

УДК: 547.829:615.1:504.

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ 1-БЕНЗИЛ-4-АРИЛАМИНОПИРИМИДИН-2(1Н)-ОНОВ

Тимофеева К.В., Новиков М.С.

*Волгоградский государственный медицинский университет,
кафедра фармацевтической и токсикологической химии*

Подробная информация об авторах размещена на сайте

«Учёные России» - <http://www.famous-scientists.ru>

В данной статье рассматриваются некоторые вопросы, связанные с разработкой эффективного метода синтеза N¹-алкил-4-(бензиламино)производных урацила. Найдены оптимальные условия, обеспечивающие высокие выходы целевых продуктов (время протекания реакции, температура, растворитель, присутствие катализатора, др.). Изучены физико-химические свойства синтезированных соединений, структура их подтверждена данными ПМР-спектроскопии, а чистота и индивидуальность – тонкослойной хроматографией. Исследование биологической активности некоторых полученных соединений показало их перспективность: выявлена высокая бактериостатическая активность 1-бензил-4-(бензиламино)пиримидин-2(1Н)-она (7) и 1-(3-хлорбензил)-4-(бензиламино)пиримидин-2(1Н)-она.

С целью синтеза новых биологически активных соединений нами был осуществлен синтез 1-бензилпиримидин-2(1Н)-онов, содержащих в положении 4 в качестве заместителя ариламиновый фрагмент. Синтез этих соединений был осуществлен в два этапа. Исходный 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидин (1), который количественно образуется при кипячении урацила в избытке гексаметилдисульфана (ГМДС) в соответствии с известной методикой [6], в кипящем растворе 1,2-дихлорэтана обрабатывали соответ-

ствующим бензибромидом, что вело к 1-бензилзамещенным урацилам 2 – 6, выход которых составил 65-80 %. Вторая стадия заключалась в обработке 1-бензилурацилов 2 – 6 избытком бензиламина и ГМДС в присутствии каталитического количества *n*-толуолсульфокислоты, что является модификацией известной методики [4]. Кипячение реакционной смеси вело к целевым 4-бензиламинопроизводным 7 – 11, выход которых составил 53-60 % (Схема).

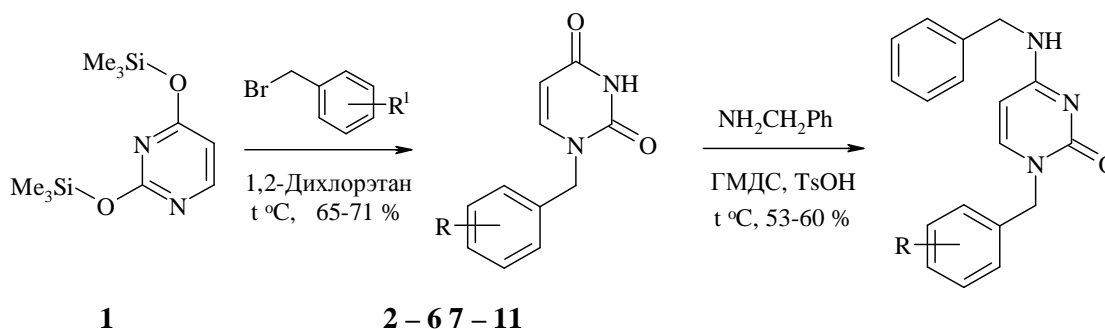


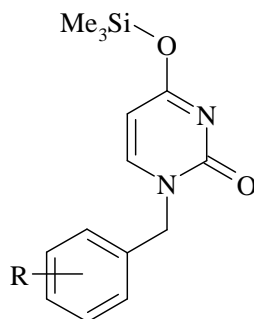
Схема R = H (7), 2-CH₃ (8), 3-CH₃ (9), 4-CH₃ (10), 3-Cl (11)

По всей вероятности, процесс аминирования протекает через стадию образования 4-(триметилсилилокси)пиримидин-

2(1Н)-она 12, нуклеофильное замещение триметилсилилокси-группы которого бензиламином дает целевые 4-бензиламино-

производные **7** – **11**. Следует отметить то, что триметилсилилокси-группа занимает в пространстве значительный объем и оказывает существенное влияние на процесс замещения. Триметилсилилокси-группа

экранирует атом углерода в положении 4 пиримидинового цикла, что значительно снижает скорость реакции. По этой причине реакция требует длительного нагревания.



12

Первичный скрининг наличия антибактериальной и противогрибковой активности соединений **7** – **11** проводился в микробиологической лаборатории Волгоградского научно-исследовательского противочумного института (ВолгНИПЧИ).

Для оценки выраженности антибактериального действия на модельные микроорганизмы использовался ряд серийных разведений исследуемого вещества кратный концентрации 2×10^{-4} М.

