

УДК 547.793.4

СИНТЕЗ АЦЕТАМИДНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНА И ПРОГНОЗ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

Кривовяз А.А., Лендел В.Г.

*Ужгородский национальный университет, Ужгород, Украина
E-mail: 1977andr13@mail.ru*

На основании усовершенствованного метода получены ацетамидные производные пириимидина. Проведена дальнейшая функционализация исходных пириимидиновых систем с целью синтеза производных 1,3,4-оксадиазола. Конечные продукты подвергнуты компьютерному прогнозированию спектров биологической активности, проверены на соответствие критериям Липински и токсичность. Определены соединения-лидеры.

Ключевые слова: ацетамидные производные пириимидина, 1,3,4-оксадиазол, биологический скрининг, соответствие критериям Липински.

ВВЕДЕНИЕ

Последнее время наблюдается большой интерес к производным пириимидина с разными гетероциклическими заместителями как соединениям с широкой биологической активностью [1, 2]. Присутствие в их составе ацетамидного фрагмента позволяет сделать предположение о потенциальной активности полученных продуктов по отношению к различным микроорганизмам. Поиск и разработка простых в исполнении методов синтеза таких производных является актуальной задачей еще и по той причине, что пириимидиновый гетероцикл очень распространен в органической природе и играет исключительно важную роль.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходные замещенные пириимидина 1–3 были получены разными способами. Так, соединение 1 синтезировано из тиомочевины, этилата калия и этилового эфира циануксусной кислоты [3].

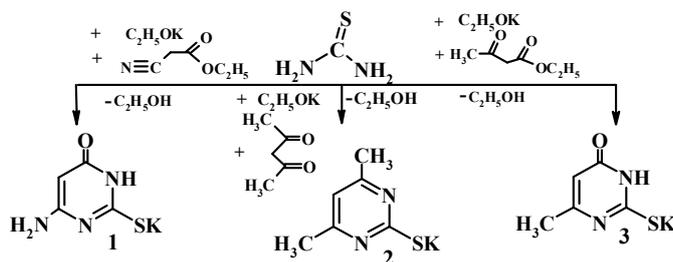
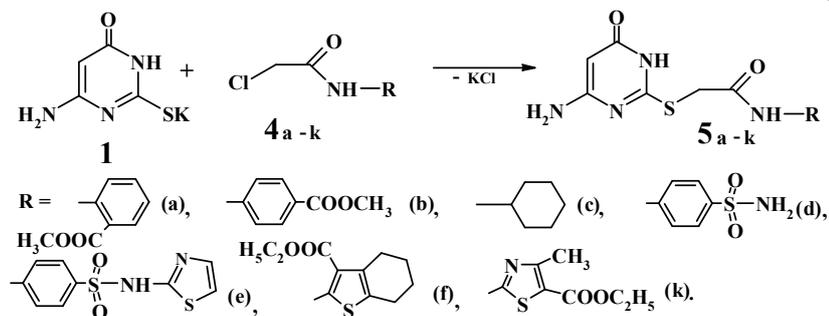


Схема 1

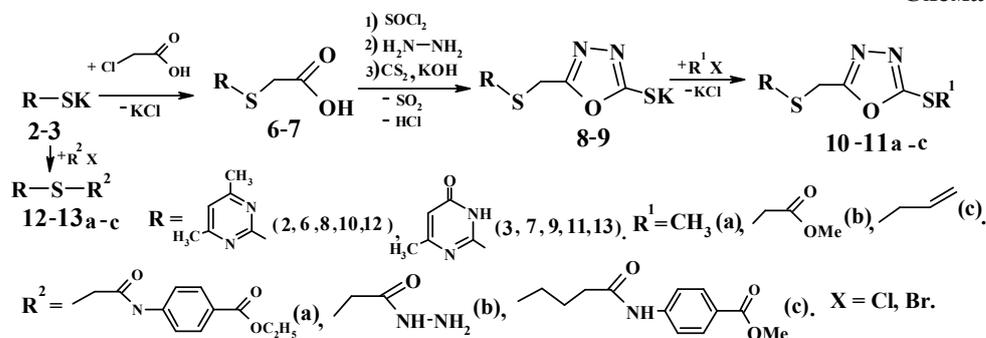
Калиевая соль 2-меркапто-4,6-диметилпириимидина **2** образуется при действии на тиомочевину ацетилацетоном в среде этилата калия [4], а в результате конденсации тиомочевины с ацетоуксусным эфиром [5] выделено соединение **3** (схема 1). Эти продукты **1–3** послужат модельными для дальнейшей функционализации. Калиевая соль пириимидина **1** была подвергнута алкилированию синтонами **4a–k**. Из спиртового раствора выделены продукты **5a–k** (схема 2). Следует заметить, что в таких синтезах мы использовали усовершенствованную нами методику получения ацетамидных производных [6].

