

УДК 615.281.8

2-(2,4-Диокси-1,2,3,4-тетрагидропиримидин-1-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамиды как новый класс ингибиторов репликации цитомегаловируса

Д. А. Бабков¹, М. П. Парамонова¹, А. А. Озеров¹, А. Л. Хандажинская², R. Spoeck³, G. Andrei³, М. С. Новиков^{1*}

¹Волгоградский государственный медицинский университет, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1

²Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

³Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Minderbroedersstraat 10, Leuven B-3000, Belgium

*E-mail: m-novikov1@mail.ru

Поступило в редакцию 25.05.2015

РЕФЕРАТ Осуществлен синтез серии производных урацила, содержащих в положении 3 пиримидинового цикла N-(4-феноксифенил)ацетамидный фрагмент, и изучена их противовирусная активность. Показано, что соединения этого ряда проявляют мощную ингибиторную активность в отношении цитомегаловируса человека (штаммы AD-169 и Davis) в культуре клеток HEL. Обнаружено, что некоторые соединения проявляют заметную активность в отношении вируса ветряной оспы-опоясывающего лишая (varicella zoster virus).

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА производные урацила, синтез, противовирусная активность, цитомегаловирус человека. **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ЦМВ – цитомегаловирус; СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита; ГМДС – гексаметилдисилазан; ДМСО – диметилсульфоксид; ДМФА – диметилформамид; ВЗВ – вирус ветряной оспы-опоясывающего лишая (varicella zoster virus).

Цитомегаловирус (ЦМВ) широко распространен в человеческой популяции, он обнаружен у жителей всех без исключения географических регионов, а также у представителей всех социально-экономических групп [1]. ЦМВ вызывает пожизненную латентную инфекцию, которая может периодически реактивироваться. У здоровых людей эта инфекция обычно протекает бессимптомно [2], тогда как у индивидов с пониженным иммунным статусом, в частности, у больных СПИДом [3] и реципиентов донорских органов, получающих иммуносупрессоры [4], с ЦМВ связана значительная заболеваемость и смертность. ЦМВ считается наиболее опасной причиной врожденных заболеваний. Вирус способен передаваться от матери к плоду, что приводит к мертворождению, врожденным дефектам и нарушениям развития [5].

При заболеваниях, вызванных ЦМВ, применяются ганцикловир, цидофовир и фоскарнет, а также их пролекарственные формы – валганцикловир и бринцидофовир [6]. Однако эти препараты вызывают множество нежелательных побочных эффектов [6]. Длительная терапия, проводимая при ЦМВ-инфекции, может приводить к возникновению устойчивых вариантов ЦМВ [7], поэтому поиск новых высокоэффективных анти-ЦМВ-агентов представляет актуальную задачу.

Недавно мы получили ряд 1-циннамил-3-бензил-производных урацила, которые эффективно блокировали репликацию ВИЧ-1 и ЦМВ в клеточных культурах [8], а также описали синтез и охарактеризовали свойства 1-[ω-(фенокси)алкил]производных урацила как анти-ЦМВ-агентов [9]. В продолжение работы по поиску новых ингибиторов

репликации ЦМВ нами синтезированы производные урацила, содержащие 4-феноксиацетанилидный фрагмент в положении 3 остатка пиримидинового основания, и изучены их противовирусные свойства.

2-Хлор-N-(4-феноксифенил)ацетамид (1)

