

Антимикобактериальные свойства фторсодержащих дигидропиримидинов

Ковганко Н. Н.¹, Ковганко В. Н.², Слабко И. Н.²

*¹Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*²Учреждение образования «Белорусский государственный технологический университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Конденсацией ацетоуксусного эфира и бензоилацетата с мочевиной и фторбензальдегидами получены замещенные 4-фторарилдигидропиримидиноны. Установлено, что некоторые из полученных соединений превосходят пиразинамид по способности замедлять рост и развитие микобактерий.

Ключевые слова: реакция Биджинелли, фторбензальдегиды, дигидропиримидиноны, антимикобактериальная активность.

Введение. Соединения ряда 4-арил-3,4-дигидропиримидин-2(1H)-онов известны достаточно давно [1, 2]. Впервые получить соединения данного ряда удалось итальянскому ученому П. Биджинелли более 100 лет назад. Синтез был осуществлен взаимодействием ацетоуксусного эфира, бензаль-

дегида и мочевины в присутствии кислоты. Такую трехкомпонентную реакцию позже назвали реакцией Биджинелли [1, 2].

В последние десятилетия интерес к дигидропиримидинонам возрос. Это обусловлено тем, что для дигидропиримидинов обнаружили широкий спектр биологического действия. Согласно литературным данным, среди веществ данного класса найдены соединения, проявляющие антибактериальную, противовирусную, противоопухолевую, противотуберкулезную, противогрибковую, антигипертензивную и антиаритмическую активности [1, 2].

Наше внимание привлекли литературные данные по синтезу и исследованию биологической активности дигидропиримидинов, содержащих атомы фтора в различных положениях молекулы. Значительная часть соединений данного ряда относится к 4-фторарилдигидропиримидинонам, которые могут быть получены в результате использования в реакции Биджинелли фторсодержащих бензальдегидов [3–6]. Следует отметить, что эти соединения чаще всего синтезировали в качестве примеров при разработке новых экспериментальных условий для трехмолекулярной конденсации.

Известны также дигидропиримидиноны, содержащие атомы фтора в других фрагментах молекул [1, 2], которые могут проявлять различную биологическую активность.

На протяжении последних лет наша исследовательская группа занимается синтезом фторсодержащих веществ с микобактерицидной активностью [7]. В развитие наших исследований нами решено осуществить синтез и исследовать микобактерицидные свойства различных фторсодержащих дигидропиримидинов.

Следует отметить, что сведения о проведении направленного исследования противотуберкулезных свойств различных фторсодержащих дигидропиримидинов в литературе нами не обнаружены.

Цель работы — исследование антимикобактериальных свойств фторсодержащих дигидропиримидинов.

Материалы и методы. ИК спектры в области 400–4000 см⁻¹ записаны в таблетках бромида калия на ИК-Фурье спектрометре *Nexus (Nicolet)*, УФ спектры — в циклогексане на спектрофотометре *Solar CM2203*. Спектры ЯМР записаны на приборе *Bruker Avance 500* (рабочая частота 500.13 МГц для ¹H и 125.75 МГц для ¹³C) в растворах в соответствующих дейтерированных растворителях. Химические сдвиги приведены относительно ТМС как внутреннего стандарта. Ход реакций и чистоту полученных соединений контролировали с помощью пластин *Kieselgel 60 F₂₅₄* фирмы *Merck*. Температуры плавления определены на приборе *SMP11 (Stuart)*.

