

УДК 615.282.84:616-002.828:547.785.5

О. О. ЗАВАДА¹, О. В. БОРИСОВ², О. М. ЩЕРБАК³,І. О. ЖУРАВЕЛЬ¹, С. М. КОВАЛЕНКО¹¹Національний фармацевтичний університет, Україна, м. Харків²Інститут Органічної хімії, НАН України, м. Київ³ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова АМН України»

СИНТЕЗ ТА ВИВЧЕННЯ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-А]ПІРИМІДИНУ ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ ПРОТИГРИБКОВИХ ЗАСОБІВ

У статті викладено відомості про грибові захворювання (мікози), які викликані грибами роду *Candida*. Описано методики синтезу похідних імідазо[1,2-а]піримідину, а також вивчена антикандидозна активність синтезованих речовин.

Ключові слова: імідазо[1,2-а]піримідин, кандидоз, протигрибкові засоби.

ВСТУП

Останніми роками спостерігається значне зростання грибкових інфекційних захворювань, серед них значну частину становить кандидоз, збудниками якого є гриби роду *Candida*. На сьогодні кандидоз – найбільш часта етіологічна причина важких інвазивних мікозів. Провідна роль серед існуючих терапевтичних підходів до лікування інфекційних захворювань належить антибактеріальним хіміопрепаратам. Однак слід зазначити, що номенклатура засобів протигрибової терапії вимагає постійного оновлення, що обумовлено, у першу чергу, появою та швидким розповсюдженням резистентних штамів мікроорганізмів.

Аналіз літератури показав, що в даний час у клінічній практиці існують кілька груп протигрибових препаратів [1-2], як природного походження, так і отриманих синтетичним шляхом. Найбільш специфічними препаратами є група синтетичних антимікотиків – похідних азолів, перевага яких обумовлена їх безпосереднім впливом на клітину гриба, її структуру і метаболізм. Механізм дії азолів ґрунтується на порушенні біосинтезу ліпідів, які необхідні для утворення клітинної мембрани, що, у свою чергу, пригнічує процес реплікації грибів. Препарати цієї групи мають широкий спектр дії, проявляють переважно фунгістатичний ефект.

Дослідження ситуації, що склалася сьогодні на ринку фармацевтичної продукції, свідчать, що протигрибкові препарати займають сегмент, що змінюється найдинамічніше. У всьому світі в останні десятиріччя серйозною проблемою стала стійкість збудників мікозів до лікарських засобів, мікроорганізми безперервно еволюціонують, в результаті мутацій з'являються стійкі або нові штами. У зв'язку з цим актуальним стає питання вдосконалення існуючих лікарських засобів і пошук нових синтетичних антимікотиків.

З метою пошуку потенційних біологічно активних речовин, що мають фунгіцидну і фунгістатичну дію, в даній роботі був здійснений цілеспрямований синтез нових похідних імідазо[1,2-а]піримідину та вивчена антикандидозна активність отриманих сполук.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Синтез нових похідних імідазо[1,2-а]піримідину здійснено на базі лабораторії органічного синтезу Національного фармацевтичного університету (м. Харків).

Розглянуто два підходи до побудови імідазо[1,2-а]піримідинової системи та проведення реакції заміщення по імідазольному циклу.

Вивчення протигрибової активності синтезованих речовин проводили на базі лабораторії протимікробних засобів ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова АМН України» (м. Харків). Як тест-культуру використовували такі дріжджеподібні гриби: *C. albicans* ATCC

© Колектив авторів, 2013

885-65, *C. albicans* Склад-3, *C. albicans* Склад-20, *C. pseudotropicalis* ВКГТГу 601/3, *C. parapsilosis* ВКГТГу 488/10, які були надані філією музею мікроорганізмів. Антикандидозну активність досліджуваних речовин визначали методом серійних розведень на рідкому живильному середовищі Сабуро (рН 7,0). Досліджувані речовини розчиняли в ДМФА в діапазоні концентрацій 7,8-125,0 мкг/мл. Для культивування кожного з досліджуваних мікроорганізмів використовували середовище Сабуро з мікробним навантаженням $5 \cdot 10^5$ мікробних одиниць.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами з використанням комп'ютерних програм «Statistica for Windows 7.0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