Суспензию 3.9 г (21.06 ммоль) 4-(фенокси)анилина (2) и 0.15 г NH_4Cl в 25 мл ГМДС кипятили в течение 12 ч до образования прозрачного раствора. Избыток ГМДС удаляли при пониженном давлении, к остатку (маслянистая жидкость темного цвета) добавляли 50 мл безводного 1,2-дихлорэтана, а затем к раствору при 0°C по каплям прибавляли 1.7 мл (21.37 ммоль) хлорацетилхлорида. Полученную смесь перемешивали при 0°C в течение 2 ч и оставляли на ночь при комнатной температуре. Затем реакционную массу упаривали при пониженном давлении на ротаторном испарителе и перекристаллизовывали из смеси этилацетат-гексан (1 : 1). Полученный продукт представлял собой мелкокристаллическое вещество светло-лилового цвета (выход 80%), $T_{\text{пл}}$ 105–106°C, R_f 0.62 (этилацетат-гексан, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 4.24 (2H, s, COCH_2), 6.97 (2H, d, $J = 8.7$, H-3', H-5'), 7.00 (2H, d, $J = 9.0$, H-2'', H-6''), 7.10 (1H, t, $J = 7.4$, H-4''), 7.36 (2H, t, $J = 8.5$, H-3'', H-5''), 7.61 (2H, d, $J = 9.0$, H-2', H-6'), 10.30 (1H, s, NH). ^{13}C -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 47.7, 122.2, 123.6, 125.4, 134.2, 138.5, 156.6, 161.4, 168.7.

Общая методика синтеза 2-(2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамидов (4)–(11)

Смесь 1.42 ммоль соответствующего 1-замещенного урацила (12)–(19) и 0.29 г (2.10 ммоль) K_2CO_3 в растворе 10 мл ДМФА перемешивали при 80°C в течение 1 ч, охлаждали до комнатной температуры, добавляли 2.12 ммоль 2-хлор-N-(4-феноксифенил)ацетамида (1) и перемешивали при той же температуре в течение 24 ч. Затем реакционную массу фильтровали, упаривали в вакууме и очищали флэш-хроматографией с последующей перекристаллизацией продукта из смеси этилацетат-гексан (1 : 1).

2-(3-Бензил-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамид (4)

Выход 85%, $T_{\text{пл}}$ 186–187°C, R_f 0.60 (1,2-дихлорэтан-этилацетат, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 4.21 (2H, s, CH_2), 4.53 (2H, s, CH_2), 5.38 (1H, d, $J = 7.8$, H-5), 6.51–6.56 (4H, m, H-4', H-3', H-5', H-4''), 6.65 (2H, d, $J = 8.5$, H-2', H-6'), 6.84–6.94 (6H, m, H-3'', H-5'', H-2'', H-3'', H-5'', H-6''), 7.15 (2H, d, $J = 8.9$, H-2'', H-6''), 7.43 (1H, d, $J = 7.8$, H-6), 9.88 (1H, s, NH). ^{13}C -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 42.9, 51.0, 100.1,

117.5, 119.1, 120.3, 122.6, 127.1, 127.4, 128.3, 129.5, 134.3, 136.1, 144.1, 150.8, 151.4, 156.9, 161.8, 164.7.

2-[3-(4-Метилбензил)-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил]-N-(4-феноксифенил)ацетамид (5)

Выход 83%, $T_{\text{пл}}$ 193–194°C, R_f 0.54 (1,2-дихлорэтан-этилацетат, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 2.29 (3H, s, CH_3), 4.65 (2H, s, CH_2), 4.92 (2H, s, CH_2), 5.80 (1H, d, $J = 7.8$, H-5), 6.98 (2H, d, $J = 8.5$, H-3', H-5'), 7.00 (2H, d, $J = 8.9$, H-2', H-6'), 7.10 (1H, dt, $J = 7.3$ и 1.0, H-4''), 7.19 (2H, d, $J = 7.9$, H-2'', H-6''), 7.23 (2H, d, $J = 7.8$, H-3'', H-5''), 7.36 (2H, dt, $J = 7.4$ и 1.2, H-3''', H-5'''), 7.60 (2H, d, $J = 8.8$, H-2''', H-6'''), 7.84 (1H, d, $J = 8.0$, H-6), 10.25 (1H, s, NH). ^{13}C -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 24.9, 47.5, 55.4, 104.7, 122.2, 123.7, 125.0, 127.2, 131.8, 133.4, 134.2, 137.7, 138.9, 141.3, 148.6, 155.4, 156.1, 161.6, 166.4, 169.3.

