

Синтез новых ациклических аналогов 3-фенацилуридина и сравнительная оценка их биологической активности *in vivo*

Иван А. Новаков¹, Лейла Л. Брунилина¹, Иван А. Кириллов^{1*}, Максим Б. Навроцкий¹, Мария Д. Робинович^{1,2}, Евгения С. Титова¹, Дмитрий С. Шейкин¹, Евсей А. Ручко³, Алла В. Павлова⁴, Анастасия А. Котлярова⁴, Татьяна Г. Толстикова⁴

¹ Волгоградский государственный технический университет, пр. им. Ленина, 28, Волгоград 400005, Россия; e-mail: kirillow.vania@yandex.ru

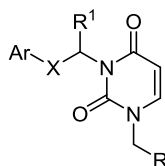
² АО "Волжский Оргсинтез", ул. Александра, 100, Волжский 404117, Россия; e-mail: robinovich.m@yandex.ru

³ ЗАО "Фарм-Синтез", ул. 2-я Кабельная, д. 2, стр. 46, Москва 111024, Россия; e-mail: evsevius@mail.ru

⁴ Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, пр. Академика Лаврентьева, 9, Новосибирск 630090, Россия e-mail: tg_tolstikova@mail.ru

Поступило 22.02.2020

Принято после доработки 16.04.2020



R = OCH₂CH₂OAc, CH₂OAc
R¹ = H, Me
X = C(O), S
Ar = Ph, 4-MeOC₆H₄, 4-FC₆H₄

В результате реакции *N*(3)-алкилирования в присутствии 1-(2-ацетоксиэтил)- и 1-(2-ацетокстиэтоксиметил)урацила получены новые структурные аналоги 3-фенацилуридина. Изучение биологической активности полученных соединений в условиях острого эксперимента *in vivo* не выявило у них гипнотических свойств и способности усиливать воздействие диазепама и хлоралгидрата.

Ключевые слова: 3-фенацилуридин, алкилирование, биологическая активность, снотворные средства, уридиновый рецептор.

Поиск новых снотворных средств, не вызывающих привыкания и зависимости, является важным направлением медицинской химии. В качестве перспективных гипнотиков, способных составить конкуренцию традиционно применяемым производным барбитуровой кислоты, 1,4-бензодиазепаина или *Z*-препаратам, рассматривается ряд различных по структуре и механизму действия соединений,¹ в том числе и производные природного нуклеозида – уридина.

Данные о снотворном воздействии 3-фенацилуридина (рис. 1) при интрацеребральном введении были впервые опубликованы в 1994 г.² Долгое время оставался открытым вопрос о биомолекулярном механизме действия 3-фенацилуридина, имеющего отличную от других известных снотворных средств структуру. При изучении его влияния на бензодиазепиновые рецепторы было обнаружено незначительное сродство к ним³ и лишь несколько лет спустя было установлено, что снотворные свойства этого соединения определяет его аффинность к специфическим уридиновым рецепторам

ЦНС.⁴ Было показано, что продукт метаболического восстановления кетогруппы 3-фенацилуридина также обладает сродством к этим рецепторам, причем *S*-изомер превосходит *R*-изомер соответствующего спирта в 187 раз по своей аффинности к уридиновым рецепторам и в 15 раз по продолжительности снотворного действия.⁵ В результате исследования было установлено, что образованные спирты являются фармакологически активными метаболитами исходного кетона.⁶

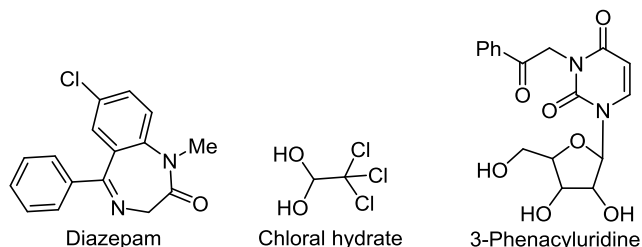
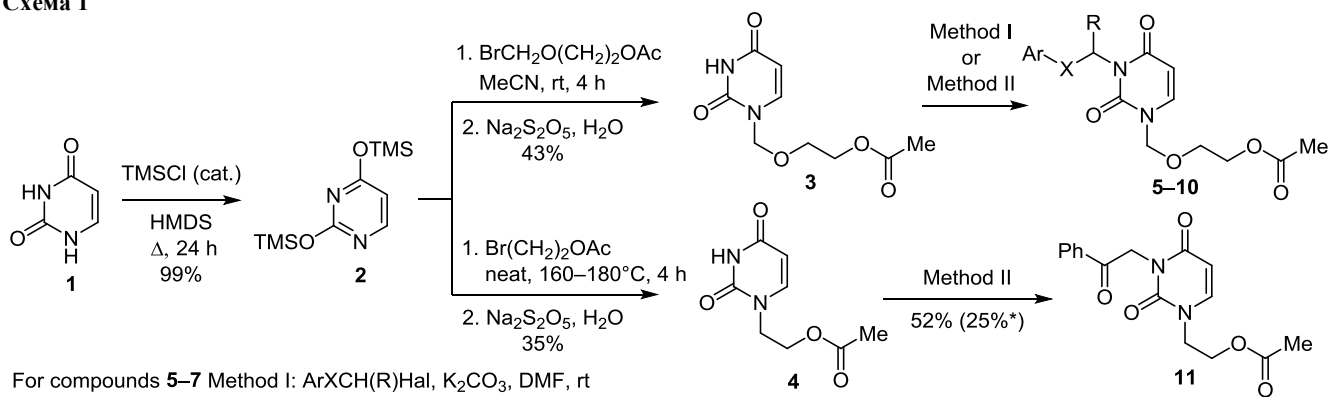


Рисунок 1. Структуры известных соединений, обладающих гипнотической активностью.

