

УДК 615.281.8:547.854

**СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 5-ФЕНИЛАМИНОУРАЦИЛА
КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИ-ВГС АГЕНТОВ****Гуреева Е.С., Бабков Д.А., Озеров А.А., Новиков М.С.***ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»,
Волгоград, e-mail: gureeva.es@mail.ru*

До недавнего времени терапия инфекции вируса гепатита С заключалась в регулярных инъекциях α -интерферона (ПЭГ-ИФН) с ежедневным пероральным приемом рибавирина. Это стандарт медицинской помощи, повышая иммунную систему организма, не действует непосредственно на вирус. Лечение ПЭГ-ИФН / рибавирин обладает умеренной эффективностью в лечении инфицированных пациентов, и лишь у 40–50% пациентов с 1 генотипом достигается устойчивый вирусологический ответ. Одним из наиболее перспективных направлений для терапии ВГС-инфекции являются нуклеозидные ингибиторы репродукции ВГС. С целью синтеза соединений, обладающих высокой анти-ВГС активностью, нами была осуществлена конденсация 2,4-бис(триметилсилилокси)-5-(фениламино)пиримидинов, полученных путем силилирования соответствующих 5-(фениламино)урацилов, с 4-(феноксид)бензилбромидом в растворе 1,2-дихлорэтана при кипячении в течение 30 ч были синтезированы 1-[4-(феноксид)бензил]-5-(фениламино)урацилы, содержащие заместители в фениламиновом фрагменте. Выход целевых соединений составил 60–74%. Изучены физико-химические и спектральные характеристики полученных веществ, а также активность в отношении ВГС.

Ключевые слова: производные урацила, синтез, N-алкилирование, анти-ВГС агенты**SYNTHESIS OF DERIVATIVES OF 5-PHENYLAMINO URACIL
AS POTENTIAL ANTI-HCV AGENTS****Gureeva E.S., Babkov D.A., Ozerov A.A., Novikov M.S.***Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: gureeva.es@mail.ru*

Until recently the current therapy for treating HCV infection has been regular injections of α -interferon (PEG-IFN) with daily oral administration of ribavirin (RBV). This standard of care functions by boosting the host immune system and does not act directly on the virus. PEG-IFN/RBV treatment is moderately successful in treating infected patients, as only 40–50% of genotype 1 patients achieve a sustained virological response. One of the most promising avenue for the treatment of HCV infection are non-nucleoside inhibitors of HCV reproduction. With the purpose of synthesizing compounds having high anti-HCV activity was carried out by us condensation of 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-(phenylamino)-pyrimidines obtained by silylation of the corresponding 5-(phenylamino) uracils with 4-(phenoxy)benzylbromide in a solution of 1,2-dichloroethane at reflux for 30 hours were synthesized 1-[4-(phenoxy)benzyl]-5-(phenylamino)uracils containing substituents in the phenylamine fragment. The yield of the target compounds was 60–74%. Physicochemical properties and spectral characteristics of novel compounds were studied, as well as activity against HCV.

Keywords: uracil derivatives, synthesis, N-alkylation, anti-HCV agents

Инфекция вируса гепатита С (ВГС) является глобальной проблемой современного здравоохранения. В настоящее время по приведенным в литературе оценкам около 3% мирового населения (180 млн. человек) инфицировано ВГС [10]. У 3–10% инфицированных в течение примерно 20 лет развивается цирроз печени с возможным последующим развитием гепатоцеллюлярной карциномы [7, 12]. Кроме того, с данным вирусом ассоциировано большое количество заболеваний, непосредственно не связанных с печенью и затрагивающих кровь, почки и другие органы [8].

Современные протоколы терапии, используемые для лечения ВГС-инфекции, основаны на регулярных инъекциях α -интерферона, а также его комбинации с нуклеозидным аналогом рибавирином (ежедневный пероральный прием) [1]. Следует отметить, что этот протокол лечения не оказывает прямого воздействия на вирус, а лишь стимулирует иммунную систему организма. По этой причине

данная терапия имеет крайне низкую эффективность, особенно в отношении вируса первого генотипа (чувствительными к терапии оказываются менее 30% пациентов) [3, 14].