Точную навеску исследуемого вещества растворяли в 1 мл димексида, при нагревании на водяной бане до полного растворения, полученный раствор затем без охлаждения тировали в горячем физиологическом растворе (рН = 7,0) до разведения, позволяющего получить конечную концентрацию 2×10^{-8} М в питательной среде. Полученные растворы добавляли соответственно в питательный агар Хоттингера, который разливали по 25 мл в чашки Петри [1, 2].

Чувствительность клеток микроорганизмов к исследуемым субстанциям оценивали путем посева микробной взвеси на контрольные и селективные плотные агаровые среды с последующим сравнением эффективности роста на них. Таким образом, осуществляли анализ устойчивости каждого модельного вида микроорганизма к действию химического агента [2].

Степень активности (в данном исследовании выраженная через величину МПК50 – минимальной подавляющей

концентрации антибиотика (моль/л, мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* подавляет видимый рост 50% исследованных штаммов) колеблется в зависимости от вида микроорганизма и свойств штаммов.

В исследовании были использованы стандартные штаммы из коллекции микроорганизмов ВолгНИПЧИ: *Klebsiella pneumoniae* 3, *Escherichia coli* K-12, *Staphylococcus aureus* 209, *Pseudomonas aeruginosa* 4000, *Salmonella paratyphi* B 625, *Candida albicans*.

Из исходных штаммов методом серийных разведений готовили бактериальные суспензии с последующим высевом на агаровые пластинки со стандартной средой в дозе 100 м.кл. (микробных клеток). Посев проводили из 2-3-х разведений микробной взвеси на 3-4 чашки питательного агара из расчета не менее 60 колоний на каждой из них. Посевную дозу в 0,2 мл, содержащую 100-250 млн.кл., распределяли по агаровой поверхности раскатыванием. Через 24-48 часов инкубации при +37 °С визуально оценивали результат путем подсчета изолированных колоний на поверхности агаровых пластинок [1, 2]. Все необходимые расчеты проводили, принимая за 100 % концентрацию жизнеспособных клеток на контрольных средах [4]. Наличие димексида в питательной среде не оказывало влияния на рост микроорганизмов (по результатам контрольного опыта).

Исследуемые субстанции проявили различную противомикробную активность в отношении модельных штаммов микроорганизмов. Результаты исследований представлены в Таблице.

В исследовании выявлена высокая бактериостатическая активность 1-бензил-4-(бензиламино)пиримидин-2(1H)-она (**7**) и 1-(3-хлорбензил)-4-(бензиламино)пиримидин-2(1H)-она (**11**).

Для соединения **7** установлена высокая антибактериальная активность, $МПК_{50} = 2 \times 10^{-8}$ М в отношении модельных штаммов *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. Кроме того, соединение **7** проявило среднюю бактериостатическую активность в отношении штамма *Pseudomonas aeruginosa*, однако в данном случае оно оказалось менее эффективным и $МПК_{50}$ превысила 2×10^{-8} М.

Добавление в питательную среду соединения **11** в концентрации 2×10^{-8} М снижало рост микробных клеток стафилококков в два раза, что является показателем наличия высокой антибактериальной активности. При этом выживаемость

штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa* осталась прежней.

Для сравнения, $МПК_{50}$ современного антибактериального препарата ципрофлоксацина для большинства штаммов *Staphylococcus aureus* составляет 0,5 мг/л [3].

Не установлено достоверно значимого влияния соединений **8**, **9** и **10** на жизнеспособность исследуемых микроорганизмов.

Основываясь на полученных данных можно сделать вывод о том, что наличие в бензильном фрагменте метильных групп снижает активность соединений, а введение хлора в ароматическое кольцо, напротив, приводит к усилению антибактериальной активности. Таким образом, поиск соединений с антибактериальной активностью в ряду 1-бензилзамещенных 4-аминопиримидин-2(1H)-онов является перспективным и актуальным.

Таблица 1. Чувствительность модельных микроорганизмов к некоторым полученным субстанциям

Исследуемое вещество			Количество жизнеспособных клеток, %											
			<i>Escherichia coli</i> K-12		<i>Salmonella typhimurium</i> B 625		<i>Staphylococcus aureus</i> 209		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4000		<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3		<i>Candida albicans</i>	
Соединение	Мг	Навеска, мг	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
7	341, 818	72, 84	100	86	100	78	100	53	100	68	100	55	100	93
8	307, 378	76, 35	100	85	100	92	100	98	100	94	100	92	100	98
9	307, 378	76, 35	100	99	100	87	100	99	100	88	100	88	100	93
10	307, 378	76, 35	100	94	100	96	100	96	100	89	100	87	100	99
11	321, 408	81, 45	100	91	100	93	100	50	100	92	100	92	100	89

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ^1H регистрировали на спектрометре Bruker DRX-500 (500 МГц) в ДМСО- D_6 , внутренний стандарт ТМС. 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). ТСХ выполняли на пластинах Silufol UV-254, проявление в парах йода, элюент: хлороформ-метанол, 10 : 1. Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе Mel-Temp 3,0 (Laboratory Devices Inc., США).