Схема 1



For compounds **5–7** Method I: ArXCH(R)Hal, K₂CO₃, DMF, rt

For compounds **8–10** Method II: ArXCH(R)Hal, K₂CO₃, MeCN, Δ

5 Ar = Ph, R = H, X = C(O), 48% (23%*); **6** Ar = 4-MeOC₆H₄, R = H, X = C(O), 42% (27%*);

7 Ar = 4-FC₆H₄, R = H, X = C(O), 73% (30%*); **8** Ar = Ph, R = Me, X = C(O), 42% (41%*);

9 Ar = 4-MeOC₆H₄, R = Me, X = C(O), 41% (19%*); **10** Ar = 4-FC₆H₄, R = H, X = S, 72% (35%*)

* Yield after preparative HPLC.

В ходе изучения зависимости структура–активность было показано, что замена фрагмента D-рибозы на фрагмент 2-дезоксид-рибозы или урацила на фрагмент 6-азаурацила⁷ в структуре вещества-прототипа приводит к резкому снижению снотворной активности. Однако некоторая гипнотическая активность сохранялась у производных 3-фенацил-2'-дезоксид-2'-фторуридина, хотя они в большей степени проявляли антивирусную активность в отношении ВИЧ-1.⁸ Аналоги 3-фенацилуридина, в структуре которых гликозильный фрагмент замещен на гетероарилметильный, обладают выраженными снотворными свойствами, также усиливающими действие пентобарбитала и диазепама в условиях острого эксперимента.⁹ Из литературных источников известно, что производные 3-фенацилуридина, содержащие одну или несколько групп MeO в бензольном цикле, обладают антиноцицептивной активностью.¹⁰ Соответствующие 3-бензилзамещенные производные уридина, для которых была установлена снотворная активность при интрацереbellарном введении,¹¹ при иных путях введения снотворных свойств не проявляют. Вероятно, это связано с их высокой гидрофильностью и низкой способностью преодолевать гематоэнцефалический барьер. В то же время их аналоги, в которых гидроксигруппы рибозного фрагмента метилированы или ацилированы, сохраняют свою активность и при внутривенном введении.¹² Замена рибозного фрагмента на углеводородный заместитель приводит к получению соединений, проявляющих снотворные свойства при внутрибрюшинном введении, по активности и токсичности равных барбиталу.¹³ В отличие от производных 6-аза-3-фенацилуридина и 3-фенацилтимидина,⁷ соответствующие производные 6-аза-3-бензилурацила¹⁴ и 3-бензилтимина¹⁵ проявляют снотворную активность и усиливают действие пентобарбитала. Схожие биологические свойства характерны и для арабинозидов производных 3-бензилурацила.¹⁶

Основываясь на описанных выше данных, задача нашего исследования заключалась в получении соеди-

нений, обладающих как высокой гипнотической активностью 3-фенацилуридина, так и липофильностью 1-алкил-3-бензилурацилов. Цель работы – создание потенциального снотворного средства, эффективного при введении *per os* и воздействующего на систему уридиновых рецепторов ЦНС. Так, нами были получены и исследованы в опытах *in vivo* аналоги 3-фенацилуридина, содержащие биоизостерный ациклический фрагмент в положении 1 пиримидинового цикла (схема 1).

Для получения целевых соединений **5–11**, в качестве исходного соединения использован урацил (**1**), силилирование которого в кипящем гексаметилдисилазане (HMDS) в присутствии каталитического количества триметилсилилхлорида (TMSCl) приводит к образованию 2,4-бис[(триметилсилил)окси]пиримидина (**2**). В результате последующей реакции алкилирования пиримидина **2** ацетатом 2-(бромметокси)этанола в MeCN при комнатной температуре¹⁷ или ацетатом 2-бромэтанола при 160–180 °C без растворителя¹⁸ после гидролиза и хроматографической очистки были выделены соответствующие ацетаты 1-[(2-гидроксиэтокси)-метил]- и 1-(2-гидроксиэтил)урацила **3**, **4**. Далее полученные соединения **3**, **4** подверглись реакции N(3)-алкилирования с использованием фенацилгалогенидов, α-бромпропиофенонов или хлорметил-4-фторфенилсульфана в присутствии K₂CO₃.

Следует отметить, что реакция протекает региоселективно. При использовании фенацилбромидов достаточно было перемешивания при комнатной температуре в безводном ДМФА, в то время как при использовании остальных алкилирующих агентов, обладающих более низкой реакционной способностью, было необходимо кипячение в безводном MeCN. Полученные соединения, за исключением продукта **7**, представляли собой вязкие сиропы, очистка которых была затруднена и проводилась в два этапа: колонная хроматография и препаративная ВЭЖХ.

