

© Коллектив авторов, 2016

П. А. Никитина^{*1}, И. И. Ткач¹, Е. С. Княжанская², М. Б. Готтих²,
В. П. Перевалов¹

СИНТЕЗ И СПОСОБНОСТЬ ИНГИБИРОВАТЬ ИНТЕГРАЗУ ВИЧ-1 2-(7-(ФТОРБЕНЗИЛОКСИ)-4-ОКСО-4Н-ХРОМЕН-3-ИЛ)-1- ГИДРОКСИИМИДАЗОЛ

¹ Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Россия, 125047, Москва, Миусская пл., 9; e-mail: polinandrevna@yandex.ru

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Научно-исследовательский институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского и химический факультет, Россия, 119991, Москва

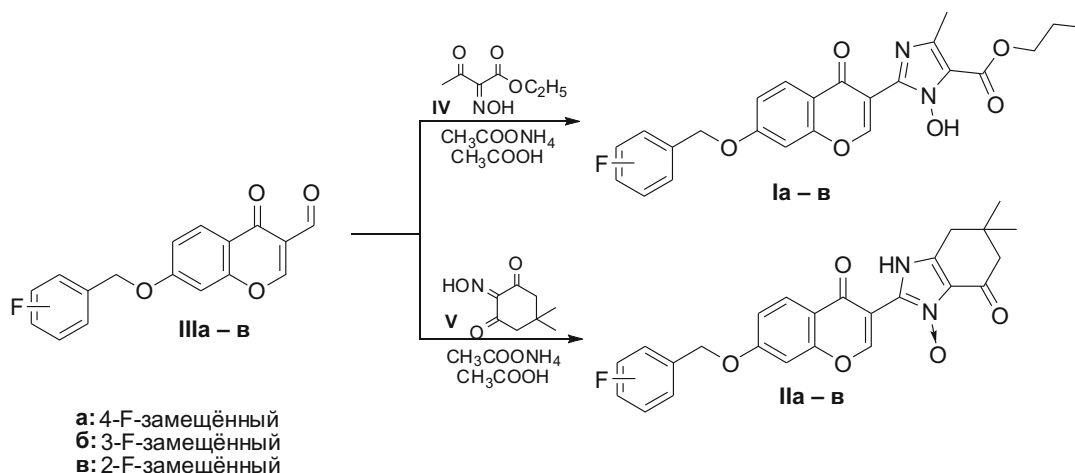
В качестве потенциальных ингибиторов интегразы ВИЧ-1 синтезировано и охарактеризовано 6 новых производных 2-(7-(фторбензилокси)-4-оксо-4Н-хромен-3-ил)-1-гидроксиимидазола. Обсуждены особенности прототропной таутомерии полученных 1-гидроксиимидазолов. Изучена их способность ингибировать каталитическую активность интегразы в реакциях 3'-концевого процессинга и переноса цепи. Показано, что данные соединения не проявляют заметной ингибирующей активности.

Ключевые слова: 1-гидроксиимидазолы; прототропная таутомерия; ВИЧ-1; интеграса; ингибиторы.

1-Гидроксиимидазолы не только являются ценными промежуточными продуктами для синтеза более сложных структур с заданными свойствами [1], но и сами обладают различными видами биологической активности. Так, в самом начале активного изучения этого класса соединений проведён обширный скрининг ряда производных 1-гидроксиимидазолов на выявление возможности их применения в качестве пестицидов [2]. К более позднему времени относятся исследования производных глутаминовой кислоты, содержащих 1-гидроксиимидазольный фрагмент, в качестве потенциальных гипотензивных средств [3], а также исследование 5-бензоилзамещённых 1-гидроксиимидазолов как гербицидных препаратов [4]. Сведения о биологически активных 1-гидроксиимидазолах встречаются и в патентной литературе. Данный класс соединений на-

ходит применение в качестве инсектицидов [5], бактериостатических препаратов [6, 7], гипотензивных [8] и противовирусных средств [9]; используется не только в медицине, но и в косметологии [10].

Целью нашей работы является синтез производных 1-гидроксиимидазолов в качестве потенциальных ингибиторов интегразы вируса иммунодефицита человека первого типа (ВИЧ-1). Разработка ингибиторов интегразы ВИЧ-1 стала возможна после расшифровки структуры каталитического домена этого фермента [11], а также комплекса интегразы другого ретровируса (прототипного спумавируса) с вирусной ДНК [12]. Известно, что в активном центре интегразы имеется 2 иона магния, и действие ингибиторов направлено на образование прочных хелатных связей с ними [12]. Объёмные заместители, имеющие определённую гео-

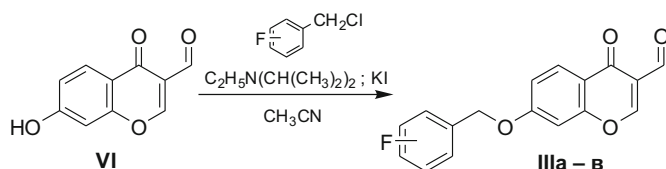


метрию, обеспечивают дополнительную стабилизацию препарата в активном центре интегразы за счёт Ван-дер-Ваальсовых, гидрофобных и стэкинг-взаимодействий [12]. Для получения структур, потенциально способных к ингибированию этого фермента, принято решение объединить в молекуле фрагмент 5-карбонилзамещённого 1-гидроксиимидазола в качестве хелатного центра с объёмным 7-(фторбензилокси)хроменовым остатком.

