти-5} 3.1, ⁴ J _{12анти-бэндо} 1.0), 2.55 м (1H, H⁵), 3.18 д. д. д (1H, H⁴_{экзо}, ² J 13.2, ³ J _{4экзо-5} 2.1, ⁴ J _{4экзо-бэкзо} 1.2), 3.20 д. д (1H, H²_{экзо}, ² J 13.0, ³ J _{2экзо-1} 2.5), 3.49 м (1H, H¹), 3.77 д. д. д (1H, H⁶_{экзо}, ² J 15.7, ³ J _{бэкзо-5} 6.5, ⁴ J _{бэкзо-4экзо} 1.2), 3.95 д. т. т (1H, H¹_A, ² J 16.0, ³ J _{1'A-2'} 5.5, ⁴ J _{1'A-3'цис} 1.6, ⁴ J _{1'A-3'транс} 1.6), 4.08 д. д. т (1H, H¹_B, ² J 16.0, ³ J _{1'B-2'} 5.5, ⁴ J _{1'B-3'цис} 1.6, ⁴ J _{1'B-3'транс} 1.6), 4.13 д. т (1H, H⁶_{эндо}, ² J 15.7, ³ J _{бэндо-5} 1.0, ⁴ J _{бэндо-12анти} 1.0), 4.78 д. д. т (1H, H⁴_{эндо}, ² J 13.2, ³ J _{4эндо-5} 2.7, ⁴ J _{4эндо-2эндо} 1.7, ⁴ J _{4эндо-12син} 1.7), 4.83 д. к (1H, H^{3'}_{транс}, ² J 1.6, ³ J _{3'транс-2'} 17.1, ⁴ J _{3'транс-1'A} 1.6, ⁴ J _{3'транс-1'B} 1.6), 4.94 д. к (1H, H^{3'}_{цис}, ² J 1.6, ³ J _{3'цис-2'} 10.6, ⁴ J _{3'цис-1'A} 1.6, ⁴ J _{3'цис-1'B} 1.6), 5.05 д. д. т (1H, H²_{эндо}, ² J 13.0, ³ J _{2эндо-1} 2.7, ⁴ J _{2эндо-4эндо} 1.7, ⁴ J _{2эндо-12син} 1.7), 5.66 д. д. т (1H, H^{2'}, ³ J _{2'-3'транс} 17.1, ³ J _{2'-3'цис} 10.6, ³ J _{2'-1'A} 5.5, ³ J _{2'-1'B} 5.5), 7.89 с (1H, H¹⁰). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ_C , м. д.: 24.9 (C¹²), 27.0 (C⁵), 31.9 (C¹), 47.1 (C¹), 50.4 (C⁶), 50.8 (C²), 51.6 (C⁴), 108.7 (C¹¹), 114.6 (C³), 121.1 (C⁹), 134.9 (C^{2'}), 137.6 (C¹⁰), 144.6 (C^{11a}), 157.3 (C⁸), 182.0 (C=S). Найдено, %: C 55.64; H 5.59; Cl 10.98; N 12.97; S 9.92. C₁₅H₁₈ClN₃OS. Вычислено, %: C 55.63; H 5.60; Cl 10.95; N 12.98; S 9.90.

