

## ОПТИМИЗАЦИЯ СТРУКТУРЫ МЕТИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1-(БЕНЗИЛОКСИМЕТИЛ)-5-(АРИЛАМИНО)-УРАЦИЛА, ОБЛАДАЮЩИХ АНТИ-ВИЧ-1 АКТИВНОСТЬЮ

А. А. Лобачев, А. А. Озеров, М. С. Новиков, А. И. Луганченко, Т. Хартман, Р. У. Букхайт

Волгоградский государственный медицинский университет,  
Научно-исследовательский институт фармакологии, ImQuestBioScience Inc. (США)

Триметилсилильной модификацией метода Гилберта-Джонсона синтезированы новые замещенные производные 1-(бензилоксиметил)-5-(ариламино)урацила. Обнаружено, что уровень анти-ВИЧ-1 активности метилированных 5-(бензиламино)производных зависит от положения метильной группы: 3,5-диметилбензиламинопроизводное оказалось значительно активнее, чем соответствующие  $\alpha$ - или N-метилированные изомеры.

*Ключевые слова:* противовирусная активность, ВИЧ-1, урацил, пиримидин.

## OPTIMIZATION OF THE STRUCTURE OF METHYLATED 1-(BENZYLOXYMETHYL)-5-(ARYLAMINO) URACIL DERIVATIVES WITH ANTI-HIV-1 ACTIVITY

A. A. Lobachev, A. A. Ozerov, M. S. Novikov, A. I. Luganchenko, T. Hartman, R. W. Buckheit

New substituted derivatives of 1-(benzyloxymethyl)-5-(arylamino)uracil were synthesized by trimethylsilyl modification of Gilbert-Johnson method. The level of anti-HIV-1 activity of methylated 5-(benzylamino) derivatives depends on the site of methylation: 3,5-dimethylbenzylamino derivatives were found to be more active than corresponding  $\alpha$ - or N-methylated isomers.

*Key words:* antiviral activity, HIV-1, uracil, pyrimidine.

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ-1, имеющие пиримидиновую природу, представляют собой перспективный класс лекарственных средств высокоинтенсивной антиретровирусной терапии. В последние годы среди этих веществ были выявлены новые N<sup>1</sup>-замещенные производные урацила, обладающие анти-ВИЧ-1 активностью *in vitro* в наномолярном диапазоне [3]. N<sup>1</sup>, C<sup>5</sup>-Дизамещенные производные пиримидиновых оснований, в том числе урацила, также представляют значительный интерес в качестве потенциальных антиретровирусных агентов. Ранее нами был осуществлен синтез производных 1-(бензилоксиметил)урацила, содержащих фрагменты ароматических и арилалифатических аминов в положении C<sup>5</sup> пиримидиновой системы, при этом производные 5-(фениламино)-, 5-(бензиламино)- и 5-(фенетиламино)урацила продемонстрировали способность подавлять цитопатический эффект ВИЧ-1 в культуре Т-лимфоцитов в микромолярных концентрациях [2]. Дальнейшая структурная модификация этих веществ может привести к усилению их противовирусной активности.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Осуществить синтез новых метилированных производных 1-(бензилоксиметил)-5-(фениламино)-, 5-(бензиламино)- и 5-(фенетиламино)урацила и исследовать их анти-ВИЧ-1 активность *in vitro*. На основании выявленных закономерностей структура-активность определить наиболее перспективные соединения для дальнейшей химической модификации с целью поиска новых потенциальных лекарственных веществ для лечения ВИЧ-1 инфекции.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Синтез новых соединений был осуществлен по описанной нами ранее схеме, включающей первоначальное аминирование 5-бром урацила ароматическими и арилалифатическими аминами и последующее N<sup>1</sup>-алкилирование триметилсилилпроизводных 5-(ариламино)урацилов высокореакционными  $\alpha$ -хлорэфирами по методу Гилберта-Джонсона [1].

