

На правах рукописи

ЧЕРНЫШЕНКО ЮЛИЯ НИКОЛАЕВНА

СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 6-МЕТИЛУРАЦИЛА, ОБЛАДАЮЩИХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

02.00.03 - Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Уфа – 2008

Работа выполнена в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН.

Научный руководитель: доктор химических наук,
профессор
Мустафин Ахат Газизьянович

Официальные оппоненты: доктор химических наук,
профессор
Зорин Владимир Викторович

кандидат химических наук,
доцент
Яковлева Марина Петровна

Ведущая организация: Институт нефтехимии и катализа
РАН, г. Уфа

Защита диссертации состоится 29 февраля 2008 года в 14⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 002.004.01 в Институте органической химии УНЦ РАН по адресу: 450054, Башкортостан, г. Уфа, проспект Октября, 71, зал заседаний, e-mail: chemorg@anrb.ru, факс: (347)2356066.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке УНЦ РАН.

Автореферат разослан 29 января 2008 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор химических наук, профессор

Ф.А. Валеев

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Проблема фармакологической защиты организма от экстремальных факторов физической, химической и биологической природы выдвинулась в число актуальных задач современной медицины. В значительной степени это обусловлено ускорением темпа жизни и усложнением профессиональной деятельности, которые определили целесообразность разработки и применения препаратов, обладающих широким спектром фармакологической активности, в частности, антиокислительной и антигипоксической. Установлено, что в число таких средств входят некоторые производные урацила с поливалентным действием на организм. К ним относятся 6-метилурацил, 5-гидрокси-6-метилурацил и некоторые их структурные аналоги, являющиеся известными иммуностимулирующими препаратами. В связи с этим поиск новых производных урацила, обладающих высокой биологической активностью, является актуальным.

Настоящая работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института органической химии Уфимского научного центра Российской академии наук по темам «Разработка новых методов направленной гетероциклизации алкенилариламинов» (№ гос. регистрации 01.20.00 13597), «Разработка методов синтеза новых биологически активных азотсодержащих гетероциклических соединений» (№ гос. регистрации 0120.06 01533).

Целью диссертационной работы является синтез новых производных 6-метилурацила, обладающих фармакологической активностью.

Научная новизна и практическая значимость. Впервые получены комплексные соединения производных 6-метилурацила с янтарной, fumarовой, лимонной и аскорбиновой кислотами, обладающие высокой антигипоксической активностью. Спектрофотометрическими методами определен их состав. Установлено влияние положения и природы заместителя в молекуле урацила на антиокислительную активность в модельной реакции радикально-цепного окисления изопропилового спирта.

В результате исследований осуществлен синтез ациклических нуклеозидов взаимодействием производных урацила с этиленхлоргидрином, и установлено строение и соотношение продуктов этих реакций в зависимости от структуры исходного пиримидинового основания. Проведена С-5- и N-3-функционализация 6-метилурацила с получением amino- и aminометилированных производных. В ряду синтезированных производных 6-метилурацила выявлены вещества, обладающие антиокислительной, антигипоксической и гепатопротекторной активностью.

Апробация работы. Результаты исследований доложены на 2-ом Съезде Российского Научного Общества фармакологов «Фундаментальные проблемы фармакологии» (Москва, 2003); XVI и XVII Международных научно-технических конференциях «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии» (Уфа, 2003, 2004); Четвертой Российской конференции «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2005); Международной конференции по химии гетероциклических соединений, посвященной 90-

летию со дня рождения профессора А.Н. Коста (Москва, 2005); IV Всероссийской научной INTERNET-конференции «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии» (Уфа, 2005); IVth International Symposium «Design and Synthesis of supramolecular architectures» (Казань, 2006).

Публикации. По теме диссертации опубликованы 4 статьи в центральных журналах, рекомендуемых ВАК, тезисы 11 докладов на конференциях и симпозиумах, также получен 1 патент РФ и 1 положительное решение о выдаче патента РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы на тему «Синтез и биологическая активность производных пириимидина», обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы (165 наименований) и приложения. Объем работы составляет 149 страниц машинописного текста, в том числе 11 таблиц, 12 рисунков.

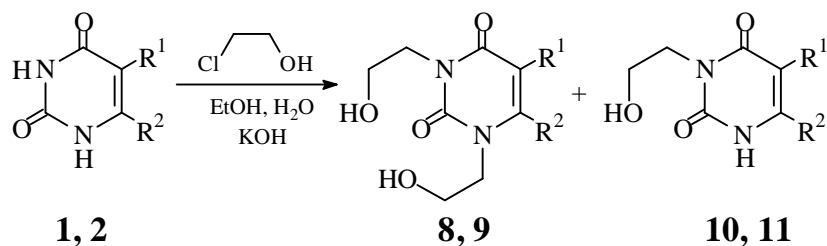
Автор выражает глубокую признательность доктору химических наук, профессору Абдрахманову Ильдусу Бариевичу за постоянное внимание, консультации и неоценимую помощь при выполнении работы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез ациклических нуклеозидов производных урацила

С целью синтеза ациклических нуклеозидов изучена реакция нуклеофильного замещения в ряду производных урацила. Ациклонуклеозиды получены взаимодействием соединений **1-7** с этиленхлоргидрином в водно-спиртовой среде в присутствии едкого кали. В зависимости от строения исходного пириимидинового основания наблюдается различие в наборе продуктов реакции и их соотношении.

В результате реакции 6-метилурацила (**1**) с этиленхлоргидрином происходит образование 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила (**8**) и 3-(2-гидроксиэтил)-6-метилурацила (**10**), соотношение которых после выделения составило 5:1. Полученные N-(гидроксиэтил)-6-метилурацилы являются кристаллическими веществами, растворимыми в воде и в спирте.

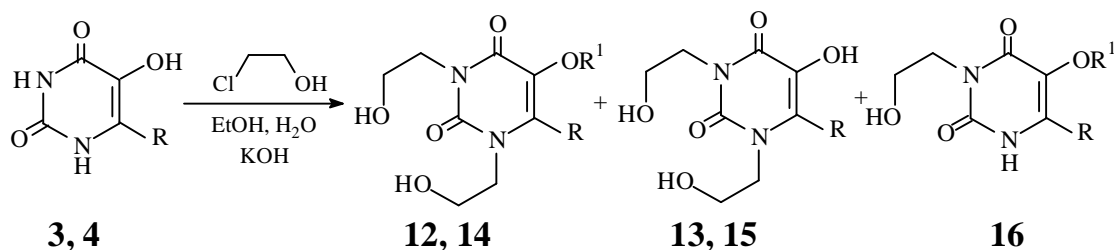


1, 8, 10 R¹=H, R²=Me; **2, 9, 11** R¹=F, R²=H.

При алкилировании 5-фторурацила (**2**) получен 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-5-фторурацил (**9**) с выходом 97% в виде густой светло-желтой жидкости, и в качестве минорного продукта выделено N-3-производное – 3-(2-гидроксиэтил)-5-фторурацил (**11**) в виде кристаллов. Замещение по атому азота N-3 доказывали УФ-спектроскопией, где наблюдается батохромный сдвиг на 18-23 нм при изменении pH раствора от 1 до 12.

