

© Коллектив авторов, 2013

М. П. Парамонова<sup>1</sup>, Д. А. Бабков<sup>1</sup>, В. Т. Валуев-Эллистон<sup>2</sup>, А. В. Иванов<sup>2</sup>,  
С. Н. Кочетков<sup>2</sup>, К. Паннекук<sup>3</sup>, А. А. Озеров<sup>1</sup>, Я. Бальзарини<sup>3</sup>, М. С. Новиков<sup>1</sup>

## СИНТЕЗ И АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬ 1-[ω-(ФЕНОКСИ)АЛКИЛ- И -АЛКЕНИЛ]ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА

<sup>1</sup> Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия;

<sup>3</sup> Rega Институт, Левен (Бельгия).

С целью поиска новых нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ-1 путем конденсации эквимольных количеств 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина и 1-галоген-ω-(фенокси)алкана или -алкена осуществлен синтез 1-[ω-(фенокси)алкил- и -алкенил]производных урацила. Изучена их анти-ВИЧ-1 активность в культуре СЕМ-клеток, а также в отношении обратной транскриптазы ВИЧ-1. Найдено, что некоторые соединения проявляют заметную активность.

**Ключевые слова:** синтез; анти-ВИЧ-1 активность; 1-[ω-(фенокси)алкил- и -алкенил]производные урацила.

Начиная с 1995 г., в качестве основы долговременного лечения инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), применяется комбинация препаратов, получившая название высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) [1]. В настоящее время известно порядка 50 структурно разнородных классов новых нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (ННИОТ) ВИЧ. Для многих из них характерно наличие в молекуле 3 ароматических колец (типичным примером служит этравирин, одобренный для клинического применения в 2008 г.) [2]. Конформация связывания с обратной транскриптазой (ОТ) ВИЧ для соединений этого типа описывается “моделью бабочки” (“butterfly-like model”).

Наряду с этим известно несколько классов ННИОТ, содержащих лишь 2 ароматических кольца, соединенных линкерным фрагментом (например, НИ-238 и R100943) [3], причем все они продемонстрировали противовирусную активность в наномолярных концентрациях и имели улучшенные по сравнению с ННИОТ первого поколения профили активности в отношении клинически важных мутантных изолятов ВИЧ-1. В частности, в ходе оптимизации структуры этравирина было получено соединение R100943. Установлено, что благодаря большой гибкости молекула данного ингибитора способна к более тесному контакту с поверхностью сайта связывания, а активная конформация R100943 существенно отличается от описанной для этравирина и получила название “подковы” (“horseshoe”) [3]. Более того, в ходе исследования механизма связывания тиацетанилидных производных триазола и тетразола (см. рис. 1) с ОТ ВИЧ-1 установлено, что наличие среднего кольца не является обязательным для проявления вирус-ингибиторных

свойств — оно может быть заменено простым Z-алкенильным фрагментом [4]. Примечательно, что ароматические радикалы всех приведенных здесь 2-кольцевых ННИОТ взаимодействуют с однотипным набором аминокислотных остатков гидрофобного кармана ОТ. Наиболее важным представляется связывание с высококонсервативными остатками Phe227 и Trp229. Рассмотрение структур высокоактивных ННИОТ нового поколения со всей очевидностью показывает, что реализации данного вида взаимодействий значительно способствует наличие небольших гидрофобных заместителей в *meta*-положениях одного из терминальных ароматических колец [2].

Таким образом, согласно современным представлениям, молекула ННИОТ должна обладать высокой конформационной лабильностью, которая обеспечива-

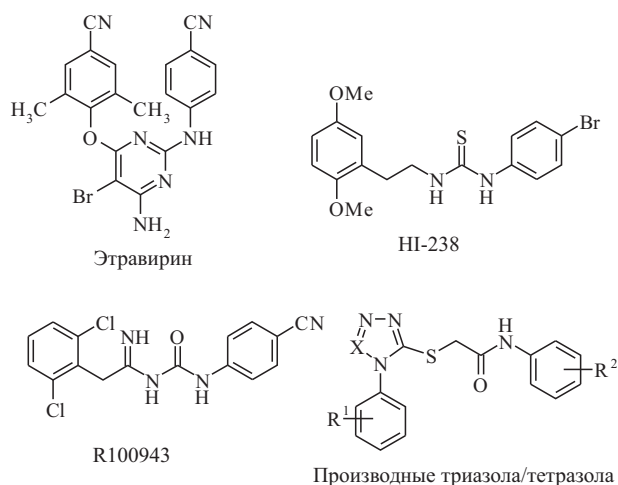


Рис. 1. Ненуклеозидные ингибиторы ОТ ВИЧ-1.