Разработка первого поколения анти-ВГС агентов была сосредоточена на комбинации их с интерфероном/рибавирином с целью повысить процент излечения и снижения продолжительности лечения [2, 4, 6, 13]. Так, недавно два ингибитора протеазы NS3/4 – теллапревир и боцепревир (рис. 1) в сочетании с интерфероном/рибавирином были одобрены для лечения гепатита С у пациентов с генотипом 1. Обе эти комбинации лечения показали улучшенный вирусингибиторный эффект и сокращение продолжительности лечения. Тем не менее, они ограничены в лечении пациентов с генотипом 1, по-прежнему требуют дополнительной терапии интерфероном/рибавирином и сопровождаются побочными эффектами, которые требуют медицинского наблюдения.

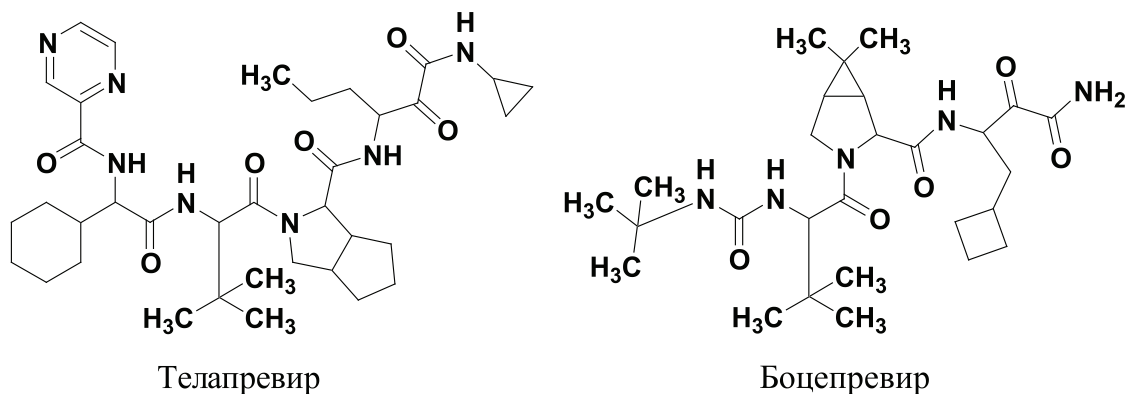


Рис. 1. Ингибиторы протеазы NS3/4

В связи с этим проблема создания новых ингибиторов репродукции ВГС в настоящее время является чрезвычайно актуальной.

Цель исследования. С целью поиска новых потенциальных анти-ВГС агентов нами был осуществлен синтез 5-фениламинопроизводных урацила, содержащих в положении 1 пиридинового цикла 4-феноксibenзильный фрагмент. Общая структура данного ряда соединений представлена на рис. 2.

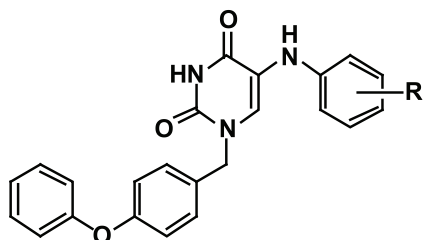


Рис. 2. 1-[4-(Феноксibenзил)]производные 5-(фениламино)урацила

Результаты исследования и их обсуждение

Целевые 1-[4-(феноксibenзил)-5-(фениламино)-производные урацила **18-25**, синтез которых представлен на рис. 3, были получены в две стадии. Аминирование исходного 5-бромурацила осуществлялось путем кипячения в растворе этиленгликоля с трехкратным мольным избытком соответствующего анилина, в соответствии с известным методом [5]. Вторая стадия заключалась в конденсации эквимолярных количеств 2,4-бис(триметилсилокси)-5-(фениламино)пиримидина **10-17** и 4-(феноксibenзил)бромида при кипячении в растворе безводного 1,2-дихлорэтана в течение 25–30 ч, как это было описано нами ранее [8]. При этом выход целевых продуктов **18-25** составил 60–74%.