(1R)-11-Хлор-8-оксо-N-фенил-1,5,6,8-тетрагидро-2H-1,5-метанопиридо[1,2-*a*][1,5]диазоцин-3(4H)-карботиоамид (19) получали аналогично из 11-хлорцитизина **7** (0.2 г, 0.78 ммоль) и фенилизотиоцианата (0.1 г, 0.78 ммоль). Продукт **19** выделен методом колоночной хроматографии на SiO₂ (EtOAc). Выход 82% (0.26 г), $[\alpha]_D^{20}$ –178.0 (ДМСО, $c = 0.92$), аморфное вещество, R_f 0.6 (ацетон). ИК спектр (пленка), ν , см^{–1}: 3209, 3029, 1636, 1596, 1573, 1524, 1496, 1456, 1412, 1363, 1326, 1243, 1229, 1201, 1171, 1150, 1111, 1096, 1066, 1028, 1004, 947, 892, 863, 795, 770, 721, 605, 543, 440, 419. Спектр ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆), δ , м. д. (J , Гц): 1.97 д. т. т (1H, H¹²_{син}, ² J 12.7, ³ J _{12син-1} 3.4, ³ J _{12син-5} 3.4, ⁴ J _{12син-4эндо} 1.7, ⁴ J _{12син-2эндо} 1.7), 2.14 д. т. д (1H, H¹²_{анти}, ² J 12.7, ³ J _{12анти-1}

3.3, ³ J _{12анти-5} 3.3, ⁴ J _{12анти-бэндо} 1.3), 2.57 м (1H, H⁵), 3.34 д. д. д (1H, H⁴_{экзо}, ² J 13.3, ³ J _{4экзо-5} 2.1, ⁴ J _{4экзо-бэкзо} 1.2), 3.36 д. д (1H, H²_{экзо}, ² J 13.5, ³ J _{2экзо-1} 2.5), 2.57 м (1H, H⁵), 3.76 д. д. д (1H, H⁶_{экзо}, ² J 15.7, ³ J _{бэкзо-5} 6.5, ⁴ J _{бэкзо-4экзо} 1.2), 4.34 д. т (1H, H⁶_{эндо}, ² J 15.7, ³ J _{бэндо-5} 1.0, ⁴ J _{бэндо-12анти} 1.0), 4.95 д. д. т (1H, H⁴_{эндо}, ² J 13.3, ³ J _{4эндо-5} 3.3, ⁴ J _{4эндо-2эндо} 1.7, ⁴ J _{4эндо-12син} 1.7), 5.04 д. д. т (1H, H²_{эндо}, ² J 13.5, ³ J _{2эндо-1} 3.1, ⁴ J _{2эндо-4эндо} 1.7, ⁴ J _{2эндо-12син} 1.7), 6.93 д (2H, H^{2'}, ³ J _{2'-3'} 8.2), 7.08 т (1H, H^{4'}, ³ J _{4'-3'} 7.3), 7.23 д. д (2H, H^{3'}, ³ J _{3'-2'} 8.2, ³ J _{3'-4'} 7.5). Спектр ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆), δ_C , м. д.: 25.0 (C¹²), 27.5 (C⁵), 32.2 (C¹), 50.3 (C⁶), 51.4 (C²), 52.6 (C⁴), 108.9 (C¹¹), 121.3 (C⁹), 124.3 (C^{4'}), 124.9 (C^{2'(6')}), 128.0 (C^{3'(5')}), 137.5 (C¹⁰), 140.7 (C¹), 144.3 (C^{11a}), 157.4 (C⁸), 182.3 (C=S). Спектр ¹⁵N ЯМР (ДМСО-*d*₆), δ_N , м. д.: 126.3 (NH). Найдено, %: C 60.10; H 5.05; Cl 9.84; N 11.71; S 8.90. C₁₈H₁₈ClN₃OS. Вычислено, %: C 60.08; H 5.04; Cl 9.85; N 11.68; S 8.91.

Вирусы и клетки. Использовали вирус парагриппа человека 3-го типа (HPIV3, штамм HA1) из коллекции вирусов НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия. Вирус культивировали в эмбриональных клетках почки макаки резус МА-104 при 36°C в 5% CO₂. Клетки МА-104 в среде MEM для тестирования *in vitro* высевали на 96-луночные планшеты и инкубировали при 36°C в 5% CO₂ до образования однородного монослоя.