У сучасній медичній хімії для одержання сполук, які мають певний вид біологічної активності та задовольняють суворим вимогам, що висуваються до лікарських субстанцій, використовують різні підходи: спрямовану структурну модифікацію фізіологічно активних речовин, поєднання в одній молекулі декількох фармакофорів, застосування методів віртуальної хімії.

Оптимальним шляхом синтезу похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину, на наш погляд, є використання реакції відповідних 2-амінодіазинів з α -галогенокарбонільними сполуками або їх аце-

талями[3-9], що пов'язано з доступністю вихідних реагентів. Так синтез вихідного імідазо[1,2-*a*]піримідину **1**, здійснювали циклізацією 2-амінопіримідину **2** з хлороцтовим альдегідом (метод А), та зустрічним синтезом реакцією 2-аміноімідазолу **3** з 1,1,3,3-тетраметоксипропаном (метод Б). Формування піримідинового циклу на основі 2-аміноімідазолу **3** (метод Б) відбувається з більш високим виходом і не вимагає хроматографічного очищення цільового продукту.

Цільовий 3-(трифлуороацетил)-імідазо[1,2-*a*]піримідин **4** було отримано в ході взаємодії імідазо[1,2-*a*]піримідину **1** з трифлуорооцтовим ангідридом в атмосфері аргону. Синтез 3-(2,2,2-трихлоро-1-гідроксиетил)-імідазо[1,2-*a*]піримідину **5** здійснювали за реакцією сполуки **1** з хлоралем у концентрованій оцтовій кислоті (схема 1).

У таблиці 1 представлені основні характеристики синтезованих похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину. Структура отриманих сполук доведена спектральними методами аналізу (табл. 2).

Протигрибкову активність синтезованих речовин оцінювали стандартним мікробіологічним методом дворазових серійних розведень у рідкому живильному середовищі (таблиця 3).

У таблиці 3 представлені результати досліджень з впливу зазначених сполук на штами мікроорганізмів. Як препарат порівняння використовували флуконазол, розчинник ДМФА і фізіологічний розчин з відповідними мікроор-