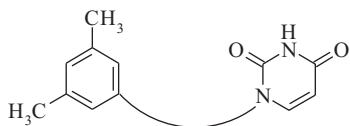
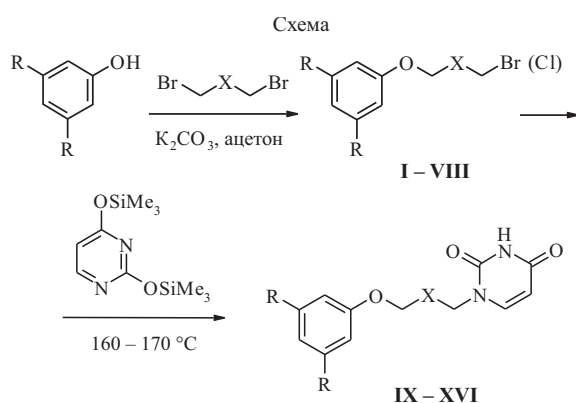


Рис. 2. Структурные особенности урацилсодержащих ННИОТ.

ет ей способность к реориентации и репозиционированию внутри гидрофобного кармана ОТ в случае замены аминокислотных остатков в результате мутаций [2]. Структуры, содержащие 2  $\pi$ -электронные системы, разделенные гибким линкерным участком, как это представлено на рис. 2, вполне отвечают таким требованиям. Основываясь на данной концепции, был синтезирован ряд потенциальных противовирусных агентов, основу структуры которых составляют 2 ароматических кольца, соединенных кислородсодержащим ациклическим фрагментом. В качестве одной из ароматических систем выбран урацил как удобная основа для осуществления молекулярного конструирования. В качестве второй системы использовалось бензольное ядро, несущее метильные заместители в *мета*-положении, что по нашим соображениям могло усилить связывание данных производных с ферментом.

Синтез целевых соединений производных урацила, содержащих в положении 1 различные  $\omega$ -(фенокси)алкильные и -алкенильные фрагменты, осуществлен в 2 стадии, как это представлено на схеме.



Исходные 1-бром-3-(3,5-диметилфенокси)пропан (**I**, R=CH<sub>3</sub>, X=CH<sub>2</sub>), 1-бром-4-(фенокси)бутан (**II**, R=H, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1-бром-4-(3,5-диметилфенокси)бутан (**III**, R=CH<sub>3</sub>, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>), 1-бром-5-(фенокси)пентан (**IV**, R=H, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>), 1-бром-5-(3,5-диметилфенокси)пентан (**V**, R=CH<sub>3</sub>, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>), 1-бром-6-(3,5-диметилфенокси)гексан (**VI**, R=CH<sub>3</sub>, X=(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>), а также изомерные (*E*)-1-хлор-4-(3,5-диметилфенокси)- (**VII**, R=CH<sub>3</sub>, X=(*E*)-HC=CH) и (*Z*)-1-хлор-4-(3,5-диметилфенокси)бут-2-ен (**VIII**, R=CH<sub>3</sub>, X=(*Z*)-HC=CH) получены путем обработки фенола или 3,5-диметилфенола 4-кратным мольным избытком  $\alpha,\omega$ -дибромалкана, (*E*)- или (*Z*)-1,4-дихлоробут-2-ена в кипящем ацетоне в присутствии 1,5-мольного избытка свежепрокаленного K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> в соответствии с известными методами [5, 6]. При этом выход соединений **I – VIII** составил 54 – 79 %. Последующая конденсация эквимольных количеств бромидов **I – VI** и 2,4-бис(триметилсили-

локси)пиримидина при 160 – 170 °С в течение 1,5 ч без доступа влаги воздуха в соответствии с методами [7, 8] привела к целевым 1-[ $\omega$ -(фенокси)алкил]производным урацила **IX – XIV**, выход которых составил 71 – 83 %. При конденсации 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина с хлоридами **VII** и **VIII** в аналогичных условиях выход целевых (*E*)- (**XV**) и (*Z*)-1-[4-(3,5-диметилфенокси)бут-2-ен-1-ил]производных урацила (**XVI**) был существенно ниже и находился в пределах 50 – 54 %, что объясняется склонностью ненасыщенной двойной C=C-связи к участию в побочных процессах в условиях реакции.