Анализ цитотоксичности *in vitro*. Цитотоксичность соединений изучали в микротетразолиевом тесте (МТТ). Была приготовлена серия трехкратных разведений каждого соединения в среде MEM. Клетки МА-104 инкубировали в течение 96 ч при соответствующих условиях, затем дважды промывали физиологическим раствором с фосфатным буфером (PBS) и добавляли раствор 3-(4,5-диметилтиазолил-2)-2,5-дифенилтетразолия бромид (0.5 мг/мл) в MEM. После 1 ч инкубации лунки промывали PBS, остаток формазана растворяли в 0.1 мл ДМСО на каждую лунку. Оптическую плотность клеток измеряли с помощью планшетного анализатора Multiskan FC (Thermo Scientific) при длине волны 540 нм и строили график зависимости концентрации соединений. Каждую концентрацию производных **8–19** тестировали в трех параллелях. На основании полученных результатов рассчитывали 50%-ную цитотоксическую концентрацию (CC₅₀) (т. е. кон-

центрацию соединения, которая вызывает гибель 50% клеток в культуре, уменьшала оптическую плотность в два раза по сравнению с контрольными лунками) для каждого анализируемого соединения с использованием программного обеспечения GraphPad Prism 6.01.

Противовирусная активность *in vitro*. Чувствительность НРІV3 к тестируемым соединениям определяли по эффекту цитопротекции, измеряя снижение вирус-индуцированного СРЕ под их действием. После добавления соединений и 1 ч инкубации клетки заражали НРІV3 (m.o.i. 0.01). После 96 ч инкубации наблюдали за клеточными монослоями в каждой лунке и проводили МТТ-тест. Оптическую плотность среды в каждой лунке определяли при длине волны 540 нм на анализаторе пластин Multiscan FC (Thermo Scientific). На основании полученных результатов рассчитывали 50%-ную ингибирующую концентрацию (IC₅₀), т. е. концентрацию соединения, которая защищала 50% клеток по сравнению с плацебо-контролем. Каждая концентрация соединений тестировалась в трех параллелях. После этого для каждого соединения рассчитывали индекс селективности (SI, отношение CC₅₀ к IC₅₀).