Изучение противовирусной активности синтезированных соединений в отношении ВИЧ-1 *in vitro* проводили в культуре СЕМ-SS-клеток, которые суспендировали в питательной среде в количестве 10<sup>5</sup> клеток/мл и инфицировали ВИЧ-1 (штамм НТЛV-III<sub>B</sub>) при мультипликации инфекции, равной 0,2. Непосредственно сразу после инфицирования вносили растворы, содержащие различные концентрации исследуемых веществ в растворе ДМСО и инкубировали в течение 4 суток при температуре 37 °С. Число живых клеток устанавливали по окончании инкубации при помощи бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия, при этом расчетным путем определяли концентрацию вещества, которая на 50% защищала СЕМ-SS-клетки от цитопатического эффекта ВИЧ-1 (EC<sub>50</sub>). Цитотоксичность соединений изучали параллельно в неинфицированных культурах клеток, при этом определяли концентрацию вещества, которая на 50% уменьшала количество живых СЕМ-SS-клеток (CC<sub>50</sub>). Расчетным путем определяли индекс селективности, являющийся отношением цитотоксической концентрации к эффективной концентрации: SI = CC<sub>50</sub> / EC<sub>50</sub>.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате целенаправленного синтеза нами были получены новые производные 1-(бензилоксиметил)-5-(ариламино)урацила, содержащие дополнительные метильные группы во всех возможных положениях заместителей при N<sup>1</sup> и C<sup>5</sup> пириимидиновой системы: в ароматических ядрах, при экзоциклическом атоме азота, в ациклических цепях, связывающих фенольные радикалы с ядром урацила (рис.).

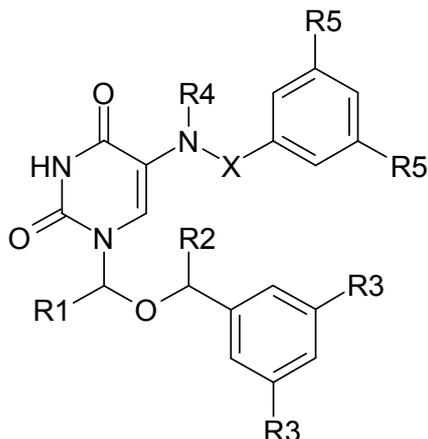


Рис. Общая структурная формула синтезированных соединений

Химическое строение полученных веществ было доказано методами ЯМР <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-спектроскопии, чистота и индивидуальность — хроматографическими методами. Выход и физико-химические свойства соединений представлены в табл. 1.

Таблица 1

### Свойства синтезированных соединений

Соединение	R1	R2	R3	R4	R5	X	Выход, %	Т. пл., °С
1	H	H	H	H	H	связь	64	156—158
2	H	H	H	H	H	CH <sub>2</sub>	68	173—175
3	H	H	H	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	64	91—94
4	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	связь	56	214—216
5	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>2</sub>	69	171—172
6	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	62	124—126
7	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	связь	57	147—150
8	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>2</sub>	60	122—125
9	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	56	170—172
10	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H	связь	65	147—150
11	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>2</sub>	64	137—139

### Окончание таблицы

Соединение	R1	R2	R3	R4	R5	X	Выход, %	Т. пл., °С
12	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	63	122—124
13	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>	связь	60	119—122
14	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub>	86	103—105
15	H	H	H	H	H	CH(CH <sub>3</sub> )	87	194—197
16	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	CH(CH <sub>3</sub> )	58	162—163
17	H	H	H	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub>	62	126—129
18	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub>	79	136—139

При изучении противовирусных свойств полученных веществ (табл. 2) было обнаружено, что введение дополнительных метильных групп в любые положения бензилоксиметильного заместителя при N<sup>1</sup> приводит к практическому исчезновению противовирусных свойств (соединения 4-12) по сравнению с исходными 1-(бензилоксиметил)производными 5-(фениламино)- (соединение 1), 5-(бензиламино)- (соединение 2) и 5-(фенетиламино) урацила (соединение 3). При этом в ряде случаев (соединения 9 и 10) подобная модификация приводит к существенному увеличению цитотоксичности. Исключение составляет соединение 6, представляющее собой разветвленный аналог 1-(бензилоксиметил)-5-(фенетиламино)урацила (соединение 3) с дополнительной метильной группой в  $\mu$ -положении, для которого противовирусная активность возрастает в 6 раз (EC<sub>50</sub> = 16,3 мМ) при отсутствии цитотоксических свойств (CC<sub>50</sub> > 100 мМ).