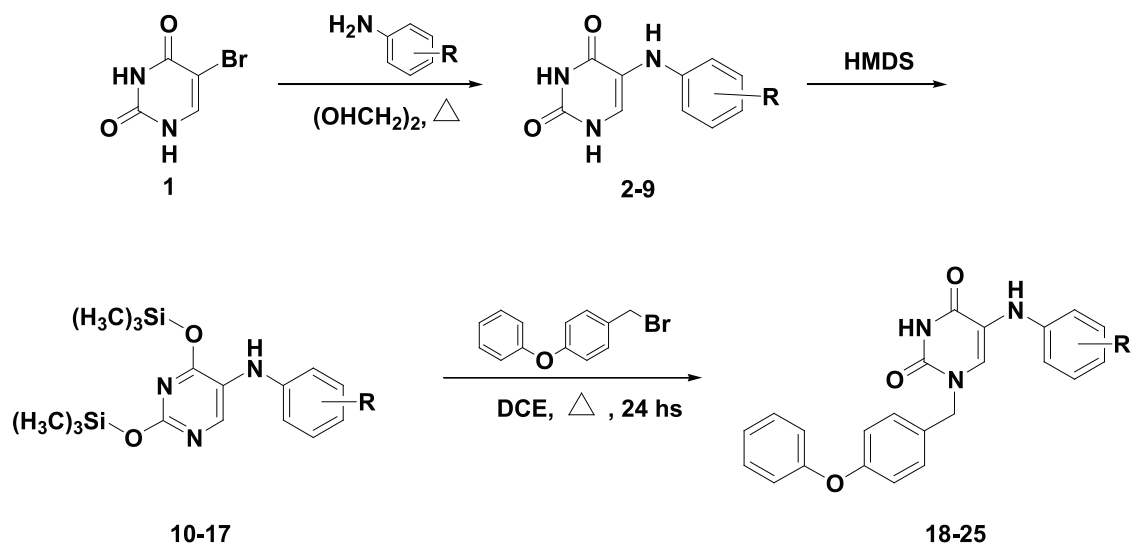


Рис. 3. Схема синтеза 1-[4-(феноксibenзил)]-5-(фениламино)урацилов

Структуры синтезированных соединений доказаны методом ЯМР-спектроскопии, чистота – тонкослойной

хроматографией. Физико-химические свойства целевых соединений представлены в табл. 1.

Таблица 1
Свойства 1-[4-(фенокси)бензил]-5-(фениламино)урацилов (18-25)

Соединения	R	Выход, %	R_f^*	$T_{пл.}^{\circ}C$
18	H	74	0,67	198–199
19	2-Me	66	0,77	146,5–148
20	3-Me	65	0,76	219–220
21	4-Me	71	0,76	223–225
22	3,4-Me ₂	64	0,78	214–216
23	3,5-Me ₂	60	0,80	153,5–155
24	2-OMe	67	0,79	184–185,5
25	3-OMe	60	0,70	192,5–194

Примечание. * этилацетат.

Материалы и методы исследования

Спектры ЯМР ¹H регистрировали на спектрометре «Bruker Avance 400» (400 МГц для ¹H) в СС14 и ДМСО-D6, внутренний стандарт тетраметилсилан. Тонкослойную хроматографию выполняли на пластинках «Merk TLS Silica gel 60 F254». В качестве элюента использовали этилацетат. Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе «Mel-Temp 3.0» (Laboratory Devices Inc., США).

Общий метод получения 5-фениламиноурацилов (2-9). К 5,0 г (0,026 моль) 5-бром-урацила (1) добавляют трехкратный мольный избыток соответствующего анилина и 50 мл этиленгликоля. Полученную смесь кипятят в течение 2 ч. Затем охлаждают до комнатной температуры и добавляют 100 мл воды. Полученный осадок фильтруют и высушивают. Перекристаллизовывают из диметилформамида.

Общий метод получения 1-[4-(фенокси)бензил]-5-(фениламино)урацилов (18-25). К 2,4-бис(триметилсилилокси)-5-(фениламино)пиримидину, полученному кипячением 5,98 ммоль соответствующего 5-фениламиноурацила (2-9) в избытке ГМДС, добавляют 11,96 ммоль 4-феноксibenзилбромида и 50 мл безводного 1,2-дихлорэтана. Полученную смесь кипятят в течение 30 ч с защитой от влаги воздуха. Затем реакционную массу обрабатывают 5 мл изопропанола и упаривают при пониженном давлении досуха, остаток перекристаллизовывают из смеси изопропанол-ДМФА.

