

С.А. Мещерякова, В.А. Катаев, И.Я. Фаттахова, А.В. Шумадалова, А.К. Булгаков
**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ
 И ПРОТИВОГРИБКОВОЙ АКТИВНОСТИ
 НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ N-ФЕНИЛАЦЕТАМИДНЫХ
 ПРОИЗВОДНЫХ ТИЕТАНИЛПИРИМИДИН-2,4(1H,3H)-ДИОНА**
*ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
 Минздрава России, г. Уфа*

В результате данного исследования осуществлен синтез *N*-фенилацетамидных производных тиетанилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона. Установлена структура впервые синтезированных производных пирими-дин-2,4(1H,3H)-диона с помощью спектральных методов анализа, изучены их физико-химические свойства. Осуществлено изучение противомикробной и противогрибковой активностей полученных соединений.

Индивидуальность синтезированных соединений подтверждена методом тонкослойной хроматографии и определением температуры плавления, установление структуры полученных соединений осуществлено с применением методов ИК- и ЯМР-спектроскопии. Определение противомикробной и противогрибковой активностей осуществлялось методом «диффузии в агар» и десятикратных серийных разведений в мясопептонном бульоне.

Ацилированием ариламинов хлорацетилхлоридом в щелочной среде или в ацетоне получены соответствующие 2-хлорацетанилиды. Взаимодействие 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона с 2-хлорацетанилидами в присутствии карбоната калия приводит к образованию соответствующих *N*-фенилацетамидпроизводных.

В результате исследования противомикробной и противогрибковой активностей установлены некоторые закономерности зависимости «структура – активность». Так, введение ацетилфенильного и метильного фрагментов в структуру ацетамидпроизводных 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона приводит к возникновению противомикробных и противогрибковых свойств.

Полученные результаты показывают перспективность поиска новых противомикробных и противогрибковых лекарственных средств в ряду *N*-фенилацетамидных производных тиетанилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона, структура которых принципиально отличается от известных антибактериальных препаратов.

Ключевые слова: *N*-алкилирование, пиримидин, тиетан, *N*-фенилацетамидпроизводные, 2-хлорацетанилиды, противомикробная, противогрибковая активности.

S.A. Meshcheryakova, V.A. Kataev, I.Ya. Fattakhova, A.V. Shumadalova, A.K. Bulgakov
**SYNTHESIS AND RESEARCH OF ANTIMICROBIAL
 AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE
 N-PHENYLACETAMIDE DERIVATIVES
 OF THIETHANYLPYRIMIDINE-2,4(1H,3H)-DIONE**

As a result of this study, synthesis of *N*-phenylacetamide derivatives of thiethanlypyrimidine-2,4(1H,3H)-dione was studied. The structure of the newly synthesized pyrimidin-2,4(1H,3H)-dione derivatives was determined using spectral methods of analysis, and their physico-chemical properties were investigated. The antimicrobial and antifungal activity of the obtained compounds was studied.

The identity of the synthesized compounds was confirmed by thin-layer chromatography and the determination of the melting point, the establishment of the structure of the obtained compounds was carried out using IR and NMR spectroscopy methods. Determination of antimicrobial and antifungal activity was carried out by the method of "diffusion into agar" and tenfold serial dilutions in meat-peptone broth.

The corresponding 2-chloroacetanilides were synthesized by acylation of arylamines with chloroacetyl chloride in an aqueous alkaline medium or in acetone. Alkylation of 6-methyl-3-(thiethan-3-yl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione with 2-chloroacetanilides in the presence of potassium carbonate leads to the formation of the corresponding *N*-phenylacetamide derivatives.

As a result of the study of antimicrobial and antifungal activity, some patterns of the structure-activity relationship have been established. Thus, the presence of acetylphenyl, methyl fragments in the structure of acetamide derivatives of 6-methyl-3-(thiethane-3-yl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione led to the manifestation of antimicrobial and antifungal properties.