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>

БЛАГОДАРНОСТЬ

Все аналитические эксперименты проведены с использованием оборудования Центров коллективного пользования «Химия» и «Агидель» Уфимского федерального исследовательского центра РАН.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках государственного задания Уфимского института химии Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук (№ 122031400260-7).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Abed Y., Boivin G.* // Antivir. Res. 2006. Vol. 70. P. 1. doi 10.1016/j.antiviral.2006.01.006
2. *Henrickson K.J.* // Clin. Microbiol. Rev. 2003. Vol. 16. P. 242. doi 10.1128/CMR.16.2.242-264.2003
3. *Weinberg G.A., Hall C.B., Iwane M.K., Poehling K.A., Edwards K.M., Griffin M.R., Staat M.A., Curns A.T., Erdman D.D., Szilagyi P.G.* // J. Pediatr. 2009. Vol. 154. P. 694. doi 10.1016/j.jpeds.2008.11.034
4. *Denny F.W., Clyde W.A., Jr.* // J. Pediatr. 1986. Vol. 108. P. 635. doi 10.1016/s0022-3476(86)81034-4
5. *Greengard O., Poltoratskaia N., Leikina E., Zimmerberg J., Moscona A.* // J. Virol. 2000. Vol. 74. P. 1108. doi 10.1128/jvi.74.23.11108-11114.2000
6. *Ahgren C., Backro K., Bell F.W., Cantrell A.S., Clemens M., Colacino J.M., Deeter J.B., Engelhardt J.A., Hogberg M., Jaskunas S.R.* // Antimicrob. Agents Chemother. 1995. Vol. 39. P. 1329. doi 10.1128/AAC.39.6.1329
7. *Ren J., Diprose J., Warren J., Esnouf R.M., Bird L.E., Ikemizu S., Slater M., Milton J., Balzarini J., Stuart D.I., Stammers D.K.* // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 5633. doi 10.1074/jbc.275.8.5633
8. *Weitman M., Lerman K., Nudelman A., Major D.T., Hizi A., Herschhorn A.* // Eur. J. Med. Chem. 2011. Vol. 46. P. 447. doi 10.1016/j.ejmech.2010.11.003
9. *Bielenica A., Sanna G., Madeddu S., Struga M., Józwiak M., Koziol A.E., Sawczenko A., Materek I.B., Serra A., Giliberti G.* // Chem. Biol. Drug. Des. 2017. Vol. 90. P. 883. doi 10.1111/cbdd.13009
10. *Kang I.J., Wang L.W., Lee C.C., Lee Y.C., Chao Y.S., Hsu T.A., Chern J.H.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2009. Vol. 19. P. 1950. doi 10.1016/j.bmcl.2009.02.048
11. *Bloom J.D., Di Grandi M.J., Dushin R.G., Curran K.J., Ross A.A., Norton E.B., Terefenko E., Jones T.R., Feld B., Lang S.A.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2003. Vol. 13. P. 2929. doi 10.1016/s0960-894x(03)00586-9
12. *Bloom J.D., Dushin R.G., Curran K.J., Donahue F., Norton E.B., Terefenko E., Jones T.R., Ross A.A., Feld B., Lang S.A., Di Grandi M.J.* // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2004. Vol. 14. P. 340. doi 10.1016/j.bmcl.2004.04.093
13. *Galabov A., Shindarov L., Vassilev G., Vassileva R.* // Arch. Gesamte. Virusforsch. 1972. Vol. 38. P. 159. doi 10.1007/BF01249666
14. *Galabov A.S., Galabov B.S., Neykova N.A.* // J. Med. Chem. 1980. Vol. 23. P. 1048. doi 10.1021/jm00183a016
15. *Feeny R.M., Le D.N., Parks J.W., Epstein M.G., Pagano J.V., Abbene A.C., Graham E.B., Farrell J.R.,*