Удобным и широко распространённым методом синтеза 1-гидроксиимидазолов является конденсация исходного альдегида с соответствующим оксимом и ацетатом аммония [1]. Этот метод использован нами для синтеза производных 2-(3-(7-(фторбензилокси)-4-оксо-4*H*-хроменил))-1-гидроксиимидазола **Ia – в** и **IIa – в**.

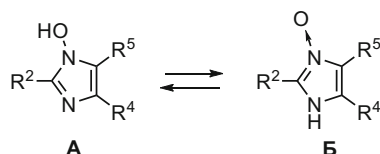
Конденсацию альдегидов **IIIa – в** с соответствующими оксимами и ацетатом аммония проводили в ледяной уксусной кислоте при комнатной температуре и длительной (7 – 10 сут) выдержке. Новые производные имидазола **Ia – в** и **IIa – в** были полностью охарактеризованы данными ¹H и ¹³C ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии (табл. 1), а также температурами плавления.

Исходные альдегиды **IIIa – в** получены О-алкилированием 7-гидрокси-4-оксохромен-3-карбальдегида (**VI**) соответствующими фторбензилхлоридами в ацетонитриле при кипении реакционной массы в присутствии основания Хюнига (этилдиизопропиламин) и йодида калия (табл. 2).

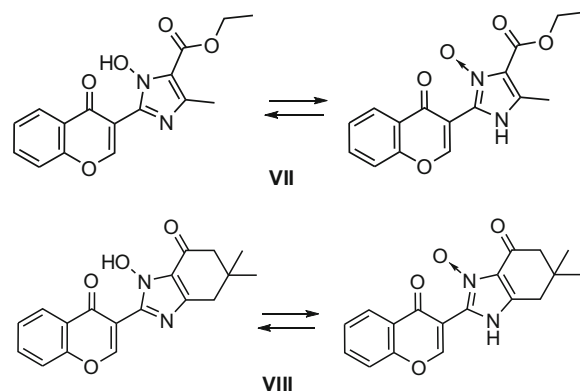


Методика получения альдегида **VI** взята из литературы [13]. Исходные оксими **IV** и **V** также получены по известным методикам [14].

Известно, что производные 1-гидроксиимидазолов могут существовать в 2 таутомерных формах: *N*-гидрокси- (**A**) и *N*-оксидной (**B**) [14 – 18]. Преобладание того или иного таутомера зависит как от структуры объектов исследования, так и от условий регистрации спектра (природа растворителя, температура).



Ранее нами исследовалась прототропная таутомерия 2-(3-хроменил)замещённых 1-гидроксиимидазолов [14], в том числе соединений **VII** и **VIII**.



Было показано, что соединение **VII** в дейтерохлороформе (CDCl₃) существует в виде смеси 2 форм с преобладанием *N*-гидроксиитаутомера **A**, тогда как в тех же условиях соединение **VIII** существует исключительно в виде *N*-оксида **B**. В дейтерированном диметилсульфоксиде (ДМСО) оба соединения существуют в виде *N*-оксида **B** [14]. Аналогичное поведение наблюдается и для структур **Ia – в** и **IIa – в** (табл. 3).

Сравнивая характерные сдвиги протонов OH(NH) имидазольного кольца и Н-2 протона хроменового цикла (далее Н-2_{Chr}) с таковыми для ранее исследованных соединений **VII** и **VIII** [14], можно заметить, что все 6 новых производных имидазола **Ia – в** и **IIa – в** существуют в ДМСО в форме *N*-оксида **B**.

Иное поведение наблюдается в CDCl₃. Если соединения **IIa – в**, содержащие в положении 5 имидазольного кольца закреплённую карбонильную группу, аналогично **VIII** существуют исключительно в виде *N*-оксида, то соединения **Ia – в** в этих условиях представлены смесью таутомеров. Интересно, что, в отличие от спектра модельного соединения **VII**, в спектрах ¹H ЯМР в CDCl₃ соединений **Ia – в** наблюдается не только удвоение “реперного” сигнала протона Н-2_{Chr}, но и удвоение сигналов Н-6_{Chr} (дублет дублетов для **Ia** и **Ib**, в случае **Ib** — уширенный сигнал), а также удвоение сигнала метильной группы в положении 4 имидазольного цикла (2 сигнала при ≈ 2,59 и ≈ 2,48 м.д.). При этом, учитывая интегральные интенсивности сигналов, можно сделать вывод, что для *para*-изомера **Ia** и *ortho*-изомера **Ib** в смеси преобладает NH-таутомер (т.е., *N*-оксид); соотношение **A**:**B** ≈ 2:3. В случае же *meta*-фторзамещённого **Ib** соотношение таутомеров 1:1.

Экспериментальная химическая часть

Используемые реактивы являются коммерчески доступными и применялись без дополнительной очистки. 7-Гидрокси-4-оксо-4*H*-хромен-3-карбальдегид (**VI**) получен по методике [13]. Этиловый эфир 2-(гидроксиимино)-3-оксобутановой кислоты (**IV**) и 5,5-диметилциклогексан-1,2,3-трион-2-оксим (**V**) получены по методикам [14].