Результаты исследования биологической активности соединений **5**, **8**, **11** в тесте "открытое поле" после

Таблица 1. Влияние соединений **5**, **8**, **11** на двигательную-исследовательскую реакцию животных в тесте "открытое поле" после однократного введения внутривентрикулярно в дозе 10 мг/кг (n = 8, продолжительность 2 мин)*

Показатели теста	Интактный контроль	Соединение			Уровень достоверности в сравнении с интактным контролем		
					Соединение		
		5	8	11	5	8	11
Общая двигательная активность, количество двигательных актов	78.25 ± 8.35	75.43 ± 7.11	84.25 ± 3.58	84.25 ± 3.58	0.54	0.96	0.16
Двигательная активность, с	79.84 ± 3.73	79.89 ± 3.40	83.71↑ ± 2.89	77.09 ± 4.40	0.96	0.03	0.23
Пройденное расстояние, см	40.16 ± 3.73	40.11 ± 3.40	36.29↓ ± 2.89	42.91 ± 4.40	0.96	0.03	0.23
Средняя скорость, см/с	578.64 ± 96.56	484.63 ± 74.19	499.13 ± 66.96	422.14↓ ± 41.05	0.07	0.15	0.00
Вертикальная активность, количество стоек	4.78 ± 0.82	3.99 ± 0.61	4.10 ± 0.56	3.48↓ ± 0.34	0.05	0.15	0.00
Время вертикальной активности, с	20.00 ± 4.14	18.43 ± 3.31	16.00 ± 5.13	14.25↓ ± 4.17	0.54	0.12	0.03
Заглядывание в норки, количество раз	18.81 ± 4.30	19.36 ± 3.97	13.68 ± 5.63	15.97 ± 6.12	0.87	0.15	0.38
Время заглядывания в норки, с	8.63 ± 2.50	10.14 ± 3.44	14.29↑ ± 5.38	10.75 ± 4.20	0.34	0.02	0.28
Количество прыжков	3.50 ± 0.94	5.68↑ ± 1.97	9.86↑ ± 3.95	6.34 ± 3.34	0.03	0.01	0.06
Вертикальная дистанция, см	5.13 ± 4.52	1.29 ± 1.50	0.57↓ ± 0.79	1.50 ± 1.20	0.09	0.03	0.16

* Стрелкой вверх (↑) показано увеличение показателя, стрелкой вниз (↓) – снижение, уровень достоверности $p < 0.05$ в сравнении с интактным контролем.

однократного внутривентрикулярного введения представлены в табл. 1. Соединение **11** в дозе 10 мг/кг при внутривентрикулярном введении снизило достоверно вертикальную активность и количество стоек, что свидетельствует о возможном гипнотическом воздействии целевого соединения **11** на организм животного.

Для подтверждения нашего предположения, на следующем этапе был проведен тест "открытое поле" для соединения **11** при внутривентрикулярном и внутривентрикулярном введении в дозе 50 мг/кг. Так, при внутривентрикулярном введении соединение **11** не оказывает угнетающего влияния на показания вертикальной активности, как при внутривентрикулярном введении, а напротив зафиксировано ее повышение относительно интактного контроля (табл. 2). Возможно, такая обратная реакция увеличения количества вертикальной

активности связана с дозозависимым проявлением побочных эффектов. Такой феномен описан для некоторых групп транквилизаторов, в том числе уридина.¹⁹

В ходе исследования также было определено влияние исследуемого соединения на двигательную активность на фоне диазепама. Соединения **5**, **8**, **11** вводили внутривентрикулярно в дозе 50 мг/кг за 30 минут до введения диазепама. После введения диазепама животных тестировали через 30 мин. В результате эксперимента было установлено, что соединения **5**, **8**, **11** существенно не усугубляют и не купируют релаксирующий эффект диазепама (табл. 3).

Для определения влияния целевого соединения **11** на релаксирующее воздействие хлоралгидрата был проведен тест "хлоралгидратовый сон". Важно отме-

Таблица 2. Сравнение внутривентрикулярного (в/в) и внутривентрикулярного (в/б) введения в дозе 50 мг/кг соединения **11** в тесте "открытое поле" после однократного введения (n = 8, продолжительность 2 мин)*

Показатели теста	Интактный контроль	Соединение		Уровень достоверности в сравнении с интактным контролем	
				Соединение	
		11 (в/в)	11 (в/б)	11 (в/в)	11 (в/б)
Общая двигательная активность, количество двигательных актов	80.88 ± 8.34	76.13 ± 3.60	75.86 ± 6.47	0.279	0.336
Двигательная активность, с	72.38 ± 7.36	76.66 ± 5.11	80.00 ± 5.42	0.234	0.054
Пройденное расстояние, см	47.63 ± 7.36	43.34 ± 5.11	40.00 ± 5.42	0.234	0.054
Средняя скорость, см/с	480.00 ± 116.90	463.25 ± 42.60	528.90 ± 85.62	0.574	0.397
Вертикальная активность, количество стоек	3.95 ± 0.98	3.81 ± 0.36	4.36 ± 0.70	0.645	0.463
Время вертикальной активности, с	15.88 ± 5.54	18.00 ± 4.31	24.71↑ ± 8.73	0.279	0.040
Заглядывание в норки, количество раз	16.44 ± 5.63	20.38 ± 8.07	25.79↑ ± 6.39	0.382	0.014
Время заглядывания в норки, с	6.88 ± 3.83	11.50 ± 6.09	11.71↑ ± 2.50	0.130	0.021
Количество прыжков	2.53 ± 1.27	6.50↑ ± 3.55	7.25↑ ± 1.49	0.003	0.000
Вертикальная дистанция, см	3.25 ± 3.45	0.88 ± 0.83	3.57 ± 3.91	0.234	0.867

* Стрелкой вверх (↑) показано увеличение показателя, уровень достоверности $p < 0.05$ в сравнении с интактным контролем.