1-(4-Феноксibenзил)-5-(фениламино)урацил (18). ¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 4,90 (2 H, с, CH₂), 6,69 (1 H, т, J = 7,3 Гц, Н-4'),

6,79 (2 H, дд, J = 8,7 и 1,0 Гц, Н-2', Н-6'), 6,98-7,18 (8 H, м, NH, Н-3', Н-5', Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-4''', Н-6'''), 7,35-7,43 (4 H, м, Н-3'', Н-5'', Н-3''', Н-5'''), 7,74 (1 H, с, Н-6), 11,61 (1 H, с, NH); ¹³C ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 49,7; 114,5; 116,8; 118,2; 118,7; 118,8; 123,6; 128,9; 129,6; 130,1; 132,1; 134,8; 145,7; 150,0; 156,3; 156,6; 161,9;

5-[(2-Метилфенил)амино]-1-(4-феноксibenзил)урацил (19). ¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 2,15 (3 H, с, CH₃), 4,88 (2 H, с, CH₂), 6,24 (1 H, уш.с., NH), 6,64 (1 H, д, J = 8,0 Гц, Н-6'), 6,70 (1 H, тд, J = 7,3 и 1,0 Гц, Н-4'), 6,95-7,03 (5 H, м, Н-5', Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-6'''), 7,05 (1 H, д, J = 7,2 Гц, Н-3'), 7,14 (1 H, тт, J = 7,4; 1,0 Гц, Н-4'''), 7,33-7,42 (4 H, м, Н-3'', Н-5'', Н-3''', Н-5'''), 7,52 (1 H, с, Н-6), 11,58 (1 H, с, NH); ¹³C ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 21,8; 53,8; 118,7; 121,8; 122,9; 122,9; 123,4; 127,8; 128,9; 130,7; 133,8; 134,3; 134,5; 136,3; 138,2; 147,6; 154,2; 160,5; 160,8; 165,9;

5-[(3-Метилфенил)амино]-1-(4-феноксibenзил)урацил (20). ¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 2,17 (3 H, с, CH₃), 4,89 (2 H, с, CH₂), 6,50 (1 H, д, J = 7,6 Гц, Н-4'), 6,53-6,62 (3 H, м, Н-2', Н-5', Н-6'), 6,91 (1 H, уш.с., NH), 6,96-7,04 (4 H, м, Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-6'''), 7,11-7,17 (1 H, м, Н-4'''), 7,35-7,42 (4 H, м, Н-3'', Н-5'', Н-3''', Н-5'''), 7,68 (1 H, с, Н-6), 11,55 (1 H, с, NH); ¹³C ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 25,5; 53,8; 116,2; 119,1; 121,1; 122,9; 123,4; 127,8; 133,0; 133,8; 134,3; 136,3; 138,5; 142,2; 149,8; 154,1; 160,5; 160,7; 166,0;

5-[(4-Метилфенил)амино]-1-(4-феноксibenзил)урацил (21). ¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆): δ 2,17 (3 H, с, CH₃), 4,89 (2 H, с, CH₂), 6,74 (2 H, д, J = 8,1 Гц, Н-2', Н-6'), 6,93

(3 Н, д, $J = 7,8$ Гц, Н-3', Н-5', NH), 7,00 (4 Н, д, $J = 6,6$ Гц, Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-6'''), 7,13 (1 Н, т, $J = 7,4$ Гц, Н-4'''), 7,31–7,43 (4 Н, м, Н-3'', Н-5'', Н-3''', Н-5'''), 7,63 (1 Н, с, Н-6), 11,60 (1 Н, с, NH); ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 20,5; 49,9; 115,4; 117,9; 119,0; 119,1; 123,9; 127,4; 129,6; 129,9; 130,4; 132,3; 132,4; 143,0; 150,1; 156,5; 156,9; 162,0;