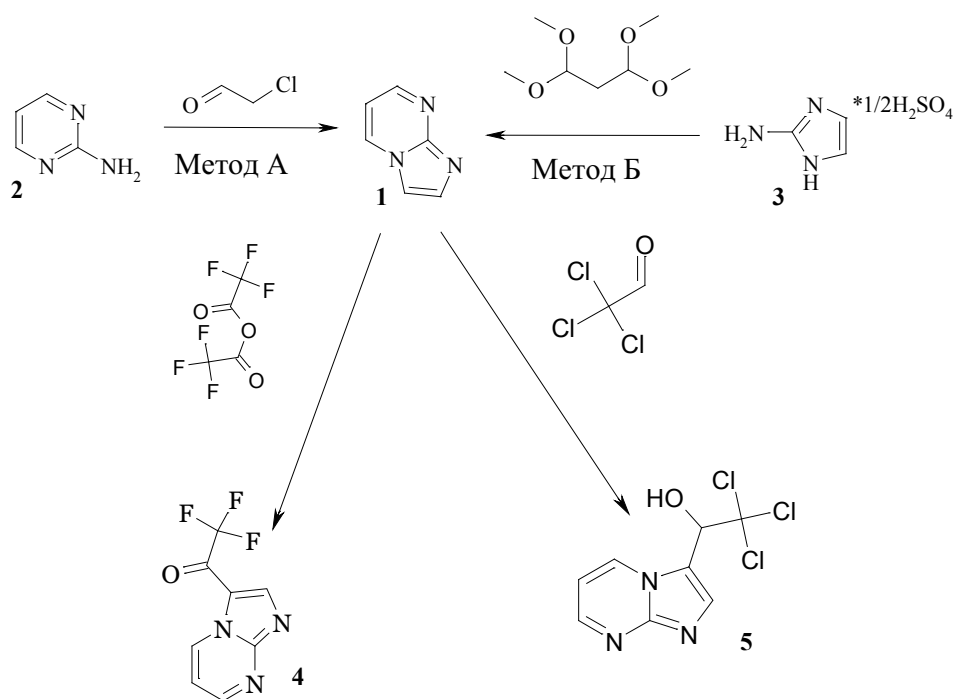


Схема 1. Синтез похідних імідазо[1,2-*a*]піримідину

Таблиця 1

ОСНОВНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-А]ПІРИМІДИНУ

Сполука	Брутто-формула	М. м	N,% розр./експ.	Вихід, %	Т пл., °С
1	C ₆ H ₅ N ₃	119,13	35,27/35,31	92	130-132
4	C ₈ H ₄ F ₃ N ₃ O	215,14	19,53/19,55	67	162-164
5	C ₈ H ₆ Cl ₃ N ₃ O	266,52	15,77/15,76	95	168-170

Таблиця 2

СПЕКТРАЛЬНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-А]ПІРИМІДИНУ

Сполука	Спектральні дані ¹ H-ЯМР (500 МГц, DMSO-d ₆), δ, м.д. (J, Гц)
1	7.05 (1H, дд, J = 6.5, 4.0, піримідин Н-6); 7.74 (1H, с, імідазол Н-3); 7.93 (с, 1H, імідазол Н-2); 8.60 – 8.47 (1H, м, примідин Н-5); 9.00 (1H, дд, J = 6.6, 1.1 Hz, піримідин Н-7)
4	7.60 (1H, дд, J = 6.6, 4.2 Hz, піримідин Н-6), 8.90 (1H, с, імідазол Н-2), 9.04 – 8.96-9.01 (1H, м, піримідин Н-5), 9.74-9.80 (1H, м, піримідин Н-7)
5	5.95 (1H, с, СН)) 7.23 (1H, м, піримідин Н-6), 7.81 (1H, уш. с, ОН) 7.95(1H, с, імідазол Н-2) 8.62 (1H, с, піримідин Н-5) 9.29 (1H, с, піримідин Н-7)

Таблиця 3

ВИВЧЕННЯ АНТИКАНДИДОЗНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ ІМІДАЗО[1,2-А]ПІРИМІДИНУ

Штам мікроорганізму	Сполука 4		Сполука 5		Флуконазол	
	МФетК	МФцК	МФетК	МФцК	МФетК	МФцК
1 <i>C. albicans</i> ATCC 885-653	31,25	62,5	62,5	62,5	15,6	62,5
2 <i>C. albicans</i> Скляр-31	62,5	125,0	62,5	125,0	62,5	62,5
3 <i>C. albicans</i> Скляр-20	31,25	62,5	62,5	125,0	62,5	125,0
4 <i>C.pseudotropicalis</i> ВКГТГу 601/33	62,5	>125,0	62,5	>125,0	62,5	125,0
5 <i>C. parapsilosis</i> ВКГТГу 488/10	62,5	125,0	125,0	125,0	125,0	125,0

Примітки: МФетК — мінімальна фунгістатична концентрація; МФцК — мінімальна фунгіцидна концентрація

ганізмами при такому ж мікробному навантаженні. Зазначена методика дозволяє одночасно визначати мінімальні фунгістатичну і фунгіцидну концентрації.