Таблица 3. Влияние соединений **5**, **8**, **11** на двигательную-исследовательскую реакцию животных в тесте "открытое поле" после однократного введения внутривентриально в дозе 50 мг/кг на фоне диазепама в дозе 10 мг/кг (n = 8, продолжительность 2 мин)

Показатели теста	Интактный контроль	Соединение			
		5	8	11	Диазепам
Общая двигательная активность, количество двигательных актов	68.00# \pm 5.15	54.00* \downarrow \pm 15.3	63.13 \pm 23.62	52.38* \downarrow \pm 19.11	49.25* \downarrow \pm 9.03
Двигательная активность, с	82.94 \pm 6.64	75.06 \pm 29.62	57.06 \pm 25.76	70.72 \pm 27.90	73.81 \pm 26.59
Пройденное расстояние, см	37.06 \pm 6.64	44.94 \pm 29.62	62.94 \pm 25.76	49.28 \pm 27.90	46.19 \pm 26.59
Средняя скорость, см/с	573.46 \pm 90.91	690.41 \pm 354.55	456.83 \pm 281.69	552.29 \pm 249.44	585.80 \pm 301.93
Вертикальная активность, количество стоек	4.74 \pm 0.76	5.73 \pm 2.92	3.76 \pm 2.33	4.54 \pm 2.07	4.83 \pm 2.52
Время вертикальной активности, с	17.25# \uparrow \pm 5.60	11.50 \pm 12.24	2.50# \downarrow * \pm 6.68	5.25* \downarrow \pm 4.53	4.75* \downarrow \pm 3.10
Заглядывание в норки, количество раз	17.94# \uparrow \pm 4.79	8.75 \pm 9.04	2.13# \downarrow * \pm 5.62	4.06* \downarrow \pm 5.0	2.94* \downarrow \pm 1.53
Время заглядывания в норки, с	10.13# \uparrow \pm 1.25	4.50* \downarrow \pm 4.84	2.63* \downarrow \pm 2.56	3.63* \downarrow \pm 3.50	1.75* \downarrow \pm 0.96
Количество прыжков	4.44# \uparrow \pm 1.05	1.59* \downarrow \pm 2.10	1.06* \downarrow \pm 1.05	1.25* \downarrow \pm 1.32	0.69* \downarrow \pm 0.43
Вертикальная дистанция, см	2.25 \pm 2.87	8.25# \uparrow * \pm 3.65	9.88* \uparrow \pm 9.03	3.63 \pm 3.42	3.00 \pm 2.00

Уровень достоверности $p < 0.05$ в сравнении с диазепамом, # \downarrow – уменьшение показателя относительно диазепама, # \uparrow – увеличение показателя относительно диазепама.

* Уровень достоверности $p < 0.05$ в сравнении с интактным контролем, * \downarrow – уменьшение показателя относительно интактного контроля, * \uparrow – увеличение показателя относительно интактного контроля.

титель, что достоверных отклонений во времени сна, вызванного хлоралгидратом под действием исследуемых соединений, не наблюдалось.

Полученные производные 1-(2-ацетоксиэтил)урацила по фармакологической активности схожи с ранее описанными родственными *N*(3)-(фенилкарбамоил)-метилхиназолин-4(3*H*)-онами,^{20–22} обладающими антидепрессивными и ноотропными свойствами, нежели с 3-фенацилуридином и его аналогами. Стоит отметить, что важной составляющей конечной структуры продукта, определяющей психофармакологический эффект, является наличие ацетилированного или неацетилированного фрагмента 1-(2-гидроксиэтил)урацила. Полученные соединения содержат фрагмент α -аминоацетофенона, который роднит их с психостимуляторами группы катинона, однако снижение основности атома азота за счет включения его в пиримидиновый цикл, существенно ослабляет психостимулирующие свойства веществ-прототипов. Полагаем, что целевые соединения могут представлять большой интерес как вероятные противовирусные агенты, близкие по структуре к изученным ранее веществам с соответствующей активностью,^{8,23–27} нежели как основа для конструирования новых гипнотических средств.

Таким образом, полученные соединения не представляют интерес как снотворные средства, а являются более перспективными как вероятные противовирусные агенты.

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C зарегистрированы на спектрометре Bruker AM 360 (360 и 90 МГц соответственно) в CDCl₃, внутренний стандарт ТМС. Контроль методом ВЭЖХ проведен с использованием хроматографической системы, состоящей из насосного блока Jasco PU-980, УФ детектора Jasco UV-975 и системы ввода

Rheodyne в следующих условиях: колонка Reprosil C18 AQ (150 \times 4.6 мм), 3 мкм, 0.9 мл/мин, λ 220 нм, температура 30 °С, подвижная фаза: H₂O–MeCN–H₃PO₄ (85%) в соотношениях 200:200:1 мл. ВЭЖХ-МС анализ выполнен на приборе Agilent 1200 в следующих условиях: колонка Reprosil-Pur Basic C18 (250 \times 4.6 мм), 5 мкм (Dr. Maisch GmbH); элюенты: 0.01% CF₃COOH–H₂O (A), 0.01% CF₃COOH–MeCN (B); скорость потока – 1 мл/мин; для детектирования использован одноволновый УФ/ВИД-детектор VWD, ELSD-детектор и ионную ловушку Agilent 6310 Ion Trap LCMS (в режиме позитивных ионов). Препаративное ВЭЖХ разделение продуктов реакции проведено на полупрепаративном комплексе с насосами Gilson (блоки 305 и 306), манометрическим модулем Gilson 805, детектором Jetchrom UVV-105, колонкой ReproSil Pure Basic C 18 (250 \times 20 мм), 10 нм; скорость потока 10 мл/мин, с УФ детектированием λ 220 нм. Элементный анализ выполнен на приборе vario EL cube. ТСХ проведена на пластинах Polygram Sil G/UV254 и Merck TLC F₂₅₄, визуализация в УФ свете. Для колоночной хроматографии использован силикагель L14002 (Alfa Aesar) дисперсностью 0.06–0.20 мм (70–230 меш).