The obtained results show the prospects of searching for new antimicrobial and antifungal drugs in the series of *N*-phenylacetamide derivatives of thiethanlypyrimidine-2,4(1H,3H)-dione whose structure is fundamentally different from the known antibacterial drugs.

Key words: *N*-alkylation; pyrimidine; thiethane; *N*-phenylacetamide derivatives; 2-chloroacetanilides, antimicrobial, antifungal activity.

Создание новых антибактериальных средств является одной из актуальных проблем фармацевтической химии. Это связано с появлением новых инфекций, возникновением резистентных штаммов микроорганизмов, а также необходимостью уменьшения побочных эффектов многих известных антибактериальных препаратов. Известно, что молекулы большинства антибактериальных веществ содержат в своей структуре серосодержащие или ацетамидные фрагменты, обуславливающие противомикробную активность [1,2].

Цель исследования – синтез *N*-фенилацетамидных производных тиетанилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона, установление строения, изучение противомикробной и противогрибковой активностей полученных соединений.

Материал и методы

В качестве исходного соединения был использован 6-метил-3-(тиетан-3-ил) пиримидин-2,4(1H,3H)-дион (1), полученный при взаимодействии 6-метилпиримидин-2,4(1H,3H)-диона с 2-хлорметилтираном в

ходе тиран-тиетановой перегруппировки в присутствии эквимольного количества калия гидроксида в водной среде.

2-Хлорацетанилиды (2-6) синтезированы реакцией Шоттена – Баумана с выходами

60–78 %. Ацилирование бензокаина и п-аминоацетофенона хлорацетилхлоридом проводили в ацетоне без добавления основного компонента, целевые 2-хлорацетанилиды выделены с выходами 72–89 % (рис. 1) [3].

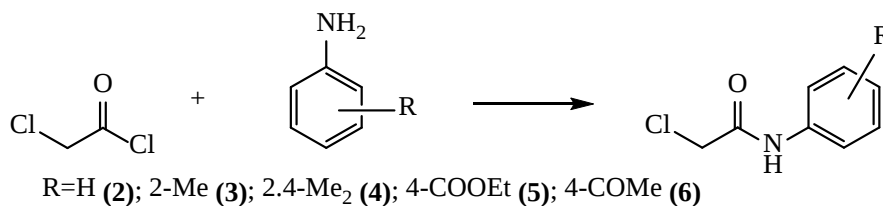


Рис. 1. Схема синтеза 2-хлорацетанилидов

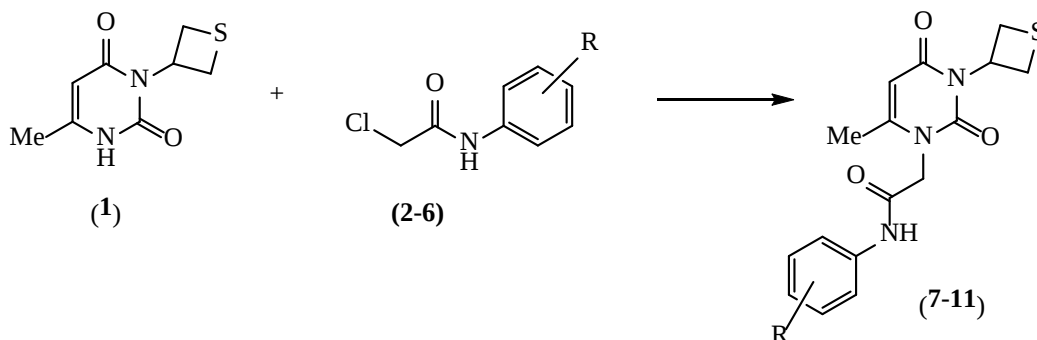
Спектры ЯМР ¹H сняты на приборе Bruker AM-300 (Германия) с частотой 300 МГц, растворитель – DMSO-d₆. ИК-спектры сняты на приборе «Инфралюм ФТ-02» (Россия) в дисках KBr, температуру плавления определяли в капилляре на приборе ПТП(М) (Россия). Индивидуальность полученных веществ определялась методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Sorbfil» (подвижная фаза: этилацетат или смесь ацетон-ацетонитрил в объемном соотношении 1:1), пятна проявляли в УФ-свете и парами йода во влажной камере.

