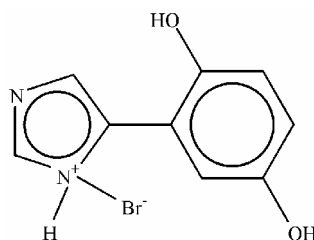


Таблица 4

Результаты компьютерного прогноза и экспериментальной проверки уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола



(2)

Шифр соединения	Компьютерная оценка наличия высокой активности ¹				Экспериментальная оценка активности	Совпадение оценок
	Конс.	Норм.	Риск.	Общая		
РУ-17	отказ	-	-	-	Умеренная	+
РУ-121	+	+	+	+	Низкая	-
РУ-122	±	-	+	±	Низкая	±
РУ-252	-	-	-	-	Низкая	+
РУ-375	+	+	+	+	Высокая	+
РУ-506	-	-	-	-	Умеренная	+
РУ-574	-	-	-	-	Низкая	+
РУ-1139	-	-	-	-	Неактивно	+
РУ-1178	-	-	-	-	Неактивно	+
РУ-1231	-	-	-	-	Низкая	+

Примечание. По консервативной, нормальной и рискованной стратегиям соответственно.

100 "фармакофоров" высокой антиоксидантной активности и только 16 "анти-фармакофоров". Производя суперпозицию подструктур-"фармакофоров", можно выявить фрагмент структуры (2), ответственный за высокую антиоксидантную активность этого соединения.

Vassiliev P.M., Spasov A.A., Kosolapov V.A., Anisimova V.A. A computer prognosis and experimental testing of antioxidant activity of new chemical compounds using QSAR-dependences // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 2(14). – P. 16–19.

The designing of computer system for prognosticating antioxidant activity of imidazobenzimidazole derivatives on the basis of the information technology of «Microcosm» was described. It was shown that information technology of «Microcosm» makes possible to prognosticate the level of antioxidant activity for these substances with high precision; the technology may be also used for prognosticating other types of pharmacological activity of other classes of structurally similar chemical compounds.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На базе информационной технологии "Микрокосм" создана высокоточная система компьютерного прогноза уровня антиоксидантной активности производных имидазобензимидазола; технология может быть использована для прогноза уровня других видов фармакологической активности в других рядах структурно однородных химических соединений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимова В.А., Спасов А.А., Косолапов В.А. и др. // Хим.-фарм. журнал. – 2002. – Т. 36, № 11. – С. 3–8.
2. Васильев П.М., Спасов А.А. // Вестн. ВолГМУ. – 2005. – № 1 (13). – С. 23–30.
3. Васильев П.М., Спасов А.А., Косолапов В.А. и др. // Молекулярное моделирование: тез. докл. IV Всерос. конф. – М., 2005. – С. 51.
4. Косолапов В.А. Антиоксидантные средства: стратегия отбора, перспективы применения. автореф. дисс. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 2005. – 41 с.
5. Ланкин В.З., Гуревич С.М., Бурлакова Е.Б. // Труды московского общества испытателей природы. – М., 1975. – Т. 52. – С. 73–78.
6. Пожарский А.Ф. Теоретические основы химии гетероциклов. – М.: Химия, 1985. – 278 с.

УДК 615,3:547.854.4:542.91:616.984–097–022–085

**СИНТЕЗ И АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬ
1-[2-(ФЕНОКСИ)ЭТОКСИ]МЕТИЛ]ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА**

М.С. Новиков, А.А. Озеров, Ю.А. Орлова, Р.У. Букхайт*

Лаборатория фармацевтической химии ВНЦ РАМН и Администрации Волгоградской области,
Кафедра фармацевтической химии ВолГМУ,
*ImQuest BioSciences, Inc. (Мериленд, США)

С момента открытия вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) как этиологического агента синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) [2, 3] до настоящего времени инфекция ВИЧ является серьезной клинической проблемой [4]. Применяемые в клинике препараты делятся на два ос-

новных класса: ингибиторы вирусной протеазы и обратной транскриптазы (ОТ). Их использование сопровождается серьезными побочными эффектами и возникновением резистентных штаммов ВИЧ. Таким образом, поиск новых ингибиторов ВИЧ является чрезвычайно актуальной проблемой.

Большинство нуклеозидных ингибиторов ОТ, изображенных на рисунке, применяемых в терапии ВИЧ-инфекции и СПИД, согласно данным рентгено-структурного анализа имеют бабочкообразную форму. Они содержат в составе “крыла 1”, находящегося в непосредственной близости к каталитическому сайту вирусного фермента, атомы азота, входящие в состав гетероцикла; в состав “крыла 2”, находящегося в гидрофобном кармане фермента, входит ароматический фрагмент; нижняя часть “тела” бабочки соответствует липофильной области ОТ [5, 6].