Контроль за ходом реакций и индивидуальностью полученных соединений осуществляли с помощью ТСХ на пластинках “Silufol UV-254”. Спектры ¹H ЯМР регистрировали на спектрометре “Bruker Avance

Характеристика 1-гидроксиимидазолов Ia – в и IIa – в

Соединение (брутто-формула)	Молекулярный ион	Спектр ¹ H ЯМР		Спектр ¹³ C ЯМР в ДМСО-d ₆ (75,5 МГц, 300 К, δ, м.д.)
		в CDCl ₃ (300 МГц, 300 К, δ, м.д.)	в ДМСО-d ₆ (300 МГц, 300 К, δ, м.д.)	
Ia (C ₂₃ H ₁₉ FN ₂ O ₆)	438	12,57 (с, 0,6H, NH), 11,80 (с, 0,4H, OH), 10,80 (с, 0,4H, H-2 _{Chr}), 8,75 (с, 0,6H, H-2 _{Chr}), 8,27 (д, J = 8,8 Гц, 0,6H, H-5 _{Chr}), 8,20 (дд, J ₁ = 8,8 Гц, J ₂ = 2,2 Гц, 0,4H, H-5 _{Chr}), 7,40 – 7,48 (м, 2H, H-Ar), 7,02 – 7,20 (м, 4H, H-Ar), 5,16 (с, 2H, OCH ₂ PhF), 4,35 – 4,50 (м, 2H, OCH ₂ CH ₃), 2,59 (с, 1H, 1/3 CH ₃), 2,48 (с, 2H, 2/3 CH ₃), 1,35 – 1,47 (м, 3H, OCH ₂ CH ₃)	11,72 (уш. с, 1H, NH), 8,55 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,03 (д, J = 8,8 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,50 – 7,60 (м, 2H, H-Ar), 7,15 – 7,35 (м, 4H, H-Ar), 5,27 (с, 2H, OCH ₂ PhF), 4,27 (кв., 2H, OCH ₂ CH ₃), 2,36 (с, 3H, CH ₃), 1,30 (т, 3H, OCH ₂ CH ₃)	173,07 (C-4 _{Chr}), 163,57 (COOEt), 163,09 (C-7 _{Chr}), 158,89 (C _{Ar} -F), 157,69 (C-Ar), 157,36 (C-Ar), 142,00 (C-2 _{Chr}), 139,20 (C-Ar), 132,21 (C-Ar), 130,39 (C-Ar), 130,27 (C-Ar), 126,85 (C-Ar), 124,87 (C-Ar), 117,72 (C-Ar), 117,26 (C-Ar), 115,84 (C-Ar), 115,51 (C-Ar), 115,23 (C-Ar), 101,99 (C-8 _{Chr}), 69,49 (CH ₂ O), 59,83 (OCH ₂ CH ₃), 15,56 (CH ₃), 14,19 (OCH ₂ CH ₃)
Iб (C ₂₃ H ₁₉ FN ₂ O ₆)	438	12,56 (уш. с, 0,5H, NH), 11,79 (уш. с, 0,5H, OH), 10,79 (уш. с, 0,5H, H-2 _{Chr}), 8,75 (уш. с, 0,5H, H-2 _{Chr}), 8,25 (уш. с, 1H, H-Ar), 7,35 – 7,45 (м, 1H, H-Ar), 7,12 – 7,24 (м, 3H, H-Ar), 7,00 – 7,10 (м, 2H, H-Ar), 5,20 (с, 2H, OCH ₂), 4,42 (м, 2H, CH ₂ CH ₃), 2,58 (с, 1,5H, 1/2CH ₃), 2,49 (с, 1,5H, 1/2CH ₃), 1,42 (т, 3H, CH ₂ CH ₃)	11,75 (с, 1H, NH), 8,57 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,05 (д, J = 8,9 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,42 – 7,52 (м, 1H, H-Ar), 7,30 – 7,38 (м, 3H, H-Ar), 7,15 – 7,26 (м, 2H, H-Ar), 5,32 (с, 2H, OCH ₂), 4,28 (кв., J = 7,0 Гц, 2H, CH ₂ CH ₃), 2,37 (с, 3H, CH ₃), 1,30 (т, J = 7,1 Гц, 3H, CH ₂ CH ₃)	173,03 (C-4 _{Chr}), 163,77 (COOEt), 162,93 (C-7 _{Chr}), 158,85 (C _{Ar} -F), 157,67 (C-Ar), 157,30 (C-Ar), 142,01 (C-2 _{Chr}), 138,76 (C-Ar), 130,62 (C-Ar), 130,51 (C-Ar), 126,86 (C-Ar), 123,77 (C-Ar), 117,33 (C-Ar), 115,78 (C-Ar), 115,06 (C-Ar), 114,78 (C-Ar), 114,63 (C-Ar), 114,34 (C-Ar), 102,03 (C-8 _{Chr}), 69,27 (CH ₂ O), 59,80 (COOEt), 15,54 (CH ₃), 14,16 (OCH ₂ CH ₃)
Iв (C ₂₃ H ₁₉ FN ₂ O ₆)	438	12,56 (с, 0,6H, NH), 11,80 (с, 0,4H, OH), 10,80 (с, 0,4H, H-2 _{Chr}), 8,76 (с, 0,6H, H-2 _{Chr}), 8,28 (д, J = 8,8 Гц, 0,6H, H-5 _{Chr}), 8,20 (дд, J ₁ = 8,8 Гц, J ₂ = 2,2 Гц, 0,4H, H-5 _{Chr}), 7,46 – 7,53 (м, 1H, H-Ar), 7,33 – 7,43 (м, 1H, H-Ar), 7,06 – 7,23 (м, 4H, H-Ar), 5,27 (с, 2H, OCH ₂ PhF), 4,35 – 4,50 (м, 2H, OCH ₂ CH ₃), 2,59 (с, 1H, 1/3 CH ₃), 2,48 (с, 2H, 2/3 CH ₃), 1,37 – 1,47 (м, 3H, OCH ₂ CH ₃)	11,75 (с, 1H, NH), 8,58 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,05 (д, J = 8,8 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,62 (т, J = 7,6 Гц, 1H, H-Ar), 7,42 – 7,52 (м, 1H, H-Ar), 7,38 (д, J = 2,4 Гц, 1H, H-8 _{Chr}), 7,18 – 7,34 (м, 3H, H-Ar), 5,34 (с, 2H, OCH ₂), 4,28 (кв., J = 7,0 Гц, 2H, CH ₂ CH ₃), 2,37 (с, 3H, CH ₃), 1,31 (т, J = 7,0 Гц, 3H, CH ₂ CH ₃)	173,02 (C-4 _{Chr}), 162,96 (COOEt), 162,10 (C-7 _{Chr}), 158,83 (C _{Ar} -F), 157,61 (C-Ar), 157,30 (C-Ar), 141,96 (C-2 _{Chr}), 138,49 (C-Ar), 130,95 (C-Ar), 130,86 (C-Ar), 130,76 (C-Ar), 126,85 (C-Ar), 124,57 (C-Ar), 122,82 (C-Ar), 117,32 (C-Ar), 115,66 (C-Ar), 115,58 (C-Ar), 115,30 (C-Ar), 101,89 (C-8 _{Chr}), 64,60 (CH ₂ O), 59,79 (OCH ₂ CH ₃), 15,56 (CH ₃), 14,19 (OCH ₂ CH ₃)
