

УДК 547.854.7:543.062

СИНТЕЗ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ 1-[2-(2-БЕНЗОИЛФЕНОКСИ)ЭТИЛ]-6-МЕТИЛУРАЦИЛА МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Сысуева Ю.В., Луганченко А.И., Солодунова Г.Н., Озеров А.А.

Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, e-mail prof_ozerov@yahoo.com

Разработан усовершенствованный метод синтеза 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила, обладающего высокой анти-ВИЧ-1 активностью *in vitro*. Нагревание избытка триметилсилилпроизводного 6-метилурацила с 1-бром-2-(2-бензоилфенокси)этаном без растворителя при температуре 180-185 °С в течение 4 ч приводит после гидролиза к целевому соединению с выходом 49%. Алкилирование 6-метилурацила 1-бром-2-(2-бензоилфенокси)этаном в среде безводного диметилформамида в присутствии карбоната калия приводит главным образом к продукту N¹,N³-дизамещения в 6-метилурациле. Обосновано использование метода спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне для количественного определения 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила. Концентрационная зависимость оптической плотности растворов вещества имеет вид $C = 0,01929 \cdot D - 0,00406$ (г/л) может быть использована для определения чистоты субстанции и ее количественного содержания в лекарственной форме. Определены метрологические характеристики разработанного метода количественного определения.

Ключевые слова: урацил, анти-ВИЧ-1 активность, количественное определение, спектрофотометрия

SYNTHESIS AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF 1-[2-(2-BENZOYLPHENOXY)ETHYL]-6-METHYLURACIL BY SPECTROPHOTOMETRY

Sysueva Y.V., Luganchenko A.I., Solodunova G.N., Ozerov A.A.

Volgograd Medical Scientific Centre, Volgograd, e-mail prof_ozerov@yahoo.com

An advanced method of synthesis of 1-[2-(2-benzoylphenoxy)ethyl]-6-methyluracil which has high anti-HIV-1 activity *in vitro* has been invented. Heating the excess of trimethylsilyl derivative of 6-methyluracil with 1-bromo-2-(2-benzoylphenoxy)ethane without solvent at the temperature of 180-185 °C during 4 hours leads to the target compound with 49% yield after hydrolysis. The alkylation of 6-methyluracil with 1-bromo-2-(2-benzoylphenoxy)ethane in anhydrous dimethylformamide in the presence of potassium carbonate mainly leads to product of N¹,N³-disubstitution in 6-methyluracil. There has been explained the use of a spectrophotometry method in the ultra-violet range for quantitative determination of 1-[2-(2-benzoylphenoxy)ethyl]-6-methyluracil. The concentration dependence of optical density of the solution of the substance $C = 0,01929 \cdot D - 0,00406$ (g/l) could be used to determine the purity of the substance and its quantitative contents in a dosage form. The metrological characteristics of the developed method of the quantitative determination have been defined.

Keywords: uracil, anti-HIV-1 activity, quantitative determination, spectrophotometry

Разнообразные N-алкилзамещенные производные пиримидиновых и пуриновых оснований, содержащие терминальные ненасыщенные и ароматические фрагменты, составляют новый класс нуклеозидных ингибиторов вирусной репродукции широкого спектра действия [6, 9]. В частности, 1-аллилосиметилурацил и его аналоги продемонстрировали высокую активность в отношении вируса герпеса простого типа 1 *in vitro* [5] и *in vivo*, в том числе в отношении штамма, устойчивого к действию ацикловира [4]. Феноксилалкилпроизводные урацила проявляют заметную активность в отношении ВИЧ-1 [3, 8], цитомегаловируса человека [10] и гепатита С [1]. Наибольший практический интерес среди соединений этого класса представляют производные 1-(2-феноксиэтил)урацила, содержащие в орто-положении фенольного ядра бензоильный заместитель [7]. Среди этих веществ был выявлен 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацил, продемонстри-

ровавший равный с Эфавиренцем уровень анти-ВИЧ-1 активности *in vitro* при сходном профиле резистентности. Препаративному синтезу этого соединения и разработке метода его количественного определения посвящена настоящая статья.