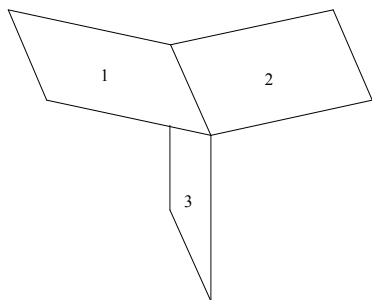
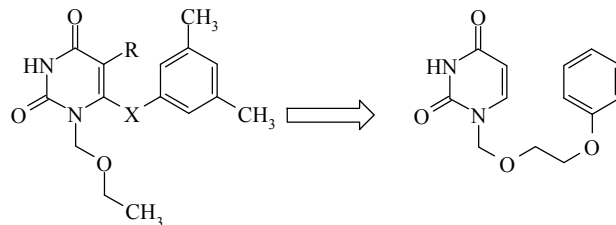


Рис. Бабочкообразная форма нуклеозидных ингибиторов ОТ ВИЧ-1:

1 – “крыло 1” (пиримидиновое основание); 2 – “крыло 2” (ароматическое ядро); 3 – “тело” бабочки (заместитель в положении N¹)

Известно, что некоторые производные урацила такие, как 1-(этоксид-метил)-6-(3,5-диметилфенилтио)урацил (1, X = S) и 6-(3,5-диметилбензил)урацил (2, X = CH₂) обладают высокой анти-ВИЧ-1 активностью [8]. Ароматический фрагмент соединений 1 и 2 связан с остатком урацила либо через атом серы, либо через метиленовую группу. Нами было сделано предположение, что при условии сохранения общей бабочкообразной структуры ингибитора ОТ ВИЧ-1 его ароматический фрагмент может быть связан с остатком урацила не через положение 6, а через атом азота N¹. При этом связывающая их цепь должна состоять из пяти-шести элементов. В этом случае могут образовываться “геометри-

ческие” аналоги 6-(фенилтио)- и 6-бензилурацилов. Наиболее близкими структурами, которые соответствуют этому критерию, являются 1-[[2-(фенокси)этоксид]метил]урацилы, в состав цепи которых входят три метиленовые группы и два атома кислорода.



1, 2 новые “геометрические” аналоги

1 X = S; 2 X = CH₂; 1, 2 R = алкил C₁ – C₃

Синтез 1-[[2-(фенокси)этоксид]метил]производных урацила был осуществлен в соответствии с нижеприведенной схемой. Исходные 2-(4-хлорфенокси)этанол (3) или 2-(4-метилфенокси)этанол (4) в условиях реакции Анри в действии параформа и газообразного хлористого водорода превращали в соответствующие 2-(4-хлорфенокси)- (5) или 2-(4-метилфенокси)этоксиметилхлориды (6), выход которых был равен 92 и 90 % соответственно. Следующим этапом явилась конденсация полученных α-хлорэфиров 5 и 6 с 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидинами, которую проводили в растворе безводного метиленхлорида при комнатной температуре. Целевые 1-[[2-(фенокси)этоксид]метил]урацилы (7–19) были получены с выходом 56–71 % после препаративной хроматографии. Основная стратегия синтеза подробно описана нами ранее [1].

Чистота полученных соединений 7–19 определялась методом тонкослойной хроматографии, состав доказан элементным анализом, строение – ПМР-спектроскопией и масс-спектрометрией. Физико-химические свойства соединений 7–19 представлены в табл. 1, данные ЯМР ¹H спектров приведены в табл. 2.