Схема 2



Функционализация исходных пириимидинов **2–3** проводилась по двум направлениям. Сначала была предпринята попытка провести удлинение углеродного скелета с дальнейшим синтезом на его основе новой гетероциклической системы **8–9**, а по другому направлению был осуществлен направленный синтез соединений **12–13a–c**, содержащие в своем составе фармакофорные фрагменты. Так, при действии на исходные калиевые соли **2–3** хлоруксусной кислотой, получены гетероциклические кислоты **6–7**. Проведя ряд последующих превращений (получение хлорангирида, этерификация, образование гидразида и его реакция с сероуглеродом) мы выделили новые производные 1,2,3-оксадиазола **8–9** (схема 3).

Схема 3



Далее было проведено их алкилирование в спиртовой среде. В результате выделены продукты **10–11a–c**. Получение продукта **10c** позволяет в будущем расширить границы наших исследований, поскольку появляется возможность изучать действие электрофилов (**Br₂**, **I₂**, **SeBr₄**, **PhSeBr₃**) на кратную связь аллильного фрагмента.

Структуры всех полученных соединений были подвергнуты компьютерной обработке по выявлению возможной биологической активности и соответствию критериям Липински (лекарствоподобности).

Экспериментальная часть. Спектры ЯМР ^1H получены на приборе “Varian VXR-300” (300 МГц) в DMSO-d_6 с внутренним стандартом ТМС.

Протонные спектры соединений **5a**, **5d** и **5k** представлены в работе [6].

Калиевая соль 4-метил-2-тио-1,6-дигидро-6-пиримидинона 3. 0,60 моль металлического калия растворяют в 30 мл безводного этанола. После этого, в реакционную колбу прибавляют 0,50 моль растертой тиомочевины и приливают 0,50 моль ацетоуксусного эфира. Реакционную смесь кипятят 2 ч. После охлаждения в колбу добавляют 30 мл соляной кислоты. Белый осадок основания **3** отфильтровывают и снова растворяют в насыщенном растворе 0,50 моль гидроксида калия в воде. Кристаллы калиевой соли **3** отфильтровывают, промывают этанолом и сушат на воздухе. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 2,07 с (3H, CH_3); 5,68 с (1H, CH); 12,27 уш. с (1H, NH). Выход – 89 %. Найдено (%): N 19,66. $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}_2\text{OSK}$. Вычислено (%): N 19,70.

Общая методика получения продуктов 5a–k и 12–13a–с. В реакционной колбе, нагревают 0,50 моль калиевой соли **1** с 0,50 моль синтона **4b** или алкилирующего реагента, образованного из соответствующего ароматического амина и эквимолярного количества хлорацетилхлорида в 25 мл этанола. Реакционную смесь нагревают (60–80 °С) в течение 1 ч. После охлаждения выпавшие кристаллы **5a–k** или **12–13a–с** отфильтровывают, промывают водой, этанолом и сушат на воздухе.

(4-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)метил бензоат 5b. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 3,85 с (3H, CH_3); 4,39 д (2H, SCH_2); 4,96 с (1H, CH); 6,60 д (2H, NH_2); 7,61 д (2H, 2CH); 7,91 д (2H, 2CH); 11,58 м (1H, NH). Выход – 85 %. Найдено (%): N 16,72. $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$. Вычислено (%): N 16,76.

