**СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ ПІРИМІДИНУ ТА ЙОГО ПОХІДНИХ**

**1.1.** **Синтез похідних піримідину**

Піримідин є дуже важливим гетероциклом. Піримідинові структури, на ряду з похідними пурину входять до складу життєво важливих для будь-якого організму нуклеїнових кислот, пов’язаних з синтезом білка в клітині. Піримідин (Тпл. 210 С; Ткип. 1240 С; легко розчинний у воді), не дає лужної реакції, утворює солі з сильними кислотами [1].

Стратегія синтезу включає чотири основних напрямки, заснованих на конденсації двох фрагментів, як показано на рис. 1.1.

   

А Б В Г

Рис. 1.1. Напрямки синтезу похідних піримідину

Найчастіше застосовують шлях що представлений символікою (А), тобто конденсацію ланки з трьох атомів Карбону з фрагментом N-C-N, так як вона відразу призводить до піримідинового кільця, цей метод називають «звичайним синтезом» через його загальну пристосованість до одержання широкого кола піримідинових похідних. Особлива цінність цього синтезу пов’язана з тим, що фрагмент із трьох атомів Карбону може мати одну чи дві такі групи, як альдегідна, кетонна, естерна чи нітрильна. Використовуються β-діальдегіди (чи їх еквівалент), β-кетоальдегіди, β-кетоестери, малоновий естер, β-альдегідо- чи β-кетонітрили і багато інших комбінацій вказаних груп чи їх похідних. В якості нітрогеновмісного фрагмента можна використовувати амідин, сечовину, тіосечовину, гуанідин. Прикладом може слугувати ацетилацетон, який досить легко вступає до реакцій з формамідином, гуанідином, сечовиною чи тіосечовиною з утворенням відповідних 4,6-диметилпіримідинів (1.1.-1.4.) [2-4]:



На практиці ця реакція істотно обмежена тим, що не всі можливі комбінації реактивів призводять до бажаного продукту, як показано на прикладі малонового альдегіду який не конденсується з формальдегідом у піримідин. Так 1,1,3,3-тетраетоксипропан, легко доступний попередник малонового альдегіду, реагує з формамідом над алюміній оксидом при t= 200о С, утворюючи піримідин з виходом 70 % [5].

Реакція Біджинелі являється одним зі зручних методів синтезу похідних піримідину. Її класичний варіант заключається в трикомпонентній конденсації сечовини, ароматичних альдегідів і ацетооцтового естера в присутності кислоти. Продукти реакції – 3,4-дигідропіримідинони (-тіони) – володіють досить широким спектром фармакологічних властивостей [6-7].

Реакції за участю β-діальдегідів і β-альдегідокетонів використовують для одержання незаміщених і заміщених в положенні 4 піримідинів.

Ще одна перевага β-дикарбонільних сполук пов’язана з кислотністю їх α-атому Гідрогену: вона дозволяє легко вводити нові замісники і розширює можливості функціоналізації піримідинового кільця [8].

Особливо важливим є синтез піримідинів із β-альдегідо- і β-кетоестерів, тому що цим методом найкраще синтезувати тимін, урацил та їх похідні. Спроби ввести до реакції з сечовиною етиловий естер формілоцтової кислоти були мало успішними, але якщо формілову кислоту генерувати окиснювальним декарбоксилюванням яблучної кислоти, то при реакції з сечовиною можна одержати з невеликим виходом урацил. Аналогічним способом був синтезований і тимін (1.5) [9]:



1.5

З гуанідином естери формілоцтової кислоти реагують на відміну від попереднього легко та утворюють похідні ізоцитозину.



β-Кетоестери, як правило, реагують з амідинами, сечовиною тощо з легкістю; реакція зазвичай проходить у дві стадії [10-12]:



Найбільш популярний приклад «загального синтезу» – це реакція похідних малонового естеру з фрагментом N-C-N сполук типу сечовини, що прямо призводить до похідних барбітурової кислоти та до інших важливих похідних піримідину.

Барбітурова кислота вперше була одержана у 1878 році конденсацією малонової кислоти з сечовиною в присутності фосфор хлороксиду, але зараз ця методика витіснена етилатним методом. Похідні заміщеного малонового естера реагують в цих умовах з утворенням чисельних важливих лікарських препаратів барбітурового ряду.