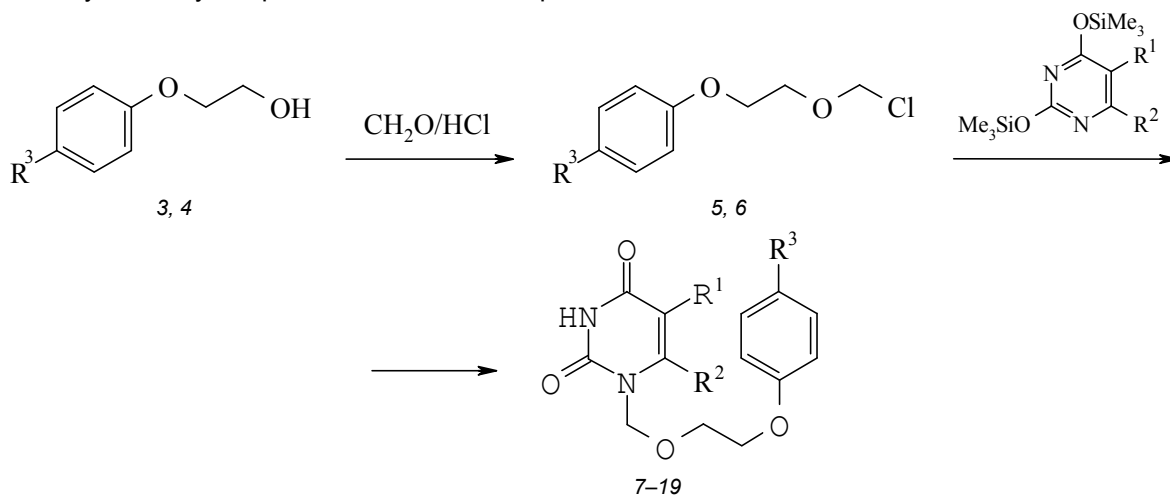


Схема. Синтез 1-[[2-(фенокси)этоксид]метил]урацилов (7–19):
R¹ = H, Me, Et, Br; R² = H, Me; R³ = Me, Cl.

Таблица 1

Характеристики синтезированных соединений

Соединение	R ¹	R ²	R ³	Т. пл., °С	R _f	Выход, %
7	H	H	Cl	126-127	0,16	60
8	Br	H	Cl	155-156	0,38	56
9	Me	H	Cl	121-123	0,22	71
10	H	Me	Cl	146-148	0,20	64
11	Br	Me	Cl	157-159	0,39	63
12	Me	Me	Cl	167-168	0,31	57
13	H	H	Me	139-140	0,28	63
14	Br	H	Me	70-73	0,49	70
15	Me	H	Me	143-144	0,34	64
16	H	Me	Me	140-143	0,32	59
17	Br	Me	Me	149-150	0,51	58
18	Me	Me	Me	141-143	0,43	56
19	Et	Me	Me	120-121	0,48	71

Противовирусные свойства синтезированных соединений *in vitro* в отношении ВИЧ-1 были исследованы в ImQuest BioSciences, Inc. (Мериленд, США) в культуре CEM-SS клеток в соответствии с ранее описанным методом [8]. Результаты скрининга показали, что некоторые из производных урацила 7–19 проявляют заметную противовирусную активность. Наиболее активными соединениями этого ряда оказались 1-[[2-(4-хлорфенокси)этокси]метил]- (11) и 1-[[2-(4-метилфенокси)этокси]-метил]- (17) производные 5-бром-6-метилурацила, которые ингибировали репродукцию ВИЧ-1 на 50 % в концентрации ИК₅₀ 7,2 и 7,8 мМ соответственно. Однако за счет относительно высокой токсичности их индекс селективности был равен 4,3 и 7,7. На порядок менее активными были производные урацила: 1-[[2-(4-хлорфенокси)этокси]метил]- (7) и 1-[[2-(4-метилфенокси)этокси]метил]урацил (13), имеющие ИК₅₀ 23,7 и 16,1 мМ соответственно, но вследствие более низкой токсичности эти соединения имели индекс селективности, сопоставимый с индексом соединений 11 и 17. Остальные соединения оказались либо неактивными в отношении ВИЧ-1, либо показали слабое вирусингибирующее действие (табл. 3).

Таким образом, нами найден ряд соединений, некоторые из которых проявили выраженную ингибиторную активность в отношении ВИЧ-1 *in vitro*. Полученные данные будут использованы нами в поиске новых противовирусных агентов в этом ряду.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР ¹H регистрировали на спектрометре Bruker DRX-500 (500 МГц), в ДМСО-D₆, внутренний стандарт TMS. Интерпретацию спектров осуществляли с помощью лицензионной программы ACD/HNMR Predictor Pro 3,0 фирмы Advanced Chemistry Development (Канада). Масс-спектры регистрировали на спектрометре Varian MAT-111 (прямой ввод, ионизация методом электронного удара, 70 эВ). Тонкослойную хроматографию выполняли на пластинах Silufol UV-254 в системе этилацетат-хлороформ, 1 : 1, проявле-

ние в парах иода. Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе Mel-Temp 3.0 (Laboratory Devices Inc., США).

2-(4-Хлорфенокси)этоксиметилхлорид (5). Через перемешиваемую смесь 19,1 г (0.111 моль) 2-(4-хлорфенокси)этанола (3) и 3,5 г (0.117 моль) параформа в 100 мл безводного метиленхлорида при температуре 0–5 °С в течение 2 ч пропускают ток сухого хлористого водорода. Органический слой отделяют, сушат CaCl₂, фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме и получают 22,6 г (92 %) 5 в виде вязкой жидкости, которую далее используют без дополнительной очистки. Спектр ЯМР ¹H (CCl₄), δ, м.д., J (Гц): 3,66 т (2H, J = 7, CH₂O); 3,96 т (2H, J=7, CH₂OAr); 5,41 с (2H, CH₂Cl); 6,96-7,31 м (4H, ароматические H).