4-(2-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-метил-2,3-дигидропиримидин-2-он 4a. К раствору 0.458 г (3.52 ммоль) ацетоуксусного эфира, 0.290 г (2.34 ммоль) 2-фторбензальдегида и 0.145 г (2.42 ммоль) мочевины в 4 мл этанола прибавили 4 капли концентрированной соляной кислоты. Полученную реакционную смесь кипятили с обратным холодильником 6.5 ч. Выпавший после охлаждения осадок отфильтровали, промыли на фильтре этанолом. После осушки получено 0.538 г дигидропиримидинона 4a. Выход 83 %. Аналитический образец получен после дополнительной перекристаллизации из 2-пропанола. Т. пл. 239–240 °С (2-пропанол). УФ спектр, λ_{макс.}, нм (циклогексан): 274. ИК спектр, см⁻¹: 3350, 3230, 3114 (NH), 2976, 2814 (C-H), 1693, 1644 (C=O), 1613, 1590, 1489 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформамид): 1.09 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 2.42 (с, 3H, 6-CH₃), 3.99 (2H, кв, J 7 Гц, OCH₂), 5.64 (1H, д, J 3 Гц, 4-CH); 7.12–7.21 (2H, м), 7.31–7.40 (2H, м) {аром. протоны}; 7.63 (1H, с, NH), 9.23 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформамид): 13.98 (CH₃), 17.81 (CH₃), 54.49 (4-CH), 59.70 (OCH₂), 99.67, 113.39 (д, J_{C-F} 22 Гц), 114.25 (д, J_{C-F} 21 Гц), 122.64, 130.72 (д, J_{C-F} 8 Гц), 148.34 (д, J_{C-F} 6 Гц), 149.35, 152.49, 163.83, 165.81.

Соединения 4b-d, 5a-c получены по аналогичной методике.

4-(3-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-метил-2,3-дигидропиримидин-2-он 4b. Выход 65 %. Т. пл. 238 °С (ацетонитрил). Лит. т. пл. 202 °С [6]. УФ спектр, λ_{макс.}, нм (циклогексан): 269. ИК спектр, см⁻¹: 3348, 3228, 3112 (NH), 2977, 2939, 2812 (C-H), 1693, 1643 (C=O), 1614, 1592, 1486 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформамид): 1.16 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 2.41 (с, 3H, 6-CH₃), 4.08 (2H, м, OCH₂), 5.37 (1H, д, J 3.4 Гц, 4-CH); 7.08–7.14 (2H, м), 7.21 (1H, д, J 8 Гц), 7.42 (1H, дт, J₁ 6 Гц, J₂ 8 Гц) {аром. протоны}; 7.76 (1H, с, NH), 9.26 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформамид): 14.25 (CH₃), 18.14 (CH₃), 50.07 (4-CH), 59.94 (OCH₂), 98.72, 116.08 (д, J_{C-F} 22 Гц), 125.12 (д, J_{C-F} 2.5 Гц), 129.73 (д, J_{C-F} 4 Гц), 130.08 (д, J_{C-F} 8 Гц), 132.59 (д, J_{C-F} 14 Гц), 149.85, 152.53, 159.58, 166.01.

4-(4-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-метил-2,3-дигидропиримидин-2-он 4c. Выход 56 %. Т. пл. 183 °С (ацетонитрил). Лит. т. пл. 184–186 °С [5]. УФ спектр, λ_{макс.}, нм (циклогексан): 274. ИК спектр, см⁻¹: 3244,

3120 (NH), 2980, 2954, 2929 (C-H), 1728, 1712, 1701, 1648 (C=O), 1601, 1508 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 1.15 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 2.40 (с, 3H, 6-CH₃), 4.06 (2H, м, OCH₂), 5.35 (1H, д, J 3.5 Гц, 4-CH); 7.17 (2H, т, J 9 Гц), 7.40 (2H, д, J 9 Гц) {аром. протоны}; 7.68 (1H, с, NH), 9.21 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 13.98 (CH₃), 17.79 (CH₃), 54.37 (4-CH), 59.63 (OCH₂), 100.09, 115.28 (д, J_{C-F} 21 Гц), 128.75 (д, J_{C-F} 8 Гц), 141.81, 148.93, 152.45, 161.11, 165.83.