5-[(3;4-Диметилфенил)амино]-1-(4-феноксибензил)урацил (22). ^1H ЯМР (ДМСО- d_6): δ 2,08 (3 Н, с, CH_3), 2,09 (3 Н, с, CH_3), 4,89 (2 Н, с, CH_2), 6,57 (1 Н, д, $J = 7,9$ Гц, Н-5''), 6,61 (1 Н, с, NHAr), 6,76 (1 Н, с, Н-2''), 6,87 (1 Н, д, $J = 8,1$ Гц, Н-6''), 6,99–7,02 (4 Н, м, ароматич. Н), 7,13 (1 Н, т, $J = 7,4$ Гц, Н-4'), 7,36–7,39 (4 Н, м, ароматич. Н), 7,59 (1 Н, с, Н-6), 11,57 (1 Н, с, NH). ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 18,5; 19,7; 49,5; 112,8; 116,5; 117,8; 118,7; 118,8; 123,6; 126,1; 129,6; 129,9; 130,1; 131,7; 132,2; 136,4; 142,9; 149,8; 156,3; 156,5; 161,7;

5-[(3;5-Диметилфенил)амино]-1-(4-феноксибензил)урацил (23). ^1H ЯМР (ДМСО- d_6): δ 4,30 (6 Н, с, CH_3), 4,84 (2 Н, с, CH_2), 6,67 (1 Н, т, $J = 7,3$ Гц, Н-4'), 6,76 (2 Н, д, $J = 8,4$ Гц, Н-2', Н-6'), 6,91–7,05 (5 Н, м, NH, Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-6'''), 7,11 (1 Н, т, $J = 7,8$ Гц, Н-4'''), 7,28 (2 Н, д, $J = 7,3$ Гц, Н-3'', Н-5''), 7,32 (2 Н, д, $J = 8,4$ Гц, Н-3''', Н-5'''), 7,69 (1 Н, с, Н-6), 11,56 (1 Н, с, NH); ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 21,2; 49,5; 112,4; 117,0; 118,7; 120,2; 123,6; 129,7; 130,1; 132,1; 134,4; 137,8; 145,6; 150,0; 156,4; 161,9;

5-[(2-Метоксифенил)амино]-1-(4-феноксибензил)урацил (24). ^1H ЯМР

(ДМСО- d_6): δ 3,37 (3 Н, с, OCH_3), 4,91 (2 Н, с, CH_2), 6,49 (1 Н, с, NHAr), 6,74–7,01 (7 Н, м, ароматич. Н), 7,13 (1 Н, т, $J = 7,4$ Гц, Н-4'), 7,35–7,39 (3 Н, м, ароматич. Н), 7,66 (1 Н, с, Н-6), 11,70 (1 Н, с, NH). ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 50,1; 55,9; 110,9; 113,4; 117,4; 119,0; 119,5; 121,1; 123,8; 129,8; 130,1; 130,4; 132,5; 133,4; 147,7; 149,8; 156,5; 156,9; 161,8;

5-[(3-Метоксифенил)амино]-1-(4-феноксибензил)урацил (25). ^1H ЯМР (CDCl_3): δ 3,62 (3 Н, с, OCH_3), 4,88 (2 Н, с, CH_2), 6,26 (1 Н, д, $J = 8,3$ Гц, Н-4'), 6,32 (1 Н, s, Н-2'), 6,36 (1 Н, д, $J = 8,1$ Гц, Н-6'), 6,92–7,06 (6 Н, м, NH, Н-5', Н-2'', Н-6'', Н-2''', Н-6'''), 7,13 (1 Н, т, $J = 7,5$ Гц, Н-4'''), 7,31–7,43 (4 Н, м, Н-3'', Н-5'', Н-3''', Н-5'''), 7,71 (1 Н, с, Н-6), 11,59 (1 Н, с, NH); ^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6): δ 50,0; 55,0; 100,4; 104,3; 107,5; 116,9; 119,0; 123,9; 129,9; 130,0; 130,4; 132,3; 135,4; 147,4; 150,3; 156,6; 156,8; 160,4; 162,1.