Чистоту полученных соединений определяли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ), строение — <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопией. Физико-химические свойства представлены в табл. 1.

### Экспериментальная химическая часть

Спектры ЯМР <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C регистрировали на спектрометре “Bruker Avance 400” (400 МГц для <sup>1</sup>H и 100 МГц для <sup>13</sup>C) в CCl<sub>4</sub> и DMSO-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт — тетраметилсилан. ТСХ выполняли на пластинках “Merck TLS Silica gel 60 F<sub>254</sub>” (Германия), используя в качестве элюента этилацетат. Для препаративной колоночной хроматографии использовали Kieselgel 60 – 200  $\mu$ m, 60 A (Acros Organics). В качестве элюента использовали смесь хлороформ — метанол (10:1). Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе “Mel-Temp3.0” (Laboratory Devices Inc., США).

**1-Бром- $\omega$ -(фенокси)алканы (I – VI) и 1-хлор-4-(фенокси)бут-2-ены (VII, VIII). Общая методика.** Суспензию 0,159 моль фенола или 3,5-диметилфенола, 33,0 г (0,239 моль) безводного карбоната калия и 0,658 моль  $\alpha,\omega$ -дибромалкана или 1,4-дихлорбут-2-ена в 200 мл ацетона кипятят в течение 24 ч. Осадок отфильтровывают, промывают на фильтре небольшим количеством ацетона, фильтрат упаривают при пониженном давлении, остаток растворяют в 200 мл хлороформа и промывают последовательно 2 % водным раствором NaOH (100 мл  $\times$  2) и водой (100 мл). Органический слой сушат Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтруют, упаривают при пониженном давлении и остаток перегоняют в вакууме масляного насоса.

**1-[ $\omega$ -(Фенокси)алкил]- (IX – XIV) и 1-[4-(3,5-диметилфенокси)бут-2-ен-1-ил]производных урацила (XV, XVI). Общая методика.** К 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидину, полученному кипячением 1,5 г (13,38 ммоль) урацила в избытке ГМДС, прибавляют эквимольное количество бромидов (**I – VI**) или хлорида (**VII, VIII**) и нагревают с защитой от влаги воздуха при 160 – 170 °С в течение 1 ч. Затем реакционную массу обрабатывают 40 мл этилацетата и 10 мл 2-пропанола. Через 30 мин полученную смесь упаривают в вакууме досуха, остаток растворяют в 10 мл хлороформа и продукты разделяют колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя смесью хлороформ — метанол (10:1), фракции, содержащие продукт, объе-

диняют, упаривают в вакууме и остаток перекристаллизовывают из смеси 2-пропанол — ДМФА.

**1-[3-(3,5-Диметилфенокси)пропил]урацил (IX).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,95 (т, 2H, J 6,3, CH<sub>2</sub>); 2,15 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 3,77 (т, 2H, J 6,0, NCH<sub>2</sub>); 3,87 (т, 2H, J 5,7, OCH<sub>2</sub>); 5,48 (д, 1H, J 7,5, H-5); 6,44 (с, 2H, H-2', H-6'); 6,50 (с, 1H, H-4'); 7,55 (д, 1H, J 8,1, H-6); 11,20 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР-спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,1, 28,0, 45,4, 64,6, 100,9, 112,2, 122,3, 138,6, 145,8, 151,0, 158,4, 163,9.

**1-[4-(Фенокси)бутил]урацил (X).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,64 (с, 4H, CH<sub>2</sub>); 3,67 (т, 2H, J 6,2, NCH<sub>2</sub>); 3,88 (т, 2H, J 6,2, OCH<sub>2</sub>); 5,51 (дд, 1H, J 7,8 и 2,1, H-5); 6,89 – 6,91 (м, 3H, ароматический H); 7,21 (т, 2H, J 8, H-3', H-5'); 7,62 (д, 1H, J 7,5, H-6); 11,24 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 25,3, 25,7, 47,3, 66,8, 100,9, 114,4, 120,5, 129,5, 145,7, 151,0, 158,6, 163,8.