IIa (C ₂₅ H ₂₁ FN ₂ O ₅)	448	13,08 (с, 1H, NH), 8,87 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,30 (д, J = 8,8 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,38 – 7,47 (м, 2H, H-Ar), 7,03 – 7,22 (м, 4H, H-Ar), 5,17 (с, 2H, OCH ₂ CH ₃), 2,71 (с, 2H, CH ₂), 2,46 (с, 2H, CH ₂), 1,15 (с, 6H, 2CH ₃)	11,98 (с, 1H, NH), 8,64 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,04 (д, J = 8,9 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,64 – 7,51 (м, 2H, H-Ar), 7,39 – 7,33 (м, 1H, H-Ar), 7,32 – 7,17 (м, 3H, H-Ar), 5,27 (с, 2H, OCH ₂), 2,67 (с, 2H, CH ₂), 2,37 (с, 2H, CH ₂), 1,07 (с, 6H, 2CH ₃)	185,69 (C=O), 172,90 (C-4 _{Chr}), 163,55 (C-7 _{Chr}), 163,12 (C _{Ar} -F), 157,97 (C-Ar), 157,30 (C-Ar), 149,45 (C-4 _{Im}), 139,71 (C-2 _{Chr}), 132,18 (C-Ar), 132,14 (C-Ar), 130,39 (C-Ar), 130,27 (C-Ar), 126,87 (C-Ar), 122,78 (C-Ar), 117,20 (C-Ar), 115,88 (C-Ar), 115,20 (C-Ar), 115,22 (C-Ar), 101,99 (C-8 _{Chr}), 69,47 (CH ₂ O), 52,38 (CH ₂), 38,42 (CH ₂), 35,33 (C(CH ₃) ₂), 27,94 (2CH ₃)
IIб (C ₂₅ H ₂₁ FN ₂ O ₅)	448	13,06 (с, 1H, NH), 8,87 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,31 (д, J = 9,1 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,32 – 7,46 (м, 1H, H-Ar), 7,14 – 7,24 (м, 3H, H-Ar), 7,03 – 7,10 (м, 2H, H-Ar), 5,21 (с, 2H, OCH ₂), 2,71 (с, 2H, CH ₂), 2,46 (с, 2H, CH ₂), 1,15 (с, 6H, 2CH ₃)	11,97 (с, 1H, NH), 8,64 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,05 (д, J = 8,9 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,42 – 7,53 (м, 1H, H-Ar), 7,30 – 7,40 (м, 3H, H-Ar), 7,12 – 7,29 (м, 2H, H-Ar), 5,32 (с, 2H, OCH ₂), 2,66 (с, 2H, CH ₂), 2,37 (с, 2H, CH ₂), 1,07 (с, 6H, 2CH ₃)	185,66 (C=O), 172,91 (C-4 _{Chr}), 163,76 (C-7 _{Chr}), 162,98 (C-F), 157,97 (C-Ar), 157,27 (C-Ar), 149,43 (C-4 _{Im}), 141,94 (C-2 _{Chr}), 130,63 (C-Ar), 130,52 (C-Ar), 126,91 (C-Ar), 123,77 (C-Ar), 124,36 (C-Ar), 115,84 (C-Ar), 115,06 (C-Ar), 114,79 (C-Ar), 114,64 (C-Ar), 114,35 (C-Ar), 102,06 (C-8 _{Chr}), 69,29 (CH ₂ O), 52,38 (CH ₂), 38,40 (CH ₂), 35,33 (C(CH ₃) ₂), 27,94 (2CH ₃)
IIв (C ₂₅ H ₂₁ FN ₂ O ₅)	448	13,07 (уш. с, 1H, NH), 8,96 (уш. с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,29 (д, J = 9,0 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,50 (т, J = 7,5 Гц, 1H, H-Ar), 7,33 – 7,43 (м, 1H, H-Ar), 7,12 – 7,24 (м, 3H, H-Ar), 7,10 (д, J = 2,5 Гц, 1H, H-8 _{Chr}), 5,28 (с, 2H, OCH ₂), 2,72 (с, 2H, CH ₂), 2,46 (с, 2H, CH ₂), 1,16 (с, 6H, 2CH ₃)	11,91 (с, 1H, NH), 8,73 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,05 (д, J = 8,6 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,62 (т, J = 7,7 Гц, 1H, H-Ar), 7,52 – 7,35 (м, 2H), 7,26 (м, 3H, H-Ar), 5,33 (с, 2H, OCH ₂), 2,67 (с, 2H, CH ₂), 2,36 (с, 2H, CH ₂), 1,07 (с, 6H, 2CH ₃)	185,65 (C=O), 172,92 (C-4 _{Chr}), 163,04 (C-7 _{Chr}), 162,14 (C-F), 158,88 (C-Ar), 157,31 (C-Ar), 148,56 (C-4 _{Im}), 139,88 (C-2 _{Chr}), 131,03 (C-Ar), 130,87 (C-Ar), 126,93 (C-Ar), 124,64 (C-Ar), 124,59 (C-Ar), 122,85 (C-Ar), 117,31 (C-Ar), 115,77 (C-Ar), 115,63 (C-Ar), 115,35 (C-Ar), 101,93 (C-8 _{Chr}), 64,65 (CH ₂ O), 52,39 (CH ₂), 38,24 (CH ₂), 35,31 (C(CH ₃) ₂), 27,94 (2CH ₃)