- McGuire J.R., Zoellner R.W., Valente E.J., Barklis E., Wood W.J.L. // *Synlett*. 2012. P. 301. doi 10.1055/s-0031-1290124
16. Mishra P., Kumar A., Mamidi P., Kumar S., Basantray I., Saswat T., Das I., Nayak T.K., Chattopadhyay S., Subudhi B.B., Chattopadhyay S. // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. P. 20122. doi 10.1038/srep20122
17. Sorodoc Y., Danieleescu G., Burducea O., Cajal N., Niculescu-Duvăz I., Baracu I. // *Virologie*. 1977. Vol. 28. P. 55.
18. Burgeson J.R., Moore A.L., Boutilier J.K., Cerruti N.R., Gharaibeh D.N., Lovejoy C.E., Amberg S.M., Hruby D.E., Tyavanagimatt S.R., Allen R.D. 3rd, Dai D. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. Vol. 22. P. 4263. doi 10.1016/j.bmcl.2012.05.035
19. Kreutzberger A., Schröders H.H. // *Tetrahedron Lett.* 1970. Vol. 56. P. 4921. doi 10.1016/s0040-4039(00)99744-2
20. Sun J., Cai S., Mei H., Li J., Yan N., Wang Q., Lin Z., Huo D. // *Chem. Biol. Drug. Des.* 2010. Vol. 76. P. 245. doi 10.1111/j.1747-0285.2010.01006.x
21. Цыпышева И.П., Ковальская А.В., Лобов А.Н., Зарубаев В.В., Карпинская Л.А., Петренко И.А., Николаева Е.А., Юнусов М.С. // *ХПС*. 2012. № 6. С. 920; Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Lobov A.N., Zarubaev V.V., Karpinskaya L.A., Petrenko I.A., Nikolaeva E.A., Yunusov M.S. // *Chem. Nat. Compd.* 2013. Vol. 48. P. 1042. doi 10.1007/s10600-013-0460-0
22. 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
23. Tsypysheva I.P., Lai H.-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.bmc.1.2021.128437
24. 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 Ch.-W. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2024. Vol. 99. P. 129623. doi 10.1016/j.bmcl.2024.129623
25. Buckingham J., Baggaley K.H., Roberts A.D., Szlabo L.F. *Dictionary of Alkaloids*, CRC Press, 2010. 2289 p.
26. Canu Boido C., Sparatore F. // *Il Farmaco*. 1999. Vol. 54. P. 438. doi 10.1016/s0014-827x(99)00049-x
27. Boido C.C., Tasso B., Boido V., Sparatore F. // *Il Farmaco*. 2003. Vol. 58. P. 265. doi 10.1016/s0014-827x(03)00017-x
28. Цыпышева И.П., Ковальская А.В., Халилова И.У., Бахтина Ю.Ю., Хисамутдинова Р.Ю., Габдрахманова С.Ф., Лобов А.Н., Зарудий Ф.С., Юнусов М.С. // *ХПС*. 2014. № 2. С. 291; Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Khalilova I.U., Bakhtina Yu.Yu., Khisamutdinova R.Yu., Gabdrakhmanova S.F., Lobov A.N., Zarudii F.S., Yunusov M.S. // *Chem. Nat. Compd.* 2014. Vol. 50. P. 333. doi 10.1007/s10600-014-0945-5
29. Цыпышева И.П., Ковальская А.В., Макара Н.С., Лобов А.Н., Петренко И.А., Галкин Е.Г., Сапожникова Т.А., Зарудий Ф.С., Юнусов М.С. // *ХПС*. 2012. № 4. С. 565; Tsypysheva I.P., Koval'skaya A.V., Makara N.S., Lobov A.N., Petrenko I.A., Galkin E.G., Sapozhnikova T.A., Zarudii F.S., Yunusov M.S. // *Chem. Nat. Compd.* 2012. Vol. 48. P. 629. doi 10.1007/s10600-012-0329-7
30. Luputiu G., Gilau L. // *Arch. Pharm.* 1969. Vol. 302. P. 943. doi 10.1002/ardp.19693021210.
31. Нуркенов О.А., Газалиев А.М., Айнабаев А.А., Кулаков И.В. // *ЖОХ*. 2006. № 7. С. 1229; Nurkenov O.A., Gazaliev A.M., Ainabaev A.A., Kulakov I.V. // *Russ. J. Gen. Chem.* 2006. Vol. 76. P. 1181. doi 10.1134/S1070363206070346
32. Leyssen P., de Clercq E., Neyts J. // *Mol. Pharmacol.* 2006. Vol. 69. P. 1461. doi 10.1124/mol.105.020057

Derivatives of (–)-Cytisine with Thiourea Fragment. Synthesis and Antiviral Activity

A. V. Kovalskaya¹, A. N. Lobov¹, 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 August 28, 2024; revised September 2, 2024; accepted September 4, 2024

New derivatives of the quinolizidine alkaloid, (–)-cytisine, with a substituted 2-pyridone ring and a thiourea moiety in the bispidin fragment of the molecule were synthesized. The ability of the synthesized cytisine-containing thioureas to inhibit the reproduction of human parainfluenza virus type 3 was assessed. It was found that the derivatives obtained by the reaction of benzoyl or phenyl isothiocyanate with (–)-cytisine, as well as its 9-bromo or 9,11-derivative, effectively suppress the reproduction of human parainfluenza virus type 3 (their selectivity indices are 56, 58 and 95, respectively), which confirms the promise of the chosen approach to synthetic modifications of the alkaloid (–)-cytisine in order to obtain effective antiviral agents on its basis.

Keywords: (–)-cytisine, thiourea, cytotoxicity, antiviral activity, human parainfluenza virus type 3 (HPIV3)