Цель исследования. Разработка препаративного метода синтеза и количественного определения 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила методом спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне.

Материалы и методы исследования

Для синтеза 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила был использован метод «сплавания» путем нагревания субстрата – триметилсилилпроизводного 6-метилурацила и алкилирующего агента – 1-бром-2-(2-бензоилфенокси)этана без растворителя при температуре 180-185 °С в течение 4 ч, как это описано для других алкилирующих агентов с невысокой реакционной способностью [2]. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker AMXIII (400 МГц) в растворах диметилсульфоксида-D₆, внутренний стандарт – тетраметилсилан. Температуру плавления

ния определяли на приборе Mel-Temp 3.0 (Laboratory Devices Inc). Тонкослойную хроматографию выполняли на пластинках Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, подвижная фаза – изопропиловый спирт, проявление – в парах иода. Оптическую плотность растворов целевого соединения в 95 % этиловом спирте определяли на спектрофотометре Shimadzu UV mini-1240 при длине волны 251,5 нм.

1-[2-(2-Бензоилфенокси)этил]-6-метилурацил. 2,0 г (0,016 моль) урацила, 25 мл (0,120 моль) гексаметилдисилазана и 0,25 г (0,005 моль) хлорида аммония кипятят с защитой от влаги воздуха до полного растворения осадка (12 ч), избыток гексаметилдисилазана отгоняют на кипящей водяной бане при остаточном давлении не менее 10 мм рт. ст., к остатку добавляют 3,0 г (0,010 моль) 1-(2-бензоилфенокси)-2-бромэтана и нагревают при периодическом перемешивании при температуре 180-185°C в течение 4 ч. Реакционную массу охлаждают, растворяют в 25 мл этилацетата, добавляют 25 мл изопропилового спирта, через 30 мин выделившийся осадок отфильтровывают и фильтрат упаривают в вакууме. Остаток растворяют в 50 мл хлороформа, фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме, остаток кристаллизуют из 50 мл изопропилового спирта и получают 2,7 г 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила, Т. пл. 227-230°C, R_f 0,70, выход 49%.

Спектр ЯМР ^1H : 1,86 с (3H, CH_3); 3,85 т (2H, 5 Гц, $\text{CH}_2\text{-N}$); 4,18 т (2H, 5 Гц, $\text{CH}_2\text{-O}$); 5,15 с (1H, H^5); 7,07-7,73 м (9H, арил); 11,87 с (1H, NH).

Спектр ЯМР ^{13}C : 23,56; 47,24; 70,30; 195,41; 117,28; 125,40; 132,75; 133,37; 135,94; 137,60; 141,07; 155,62; 158,10; 159,68; 166,39; 199,64.

Результаты исследования и их обсуждение

Синтез 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила, содержащего фрагмент бензофенона в составе заместителя при атоме азота N^1 , был осуществлен по схеме:

При этом алкилирование 6-метилурацила 1-(2-бензоилфенокси)-2-бромэтаном в среде безводного диметилформамида в присутствии карбоната калия в интервале температур 20-125 °С при различных соотношениях субстрата и алкилирующего агента оказалось значительно менее эффективным и приводило главным образом к продукту N^1, N^3 -дизамещения в 6-метилурациле.

Полученное целевое соединение представляет собой белое кристаллическое вещество, мало растворимое в воде, растворимое в спирте и ДМСО. Наличие в структуре соединения двух ароматических ядер, сопряженных посредством карбонильной группы, а также ядра урацила обуславливает интенсивное поглощение этим веществом электромагнитного излучения в ультрафиолетовом диапазоне, что предопределяет выбор метода количественного определения этого потенциального лекарственного вещества. Измерение оптической плотности различных растворов 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]-6-метилурацила в 95 % этиловом спирте при длине волны 251,5 нм, что соответствует его максимуму поглощения, показало линейную зависимость от концентрации (табл. 1).

Использование в качестве растворителя 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной или 0,1 М раствора калия гидроксида в 95 % этиловом спирте практически не влияло на величину максимума поглощения исследуемого вещества, из чего следует, что положение этого максимума в УФ-спектре определяется бензофеноновым фрагментом, а не ядром 6-метилурацила, способного образовывать соли как в сильнокислой, так и в высокоосновной среде.