TM-300” с рабочей частотой 300,13 МГц в CDCl₃ (внутренний стандарт TMS) и в DMSO-d₆ (внутренний стандарт — остаточные сигналы растворителя). Масс-спектры регистрировали на масс-спектрометре LKB-2000.

Этил-2-(7-(4-фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-4-метил-1H-имидазол-5-карбоксилат (Ia). Смесь альдегида IIIa (0,40 г, 1,34 ммоль), оксима IV (0,23 г, 1,45 ммоль) и ацетата аммония (0,17 г, 2,21 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 10 дней. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре эфиром, перекристаллизовывают из толуола, получая 0,21 г (36 %) продукта Ia в виде жёлтых игольчатых кристаллов с т.пл. 208 – 209 °С.

Этил-2-(7-(3-фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-4-метил-1H-имидазол-5-карбоксилат (Iб). Смесь альдегида IIIб (0,50 г, 1,68 ммоль), оксима IV (0,27 г, 1,68 ммоль) и ацетата аммония (0,23 г, 2,99 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 7 дней. Затем реакционную массу выливают в воду (20 мл), выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из толуола, получая 0,20 г (27 %) продукта Iб в виде светло-жёлтого осадка с т.пл. 179 – 180 °С.

Этил-2-(7-(2-фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-1H-имидазол-5-карбоксилат (Iв). Смесь альдегида IIIв (0,30 г, 1,01 ммоль), оксима IV (0,20 г, 1,26 ммоль) и ацетата аммония (0,14 г, 1,82 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 7 дней. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают на фильтре эфиром, дважды перекристаллизовывают из толуола, получая 0,14 г (32 %) продукта Iв в виде желтоватого порошка с т.пл. 180 – 181 °С. Для выделения дополнительных количеств продукта фильтрат от реакции выливают в воду (20 мл), выпавший осадок отфильтровывают и перекристаллизовывают из толуола, получая ещё 0,10 г продукта Iв с тем-

пературой плавления 179 – 181 °С. Общий выход 0,24 г (55 %).

2-(7-(4-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-5,5-диметил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-бензо[d]имидазол-7(4H)-он (IIa). Смесь альдегида IIIa (0,40 г, 1,34 ммоль), оксима V (0,24 г, 1,42 ммоль) и ацетата аммония (0,17 г, 2,21 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 10 дней. Затем реакционную массу выливают в воду (10 мл), экстрагируют хлороформом (10 мл × 4), объединённые органические экстракты промывают 2 % раствором поташа и водой, сушат над безводным сульфатом магния. Растворитель отгоняют при пониженном давлении и остаток подвергают хроматографической очистке на колонке с силикагелем (элюент — хлороформ, градиентная смесь хлороформ-метанол 50:1 – 10:1). Собирают фракцию, содержащую целевой продукт. Растворитель отгоняют при пониженном давлении и остаток затирают в гексане. Обретенный осадок дважды перекристаллизовывают из толуола, получая 0,12 г (20 %) продукта IIa в виде золотисто-жёлтого игольчатого осадка с т.пл. 228 – 229 °С.