Использованы реактивы и растворители производства Alfa Aesar и Acros Organics. Для ВЭЖХ анализа использован MeCN Panreac (221074, HPLC-gradient grade) и ортофосфорная кислота производства "Компонент-Реактив" (осч 17-4). Осушение растворителей проведено в соответствии со стандартными методами.²⁸

Исходные 2,4-бис[(триметилсилил)окси]пиримидин (2),²⁹ ацетаты 1-[(2-гидроксиэтокси)метил]урацила (3)¹⁷ и 1-(2-гидроксиэтил)урацила (4)¹⁸ были получены в соответствии с методами, описанными ранее.

Синтез пиримидин-2,4(1*H*,3*H*)-дионов 5–7 (общая методика). Метод I. Суспензию 0.44 г (3.18 ммоль) K₂CO₃ в растворе 0.6 г (2.63 ммоль) 1-[2-(ацетокси-

этокси)метил]урацила (3) и 2.76 ммоль соответствующего алкилирующего агента в 30 мл безводного ДМФА перемешивают с защитой от влаги воздуха до тех пор, пока ВЭЖХ-анализ аликвоты реакционной массы не покажет отсутствия исходного соединения 3. Полученную смесь фильтруют, осадок на фильтре промывают ДМФА (2 × 10 мл), фильтрат выпаривают досуха при пониженном давлении. Следы ДМФА удаляют путем соупаривания кубового остатка с PhMe (2 × 15 мл) при пониженном давлении. Технический продукт обрабатывают 120 мл H₂O и экстрагируют EtOAc (3 × 75 мл). Органические вытяжки объединяют, промывают H₂O (2 × 25 мл), насыщенным водным раствором NaCl (3 × 25 мл), фильтруют и сушат безводным Na₂SO₄. Осушитель отделяют фильтрованием, фильтрат упаривают досуха при пониженном давлении. Кубовый остаток растворяют в минимальном объеме ТГФ и сорбируют на силикагеле. Продукт очищают методом колоночной хроматографии с гравитационным элюированием EtOAc. Далее продукт подвергают дополнительной очистке методом препаративной ВЭЖХ.

2-{{2,4-Диоксо-3-(2-оксо-2-фенилэтил)-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил}метокси}этилацетат (5). Выход 440 мг (48%), содержание основного вещества 79% (УФ). Выход после препаративной ВЭЖХ 210 мг (23%), бесцветный сироп, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R_f* 0.52 (EtOAc), 0.40 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.07 (3H, с, CH₃); 3.77–3.80 (2H, м, OCH₂CH₂); 4.21–4.23 (2H, м, OCH₂CH₂); 5.23 (2H, с, NCH₂O); 5.38 (2H, с, NCH₂C(O)); 5.88 (1H, д, *J* = 8.3, 6-СН пиримидин); 7.35 (1H, д, *J* = 7.9, 5-СН пиримидин); 7.46–7.51 (2H, м, Н-3,5); 7.58–7.63 (1H, м, Н-4); 7.97–8.00 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.7 (СН₃С(О)О); 46.9 (СН₂С(О)); 62.9 (СН₂); 67.6 (СН₂); 77.3 (СН₂); 102.6 (6-СН пиримидин); 128.0 (2СН Ar); 128.7 (2СН Ar); 133.7 (СН Ar); 134.8; 141.2 (5-СН пиримидин); 151.6; 162.1; 170.6; 191.3 (С(О) Ar). Найдено, %: С 59.14; Н 5.40; N 7.89. C₁₇H₁₈N₂O₆. Вычислено, %: С 58.96; Н 5.24; N 8.09.

2-{{3-[2-(4-Метоксифенил)-2-оксоэтил]-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил}метокси}этилацетат (6). Выход 420 мг (42%), содержание основного вещества 83% (УФ). Выход после препаративной ВЭЖХ 270 мг (27%), бесцветный сироп, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R_f* 0.45 (EtOAc), 0.31 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.07 (3H, с, CH₃); 3.77–3.80 (2H, м, OCH₂CH₂); 3.87 (3H, с, OCH₃); 4.20–4.23 (2H, м, OCH₂CH₂); 5.22 (2H, с, NCH₂O); 5.34 (2H, с, NCH₂C(O)); 5.87 (1H, д, *J* = 7.9, 6-СН пиримидин); 6.93–6.97 (2H, м, Н-3,5); 7.34 (1H, д, *J* = 7.9, 5-СН пиримидин); 7.94–7.98 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.7 (СН₃С(О)О); 46.5 (СН₂С(О)); 55.4 (СН₃О); 62.9 (СН₂); 67.5 (СН₂); 77.3 (СН₂); 102.6 (6-СН пиримидин); 113.9 (2СН Ar); 127.9; 130.2 (2СН Ar); 141.2 (5-СН пиримидин); 151.6; 162.1; 163.9; 170.6; 189.7 (С(О)Ar). Найдено, %: С 57.76; Н 5.50; N 7.80. C₁₈H₂₀N₂O₇. Вычислено, %: С 57.44; Н 5.36; N 7.44.