N1-Циклогексил-2-(4-амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)ацетамид 5c. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 1,18 м (4H, 2CH_2); 1,68 м (4H, 2CH_2); 3,49 м (2H, CH_2); 3,71 д (2H, CH_2); 4,97 с (1H, NH); 6,52 с (2H, NH_2); 7,94 д (1H, CH); 11,65 м (1H, NH). Выход – 71 %. Найдено (%): N 19,80. $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}$. Вычислено (%): N 19,84.

N1-[4-(1,3-Тиазол-2-сульфамидо)фенил]-2-(4-амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)ацетамид 5e. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 4,00 д (2H, NH_2); 5,04 с (1H, NH); 6,54 д (2H, CH_2); 6,83 д (1H, CH); 7,26 д (1H, CH); 7,76 м (4H, 4CH_{Ph}); 10,50 с (1H, NH). Выход – 68%. Найдено (%): N 19,06. $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_4\text{S}_3$. Вычислено (%): N 19,17.

(4-Амино-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)-4,5,6,7-тетрагидробензо[b]тиофен-3-этилкарбоксилат 5f. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 1,27 т (3H, OC_2H_5); 1,72 м (4H, 2CH_2); 2,60 д (4H, 2CH_2); 4,08 д (2H, NH_2); 4,28 м (2H, OC_2H_5); 5,07 м (1H, NH); 6,51 м (1H, CH); 11,61 м (1H, NH). Выход – 61 %. Найдено (%): N 13,68. $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2$. Вычислено (%): N 13,72.

(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)этилбензоат 12a. Спектр ЯМР ^1H (DMSO-d_6): 1,31 т (3H, OC_2H_5); 2,32 с (6H, 2CH_3); 4,07 д (2H, SCH_2); 4,30 м (2H, OC_2H_5); 6,96 с (1H, CH_{Ph}); 7,73 д (2H, 2CH_{Ph}); 7,92 д (2H, 2CH); 10,58 с (1H, NH). Выход – 79%. Найдено (%): N 12,08. $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$. Вычислено (%): N 12,17.

Гидразид (4,6-диметил-2-тиопиримидин)уксусной кислоты 12b. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,35 с (6H, 2CH₃); 3,79 с (2H, SCH₂); 4,34 м (2H, NH₂); 6,97 с (1H, CH); 9,23 с (1H, NH). Выход – 73%. Найдено (%): N 26,37. C₈H₁₂N₄OS. Вычислено (%): N 26,39.

Гидразид (4-метил-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидин)уксусной кислоты 13b. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,65 с (3H, CH₃); 3,37 д (2H, CH₂); 4,74 м (1H, NH); 5,39 с (1H, CH); 9,12 м (2H, NH₂); 14,20 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 12,05. C₁₆H₁₇N₃O₄S. Вычислено (%): N 12,10.

[3-(4,6-Диметил-2-тиопиримидин)пропилкарбоксамидо]метилбензоат 12c. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 1,30 т (3H, OCH₃); 2,06 т (2H, CH₂); 2,55 д (3H, CH₃); 3,71 т (2H, CH₂); 4,29 м (2H, CH₂); 6,52 д (1H, CH); 7,77 д (2H, 2CH_{Ph}); 7,91 д (2H, 2CH_{Ph}); 10,41 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 11,64. C₁₈H₂₁N₃O₃S. Вычислено (%): N 11,69.

(4-Метил-6-оксо-1,6-дигидро-2-тиопиримидинметилкарбоксамидо)этил бензоат 13a. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 1,31 т (3H, OC₂H₅); 2,11 с (3H, CH₃); 4,11 с (2H, CH₂); 4,30 м (2H, CH₂); 6,01 м (1H, CH); 7,72 д (2H, 2CH_{Ph}); 7,93 д (2H, 2CH_{Ph}); 10,61 с (1H, NH); 12,56 м (1H, NH). Выход – 71%. Найдено (%): N 12,05. C₁₆H₁₇N₃O₄S. Вычислено (%): N 12,10.