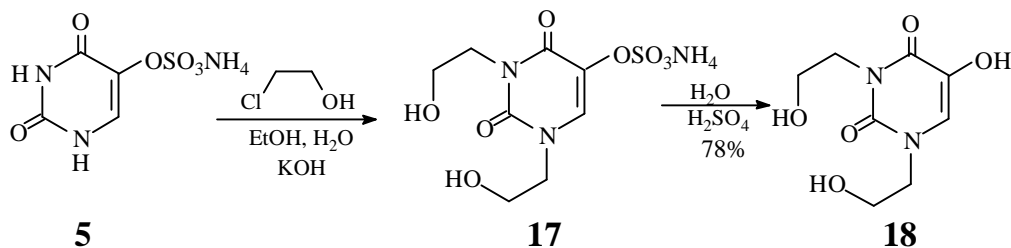
В то же время в аналогичной реакции 5-гидроксиурацила (**3**), 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) с этиленхлоргидрином замещение идет одновременно по трем положениям – 1, 3, 5. При взаимодействии 5-гидроксиурацила (**3**) с данным алкилирующим агентом в качестве основного вещества получено с выходом 77% соединение **12** – 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-5-(2-гидроксиэтокси)урацил – продукт замещения в положениях 1, 3, 5, а также дизамещенный аналог – 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-5-гидроксиурацил (**13**) (выход 15%).

При взаимодействии 5-гидрокси-6-метилурацила с этиленхлоргидрином наблюдается образование трех продуктов **14**, **15**, **16**, соотношение которых составляет 5:2:1. Полученные производные разделены путем перекристаллизации. Как видно из полученных результатов, 6-метильная группа направляет протекание реакции в сторону предпочтительного образования продуктов N-3-замещения.

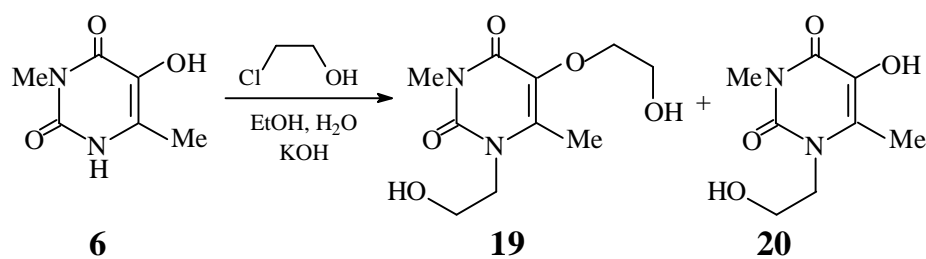


3, 13 R=H; **12** R=H, R¹=CH₂CH₂OH; **4, 15** R=Me; **14, 16** R=Me, R¹=CH₂CH₂OH.

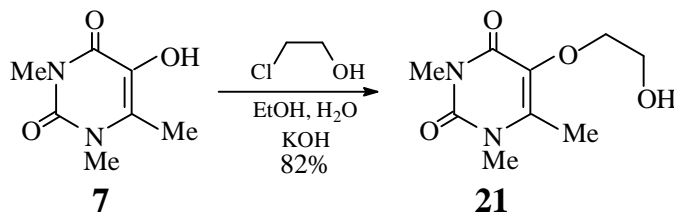
С целью получения продуктов только N-замещения 5-гидроксиурацила в реакцию был введен урацил-5-аммонийсульфат (**5**), который образует 1,3-бис(2-гидроксиэтил)урацил-5-аммонийсульфат (**17**), его гидролиз H₂SO₄ приводит к целевому 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-5-гидроксиурацилу (**18**).



Также установлено, что обработка 5-гидрокси-3,6-диметилурацила (**6**) этиленхлоргидрином в водно-спиртовой среде ведет к образованию 1-гидроксиэтил-5-(2-гидроксиэтокси)-3,6-диметилурацила (**19**) и 1-(2-гидроксиэтил)-5-гидрокси-3,6-диметилурацила (**20**) в соотношении ~1:1.

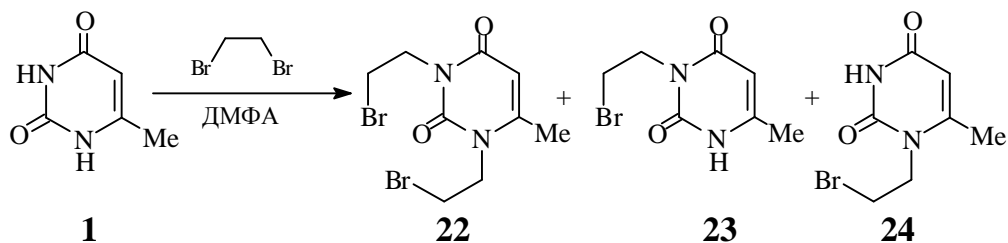


В то же время в аналогичной реакции 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила (**7**) получен единственный продукт O-5-алкилирования **21**.



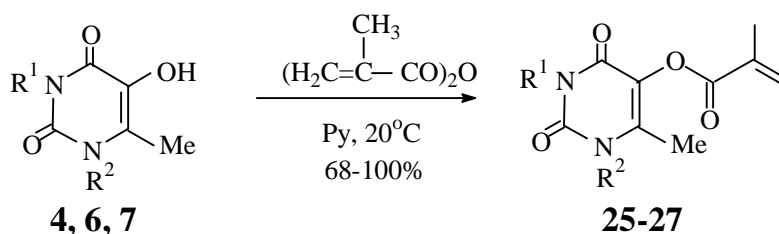
Реакция между 5-нитро-6-метилурацилом (**29**) и этиленхлоргидрином в этих условиях привела к осмолению реакционной смеси.

Алкилирование 6-метилурацила (**1**) 1,2-дибромэтаном приводит к образованию сложной смеси продуктов. После разделения на хроматографической колонке нами выделены 1-(2-бромэтил)- (**24**), 3-(2-бромэтил)- (**23**) и 1,3-бис(2-бромэтил)-6-метилурацил (**22**) в соотношении 1:4:7 с общим выходом 87%.



2. Ацилирование производных 6-метилурацила

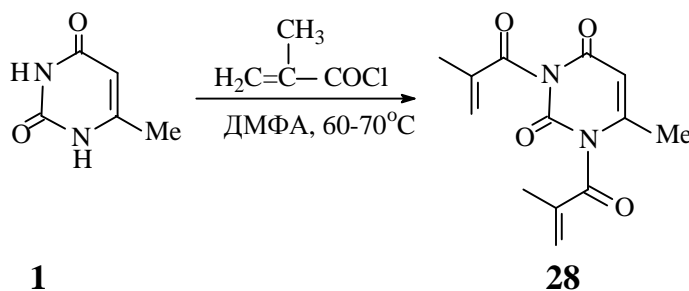
Из литературы известно, что производные урацила, имеющие ненасыщенные заместители в положении 5, проявляют высокую биологическую активность. Для расширения круга подобных соединений использовалась реакция ацилирования производных 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) с ангидридами непредельных карбоновых кислот. Взаимодействие 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**), 5-гидрокси-3,6-диметилурацила (**6**), 5-гидрокси-1,3,6-триметилурацила (**7**) с ангидридом метакриловой кислоты в пиридине протекает гладко и с высокими выходами приводит к метакрилатам **25-27**.



4, 25 R¹=R²=H; **6, 26** R¹=Me, R²=H; **7, 27** R¹=R²=Me.

Константы лактим-лактамногo равновесия и рассчитанное из них содержание в растворе лактимной формы урацила, тимина, 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) представляют интерес не только для химиков, но и для генетиков. Согласно теории спонтанных мутаций, редкие лактимные формы способны образовывать «неправильные» пары при синтезе дочерних ДНК. Содержание лактимной формы зависит от pH раствора. В организме вероятны ситуации, в которых pH в клетках увеличивается в результате различных заболеваний. В таком случае будет возрастать содержание лактимной формы, и, следовательно, увеличивается вероятность мутаций. В литературе показано, что 5-гидрокси-6-метилурацил (**4**) может существовать в шести различных формах. Сравнение спектров ЯМР ¹³C соединения **25** с расчетными спектрами возможных таутомеров показало, что оно находится в дикетоформе и является 6-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-5-пиримидинил-2-метилакрилатом.