4-(3,4-Дифторфенил)-5-карбэтокси-6-метил-2,3-дигидропиримидин-2-он 4d. Выход 30 %. Лит. т. пл. 188–189 °С (этанол) [4]. УФ спектр, λ_{макс.}, нм (циклогексан): 277. ИК спектр, см⁻¹: 3316 (NH), 2990, 2939, 2908 (C-H), 1708, 1680, 1660, 1640 (C=O), 1519 (C=C_{аром.}). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 1.16 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 2.42 (с, 3H, 6-CH₃), 4.08 (2H, м, OCH₂), 5.36 (1H, д, J 3.5 Гц, 4-CH); 7.20-7.24 (1H, м), 7.33 (1H, ддд, J₁ 2 Гц, J₂ 8 Гц, J₃ 12 Гц), 7.41 (1H, дт, J₁ 8.5 Гц, J₂ 11 Гц) {аром. протоны}; 7.78 (1H, с, NH), 9.30 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 14.40 (CH₃), 18.26 (CH₃), 54.59 (4-CH), 60.18 (OCH₂), 99.92, 116.17 (д, J_{C-F} 17 Гц), 188.10 (д, J_{C-F} 17 Гц), 123.83, 143.66, 149.95, 152.78, 166.18.

4-(2-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-фенил-2,3-дигидропиримидин-2-он 5a. Выход 31 %. ИК спектр, см⁻¹: 3321, 3225, 3112 (NH), 2985, 2972, 2933 (C-H), 1702, 1663 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 0.77 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 5.75 (1H, д, J 3 Гц, 4-CH); 7.21 (1H, ддд, J₁ 1 Гц, J₂ 8 Гц, J₃ 10 Гц), 7.26 (1H, дт, J₁ 1 Гц, J₂ 7.5 Гц), 7.36–7.40 (1H, м), 7.40-7.47 (5H, м), 7.58 (1H, дт, J₁ 2 Гц, J₂ 8 Гц) {аром. протоны}; 7.77 (1H, с, NH), 9.30 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 13.69 (CH₃), 50.56 (4-CH), 59.82 (OCH₂), 99.88, 116.21 (д, J_{C-F} 22 Гц), 125.24 (д, J_{C-F} 2 Гц), 128.43, 128.92, 129.41, 129.70 (д, J_{C-F} 3 Гц), 130.25 (д, J_{C-F} 8 Гц), 132.09 (д, J_{C-F} 14 Гц), 136.29, 150.31, 152.47, 159.75, 165.51.

4-(3-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-фенил-2,3-дигидропиримидин-2-он 5b. Выход 30 %. ИК спектр, см⁻¹: 3301, 3223, 3113 (NH), 2986, 2928 (C-H), 1702, 1663, 1640 (C=O). Спектр ЯМР ¹H (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 0.79 (3H, т, J 7 Гц, CH₃), 3.80 (2H, д.кв., J₁ 1 Гц, J₂ 7 Гц, OCH₂), 5.47 (1H, д, J 3.5 Гц, 4-CH); 7.14 (1H, м), 7.28 (1H, тд, J₁ 2 Гц, J₂ 10 Гц), 7.36–7.50 (7H, м) {аром. протоны}; 7.86 (1H, с, NH), 9.34 (1H, с, NH). Спектр ЯМР ¹³C (Δ, м.д., дейтеродиметилформаид): 13.79 (CH₃), 55.13 (4-CH), 59.98 (OCH₂), 101.24, 113.90 (д, J_{C-F} 22 Гц), 114.83 (д, J_{C-F} 21 Гц), 123.09, 128.45, 129.13, 129.56, 131.26 (д, J_{C-F} 8 Гц), 136.26, 148.41 (д, J_{C-F} 6 Гц), 150.37, 152.87, 164.35, 165.96.

4-(4-Фторфенил)-5-карбэтокси-6-фенил-2,3-дигидропиримидин-2-он 5c. Выход 26 %. ИК спектр, см⁻¹: 3350, 3199, 3080, 3063 (NH), 2988, 2905 (C-H), 1698, 1659, 1640 (C=O), 1604, 1507 (C=C_{аром.}).