Тіосечовина реагує аналогічно, хоча і в змінених умовах. У типовому випадку алкіл- і діалкілмалонати швидше вступають до реакції з тіосечовиною, ніж з сечовиною. Як важливу модифікацію загального синтезу можна розглядати застосування трикарбонового фрагмента, який містить нітрильну групу. Типовий приклад такої сполуки являють β-альдегідонітрили та похідні ціаноцтової кислоти. Головна їх перевага в тому, що таким чином забезпечується пряме введення амінозамісника у положення 4 та/або 6 піримідинового кільця. У своїй найпростішій формі ціаноацетальдегід (у вигляді діетилацеталя) реагує з сечовиною та утворює в дві стадії 4-аміно-2-гідроксипіримідин(1.6) (цитозин) [13-14]:



1.6

Інші важливі методи синтезу піримідинів засновані на стратегіях (Б), (В), (Г). Існують також різноманітні більш часткові та менш застосовувані способи. Не дивлячись на те, що синтез (А) носить більш загальний характер, ніж перетворення за стратегіями (Б), (В) та (Г), ці методи доповнюють один одного і не слід вважати їх менш важливими.

В основі синтезів типу (Б) лежить конденсація β-ціано- або β-ациленаміна з відповідними CN-вмісним фрагментом (фрагмент N-C-C-C легко доступний прямим амінуванням похідних оксиметиленмалонового естеру) [15-16].

Етиловий естер амінокротонової кислоти дуже легко реагує з феніл- ізоцианатом чи метилізоцианатом з утворенням проміжного уреідопохідного, яке циклізується при обробці основами.

 

Аналогічний процес з насиченими β-амінокетонами призводить до дигідропіримідинів, які можна окиснювати у відповідні піримідини послідовним бромуванням та дегідробромуванням. Застосовують й інші сполуки, які містять C-N фрагменти: імідоестери, імідогалогеніди, аміди і тіоаміди [17].

У багатьох випадках ацетиламіни не виділяють, а регенерують у ході реакції: так, малононітрил дає з амідином проміжний β-амінометиленмалононітрил, який потім реагує з другим еквівалентом амідина з утворенням 4-амінопіримідина. Через стадію енамінокетона, який можна виділити, реагує з активними метиленовими сполуками формамід. β-Енамінокетони в присутності надлишку HCONH2 циклізуються у піримідини, при цьому формамід відіграє роль фрагмента C-N. Ацетофенон дає з формамідом 4-фенілпіримідин, однак така конденсація не має загального характера, так як багато амідів, зокрема ацетамід і тіоацетамід, не здатні до подібних перетворень [14,18].



Необхідне, крім того, активування метиленової групи, наприклад, фенольним замісником, інакше прості кетони або нітрили до реакції не вступають. Дуже близька до цих прикладів реакція β-дикетонів з надлишком формаміда, вона також відбувається через виділення ациленаміда [19]:



Група синтезів типу (В) ґрунтується на конденсації фрагменту, що містить один С-атом, з похідними 1,3-діамінопропану, але частіше 1,3-діаміни застосовують у найвищому ступені окиснення, у вигляді похідних діаміну малонової кислоти. Типовий приклад такого роду – реакція малондіаміна та естеру типу малонового з утворенням похідного 4,6-дигідроксипіримідину. До цієї конденсації вступають також мурашиний естер, формамід, ацетамід, карбон дисульфід і карбонати [7,17]:



Синтези типу (Г) не мають загального значення, але використовуються у конкретних випадках для одержання похідних урацила і тиміна; одним із найкращих прикладів є синтез Шоу. Вибір методики залежить від того чи необхідний замісник у положенняя 5 піримідинового кільця чи це положення повинно залишатися вільним. Конденсація ціаноцтовогоестеру з N-метилуретаном в ацетангідриді призводить до утворення аміду, з якого реакцією з формальдегідом одержують енольний естер. Циклізація аміна, яка каталізується основою, призводить до 5-ціанопіримідину (1.7.) [20].



1.7.

**1.2. Біологічна активність похідних піримідину**

Піримідин був відомий ще на початку минулого століття, спочатку як продукт розщеплення сечової кислоти. В подальшому він отримав самостійне значення, і його роль в багатьох біологічних процесах, у створенні лікарських препаратів значно збільшилася в останній час.

Піримідин – найважливіший представник із класу діазинів. Його похідні входять до складу нуклеїнових кислот, які беруть участь у процесах синтезу білка в організмі (програмують цей синтез) і відповідають таким чином за передачу спадкових ознак [21].

У складі нуклеїнових кислот піримідин міститься у вигляді гідрокси- та амінопохідних, що мають назву *Піримідинових основ.* Це насамперед урацил, тимін і цитозин. Дані сполуки виділені в результаті гідролізу нуклеїнових кислот вони існують у вигляді таутомерних лактимних (І) і лактамних (ІІ) форм, з яких основною є лактамна. Лактимна форма існує, як правило, в розчинах в незначній кількості.