2-{{3-[2-(2-Оксоэтил)-4-фторфенил]-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил}метокси}этилацетат

(7). Выход 700 мг (73%), содержание основного вещества 81% (УФ). Выход после препаративной ВЭЖХ 291 мг (30%), белые кристаллы, содержание основного вещества 100% (ELSD). Т. пл. 105.6–106.2 °С. *R_f* 0.51 (EtOAc), 0.38 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.07 (3H, с, CH₃); 3.77–3.79 (2H, м, OCH₂CH₂); 4.20–4.23 (2H, м, OCH₂CH₂); 5.22 (2H, с, NCH₂O); 5.34 (2H, с, NCH₂C(O)); 5.87 (1H, д, *J* = 7.9, 6-СН пиримидин); 7.13–7.19 (2H, м, Н-3,5); 7.35 (1H, д, *J* = 7.9, 5-СН пиримидин); 7.99–8.04 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.7 (СН₃С(О)О); 46.7 (СН₂С(О)); 62.8 (СН₂); 67.6 (СН₂); 77.3 (СН₂); 102.5 (6-СН пиримидин); 115.8 (СН Ar); 116.0 (СН Ar); 131.2 (2СН Ar); 131.3; 141.3 (5-СН пиримидин); 151.6; 162.0; 164.6; 167.4; 170.6; 189.8 (С(О) Ar). Найдено, %: С 55.89; Н 4.82; N 7.41. C₁₇H₁₇FN₂O₆. Вычислено, %: С 56.04; Н 4.70; N 7.69.

Синтез пиримидин-2,4(1H,3H)-дионов 8–10 (общая методика). Метод II. Аналогичен методу I, за исключением использования 40 мл безводного MeCN в качестве растворителя и проведения синтеза при температуре его кипения.

2-{{2,4-Диоксо-3-(1-оксо-1-фенилпропан-2-ил)-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил}метокси}этилацетат (8). Выход 400 мг (42%), содержание основного вещества 87% (УФ). Выход после препаративной ВЭЖХ 390 мг (41%), бесцветный сироп, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R_f* 0.69 (EtOAc), 0.44 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.61 (3H, д, *J* = 6.8, СН₃СН); 2.02 (3H, с, СН₃С(О)О); 3.07–3.39 (2H, м, OCH₂CH₂); 3.92–4.05 (2H, м, OCH₂CH₂); 4.97 (2H, д, ¹*J* = 10.4, ²*J* = 10.4, NCH₂O); 5.78 (1H, д, *J* = 7.9, 6-СН пиримидин); 5.96 (1H, кв, *J* = 6.5, СН₃СН); 7.16 (1H, д, *J* = 7.9, 5-СН пиримидин); 7.30–7.35 (2H, м, Н-3,5); 7.41–7.46 (1H, м, Н-4); 7.62–7.65 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 13.1 (СН₃СН); 20.7 (СН₃С(О)О); 53.3 (СН₃СН); 62.5 (СН₂); 66.8 (СН₂); 76.9 (СН₂); 102.6 (6-СН пиримидин); 127.2 (2СН Ar); 128.2 (2СН Ar); 132.1 (СН Ar); 136.3; 136.3 (5-СН пиримидин); 150.5; 161.7; 170.4; 196.8 (С(О) Ar). Найдено, %: С 60.21; Н 5.81; N 8.00. C₁₈H₂₀N₂O₆. Вычислено, %: С 59.99; Н 5.59; N 7.77.

2-{{3-[1-(4-Метоксифенил)-1-оксопропан-2-ил]-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил}метокси}этилацетат (9). Выход 420 мг (41%), содержание основного вещества 74% (УФ). Выход после препаративной ВЭЖХ 201 мг (19%), бесцветный сироп, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R_f* 0.62 (EtOAc), 0.34 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 1.59 (3H, д, *J* = 6.8, СН₃СН); 2.02 (3H, с, СН₃С(О)О); 3.14–3.44 (2H, м, OCH₂CH₂); 3.80 (3H, с, OCH₃); 3.93–4.06 (2H, м, OCH₂CH₂); 5.05 (2H, д, ¹*J* = 10.4, ²*J* = 10.4, NCH₂O); 5.79 (1H, д, *J* = 7.9, 6-СН пиримидин); 5.93 (1H, кв, *J* = 6.6, СН₃СН); 6.80–6.84 (2H, м, Н-3,5); 7.18 (1H, д, *J* = 7.6, 5-СН пиримидин); 7.61–7.65 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 13.2 (СН₃СН); 20.7 (СН₃С(О)О); 53.1 (СН₃СН); 55.3 (ОСН₃); 62.6 (СН₂); 66.9 (СН₂); 76.9 (СН₂); 102.6 (6-СН пиримидин); 113.5 (СН Ar); 128.8; 129.4 (СН Ar); 141.4 (5-СН пиримидин); 150.5; 161.7; 162.8; 170.4; 195.2 (С(О) Ar). Найдено, %:

C 58.31; H 5.30; N 6.97. C₁₉H₂₂N₂O₇. Вычислено, %: C 58.46; H 5.68; N 7.18.

2-[(3-[(4-Фторфенил)сульфанил]метил]-2,4-диоксо-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил)метокси]этилацетат (10). Выход 700 мг (72%). Выход после препаративной ВЭЖХ 340 мг (35%), желтоватое масло, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R*_f 0.67 (EtOAc), 0.38 (EtOAc–циклогексан, 4:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.04 (3H, с, CH₃); 3.68–3.71 (2H, м, OCH₂CH₂); 4.17–4.19 (2H, м, OCH₂CH₂); 5.15 (2H, с, NCH₂O); 5.25 (2H, с, NCH₂S); 5.76 (1H, д, *J* = 7.9, 6-СН пиримидин); 6.93–6.99 (2H, м, Н-3,5); 7.24 (1H, д, *J* = 7.9, 5-СН пиримидин); 7.46–7.52 (2H, м, Н-2,6). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.7 (СН₃С(О)О); 46.1 (СН₂С); 62.7 (СН₂); 67.6 (СН₂); 77.5 (СН₂); 102.4 (6-СН пиримидин); 115.7 (СН Ar); 116.0 (СН Ar); 128.8; 135.1 (2СН Ar); 141.0 (5-СН пиримидин); 150.9; 161.3; 164.0; 170.5. Найдено, %: C 51.98; H 4.31; N 7.61; S 9.00. C₁₆H₁₇FN₂O₅S. Вычислено, %: C 52.17; H 4.65; N 7.60; S 8.70.