Противовирусная активность

Изучение противовирусных свойств синтезированных соединений было осуществлено в культуре клеток Huh 7.5, инфицированных ВГС (штамм JFH-1), в соответствии с описанным методом [11]. В результате проведенных исследований соединения **18**, **19** и **23** проявили выраженную ингибиторную активность в диапазоне ИК_{50} 12,59–13,8 μM . Данные по активности синтезированных соединений представлены в табл. 2.

Таблица 2

Анти-ВГС активность синтезированных соединений

Соединение	ИК_{50} , μM	Цитотоксичность	
		ЦК_{50} , μM	ИС
18	13,8	> 316,2	> 22,9
19	12,59	–	–
20	> 100	–	–
21	> 100	–	–
22	> 200	–	–
23	12,89	52,48	4,07
24	> 100	–	–
25	> 100	–	–

Примечания:

ИК_{50} – ингибиторная концентрация – концентрация вещества, обеспечивающая подавление репликации вируса на 50%;

ЦК_{50} – цитотоксическая концентрация – концентрация вещества, при которой наблюдается гибель 50% неинфицированных клеток;

ИС – индекс селективности – отношение ЦК_{50} к ИК_{50} .

Выводы

Таким образом, нами синтезированы 8 новых, ранее не описанных в литературе производных 5-фениламиноурацила, содержащих в положении N¹ пиримидинового цикла 4-(феноксид)бензильный фрагмент. Изучены спектральные, физико-химические свойства и анти-ВГС активность синтезированных соединений.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований № 13-04-01391А. Авторы выражают благодарность профессору Луису Шангу (департамент биохимии, медицинской микробиологии и иммунологии, университета Альберты, Эдмонтон, Канада) за данные скрининга.

Список литературы/References

1. Davis G.L., Esteban-Mur R., Rustgi V., et al. // *Engl. J. Med.* – 1998. – 339, № 21. – P. 1493–1499.
2. Einav S., Sobol H. D., Gehrig E., et al. // *J. Infect. Dis.* – 2010. – № 202. – P. 65–74.
3. Fried M.W., Shiffman M.L., Reddy K.R., et al. // *N. Engl. J. Med.* – 2002. – № 347. – P. 975–982.
4. Gao M., Nettles R. E., Belema M., et al. // *Nature.* – 2010. – № 465. – P. 96–100.
5. Gerns F.R., Perrotta A., Hitchings G.H. // *J. Med. Chem.* – 1966. – Т. 9. – № 1. – P. 108. – 115.
6. Kwong A. D., McNair L., Jacobson I., et al. // *Curr. Opin. Pharmacol.* – 2008. – № 8. – P. 522–531.
7. Lavanchy D. // *Liver Int.* – 2009. – № 29 (Suppl. 1). – P. 74–81.
8. Nocente R., Ceccanti M., Bertazzoni G., et al. // *Hepato-Gastroenterology.* – 2003. – 50, № 52. – P. 1149–1154.
9. Novikov M.S., Buckheit R.W. Jr., Temburnikar K., Khandazhinskaya A.L., Ivanov A.V., Seley-Radtke K.L. 1-Benzyl derivatives of 5-(arylamino)uracils as anti-HIV-1 and anti-EBV agents. *Bioorg. Med. Chem.* – 2010. – 18, № 23. – P. 8310–8314.
10. Report of a WHO Consultation organized in collaboration with the Viral Hepatitis Prevention Board, Antwerp, Belgium // *J. Viral. Hepat.* – 1999. – № 6. – P. 35–47.
11. St. Vincent V.R., Collpitts C.C., Ustinov A.V., et al. // *PNAS.* – 2010. – Vol. 107. – № 40. – P. 17339–17344.
12. Strader D.B., Seeff L.B. // *Clin. Liver Dis.* – 2012. – 1, № 1. – P. 6–11.
13. Sulkowski M. S. // *Curr. Gastroenterol. Rep.* – 2007. – № 9. – P. 5–13.
14. Zeuzem S., Berg T., Moeller B., et al. // *J. Viral Hepatitis.* – 2009. – № 16. – P. 75–90.

Рецензенты:

Ганичева Л.М., д.фарм.н., доцент кафедры управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения, Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград;

Симонян А.В., д.фарм.н., профессор кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии, Волгоградский государственный медицинский университет, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 10.10.2014.