*Урацил.* Унаслідок лактимно-лактамної таутомерії молекула урацилу знаходиться у вигляді двох структур: лактимної і лактамної. Для лактамної форми характерне існування також форми ІІІ у вигляді цвітер-іона завдяки мезомерному зміщенню електронної густини. Це надає в цілому лактамній формі ароматичні властивості:



І ІІ ІІІ

Лактим Лактам Цвітер-іон

(2,4 – діоксопіримідин)

Для *тиміну* (5-метил урацилу) і *цитозину* (4-іміно-2-оксопіримідину) структури є аналогічними.

Загалом піримідинові основи знаходяться головним чином у формі лактаму (ІІ), якому притаманні частково властивості ароматичності (структура ІІІ).

До піримідинових похідних відносяться також високоефективні сульфамідні препарати – сульфазин, сульфадимезин, вітамін В1 (тіамін), у зв’язку з чим були розроблені відповідні методи одержання [22].



Сульфазин Сульфадимезин



Тіамін

Похідні піримідину, також, з року в рік все ширше застосовуються в якості засобів, що підвищують резистентність організму до інфекцій. Зацікавленість у вивченні похідних викликана тим, що вони мають низьку токсичність, стимулюють білковий обмін та обмін нуклеїнових кислот, прискорюють клітинний ріст і розмноження, володіють протизапальною дією.

Піримідини виявляють певний вплив на активність ферментних систем, відповідальних за синтез або розпад нуклеїнових кислот, або можуть включатися безпосередньо в нуклеїнові кислоти. Не є виключенням і можливість опосередкованого впливу піримідинових похідних на білковий обмін при безпосередній дії на інші види обміну (жировий та вуглеводний).

Пентоксил, метилурацил та гідроксиметацил значно перевищують по своєму антикатаболічному впливу на нуклеїновий та білковий обмін такі анаболічні стероїди, як тестостеронфенолпропіонад і діанабол, і одночасно не поступаються їм по силі анаболічної дії. Крім того, піримідинові похідні вигідно відрізняються від анаболізаторів стероїдної структури відсутністю андрогенного ефекту.

Похідні піримідинів можна віднести як до груп засобів опосередкованої імуномодулюючої дії, так і до групи власне імуномодуляторів. Це пов’язано з тим що їх метою переважно є клітини, що потребують будівельного матеріалу для синтезу нуклеїнових кислот. Похідні піримідинів – попередники нуклеїнових кислот – виявляють виражений ефект на клітини імунної системи, які мають цю якість [23].

У багатьох дослідженнях [21] підкреслюється здатність похідних піримідину стимулювати вироблення антитіл, нормалізувати або підвищувати рівень нормальних антитіл і титрів антитіл, бактерицидних і проективних властивостей сироватки крові, підвищувати ефективність імунізації.

Піримідини помітно впливають на процеси кровотворення – стимулюють лейко- та еритропорез. Вони сприяють регенерації тканин. Похідні піримідинів володіють антиоксидантною, протизапальною, антитоксичною, протипухлинною, радіопротекторною, анаболічною та антикатаболічною активністю. Крім того, для них характерні психотропний, кардіотропний та гепатопротекторний ефекти [21].

Оскільки піримідини, маючи властивості імуномодуляторів, також стимулюють кровотворення, володіють антиоксидантною, анаболічною, антикатаболічною, кардіотонічною та гепатопротекторною діями, тобто патогенетично значущим для вираженої імунопротективної дії, потрібно використовувати їх в самий напружений для спортсменів період – період передзмагальної підготовки. Поглиблене вивчення механізмів впливу фізичних навантажень на імунологічну реактивність, організація імунологічного контролю при заняттях фізичною культурою і спортом, а також при корекції порушень імунологічної реактивності, що розвилися внаслідок відхилень від оптимуму фізичної активності – задачі сьогодення для сучасної спортивної медицини [25].

На даний час добре відомі сполуки піримідинового циклу із широким спектром фармакологічної дії. Серед даних сполук високою протимікробною активністю виділяється триметоприм, який пригнічує дигідрофолатредуктазу бактеріальної клітини, порушуючи тим самим перетворення бактеріального дигідрофолату в тетрагідрофолат. Безумовною перевагою похідних піримідину являється їх низька токсичність. Широкий спектр фармакологічних властивостей препаратів, що містять у своїй структурі ядро піримідину, свідчать про доцільність подальшого цілеспрямованого синтезу нових біологічно активних сполук. У свою чергу, вивчення формування резистентності до антимікробних препаратів є досить актуальним, особливо по відношенню до збудників зооантропонозних інфекцій [26].