2-[2,4-Диоксо-3-(2-оксо-2-фенилэтил)-3,4-дигидропиримидин-1(2H)-ил]этилацетат (11). Получен по методу II из 0.62 г (3.13 ммоль) 1-(2-ацетоксиэтил)-урацила (4), 0.52 г (3.29 ммоль) K₂CO₃, 0.65 г (3.75 ммоль) 2-бром-1-фенилэтан-1-она и 75 мл безводного MeCN. Выход 510 мг (52%). Выход после препаративной ВЭЖХ 250 мг (25%), бесцветный сироп, содержание основного вещества 100% (ELSD). *R*_f 0.53 (EtOAc). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (*J*, Гц): 2.07 (3H, с, CH₃); 3.90 (2H, т, *J* = 1.9, OCH₂CH₂); 4.30 (2H, т, *J* = 1.9, OCH₂CH₂); 5.38 (2H, с, NCH₂С(О)); 5.79–5.81 (1H, д, *J* = 2.9, 6-СН пиримидин); 7.19–7.21 (1H, д, *J* = 2.8, 5-СН пиримидин); 7.46–7.51 (2H, м, Н-2,6); 7.58–7.62 (1H, м, Н-4); 7.97–8.00 (2H, м, Н-3,5). Спектр ЯМР ¹³C, δ, м. д.: 20.6 (СН₃С(О)); 47.0 (СН₂С(О)); 61.7 (СН₂); 77.0 (СН₂); 101.4 (6-СН пиримидин); 128.0 (2СН Ar); 128.7 (2СН Ar); 133.6 (СН Ar); 134.8; 142.8 (5-СН пиримидин); 151.2; 162.3; 170.3; 191.8 (С(О) Ar). Найдено, %: C 61.00; H 4.89; N 9.01. C₁₆H₁₆N₂O₅. Вычислено, %: C 60.76; H 5.10; N 8.86.

Исследование биологической активности полученных соединений проведено на самках аутбредных (нелинейных) лабораторных мышей (CD-1) весом 20–25 г. Животные получены из вивария Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН, где содержатся в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и гранулированному корму. После карантина животных рандомизируют по весу и разделяют на группы по 8–10 мышей. Работы с животными проводятся в строгом соответствии с Приказом МЗ РФ № 199н от 1 апреля 2016 г. "Правила надлежащей лабораторной практики" и положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента (Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes) и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Исследуемые соединения вводят двумя способами:

1. Внутрижелудочно (в/ж) с помощью зонда, однократно, в виде тонкой суспензии в твине-20 объемом

0.2 мл на 10 г массы тела в дозе 10 или 50 мг/кг. Контрольной группе животных вводят равный объем водно-твинового раствора внутривентриально.

2. Внутривентриально (в/б) инсулиновым шприцем, однократно, в качестве растворителя используют стерильный раствор NaCl 0.9% объемом 0.1 мл на 10 г массы тела в дозе 10 или 50 мг/кг. Контрольной группе животных вводят равный объем растворителя также внутривентриально.

Выбор доз обоснован литературными данными для 3-фенацилуридина и его аналогов.^{2,15,16}

Для определения влияния исследуемых соединений на ЦНС используют следующие тесты:

1. Определение двигательной-исследовательской активности животных в тесте "открытое поле"³⁰ с помощью автоматизированной фотосенсорной установки TruScan (Coulbourn, США), которая представляет собой квадратную арену размерами 26 × 26 × 33 см (длина × ширина × высота) и содержит 16 равномерно расположенных отверстий (норок) диаметром 2.2 см. Тестируемое животное помещают в центр установки хвостом к экспериментатору через час после однократного внутривентриального введения исследуемых агентов. В течение 2 мин регистрируют следующие показатели: общую двигательную активность (количество двигательных актов), время двигательной активности (с), пройденное расстояние (см), среднюю скорость (см/с), количество прыжков, вертикальную активность (количество стоек), время вертикальной активности (с), количество и время заглядываний (с) в отверстия, вертикальная дистанция (см).

2. Двигательная активность на фоне диазепама (диазепам вводят внутривентриально в дозе 10 мг/кг.³¹ Двигательно-исследовательскую активность животных оценивают через 30 мин после введения диазепама в тесте "открытое поле"³⁰ с помощью автоматизированной фотосенсорной установки TruScan (Coulbourn, США).

3. "Хлоралгидратовый сон" вызывают внутривентриальным введением снотворного препарата хлоралгидрата в дозе 325 мг/кг. Критерием оценки эффекта служит время утраты и восстановления рефлекса переворачивания мышей из бокового положения.³¹ Оценивают время засыпания, пробуждения и продолжительность сна. Продолжительность сна вычисляют по разнице показателя времени засыпания (момент утраты рефлекса переворачивания) и времени пробуждения (восстановление рефлекса).

Хлоралгидрат и диазепам вводят через 1 ч при внутривентриальном введении и через 30 мин при внутривентриальном введении исследуемых соединений.

Статистическую обработку данных проводят с использованием программы Statistica 6.0. Данные представлены в виде средних арифметических и стандартных ошибок среднего. Сравнения между группами проводят при помощи непараметрического U-критерия Манна–Уитни. За достоверный уровень значимости принимают $p \leq 0.05$. Различия на уровне тенденции рассматривают при значениях $0.05 < p < 0.1$.