Результати дослідження вказали на наявність чутливості дріжджеподібних грибів роду *Candida* до похідних імідазо[1,2-а]піримідину. Було встановлено, що 3-(трифлуороацетил)-імідазо[1,2-а]піримідин **4** і 3-(2,2,2-трихлоро-1-гідроксиетил)-імідазо[1,2-а]піримідин **5** проявляють виражену протигрибкову дію. Речовина **4** проявила активність до штамів *C. albicans* Скляр-20 і *C. parapsilosis* ВКГТГу 488/10, а речовина **5** показала фунгіцидну дію на рівні препарату порівняння.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено та доведено до препаративних методик нові модифікації синтезу похідних імідазо[1,2-а]піримідину.
2. Вивчена антикандидозна активність синтезованих речовин. Встановлено, що речовина **4** проявила високу активність до штамів дріжджеподібних грибів роду *Candida* та проявляє виражену протигрибкову дію, а речовина **5** показала фунгіцидну дію на рівні препарату порівняння.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Температури плавлення (Т.пл.) визначали на приборі фірми «Buchi» модель В-520. Елементний аналіз (С, Н, N, S) здійснювали на приладі Euro EA-3000 фірми EuroVector.

Спектри ¹H-ЯМР синтезованих речовин записані на приладі «Varian WXR-400, 200» (400, 200 MHz), «Varian Gemini-300» (300 MHz) та «Bruker DRX300» (300, 75 MHz) в DMSO-D₆ або DMSO-D₆ + CCl₄ (1:3), внутрішній стандарт – ТМС. Хімічні зсуви наведено в шкалі δ (м.ч.).

Аналітичну ТПХ проводили на силікагелю на алюмінієвих платівках Silulof UV254 (5 x 15 см) «Kavalier» (Czech. Republic) або на скляних платівках з 0,25 мм шаром силікагелю 60F254 «Merck» (Germany). Системи елюентів для ТПХ: етилацетат – гексан (1:2).

Вихідні сполуки – 2-амінопіримідин і 2-аміноімідазол – реактиви фірми «Enamine LTD». Розчинники – марки «ч» або «хч» вітчизняного виробництва.

Імідазо[1,2-а]піримідин (1) Спосіб А. В 200 мл етанолу розчиняють 47,5 г (0,5 моль) 2-амінопіримідину **2**, в отриманий розчин вносять 100,0 г 50 % розчину хлорацетальдегіду. Реакційну суміш кип'ятять за 110 °С в атмосфері аргону 30 го-

дин. Контроль реакції здійснюють методом ТПХ (елюент: етилацетат; Rf (2) – 0,3; Rf (1) – 0,1). Після закінчення реакції розчинник видаляють у вакуумі, залишок нейтралізують 40 % водним розчином K_2CO_3 . Продукт екстрагують хлороформом (4 по 300 мл), екстракт сушать над K_2CO_3 і концентрують на роторному випарнику до 100 мл. Отриманий розчин хроматографують на воронку Шотта (d=160 мм) через шар силікагелю (150 мм) (елюент: хлороформ-метанол (10 %)). Отриманий осад кристалізують із 100 мл етилацетата. Вихід: 49,0 г (84 %).

Спосіб Б. У колбу поміщають 17,9 г (0,1 моль) сульфату 2-аміноімідазолу 3, 18,0 г (0,1 моль) 1,1,3,3-тетраметоксипропану і 50 мл оцтової кислоти. Отриманий розчин кип'ятять 5 годин при постійному перемішуванні. Після закінчення реакції розчинник видаляють у вакуумі, залишок нейтралізують 20%-ним водним розчином K_2CO_3 (рН ~ 9-10). Продукт екстрагують хлористим метиленом (2 по 100 мл). Екстракт висушують над K_2CO_3 , отриманий розчин упарюють у вакуумі досуха. Вихід 11,1 г (92 %).