**1-[4-(3,5-Диметилфенокси)бутил]урацил (XI).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,63 (с, 4H, CH<sub>2</sub>); 2,15 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 3,66 (т, 2H, J 6,2, NCH<sub>2</sub>); 3,86 (т, 2H, J 6,2, OCH<sub>2</sub>); 5,50 (дд, 1H, J 7,8 и 2,1, H-5); 6,46 (с, 2H, H-2', H-6'); 6,49 (с, 1H, H-4'); 7,61 (д, 1H, J 7,5, H-6); 11,20 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,1, 25,3, 25,7, 47,2, 66,7, 100,9, 112,2, 122,1, 138,6, 145,7, 151,0, 158,6, 163,8.

**1-[5-(Фенокси)пентил]урацил (XII).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,39 (к, 2H, J 5,3, CH<sub>2</sub>); 1,63 (к, 2H, J 7,2, CH<sub>2</sub>); 1,72 (к, 2H, J 7,2, CH<sub>2</sub>); 3,67 (т, 2H, J 7,2, NCH<sub>2</sub>); 3,93 (т, 2H, J 6,5, OCH<sub>2</sub>); 5,55 (дд, 1H, J 7,7, и 2,1 H-5); 6,89 – 6,92 (м, 3H, ароматический H); 7,26 (т, 2H, J 8, H-3', H-5'); 7,64 (д, 1H, J 7,8, H-6); 11,25 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 22,9, 28,6, 28,7, 47,8, 67,5, 101,2, 114,8, 120,8, 129,9, 146,2, 151,4, 159,0, 164,3.

**1-[5-(3,5-Диметилфенокси)пентил]урацил (XIII).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,37 (к, 2H, J 6,8, CH<sub>2</sub>); 1,62 (к, 2H, J 7,2, CH<sub>2</sub>); 1,67 (к, 2H, J 7,2, CH<sub>2</sub>); 2,21 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 3,66 (т, 2H, J 7,1, NCH<sub>2</sub>); 3,88 (т, 2H, J 6,4, OCH<sub>2</sub>); 5,55 (дд, 1H, J 7,9 и 2,2, H-5); 6,51 (с, 2H, H-2', H-6'); 6,53 (с, 1H, H-4'); 7,64 (д, 1H, J 7,8, H-6); 11,25 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,1, 22,5, 28,2, 28,4, 47,4, 66,9, 100,8, 112,1, 122,0, 138,6, 145,7, 151,0, 158,7, 163,8.

**1-[6-(3,5-Диметилфенокси)гексил]урацил (XIV).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 1,23 (м, 2H, J 6,6, CH<sub>2</sub>); 1,36 (м, 2H, J 6,9, CH<sub>2</sub>); 1,53 (м, 2H, J 7,3, CH<sub>2</sub>); 1,62 (м, 2H, J 5,4, CH<sub>2</sub>); 2,15 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 3,59 (т, 2H, J 7,4, NCH<sub>2</sub>); 3,83 (т, 2H, J 6,5, OCH<sub>2</sub>); 5,47 (дд, 1H, J 8,0 и 1,8, H-5); 6,46 (с, 2H, H-2', H-6'); 6,48 (с, 1H, H-4'); 7,59 (д, 1H, J 8,1, H-6); 11,17 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,1, 25,2, 25,6, 28,4, 28,6, 47,4, 67,0, 100,8, 112,1, 122,0, 138,5, 145,7, 151,0, 158,7, 163,8.

**(E)-1-[4-(3,5-Диметилфенокси)бутен]урацил (XV).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (CDCl<sub>3</sub>), δ, м.д., J (Гц): 2,27 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 4,38 (дд, 2H, J 5,6 и 0,8, CH<sub>2</sub>); 4,51 (дд, 2H, J 4,7 и 1,2, CH<sub>2</sub>); 5,71 (д, 1H, J 7,9, H-5); 5,84 – 5,98 (м, 2H, HC=CH); 6,52 (с, 2H, H-2', H-6'); 6,61 (с, 1H, H-4');

7,13 (д, 1H, J 7,9, H-6); 9,45 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,1, 48,1, 66,8, 101,3, 112,3, 122,3, 127,3, 129,1, 138,6, 145,3, 150,8, 158,2, 163,8.