2-(4-Метилфенокси)этоксиметилхлорид (6) получают аналогично, выход 90 %. Спектр ЯМР ¹H (CCl₄), δ, м.д., J (Гц): 2,11 с (3H, 4-CH₃); 3,72 т (2H, J=7, CH₂O); 4,10 т (2H, J=7, CH₂OAr); 5,51 с (2H, CH₂Cl); 6,66–6,98 м (4H, ароматические H).

1-[[2-(4-Хлорфенокси)этокси]метил]урацил (7). К раствору 2,75 г (10.72 ммоль) 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина в 30 мл безводного метиленхлорида добавляют раствор 2,4 г (10.86 ммоль) хлорэфира 5 в 20 мл метиленхлорида и перемешивают при комнатной температуре в течение суток. Добавляют 10 мл 95 %-ного этанола, перемешивают 30 мин, фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме досуха. Полученный твердый остаток наносят на колонку с силикагелем (2×35 см) и элюируют смесью хлороформ-метанол (10 : 1). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяют и упаривают в вакууме, полученный продукт перекристаллизовывают из этилацетата и получают 1,9 г (60 %) 7 в виде белого мелкокристаллического вещества, Т. пл. 126–127°С, R_f 0.16 (этилацетат-хлороформ, 1 : 1). Масс-спектр, m/z: 296 [M]⁺.

Соединения 8–19 получают аналогично (табл. 1 и 2).

Исследование анти-ВИЧ-1 активности *in vitro*. CEM-SS-клетки суспендировались в культуральной среде в количестве 10⁵ клеток/мл и инфицировались ВИЧ-1 (штамм HTLV-III_B) при мультипликации инфекции 0,2. Немедленно после инфицирования вирусом вносились растворы, содержащие различные концентрации исследуемого вещества в ДМСО, и инкубировались в течение 4-х дней при 37°С. Число живых клеток устанавливалось на 4-й день инкубации при помощи 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромидом, при этом устанавливалась концентрация вещества, которая на 50 % защищала CEM-SS-клетки от цитопатического эффекта ВИЧ-1 (ИК₅₀).

Цитотоксичность тестируемых соединений проводилась параллельными экспериментами, при этом устанавливалась концентрация вещества, которая на 50 % уменьшала количество CEM-SS-клеток (TK₅₀). Расчетным путем определяли индекс селективности, являющийся отношением цитотоксической концентрации к ингибиторной концентрации: TK₅₀/ИК₅₀ [8].