2-[3-(3,5-Диметилбензил)-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил]-N-(4-феноксифенил)ацетамид (6)

Выход 79%, $T_{\text{пл}}$ 99–101°C, R_f 0.53 (1,2-дихлорэтан-этилацетат, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 2.24 с (6H, CH_3), 4.64 с (2H, CH_2), 4.87 с (2H, CH_2), 5.80 д (1H, $J = 7.9$, H-5), 6.92 с (3H, H-2', H-4', H-6'), 6.96 д (2H, $J = 8.0$, H-2'', H-6''), 6.98 д (2H, $J = 8.9$, H-3'', H-5''), 7.09 т (1H, $J = 7.3$, H-4''), 7.35 т (2H, $J = 7.8$, H-3''', H-5'''), 7.58 д (2H, $J = 8.8$, H-2''', H-6'''), 7.82 д (1H, $J = 7.9$, H-6), 10.29 с (1H, NH). ^{13}C -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 25.1, 47.5, 55.6, 104.7, 122.1, 123.7, 124.9, 127.2, 129.5, 133.4, 134.2, 138.9, 140.5, 142.0, 148.7, 155.4, 156.1, 161.5, 166.4, 169.3.

2-(3-Циннамил-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамид (7)

Выход 88%, $T_{\text{пл}}$ 184–185°C, R_f 0.41 (1,2-дихлорэтан-этилацетат, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д., J (Гц): 4.54 (2H, d, $J = 5.6$, CH_2), 4.64 (2H, s, CH_2), 5.81 (1H, d, $J = 8.0$, H-5), 6.34 (1H, dt, $J = 6.0$, =CH-), 6.60 (1H, d, $J = 16.0$, PhCH=), 6.96 (2H, d, $J = 7.8$, H-3'', H-5''), 6.98 (2H, d, $J = 8.9$, H-2'', H-6''), 7.09 (1H, t, $J = 7.3$, H-4''), 7.25 (1H, t, $J = 7.4$, H-4'), 7.33 (2H, t, $J = 7.8$, H-3''', H-5'''), 7.35 (2H, t, $J = 8.4$, H-3', H-5'), 7.43 (2H, d, $J = 7.5$, H-2', H-6'), 7.58 (2H, d, $J = 8.9$, H-2''', H-6'''), 7.77 (1H, d, $J = 7.8$, H-6), 10.28 (1H, s, NH). ^{13}C -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.: 47.4, 54.2, 104.7, 122.1, 123.7, 125.0, 127.2, 128.0, 130.7, 132.2, 132.9, 134.2, 137.0, 138.9, 140.1, 148.4, 155.2, 156.1, 161.5, 166.5, 169.3.

2-[3-(Нафт-1-илметил)-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил]-N-(4-феноксифенил)ацетамид (8)

Выход 85%, $T_{\text{пл}}$ 197–198.5°C, R_f 0.57 (1,2-дихлорэтан-этилацетат, 1 : 1). ^1H -ЯМР-спектр (ДМСО- D_6), δ , м.д.,

J (Гц): 4.72 (2H, s, CH₂), 5.49 (2H, s, CH₂), 5.85 (1H, d, $J = 8.0$, H-5), 6.99 (2H, d, $J = 7.8$, H-3'', H-5''), 7.02 (2H, d, $J = 9.0$, H-2'', H-6''), 7.11 (1H, t, $J = 7.3$, H-4'''), 7.36 (1H, d, $J = 7.1$, H-4'), 7.37 (2H, dt, $J = 8.6$ и 0.9 , H-3''', H-5'''), 7.51 (1H, t, $J = 7.9$, H-6'), 7.57–7.63 (4H, m, H-3', H-7', H-2''', H-6'''), 7.76 (1H, d, $J = 7.8$, H-6), 7.92 (1H, d, $J = 8.3$, H-8'), 7.99 (1H, d, $J = 7.7$, H-4'), 8.12 (1H, d, $J = 8.2$, H-5'), 10.28 (1H, s, NH). ¹³C-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 47.6, 53.2, 105.1, 122.2, 123.7, 125.0, 127.2, 129.1, 129.7, 130.4, 130.9, 132.5, 132.9, 134.2, 134.6, 136.1, 137.6, 138.9, 148.3, 155.6, 156.2, 161.6, 166.4, 169.3.