**(Z)-1-[4-(3,5-Диметилфенокси)бутен]урацил (XVI).** <sup>1</sup>H ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д., J (Гц): 2,22 (с, 6H, CH<sub>3</sub>); 4,41 (д, 2H, J 6,8, CH<sub>2</sub>); 4,70 (д, 2H, J 5,8, CH<sub>2</sub>); 5,59 (дд, 1H, J 7,8 и 2,1, H-5); 5,63 (дт, 1H, J 11,0 и 5,7, CH); 5,83 (дт, 1H, J 11,1 и 5,3, CH); 6,57 (с, 3H, H-2', H-4', H-6'); 7,62 (д, 1H, J 7,8, H-6); 11,31 (с, 1H, NH). <sup>13</sup>C ЯМР спектр (ДМСО-d<sub>6</sub>), δ, м.д.: 21,5, 45,1, 63,8, 101,7, 112,8, 122,8, 127,6, 130,0, 145,7, 151,3, 158,6, 164,2.

#### Экспериментальная биологическая часть

В работе использовались следующие материалы: [ $\alpha$ -<sup>32</sup>P]dATP (5000 Ки/моль) фирмы “Изотоп” (Россия), 2'-дезоксирибонуклеозид-5'-трифосфаты (“Promega”, США), целлюлозные фильтры Whatman 3MM (“Whatman”, Великобритания). Все остальные реактивы максимальной чистоты приобретены у компаний Sigma-Aldrich или Fluka. Активированная ДНК получена из ДНК спермы лосося (“Pharmacia Biotech”, США) обработкой ДНКазой поджелудочной железы быка (“Fermentas”, Литва), как описано в работе [9]. Обратная транскриптаза ВИЧ-1 экспрессирована в клетках *E.coli* и выделена, как описано ранее [10].

Клетки эукариот культивировали во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO<sub>2</sub>, в среде DMEM (клетки HeLa) или RPMI (клетки СЕМ или L1210), содержащей 10 % (v/v) эмбриональной сыворотки телят, 2 мМ L-глутамина, 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина.

Методология анти-ВИЧ исследований была следующей: клетки СЕМ пересевали на 96-луночный культуральный планшет (~ 3 · 10<sup>5</sup> клеток/мл, 0,1 мл/яч), инфицировали ВИЧ-1, штамм III<sub>B</sub>, (100 CCID<sub>50</sub>/мл и прибавляли растворы исследуемых соединений в культуральной среде (0,1 мл/яч) в необходимых разведениях. После 4 дней инкубации при температуре 37 °С под микроскопом устанавливалось образование ВИЧ-индуцированных гигантских СЕМ-клеток.

Для определения цитотоксичности испытуемые соединения растворяли в ДМСО в концентрации 50 мМ,

Таблица 1

#### Свойства синтезированных соединений

Соединение	R	X	Выход, %	Т. пл., °С	R <sub>f</sub> <sup>*</sup>
IX	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub>	71	89,5 – 91	0,49
X	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	74	136 – 137	0,42
XI	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	71	151 – 152	0,43
XII	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	83	151 – 152,5	0,53
XIII	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	80	96 – 98	0,58
XIV	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	76	130 – 131,5	0,54
XV	CH <sub>3</sub>	(E)-CH=CH	54	124 – 126	0,65
XVI	CH <sub>3</sub>	(Z)-CH=CH	50	99,5 – 101	0,59

\* Элюент — этилацетат.



затем аликвоты прибавляли к неинфицированным клеткам СЕМ, L1201 или HeLa в культуральную среду до достижения концентрации ДМСО. После 4 дней инкубации при температуре 37 °С количество жизнеспособных клеток определяли с помощью реагента 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромид (МТТ) по стандартной методике [11].