Таблица 2

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

Соединение	Эффективная концентрация, EC <sub>50</sub> , $\mu$ M	Цитотоксическая концентрация, CC <sub>50</sub> , $\mu$ M	Индекс селективности, SI
1	88,5	> 100	> 1,1
2	54,6	> 100	> 1,8
3	86,4	> 100	> 1,2
4	> 100	> 100	—
5	> 100	> 100	—
6	16,3	> 100	> 6,1
7	> 100	> 100	—
8	> 100	> 100	—
9	> 100	49,6	—
10	> 100	65,4	—
11	> 100	> 100	—
12	> 100	> 100	—
13	> 100	40,3	—
14	6,1	> 100	> 16,4
15	8,4	> 100	> 11,9
16	78,1	> 100	> 1,3
17	0,7	43,1	61,6
18	19,9	> 100	> 5,0

В противоположность этому, дополнительное метилирование различных положений ариламинового (особенно бензиламинового и фенетиламинового) заместителя при С<sup>5</sup> пиримидиновой системы (соединения **14-18**) приводит к усилению противовирусного действия в среднем на один порядок. Наиболее выраженными противовирусными свойствами обладает 1-(бензилоксиметил)-5-(3,5-диметилбензиламино)-урацил (соединение **17**), для которого эффективная концентрация составляет величину менее 1 микромоля ( $EC_{50} = 0,7 \mu M$ ). При этом следует иметь в виду, что метилирование экзоциклического атома азота (соединения **14**, **16** и **18**) также приводит к повышению противовирусной активности, в связи с чем представляет интерес дальнейший синтез производных 1-(бензилоксиметил)-5-(бензиламино)урацила, одновременно содержащих метильные (или алкильные) группы в этих положениях.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее перспективным направлением дальнейшей химической модификации 1-(бензилоксиметил)-5-(ариламино)урацила является алкилирование экзоцик-

лического атома азота и введение дополнительных заместителей в ароматическое ядро ариламинового фрагмента при С<sup>5</sup> пиримидиновой системы, что позволит получить новые производные урацила с прогнозируемой активностью в отношении ВИЧ-1 *in vitro* в наномольном диапазоне концентраций.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Новиков М. С., Озеров А. А., Тимофеева К. В., Солодунова Г. Н. // Современные проблемы науки и образования. — 2008. — Вып. 1. — С. 29—30.
2. Озеров А. А., Новиков М. С., Гнатюк В. П. и др. // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. — 2004. — Вып. 1. — С. 26—28.
3. Novikov M. S., Ivanova O. N., Ivanov A. V., et al. // Bioorg. Med. Chem. — 2011. — Vol. 19. — P. 5794—5902.

## Контактная информация

**Озеров Александр Александрович** — д. х. н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической и токсикологической химии Волгоградского государственного медицинского университета, e-mail: prof\_ozarov@yahoo.com

УДК 57:616.89-085.272.4-092.4

## ВЛИЯНИЕ ЭНОКСИФОЛА НА ПОВЕДЕНЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС-САМЦОВ

**М. В. Букатин, Л. И. Бугаева, Е. А. Кузубова, А. А. Спасов**

*Волгоградский государственный медицинский университет,  
Научно-исследовательский институт фармакологии, кафедра фармакологии, кафедра биологии*

Установлены дозозависимые эффекты эноксифола на поведенческие и половые мотивации самцов. В дозе 5 мг/кг эноксифол способствует угнетению поисковой активности и рецептивности самцов, но повышению груминга и процептивности. В дозе 60 мг/кг эноксифол повышает поисковую активность и рецептивность, а также груминг и процептивность.

*Ключевые слова:* эноксифол, тест «открытое поле», половое поведение, крысы-самцы.

## ENOXIFOL EFFECT IN MALE RATS BEHAVIOR

**M. V. Bukatin, L. I. Bugaeva, E. A. Kuzubova, A. A. Spasov**

The authors established a dose-dependent effect of enoxifol on behavioral and sex motivation of male rats. At a dose of 5 mg/kg enoxifol promotes a suppression of search activity and receptiveness in males while increasing grooming and proceptivity. At a dose of 60 mg/kg enoxifol increases search activity and receptiveness as well as grooming and proceptivity.

*Key words:* enoxifol, «open field» test, sexual behavior, male rats.

Эноксифол — новое производное N<sub>9</sub>-имидазо-[1,2-α]-бензимидазола, у которого обнаружено наличие антиоксидантной активности [4], низкой токсичности и широкого диапазона безопасного действия [6].

## ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Учитывая актуальность оценки влияния фармакологических средств на сферу поведенческих реакций, в том числе и сексуальные мотивации, сочли целесообразным исследовать таковые у эноксифола при вве-

дении крысам-самцам в дозах диапазона безопасного действия 5 и 60 мг/кг.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 60 белых лабораторных крысах-самцах и 60 крысах-самках, массой 190—220 г, 4-месячного возраста, полученных из питомника ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора». При содержании животных и проведении на них экспериментов