Противомикробная и противогрибковая активности были исследованы на кафедре микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России под руководством д.м.н., профессора Булгакова А.К. Определе-

ние проводили методом «диффузии в агар» и десятикратных серийных разведений в мясо-пептонном бульоне [4]. В качестве тест-культур использованы депонированные штаммы микроорганизмов в ВНИИТИ (кафедра микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ) Минздрава России: E.coli, P.vulgaris, K.pneumonia, St.aureus, C.diversus, Ent.aergogenes, Ps.aeroginosa, Serratia abosit и низших грибов - C. albicans.

Результаты и обсуждение

Алкилирование 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона (1) проводили 1,2-кратным мольным избытком 2-хлорацетанилида при кипячении в ацетонитриле в течение 7 ч в присутствии 1,5-кратного мольного избытка карбоната калия. Выход продуктов составил 89-96% (рис. 2).



R=H (2, 7); 2-Me (3, 8); 2,4-Me₂ (4, 9); 4-COOEt (5, 10); 4-COMe (6, 11)

Рис. 2. Схема алкилирования 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона 2-хлорацетанилидами

Строение полученных соединений 7-11 подтверждено спектрами ЯМР ¹H и ИК. Так, в спектрах ЯМР ¹H регистрируются химические сдвиги протонов ацетамидного фрагмента в виде синглета в интервале 4,66-4,70 м.д. (CH₂CO) и уширенного синглета в интервале 10,35-10,71 м.д. (HN-CO), протонов бензольного ядра в области 6,89-7,98 м.д., а также регистрируются характерные сигналы протонов группы 6-CH₃, H⁵ пиримидина. Сигналы протонов тиетанового цикла регистрируются в следующих областях: псевдотриплеты двух фрагментов S(CH)₂ в ин-

тервале 3,08–3,14 и 4,15–4,21 м.д. и мультиплет фрагмента NCH в интервале 6,02–6,10 м.д., что свидетельствует о сохранении тиетанового цикла в реакциях алкилирования [5].

В ИК-спектрах соединений 7-11 в области 1660–1713 см⁻¹ наблюдаются интенсивные полосы поглощения (валентные колебания связей групп C=O пиримидинового фрагмента и типа «амид I» N-ацетильной группировки). Максимумы поглощения при 1531–1541 см⁻¹ в спектрах этих соединений относят к валентным колебаниям связи C-N и деформацион-

ным колебаниям связи N-H «II амидной полосы». Уширенные полосы поглощения при 3288–3324 см⁻¹ относят к валентным колебаниям амидной группы N-H.

Установлено, что наибольшей противомикробной и противогрибковой активностями обладают соединения 8, 11 (см. таблицу). Соединение 11 проявляет противомикробную активность в меньших дозах при 0,0001 мкг/мл, что даже ниже, чем минимальная подавляющая концентрация стрептоцида. Прослеживается зависимость «структура – активность». Так, введение ацетилфенильного и

метильного фрагментов в структуру ацетамидпроизводных 6-метил-3-(тиетан-3-ил) пиримидин-2,4(1H,3H)-диона привело к усилению противомикробных и противогрибковых свойств. Антимикробная и противогрибковая активности ацетамидпроизводных 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона с другими заместителями проявляются при больших дозах.

Таким образом, в результате проведенного исследования соединения 8, 11 рекомендуются для углубленных исследований противомикробной и противогрибковой активностей.

Таблица

Соединение	Противомикробная и противогрибковая активность синтезированных соединений								
	Минимальные бактериостатические концентрации, мкг/мл								
	St. aureus	E. coli	P. vulgaris	K. pneumoniae	C. diversus	Ent. aerogenes	Ps. aeruginosa	Serratia abosit	C. albicans
Стрептоцид	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
Пимафуцин	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001
7	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
8	0,001	0,0001	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,001	0,001
9	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
11	0,001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,001	0,001

Выводы

1. Синтезированы N-фенилацетамидные производные тиетанпиримидин-2,4(1H,3H)-диона алкилированием 6-метил-3-(тиетан-3-ил)пиримидин-2,4(1H,3H)-диона из бытком 2-хлорацетанилида.

2. Установлено строение полученных соединений методами спектроскопии ЯМР ¹H и ИК.

3. Изучена противомикробная и противогрибковая активности полученных соединений.

Полученные результаты показывают перспективность продолжения поиска новых противомикробных и противогрибковых лекарственных средств в ряду тиетансодержащих пиримидин-2,4(1H,3H)-дионов, структура которых принципиально отличается от известных антибактериальных препаратов.

Сведения об авторах статьи:

Мещерякова Светлана Алексеевна – д.фарм.н., доцент, зав. кафедрой общей химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-02-22. E-mail: svetlanama@mail.ru.

Катаев Валерий Алексеевич – д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармазии ИДПО ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-62-95. E-mail: centreles@mail.ru.

Фаттахова Ильзира Ямилевна – к.х.н., старший преподаватель кафедры общей химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-02-22. E-mail: fattakhova.ilzira@gmail.com.

Шумадалова Алина Викторовна – ассистент кафедры общей химии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-02-22. E-mail: shumadalova@yandex.ru

Булгаков Айдар Казбекович – д.м.н., профессор, профессор кафедры микробиологии, вирусологии ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России. Адрес: 450008, г. Уфа, ул. Ленина, 3. Тел.: 8(347)272-83-88.

ЛИТЕРАТУРА

1. Синтез, строение, противомикробная и противогрибковая активности диацилгидразинов тиетанпиримидин-2,4(1H,3H)-дионового ряда / С.А. Мещерякова, В.А. Катаев, Д.А. Мунасипова [и др.] // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 20, № 1. – С. 20-25.
2. Синтез и противомикробная активность ацетанилидов и ацетилгидразинов тиетанпиримидин-2,4(1H,3H)-дионового ряда / С.А. Мещерякова, В.А. Катаев, И.Я. Фаттахова [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49, № 9. – С. 28-31.
3. Фаттахова, И.Я. Синтез новых N-фенилацетамидных производных тиетанпиримидин-2,4(1H,3H)-диона / И.Я. Фаттахова, С.А. Мещерякова, В.А. Катаев // Башкирский химический журнал. – 2014. – Т. 21, № 3. – С. 33-36.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян [и др.] – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
5. Мещерякова, С.А. Синтез новых производных тиетанпиримидина и тиетанилимидазола / С.А. Мещерякова, В.А. Катаев // Журнал органической химии. – 2013. – Т. 49, № 9. – С. 1373-1375.

REFERENCES

1. Meshcheryakova S.A., Kataev V.A., Munasipova D.A. et al. Synthesis, structure, antimicrobial and antifungal activities of diacylhydrazines of thiethanypyrimidine-2,4(1H,3H)-dione series. Problems of Biological, Medical and Pharmaceutical Chemistry, 2017, Vol. 20, №1, P. 20-25. (In Russ)

2. Meshcheryakova S.A., Kataev V.A., Fattakhova I.Ya. [et al.] Synthesis and antibacterial activity of acetanilides and acetylhydrazones of thietanypyrimidine-2,4(1H,3H)dione series. Pharmaceutical Chemistry Journal, 2015, Vol. 49, №9, P. 28-31. (In Russ)
3. Fattakhova I. Ya., Meshcheryakova S.A., Kataev V.A. Synthesis of new N-phenylacetamide derivatives of thietanypyrimidine-2,4(1H,3H)-dione. Bashkir chemical journal, 2014, Vol. 21, №3, P. 33-36. (In Russ)
4. Mironov A.N., Bunatjan N.D. et al. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv (Guidelines for pre-clinical trials of drugs). Vol. 1. Moscow, Grif i K, 2012, 944 p. (In Russ)
5. Meshcheryakova S.A., Kataev V.A. Synthesis of new thietanypyrimidine and thietanylimidazole derivatives. Russian journal of Organic Chemistry, 2013, Vol. 49, №9, P. 1358-1360. (In Russ)

УДК 615.214.22: 543.544.5

© С.К. Ордабаева, К.К. Атырханова, А.О. Сопбекова, 2018

С.К. Ордабаева, К.К. Атырханова, А.О. Сопбекова
**УНИФИЦИРОВАННАЯ МЕТОДИКА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ
 ПИРАЦЕТАМА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ МЕТОДОМ
 ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ**
Южно-Казахстанская медицинская академия, г. Шымкент

В настоящее время в медицине широко применяется субстанция пирacetам и его лекарственные формы. Но унифицированной методики количественного определения пирacetам в субстанции и лекарственных формах на сегодняшний день нет.

Целью исследования явилась разработка унифицированной методики количественного определения пирacetам в субстанции и лекарственных формах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Учитывая свойства исследуемого препарата, неподвижной фазы и элюента, для количественного определения пирacetам в субстанции и лекарственных формах экспериментально подобрана подвижная фаза из метанола и воды (2:8). Валидирование результатов исследования показало специфичность, высокую воспроизводимость и точность разработанной методики при относительной ошибке $\pm 1,53\%$ для капсул пирacetам и $\pm 0,98\%$ для инъекционного раствора пирacetам.

Таким образом, разработана достоверная унифицированная методика количественного определения пирacetам в лекарственных формах методом ВЭЖХ.

Ключевые слова: пирacetам, субстанция, лекарственная форма, высокоэффективная жидкостная хроматография, унифицирование, валидация.

S.K. Ordabayeva, K.K. Atyrkhanova, A.O. Sopbekova
**THE UNIFIED METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF PYRACETAM
 IN MEDICINAL FORMS BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY**

Currently pyracetam substance and its medicinal forms are widely used in medicine. But there is no unified method of quantitative determination of pyracetam in the substance and medicinal forms.

The aim of the research is to develop the unified method of quantitative determination of pyracetam in substance and dosage forms by high performance liquid chromatography (HPLC).

Taking into account the properties of the studied preparation, the stationary phase and the eluent, a mobile phase from methanol and water (2:8) was experimentally selected for the quantitative determination of pyracetam in the substance and dosage forms. Validation of the results of the study showed specificity, high reproducibility and accuracy of the developed procedure with a relative error of $\pm 1.53\%$ for capsules of pyracetam and $\pm 0.98\%$ for the injectable solution of pyracetam.

Thus, a reliable unified procedure for the quantitative determination of pyracetam in dosage forms by the HPLC method was developed.

Key words: pyracetam, drug substance, dosage form, high performance liquid chromatography, unification, validation.

Негативное влияние экологического и психоэмоционального стрессов на большинство населения нашей планеты, особенно жителей больших городов, является актуальной проблемой современного общества. Доказано, что стресс не безвреден для организма человека, он является фактором риска многих сердечно-сосудистых заболеваний, а также оказывает негативное воздействие на нервную систему, в результате чего человек становится раздражительным, у него снижается работоспособность, ухудшается память и процессы мышления. В связи с этим ученые непрерывно занимаются поиском путей профилактики и коррекции отрицательного воздействия стресса на нервную систему.

Более 50 лет назад возникла концепция ноотропных средств, был синтезирован и испытан лекарственный препарат Пирacetам. Это дало мощный толчок к поиску и созданию иных веществ с подобным принципом действия, эти исследования продолжаются и по сей день [1-6].

В медицине широко применяется субстанция пирacetам и его лекарственные формы (пирacetам раствор для инъекции 20% 5 мл; капсулы пирacetам 0,4 г; таблетки луцетам (пирacetам) 400 мг).

На сегодняшний день отсутствует единая, унифицированная методика количественного определения пирacetам в субстанции и лекарственных формах.