

УДК 547.854.4:615.281.8

## СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ 1-(БЕНЗОИЛБЕНЗИЛ) ПРОИЗВОДНЫХ 5-(ФЕНИЛАМИНО)УРАЦИЛА

<sup>1</sup>Озеров А.А., <sup>2</sup>Новиков М.С.

<sup>1</sup>ГБУ «Волгоградский медицинский научный центр», Волгоград, e-mail: prof\_ozerov@yahoo.com;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, Волгоград, e-mail: m-novikov1@mail.ru

Осуществлен синтез новых потенциальных противовирусных агентов в качестве ненуклеозидных ингибиторов вирусспецифических ферментов пиримидиновой природы, содержащих фрагменты бензофенона в боковой цепи. Алкилирование триметилсилильных производных 5-(фениламино)урацила бензилбромидом, содержащими бензоильный заместитель в мета- или пара-положении, в кипящем безводном 1,2-дихлорэтаноле приводит к соответствующим 1-(бензоилбензил)производным с выходом 46–51%. Их дальнейшее алкилирование бензилхлоридом в безводном диметилформамиде в присутствии избытка карбоната калия дает 1,3-добензилированные 5-(фениламино)урацилы с выходом 69–74%. Химическая структура синтезированных соединений была доказана методом ЯМР-спектроскопии. Изучение противовирусной активности новых соединений *in vitro* показало, что 1-(3-бензоилбензил)-5-(фениламино)урацил эффективно подавляет размножение различных штаммов цитомегаловируса человека и варицелла-зостер вируса в клеточной культуре HEL при значении ингибирующей концентрации в диапазоне от 1,64 до 11,14 мкг/мл. Цитотоксичность этого соединения составляет 91,72 мкг/мл. Активности в отношении других ДНК- и РНК-содержащих вирусов: вируса герпеса простого типа 1 и типа 2, вируса оспы, аденовируса, коронавируса, вируса везикулярного стоматита, Коксаки вируса, респираторно-синцитиального вируса, вируса парагриппа, реовируса, вирусов Синдбис, Пунта Торо и желтой лихорадки, вирусов гриппа А/Н1N1, А/Н3N2 и В обнаружено не было.

**Ключевые слова:** урацил, бензофенон, ненуклеозидный ингибитор, цитомегаловирус человека, варицелла-зостер вирус

## SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF 1-(BENZOYLBENZYL) 5-(PHENYLAMINO)URACIL DERIVATIVES

<sup>1</sup>Ozerov A.A., <sup>2</sup>Novikov M.S.

<sup>1</sup>Volgograd Research Medical Centre, Volgograd, e-mail: prof\_ozerov@yahoo.com;

<sup>2</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, e-mail: m-novikov1@mail.ru

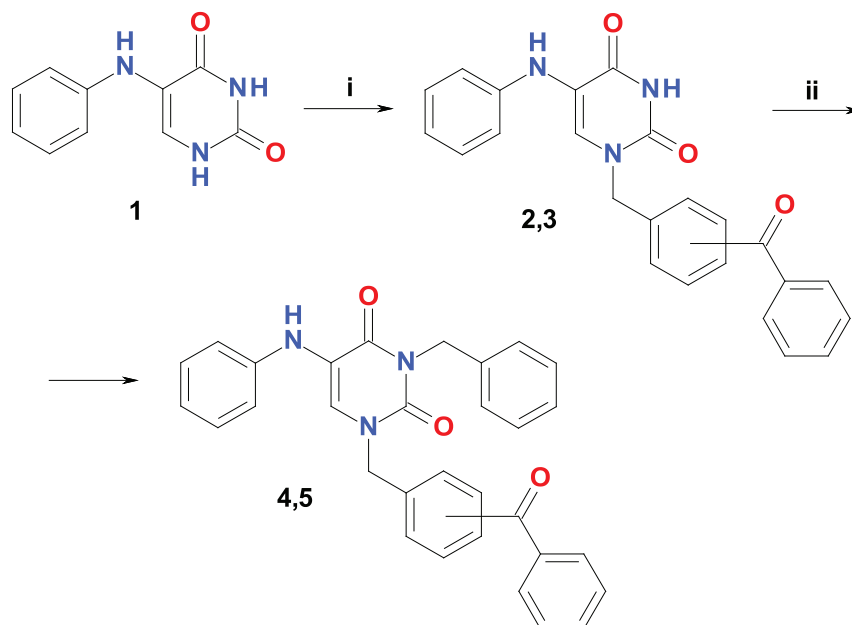
Synthesis of new potential antiviral agents as non-nucleoside inhibitors of virus-specific enzymes of pyrimidine nature, containing fragments of the benzophenone in the side chain was carried out. The alkylation of trimethylsilyl derivatives of 5-(phenylamino)uracil with benzylbromides containing benzoyl substituent in meta- or para-position, in boiling anhydrous 1,2-dichloroethane leads to the corresponding 1-(benzoylbenzyl) derivatives with yields of 46-51%. Their further alkylation with benzylchloride in anhydrous dimethylformamide in the presence of excess of potassium carbonate gives the 1,3-dibenzylated 5-(phenylamino)uracils with yields of 69-74%. The chemical structure of synthesized compounds was proved by the NMR spectroscopy. Study of antiviral activity *in vitro* of new compounds revealed that 1-(3-benzoylbenzyl)-5-(phenylamino)uracil effectively suppresses the replication of various strains of human cytomegalovirus and varicella-zoster virus in HEL cell culture with the value of inhibitory concentration in the range from 1.64 to 11.14 µg/ml. The cytotoxicity of this compound is 91.72 µg/ml. The activity against other DNA- and RNA-containing viruses: herpes simplex virus type 1 and 2, vaccinia virus, adeno virus, human coronavirus, vesicular stomatitis virus, Coxsackie virus, respiratory syncytial virus, para-influenza virus, reovirus, Sindbis virus, Punta Toro virus, yellow fever virus, influenza A/H1N1, A/H3N2 and B was not found.

**Keywords:** uracil, benzophenone, non-nucleoside inhibitor, human cytomegalovirus, varicella-zoster virus

N-замещенные производные пиримидиновых оснований зарекомендовали себя в качестве «привилегированных молекул», проявляющих разнообразную фармакологическую активность, в том числе противовирусную [1], противоопухолевую [2] и антибактериальную [3]. Ранее среди N-бензилпроизводных 5-(фениламино)урацила был выявлен ряд соединений, эффективно подавляющих репликацию ВИЧ-1 и герпесвирусов [4]. В продолжение этих исследований нами осуществлен синтез новых N-бензилпроизводных 5-(фенилами-

но)урацила, содержащих бензофеноновый фрагмент в составе боковой цепи, который обеспечивает, как нами было показано ранее [5], эффективное связывание производных урацила с аллостерическим сайтом обратной транскриптазы ВИЧ-1.

Синтез N<sup>1</sup>-моно- и N<sup>1</sup>,N<sup>3</sup>-добензилзамещенных производных 5-(фениламино)урацила (**1**) был основан на разработанном нами методе N-алкилирования триметилсилильных производных пиримидиновых оснований алкилгалогенидами с невысокой реакционной способностью [6] (схема).



Синтез *N*-бензилпроизводных 5-(фениламино)урацила. Условия и реагенты:  
 i) ГМДС,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , кипячение, 1 ч; бензоилбензилбромид, 1,2-дихлорэтан, кипячение, 20 ч;  
 ii) бензилхлорид,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , ДМФА, 80–85 °С, 2 ч

Кипячение исходного 5-(фениламино)урацила (1) в избытке гексаметилдисилазана в присутствии каталитического количества аммония хлорида в течение 1 ч приводит к образованию прозрачного раствора, упаривание которого в вакууме с количественным выходом дает триметилсилилпроизводное 5-(фениламино)урацила. Однако, в отличие от триметилсилилпроизводных урацила, тимина или 6-метилурацила, производное 5-(фениламино)урацила быстро и полностью кристаллизуется при охлаждении, что свидетельствует о его более высокой полярности. Методом спектроскопии ЯМР было установлено, что экзотическая аминогруппа 5-(фениламино)урацила (1) не подвергается силилированию, и полученный продукт представляет собой 2,4-ди(триметилсилилокси)-5-фениламинопиримидин. Тем не менее, триметилсилилпроизводное 5-(фениламино)урацила легко растворяется в малополярном 1,2-дихлорэтано, что способствует успешному селективному  $\text{N}^1$ -алкилированию этого соединения.

Взаимодействие триметилсилилпроизводного 5-(фениламино)урацила с бензоилзамещенными бензилбромидомидами протекает в течение 20 ч при кипячении их раствора в 1,2-дихлорэтано с защитой от влаги воздуха. Выход целевых 1-(бензоилбензил) производных 5-(фениламино)урацила (2, 3), составляющий 46–51%, можно считать до-

статочно высоким, поскольку алкилирующие агенты не выделялись в индивидуальном состоянии и не подвергались очистке.

Заключительное  $\text{N}^3$ -бензилирование соединений 2 и 3 бензилхлоридом, приводящее к дибензилпроизводным 5-(фениламино)урацила (4, 5), протекает в «классических» условиях – при нагревании в среде безводного диметилформамида в присутствии карбоната калия, что обеспечивает удовлетворительный (69–74%) выход конечных продуктов.

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 600 (600 МГц для  $^1\text{H}$  и 150 МГц для  $^{13}\text{C}$ ) в ДМСО- $d_6$ . Температуры плавления измерены в стеклянных капиллярах на приборе Mel-Temp 3.0 (Laboratory Devices Inc., США).

1-(3-Бензоилбензил)-5-(фениламино)урацил (2). К кипящему раствору 5,0 г (25,5 ммоль) 3-бензоилтолуола в 50 мл безводного тетрагхлорметана при интенсивном освещении светом видимого диапазона добавляют в течение 30 мин раствор 4,5 г (28,2 ммоль) брома в 25 мл тетрагхлорметана, кипятят с защитой от влаги воздуха 4 ч, растворитель отгоняют в вакууме водоструйного насоса на кипящей водяной бане и получают продукты бромирования в виде вязкого янтарного масла. Смесь 5,0 г (24,6 ммоль) 5-(фениламино)урацила, 50 мл гексаметилдисилазана и 0,05 г хлорида аммония кипятят с защитой от влаги воздуха в течение 1 ч

до образования прозрачного раствора, избыток гексаметилдисилазана удаляют в вакууме, остаток растворяют в 50 мл безводного 1,2-дихлорэтана, добавляют раствор продуктов бромирования в 50 мл 1,2-дихлорэтана и кипятят в течение 20 ч. Охлаждают, добавляют 10 мл воды и 2 мл концентрированного гидроксида аммония, перемешивают, выдерживают при температуре 0–5 °С в течение суток, образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают 25 мл холодного 1,2-дихлорэтана водой, сушат на воздухе, дважды кристаллизуют из 95% этилового спирта и получают 4,35 г золотистого игольчатого кристаллического вещества, выход 46%, т. пл. 179–181,5 °С.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 5,00 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,65–7,76 м (14 H, арил, NH); 7,81 с (1H,  $\text{H}^6$ ); 11,63 с (1H, NH).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 53,40; 117,81; 120,22; 121,54; 131,96; 132,00; 132,24; 132,37; 132,45; 133,05; 135,28; 136,19; 138,07; 140,18; 140,59; 141,06; 149,01; 153,35; 165,18; 198,86.

*1-(4-Бензоилбензил)-5-(фениламино)урацил (3)* получают аналогично из 4-бензоилтолуола. Золотистое пластинчатое кристаллическое вещество, выход 51%, т. пл. 196,5–198,5 °С.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 5,03 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,66–7,76 м (14 H, арил, NH); 7,74 с (1H,  $\text{H}^6$ ); 11,59 с (1H, NH).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 53,53; 118,03; 120,43; 121,67; 130,81; 131,94; 132,23; 132,95; 133,41; 136,05; 137,58; 139,67; 140,40; 145,29; 148,90; 153,32; 165,17; 198,73.