2-[3-[2-(Феноксипиримидин-1(2H)-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамид (9)

Выход 90%, $T_{\text{пл}}$ 154–155°C, R_f 0.46 (1,2-дихлорэтан–этилацетат, 1 : 1). ¹H-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д., J (Гц): 4.16 (2H, d, $J = 5.4$, NCH₂), 4.21 (2H, d, $J = 5.4$, OCH₂), 4.64 (2H, s, CH₂), 5.78 (1H, d, $J = 8.0$, H-5), 6.94–7.00 (7H, m, H-2', H-4', H-6', H-2'', H-3'', H-5'', H-6'''), 7.10 (1H, t, $J = 7.3$, H-4'''), 7.29 (2H, t, $J = 7.9$, H-3''', H-5'''), 7.36 (2H, t, $J = 7.6$ и 1.2 , H-3', H-5'), 7.59 (2H, d, $J = 8.9$, H-2''', H-6'''), 7.78 (1H, d, $J = 7.9$, H-6), 10.24 (1H, s, NH). ¹³C-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 29.7, 47.4, 52.4, 69.4, 104.0, 118.9, 122.2, 123.7, 125.0, 125.3, 127.2, 133.8, 134.1, 138.9, 149.3, 155.4, 156.2, 161.6, 162.2, 166.4, 169.3.

2-[3-(Бензилоксиметил)-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил]-N-(4-феноксифенил)ацетамид (10)

Выход 84%, $T_{\text{пл}}$ 163–164°C, R_f 0.47 (1,2-дихлорэтан–этилацетат, 1 : 1). ¹H-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д., J (Гц): 4.59 (2H, s, CH₂), 4.63 (2H, s, CH₂), 5.26 (2H, s, CH₂), 5.83 (1H, d, $J = 7.8$, H-5), 6.96 (2H, d, $J = 7.9$, H-3'', H-5''), 6.99 (2H, d, $J = 8.9$, H-2'', H-6''), 7.09 (1H, dt, $J = 7.6$ и 1.0 , H-4'''), 7.26–7.38 (7H, m, C₆H₅, H-3''', H-5'''), 7.59 (2H, d, $J = 9.1$, H-2''', H-6'''), 7.84 (1H, d, $J = 8.0$, H-6), 10.32 (1H, s, NH). ¹³C-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д.: 43.2, 70.4, 77.2, 100.9, 117.9, 119.5, 120.7, 123.0, 127.69, 127.74, 128.3, 130.0, 134.7, 137.4, 143.8, 151.3, 151.9, 157.4, 162.1, 165.1.

2-(3-Пропаргил)-2,6-диоксо-3,6-дигидропиримидин-1(2H)-ил)-N-(4-феноксифенил)ацетамид (11)

Выход 81%, $T_{\text{пл}}$ 226–228°C, R_f 0.68 (1,2-дихлорэтан–этилацетат, 1 : 1). ¹H-ЯМР-спектр (ДМСО-D₆), δ , м.д., J (Гц): 3.42 (1H, s, =CH), 4.59 (2H, s, CH₂), 4.60 (2H, d, $J = 8.0$, CH₂), 5.81 (1H, d, $J = 8.0$, H-5), 6.95 (2H, d, $J = 7.7$, H-3'', H-5''), 6.98 (2H, d, $J = 8.9$, H-2'', H-6''), 7.08 (1H, t, $J = 7.6$, H-4'''), 7.35 (2H, dt, $J = 8.5$ и 1.1 , H-3''', H-5'''), 7.56 (2H, d, $J = 8.9$, H-2''', H-6'''), 7.80 (1H, d, $J = 7.9$, H-6), 10.33 (1H, s, NH). ¹³C-ЯМР-спектр

(ДМСО-D₆), δ , м.д.: 42.0, 47.4, 80.3, 82.4, 105.1, 122.1, 123.7, 125.0, 127.3, 134.2, 138.8, 147.6, 154.8, 156.1, 161.5, 166.3, 169.2.