Данные ЯМР ¹H спектров синтезированных соединений

Соединение	Химический сдвиг, м.д., мультиплетность (КССВ, Гц)
7	3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,08 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,14 с (2H, NCH ₂); 5,60 д (1H, J = 8, H-5); 6,92-7,32 м (4H, C ₆ H ₄); 7,66 д (1H, J = 8, H-6); 11,06 уш.с (1H, NH)
8	3,82 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,09 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,14 с (2H, NCH ₂); 6,91-7,32 м (4H, C ₆ H ₄); 8,20 с (1H, H-6); 11,64 уш.с (1H, NH)
9	1,78 с (3H, CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,08 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,12 с (2H, NCH ₂); 6,90-7,31 м (4H, C ₆ H ₄); 7,56 с (1H, H-6); 11,26 уш.с (1H, NH)
10	2,27 с (3H, 6-CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,09 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,30 с (2H, NCH ₂); 5,53 с (1H, H-5); 6,91-7,33 м (4H, C ₆ H ₄); 11,18 уш.с (1H, NH)
11	2,36 с (3H, CH ₃); 3,82 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,10 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,31 с (2H, NCH ₂); 6,90-7,32 м (4H, C ₆ H ₄); 11,49 уш.с (1H, NH)
12	1,81 с (3H, 5-CH ₃); 2,26 с (3H, 6-CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,09 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,32 с (2H, NCH ₂); 6,90-7,32 м (4H, C ₆ H ₄); 11,21 уш.с (1H, NH)
13	2,22 с (3H, CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,04 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,12 с (2H, NCH ₂); 5,58 д (1H, J = 8, H-5); 6,77 -7,05 м (4H, C ₆ H ₄); 7,68 с (1H, H-6); 11,14 уш.с (1H, NH)
14	2,21 с (3H, 4-CH ₃); 3,84 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,04 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,15 с (2H, NCH ₂); 6,78-7,09 м (4H, C ₆ H ₄); 8,25 с (1H, H-6); 11,76 уш.с (1H, 3-NH)
15	1,77 с (3H, 5-CH ₃); 2,22 с (3H, 4-CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,04 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,11 с (2H, NCH ₂); 6,78-7,07 м (4H, C ₆ H ₄); 7,54 с (1H, H-6); 11,22 уш.с (1H, 3-NH)
16	2,22 с (3H, 4-CH ₃); 2,28 с (3H, 6-CH ₃); 3,80 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,05 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,30 с (2H, NCH ₂); 5,52 с (1H, H-5); 6,80-7,06 м (4H, C ₆ H ₄); 11,15 уш.с (1H, 3-NH)
17	2,21 с (3H, CH ₃); 2,35 с (3H, 6-CH ₃); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,07 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,30 с (2H, NCH ₂); 6,81-7,07 м (4H, C ₆ H ₄); 11,29 уш.с (1H, NH)
18	1,82 с (3H, 5-CH ₃); 2,22 с (3H, 4-CH ₃); 2,28 с (3H, 6-CH ₃); 3,79 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 4,03 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,32 с (2H, NCH ₂); 6,75-7,06 м (4H, C ₆ H ₄); 11,21 уш.с (1H, 3-NH)
19	1,09 т (3H, J = 7, CH ₃); 2,34 с (3H, CH ₃); 2,50 с (3H, 6-CH ₃); 2,58 кв (2H, J = 7, CH ₂); 3,81 т (2H, J = 6, CH ₂ CH ₂ OAr); 3,94 т (2H, J = 6, CH ₂ OAr); 5,31 с (2H, NCH ₂); 6,80-7,05 м (4H, C ₆ H ₄); 11,27 уш.с (1H, NH)

Таблица 3

Анти-ВИЧ-1 активность синтезированных соединений *in vitro*

Соединение	Эффективная концентрация, ИК ₅₀ , мМ	Цитотоксическая концентрация, ТК ₅₀ , мМ	Индекс селективности, ТК ₅₀ / ИК ₅₀
7	23,7	> 100,0	> 4,2
8	> 100,0	48,2	–
9	50,9	> 100,0	> 2,0
10	> 100,0	> 100,0	–
11	> 100,0	96,3	–
12	7,2	31,1	4,3
13	16,1	> 100,0	> 6,2
14	69,1	> 100,0	> 1,5
15	> 100,0	> 100,0	–
16	> 100,0	> 100,0	–
17	76,8	> 100,0	> 1,3
18	7,8	60,0	7,7
19	> 100,0	19,8	–

Примечание. ЕС₅₀ – эффективная концентрация, обеспечивающая защиту клеток от цитопатического эффекта вируса на 50%; ТС₅₀ – цитотоксическая концентрация, уменьшающая выживаемость неинфицированных клеток на 50%

Novikov M.S., Ozerov A.A., Orlova Yu.A., Buckheit R.W. Synthesis and anti-HIV-1 effect of 1-[[2-(phenoxy)ethoxy]methyl] derivatives of uracil // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 2(14). – P. 19–22.

Antiviral activity of new synthesized compounds was studied *in vitro* using CEM-SS culture. 1-[[2-(4-chlorophenoxy)ethoxy]methyl] and 1-[[2-(4-methylphenoxy)ethoxy]methyl] derivatives of 5-bromo-6-methyluracil demonstrate maximum inhibitory on HIV-1 virus comparing with the other ones.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новиков М.С., Озеров А.А., Брель А.К. и др. // ХГС. – 1996. – С. 380–385.
2. Barre-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., et al. // Science. – 1983. – Vol. 220. – P. 868-871.
3. Gallo R.S., Salahuddin S.Z., Popovic M., et al. // Science. – 1984. – Vol. 224. – P. 500–503.
4. De Clercq E. // J. Clin. Virol. – 2002. – Vol. 22. – P. 73–89.
5. Ren J., Esnouf R., Garman E., et al. // Struct. Biol. – 1995. Vol. 2. – P. 293–302.
6. Ding J., Das K., Tantillo C., et al. // Structure. – 1995. – Vol. 3. – P. 365–379.
7. Hopkins A.L., Ren J., Esnouf R., et al. // J. Med. Chem. – 1996. – Vol. 39. – P. 1589–1600.
8. Buckheit R.W., White E.L., Fliakas-Boltz V., et al. // Antimicrob Agents Chemother. – 1999. – Vol. 43. – 1827–1834.