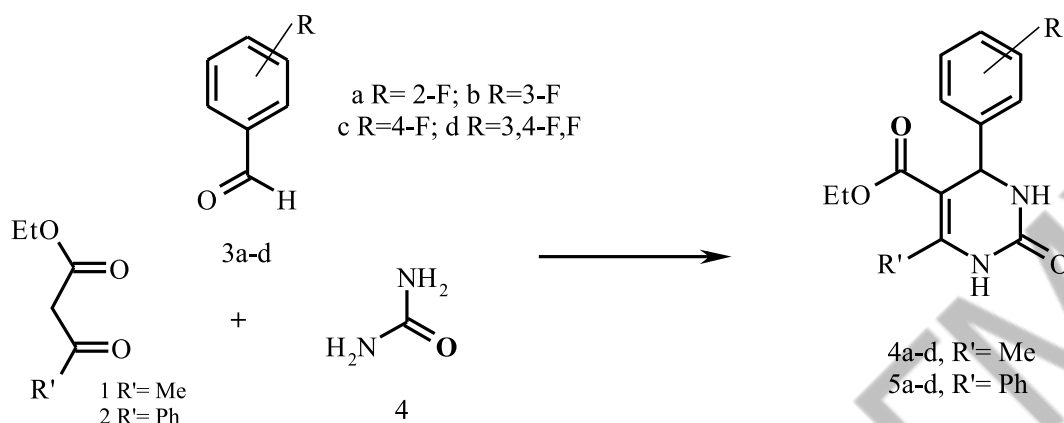
4-(3,4-Дифторфенил)-5-карбэтокси-6-фенил-2,3-дигидропиримидин-2-он 5d. Выход 18.5 %. ИК спектр, см⁻¹: 3369, 3199, 3084 (NH), 2986, 2940 (C-H), 1695, 1659, 1641 (C=O), 1599, 1515 (C=C_{аром.}).

Для изучения антимикобактериальных свойств полученных соединений по отношению к *Mycobacterium terrae* 15755 был использован метод разведений в плотной питательной среде в чашках Петри. Для этого исходный раствор соединения в диметилсульфоксиде (концентрация 2 г/л) добавляли в питательную среду Миддлбрука 7Н9 с глицерином (Middlebrook 7Н9 Broth with Glycerol) для получения требуемых концентраций (200, 100, 50, 25, 12,5 и 6.25 мг/л). Далее во все анализируемые растворы высевали культуру микобактерий. Для холостых контрольных опытов использовали два образца. С целью контроля влияния растворителя в первый образец добавляли диметилсульфоксид, в таком же количестве, как и в образцах с максимальной концентрацией анализируемого вещества — 200 мкг/мл. Второй образец не содержал никаких добавок (контроль роста культуры). Все образцы выдерживали в термостате при 37 °С в течение трех недель. Для оценки антимикробных свойств новых соединений определяли минимальную ингибирующую концентрацию (МИК, мкг/мл), которая соответствует концентрации анализируемого вещества, при которой роста микобактерий в чашке Петри не наблюдалось. Результаты определения антимикобактериальных свойств изученных соединений приведены в таблице.

Результаты и их обсуждение. В качестве начальных объектов исследования по синтезу и изучению микобактерицидной активности нами выбраны 4-фторарил-дигидропиримидиноны 4, 5. В качестве исходных кетозэфиров использованы ацетоуксусный эфир и бензоилацетат. Данные соединения вводили в реакцию Биджинелли с различными фторбензальдегидами.

Так, при взаимодействии ацетоуксусного эфира 1 с фторбензальдегидами 3a-d и мочевиной 4 получен ряд фторсодержащих 6-метилдигидропиримидинонов 4a-d. Синтезы осуществлены при кипячении этанольных растворов реагентов в присутствии соляной кислоты.

При реакции бензоилацетата 2 с фторбензальдегидами 3a-d и мочевиной 4 в аналогичных условиях получен ряд фторсодержащих 6-фенилдигидропиримидинонов 5a-d:



Строение синтезированных пиримидинов 4a-d и 5a-d доказано на основании данных УФ, ИК и ЯМР спектров.

Так, в ИК спектрах всех синтезированных дигидропиридинонов присутствуют полосы колебаний связей N-H в области 3370–3060 cm^{-1} и C=O в области 1730–1640 cm^{-1} . В спектрах ЯМР ^1H соединений 4a-d и 5a-d присутствуют сигналы протонов всех структурных фрагментов, характерных для трех исходных веществ. Это подтверждает образование пиримидинового цикла при реакции.