3-(трифлуороацетил)-імідазо[1,2-а]піримідин (4) У тригорлу колбу, що обладнана воронкою, газовідвідною трубкою і лічильником бульбашок поміщають 11,9 г (0,1 моль) імідазо[1,2-а]піримідину 1, 11,1 г (0,11 моль) триетиламіну і 200 мл тетрагідрофурану. До реакційної суміші в атмосфері аргону повільно додають 23,1 г (0,11 моль) трифлуороцтового ангідриду, далі колбу нагрівають за 60 °С протягом 5 годин. Після закінчення реакції розчинник видаляють у вакуумі, розчиняють отриманий осад у хлороформі та промивають 3 рази розчином K_2CO_3 . Екстракт сушать над K_2CO_3 і хроматографують на воронку Шотта (d = 160 мм) через шар силікагелю (60 мм) (елюент: хлороформ – етилацетат),

отриманий розчин упарюють у вакуумі насуху. Вихід 14,4 г (67 %).

3-(2,2,2-Трихлоро-1-гідроксиетил)-імідазо[1,2-а]піримідин (5) У колбу поміщають 50 мл оцтової кислоти, 11,9 г (0,1 моль) імідазо[1,2-а]піримідину 1 та 14,7 г (0,1 моль) хлоралю. Реакційну суміш кип'ятять 10-15 хвилин. Після охолодження, осаджують ефіром, отриманий осад фільтрують, промивають ефіром і ацетоном. Вихід 23,8 г (95%).

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Воробьева А. А. Медицинская микробиология и вирусология. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. – 636 с.
2. Климов Н. Н. Микозы: диагностика и лечение. Руководство для врачей / Н. Н. Климов, 2-е изд. перераб. и доп. – М. : Ви Джи Групп, 2008. – 336 с.
3. Hee-Yeon K., Seung-Gak Y., Jung-Han Sh., Chang-Ho L., Hee-Joo K., EP Pat. 1970376 (A1), 17. 09.2008.
4. Krowczynski A., Kozerski L. Heterocycles, 24 (5), 1209 (1986).
5. Rival Y., Grassy G., Taudou A., Ecalle R. European Journal of Medicinal Chemistry, 26 (1), 13 (1991).
6. Abignente E., Sacchi A., Laneri S., Rossi F., D'Amico M. et al., European Journal of Medicinal Chemistry, 29 (4), 279 (1994).
7. Paudler, Kuder, Journal of Organic Chemistry, 31, 809 (1966).
8. Sun C.L., Congxin L., Ping H., Davis H. G., Hui-ping G., US Pat. 2004/220189 (A1), 04.11.2004.
9. De Pompei, Paudler, Journal of Heterocyclic Chemistry, 12, 861 (1975).

УДК 615.282.84:616-002.828:547.785.5

О. А. Завада, А. В. Борисов, О. Н. Щербак, И. А. Журавель, С. Н. Коваленко
СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДАЗО [1,2-А] ПИРИМИДИНА
КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ СРЕДСТВ

В статье изложены данные о грибковых заболеваниях (микозах), которые вызваны дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Описаны методики синтеза производных имидазо[1,2-а]пиримидина, а также изучена антикандидозная активность синтезированных веществ.

Ключевые слова: имидазо[1,2-а]пиримидин, кандидоз, противогрибковые средства

UDC 615.282.84:616-002.828:547.785.5

O. O. Zavada, O. V. Borysov, O. N. Shcherbak, I. O. Zhuravel, S. M. Kovalenko
SYNTHESIS AND STUDY OF DERIVATIVES IMIDAZO [1,2-A] PYRIMIDINE
DERIVATIVES AS POTENTIAL ANTIFUNGAL AGENTS

The article presents data on fungal diseases (mycoses), which are caused by yeast-like fungi of the genus *Candida*. The techniques of synthesis of imidazo[1,2-a]pyrimidine, and the activity was studied antikandidoznaya synthesized substances.

Key words: imidazo[1,2-a]pyrimidine, candidiasis, antifungals

Адреса для листування:
м. Харків, вул. Пушкінська, 53
E-mail: zavadaoksana@mail.ru

Надійшла до редакції:
10.09.2013