Работа была выполнена при поддержке РФФ (грант 19-13-00123) с использованием оборудования Центра коллективного пользования "Физико-химические методы исследования" Волгоградского государственного технического университета.

Список литературы

1. Tanious, M. K.; Beutler, S. S.; Kaye, A. D.; Urman, R. D. *Anesthesiol. Clin.* **2017**, 35, e95.
2. Yamamoto, I.; Kuze, J.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K. *Biol. Pharm. Bull.* **1994**, 17, 514.
3. Kimura, T.; Kuze, J.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, 311, 265.
4. Kimura, T.; Miki, M.; Ikeda, M.; Yonemoto, S.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Biol. Pharm. Bull.* **2001**, 24, 729.
5. Kimura, T.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Sleep* **2001**, 24, 251.
6. Kimura, T.; Miki, M.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Xenobiotica* **2000**, 30, 643.
7. Kimura, T.; Kuze, J.; Teraoka, S.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Biol. Pharm. Bull.* **1996**, 19, 142.
8. Sato, Y.; Utsumi, K.; Maruyama, T.; Kimura, T.; Yamamoto, I.; Richman, D. D. *Chem. Pharm. Bull.* **1994**, 42, 595.
9. Maruyama, T.; Kozai, S.; Shimizu, T.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Yamamoto, I. *Nucleic Acids Res. Suppl.* **2003**, 25.
10. Shimizu, T.; Kimura, T.; Funahashi, T.; Watanabe, K.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* **2005**, 53, 313.
11. Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. *Chem. Pharm. Bull.* **1985**, 33, 4088.
12. Yamamoto, I.; Kimura, T.; Tateoka, Y.; Watanabe, K.; Ho, I. K. *J. Med. Chem.* **1987**, 30, 2227.
13. Tateoka, Y.; Hiramura, S.; Usami, N.; Kimura, T.; Watanabe, K.; Yamamoto, I. *Yakugaku Zasshi* **1992**, 112, 470.
14. Koshigami, M.; Watanabe, K.; Kamura, T.; Yamamoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1991**, 39, 2597.
15. Kimura, T.; Watanabe, K.; Tateoka, Y.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* **1993**, 41, 1180.
16. Kimura, T.; Yao, S.; Watanabe, K.; Kondo, S.; Ho, I. K.; Yamamoto, I. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, 49, 111.
17. Matsumoto, H.; Kaneko, C.; Yamada, K.; Takeuchi, T.; Mori, T.; Mizuno, Y. *Chem. Pharm. Bull.* **1988**, 36, 1153.
18. Новаков, И. А.; Бабушкин, А. С.; Брунилина, Л. Л.; Кириллов, И. А.; Навроцкий, М. Б.; Робиневич, М. Д.; Яблоков, А. С. РФ Патент 2697804 С1.
19. Каркищенко, Н. Н.; Тараканов А. В. *Экспериментальная и клиническая фармакология нейро-психотропных средств*; РОДНМИ: Ростов н/Д, 1985.
20. Tyurenkov, I. N.; Ozerov, A. A.; Solodunova, E. A.; Archakova, Yu. V.; Shmatova, E. N. *Pharm. Chem. J.* **2013**, 47, 239. [*Хим.-фарм. журн.* **2013**, 47(5), 7.]
21. Арчакова, Ю. В.; Глухова, Е. Г.; Шматова, Е. Н.; Солодунова, Е. А.; Тюренков, И. Н.; Новиков, М. С.; Озеров, А. А. *Успехи современного естествознания* **2016**, 3, 9.
22. Tyurenkov, I. N.; Ozerov, A. A.; Shmatova, E. N.; Archakova, Yu. V. *Pharm. Chem. J.* **2015**, 49, 88. [*Хим.-фарм. журн.* **2015**, 49(2), 18.]
23. Magri, A.; Ozerov, A. A.; Tunitskaya, V. L.; Valuev-Elliston, V. T.; Wahid, A.; Piri, M.; Simmonds, P.; Ivanov, A. V.; Novikov, M. S.; Patel, A. H. *Sci. Rep.* **2016**, 6, 29487.
24. Babkov, D. A.; Paramonova, M. P.; Ozerov, A. A.; Khandazhinskaya, A. L.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Novikov, M. S. *Acta Naturae* **2015**, 7, 142.
25. Novikov, M. S.; Babkov, D. A.; Paramonova, M. P.; Chizhov, A. O.; Khandazhinskaya, A. L.; Seley-Radtke, K. L. *Tetrahedron Lett.* **2013**, 54, 576.
26. 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**, 21, 4151.
27. Paramonova, M. P.; Ozerov, A. A.; Chizov, A. O.; Snoeck, R.; Andrei, G.; Khandazhinskaya, A. L.; Novikov, M. S. *Mendeleeev Commun.* **2019**, 29, 638.
28. Титце, Л.; Айхер, Т. *Препаративная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории*; Мир: Москва, 1999.
29. Kaulinya, L. T.; Liepin'sh, E. E.; Lidak, M. Yu.; Zhuk, R. A. *Chem. Heterocycl. Compd.* **1982**, 18, 85. [*Химия гетероцикл. соединений* **1982**, 101.]
30. Walsh, R. N.; Cummins, R. A. *Psychol. Bull.* **1976**, 83, 482.
31. Толстикова, Т. Г.; Воевода, Т. В.; Долгих, М. П.; Сорокина, И. В. *Эксперим. и клин. фармакол.* **2002**, 65(2), 9.