Общая методика получения 1-бензилзамещенных урацилов 2 – 6. К раствору 0,244 моль толуола, ксилола или *m*-хлортолуола в 30 мл тетрахлорметана при кипении по каплям прибавляют раствор 2,2 мл (42,70 ммоль) брома в 10 мл тетрахлорметана. Растворитель упаривают при пониженном давлении, остаток прибавляют к раствору 9,95 г (38,40 ммоль) 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина в 30 мл 1,2-дихлорэтана и полученную смесь кипятят 12 ч. Затем реакционную массу охлаждают до комнатной температуры, обрабатывают 10 мл этанола, выпавший осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из смеси ацетона-ДМФА (3 : 1).

1-Бензилурацил (2). Получают с выходом 70 % в виде белого мелкокристаллического вещества; Т.пл. 173-174 °С (169-170 °С [5]) и R_f 0,47. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 4,78 с (2H, CH_2); 5,58 д (1H, $J = 8$ Гц, H-5); 6,98-7,24 м (5H, ароматические H); 7,66 д (1H, $J = 8$ Гц, H-6); 11,25 с (1H, NH).

1-(2-Метилбензил)урацил (3). Получают с выходом 70% в виде мелкокристаллического продукта с желтоватым оттенком; Т.пл. 214-218 °С. Повторная кристаллизация из этанола дала белый мелкокристаллический продукт с т.пл. 218-219 °С и R_f 0,53. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 2,16 с (3H, CH_3); 4,79 с (2H, CH_2); 5,56 д (1H, $J = 8$ Гц, H-5); 6,88-

7,14 м (4H, ароматические H); 7,63 д (1H, $J = 8$ Гц, H-6); 11,18 с (1H, NH).

1-(3-Метилбензил)урацил (4). Получают с выходом 80 % в виде мелкокристаллического продукта с желтоватым оттенком; Т.пл. 146-150 °С. Повторная кристаллизация из этанола дала продукта в виде белых мелких пластинок с Т.пл. 149-151 °С и R_f 0,60. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 2,18 с (3H, CH_3); 4,82 с (2H, CH_2); 5,57 д (1H, $J = 8$ Гц, H-5); 6,89-7,07 м (4H, ароматические H); 7,65 д (1H, $J = 8$ Гц, H-6); 11,09 с (1H, NH).

1-(4-Метилбензил)урацил (5). Получают с выходом 71 % в виде мелкокристаллического продукта желтоватого цвета; Т.пл. 182-188 °С. Повторная кристаллизация из этанола дала продукт в виде белого мелкокристаллического вещества с Т.пл. 195-197 °С и R_f 0,47. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 2,19 с (3H, CH_3); 4,80 с (2H, CH_2); 5,54 д (1H, $J = 8$ Гц, H-5); 6,90-7,11 м (4H, ароматические H); 7,60 д (1H, $J = 8$ Гц, H-6); 11,23 с (1H, NH).

1-(3-Хлорбензил)урацил (6). Получают с выходом 65 % в виде белого мелкокристаллического вещества с Т.пл. 202-205 °С и R_f 0,59. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 4,79 с (2H, CH_2); 5,57 д (1H, $J = 8$ Гц, H-5); 6,98-7,26 м (4H, ароматические H); 7,65 д (1H, $J = 8$ Гц, H-6); 11,26 с (1H, NH).

Общая методика получения 1-бензил-4-(бензиламино)пиримидин-2(1H)-онов 7 – 11. Смесь 14,79 ммоль 1-бензилурацила 2 – 6, 5,0 мл (45,77 ммоль) бензиламина и 30 мл ГМДС кипятят в присутствии каталитических количеств TsOH и NH_4Cl в течение 32 ч, упаривают в вакууме, остаток растворяют в 20 мл этанола и выливают в 200 мл холодной воды. Полученную смесь помещают в холодильник на ночь. Выпавший осадок отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из смеси ацетон-уксусная кислота (8 : 1).

1-Бензил-4-(бензиламино)пиримидин-2(1H)-он (7). Получают с выходом 60 % вещества в виде белых блестящих мелких игольчатых кристаллов с Т.пл. 152-153 °С и R_f 0,70. Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 4,43 д (2H, $J = 5,7$ Гц, NHCH_2); 4,79 с (2H, NCH_2);

5,73 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-5); 7,19-7,24 м (5H, ароматические Н); 7,61 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-6); 8,04 т (1H, $J = 5,7$ Гц, NH). Масс-спектр, m/z : 291 [M]⁺.

1-(2-Метилбензил)-4-

(бензиламино)пиримидин-2(1H)-он (8). Получают с выходом 53 % вещества в виде мелкокристаллического вещества белого цвета с Т.пл. 179-181 °С и R_f 0,48. Спектр ¹H ЯМР (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 2,14 с (3H, CH₃); 4,43 д (2H, $J = 6$ Гц, NHCH₂); 4,79 с (2H, NCH₂); 5,75 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-5); 7,10-7,23 м (4H, ароматические Н); 7,64 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-6); 8,04 т (1H, $J = 5,5$ Гц, NH). Масс-спектр, m/z : 305 [M]⁺.

1-(3-Метилбензил)-4-

(бензиламино)пиримидин-2(1H)-он (9). Получают с выходом 54 % вещества в виде мелкокристаллического вещества белого цвета с Т.пл. 162-164 °С и R_f 0,51. Спектр ¹H ЯМР (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 2,16 с (3H, CH₃); 4,42 д (2H, $J = 6$ Гц, NHCH₂); 4,76 с (2H, NCH₂); 5,74 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-5); 7,11-7,17 м (4H, ароматические Н); 7,64 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-6); 8,07 т (1H, $J = 5,5$ Гц, NH). Масс-спектр, m/z : 305 [M]⁺.

1-(4-Метилбензил)-4-

(бензиламино)пиримидин-2(1H)-он (10). Получают с выходом 53 % вещества в виде мелкокристаллического вещества белого цвета с Т.пл. 172-174 °С и R_f 0,53. Спектр ¹H ЯМР (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 2,17 с (3H, CH₃); 4,42 д (2H, $J = 6$ Гц, NHCH₂); 4,77 с (2H, NCH₂); 5,73 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-5); 7,04-7,21 м (4H, ароматические Н); 7,65 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-6); 8,07 т (1H, $J = 5,5$ Гц, NH). Масс-спектр, m/z : 305 [M]⁺.

1-(3-Хлорбензил)-4-

(бензиламино)пиримидин-2(1H)-он (11). Получают с выходом 59 % вещества в виде белых мелких кристаллов белого цвета с Т.пл. 192-194 °С и R_f 0,57. Спектр ¹H ЯМР (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 4,43 д (2H, $J = 6$ Гц,

NHCH₂); 4,79 с (2H, NCH₂); 5,75 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-5); 7,17-7,34 м (4H, ароматические Н); 7,66 д (1H, $J = 7,5$ Гц, Н-6); 8,08 т (1H, $J = 5,5$ Гц, NH). Масс-спектр, m/z : 326 [M]⁺.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Герхардт Ф. Методы общей бактериологии. – М.: Мир, 1983. – Т.1-3.
2. Пучков Е. О. Методы определения содержания и жизнеспособности микроорганизмов // Биотехнология. – 1988. – Т.4. - №1. – С.132 – 142.
3. Страчунский Л.С., Дехнич А.В., Белькова Ю.А., группа исследователей проекта СтЭнт. Сравнительная активность антибактериальных препаратов, входящих в лекарственные формы для местного применения, в отношении *Staphylococcus aureus*: результаты российского многоцентрового исследования // Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия. – 2002. – Т. 4. – № 2. – С.15
4. Форбрюгген Г. Триметилсиланол как уходящая группа в препаративной органической химии. В сб. «Современные направления в органическом синтезе» под ред. Нодзаки Х. – М.: Мир, 1986, С. 424-433.
5. Kundu N.G., Sikdar S., Hertzberg R.P., Schmitz S.A., Khatri S.G. Studies on uracil derivatives and analogues. Part 8. A non-catalytic method for the conversion of uracil derivatives into dihydrouracil derivatives. J. Chem. Soc. Perkin Trans. Pt. 1, 1985, P. 1295-1300.
6. Robins M.J., Hatfield P.W. Nucleic acid related compounds. 37. Convenient and high-yield synthesis of N-[(2-hydroxyethoxy)methyl]heterocycles as "acyclic nucleoside" analogues. Can. J. Chem., 1982, 60, N 5, P. 547-553.

SYNTHETIC ROUTE AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOME 1-BENZYL-4-ARYLAMINOPYRIMIDINE -2(1H)-ONS

Timofeyeva K.V., Novikov M.S.

Volgograd state medical university, chair of pharmaceutical and toxicological chemistry

New efficient synthetic route to the 1-benzyl-4-arylamino derivatives of uracil have been developed in relation too the potential antibacterial activity of these series. The optimum reactions conditions have been defined (time, temperature, solvent, catalyzer and etc.). Physical and chemical properties of the compounds have been studied. This compounds have been evaluated for antibacterial activity. 1-benzyl-4-(benzylamino)pyrimidine -2(1H)-on (7) and 1-(3-chlorobenzyl)- 4-(benzylamino)c were most potent antibacterial compounds.