**Определение активности ОТ ВИЧ-1 в системе активированной ДНК.** Стандартная реакционная смесь (20 мкл) содержала 150 мкг/мл активированной ДНК, 0,05 мкг ОТ ВИЧ-1, 3 мкМ АТР, по 30 мкМ остальных нуклеозид-5'-трифосфатов, 0,02 МБк [ $\alpha$ - $^{32}$ P]дАТР в буфере для измерения активности ОТ ВИЧ-1 (50 мМ Трис · HCl, pH 8,1, 10 мМ MgCl<sub>2</sub> и 200 мМ KCl). В экспериментах по исследованию ингибиторных свойств соединения вносили в реакционную смесь в виде растворов в диметилсульфоксиде до конечной концентрации последнего, равной 10 %, при этом к контрольным реакциям прибавляли аналогичный объем чистого ДМСО. Реакцию инициировали прибавлением обратной транскриптазы и инкубировали в течение 20 мин при 37 °С, затем наносили пробы на фильтры (1 × 1 см) Whatman 3ММ, пропитанные 1 мкл 0,5 М раствора ЭДТА. Фильтры отмывали от не включившегося в ДНК меченого нуклеотида 5 × 25 мл 10 % трихлоруксусной кислоты в течение 5 мин каждый, 25 мл этилового спирта и сушили на воздухе. Сорбированную на фильтрах радиоактивность измеряли по методу Черенкова в счетчике Intertechneque Liquid Scintillation Counter SL-4000. Расчет констант ингибирования проводили по методу Диксона [12].

### Результаты и их обсуждение

Свойства целевых соединений IX – XVI исследованы путем определения ингибиторной активности веществ (константа ингибирования, K<sub>i</sub>) в отношении ОТ ВИЧ-1 и их противовирусной активности (ингибирующая концентрация, ИК<sub>50</sub>) в культуре инфицированных СЕМ-клеток (табл. 2).

Таблица 2  
Анти-ВИЧ-1-активность 1-[ω-(феноксил)алкил- и -алкенил]производных урацила

Соединение	R	X	K <sub>i</sub> , мкМ <sup>a</sup>	ИК <sub>50</sub> , мкМ <sup>b</sup>
IX	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub>	> 100	> 250
X	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	-	> 250
XI	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	> 100	40 ± 1,1
XII	H	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	> 100	> 430
XIII	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub>	63 ±	24,4 ± 0,5
XIV	CH <sub>3</sub>	(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub>	87,5 ± 1,2	31 ± 0,6
XV	CH <sub>3</sub>	(E)-CH=CH	> 100	37 ± 0,7
XVI	CH <sub>3</sub>	(Z)-CH=CH	> 100	> 220,7
Невирапин			0,86 ± 0,08	0,075 ± 0,004

<sup>a</sup> – Константа ингибирования – концентрация неконкурентного ингибитора обратной транскриптазы, при которой наблюдается подавление активности фермента на 50 %;

<sup>b</sup> – Ингибирующая концентрация – концентрация вещества, обеспечивающая подавление репликации вируса на 50 %.

Соединения, содержащие незамещенное бензольное ядро (X, XII), оказались неактивными. Также не проявили анти-ВИЧ-активности соединения IX, обладающее самым коротким линкером, содержащим 3 CH<sub>2</sub>-группы и соединение XVI, по всей видимости, в силу существенных конформационных отличий от остальных соединений серии, что обусловлено Z-конфигурацией двойной связи, входящей в состав мостика.

Анализ активности соединений XI, XIII, XIV, XV показывает, что оптимальным строением мостика, связывающем фенильный цикл и пиримидиновое основание, являются 6 элементов — 1 атом кислорода и 5 метиленовых групп. Отмечается некоторое увеличение активности при введении в линкерный фрагмент двойной связи в *транс*-конфигурации (соединение XV против XI), что однако не позволяет сделать однозначные выводы о роли участка с повышенной электронной плотностью в данном фрагменте молекулы.

Исследования по определению константы ингибирования ОТ ВИЧ-1 показали, что из всех соединений слабую активность проявили лишь XIII и XIV.

Оценку цитотоксичности проводили в культурах лимфоидных клеток СЕМ и L1210, а также линии HeLa (аденокарцинома яичников). Результаты представлены в табл. 3. В целом проявленный уровень активности оказался достаточно низким, за исключением соединения XV, продемонстрировавшего ЦТД<sub>50</sub> 23 мкМ на культуре клеток HeLa.

Таким образом, нами описаны 1-[ω-(феноксил)алкил- и -алкенил]производные урацила в качестве новых анти-ВИЧ-1-агентов. Необходимыми условиями проявления вирус-ингибиторных свойств в соединениях данного ряда являются наличие *мета*-заместителей в бензольном ядре и 5 – 7-атомной цепочки, разделяющей ароматические циклы (с оптимумом 6 атомов). Дальнейшая модификация структуры с целью увеличения антиретровирусной активности должна быть сосредоточена на специализации линкерного фрагмента к аминокислотному окружению кармана связывания ОТ ВИЧ и определению взаимосвязи структура — активность для пиримидинового крыла молекулы.