В отличие от 5-гидроксипроизводных урацила взаимодействие соединения **1** с хлорангидридом метакриловой кислоты в ДМФА при температуре 60-80°C ведет к продукту **28** с выходом 46%.

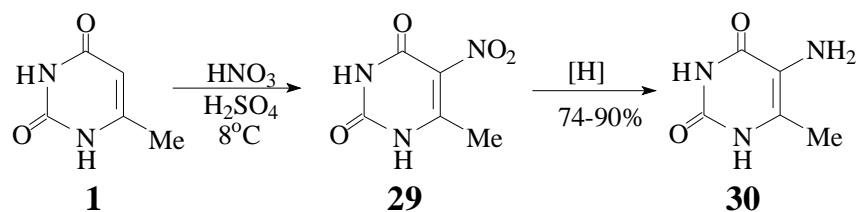


3. Аминопроизводные 6-метилурацила

3.1. Синтез и реакции 5-амино-6-метилурацила

Исследования производных урацила показывают, что они проявляют разностороннюю биологическую активность в том случае, если в положении 5 пиримидинового кольца находится заместитель, обладающий электронодонорными свойствами. Сопоставив данный факт с тем, что аминопроизводные пиримидина проявляют анальгетическую, жаропонижающую, противовоспалительную активности, а также повышают фагоцитарную активность ретикулоэндотелиальной системы, мы предприняли попытку синтеза 5-амино-6-метилурацила (**30**).

Введение аминогруппы осуществляли путем восстановления 5-нитро-6-метилурацила (**29**). По аналогии с литературными данными для нитрования соединения **1**, растворенного в концентрированной серной кислоте, использована азотная кислота при температуре 8°C. В результате реакции получен 5-нитро-6-метилурацил (**29**) с выходом 47%. Установлено, что решающее значение для выхода соединения **29** имеет концентрация азотной кислоты.



Восстановление нитрогруппы осуществляли разными способами. Каталитическое гидрирование нитросоединения **29** в присутствии никеля Ренея протекает по классической схеме, приводя к амину **30** с выходом 74, 85, 88.6% в зависимости от растворителя (таблица 1). Проведение реакции восстановления соединения **29** хлоридом олова (II) не привела к ожидаемому результату, что объясняется образованием устойчивого комплексного соединения олова с гидрхлоридом амина. Попытка применения гидросульфида натрия в метаноле для восстановления оказалась также безуспешной (по ТСХ – в реакционной смеси продукт не обнаружен). При действии гидразингидрата и гидразинсульфата в этиловом спирте из 5-нитро-6-метилурацила получен амин **30**. Данный метод является наиболее удобным способом, так как не требует специальных установок (автоклав) и повышенного давления, и позволяет контролировать ход реакции. Таким образом, нами разработан удобный способ получения 5-амино-6-метилурацила (**30**).

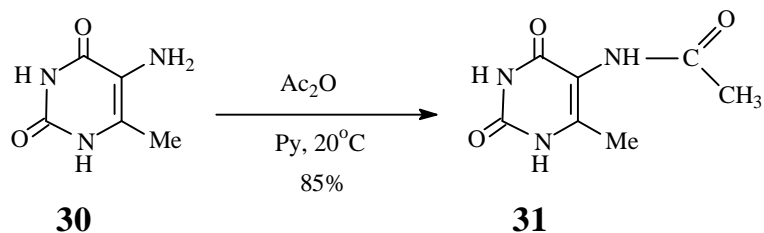
Таблица 1

Зависимость выхода 5-амино-6-метилурацила от условий реакции

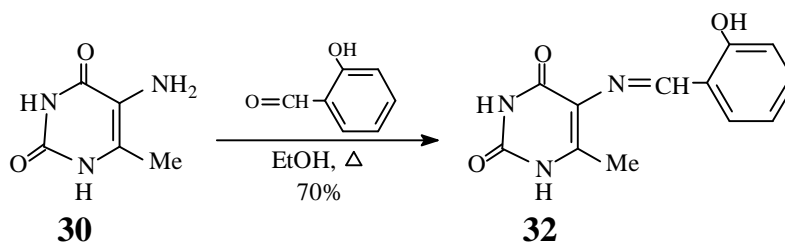
| № | Катализатор, растворитель | Выход соединения 30 , % |
|---|--|--------------------------------|
| 1 | Ni/Ra, H ₂ O | 74 |
| 2 | Ni/Ra, MeOH | 88 |
| 3 | Ni/Ra, EtOH | 85 |
| 4 | SnCl ₂ ·H ₂ O | - |
| 5 | NaHS, MeOH | - |
| 6 | NH ₂ NH ₂ ·H ₂ O, EtOH | 82 |
| 7 | NH ₂ NH ₂ ·H ₂ SO ₄ , EtOH | 90 |

В продолжение исследований изучено поведение 5-амино-6-метилурацила (**30**) в различных реакциях, синтезе оснований Шиффа и енаминокетонов. Полученный амин **30** под действием уксусного ангидрида превратили в ацилированный продукт **31**. Ацилирование 5-аминогруппы проходит очень легко

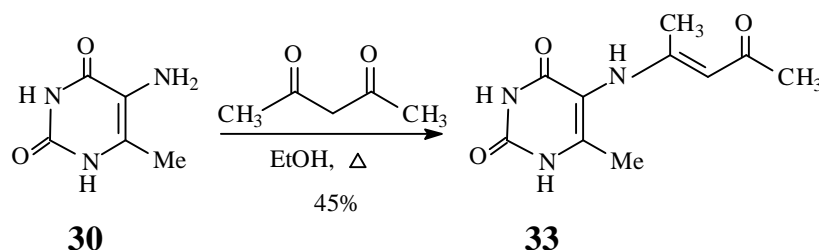
уже при комнатной температуре:



Взаимодействие с салициловым альдегидом завершается за 2 часа с образованием основания Шиффа **32** с хорошим выходом.



В то же время взаимодействие 5-амино-6-метилурацила (**30**) с 1,3-дикетонами (в частности, ацетилацетоном) приводит к образованию енаминокетона **33**.

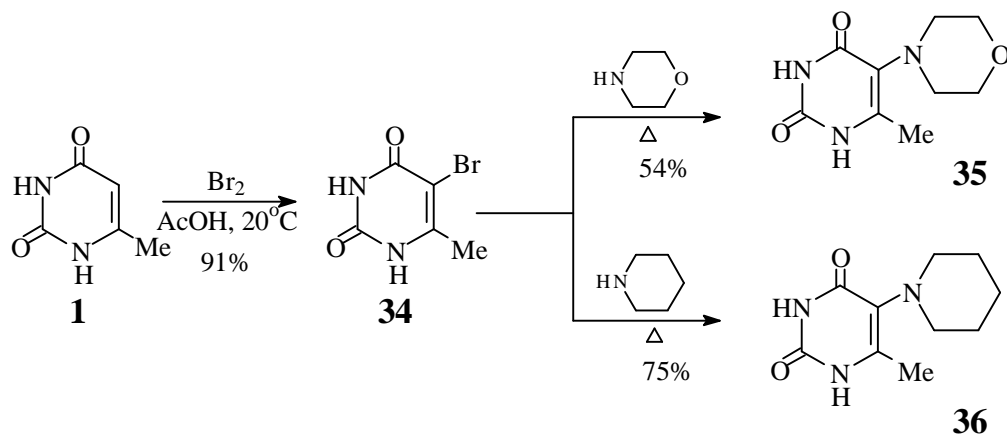


3.2. Синтез 5-аминопроизводных 6-метилурацила

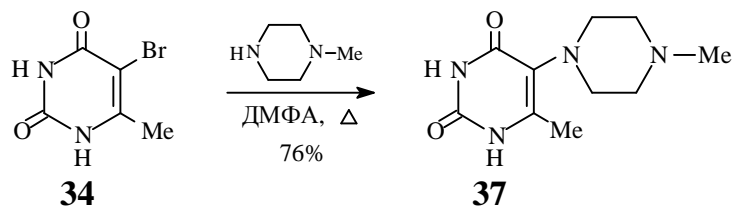
Известно, что 5-замещенные производные 2'-дезоксипиридина ингибируют репродукцию вируса осповакцины. В связи с этим 5-производные урацила также представляют интерес с точки зрения фармакологической активности, как индивидуальные соединения, так и в качестве составляющих частей нуклеозидов. Ключевым звеном для ряда аминопроизводных нами выбран 5-бром-6-метилурацил (**34**). Бромпроизводное **34** образуется при комнатной температуре при действии Br_2 на 6-метилурацил (**1**) в ледяной уксусной кислоте (выход 91%).