2-(7-(3-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-5,5-диметил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-бензо[d]имидазол-7(4H)-он (IIб). Смесь альдегида IIIб (0,50 г, 1,68 ммоль), оксима V (0,28 г, 1,68 ммоль) и ацетата аммония (0,30 г, 3,90 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 7 дней. Выливают в воду (40 мл) и оставляют на 1,5 ч. Выпавший осадок отфильтровывают, перекристаллизовывают из толуола и получают 0,23 г (31 %) продукта IIб в виде желтоватого осадка с т.пл. 229 – 230 °С.

2-(7-(2-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-ил)-1-гидрокси-5,5-диметил-4,5,6,7-тетрагидро-1H-бензо[d]имидазол-7(4H)-он (IIв). Смесь альдегида IIIв (0,50 г, 1,68 ммоль), оксима V (0,28 г, 1,68 ммоль) и ацетата аммония (0,31 г, 4,03 ммоль) в ледяной уксусной кислоте (5 мл) перемешивают при комнатной температуре в течение 14 дней. Выпавший осадок от-

Т а б л и ц а 2

Характеристика альдегидов IIIa – в

Соединение (брутто-формула)	Молекулярный ион	Спектр ¹ H	
		ЯМР в CDCl ₃ (300 МГц, 300 К, δ, м.д.)	
IIIa (C ₁₇ H ₁₁ FO ₄)	298	10,38 (с, 1H, CHO), 8,47 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,22 (д, J = 8,8 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,38 – 7,46 (м, 2H, H-Ar), 7,05 – 7,15 (м, 3H, H-Ar), 6,98 (д, J = 2,2 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 5,14 (с, 2H, OCH ₂)	
IIIб (C ₁₇ H ₁₁ FO ₄)	298	10,38 (с, 1H, CHO), 8,47 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,23 (д, J = 8,9 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,32 – 7,44 (м, 2H, H-Ar), 7,00 – 7,24 (м, 3H, H-Ar), 6,97 (д, J = 2,4 Гц, 1H, H-8 _{Chr}), 5,18 (с, 2H, OCH ₂)	
IIIв (C ₁₇ H ₁₁ FO ₄)	298	10,38 (с, 1H, CHO), 8,48 (с, 1H, H-2 _{Chr}), 8,22 (д, J = 8,8 Гц, 1H, H-5 _{Chr}), 7,43 – 7,53 (м, 1H, H-Ar), 7,35 – 7,42 (м, 1H, H-Ar), 7,08 – 7,24 (м, 3H, H-Ar), 7,02 (д, J = 2,2 Гц, 1H, H-8 _{Chr}), 5,24 (с, 2H, OCH ₂)	

Т а б л и ц а 3

Химические сдвиги “реперных” протонов

Соединение	¹ H ЯМР в CDCl ₃ , δ, м.д.		¹ H ЯМР в DMSO-d ₆ , δ, м.д.		Примечание
	ОН(NH)	H-2 _{Chr}	ОН(NH)	H-2 _{Chr}	
VII	13,15 (NH) 12,16 (OH)	8,65 10,66	11,92 (NH)	8,73	[13]
Ia	12,57 (NH) 11,80 (OH)	8,75 10,80	11,72 (NH)	8,55	
Iб	12,56 (NH) 11,79 (OH)	8,75 10,79	11,75 (NH)	8,57	
Iв	12,56 (NH) 11,80 (OH)	8,76 10,80	11,75 (NH)	8,58	
VIII	12,73 (NH)	8,93	11,60 (NH)	8,76	[13]
IIa	13,08 (NH)	8,87	11,98 (NH)	8,64	
IIб	13,06 (NH)	8,87	11,97 (NH)	8,64	
IIв	13,07 (NH)	8,96	11,91 (NH)	8,73	

фильтровывают, промывают на фильтре эфиром, перекристаллизовывают из толуола, получая 0,42 г (56 %) продукта **Пв** в виде светло-жёлтого порошка с т.пл. 201 – 203 °С.

7-(4-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегид (IIIa). Смесь гидроксихромона **VI** (1,00 г, 5,26 ммоль), йодида калия (0,88 г, 5,30 ммоль), основания Хюнига (0,74 г, 5,74 ммоль) и 4-фторбензилхлорида (0,76 г, 5,26 ммоль) в 12 мл ацетонитрила перемешивают при кипении реакционной массы в течение 26 ч. Охлаждают до комнатной температуры, осадок отфильтровывают, промывают на фильтре ацетонитрилом. Из фильтрата отгоняют растворитель при пониженном давлении, получившееся масло подвергают хроматографической очистке на колонке с силикагелем (элюент хлороформ), собирая фракцию, содержащую продукт. Получают 0,63 г (40 %) продукта **IIIa** в виде светло-жёлтого осадка с т.пл. 146 – 148 °С.

7-(3-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегид (IIIб) получают аналогично **IIIa**. Из гидроксихромона **VI** (3,80 г, 20 ммоль) и 3-фторбензилхлорида (2,90 г, 20 ммоль) получают 1,50 г (25 %) продукта **IIIб** в виде жёлтого порошка с т.пл. 124 – 126 °С.

7-(2-Фторбензилокси)-4-оксо-4H-хромен-3-карбальдегид (IIIв) получают аналогично **IIIa**. Из гидроксихромона **VI** (1,30 г, 5,26 ммоль) и 2-фторбензилхлорида (1,01 г, 6,99 ммоль) получают 0,59 г (29 %) продукта **IIIв** в виде желтоватого порошка с т.пл. 194 – 196 °С.

Экспериментальная биологическая часть

Ингибирующая активность соединений в реакциях 3'-процессинга и переноса цепи

Рекомбинантная интеграза ВИЧ-1 была выделена из штамма-продуцента Rosetta *Escherichia coli* и очищена без добавления детергента, как описано в [21].

Олигодезоксирибонуклеотиды **U5B** (5'-GTGTGGAAAATCTCTAGCAGT-3'), **U5B-2** (5'-GTGTGGAAAATCTCTAGCA-3') и **U5A** (5'-ACTGCTAGAGATTTTCCACAC-3') синтезировали амидофосфитным методом на автоматическом ДНК-синтезаторе ABI 3400 (Applied Biosystems,

США) по стандартному регламенту с использованием коммерческих реагентов (Glen Research, США).

Исследование ингибирующей активности проводили по методикам, подробно описанным ранее [20]. Для включения ³²P-метки на 5'-конец олигонуклеотидов **U5B** и **U5B-2** проводили их инкубацию с 10 ед. акт. Т4-полинуклеотидкиназы и 50 мкКи [^γ-³²P] АТФ в 20 мкл буфера (50 мМ Трис-НСl, рН 7,5, 10 мМ MgCl₂, 5 мМ дитиотреит (DTT), 0,1 мМ спермидин, 0,1 мМ ЭДТА) в течение 1 ч при 37 °С. С полученными мечеными олигонуклеотидами формировали дуплекс с использованием эквимольного количества олигонуклеотида **U5A**. Далее дуплекс **U5B/U5A** (0,1 пмоль) или **U5B-2/U5A** (0,2 пмоль) инкубировали с 2 пмоль интегразы в 20 мкл реакционной смеси, содержащей буфер (20 мМ HEPES, рН 7,2, 7,5 мМ MgCl₂, 1 мМ DTT, 10 % ДМСО), в присутствии возрастающих концентраций ингибитора (1 – 1000 мкМ) при 37 °С в течение 2 ч. Анализ продуктов реакции проводили в 20 % полиакриламидном геле (ПААГ)/7М мочевины, полученные ауторадиограммы анализировали денситометрически. Для расчета концентрации соединения, ингибирующего реакцию на 50 % (IC₅₀), данные по эффективности реакции аппроксимировали с помощью функции экспоненциального убывания и вычисляли значение в точке, соответствующей 50 %. IC₂₀ рассчитывали аналогично для точки 20 %.

Результаты и их обсуждение

Результаты испытания биологической активности

Анализ ингибирующей способности соединений проводили по стандартной методике [19, 20]. Интеграза ВИЧ-1 в процессе интеграции катализирует 2 реакции: 3'-концевой процессинг, в результате которого с обоих 3'-концов вирусной ДНК удаляется динуклеотид GT, и перенос цепи, в ходе которого происходит встраивание вирусной ДНК в клеточную. Способность производных 1-гидроксиимидазолов ингибировать каталитическую активность интегразы исследовалась в обеих реакциях с использованием рекомбинантного препарата интегразы ВИЧ-1 и ³²P-меченных ДНК-дуплексов **U5B/U5A** и **U5B-2/U5A**. Дуплекс **U5B/U5A** соответствует концу **U5** фрагмента вирусной ДНК и использовался в качестве субстрата интегразы в реакции 3'-процессинга, а дуплекс **U5B-2/U5A** соответствует аналогичному участку после отщепления концевого динуклеотида GT и использовался в реакции переноса цепи.

Обе реакции проводились как в отсутствие испытуемых соединений, так и в присутствии их возрастающих концентраций вплоть до 1 мМ. На основании анализа эффективности реакций 3'-процессинга и переноса цепи в присутствии производных 1-гидроксиимидазолов рассчитывались значения IC₅₀ (концентрация ингибитора, при которой эффективность реакции снижается на 50 %) и IC₂₀ в том случае, если 50 % ингибирования достигнуть не удавалось. Соединения **Ia** и **IIб** не проявили заметную ингибирующую актив-

Таблица 4
Экспериментальные значения IC₅₀ и IC₂₀ исследованных соединений в реакциях процессинга и переноса цепи

Соединение	Ингибирование 3'-процессинга, мкМ		Ингибирование переноса цепи, мкМ	
	IC ₅₀	IC ₂₀	IC ₅₀	IC ₂₀
Ia	--	--	--	--
Iб	--	50 ± 9	--	90 ± 20
Iв	250 ± 47	100 ± 23	400 ± 77	40 ± 9
IIa	580 ± 98	250 ± 52	500 ± 105	120 ± 27
IIб	--	--	--	--
IIв	--	180 ± 39	--	180 ± 40

Значения IC₅₀ и/или IC₂₀ не приводятся в том случае, если их получить не удалось при концентрациях соединения до 1 мМ.

ность вплоть до 1 мМ концентрации. Наиболее активным в ряду исследованных 1-гидроксиимидазолов является соединение **Iв**, ингибирующее реакцию 3'-процессинга с $IC_{50} = (250 \pm 47)$ мкМ и реакцию переноса цепи с $IC_{50} = (400 \pm 77)$ мкМ.

Результаты испытаний биологической активности 1-гидроксиимидазолов **Iа – в** и **IIа – в** представлены в табл. 4.

Следует отметить, что “модельные” соединения **VII** и **VIII**, не содержащие объёмного заместителя в положении 7 хроменого цикла, не проявили ингибирующей активности.

Биологическая часть исследования (работа по определению ингибирующей активности соединений) проводилась при поддержке гранта РФФ №14-14-00489.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. В. Никитина, М. С. Певзнер, *Химия гетероцикл. соедин.*, № 2, 147 – 175 (1993).
2. G. G. Allan, C. S. Chopra, T. Mattila, *Pesticidal Science*, **3**(2), 153 – 159 (1972).
3. T. B. Stensbøl, P. Uhlmann, S. Morel, et al., *J. Med. Chem.*, **45**, 19 – 31 (2002).
4. M. Witschel, *Bioorg. Med. Chem.*, **17**(12), 4221 – 4229 (2009).
5. Патент Германии (ФРГ) DE2254474 (1973); *Chem. Abstr.*, **79**, 42507g (1973).
6. Патент США, US3886180 (1975). <http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=19750527&DB=EPODOC&locale=ru&CC=US&NR=3886180A&KC=A&ND=5>.
7. Патент США, US4006160 (1977); *Chem. Abstr.*, **86**, 189707 (1977).
8. Патент США US4232029 (1980); *Chem. Abstr.*, **94**, 103377 (1981).
9. Международная патентная заявка WO2005 / 002576 (2005). <http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20050113&DB=EPODOC&locale=ru&CC=WO&NR=2005002576A2&KC=A2&ND=4>
10. Международная патентная заявка WO2007 / 039821 (2007); <http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?FT=D&date=20070412&DB=EPODOC&locale=ru&CC=WO&NR=2007039821A2&KC=A2&ND=4>
11. S. Maïgnan, J. P. Guilloteau, Q. Zhou-Liu, et al., *J. Mol. Biol.*, 359 – 368 (1998).
12. S. Hare, S. S. Gupta, E. Valkov, et al., *Nature*, **464**, 232 – 236 (2010).
13. A. Nohara, T. Umetani, Y. Sanno, *Tetrahedron*, **30**(19), 3553 – 3561 (1974).
14. P. A. Nikitina, L. G. Kuz'mina, V. P. Perevalov, I. I. Tkach, *Tetrahedron*, **69**(15), 3249 – 3256 (2013).
15. F. J. Allan, G. G. Allan, *Chem. Ind. (London)*, 1837 (1964).
16. K. Akagane, F. J. Allan, G. G. Allan, et al., *Bul. Chem. Soc. Jpn.*, **42**, 3204 – 3207 (1969).
17. K. Volkamer, H. W. Zimmermann, *Chem. Ber.*, **102**, 4177 – 4187 (1969).
18. S. O. Chua, M. J. Cook, A. R. Katrizky, *J. Chem. Soc. B*, 2350 – 2355 (1971).
19. Т. А. Приказчикова, Е. М. Волков, Е. М. Зубин и др., *Мол. биол.*, **41**, 130 – 138 (2007).
20. В. В. Комиссаров, Е. С. Княжанская, А. В. Атрохова и др., *Биоорг. химия*, **40**(5), 578 – 587 (2014).
21. H. Leh, P. Brodin, J. Bischerour, et al., *Biochemistry*, **39**, 9285 – 9294 (2000).

Поступила 22.12.2014

SYNTHESIS OF 2-(7-(FLUOROBENZYLOXY)-4-OXO-4H-CHROMEN-3-YL)-1-HYDROXYIMIDAZOLES AND STUDY OF THEIR ABILITY TO INHIBIT HIV-1 INTEGRASE

P. A. Nikitina¹, I. I. Tkach¹, E. S. Knyazhanskaya², M. B. Gottikh², and V. P. Perevalov¹

¹ Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, 125047 Russia

² Department of Chemistry and the Belozersky Institute of Physical and Chemical Biology, Moscow State University, Russia, 119991 Moscow

* e-mail: polinandrevna@yandex.ru

A series of six new derivatives of 2-(7-(fluorobenzoyloxy)-4-oxo-4H-chromen-3-yl)-1-hydroxyimidazole have been synthesized and characterized. Prototropic tautomerism of these 1-hydroxyimidazoles is discussed. Their ability of inhibiting the catalytic activity of HIV-1 integrase in 3'-processing and strand transfer reactions has been studied. It has been found that compounds under consideration do not exhibit appreciable inhibitory activity.

Keywords: 1-hydroxyimidazoles; prototropic tautomerism; HIV-1; integrase; inhibitors.