2-(4,6-Диметил-2-тиопиримидин)уксусная кислота 6. Нагревают 0,50 моль калиевой соли пиримидина **2** с раствором 0,50 моль хлоруксусной кислоты в 20 мл этанола в течение 60 мин. Выпавший осадок продукта **4** отфильтровывают, промывают дистиллированной водой и этанолом, сушат на воздухе. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,34 с (6H, 2CH₃); 3,91 д (2H, SCH₂); 6,97 с (1H, CH); 12,60 м (1H, OH). Выход – 85%. Найдено (%): N 21,00. C₇H₉N₃O₂S. Вычислено (%): N 21,09.

5-(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметил)-2,3-дигидро-1,3,4-оксадиазол-2-тион 8. К 0,50 моль твердой исходной кислоты **6** приливают 1,0 моль тионилхлорида. Реакционную смесь нагревают 6 ч. После охлаждения в колбу добавляют 0,60 моль гидразингидрата и содержимое колбы перемешивают 2 ч. Образовавшийся белый осадок гидразида отфильтровывают, промывают этанолом и сушат на воздухе. При использовании известной методики получения 1,3,4-оксадиазолов из гидразида, сероуглерода и гидроксида калия получена калиевая соль оксадиазола. Учитывая ее плохую способность к кристаллизации, была осаждена тионная форма **8** действием раствора соляной кислоты. Конечный продукт был отфильтрован, промыт этанолом, водой и высушен на воздухе. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,35 с (6H, 2CH₃); 4,51 д (2H, CH₂); 7,03 с (1H, NH). Выход – 80%. Найдено (%): N 27,38. C₈H₉N₅OS₂. Вычислено (%): N 27,43.

Общая методика алкилирования производных 1,3,4-оксадиазола 8–9. Растворяют 0,50 моль тиона 1,3,4-оксадиазола **8–9** в 20 мл спиртового раствора 0,50 моль гидроксида калия. К образованному раствору добавляют 0,60 моль соответствующего алкилгалогенида. Реакционную смесь нагревают в течение 40 мин. Белый осадок отфильтровывают, промывают этанолом, дистиллированной водой и сушат на воздухе.

[5-(4,6-Диметил-2-тиопиримидинметил)-1,3,4-оксадиазол]метилацетат 10b. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,34 с (6H, 2CH₃); 3,65 д (3H, OCH₃); 4,19 д (2H, SCH₂); 4,63 д (2H, SCH₂); 7,02 с (1H, NH). Выход – 77%. Найдено (%): N 21,33. C₁₁H₁₃N₅O₃S₂. Вычислено (%): N 21,39.

4-Метил-2-(5-метилтио-1,3,4-оксадиазол-2-ил)-1,6-дигидро-6-пиримидион 11a. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,51 д (2H, CH_2); 2,56 с (3H, CH_3); 2,66 д (2H, SCH_2); 5,52 с (1H, CH); 5,93 с (1H, NH). Выход – 75%. Найдено (%): N 20,69. $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$. Вычислено (%): N 20,73.

4-Метил-2-(5-аллилтио-1,3,4-оксадиазол-2-ил)-1,6-дигидро-6-пиримидион 11c. Спектр ЯМР ^1H (DMSO- d_6): 2,26 с (3H, CH_3); 2,65 д (2H, CH_2); 3,86 д (2H, SCH_2); 5,15 м (2H, $=\text{CH}_2$); 5,37 м (2H, CH_2); 5,53 с (1H, CH); 6,01 м (1H, $=\text{CH}_2$); 12,98 м (1H, NH). Выход – 77%. Найдено (%): N 18,85. $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2$. Вычислено (%): N 18,90.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате химических превращений получены устойчивые продукты **5a–k**, **6–9**, **10–13a–c**, которые были индивидуально выделены и идентифицированы по спектрам. Так, для соединений **5a–k** и **12–13a–c** наблюдаются сигналы протона амидной группы (NH) в виде синглета в области 10,50–12,50 м.д. и 10,40–12,55 м.д. Для соединения **6** в спектре ЯМР ^1H наблюдается сигнал протона карбоксильной группы в виде размытого синглета в слабом поле при 12,60 м.д. Спектральные данные для оксадиазольных продуктов **8–9** также подтверждают их структуру, при этом сигналы двух метильных групп пиримидина проявляются синглетом при 2,35 м.д. В продукте алкилирования **11a** присутствует сигнал протонов CH_3 -группы в виде синглета при 2,56 м.д., а аллильный фрагмент соединения **11c** проявляется дублетом при 3,86 м.д. (SCH_2), двумя дублетами при 5,15 и 5,37 м.д. ($=\text{CH}_2$) и мультиплетом при 6,01 м.д. ($=\text{CH}$).