Таблица 3  
Цитостатическая активность 1-[ω-(феноксил)алкил- и -алкенил]производных урацила

Соединение	ЦТД <sub>50</sub> , мкМ <sup>a</sup>		
	L1210	СЕМ	HeLa
IX	176 ± 21	198 ± 74	228 ± 30
X	> 250	> 250	132 ± 11
XI	> 250	> 250	144 ± 11
XII	> 250	> 250	≥ 250
XIII	124 ± 2	178 ± 57	187 ± 72
XIV	> 250	> 250	> 250
XV	178 ± 27	162 ± 24	161 ± 10
XVI	146 ± 38	156 ± 31	23 ± 3

<sup>a</sup> Цитотоксическая доза — концентрация вещества, при которой наблюдается подавление роста 50 % клеток.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 13-04-01391), Государственного контракта №16.512.11.2192 и Программы Президиума РАН “Молекулярная и клеточная биология”. Противовирусные исследования поддержаны KU Leuven (GOA 10/14).

## ЛИТЕРАТУРА

1. E. De Clercq, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **6**, 1001 – 1018 (2007).
2. G. Regina, A. Coluccia, R. Silvestri, *Antivir. Chem. Chemoter.*, **20**, 213 – 237 (2010).
3. D. W. Ludowici, M. J. Kukla, P. G. Grous, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **11**, 2225 – 2228 (2001).
4. A. Gagnon, S. Landry, R. Coulombe, et al., *Bioorg. Med. Chem. Let.*, **19**, 1199 – 1205 (2009).
5. R. A. Dodean, J. X. Kelly, D. Peyton, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 1174 – 1183 (2008).
6. A. Kamal, P. S. M. Reddy, D. R. Reddy, E. Laxman, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 385 – 394 (2006).
7. M. S. Novikov, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **19**, 5794 – 5802 (2011).
8. M. S. Novikov, A. A. Ozerov, *Chem. Heterocycl. Comp.*, **41**, 905 – 908 (2005).
9. E. Baril, J. Mitchener, L. Lee, B. Baril, *Nucl. Acid Res.*, **4**(8), 2641 – 2654 (1977).
10. В. О. Речинский, С. Ф. Барбашов, И. Л. Дегтярев и др., *Молекул. биол.*, **25**(5), 1248 – 1257 (1991).
11. T. Mosmann, *J. Immunological Methods*, **65**, 55 – 63 (1983).
12. M. Dixon, *Biochem. J.*, **55**(1), 170 – 171 (1953).

Поступила 04.06.12

## SYNTHESIS AND ANTI-HIV-1 ACTIVITY OF 1-[ $\omega$ -(PHENOXY)ALKYL AND -ALKENYL]URACIL DERIVATIVES

M. P. Paramonova<sup>1</sup>, D. A. Babkov<sup>1</sup>, V. T. Valuev-Elliston<sup>2</sup>, A. V. Ivanov<sup>2</sup>, S. N. Kochetkov<sup>2</sup>, C. Pannecouque<sup>3</sup>, A. A. Ozerov<sup>1</sup>, J. Balzarini<sup>3</sup>, and M. S. Novikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Volgograd State Medical University, Volgograd, 400131 Russia;

<sup>2</sup> Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia;

<sup>3</sup> Rega Institute for Medical Research, B-3000 Leuven, Belgium

In search for new non-nucleoside inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase, we have synthesized 1-[ $\omega$ -(phenoxy)alkyl and -alkenyl]uracil derivatives by condensation of equimolar amounts of 2,4-bis(trimethylsilyloxy)pyrimidine and 1-halogen- $\omega$ -(phenoxy)alkane or -alkene. The synthesized compounds were studied for anti-HIV-1 activity in CEM cell culture and for inhibition of HIV-1 reverse transcriptase activity. It was found that some compounds exhibited appreciable antiviral activity.

**Keywords:** synthesis; anti-HIV-1 activity; 1-[ $\omega$ -(phenoxy)alkyl and -alkenyl]uracil derivatives