Например, в спектрах ЯМР ^1H соединений 4a-d присутствуют трехпротонные синглеты 6-метильных групп при Δ 2.40 м.д. В спектрах ЯМР ^1H соединений 5 в области, характерной для сигналов ароматических протонов, присутствуют пятипротонные мультиплеты фенильного заместителя. В спектрах ЯМР ^1H всех синтезированных соединений присутствуют сигналы протонов группы 4-СН в слабом поле при Δ 5.35–5.75 м.д. и два уширенных синглета протонов NH-групп.

Строение синтезированных соединений подтверждается также данными спектров ЯМР ^{13}C . Так, в спектрах соединений 4a-d присутствует сигнал углерода 6-метильной группы при Δ 17.79–18.26 м.д. Для спектров ЯМР ^{13}C соединений 4 и 5 характерно присутствие сигналов углерода группы 4-СН при Δ 50.07–55.13 м.д., а также двух сигналов углеродов этоксигруппы при Δ 13.69–14.40 м.д. (CH_3) и Δ 59.63–60.18 м.д. (OCH_2).

Изучение антимикобактериальной активности синтезированных соединений проводили на штамме *Micobacterium terrae*. Данный штамм является непатогенным и рекомендован для использования в качестве модельного для определения противотуберкулезной активности [7]. Антимикобактериальные свойства полученных соединений оценены на основании минимальных ингибирующих концентраций (далее — МИК, мкг/мл), которые приведены в таблице. В параллельных экспериментах в качестве эталона использовали пиразинамид, который обладает микобактерицидным действием и используется для лечения туберкулеза [7].

Таблица — Антимикобактериальные свойства синтезированных соединений

Соединение	МИК, мкг/мл	Соединение	МИК, мкг/мл	Соединение	МИК*, мкг/мл
4a	200	4d	>200	5c	200
4b	200	5a	100	5d	>200
4c	200	5b	100	Пиразинамид	200

Заключение. В результате проведенных экспериментов установлено, что некоторые из исследованных соединений обладают антимикобактериальной активностью, которая оказалась выше в сравнении с пиразинамидом. Полученные данные несомненно будут полезны при проведении дальнейшего направленного исследования по синтезу микобактерицидов ряда фторсодержащих дигидропиридинонов.

Также следует отметить, что в результате проведенного исследования нами синтезирован ряд фторсодержащих дигидропиридинонов, которые могут быть использованы в качестве эталонных веществ при изучении биологической активности других фторсодержащих веществ данного класса.

Литература

- Sandhu, S. S., Sandhu, J. S. // Arkivoc. — 2012 — № 1. — P. 66–133.
- Karpe, C. O. // Eur. J. Med. Chem. — 2000. — Vol. 35. — P. 1043–1052.

3. Hu, E. H., Sidler, D. R, Dolling, U.-H. // J. Org. Chem. — 1998. — Vol. 63, № 10. — P. 3454–3457.
4. Falsone, F., S., Kappe, C. O. // Arkivoc. — 2001. — Part II. — P. 122–134.
5. Borse, A., Patil, M., Patil, N., Shind, R. // ISRN Org. Chem. — 2012. — Article ID 415645. — 6 p.
6. Dandia, A., Saha, M., Taneja, H. // J. Fluor. Chem. — 1998. — Vol. 90. — P. 17–21.
7. Ковганко, Н. Н., Ковганко, В. Н., Слабко, И. Н. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. хім. навук. — 2017. — № 1. — С. 66–72.

Antimicrobial properties of fluorine containing dihydropyrimidinones

Kauhanka H. H.¹, Kauhanka V. N.², Slabko I. N.²

¹*Educational Establishment “The Belarusian State Medical University”, Minsk, Republic of Belarus;*

²*Educational Establishment “The Belarusian State Technological University”,
Minsk, Republic of Belarus*

4-Fluoraryl-dihydropyrimidinones were prepared by the condensation of ethyl acetoacetate and ethyl benzoylacetate with urea and fluorine containing benzaldehydes. Antimycobacterial properties of the synthesized compounds were studied.

Keywords: Biginelli reaction, fluorine containing benzaldehydes, dihydropyrimidinones, antimycobacterial activity.

Поступила 19.09.2019