Похідні піримідину здатні попереджати зниження фагоцитарної активності лейкоцитів, яка настає під впливом антибіотиків, викликають індукцію синтезу інтерферону, збільшують рівень імунізації, рівень нормальних антитіл. Механізм їх дії як стимуляторів імуногенезу пов'язаний з включенням їх до білкового обміну і обміну нуклеїнових кислот, що викликає полівалентний вплив на імуногенез та процеси регенерації [23].

У клініці похідні піримідину застосовують в терапії туберкульозу, хронічної пневмонії, опікової хвороби. Наприклад, включення метилурацилу в комплексну терапію дизентерії, який сприяє нормалізації показників природної резистентності (лізоцин, β-лізин, сироватки, фагоцитарна активність).

Піримідинова структура входить до складу багатьох лікарських препаратів, наприклад антигерпетичного препарату ацикловір і стимулятора регенерації метилурацила. При інфекціях сечовидільних шляхів рекомендована піпемідова кислота, протимікробний препарат, інгібуючий топоізомеразу, а також триметоприм – інгібітор дигідрофолатредуктази бактерій. Піримідин входить в структуру протималярійного препарату хлоридину. Флуоровані похідні, як антиметаболіти, застосовуються при лікуванні пухлинних захворювань, конкретно, препарат фторафур. Рисперидон запатентований, як антипсихотичний засіб, який застосовується для лікування психозів [24].

Протипухлинна активність . Одним із найбільш видатних відкриттів в цій області в останні роки стали препарати групи інгібіторів тирозинкінази. Цей фермент відповідає за перенос фосфатної групи з АТФ на білок в клітині, таким чином, тирозинкінази каналізують фосфорилювання залишку тирозину в білку, чим викликають зміни його функцій.

Іматиніб (1.8) – противолейкозний цитостатичний препарат, один із представників нового класу таргетних цитостатиків, вибірково діючих на клітини, маючи ті чи інші характерні для пухлин генетичні дефекти. Препарат був одержаний методом раціональної розробки *(rational drug design)*, заснованої на знанні структури біологічної мішені. Після того, як були відкриті мутація філадельфійської хромосоми і гіперактивність *Bcr-Abl* білка, дослідники продивлялися хімічні бібліотеки в пошуках речовини, здатної інгібувати даний білок. В результаті високоефективного скринінгу вони визначили 2-феніламінопіримідин. Ця сполука була модифікована, що призвело до відкриття іматинібу, який успішно пройшов клінічні дослідження і був дозволений до застосування [25].



1.8

Гефітиніб (1.9), також має в своїй структурі піримідинове ядро, перший селективний інгібор епідермального фактора росту (ЕФР) сімейства тирозинкіназ, знайшов застосування в якості препарату для лікування раку легень. Ерлотиніб (1.10) – другий інгібітор ЕФР тирозинкіназ зі схожим механізмом дії. Однак до цих пір існує мало доказів для використання його в якості препарату першої лінії в разі раку легень і застосування обмежене для пацієнтів, попередньо отримавших, як мінімум один курс хіміотерапії.



1.9



1.10

Канертиніб (1.11) – експериментальний препарат для лікування раку, що являється необоротним інгібітором тирозинкінази.



1.11

Фостаматиніб (1.12) – експериментальний препарат, що проходить третю фазу клінічних досліджень для лікування ревматоїдного артриту і другу фазу для лікування аутоімунної тромбоцитопенії і лімфоми.



1.12

Перспективними, але ще не впровадженими в медичну практику сполуками в групі протипухлинних препаратів можна назвати ряд похідних піримідину. Вони діють на різні мішені – циклінзалежні кінази, діацетилази пістонів, епідермальний фактор росту.

Протимікробна активність. За останні роки в медичну практику впроваджений гексетидин – антибактеріальний і анти грибковий препарат. Він має місцево анестезуючі, в’яжучі і дезодоруючі властивості.

Гексетидин (1.13) являється самостійним лікарським препаратом, який застосовується для симптоматичного лікування стрептококового фарингіту, тонзиліту, ларингіту, запалення ясен, виразкового стоматиту, післяопераційної гігієни, після тонзилектомії, порожнини рота і глотки.