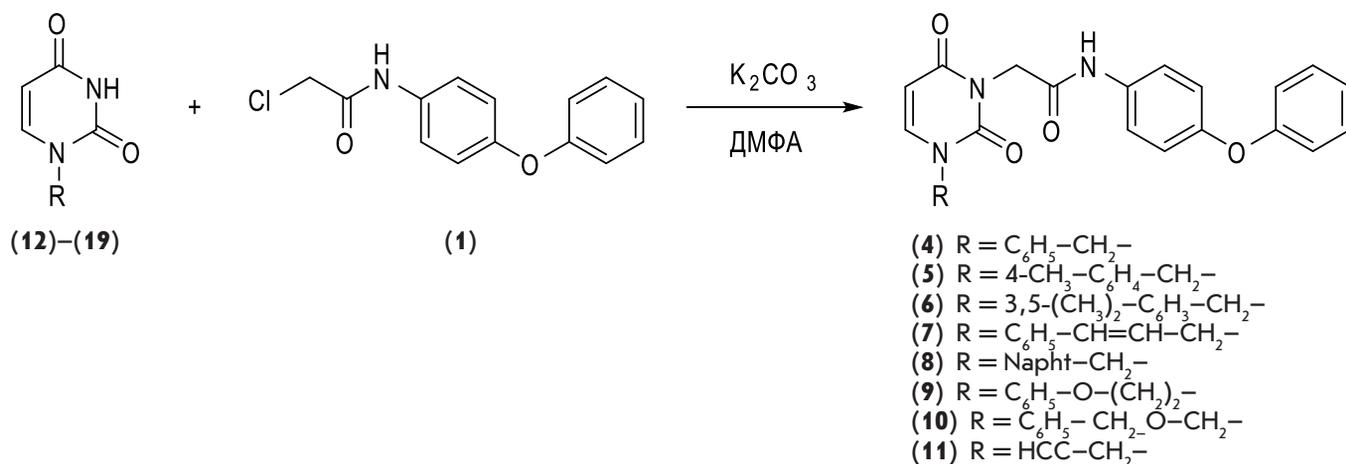
Противовирусные исследования

Оценивали активность соединений в отношении следующих вирусов: вируса герпеса простого типа 1 (ВПГ-1) штамм KOS с дефицитом тимидинкиназы (TK⁻), ВПП-1 штамм KOS, резистентного к ацикловиру (ACV^r), вируса герпеса простого типа 2, штаммы Lyons и G, ЦМВ (штаммы AD-169 и Davis), вируса ветряной оспы-опоясывающего лишая (ВЗВ, штаммы ОКА и YS), вируса осповакцины штамм Lederle, респираторно-сицитиального вируса (штамм Long), вируса везикулярного стоматита, вируса Коксаки В4, вируса парагриппа 3, вируса гриппа А (подтипы H1N1, H3N2), вируса гриппа В, реовируса-1, вируса Синдбис и вируса Пунта Торо. Исследования проводили в соответствии с [9].

Исходный 2-хлор-N-(4-феноксифенил)ацетамид (**1**) синтезирован в соответствии с условиями, разработанными нами ранее [10]. Производные урацила, содержащие заместитель у атома азота N¹ (**12**)–(**19**), получены конденсацией эквимольных количеств 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина и арилметилхлорида/бромиды в соответствии с [8]. Обработка эквимольным количеством хлорида (**1**) в растворе ДМФА в присутствии K₂CO₃, как показано на схеме, вела к получению целевых 4-феноксиацетанилидов (**4**)–(**11**), выход которых составил 79–90%.

Анти-ЦМВ-свойства производных урацила (**4**)–(**11**) были изучены в культуре клеток HEL в отношении ЦМВ (штаммы AD-169 и Davis). Обнаружено, что некоторые соединения этой серии проявляют мощную ингибиторную активность в отношении ЦМВ, сравнимую с действием ганцикловира. Наиболее активными оказались производные урацила, содержащие в положении 1 пиримидинового кольца бензильный (соединение (**4**)) и 3,5-диметилбензильный (соединение (**6**)) заместители. Они ингибировали репликацию ЦМВ в интервале концентраций EC₅₀ = 3.06–8.9 мкМ. Другие модификации структуры сопровождались полной потерей ингибиторной активности.

Обнаружено также, что соединения (**4**) и (**6**) проявляют заметную активность в отношении ВЗВ. Соединения блокировали репродукцию ВЗВ (штамм ОКА) в культуре клеток HEL в концентрации EC₅₀ = 8.18 мкМ (соединение (**4**)) и 17.0 мкМ (соединение (**6**)), что уступает защитному действию ацикловира (EC₅₀ = 1.33 мкМ) и бривудина (EC₅₀ = 0.026 мкМ), применяемых при инфекциях, вызванных этим вирусом [11]. Однако устойчивый к действию ацикловира и бривудина мутантный



Схема

штамм ВЗВ (07-1), характеризующийся дефицитом тимидинкиназы, был чувствителен к 1-бензил-3-ацетанилид-производным урацила: EC₅₀ = 6.68 мкМ (соединение (4)) и 16.1 мкМ (соединение (6)).

Таким образом, производные урацила, синтез которых описан в данной работе, представляют собой новый класс ингибиторов репродукции ЦМВ, сравнимый с действием ганцикловира. Кроме того, некоторые соединения данного ряда проявляют выраженный ингибиторный эффект в отношении ВЗВ –

как штамма дикого типа (ОКА), так и штамма (07-1), устойчивого к действию ацикловира. Полученные данные показывают перспективность данного направления для поиска новых эффективных противовирусных средств. ●

*Работа поддержана РФФИ
 (грант № 13-04-01391_A), биологическая часть
 работы поддержана грантом GOA 10/014.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Cannon M.J., Schmid D.S., Hyde T.B. // Rev. Med. Virol. 2010. V. 20. P. 202–213.
- Gandhi M.K., Khanna R. // Lancet Infect. Dis. 2004. V. 4. P. 725–738.
- Baroco A.L., Oldfield E.C. // Curr. Gastroenterol. Rep. 2008. V. 10. P. 409–416.
- Nashan B., Gaston R., Emery V., Säemann M.D., Mueller N.J., Couzi L., Dantal J., Shihab F., Mulgaonkar S., Seun K.Y., et al. // Transplantation. 2012. V. 93. P. 1075–1085.
- Dollard S.C., Grosse S.D., Ross D.S. // Rev. Med. Virol. 2007. V. 17. P. 355–363.
- Ahmed A. // Infect Disord Drug Targets. 2011. V. 5. P. 475–503.
- Lurain N.S., Chou S. // Clin. Microb. Rev. 2010. V. 23. P. 689–712.
- Novikov M.S., Valuev-Elliston V.T., Babkov D.A., Paramonova M.P., Ivanov A.V., Gavryushov S.A., Khandazhinskaya A.L., Kochetkov S.N., Pannecouque C., Andrei G., et al. // Bioorg. Med. Chem. 2013. V. 21. P. 1150–1158.
- Novikov M.S., Babkov D.A., Paramonova M.P., Khandazhinskaya A.L., Ozerov A.A., Chizhov A.O., Andrei G., Snoeck R., Balzarini J., Seley-Radtke K.L. // Bioorg. Med. Chem. 2013. V. 21. P. 4151–4157.
- Novikov M.S., Babkov D.A., Paramonova M.P., Chizhov A.O., Khandazhinskaya A.L., Seley-Radtke K.L. // Tetrahedron Lett. 2013. V. 54. P. 576–578.
- De Clercq E. // Med. Res. Rev. 2005. V. 25. P. 1–20.