*1-(3-Бензоилбензил)-3-бензил-5-(фениламино)урацил (4)*. Смесь 1,0 г (2,52 ммоль) *1-(3-бензоилбензил)-5-(фениламино)урацила (2)* и 1,0 г (7,24 ммоль) тонко измельченного безводного карбоната калия в 25 мл безводного диметилформамида перемешивают при температуре 80–85 °С в течение 30 мин, добавляют 0,35 мл (3,04 ммоль) бензилхлорида и перемешивают при той же температуре в течение 2 ч. Охлаждают, фильтруют, фильтрат упаривают в вакууме, остаток растирают с 10 мл воды, выдерживают при температуре 0–5 °С в течение суток, образовавшийся осадок отфильтровывают, промывают водой, сушат на воздухе, кристаллизуют из метилового спирта и получают 0,85 г лимонно-желтого кристаллического вещества, выход 69%, т. пл. 122–124,5 °С.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 5,04 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 5,08 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,65–7,76 м (20H, арил, NH); 7,94 с (1H,  $\text{H}^6$ ).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 47,59; 54,67; 117,90; 119,63; 121,69; 130,57; 130,85; 131,71; 131,96; 131,98; 132,28; 132,39; 132,47; 133,04; 135,30; 136,22; 137,22;

140,14; 140,39; 140,62; 140,82; 148,96; 153,47; 163,24; 198,83.

*1-(4-Бензоилбензил)-3-бензил-5-(фениламино)урацил (5)* получают аналогично из *1-(4-бензоилбензил)-5-(фениламино)урацила (3)*. Светло-желтое кристаллическое вещество, выход 74%, т. пл. 135–137,5 °С.

Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 5,07 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 5,11 с (2H,  $\text{CH}_2$ ); 6,68–7,76 м (20H, арил, NH); 7,88 с (1H,  $\text{H}^6$ ).

Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta$ , м. д.: 47,67; 54,81; 118,15; 119,89; 121,84; 130,58; 130,83; 130,99; 131,71; 131,94; 132,28; 132,95; 133,41; 136,07; 136,62; 139,73; 140,38; 140,42; 145,05; 148,82; 153,48; 164,27; 198,71.

Противовирусная активность новых соединений 2–5 *in vitro* была изучена в Рега институте медицинских исследований (Католический университет, Лёвен, Бельгия). Обнаружено, что *1-(3-бензоилбензил)-5-(фениламино)урацил (2)* проявляет умеренную активность в клеточной культуре HEL в отношении различных герпесвирусов: цитомегаловируса человека (герпесвирус человека типа 5) и вируса ветряной оспы / опоясывающего лишая (варицелла-зостер вирус, герпесвирус человека типа 3) при невысокой цитотоксичности. Интересно отметить, что активность этого соединения в отношении штамма вируса варицелла-зостер, не кодирующего тимидинкиназу (ТК- VZV, штамм 07-1), была значительно выше, чем в отношении вируса, кодирующего этот фермент (ТК<sup>+</sup> VZV, штамм ОКА), в то время как для других противогерпетических агентов, в частности ацикловира, обычно наблюдается обратная закономерность. Это позволяет сделать предположение о том, что соединение 2 является нунулеозидным ингибитором репликации вируса варицелла-зостер. Остальные соединения 3–5 не продемонстрировали заметной противовирусной активности в отношении указанных герпесвирусов (таблица).

Ни одно из новых соединений 2–5 не проявило активности *in vitro* в отношении других ДНК- и РНК-содержащих вирусов: вируса герпеса простого типа 1 и типа 2, вируса оспы, аденовируса, коронавируса, вируса везикулярного стоматита, Коксаки вируса, респираторно-синцитиального вируса, вируса парагриппа, реовируса, вирусов Синдбис, Пунта Торо и желтой лихорадки, вирусов гриппа А/Н1N1, А/Н3N2 и В. Очевидно, что наличие, спектр и уровень противовирусного действия соединений этого ряда в значительной степени определяется характером замещения в бензильном фрагменте при атоме азота N<sup>1</sup> пиримидиновой системы, тогда как введение второго бензильного заместителя к атому азота N<sup>3</sup> приводит к потере противовирусной активности.