5-Галогенпроизводные оксипиримидинов характеризуются низкой реакционной способностью. Поэтому такие соединения нашли лишь незначительное применение в качестве исходных веществ для последующих синтезов. С целью получения ряда функционализированных урацилов было изучено нуклеофильное замещение в молекуле 5-бром-6-метилурацила (**34**).

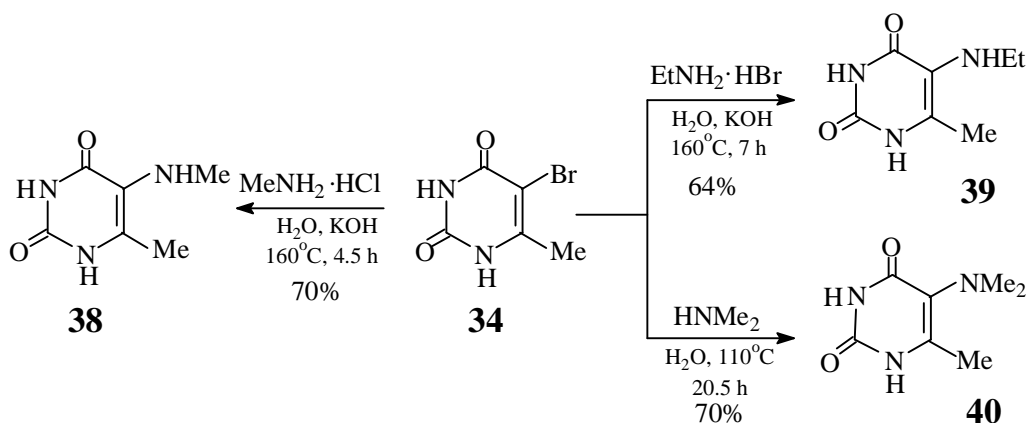
Нами разработан ряд подходов к построению 5-замещенных производных 6-метилурацила (**1**). Для этого изучены реакции взаимодействия 5-бром-6-метилурацила (**34**) с морфолином и пиперидином путем кипячения его в избытке соответствующего амина. Таким образом получены продукты **35**, **36**.



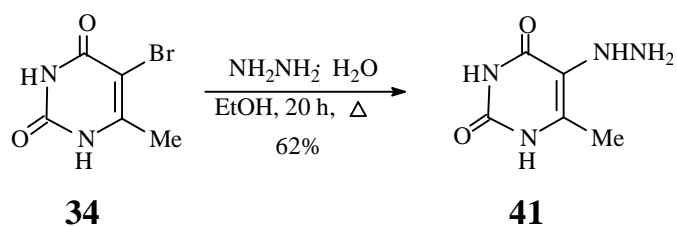
Кипячением соединения **34** с N-метилпиперазином в ДМФА при температуре 150-160°C получен продукт **37** с выходом 76%.



Аминирование соединения **34** водными растворами метил-, этил- и диметиламина, проведенное в автоклаве при температуре 110-160°C, дает продукты **38**, **39**, **40** с выходами 64-70%.



Замещение брома на гидразиновую группу проходит при кипячении соединения **34** с гидразингидратом в этиловом спирте. Выход продукта **41** составляет 62%.



Все попытки введения триазольного цикла в урацильное кольцо не увенчались успехом. Реакция соединения **34** с 1,2,4-триазолом при комнатной температуре и при нагревании до 160°C к искомому соединению не привела, из реакционной смеси выделен исходный 5-бром-6-метилурацил (**34**).

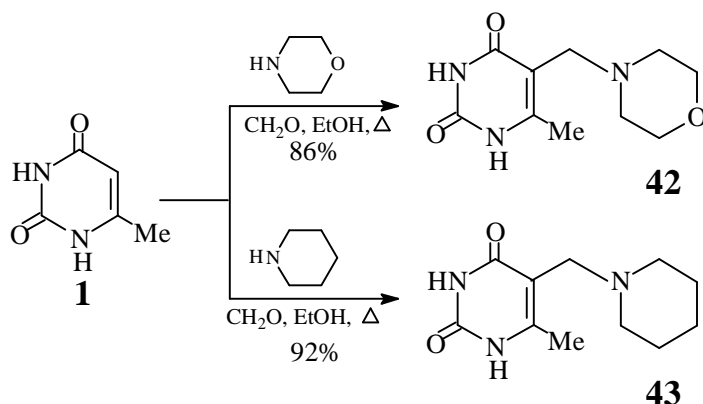
Структура полученных соединений доказана спектральными методами. Так, в спектре соединений **35-41** замещение атома брома в положении 5 гетероциклического кольца приводит к значительному изменению сигналов в спектрах ЯМР. На наличие нового гетероциклического фрагмента в спектрах ЯМР ¹H указывают соответствующие сигналы метиленовых групп в области 3.07 и 3.75 м.д. для морфолина, 3.10, 3.45, 4.30 м.д. для пиперидина. Величины химических сдвигов доказывают факт замещения атома брома в положении 5 гетероциклическим фрагментом, например N-метилпиперазином, сигналы метиленовых групп которого проявляются в области 2.17, 2.21 и 3.41 м.д, а N-метильная группа при 2.33 м.д.

Итак, нами получен ряд производных 6-метилурацила с C-N связью в положении 5 гетероциклического кольца.

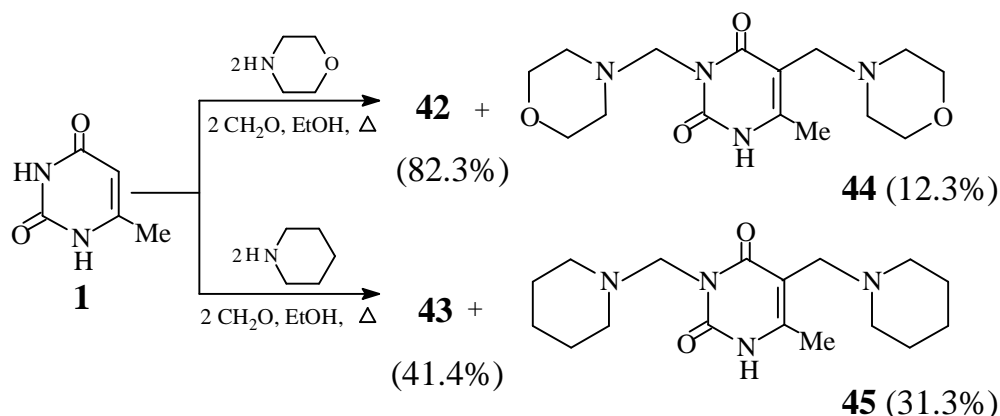
4. Реакция Манниха 6-метилурацила и его производных

С целью получения ряда других функционализированных урацилов нами изучена реакция Манниха. Направление реакции урацилов с формальдегидом и вторичными аминами существенным образом зависит от присутствия заместителя при C-5.