Схема синтеза 1-[2-(2-бензоилфенокси)этил]урацила

Таблица 1

Концентрационная зависимость оптической плотности растворов
1-[2-(2-бензоилфенокс)этил]-6-метилурацила

Концентрация, С, г/л	Оптическая плотность, D
0,0082	0,6113
0,0138	0,9036
0,0206	1,2634
0,0275	1,6236
0,0361	2,0755
0,0444	2,4987
0,0531	2,9491

Таблица 2

Метрологические характеристики метода количественного определения
1-[2-(2-бензоилфенокс)этил]-6-метилурацила

Показатель	Значение
Специфичность	Методика специфична
Линейность	$y = 51,83x + 0,2102$
Коэффициент корреляции	$r = 0,9995$
Стандартное отклонение, SD, г/л	0,00035
Относительное стандартное отклонение, RSD, %	0,66

Концентрационная зависимость имеет вид $C = 0,01929 \cdot D - 0,00406$ (г/л) и может быть использована для определения чистоты субстанции 1-[2-(2-бензоилфенокс)этил]-6-метилурацила и ее количественного содержания в лекарственной форме. Метрологические характеристики разработанного метода анализа представлены в табл. 2.

Заключение

Разработан усовершенствованный метод синтеза 1-[2-(2-бензоилфенокс)этил]-6-метилурацила, основанный на модифицированной реакции Гилберта-Джонсона, проводимой без растворителя при повышенной температуре. Обоснован и апробирован метод количественного определения этого соединения методом спектрофотометрии в ультрафиолетовом диапазоне.

Список литературы

1. Гуреева Е.С. Синтез и анти-ВГС активность новых 1-[4-(фенокс)бензил]-производных 5-фениламиноурацила // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 11. – С. 1574-1578.

2. Новиков М.С. Силильный метод синтеза 1-[2-(фенокс)этил]урацилов / М.С. Новиков, А.А. Озеров // *Хим. гетероцикл. соед.* – 2005. – Вып. 7. – С. 1071-1075.

3. Новиков М.С. Синтез и противовирусные свойства 1-[[2-(фенокс)этокси]метил]-производных урацила // *Хим. гетероцикл. соед.* – 2005. – Вып. 5. – С. 726-731.

4. Озеров А.А. 1-Аллилоксиметилурацил: усовершенствованный синтез и активность в отношении ацикловир-резистентного штамма вируса герпеса // *Хим.-фарм. журн.* – 1993. – Т. 27. – № 7. – С. 508-509.

5. Озеров А.А. Синтез и противовирусная активность новых ненасыщенных пиримидиновых ациклонуклеозидов // *Хим.-фарм. журн.* – 1991. – Т. 25. – № 8. – С. 44-47.

6. Озеров А.А. Синтез 1-(арилоксиалкил)-5-(ариламино)урацилов // *Хим. гетероцикл. соед.* – 1998. – № 5. – С. 691-697.

7. Озеров А.А. Новые N-[2-(Бензоилфенокс)этил] производные нуклеиновых оснований – синтез и анти-ВИЧ-1 активность *in vitro* // *Волгогр. научно-мед. журн.* – 2012. – Вып. 4. – С. 15-18.

8. Парамонова М.П. Синтез и анти-ВИЧ-1 активность 1-[ω-(фенокс)алкил- и алкенил]производных урацила // *Хим.-фарм. журн.* – 2013. – Т. 47. – Вып. 9. – С. 30-34.

9. Петров В.И. 9-(2-Арилоксиэтил)-производные аденина – новый класс противовирусных агентов ненуклеозидной природы // *Хим. гетероцикл. соед.* – 2003. – № 9. – С. 1389-1397.

10. Novikov M.S. Synthesis and anti-HCMV activity of 1-[ω-(phenoxy)alkyl]uracil derivatives and analogues thereof // *Bioorg. Med. Chem.* – 2013. – Vol. 21. – No. 14 – P. 4151-4157.