Таблица 1

Вероятность проявления некоторых видов биологической активности для соединений **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b**

Номер соединения	Противотуберкулезная	Периферическая	Антибактериальная активность	Противоопухолевая (рак легких)	Ингибитор трансферазы	Антимикобактериальная	Антигиперхолестерическая	Противоартритная	Ингибитор НАДФ пероксидазы	Противосеборейная	Ингибитор дегидрогеназы
6					0,881 ¹		0,748 ¹ 0,759 ²	0,858 ¹	0,835 ¹ 0,572 ²	0,826 ¹ 0,812 ²	0,642 ²
10b		0,691 ¹ 0,765 ²		0,807							
11a		0,844 ¹ 0,934 ²	0,515 ²	0,804							
12b	0,768 ¹ 0,729 ²		0,596 ²		0,720 ¹	0,700 ¹ 0,664 ²	0,745 ¹ 0,747 ²				0,823 ¹ 0,820 ²
13b	0,747 ¹ 0,719 ²		0,519 ²			0,736 ¹ 0,700 ²					0,647 ¹ 0,646 ²

Примечания: ¹-Вероятность проявления биологической активности программой PASS.

²-Вероятность проявления биологической активности сервисом Pharmaexpert.

Кроме того, мы также ставили задачу проверить компьютерными расчетами вероятность проявления спектра биологической активности. Для реализации этого мы использовали систему PASS [7] и программу Pharmaexpert [8], которые прогнозируют на основе структурной формулы соединения более 500 видов активностей и помогают сузить границы экспериментального скрининга для выявления соединений-лидеров. В Таблице 1 приведены результаты таких расчетов и представлены только вероятности проявления (*Pa*) биологического действия. Соединения **5a–k**, **8**, **11c**, **12a**, **12c**, **13a** при расчете не показали высокой активности и были исключены из дальнейших исследований. Перспективные соединения **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b** были проверены также на соответствие критериям Липински [9] и токсичность [10]. Для таких расчетов использовались бесплатные сервисы с набором программ [10, 11].

Таблица 2

Расчет критериев Липински и токсичности для продуктов **6**, **10b**, **11a**, **12b**, **13b**

Номер соединения	Log P	Молекулярная полярная поверхность, Å ²	Не водородные атомы	Молекулярная масса	Акцепторы водородных связей (O,N)	Количество доноров водородной связи (NH)	Вращающиеся связи	Молекулярный объем, Å ³	Расчет токсичности вещества согласно сервису [10]		
									Внутривенно LD ₅₀ (mg/kg) Class 5	Орально LD ₅₀ (mg/kg) Class 4	Подкожно LD ₅₀ (mg/kg) Class 4
6	1,394	63,08	13	198,2	4	1	3	170,7	466,10	912,00	964,90
10b	1,831	91,01	21	326,4	7	0	7	267,9	351,40	890,40	1778,00
11a	1,194	84,68	17	270,3	6	1	4	214,7	490,80	700,40	884,10
12b	0,194	80,91	14	212,3	5	3	3	186,5	418,00	600,20	634,40
13b	0,969	100,80	14	214,2	6	4	3	178,0	390,00	441,40	911,80

ВЫВОДЫ

1. Впервые получена серия ацетамидных производных пиримидина **5a–k** и **12–13a–c**.
2. Проведена дальнейшая функционализация пиримидинов **2–3** с образованием производных 1,3,4-оксадиазола **8–9**. Алкилированием получены его тиоэферы **10–11a–c**.
3. Проведен компьютерный прогноз биологической активности с помощью программы PASS, Pharmaexpert, согласование критериям Липински и проверка токсичности (малотоксичные – класс 4, нетоксичные – класс 5) всех полученных соединений.
4. Определены соединения-лидеры (**6**, **12b**, **13b**) для дальнейшего исследования.