Противовирусная активность синтезированных соединений *in vitro*

Соединение	Противовирусная активность, ИК <sub>50</sub> , мкг/мл <sup>а</sup>				Цитотоксичность, ЦК <sub>50</sub> , мкг/мл <sup>б</sup>
	Цитомегаловирус		Варицелла-зостер вирус		
	Штамм AD-169	Штамм Davis	Штамм ОКА	Штамм 07-1	
2	1,64	1,64	11,14	1,92	91,72
3	> 20	> 4	> 20	5,52	> 100
4	> 100	> 20	> 100	> 100	> 100
5	> 100	> 20	> 100	> 100	> 100
Ганцикловир	0,58	0,16	–	–	> 100
Ацикловир	–	–	0,16	1,59	> 100

Примечание. <sup>а</sup>ИК<sub>50</sub> (ингибирующая концентрация) – концентрация вещества, обеспечивающая подавление репликации вируса на 50%; <sup>б</sup>ЦК<sub>50</sub> (цитотоксическая концентрация) – концентрация вещества, при которой наблюдается подавление роста 50% клеток.

Таким образом, нами получен ряд новых производных 5-(фениламино)урацила, содержащих бензофеноновые фрагменты в положении N<sup>1</sup> пиримидиновой системы. Целесообразен дальнейший поиск высокоселективных ингибиторов вирусной репродукции для лечения заболеваний, вызываемых цитомегаловирусом человека и вирусом ветряной оспы / опоясывающего лишая на основе соединений этого ряда.

Авторы выражают глубокую благодарность проф. R. Snoek и проф. G. Andrei (Rega Institute for Medical Research, Leuven, Belgium) за широкий противовирусный скрининг полученных соединений.

## Список литературы

1. Tanaka H., Takashima H., Ubasawa M., Sekiya K., Inoue N., Baba M., Shigeta S., Walker R.T., De Clercq E., Miyasaka T. Synthesis and antiviral activity of 6-benzyl analogs of 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-5-(phenylthio)thymine (HEPT) as potent and selective anti-HIV-1 agents // J. Med. Chem. – 1995. – Vol. – No. 15. – P. 2860–2865.

2. Engel D., Nudelman A., Tarasenko N., Levovich I., Markovsky I., Sochotnikov S., Tarasenko I., Rephaeli A. Novel prodrugs of tegafur that display improved anticancer activity and antiangiogenic properties // J. Med. Chem. – 2008. – Vol. 51. – No. 2. – P. 314–323.

3. Kawatkar S.P., Keating T.A., Olivier N.B., Breen J.N., Green O.M., Guler S.Y., Hentemann M.F., Loch J.T., McKenzie A.R., Newman J.V., Otterson L.G., Martínez-Botella G. Antibacterial inhibitors of Gram-positive thymidylate kinase: structure-activity relationships and chiral preference of a new hydrophobic binding region // J. Med. Chem. – 2014. – Vol. 57. – No. 11. – P. 4584–4597.

4. Novikov M.S., Buckheit R.W., Temburnikar K., Khandzhinskaya 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. – Vol. 18. – No. 23. – P. 8310–8314.

5. Novikov M.S., Ivanova O.N., Ivanov A.V., Valuev-Eliston V.T., Temburnikar K., Ozerov A.A., Gurskaya G.V., Kochetkov S.N., Pannecouque C., Balzarini J., Seley-Radtke K.L. 1-[2-(2-Benzoyl- and 2-benzylphenoxy)ethyl]uracils as potent anti-HIV-1 agents // Bioorg. Med. Chem. – 2011. – Vol. 19. – No. 19. – P. 5794–5902.

6. Новиков М.С., Озеров А.А. Синтез 5-(ариламино)-1-бензилурацилов // Хим. гетероцикл. соед. – 2005. – № 6. – С. 887–892.