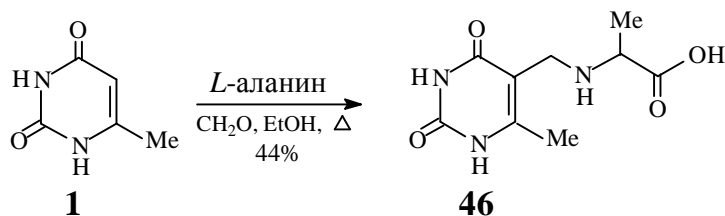
Незамещенный 6-метилурацил (**1**) гладко вступает в реакцию Манниха по атому углерода 5, образуя соответствующие аминотильные производные **42**, **43** с высокими выходами.



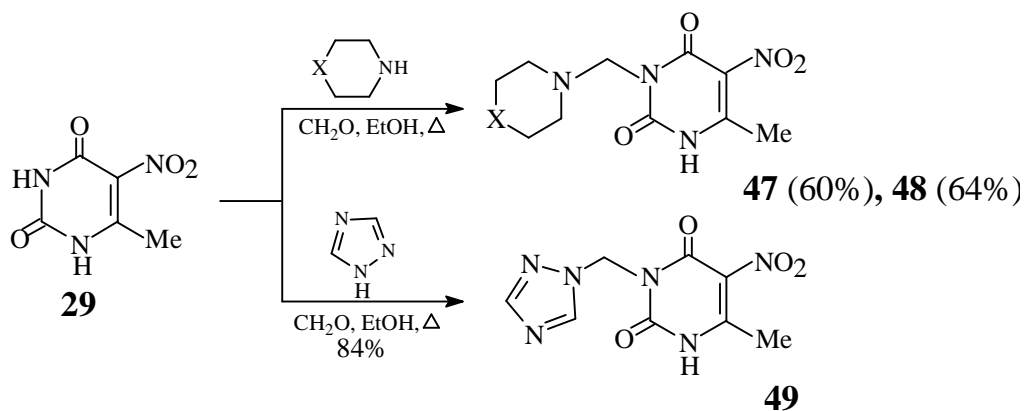
При проведении реакции с двух- или трехкратным избытком формальдегида и морфолина, или пиперидина идет как образование продуктов **42**, **43**, так и последующее аминотетрамеризация по положению N-3. Причем соотношение продуктов в случае пиперидина составляет ~1:1, а морфолина - 7:1.



Сейчас интенсивно проводятся работы по синтезу конъюгированных антигенов – биологически активных соединений, ковалентно связанных с белками. Реакция Манниха 6-метилурацила (**1**) с *L*-аланином протекает в мягких условиях с образованием 2-(6-метил-2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-5-пиримидинилметиламино)пропановой кислоты (**46**).



Блокирование нуклеофильного центра при атоме углерода C-5 кардинально изменяет направленность реакции Манниха в сторону атомов азота.



47 $\text{X}=\text{CH}_2$, **48** $\text{X}=\text{O}$.

Так, при кипячении 5-нитро-6-метилурацила (**29**) с 3-5 кратным избытком пиперидина или морфолина и формальдегидом в этаноле образуются основания

растворенных в спирте, воде или ДМФА, с янтарной, лимонной, фумаровой или аскорбиновой кислотой при температуре 50-60°C. Выход комплексных соединений составляет ~60-90%.

Комплексообразование между молекулами производных урацила и полифункциональных карбоновых кислот изучали на примере комплекса 5-гидрокси-6-метилурацила с янтарной кислотой (**53**). В ИК-спектре комплекса **53** наблюдается смещение полос поглощения NH- и OH-групп (2940-2920 см⁻¹) на 100-150 см⁻¹ и C=O-групп (1135-1070 см⁻¹) на 10-15 см⁻¹ в низкочастотную область. Это указывает на образование межмолекулярных водородных связей за счет амидных, гидроксильных и карбонильных групп 5-гидрокси-6-метилурацила и янтарной кислоты.

Взаимодействие между 5-гидрокси-6-метилурацилом (**4**) и янтарной кислотой исследовали, используя методы спектрофотометрии. В УФ-спектре водного раствора комплекса **53** наблюдается гипсохромный сдвиг полосы поглощения на 9 нм. Сдвиг максимума поглощения при реакции соединения **4** с янтарной кислотой является свидетельством протекающего между ними взаимодействия и образования, вероятно, комплексного соединения.

Для определения состава образующихся соединений использованы методы изомолярных серий и мольных отношений. Зависимости для комплекса **53**, построенные по измерениям изомолярных растворов, показывают, что состав образующегося комплекса в разбавленном водном растворе близок 1:9. Комплексообразование изучали в воде на максимуме длины волны поглощения 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) $\lambda=277$ нм. Соединение **4** образует комплекс с янтарной кислотой, о чем свидетельствует появление новой полосы поглощения при 225 нм, которая также имеет место и при проведении исследования при комнатной температуре (рис. 1, 2).

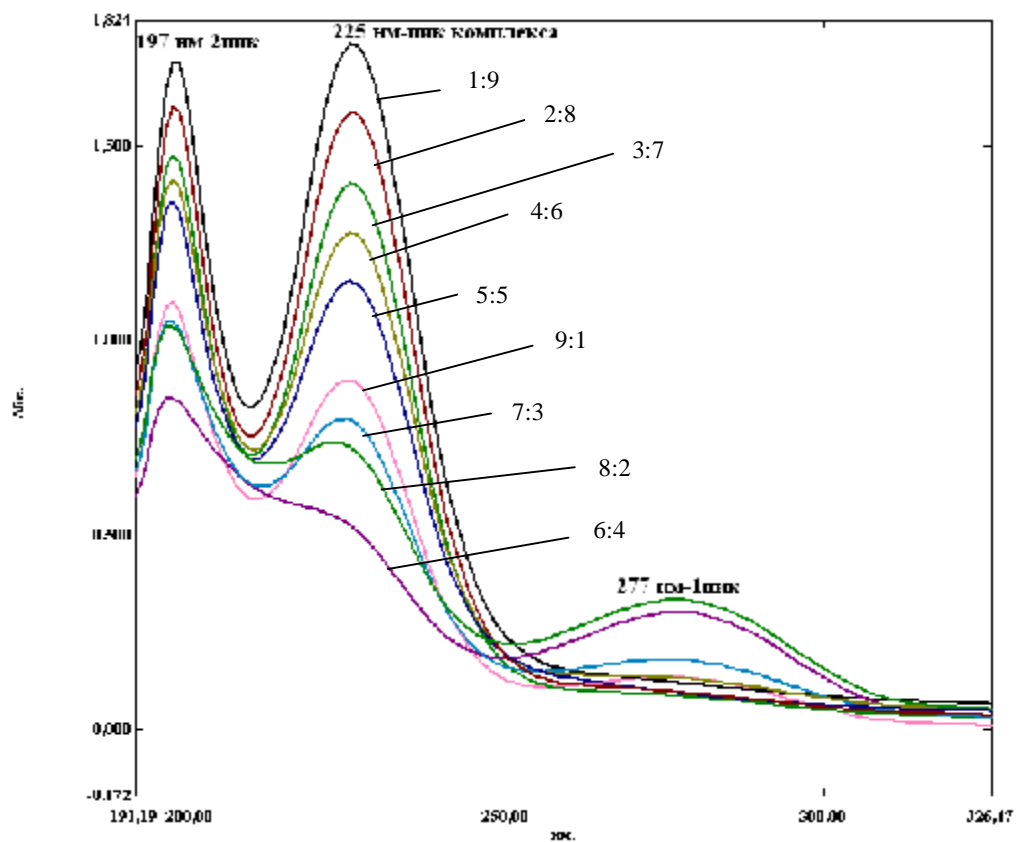


Рис. 1. Соотношение 5-гидрокси-6-метилурацил: янтарная кислота=1:9 до 9:1 при T=70°C.

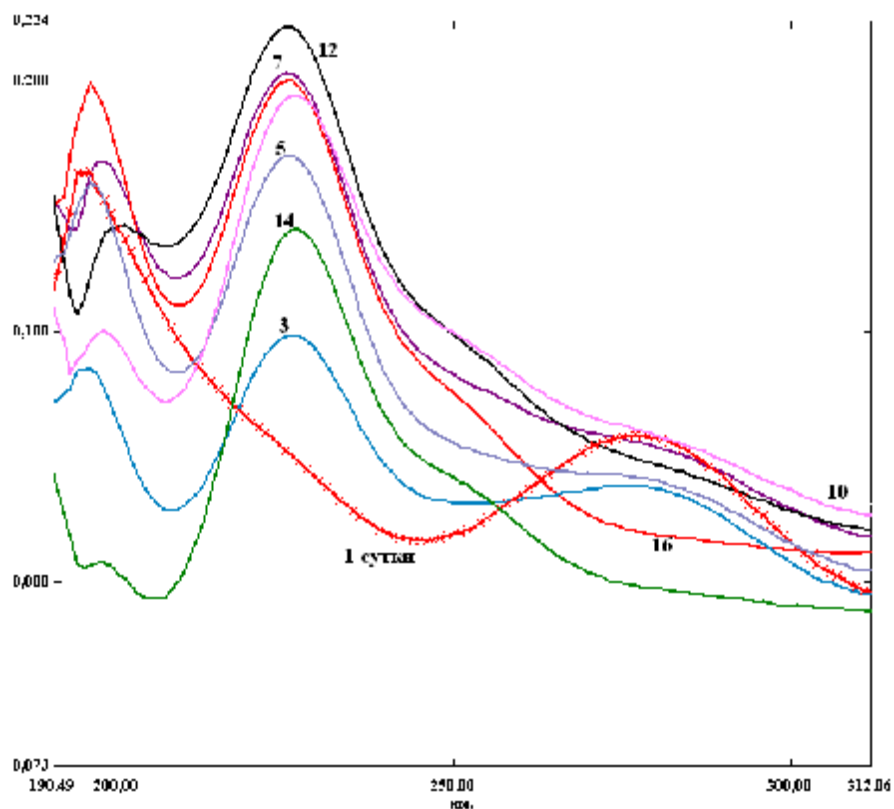


Рис. 2. Соотношение 5-гидрокси-6-метилурацил: янтарная кислота=1:9 при стоянии раствора при комнатной температуре.

Подтверждением состава комплексных соединений, образующихся в растворе, являются данные метода молярных отношений. Графическая зависимость оптической плотности растворов от концентрации 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) и янтарной кислоты также показывает присутствие в растворе комплексов состава 1:9.

Для установления соотношения 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) и янтарной кислоты в комплексном соединении нами использованы также данные элементного анализа. Содержание основных элементов (С, Н, N), свидетельствует о соотношении 5-гидрокси-6-метилурацил: янтарная кислота=1:9.

В результате спектрофотометрических исследований показано, что комплексы могут иметь разный состав в зависимости от образующихся ассоциатов янтарной кислоты. Вероятно, молекулы янтарной кислоты за счет ван-дер-ваальсовых взаимодействий, водородных связей образуют с данным фармаконом комплексы включения, где в качестве «гостя» выступают молекулы 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**), а в качестве «хозяина» - молекулы кислоты.

Для определения центров молекул, участвующих в образовании межмолекулярных связей, методами квантовой химии проведено теоретическое исследование взаимодействия 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) с янтарной кислотой, в ходе которого изучены состав, структура и температурная зависимость свободных энергий Гиббса реакции комплексообразования в газовой фазе.

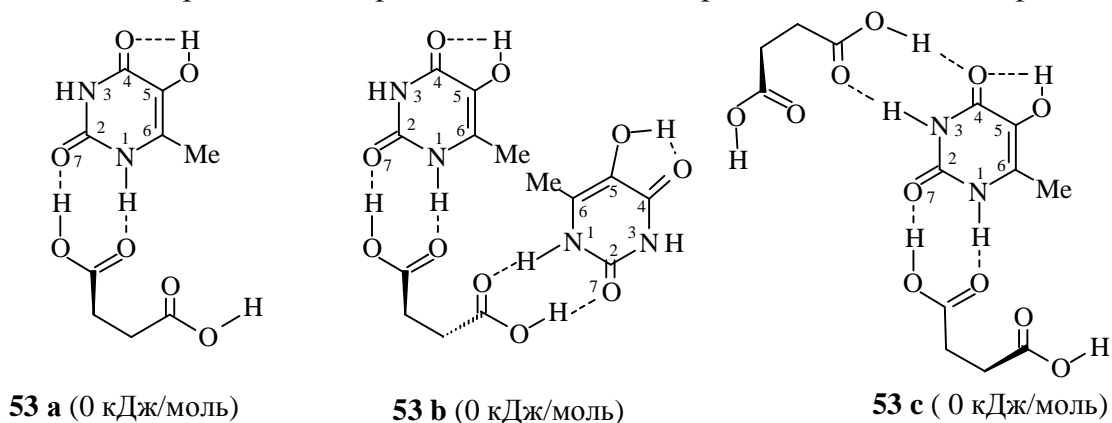
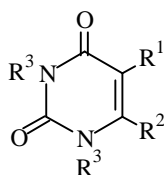


Рис. 3. Наиболее выгодные конформации комплексов **53a** (состав янтарная кислота : 5-гидрокси-6-метилурацил = 1 : 1), **53b** (состав янтарная кислота : 5-гидрокси-6-метилурацил = 1 : 2), **53c** (состав янтарная кислота : 5-гидрокси-6-метилурацил = 2 : 1).

Среди разнообразных таутомеров 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) наиболее устойчивой является дикетоформа с внутримолекулярной водородной связью. Для янтарной кислоты наиболее выгодной оказывается *gash*-конформация со сближенными карбонильными атомами кислорода. Полученные наиболее устойчивые конформации молекул янтарной кислоты и 5-гидрокси-6-метилурацила (**4**) рассматривались как лиганды комплексов **53a-c** состава 1:1, 1:2 и 2:1, соответственно (рис. 3). Установлено, что наиболее предпочтительные конформеры образуют водородные связи по амидному фрагменту N1-C2-O7.

6. Исследование влияния структуры урацила на антиокислительную активность¹

В настоящее время одним из приоритетных направлений исследований в области химии и медицины является поиск средств антиоксидантотерапии. Реакционную способность ряда производных урацила изучали на примере модельной реакции инициированного окисления изопропилового спирта по скорости поглощения кислорода в стандартных условиях: 348 К, скорость инициирования $V_i=4 \cdot 10^{-7}$ М/с, инициатор – азодиизобутиронитрил. Выбор модельной реакции радикально-цепного окисления изопропилового спирта связан с тем, что первичным продуктом его окисления является пероксид водорода, играющий важную роль в процессах перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран живых организмов. Процесс ПОЛ с другой стороны тесным образом связан с терапевтическим действием многих лекарственных препаратов. В качестве антиоксидантов изучены следующие соединения:



$R^1=NO_2$, $R^2=Me$, $R^3=H$ (**29**); $R^1=NH_2$, $R^2=Me$, $R^3=H$ (**30**); $R^1=Br$, $R^2=Me$, $R^3=H$ (**34**); $R^1=CH_2N(CH_2)_2(CH_2)_2O$, $R^2=Me$, $R^3=H$ (**42**); $R^1=CH_2N(CH_2)_5$, $R^2=Me$, $R^3=H$ (**43**); $R^1=R^3=H$, $R^2=NH_2$ (**63**); $R^1=R^3=Me$, $R^2=H$ (**64**); $R^1=H$, $R^2=R^3=Me$ (**65**).

Эффективность антиокислительного действия производных урацила изучали по измерению влияния добавок соединений **30**, **34**, **42**, **43**, **63-65** на скорость поглощения кислорода с помощью высокочувствительной манометрической установки. Установлено, что соединения **30**, **34**, **42**, **43**, **63** проявляют выраженное антиокислительное действие. Введение в окисляющийся изопропиловый спирт добавок указанных соединений приводит к снижению скорости поглощения кислорода. В случае протекания окислительного процесса в цепном режиме в присутствии ингибирующих добавок между скоростью окисления и концентрацией ингибитора должно выполняться соотношение:

$$F = \left(\frac{V_0}{V} \right) - \left(\frac{V}{V_0} \right) = \frac{fk_{in}[InH]}{(2k_6 \cdot V_i)^{1/2}}$$

где V_0 , V и V_i - скорость поглощения кислорода в отсутствие и в присутствии производных урацила и скорость инициирования соответственно, f – емкость ингибитора, k_{in} - константа скорости обрыва цепи окисления на ингибиторе, $[InH]$ -концентрация введенных добавок, $2k_6$ – константа скорости квадратичного обрыва цепи на гидропероксирадикалах окисляющегося изопропанола.

Действительно, для изученных соединений эта зависимость удовлетвори-

¹ Изучение антиокислительной активности выполнено в ГОУ ВПО «Башкирский государственный университет» под руководством д.х.н., проф. А.Я. Герчикова.

тельно выполняется. Принимая для $2k_6$ значение равное $3,5 \times 10^7$ л/моль·с, а также используя заданное в эксперименте значение $V_i = 4 \times 10^{-7}$ моль/л·с, получены значения эффективных констант скорости ингибирования (таблица 2).

Таблица 2

Эффективные константы скорости реакции гидропероксильного радикала изопропилового спирта с производными урацила

| Соединение | $fk_{in} \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$ | Соединение | $fk_{in} \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$ |
|------------|--|---------------------|--|
| 64 | – | 63 | 18±3 |
| 65 | – | 5-бромурацил | 18.2±2.5 |
| 1 | 4.2±0.6 | 34 | 30±5 |
| 29 | 6.3±0.9 | 42 | 33±5 |
| 30 | 10±2 | 43 | 43±6 |

Используя сведения об антиокислительном действии производных урацила, полученные в данной работе, а также ранее, мы попытались оценить влияние различных заместителей. Известно, что введение в молекулу урацила заместителей в положение N-1 и N-3 отрицательно влияет на антиокислительную активность (АОА), что подтвердилось и нашими данными. Анализ результатов, приведенных в таблице 3, свидетельствует о том, что соединения **30**, **34**, **42**, **43**, **63**, имеющие две N–H связи, обладают свойствами антиоксиданта. При замещении атомов водорода в положениях N-1 и N-3 (урацилы **64** и **65**) соединение перестает обладать антиокислительными свойствами. Нами исследовано влияние различных заместителей в положении 5 пиримидинового цикла на антиокислительную активность. Одновременное введение метильной группы в положение 6 и атома брома в положение 5 увеличивает АОА по сравнению с 6-метилурацилом (**1**) ($4.2 \pm 0.6 \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$) почти в 7 раз, а по сравнению с 5-бромурацилом ($18.2 \pm 2.5 \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$) – в 1.7 раза. Предположение, что антиокислительная активность возрастает с увеличением электронодонорных свойств заместителя, подтвердилось на практике. Так, АОА 5-нитро-6-метилурацила (**29**) составляет $6.3 \pm 0.9 \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$, активность же 5-амино-6-метилурацила (**30**) в этих условиях – $10 \pm 2 \times 10^{-3}, M^{-1}c^{-1}$, т.е. превышает ее в 1.5 раза. Наибольший антиокислительный эффект показали соединения **42**, **43**. Таким образом, установлено, что электронодонорные заместители повышают антиокислительную активность производных урацила.

7. Исследование биологической активности синтезированных соединений²

Интерес к получению производных пиримидина связан с их высокой физиологической активностью (антивирусная, антиканцерогенная, противовоспалительная и т.д.) и использованием в современной медицинской практике. Так, например, 6-метилурацил (**1**) – широко известный противовоспалительный препарат, проявляющий высокую эффективность.

Токсико-фармакологические свойства синтезированных соединений исследовались в отделе токсикологии Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека.

По результатам испытаний острой токсичности все исследованные соединения отнесены к малотоксичным веществам.

Антиокислительную активность производных 6-метилурацила исследовали на двух моделях свободнорадикального окисления. Активность соединений в системе этилбензол-ледяная уксусная кислота оценивали по величине константы K_7 , которую сопоставляли с константой K_7 ионола – известного синтетического ингибитора свободнорадикальных реакций. Результаты испытаний показали, что изученные соединения **1**, **34** и комплекс **53** проявляют антиокислительную активность в данной модельной системе.

Более сложными являются системы природного происхождения, в качестве которых использовали гомогенат печени крыс. В данных модельных системах перекисного окисления липидов проводилось исследование соединений **8**, **30**, **42**, **43** и комплексов **53-55**, **57**. Препаратом сравнения служил антиоксидант ионол. Соединения **42**, **43** оказались не активны в проведенных экспериментах. Комплекс **53** по величине антиоксидантной активности превосходит исходный фармакофор в условиях спонтанного, ферментного и неферментного ПОЛ. Антиоксидантная активность производных 6-метилурацила в системах спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ несколько выше, чем в условиях ферментного ПОЛ.

Исследование антигипоксической активности комплексных соединений **50-53**, **56**, **62** изучали на моделях острой гемической гипоксии (ОГеГ), острой гипоксии с гиперкапнией (ОГГК). Основным критерием противогипоксического эффекта являлось увеличение продолжительности жизни животных в условиях гипоксии по сравнению с контролем. В качестве референтных препаратов использованы известный антигипоксикант этомерзол и аскорбиновая кислота. Этомерзол и аскорбиновая кислота оказывали защитное действие в условиях ОГеГ и ОГГК. Комплексы **50** и **51** не проявили защитного эффекта. В то же время комплекс **53** был эффективен на двух моделях острой гипоксии. Комплексное соединение **62** не влияет на продолжительность жизни мышей при ОГГК, но в 2 раза повышает данный показатель в условиях ОГеГ.

Анализ результатов биологических испытаний показал, что комплекс 5-

² Исследование антирадикальной, антиоксидантной, антигипоксической, гепатопротекторной активности выполнено в ФГУН УфНИИ медицины труда и экологии человека под руководством д.м.н., проф. В.А. Мышкина, д.м.н. Р.Б. Ибатуллиной.

гидрокси-6-метилурацила с янтарной кислотой (**53**) проявил высокую антиокислительную и антигипоксическую активность и поэтому был предложен для изучения гепатопротекторных свойств.

Гепатозащитная активность комплекса **53**, сочетающего антиоксидантные свойства и стимулирующее действие на биоэнергетические процессы в печени, изучалась при экспериментальной токсической гепатопатии, вызванной введением смеси полихлорированных бифенилов (совтол-10).

Биохимические параметры животных, леченных комплексом 5-гидрокси-6-метилурацила с янтарной кислотой (**53**), существенно отличаются от показателей крыс, отравленных совтолом. Препарат восстанавливает биохимические показатели до уровня контрольной группы (здоровые крысы). Комплексное соединение **53** эффективнее гепатопротектора силимарина по большинству исследованных показателей, обеспечивает высокий защитно-восстановительный эффект, что является следствием его антиокислительной активности.

Для восстановительной коррекции токсической гепатопатии более перспективны препараты, сочетающие антиокислительную и антигипоксическую активность, в частности комплексное соединение 5-гидрокси-6-метилурацила с янтарной кислотой (**53**), которое может быть рекомендовано для дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Осуществлен синтез ациклических нуклеозидов взаимодействием производных урацила с этиленхлоргидрином, и установлено строение и соотношение продуктов этих реакций в зависимости от структуры исходного пиримидинового основания.

2. Проведена С-5- и N-3-функционализация 6-метилурацила с получением amino- и аминометилированных производных.

3. Синтезирован ряд комплексных соединений производных 6-метилурацила и полифункциональных карбоновых кислот, обладающих высокой антигипоксической активностью. Спектрофотометрическими методами определен их состав.

4. Изучена антиокислительная активность производных урацила в модельной реакции радикально-цепного окисления изопропилового спирта и установлено, что антиокислительная активность зависит от положения и природы заместителя в молекуле урацила.

5. В ряду синтезированных производных 6-метилурацила выявлены вещества, обладающие антиокислительной, антигипоксической и гепатопротекторной активностью.

Основное содержание работы изложено в публикациях:

1. Кривоногов В.П., Чернышенко Ю.Н., Козлова Г.Г., Яковлева А.И., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б., Лазарева Д.Н., Плечев В.В., Сивкова Г.А., Батталов Э.М. Синтез 2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-5-пиримидинил-2-метилакрилатов // ЖОрХ. – 2005. – Т.41. – Вып. 1. – С. 141-143.
2. Кривоногов В.П., Мышкин В.А., Козлова Г.Г., Чернышенко Ю.Н., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б. Алкилирование производных пиримидина этиленхлоргидрином // ЖОрХ. – 2006. – Т.42. – Вып. 8. – С. 1723-1726.
3. Чувашов Д.А., Чернышенко Ю.Н., Мустафин А.Г., Талипов Р.Ф. Исследование особенностей строения комплексов 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой методами квантовой химии // Башкирский химический журнал. – 2007. – Т. 14. – № 1. – С. 119-123.
4. Гимадиева А.Р., Чернышенко Ю.Н., Мустафин А.Г., Абдрахманов И.Б. Синтез и биологическая активность производных пиримидина (обзор) // Башкирский химический журнал. – 2007. – Т. 14. – № 3. – С. 5-21.
5. Кривоногов В.П., Козлова Г.Г., Лихачева Н.А., Чернышенко Ю.Н., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б. 1,3-Диметакрилоил-6-метил-1,2,3,4-тетрагидро-2,4-пиримидиндион // Материалы XVI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2003. – С. 14.
6. Кривоногов В.П., Плечев В.В., Козлова Г.Г., Чернышенко Ю.Н., Яикбаева А.А., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б. Синтез 2,4-диоксо-1,2,3,4-тетрагидро-5-пиримидинил-2-метилакрилатов // Материалы XVI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2003. – С. 21.
7. Кривоногов В.П., Козлова Г.Г., Чернышенко Ю.Н., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б., Сивкова Г.А. Синтез бициклического производного пиримидина // Материалы XVI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2003. – С. 50.
8. Кривоногов В.П., Козлова Г.Г., Чернышенко Ю.Н., Абдрахманов И.Б., Спирихин Л.В., Мышкин В.А., Ибатуллина Р.Б., Плечев В.В. Алкилирование производных пиримидина этиленхлоргидрином // Материалы XVI Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2003. – С. 54.
9. Мышкин В.А., Кривоногов В.П., Ибатуллина Р.Б., Савлуков С.А., Чернышенко Ю.Н., Сергеева С.А., Толстиков Г.А. Синтез и доклиническое изучение пиримидиновых ациклонуклеозидов в качестве антиоксидантов и гепатозащитных средств // Сборник тезисов 2-го Съезда Российского Научного Общества фармакологов «Фундаментальные проблемы фармакологии». – Москва. – 2003. – Часть II. – С. 41.
10. Кривоногов В.П., Чернышенко Ю.Н., Козлова Г.Г., Спирихин Л.В., Сивкова Г.А., Абдрахманов И.Б., Травников О.Ю. Синтез нитропроизводных пиримидина // Материалы XVII Международной научно-технической конференции

«Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2004. – С. 25.

11. Кривоногов В.П., Чернышенко Ю.Н., Козлова Г.Г., Попкова Т.Н., Сивкова Г.А., Спирихин Л.В., Абдрахманов И.Б. Синтез 3,10-дигидрокси-5,8-диалкил-15-алкил-1,5,8,12-тетраазабицикло[10.3.1]гексадец-14-ен-13,16-дионов // Материалы XVII Международной научно-технической конференции «Химические реактивы, реагенты и процессы малотоннажной химии». – Уфа. – 2004. – С. 29.

12. Мустафин А.Г., Гимадиева А.Р., Чернышенко Ю.Н., Сивкова Г.А., Мышкин В.А., Абдрахманов И.Б. Синтез пиримидиновых ациклонуклеозидов // Материалы Международной конференции по химии гетероциклических соединений, посвященной 90-летию со дня рождения профессора А.Н. Коста. – Москва. – 2005. – С. 252.

13. Мышкин В.А., Чернышенко Ю.Н., Игбаев Р.К., Чернов В.Н., Ибатуллина Р.Б., Еникеев Д.А., Абдрахманов И.Б. Поиск антигипоксантов среди комплексных соединений производных пиримидина с дикарбоновыми кислотами и γ -лактоном 2,3-дигидрогулоновой кислоты // Материалы Четвертой Российской конференции (с международным участием) «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция». – Москва. – 2005. – С. 81.

14. Чернышенко Ю.Н., Гимадиева А.Р., Мустафин А.Г., Абдрахманов И.Б. Новый продукт алкилирования 6-метилурацила эпихлоргидрином // Материалы IV Всероссийской научной INTERNET-конференции «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии». – Уфа. – 2005. – С. 154.

15. Mustafin A.G., Gimadieva A.R., Chernyshenko Yu.N., Abdrakhmanov I.B. Synthesis and biological activity of complex compounds of uracil derivatives with polyfunctional acids // Program abstracts of IVth International Symposium «Design and Synthesis of supramolecular architectures». – Kazan. – 2006. – P. 124.

16. Патент РФ № 2259357 от 27.08.2005 г. Комплексное соединение 6-метилурацила с янтарной кислотой, проявляющее антигипоксическую активность и способ его получения / Кривоногов В.П., Мышкин В.А., Ибатуллина Р.Б., Чернышенко Ю.Н., Козлова Г.Г., Савлуков А.И., Абдрахманов И.Б., Гуляева И.Л., Мышкин И.В., Сергеева С.А.

17. Положительное решение о выдаче патента РФ от 19.12.2007 (заявка № 2006115883). Комплексное соединение 1,3-бис(2-гидроксиэтил)-5-гидрокси-6-метилурацила с фумаровой кислотой, проявляющее антигипоксическую активность и способ его получения / Мышкин В.А., Ибатуллина Р.Б., Абдрахманов И.Б., Мустафин А.Г., Бакиров А.Б., Гимадиева А.Р., Чернышенко Ю.Н., Савлуков А.И., Срубиллин Д.В.