Список литературы

1. Studies on α -[6-(2'-methoxynaphthalenyl)-4-phenylpyrimidinylthio]- β -(4-phenylbenzoyl)propionic acid and the biological activity of some products / M.M. Arief, S.A. Essawy, A.A. Wasfy [et al.] // Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements. – 1994. – Vol. 91, № 1,4. – P. 1–7.
2. Synthesis and Biological Study of Some Novel 4-[5-(4,6-Disubstituted-2-thiomethylpyrimidyl)-4'-amino-1,2,4-triazol-3'-yl]thioacetyl-3-arylsydnone / B. Kalluraya, B. Lingappa, S.R. Nooji [et al.] // Phosphorus, Sulfur, Silicon and the Related Elements. – 2007. – Vol. 182, № 6. – P. 1393–1401.
3. Structure-Based Design, Synthesis, and in vitro evaluation of Bisubstrate Inhibitors for Catechol O-Methyltransferase / B. Masjost, P. Ballmer, E. Borroni [et al.] // Chemistry A European Journal. – 2000. – Vol. 6, № 6. – P. 971–982.
4. Pat. US 3932375 (A). Use of 2-pyrimidine thiol carbonates as acylating agents for amino or imino containing compounds / N. Takeshi, K. Katumasa, K. Kouichi – US1974047918819740613; publ. 13.01.1976.
5. Ringspaltungsreaktion von Thiadiazolo- und Triazolopyrimidin-Derivaten / T. Okabe, E. Taniguchi, K. Maekawa [et al.] // Bulletin of the Chemical Society of Japan. – 1974. – Vol. 47. – P. 2813–2817.
6. Кривов'яз А.О. Функціоналізація 4-аміно-2-тіо-6-піримідинонів / А.О. Кривов'яз, Ю.І. Фаринюк, В.Г. Лендел // Науковий вісник ужгородського університету. Серія Хімія. – 2009. – Вип. 22. – С. 123–126.
7. Orechovich V.N. Institute of Biomedical Chemistry. PASS: <http://195.178.207.233/PASS/>.
8. Pharmaexpress: <http://pharmaexpert.ru/PASSonline/predict.php>.
9. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney [et al.] // Adv. Drug. Delivery Rev. – 1997. – Vol. 23. – P. 4–25.
10. Pharmaexpress, Gusar online: <http://www.pharmaexpert.ru/GUSAR/acutoxpredict.html>.
11. Molinspiration Cheminformatics: <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>.

Кривов'яз А.О. Синтез ацетамідних похідних піримідину та прогноз їх біологічної активності / А.О. Кривов'яз, В.Г. Лендел // Вчені записки Таврійського національного університету ім. В.І. Вернадського. Серія „Біологія, хімія”. – 2011. – Т. 24 (63), № 2. – С. 360–366.

На основі вдосконаленого методу одержані оцетамідні похідні піримідину. Проведена подальша функціоналізація вихідних піримідинових систем з метою синтезу похідних 1,3,4-оксадіазолу. Кінцеві продукти були піддані комп'ютерному прогнозуванню спектрів біологічної активності, перевірені на відповідність критеріям Ліпінскі та токсичність. Визначено сполуки-лідери.

Ключові слова: ацетамідні похідні піримідину, 1,3,4-оксадіазол, біологічний скринінг, відповідність критеріям Ліпінскі.

Kryvov'yaz A.O. Synthesis of derivatives pyrimidine and prediction their biological activity / A.A. Kryvov'yaz, V.G. Lendel // Scientific Notes of Taurida V. Vernadsky National University. – Series: Biology, chemistry. – 2011. – Vol. 24 (63), No. 2. – P. 360–366.

On the basis of the method obtained amide derivatives of pyrimidine. Carried out further functionalization received initial pyrimidine systems to the synthesis of 1,3,4-oxadiazole derivatives. All final products subjected to computer prediction of biological activity spectra and checked for criterion Lipinski. Identified compounds leaders.

Keywords: acetamide derivatives of pyrimidine, 1,3,4-oxadiazole, biological screening, criterion Lipinski.

Поступила в редакцію 25.05.2011 г.