Структурна формула приведена нижче



1.13

Останнім часом існує багато повідомлень [27] про нові похідні піримідину, які виявляють протимікробну активність. Більшість з них отримані методом раціональної розробки і високоефективного скринінгу, з використанням математичного моделювання.

Противірусна активність.

Будь-який вірус (варіон) складається з нуклеїнової кислоти, яка захищена капсидою (циліндричною чи сферичною оболонкою білкового типу, іноді з включенням ліпідів чи цукрів). Капсида виконує також функцію взаємодії з клітинами чужого організму, сприяючи проникненню вірусної нуклеїнової кислоти всередину клітини-господаря і запуску там синтезу нових вірусних молекул. У випадку ВІЛ складність заключається в тому, що в чужому організмі він вбудовується в клітини самої імунної системи (в лейкоцити, фагоцити, лімфоцити), викликаної боротися з патогенними мікроорганізмами. Точками дії (біомішенями) лікарських речовин на ВІЛ можуть бути: капсида (її руйнування), нуклеїнова кислота (її мутація, інгібування чи розрив) і ферменти які приймають участь в реплікації нуклеїнових кислот. Деякі синтетичні лікарські речовини проти СНІДу мають нуклеозидну природу і вважаються антиметаболітами, які можуть «сплутати карти» вірусній нуклеїновій кислоті [21, 28].

Згідно проведеного літературного огляду, можна зробити висновок про високу біологічну спорідненість похідних піримідинону, тому має місце вивчення рістрегулюючої активності отриманих похідних.

**ОДЕРЖАННЯ ПОХІДНИХ ПІРИМІДИН-2-ОНУ**

**2.1.** **Одержання похідних 1,2,3,4-тетрагідропіримідин-2-ону на основі піридин-3-альдегіду**

Спираючись на розглянуті основні шляхи одержання похідних піримідину, було обрано найоптимальніший спосіб замикання циклу – це трикомпонентна конденсація, реакція Біджинелі, заснована на взаємодії метилсечовини, ацетооцтового естеру і піридин-3-альдегіду.



2.1

Особливість протікання процесу певним чином викликана природою ацетооцтового естеру, який може перебувати в двох таутомерних формах: кето-формі та енольній-формі [29]. Таку взаємодію можна показати нижче представленою схемою:



Ми вважаємо, що в кислому середовищі кето-форма перетворюється в енольну, і в реакцію вступає саме остання.

Цикл замикається наступним чином:



Бромування відбувається заміщенням атома Гідрогену СН3-групи в С-6 положенні за наступним механізмом [28]. Активність поведінки цих сполук характеризується кислотністю СН3-групи в положенні С-6, що пояснюється наявністю електроноакцепторної групи (-СООС2Н5) в положенні С-5, спряженої системи подвійних зв’язків С=С–С=О та легким утворенням аліланіону, тому відбувається заміщення атома Гідрогену СН3-групи в С-6 положенні, а не приєднання по подвійному зв’язку С=С:



Для одержання бромопохідного продукту даної реакції використовувалося м’яке бромування N-бромсукцинімідом, відмінне від запропонованого Цигойнером (прямою дією розчину брому у хлороформі) [30]:



2.2

При суспендуванні бромопохідного з алкіламіном відбувається замикання циклу з утворенням піролопіримідинонів. Реакція відбувається за механізмом нуклеофільного заміщення. На 1 стадії відбувається відщеплення Br–  з утворенням алільного карбокатіону (2.3) [31-32]:



2.3

Наступна стадія полягає в тому, що до алільного карбокатіону приєднується нуклеофільний агент – амін (RNH2) з утворенням проміжного катіону (2.4):

  
 2.3 2.4

Далі відбувається внутрішньомолекулярний амоноліз естерної групи. Протон відщеплений від атома Нітрогену може приєднатися до карбонільного атома Оксигену естерної групи (2.5 а-б):



2.5 а 2.5 б

Амін нуклеофільно приєднується до атома Карбону, який несе позитивний заряд. Атом Гідрогену може переміститися до атома Оксигену алкоксогрупи (2.6) з наступним відщепленням молекули спирту (2.7) та замиканням п’ятичленного циклу (2.8):



2.6



2.7 2.8

Утворення фуропіримідинонів відбувається за таким же механізмом до утворення алільного карбкатіону, нуклеотидне приєднання спирту (2.9), міграція протонів до атома Оксигену алкоксогрупи естерного угрупування (2.10), відщеплення молекули спирту (2.11) та внутрішньомолекулярна нуклеофільна атака атому Карбону карбонільної групи з відщепленням алкільної групи (2.12) [30]:

