

На правах рукописи

**Федотов
Андрей Юрьевич**

**СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ
N,6-ДИАРИЛ-4-МЕТИЛ-2-ОКСО(ЦИАНОИМИНО)-
1,2,3,6-ТЕТРАГИДРОПИРИМИДИН-5-КАРБОКСАМИДОВ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Пермь — 2018

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор Гейн Владимир Леонидович

Официальные оппоненты:

Клен Елена Эдмундовна — доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии, профессор кафедры

Шорманов Владимир Камбулатович — доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии, профессор кафедры

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург

Защита состоится « » _____ 2018г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.02, при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (614990, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2, тел./факс (342)233-55-01).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке (614070, г. Пермь, ул. Крупской, д. 46) и на сайте организации ([https:// www.pfa.ru](https://www.pfa.ru)) федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

Замараева Татьяна Михайловна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Химия гетероциклических соединений с течением времени приобретает все более выраженный интерес со стороны органической и медицинской химии. Особую нишу занимают различные методики многокомпонентного одностадийного синтеза гетероциклических соединений. Одну из таких методик в 1893 году предложил Пьетро Биджинелли, когда используя мочевины, ароматический альдегид и этилацетоацетат ученый синтезировал различные производные тетрагидропиримидина. Как выяснилось позже, данный ряд соединений проявляет широкий спектр биологической активности.

Согласно литературным данным, среди производных тетрагидропиримидина, обнаружены вещества, обладающие антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной, противовирусной, противотуберкулезной, противораковой, антигипертензивной активностью, а также найдены блокаторы кальциевых каналов. В отечественной и зарубежной литературе за последние 15 лет мы обнаружили мало рядов тетрагидропиримидинов Биджинелли, содержащих в своей структуре амидную группу. Принимая во внимание растущий интерес к подобным соединениям, как со стороны органической химии, так и со стороны фармакологии, нами была поставлена цель получения и исследования биологической активности тетрагидропиримидинов, содержащих в своем составе амидную группу. Мы использовали в качестве β -дикарбонильного реагента N-арилацетоацетамида и натриевую соль диэтилоксалиацетата, ароматические альдегиды, а также исследовали применение N-метилмочевины и дициандиамида вместо мочевины. Для наиболее биологически активного и перспективного соединения разработали стандартный образец, методики качественного и количественного определения субстанции, методики определения родственных примесей.

Степень разработанности темы исследования. Проводимые в разные годы исследования были посвящены синтезу соединений П. Биджинелли. Результаты исследований отражены в работах С.В. Вдовиной, В.А. Мамедова, В.Л. Гейна, Т.М. Замараевой, Ю.А. Титовой, О.А. Мажукиной и др. Изучению проблем посвящены и исследования зарубежных ученых С.О. Карпе, W. Su, J. Li, Z. Zheng, O.M. Singh, N.S. Devi и др.

Принимая во внимание широкий спектр биологической активности и многообразие методик получения соединений П. Биджинелли, нам представилась возможность синтезировать ранее неописанные соединения.

Цель и задачи. Целью научной работы является изучение взаимодействия N-арилацетоацетамида со смесью мочевины, ее производных и ароматических альдегидов, исследование биологической активности полученных соединений и разработка методик оценки качества наиболее перспективного соединения.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать конденсацию Биджинелли, используя N-арилацетоацетамид, ароматический альдегид и мочевины или ее производные.

2. Изучить влияние дициандиамида в конденсации Биджинелли.

3. Определить биологическую активность и острую токсичность полученных соединений.

4. Разработать методики оценки качества наиболее перспективного соединения с использованием современных инструментальных методов.

Научная новизна. Изучена одностадийная трехкомпонентная реакция N-замещенного ацетоацетанилида, мочевины (N-метилмочевины и дициандиамида) с ароматическими альдегидами. Осуществлен синтез ранее не описанных соединений ряда N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов, N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов и N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов.

На основании ИК, ЯМР ^1H , масс-спектров и рентгеноструктурного анализа установлена структура полученных соединений.

Проведено изучение антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной, анальгетической активности в сравнении с препаратами эталонами, использующимися в клинической практике. Также исследована острая токсичность. Впервые разработаны методики оценки качества наиболее перспективного соединения 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида с использованием современных инструментальных методов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Разработан метод синтеза N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов, N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов и N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов.

Представленный метод синтеза позволяет получать соединения с заданной комбинацией заместителей, и могут быть использованы в синтетической органической и фармацевтической химии.

В процессе исследования синтезировано 54 соединения, 43 из которых не описано ранее. 42 из полученных соединений были изучены на антибактериальную, 22 – на противогрибковую, 5 – на противовоспалительную, 1 – наиболее перспективное соединение исследовано на анальгетическую активность и острую токсичность. Разработаны методики анализа наиболее перспективного соединения 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида (Pe) с использованием современных инструментальных методов: спектрометрии в инфракрасной области, спектрофотометрии в ультрафиолетовой области, спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , масс-спектрометрии и ВЭЖХ для оценки качества субстанции.

Результаты диссертационного исследования используются в научно-исследовательской работе кафедры общей и органической химии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (акт внедрения от 18.01.2018г.).

Методология и методы диссертационного исследования.

Достоверность результатов проведённых исследований подтверждается использованием ряда физико-химических методов: масс-спектрометрии, в том числе высокого разрешения, ИК спектрометрии, спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C , рентгеноструктурного анализа. Анализ биологической активности проводили методами: двукратных серийных разведений, оценки прироста объема воспаленной стопы крыс, «уксусных корчей», Прозоровского. Стандартизация наиболее перспективного соединения, определение его родственных примесей методом ВЭЖХ и количественное определение методами ВЭЖХ и спектрофотометрией в УФ области.

Степень достоверности. Обоснованность и достоверность полученных данных подтверждена с помощью использования современных приборов для определения структуры и контроля чистоты синтезированных соединений. Для проведения фармакологического скрининга использовались стандартные утвержденные методики.

Апробация результатов. Материалы исследований доложены в виде тезисов и обсуждены на 1-ой международной интернет-конференции молодых ученых и студентов «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки», Запорожье 2012 г., в сборнике материалов Всероссийской конференции с международным участием «Современные проблемы химической науки и образования», Чебоксары 2012 г. и в сборнике научных трудов Пятигорской государственной фармацевтической академии, Пятигорск 2012 г.

Внедрение результатов исследования. Результаты работы внедрены в лекционный и практический курс учебной дисциплины «органическая химия», а также в научно-исследовательскую работу студентов, аспирантов кафедры общей и органической химии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Положения, выносимые на защиту.

1. Синтез N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов.
2. Синтез диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов
3. Исследование структуры полученных соединений на основании данных ИК, ЯМР ^1H , масс-спектров и рентгеноструктурного анализа.
4. Биологический скрининг, полученных соединений.
5. Разработка методик стандартизации для наиболее активного соединения и фармацевтического анализа полученной субстанции, их валидация.

Исследования выполнены в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России (номер государственной регистрации 01.9.50 007419).

Личный вклад автора состоит в выполнении экспериментальной части работы, проведении анализа и обработки данных физико-химических методов исследования, участии в подготовке публикаций, написании диссертации.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертационная работа соответствует паспорту научной специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия, п. 1 «Исследование и получение биологически активных веществ на основе направленного изменения структуры синтетического и природного происхождения и выявление связей и закономерностей между строением и свойствами веществ», п. 2 «Формулирование и развитие принципов стандартизации и установление нормативов качества, обеспечивающих терапевтическую активность и безопасность лекарственных средств».

Публикации по теме диссертации. По теме диссертационной работы опубликовано 7 статей (из них 6 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК, Минобрнауки РФ и входящих в базу цитирования SCOPUS), 1 патент РФ, 3 тезиса.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа общим числом 112 страниц компьютерного набора состоит из введения, 6 глав, заключения, библиографического списка, включающего 110 наименований работ, 26 отечественных и 84 зарубежных авторов. Работа содержит 21 таблицу, 18 рисунков, 48 схем и 1 приложение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1 Синтез, свойства и биологическая активность производных тетрагидропиримидина

В главе приводятся обобщенные литературные данные по способам синтеза, химическим свойствам и биологической активности производных тетрагидропиримидина полученных реакцией Биджинелли.

Глава 2 Объекты и методы исследования

В главе приводятся объекты исследования, которыми служили синтезированные N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамиды и диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилаты. Приведены приборы, на которых была осуществлена запись ИК, ЯМР ^1H , масс-спектров, рентгеноструктурного анализа, элементного анализа, температур плавления, количественного анализа, а также методики определения антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной, анальгетической активностей и определения острой токсичности.

Глава 3 Синтез N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов

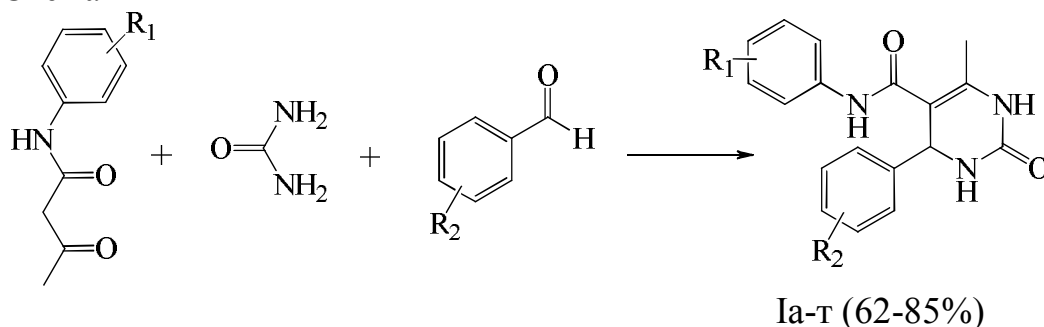
В главе представлены результаты собственных исследований по методам синтеза производных тетрагидропиримидина.

3.1 Синтез N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов

С целью получения новых биологически активных соединений, содержащих пиримидиновое кольцо, нами осуществлен синтез ранее неописанных N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов.

Синтез осуществляли сплавлением ацетоацетанилидов, ароматических альдегидов и мочевины, в эквимольном количестве без применения растворителя и катализатора при температуре 120-150 °С в течение 5-7 минут (схема 1).

Схема 1



$R_1 = \text{H}$ (а, б); $R_2 = 3\text{-F}$ (а), 2-NO_2 (б); $R_1 = 2\text{-CH}_3$ (в-з); $R_2 = 4\text{-NO}_2$ (в), 2-Cl (г), 2-F (д), 3-F (е), $4\text{-HO-3-C}_2\text{H}_5\text{O}$ (ж), $2,5\text{-(CH}_3\text{O)}_2$ (з); $R_1 = 2,4\text{-(CH}_3\text{)}_2$ (и); $R_2 = 2\text{-Cl}$ (и); $R_1 = 2\text{-CH}_3\text{O}$ (к-м); $R_2 = 2\text{-Cl}$ (к), 2-F (л), 3-F (м); $R_1 = 2\text{-Cl}$ (н-т); $R_2 = \text{H}$ (н), 2-Cl (о), 4-Cl (п), 3-NO_2 (р), 4-CH_3 (с), $4\text{-CH}_3\text{O}$ (т).

Соединения Ia-т представляют собой бесцветные кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ДМФА, ДМСО, мало растворимые в этаноле, ледяной уксусной кислоте и практически нерастворимые в воде.

Строение соединений Ia-т было установлено на основании данных ЯМР ^1H , ИК и масс-спектров.

Для установления пространственного строения соединений Ia-т медленной кристаллизацией из ледяной уксусной кислоты был получен монокристалл соединения Ik. Вероятно, полученное соединение Ik обладает сольватоморфизмом, так как образовался молекулярный комплекс, кристаллическая решетка которого содержит растворитель.

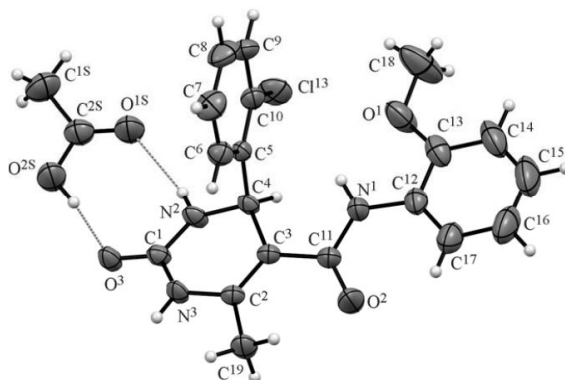
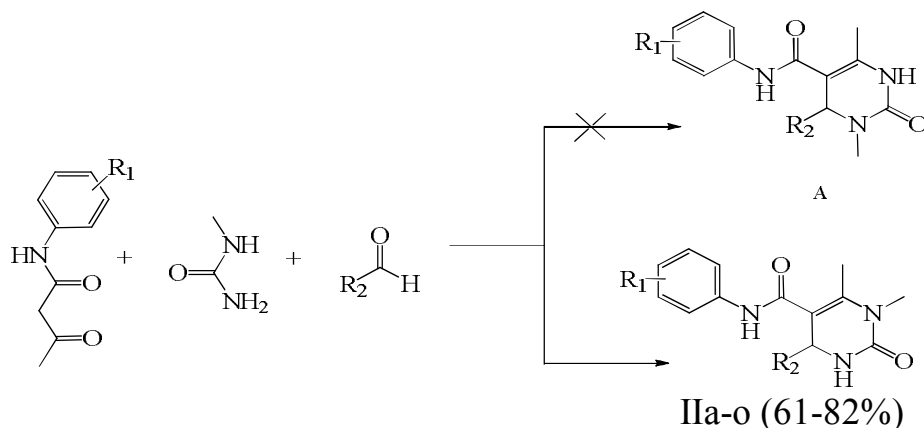


Рисунок 1 — Структура 4-метил-N-(2-метоксифенил)-2-оксо-6-(2-хлорфенил)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида по данным РСА (Ik).

3.2 Синтез N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов

Продолжая исследование реакции Биджинелли, мы изучили конденсацию N-ариламидов ацетилюксусной кислоты, N-метилмочевины и ароматических альдегидов при температуре 120-150 °С в отсутствии растворителя в течение 10-15 минут, которая приводит к образованию N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов (Па-о) (схема 2).

Схема 2



$R_1 = \text{H}$ (а-и); $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (а), 4- ClC_6H_4 (б), 3- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (в), 4- FC_6H_4 (г), 4- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (д), 3- $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ (е), 3- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (ж), 4- $\text{C}_2\text{H}_5\text{OC}_6\text{H}_4$ (з), 2,4- $\text{Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3$ (и);
 $R_1 = 2\text{-CH}_3$ (к, л); $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (к), 2- ClC_6H_4 (л);
 $R_1 = 2\text{-Cl}$ (м-о); $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (м), 2- ClC_6H_4 (н), 3- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (о).

Соединения Па-о представляют собой бесцветные кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ДМФА, ДМСО, мало растворимые в этаноле, ледяной уксусной кислоте и практически нерастворимые в воде.

Строение соединений Па-о было установлено на основании данных ЯМР ^1H , ИК и масс-спектров.

В ЯМР ^1H спектрах соединений Па-о присутствуют дублеты протонов в положениях 1 и 6 пиримидинового цикла с $J_{1,6} = 2.94 - 3.33$ Гц, что свидетельствует о том, что реакция протекает региоселективно и метильный радикал располагается в положении 3 тетрагидропиримидинового цикла.

Для установления пространственной структуры соединений Па-о был выделен монокристалл соединения Пж путем медленной кристаллизации из этанола и проведен его рентгеноструктурный анализ.

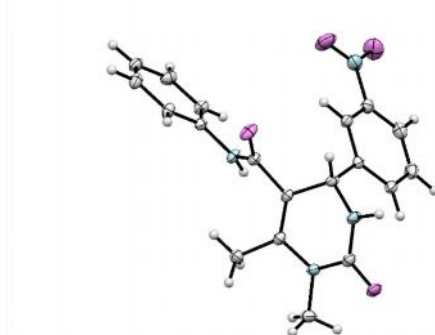
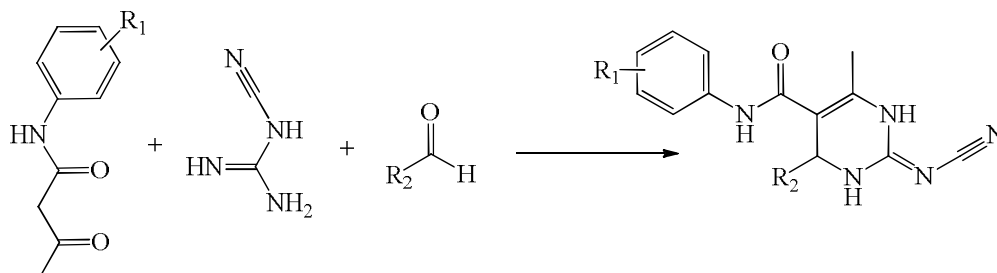


Рисунок 2 — Структура 3,4-диметил-6-(3-нитрофенил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид (Пж).

3.3 Синтез N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов

Использование дициандиамида, вместо мочевины, в реакции Биджинелли со смесью N-ариламида ацетилюксусной кислоты и ароматического альдегида сплавлением без растворителя и катализатора при температуре 150-180 °С в течение 5-7 минут привело к образованию N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов (IIIa-л) (схема 3).

Схема 3



IIIa-л (64-89%)

$R_1 = \text{H}$ (а-з); $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (а), 3- $\text{NO}_2\text{C}_6\text{H}_4$ (б), 2- ClC_6H_4 (в), 2,5- $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{C}_6\text{H}_3$ (г), 3- $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}$ (д), 4- FC_6H_4 (е), 4- HOC_6H_4 (ж), 4- $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4$ (з);
 $R_1 = 2\text{-CH}_3$ (и-л), $R_2 = \text{C}_6\text{H}_5$ (и), 4- HOC_6H_4 (к), 2- ClC_6H_4 (л).

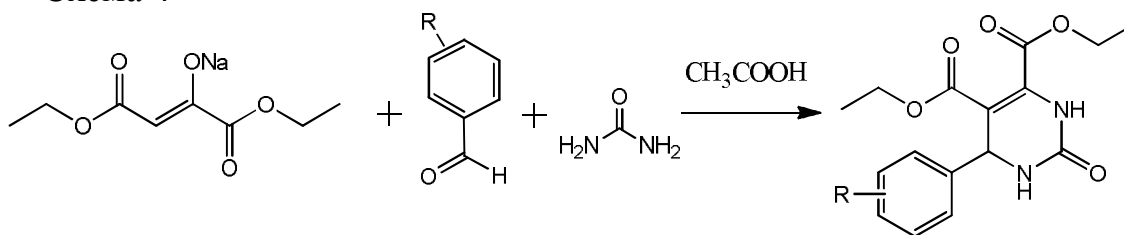
Соединения IIIa-л представляют собой бесцветные или слабоокрашенные кристаллические вещества, растворимые в хлороформе, ДМФА, ДМСО, этаноле, ледяной уксусной кислоте и практически нерастворимые в воде.

Строение соединений IIIa-л было установлено на основании данных ЯМР ^1H , ИК и масс-спектров.

3.4 Синтез диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов

N-ариламида ацилпировиноградных кислот не вступают в реакцию Биджинелли при сплавлении реагентов в отсутствии растворителя. Поэтому представляло интерес получить продукты реакции Биджинелли, имеющие в своем составе сложно-эфирные функциональные группы с дальнейшим их превращением в N-ариламидные заместители. Взаимодействие натриевой соли диэтилоксалилацетата, ароматического альдегида и мочевины при кипячении в эквимольном соотношении, в ледяной уксусной кислоте привело к образованию ранее описанных диэтил-6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов (IVa-з) (схема 4).

Схема 4



IVa-з (63-76%)

R = H (а), 4-(CH₃)₃C (б), 2,4-(CH₃O)₂ (в), 4-F (г), 3-NO₂ (д), 2-NO₂ (е), 3-CH₃O (ж), 4-Cl (з).

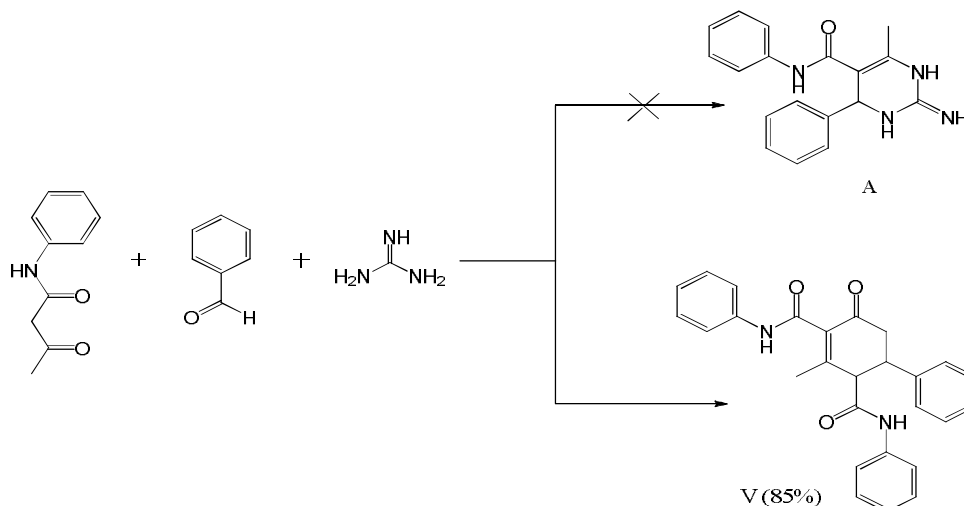
Однако, взаимодействие полученных соединений (IVa-з) с ариламидами или гидразином в ледяной уксусной кислоте не привело к образованию соответствующих амидов. Наблюдалось осмоление реакционной смеси.

Строение соединений IVa-з было установлено на основании данных ЯМР ¹H, ИК и масс-спектров.

3.5 Взаимодействие N-ариламидов ацетилуксусной кислоты с ароматическим альдегидом в присутствии аналогов мочевины и цианогуанидина

В ходе работы по синтезу производных тетрагидропиримидина нами был расширен круг реагентов близких по структуре к мочеvine и цианогуанидину, так как библиотека тетрагидропиримидинов Биджинелли, в которых амино-компонентом выступают гуанидин и аминогуанидин, недостаточно изучена в отечественной и зарубежной литературе. При взаимодействии ацетоацетаналида со смесью бензальдегида и гуанидина, как аналога мочевины, было установлено, что сплавлением при температуре 120-150 °C в течение 10-15 минут получить целевой N,6-фенил-2-имино-4-метил-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид (структура А схемы 5) не удалось. Единственным продуктом в данном случае является 2-метил-4-оксо-N,N',6-трифенил-2-циклогексен-1,3-дикарбоксамид (V).

Схема 5



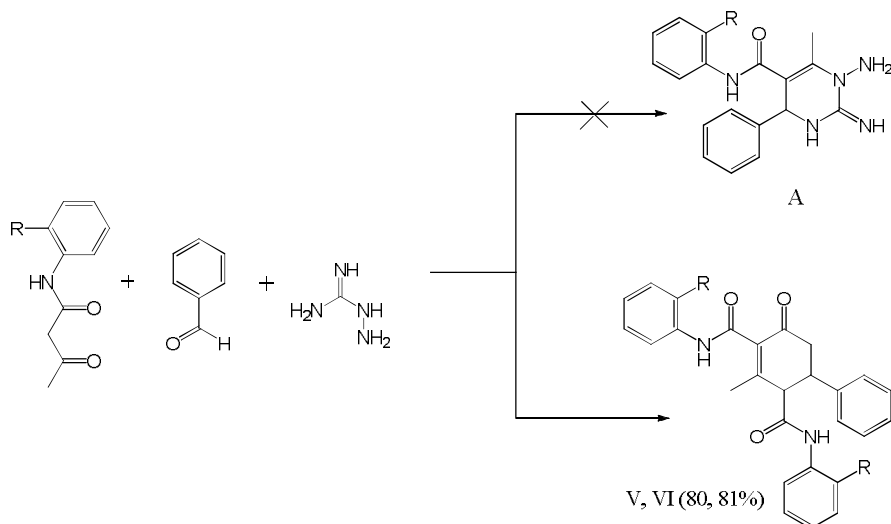
В ИК спектре соединения V наблюдаются полосы, обусловленные валентными колебаниями связей C=O (1600 см⁻¹) и CONHAr (1648 см⁻¹), а также NH связей (3296 см⁻¹).

Структура 2-метил-4-оксо-N,N',6-трифенил-2-циклогексен-1,3-дикарбоксамид (V) по данным ЯМР ¹H спектров имеет сигналы ароматических протонов (7.01-7.40 м.д.), дублеты дублетов неэквивалентных протонов метиленовой группы в положении 5 цикла (2.56 м.д., J = 16.2, 4.2 Гц, 2.93 м.д., J = 16.2, 14.0 Гц), дублеты дублетов протона в положении 6 цикла (3.72 м.д., J = 14.0 Гц, J = 10.2 Гц, J = 4.2 Гц), дублет протона в

положении 1 цикла (3.88 м.д., $J = 10.2$ Гц) и два синглета NH-протонов при 10.13, 10.21 м.д.

В продолжение исследования, нами было изучено взаимодействие ацетоацетанилида и о-метоксиацетоацетанилида, бензальдегида и N-аминогуанидина. Проведенные исследования показали, что при сплавлении исходных реагентов в эквимольном количестве при температуре 120-150 °С в течение 10-15 минут, вместо ожидаемых тетрагидропиримидинов (структура А схемы 6) были получены 2-метил-4-оксо-N,N',6-трифенил-2-циклогексен-1,3-дикарбоксамиды (V, VI).

Схема 6



R = H (V), 2-CH₃O (VI)

Вероятно, в данной реакции N-аминогуанидин выступил в качестве основного катализатора, а прореагировали бензальдегид и две молекулы N-ариламидов ацетилуксусной кислоты.

В ИК спектре соединений V, VI наблюдаются полосы, обусловленные валентными колебаниями связей C=O (1600, 1604 см⁻¹) и CONHAr (1648, 1632 см⁻¹), а также NH связей (3296, 3304 см⁻¹).

Спектры ЯМР ¹H соединений V, VI аналогичны ранее описанным.

Глава 4 Экспериментальная часть

В четвертой главе приведены методики получения N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов и диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов.

Глава 5 Биологическая часть

Продукты реакции Биджинелли обладают различными видами биологической активности, благодаря чему, на сегодняшний день становятся объектом пристального внимания для исследователей.

5.1 Антибактериальная активность

Полученные соединения были исследованы на антибактериальную активность (таблицы 1, 2). Исследование проводили при участии к.б.н., Баландиной А.В. и к.ф.н. Бобылевой А.А. на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Таблица 1 – Антибактериальная активность синтезированных рядов I, II, III

№ соед.	R ₁	R ₂	МПК, мкг/мл	
			St. Aureus ATCC 6538P	E. coli ATCC 25922
1	2	3	4	5
Ia	H	3-F	500	500
Iб	H	2-NO ₂	1000	1000
Iв	2-CH ₃	4-NO ₂	1000	1000
Iг	2-CH ₃	2-Cl	500	1000
Iд	2-CH ₃	2-F	1000	1000
Iе	2-CH ₃	3-F	500	1000
Iи	2,4-(CH ₃) ₂	2-Cl	1000	1000
Iк	2-CH ₃ O	2-Cl	1000	1000
Iл	2-CH ₃ O	2-F	500	500
Iм	2-CH ₃ O	3-F	500	1000
Iн	2-Cl	C ₆ H ₅	500	500
Iо	2-Cl	2-Cl	500	1000
Iп	2-Cl	4-Cl	1000	1000
Iр	2-Cl	3-NO ₂	1000	1000
Iс	2-Cl	4-CH ₃	н/а	1000
Iт	2-Cl	4-CH ₃ O	500	1000
IIб	H	4-ClC ₆ H ₄	500	1000
IIв	H	3-CH ₃ OC ₆ H ₄	1000	1000
IIг	H	4-FC ₆ H ₄	1000	1000
IIд	H	4-NO ₂ C ₆ H ₄	1000	1000
IIж	H	3-NO ₂ C ₆ H ₄	500	1000
IIз	H	4-C ₂ H ₅ OC ₆ H ₄	1000	1000
IIк	2-CH ₃	C ₆ H ₅	500	500
IIл	2-CH ₃	2-ClC ₆ H ₄	500	1000
IIм	2-Cl	C ₆ H ₅	500	1000
IIн	2-Cl	2-ClC ₆ H ₄	500	1000
IIо	2-Cl	3-NO ₂ C ₆ H ₄	1000	1000
IIа	H	C ₆ H ₅	500	н/а
IIIб	H	3-NO₂C₆H₄	125	250
IIIв	H	2-ClC ₆ H ₄	250	1000
IIIг	H	2,5-(CH₃O)₂C₆H₃	125	250
IIIд	H	3-C ₅ H ₄ N	250	250
IIIк	2-CH ₃	4-НОС ₆ H ₄	500	500
IIIл	2-CH ₃	2-ClC ₆ H ₄	500	250
Диоксидин			500	31
Хлорамин Б			500	250

Из полученных данных следует, что антибактериальная активность у некоторых представителей N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидро-пиримидин-5-карбоксамидов (соединения IIIг и IIIк) в отношении штаммов St. Aureus и E. coli. практически на одном уровне с эталоном (хлорамин Б), что, по-видимому, объясняется присутствием в структуре полученных соединений нитрогруппы или диметоксигрупп при наличии цианогруппы.

Таблица 2 – Антибактериальная активность соединений IVa-з

№	R	МПК, мкг/мл	
		St. Aureus ATCC 6538P	E. coli ATCC 25922
1	2	3	4
IVa	H	1000	1000
IVб	4-(CH ₃) ₃ C	1000	1000
IVв	2,4-(CH ₃ O) ₂	500	1000
IVг	4-F	500	500
IVд	3-NO ₂	500	1000
IVе	2-NO ₂	500	1000
IVж	3-CH ₃ O	1000	1000
IVз	4-Cl	500	1000
Диоксидин		500	31

Анализ полученных результатов показал, что эффективность диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов в отношении штаммов St. Aureus на уровне препарата сравнения, а в отношении штамма E. Coli менее эффективны, чем эталон.

5.2 Противогрибковая активность

Синтезированные соединения Биджинелли были исследованы на противогрибковую активность (таблица 3). Исследование проводили при участии к.х.н., доцента Ворониной Э.В. и к.ф.н. Томилова М.В. на кафедре микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Таблица 3 – Противогрибковая активность синтезированных соединений.

№ соед.	R ₁	R ₂	МПК, мкг/мл
			C.albicans ATCC 885-653
1	2	3	4
Ia	H	3-F	500
Iб	H	2-NO ₂	500
Iв	2-CH ₃	4-NO ₂	1000
Iд	2-CH ₃	2-F	1000
Iж	2-CH ₃	4-HO-3-C ₂ H ₅ O	1000
Iз	2-CH ₃	2,5-(CH ₃ O) ₂	1000
Io	2-Cl	2-Cl	1000
IIб	H	4-ClC ₆ H ₄	125
IIв	H	3-CH ₃ OC ₆ H ₄	250
IIг	H	4-FC ₆ H ₄	250
IIд	H	4-NO ₂ C ₆ H ₄	250
IIе	H	3-C₅H₄N	31,25
IIж	H	3-NO ₂ C ₆ H ₄	125
IIз	H	4-C ₂ H ₅ OC ₆ H ₄	500
IIи	H	2,4-Cl ₂ C ₆ H ₃	250
IIк	2-CH ₃	H	1000
IIл	2-CH ₃	2-ClC ₆ H ₄	500
IIм	2-Cl	C ₆ H ₅	500
IIн	2-Cl	2-ClC ₆ H ₄	500

По	2-Cl	3-NO ₂ C ₆ H ₄	500
Ша	H	C ₆ H ₅	n/a
Шв	H	2-ClC ₆ H ₄	1000
Флуконазол			8-32

По итогам анализа на противогрибковую активность можно заключить, что соединение II е является перспективным для дальнейшего исследования, так как его активность сравнима с эталоном. Более высокая противогрибковая активность соединения II е, по-видимому, объясняется присутствием в структуре пиридинового цикла.

5.3 Противовоспалительная активность

Оценке противовоспалительной активности были подвержены 5 из полученных соединений (таблица 4). Исследование проводили при участии к.м.н., доцента Рудаковой И.П. на кафедре физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Испытуемые соединения вводили в дозе 50 мг/кг.

Таблица 4 – Противовоспалительная активность II и, II к, II е, II ж, II д

Соединение	Прирост объема стопы, %	Торможение реакции, %	P
1	2	3	4
II и	50,3 ± 13,4	54,1	p < 0,01
II к	43,1 ± 2,8	59,5	p < 0,01
II е	36,8 ± 8,4	66,4	p < 0,01
II ж	22,7 ± 1,7	78,7	p < 0,01
II д	35,7 ± 5,9	66,4	p < 0,01
Нимесулид	33,9 ± 6,8	68,1	p < 0,001
Контроль	109,5 ± 4,7	-	-

Проведенные исследования среди полученных тетрагидропиримидинов (II и, II к, II е, II ж, II д) показали наличие противовоспалительной активности. Некоторые соединения обладают активностью, близкой к эталону, а соединение II ж обладает более выраженным противовоспалительным эффектом, чем препарат сравнения. Высокая активность соединений II ж и II д, вероятно, связана с наличием цианогруппы в структуре, а в случае соединения II е – с присутствием пиридинового цикла.

5.4 Анальгетическая активность

Наиболее перспективное соединение II е было испытано на анальгетическую активность (таблица 5). Исследование проводили при участии к.м.н., доцента Рудаковой И.П. на кафедре физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России. Испытуемое соединение вводили в дозе 50 мг/кг.

Таблица 5 – Анальгетическая активность соединения II е

Соединение	Количество корчей	Уменьшение корчей, %	P
1	2	3	4
II е	21,8 ± 9,3	28,7	> 0,05
Метамизол натрия	16,8 ± 3,5	47,7	< 0,001
Контроль	30,6 ± 2,2	-	-

Результаты исследования показали, что 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид (Пе) проявляет слабую активность, уступающую активности метамизола натрия.

5.5 Острая токсичность.

Препараты-эталон при исследовании противогрибковой активности (флуконазол), противовоспалительной активности (нимесулид) и исследуемое соединение Пе были проанализированы на острую токсичность (таблица 6). Исследование проводили при участии к.м.н., доцента Рудаковой И.П. и ассистента Аликиной Н.В. на кафедре физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Таблица 6 – Острая токсичность соединения Пе, флуконазола и нимесулида

Соединение	ЛД ₅₀ , мг/кг	Способ введения	Класс опасности
1	2	3	4
Пе	5640	Внутрибрюшинно	5
Флуконазол	1780	Внутрибрюшинно	4
Нимесулид	1500	Внутрибрюшинно	4

Полученный 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид (Пе) является малотоксичным соединением.

ГЛАВА 6 Разработка методик оценки качества 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида

Проведенные исследования соединения Пе показали низкую острую токсичность и наличие противогрибковой в отношении *S. albicans* и противовоспалительной активностей *in vivo*, таким образом данное вещество можно рекомендовать для проведения дальнейших фармакологических исследований. Для более детальных и глубоких тестов требуется разработка методов стандартизации субстанции фармакопейного качества. Исследование проводили при участии к.ф.н., доцента Карпенко Ю.Н. и д.ф.н., профессора Малковой Т.Л. на базе РИЦ «Фарматест».

6.1 Получение стандартизированных образцов субстанции 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида

Рабочий стандартный образец был получен трехкратной перекристаллизацией соединения Пе из этанола. Подлинность стандартного образца определяется по характерным спектрам ЯМР ¹H, ¹³C и масс (таблица 7). Температура плавления вещества составляет T_{пл} = 243-245 °C (капиллярный метод по ГФ XIII ч.1 ОФС.1.2.1.0011.15).

Таблица 7 – Данные ЯМР ¹H, ЯМР ¹³C, масс-спектров соединения Пе

ЯМР ¹ H, δ, м.д.	2.17 (3H, с, 4-CH ₃); 3.06 (3H, с, 3-CH ₃); 5.28 (1H, д, CH, J _{1,6} = 1.8 Гц); 6.91-7.56 (9H, м, C ₆ H ₅ , C ₆ H ₄ N); 7.66 (1H, д, NH-1, J _{1,6} = 1.8 Гц); 9.68 (1H, с, NHамид).
ЯМР ¹³ C, δ, м.д.	165,5; 153,2; 148,5; 147,7; 139,8; 138,9; 138,6; 133,9; 128,5; 123,6; 123,3; 119,6; 108,3; 52,07; 29,29; 16,62.
Масс-спектр, m/z	322,2; 307,2; 230,2; 202,2; 187,2; 151,0; 133,0; 93,2; 77,0; 56,2

6.2 Установление подлинности субстанции 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида

Подлинность субстанции можно устанавливать с применением спектрометрии в инфракрасной области и спектрофотометрии в ультрафиолетовой области. Электронные спектры растворов в этиловом спирте 95% в количестве 25 мкг/мл характеризуются наличием трех максимумов поглощения в диапазоне длин волн 200÷400 нм при длинах волн 208 ± 2 нм 262 ± 2 нм и 290 ± 2 нм. Соотношение D_{262}/D_{290} составляет 1,20-1,24.

Сопоставление ИК спектров следует начинать с анализа характерных полос. В ИК спектрах 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида (Пе) наблюдаются полосы поглощения C=C в области 1644 см^{-1} , амидной группы 1696 см^{-1} , C=O – 1704 см^{-1} , а также NH связи при 3304 см^{-1} . Полное совпадение полос поглощения в рабочем и стандартном ИК спектрах 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида свидетельствует об идентичности веществ.

6.3 Определение родственных примесей субстанции 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида

Основными потенциальными примесями в субстанции соединения Пе являются исходные компоненты реакции: ацетоацетанилид, 3-пиридин-карбоксальдегид и N-метилмочевина.

Для выбора оптимальных длин волн детектирования в режиме обзорного элюирования были сняты УФ спектры соединения Пе и его специфической примеси ацетоацетанилида. В качестве аналитических длин волн детектирования для исследуемого вещества Пе была выбрана длина волны 210 нм, для ацетоацетанилида – 242 нм.

Хорошая растворимость ацетоацетанилида в полярных растворителях и способность к поглощению в УФ-области спектра, делает возможным ее определение методом обращено-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием.

Было установлено, что оптимальными для наилучшего разделения соединения Пе и его примесей являются следующие условия:

- подвижная фаза: фосфатный буфер (рН 7 среды) – ацетонитрил (50-50);
- режим элюирования – изократический;
- температура термостата колонки – 40°C ;
- скорость потока подвижной фазы – 1,0 мл/мин.
- длина волны детектирования – 210 нм (для Пе), 242 нм (для примеси).

В таблице 8 приведены хроматографические параметры разделенных веществ, которые соответствуют критериям приемлемости.

Таблица 8 – Хроматографические параметры веществ

Соединение	Время удерживания, мин.	Коэффициент разделения	Коэффициент асимметрии пика	Воспроизводимость
1	2	3	4	5
Ацетоацетанилид	4,34	0	1,18	0,36

Неидентифицированная примесь	4,82	2,77	1,20	0,29
Неидентифицированная примесь	5,61	4,38	1,28	0,98
Соединение Пе	7,55	8,85	1,10	1,06
		Критерии приемлемости		
		Более 2	0,8 – 1,5	Менее 5

Анализ «холостой» хроматограммы (растворителя образца) показал отсутствие мешающих посторонних пиков на месте выхода соединения Пе и его примесей, что свидетельствует о специфичности методики.

Данные условия были положены в основу методики количественного определения примеси ацетоацетанилида в субстанции соединения Пе.

Методика определения примесей: 0,050 г субстанции Пе помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл метанола, доводят объем колбы метанолом до метки и перемешивают. Концентрация Пе в анализируемом растворе составляет 0,001 г/мл (1000 мкг/мл). Раствор хроматографируют не менее 3 раз.

Линейность методики определяли на шести уровнях концентраций ацетоацетанилида: 0,025; 0,050; 0,1; 0,125; 0,25; 0,5 % от содержания в основном веществе – субстанции Пе. Уравнение калибровочного графика количественного определения имеет вид $S = 1277876 \times C$. Коэффициент корреляции составил более 0.9999, что свидетельствует о линейности методики в изучаемом диапазоне.

Правильность и прецизионность (сходимость) методики оценивали на модельных растворах с содержанием ацетоацетанилида на уровне 0,05%; 0,1%; 0,25% от концентрации соединения Пе. Данные о валидационной оценке методики представлены в таблице 9. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 10%, что свидетельствует об удовлетворительной сходимости. Границы открываемости не выходят за пределы 75 – 125%, рекомендованные при определении примесей с содержанием до 1%.

Таблица 9 – Оценка сходимости и правильности методики количественного определения ацетоацетанилида методом ВЭЖХ

Содержание примеси в модельной смеси, мкг/мл	Найденное содержание, мкг/мл	Открываемость, R %	Метрологические характеристики (n=6)			
			Rcp. %	SD	RSD	ΔR_{cp} , %
1	2	3	4	5	6	7
0,5 (0,05%)	0,42; 0,51; 0,46; 0,48; 0,53; 0,44	84; 102; 92; 96; 106; 88	94,67	8,36	8,83	8,77
1 (0,1%)	1,05; 0,95; 0,89; 0,91; 1,12; 0,94	105; 95; 89; 91; 112; 94	97,67	8,94	9,15	9,38
2,5 (0,25%)	2,40; 2,57; 2,31; 2,49; 2,58; 2,29	96,0; 102,8; 92,4; 99,6; 103,2; 91,6	97,60	5,06	5,18	5,22

6.4 Количественное определение субстанции 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида

Метод ВЭЖХ

Для количественного определения соединения Пе в субстанции и лекарственных формах нами предложен метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в условиях, описанных в п.5.3.

Приготовление испытуемого раствора: 0,050 г субстанции Пе помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл метанола, доводят объем колбы метанолом до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем колбы подвижной фазой и перемешивают.

Приготовление стандартного раствора: 0,050 г стандартного образца Пе (п. 5.1.) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 20 мл метанола, доводят объем колбы метанолом до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем колбы подвижной фазой и перемешивают.

Для установления линейности методики были проанализированы стандартные растворы соединения Пе в диапазоне концентраций от 10 до 350 мкг/мл. Уравнение калибровочного графика количественного определения имеет вид $S = 51972,41 \times C$, а коэффициент корреляции – 0,9989500. Коэффициент корреляции составил более 0,99, что свидетельствует о линейности методики в изучаемом диапазоне.

Правильность и прецизионность (сходимость) методики оценивали на модельных растворах с содержанием стандартного образца на уровне 80%; 100%; 120 %. Данные о валидационной оценке методики представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Оценка сходимости и правильности методики количественного определения субстанции Пе методом ВЭЖХ

Содержание в модельной смеси, мкг/мл	Найденное содержание, мкг/мл	Открываемость, R %	Метрологические характеристики (n=6)			
			R ср., %	SD	RSD	$\Delta R_{ср}$, %
1	2	3	4	5	6	7
160 (80 %)	159; 162; 158; 159; 161; 160	99,38; 101,25; 98,75; 99,38; 100,63; 100,00	99,90	0,92	0,92	0,97
200 (100 %)	198; 201; 199; 202; 198; 201	99,00; 100,5; 99,5; 101,0; 99,0; 100,5	99,92	0,86	0,86	0,90
240 (120 %)	239; 238; 238; 242; 239; 241	99,58; 99,17; 99,17; 100,83; 99,58; 100,42	99,79	0,68	0,68	0,71

Установлено, что результаты количественного определения при использовании разработанной методики хорошо воспроизводимы в условиях повторяемости (RSD менее 1%). Границы открываемости с учетом

доверительных интервалов не выходят за пределы 99,0 – 101,0%, что свидетельствует об отсутствии значимой систематической ошибки.

Спектрофотометрия в УФ области спектра

Количественное определение проводили по удельному показателю поглощения найденному в субстанции 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида (Пе), полученной трехкратной перекристаллизацией из этанола до постоянной температуры плавления и оптической плотности раствора.

Приготовление испытуемого раствора: 0,08 г субстанции Пе помещают в колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл 95% спирта этилового, доводят объем колбы 95% спиртом этиловым до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр отбрасывая первые порции фильтрата. 1 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора 95% спирта этилового до метки и перемешивают.

Электронный спектр раствора в этиловом спирте 95% в количестве 20 мкг/мл характеризуются наличием трех максимумов поглощения в диапазоне длин волн 200÷400 нм при длинах волн 208±2 нм 262±2 нм и 290±2 нм. При длине волны 208±2 нм определили оптическую плотность полученного раствора субстанции Пе, D=0,792.

Линейность методики определяли в диапазоне концентраций субстанции Пе: 12; 14; 16; 18; 20; 22 мкг/мл. Уравнение калибровочного графика количественного определения имеет вид $y = 0,0801x - 0,0823$, а коэффициент корреляции – 0,9974. Коэффициент корреляции составил более 0,99, что свидетельствует о линейности методики в изучаемом диапазоне.

Правильность и прецизионность (сходимость) методики оценивали на модельных растворах с содержанием стандартного образца на уровне 80%; 100%; 120 %. Данные о валидационной оценке методики представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Оценка сходимости и правильности методики количественного определения субстанции Пе методом спектрофотометрии в УФ области

Содержание в модельной смеси, мкг/мл	Найденное содержание, мкг/мл	Открываемость, R %	Метрологические характеристики (n=6)			
			Rcp, %	SD	RSD	ΔRcp, %
1	2	3	4	5	6	7
64 (80%)	63,75; 62,91; 63,56; 64,32; 64,49; 63,84	99,61; 98,30; 99,32; 100,5; 100,77; 99,75	99,71	0,89	0,89	0,93
80 (100%)	80,88; 79,91; 79,64; 79,22; 79,19; 80,54	101,1; 99,89; 99,55; 99,1; 98,99; 100,68	99,88	0,87	0,87	0,91
96 (120%)	95,11; 96,79; 96,38; 94,97; 95,41; 96,54	99,08; 100,83; 100,4; 98,93; 99,39; 100,57	99,87	0,83	0,83	0,87

Установлено, что результаты количественного определения при использовании разработанной методики хорошо воспроизводимы в условиях повторяемости (RSD менее 1%). Границы открываемости с учетом доверительных интервалов не выходят за пределы 99,0 – 101,0%, что свидетельствует об отсутствии значимой систематической ошибки.

Заключение

1. Установлено, что взаимодействие замещенных ацетоацетанилидов, со смесью ароматических альдегидов и мочевины приводит к N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидам.
2. В результате замены мочевины на N-метилмочевину в трехкомпонентной реакции Биджинелли образуются N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамиды.
3. При введении дициандиамида как аналога мочевины в конденсацию Биджинелли конечным продуктом являются N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамиды.
4. При использовании натриевой соли диэтилоксалилацетата как β -дикарбонильного компонента в реакции Биджинелли были получены известные диэтил 6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилаты и изучена их антибактериальная активность.
5. При использовании гуанидина и N-аминогуанидина вместо мочевины в реакции Биджинелли образуются производные 2-циклогексен-1,3-дикарбоксамида.
6. Рекомендуется устанавливать подлинность 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида методами: ИК спектрометрией и УФ спектрофотометрией, количественное определение и определение родственных примесей следует проводить методом ВЭЖХ.
7. Проведен фармакологический скрининг полученных соединений на наличие антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной, анальгетической активности и острой токсичности. Выявлены закономерности биологической активности от строения соединений.

Рекомендации

Соединение 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид (IIe) рекомендуется для углубленных исследований с целью дальнейшего изучения в качестве противогрибкового и противовоспалительного средства.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Синтез и противомикробная активность N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов / В. Л. Гейн, А. Ю. Федотов, Т. М. Замараева [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – Т. 46, № 12. – С. 24-26.
2. Трехкомпонентный синтез N,2-хлорфенил-6-арил-4-метил-2-тиоксо(оксо)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамидов / Т. М. Замараева, В. Л. Гейн, И. В. Холкин [и др.] // Сборник материалов конференции (тезисы докладов) Всероссийская конференция с

международным участием «Современные проблемы химической науки и образования». — Чебоксары : 2012. - С.77-78.

3. Противогрибковая активность N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / Т. М. Замараева, А. А. Бобылева, В. Л. Гейн [и др.] // Сборник тезисов 1 международной интернет-конференции молодых ученых и студентов «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» — Запорожье : 2012. — С. 104

4. Синтез и изучение противомикробной активности N-замещённых-6-арил-4-метил-2-тиоксо(оксо)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / И. В. Холкин, А. Ю. Федотов, В. Л. Гейн [и др.] // Сборник научных трудов Пятигорской государственной фармацевтической академии. — Пятигорск : 2012. — С. 286-287.

5. Синтез диарилзамещённых 3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / В. Л. Гейн, А. Ю. Федотов, Т. М. Замараева [и др.] // Журнал общей химии. — 2013. — Т. 83, № 4. — С. 701-702.

6. Синтез и противомикробная активность 6-арил-3,4-диметил-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / Т. М. Замараева, Т. Ф. Одегова, А. Ю. Федотов [и др.] // Журнал общей химии. — 2014. — Т. 84, № 10. — С. 1672-1675.

7. Синтез и противогрибковая активность в отношении штамма *Candida albicans* 6-арил-3,4-диметил-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / Т. М. Замараева, Т. Ф. Одегова, А. Ю. Федотов [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. — 2015. — Т. 49, № 8. — С. 16-17.

8. Синтез N,6-диарил-2-имино-4-метил-3-циано-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / В. Л. Гейн, Т. М. Замараева, Н. А. Бузмакова [и др.] // Журнал общей химии. — 2015. — Т. 85, № 6. — С. 1046-1049.

9. Синтез, строение и изучение противомикробной активности N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов / В. Л. Гейн, Т. М. Замараева, А. Ю. Федотов [и др.] // Журнал общей химии. — 2016. — Т. 86, № 6. — С. 1794-1798.

10. Синтез и противомикробная активность диэтил-6-арил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-4,5-дикарбоксилатов / А. Ю. Федотов, Т. М. Замараева, Е. С. Волкова [и др.] // Вестник Пермской государственной фармацевтической академии. — Пермь : 2017. — № 19. — С. 138-140.

11. Пат. 2649141 Рос. Федерация. 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамид, проявляющий противогрибковое действие в отношении штамма *Candida albicans* / В. Л. Гейн, Т. Ф. Одегова, Т. М. Замараева [и др.] ; заявитель и патентообладатель ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России. — № 2015114858 ; заявл. 20.04.15 ; опубл. 30.03.2018, Бюл. № 10. — 6 с.

Федотов Андрей Юрьевич (Россия)

Синтез и биологическая активность N,6-диарил-4-метил-2-оксо(цианоимино)-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов

Осуществлен синтез ранее не описанных соединений ряда N,6-диарил-4-метил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов, N,6-диарил-3,4-диметил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов и N,6-диарил-4-метил-2-цианоимино-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксаминов.

Проведено изучение антибактериальной, противогрибковой, противовоспалительной, анальгетической активности в сравнении с препаратами эталонами, используемыми в клинической практике. Исследована острая токсичность. Впервые разработаны методики оценки качества наиболее перспективного соединения 3,4-диметил-6-(3-пиридил)-N-фенил-2-оксо-1,2,3,6-тетрагидропиримидин-5-карбоксамида с использованием современных инструментальных методов.

Fedotov Andrey (Russia)

Synthesis and biological activity of N,6-diaryl-4-methyl-2-oxo(cyanoimino)-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides

Carried out the synthesis of previously non described compounds of the N,6-diaryl-4-methyl-2-oxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamide, N,6-diaryl-3,4-dimethyl-2-oxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides and N,6-diaryl-4-methyl-2-cyanoimino-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamides series.

Carried out the study of antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, analgesic activity in comparison with drug standards, used in clinical practice. Acute toxicity was investigated. The methods for assessing the quality of the most promising compound 3,4-dimethyl-6-(3-pyridyl)-N-phenyl-2-oxo-1,2,3,6-tetrahydropyrimidine-5-carboxamide were first developed using modern instrumental methods.