

Н.В. Иванова,  
\*С.И. Свиридов,  
А.Е. Степанов  
\*ООО «Кембридж»

## СИНТЕЗ 2-(1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛ)-БЕНЗИМИДАЗОЛЬНОЙ БИБЛИОТЕКИ

УДК 547.7.8

С использованием методов комбинаторной химии осуществлён синтез 2-(1,2,4-триазол-3-ил)бензимидазольной библиотеки из триазилилальдегидов и фенилендиаминов и проведено биохимическое тестирование библиотеки на ингибирование киназной активности.

Некоторые биологически активные вещества, являющиеся потенциальными лекарствами, содержат в своей химической структуре пятичленный гетероцикл. 1,2,4-Триазольный фрагмент присутствует в некоторых антиастматических, противовирусных (рибавирин), противогрибковых (флуконазол), антибактериальных и гипнотических (триазолам) препаратах [1–7]. Благодаря своему широкому спектру биологической активности соединения, содержащие 1,2,4-триазольную систему,

привлекательны для разработки методологии синтеза в жидкой фазе и производства комбинаторных библиотек.

Известны единичные примеры производных триазола, содержащих бензимидазольные заместители [8–12]. В то же время они представляют интерес для киназно-ориентированных библиотек.

Наиболее известные способы получения бензимидазолов включают конденсацию-дегидратацию 1,2-фенилендиаминов с карбоновыми кислотами или конденсацию с альдегидами, с последующим окислением [13]. Использование карбоновых кислот требует применения высоких температур или сильноокислых реагентов. В случае альдегидов реакция протекает через образование бензимидазолина **2**, с последующим окислением до бензимидазола **3** (Схема 1).

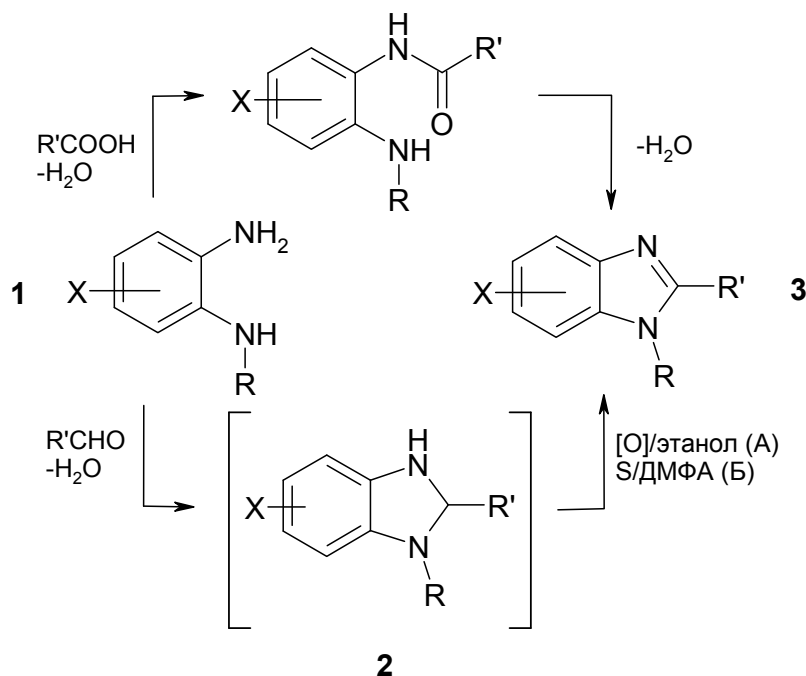


Схема 1.

Учитывая труднодоступность соответствующих кислот, более перспективным представляется подход через альдегиды. Нами была синтезирована серия новых производных бензимидазола [14], используя

ранее полученные альдегиды [15] и коммерчески доступные 1,2-фенилендиамины. Одним из наиболее мягких методов окисления промежуточного бензимидазолина является окисление кислородом воздуха

(Метод А), который и был проверен первым.

Мы обнаружили, что окисление бензимидазолина до целевого триазолзамещенного бензимидазола сопровождается побочной реакцией, в ходе которой образуются 2-незамещенные бензимидазолы **4** и триазолы **5** (Схема 2). Происходит расщепление С–С-связи, что обусловлено кислым характером СН-группы в 3-м положении

триазола. В наибольшей степени это характерно для фенилендиаминов с электроноакцепторными заместителями. Так, для нитро- и цианопроизводных фиксировались только следовые количества целевого продукта, и они были исключены из библиотеки. То же наблюдалось и для гетероциклических диаминов. Выраженных закономерностей в поведении различных альдегидов отмечено не было.

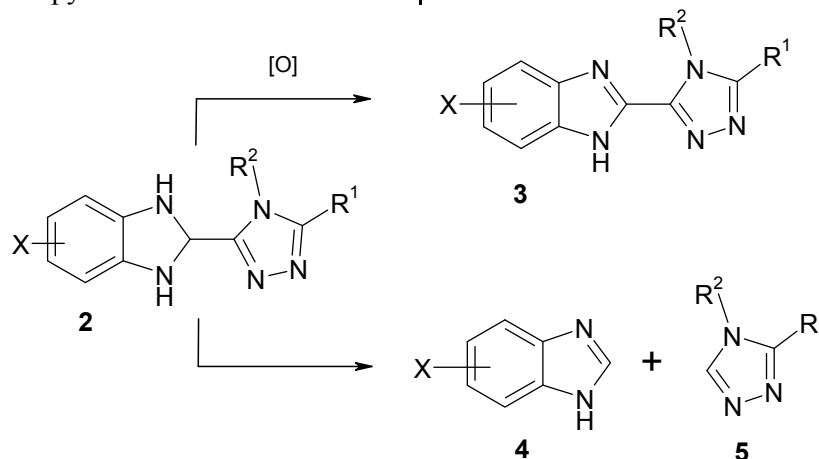


Схема 2.

Другим распространенным мягким окислителем является элементарная сера. Ее использование в ДМФА (Метод Б) показало, что в этих условиях отщепление бензимидазола идет в еще большей степени, делая этот метод непригодным для большинства фенилендиаминов. Однако, к нашему удивлению, этот способ позволяет получить с умеренными выходами продук-

ты с гетероциклическими диаминами, которые не образовывались при окислении воздухом [14].

Полученные соединения были переданы на биохимическое тестирование. Испытания проводили в биологической лаборатории ООО «Кембридж» (Москва), и они были подтверждены сотрудниками Биогруппы CRL (Сан-Диего, США).

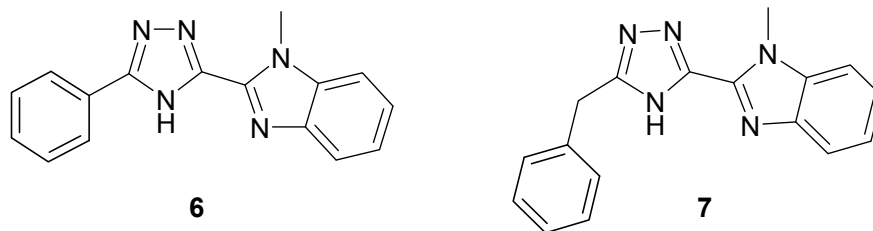


Рис. 1.

Биохимические тесты на ингибирование киназной активности выполнены с использованием метода KinaseGlo при концентрации тестируемых соединений 30 мкмоль:

- Биохимический тест на ингибирование Alk (KinaseGlo при 10 мкмоль АТФ, IC<sub>50</sub> в диапазоне до 20 мкмоль).

- Биохимический тест на ингибирование IGF1R (KinaseGlo при 10 мкмоль АТФ, IC<sub>50</sub> в диапазоне до 20 мкмоль).

Результаты тестов (все экспериментальные данные приведены ниже):

1. При изучении ингибирования киназы Alk при 10 мкмоль АТФ не выявлено результатов. Вещества не ингибируют данную киназу (рис. 2).

2. При изучении ингибирования киназы IGF1R обнаружены два соединения (рис. 1), которые ингибируют активность киназы в районе низких концентраций (рис. 3).

Результаты воспроизводятся в нескольких экспериментах. Формы кривых искаженные, с разбросом данных (рис. 4, рис. 5). Сложные формы кривых ингибирования и разброс экспериментальных точек указывает на возмож-

ное существование различных по активности изомерных форм, которые переходят одна в другую в ходе эксперимента. К сожалению, нам не удалось показать существования этих форм спектральными методами. Данные низкомолекулярные структу-

ры имеют потенциал как отправные точки для разработки киназных ингибиторов. Мы планируем синтезировать дополнительную библиотеку производных обоих соединений с разнообразными заместителями в бензимидазольной и гидрофобной частях молекулы.



Рис. 2.



Рис. 3.

### Экспериментальная часть

**Метод А.** В блок на 48 стеклянных пробирок (6 мл) загружали по 400 мкл растворов соответствующих альдегидов (0.2 ммоль) и 400 мкл 1,2-фенилендиаминов **1** (0.2 ммоль) в этаноле. Пробирки закрыли крышкой от блока с тефлоновой прокладкой. Реакционные массы перемешивали и выдерживали при температуре 85°C в течение 12 ч. Затем открыли крышку и упарили растворитель при перемешивании и температуре 85°C. Добавили 500 мкл этанола и снова упарили на воздухе при перемешивании и нагреве. Процедуру повторили несколько раз. Процесс окисления контролировали LCMS. Сырые реакционные смеси очищали методом препаративной хроматографии.

**Метод Б.** В блок на 48 стеклянных пробирок (6 мл) загружали по 400 мкл раство-

ров соответствующих альдегидов (0.2 ммоль) и 400 мкл 1,2-фенилендиаминов **1** (0.2 ммоль) в ДМФА, добавили один эквивалент серы (в виде порошка). Пробирки закрыли крышкой от блока с тефлоновой прокладкой (неплотно, выделялся  $H_2S$ ). Реакционные смеси выдерживали при температуре 130°C в течение 5 ч, затем охладили и отфильтровали серу. Осадок промыли 3 раза по 400 мкл ДМФА. Растворитель упарили досуха в Savant'e (при температуре 60°C в течение 6 ч). Сырые реакционные смеси очищали методом препаративной хроматографии.

Для очистки образцов использовали препаративный жидкостной хроматограф 1100 LCMSD (Agilent Technologies, США), укомплектованный двумя препаративными насосами, автоматическим пробоотборником,

ультрафиолетовым детектором, коллектором фракций и масс-спектрометрическим детектором. Использовали колонку Kromasil 7 мкм С18 длиной 150 мм и внутренним диаметром 30 мм (Akzo Nobel, Швеция). Для

разделения применяли программу градиента подвижной фазы от 10% ацетонитрила, 90% воды, 0,1% трифторуксусной кислоты до 0,1% трифторуксусной кислоты в ацетонитриле.

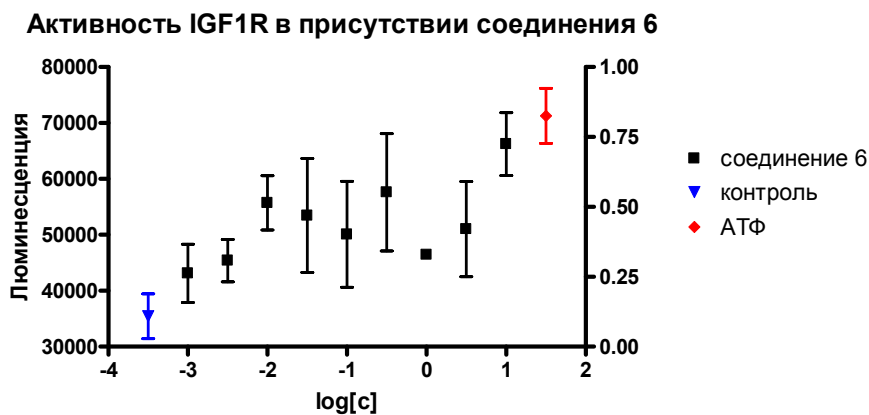


Рис. 4.

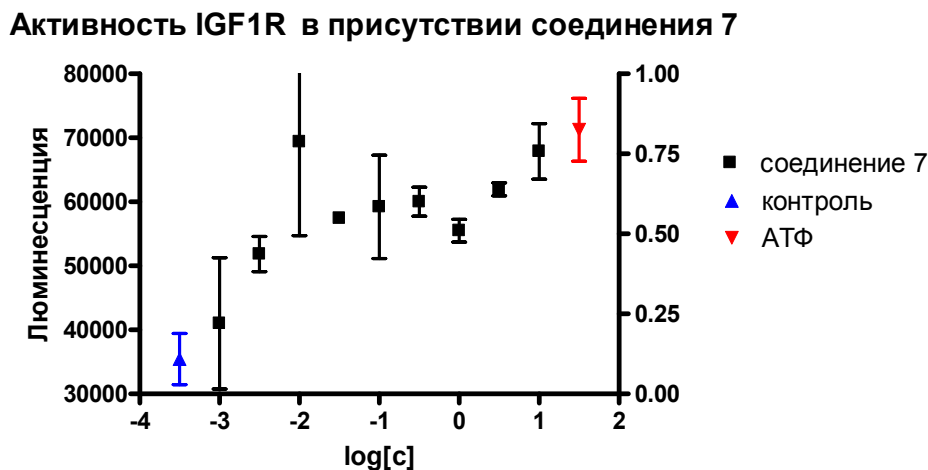


Рис. 5.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Naito Y., Akahoshi F., Takeda S. //J. med. chem. – 1996. – V.39. – P. 3019-3029.
2. Clercq E.D. //J. clin. virol. – 2004. – V. 30. – P. 115-133.
3. Collin X., Sauleau A. //Bioorg. med. chem. letters. – 2003 – V. 13. – P. 2601-2605.
4. Papakonstantinou-Garoufalas S., Pouli N., Marakos P. //Formac. – 2002. – V. 57. – P. 973-977.
5. Hester J.B., Rudzik A.D., Kamdar B.V. //J. med. chem. – 1971. – V 14. – P. 1078-1081.
6. Thompson S.K., Eppley A.M., Frazer J.S. //Bioorg. med. chem. Lett. – 1994. – V. 4. – P. 2441-2446.
7. Duncia J.V., Santella J.B., Higley C.A., VanAtten M.K. //Bioorg. Med. Chem. Lett. – 1998. – V. 8. – P. 775-780.
8. Ranft D., Lehwerk-Yvetot G., Schaper K.J. //Pharmazine. – 2001. – V 56. – P. 226.
9. Thiel W. //Z. chem. – 1990. – V. 30. – P. 365-367.
10. Thiel W., Mayer R. //J. f. pract. chemie. – 1989. –V. 331. – P. 243-262.
11. Верещагина, Н.Н., Мелкозерова, Г.С., Фролова, Н.Н. //Khim. farm. zh. – 1973. – V. 7. – P. 18-20.
12. Sawhney, S.N., Gupta A. //Indidan j. chem. – Sect. B. – 1991. – V. 30. – P. 407-412.
13. Beaulieu, P.L., Hache B. //Synthesis. – 2003. – P. 1683-1692.
14. Ivanova N.V., Sviridov S.I., Stepanov A.E. //Tetrahedron letters. – 2006. – V. 47. – P. 8025-8027.
15. Ivanova N.V., Sviridov S.I., Shorshnev S.V., Stepanov A.E. //Synthesis. – 2006. – V 1. – P. 156-160.