



УДК: 615.28:542.951.1:661:185.222.13:547.853.3:547.732

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ 2-АЛКИЛТИО-3-Н-ЗАМЕЩЕННЫХ ТИЕНО[3,2-*d*]ПИРИМИДИН-4(3*H*)-ОНОВ

Е.В. ТКАЧЕНКО
С.В. ВЛАСОВ
И.А. ЖУРАВЕЛЬ
С.Н. КОВАЛЕНКО
В.П. ЧЕРНЫХ

*Национальный
фармацевтический
университет,
г. Харьков, Украина*

E-mail: nauka@ukrfa.kharkov.ua

Было исследовано два подхода к синтезу новых 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов. Путем алкилирования полученных полупродуктов были синтезированы 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(3*H*)-оны и проведен скрининг противомикробной активности полученных веществ. В результате установлено, что все из исследованных соединений активны по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Установлено, что наиболее высоким противомикробным действием по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* обладает соединение, которое содержит втор-бутильный заместитель в положении 3 и *o*-метилбензильный фрагмент при атоме серы в положении 2 тиено[3,2-*d*]пиримидиновой циклической системы.

Ключевые слова: тиюфен, пиримидин, ароматические соединения, амиды, противомикробные средства

Введение.

Эффективным направлением создания новых перспективных молекул для прикладных исследований в фармацевтической, агрохимической и других отраслях остается химическая модификация аналогов природных соединений. Особого внимания заслуживают тиюфеновые аналоги биологически активных метаболитов обмена веществ, поскольку, согласно концепции биоизостеризма, они имеют широкие возможности для проявления разнообразного биологического действия. Кроме того, введение в структуру БАВ атома серы в большинстве случаев приводит к изменению путей биотрансформации соединений, что отражается на их токсичности и изменяет их фармакологический профиль. В литературе имеется лишь несколько ссылок на работы, в которых производные 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов были исследованы как ингибиторы фосфодиэстеразы (PDE) для лечения ряда заболеваний человека, в основном иммунологических нарушений, таких как рассеянный склероз, а также расстройств ЦНС, депрессия, болезнь Альцгеймера [1], как анальгезирующие, противовоспалительные [2] и противогрибковые [3] средства. Поэтому исследования, связанные с разработкой синтетических путей получения и модификации 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4-онов, с изучением их биологических свойств, представляют несомненный научный и практический интерес.

Материалы и методы исследования.

В работе использовались методы органического синтеза, физические и физико-химические методы анализа органических соединений (¹H ЯМР-, хромато-масс-спектрометрия, хроматография в тонком слое сорбента, элементный анализ).

Температуры плавления (Т.пл.) определены на приборе фирмы «Buchi», модель В-520. Элементный анализ (N) осуществляли на приборе Euro EA-3000 фирмы EuroVector.

¹H ЯМР-спектры были записаны на Bruker AMX-400 спектрометре в DMSO -*d*₆ (внутренний стандарт TMS). Химические сдвиги приведены в шкале δ (м.д.).

LC/MS спектр был записан в PE SCIEX API 150EX жидкостном хроматографе, оснащенном УФ-детектором (λmax 215 и 254 нм) и с использованием колонки C18 (100×4 мм). Элюирование началось водой и завершилось смесью ацетонитрил/вода (95:5, V/V), использовался линейный градиент на расход 0,15 мл / мин и анализ цикла 25 мин.

Все растворители и реагенты были получены из коммерческих источников и использовались без очистки. Метиловый эфир 3-аминотиюфен-2-карбоновой кислоты 1 был приобретен в «Sigma-Aldrich» (США).

*Общая методика синтеза 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов.*

1. **Способ А.** Соответствующий изотиоцианат (50 ммоль) медленно добавляли в раствор метилового эфира 3-аминотиюфен-2-карбоновой кислоты **1**. (50 ммоль) в пропанол-2 (30 мл). Смесь нагревали в течение 2-2,5 часов с обратным холодильником. Далее реакцию охлаждали, разбавляли водой и отфильтровывали осадок образовавшейся несимметричной тиомочевины **2**. К смеси тиомочевины **2** и 50 мл 2-пропанола добавляли 50% водный раствор КОН (6 мл) и



нагревали реакцию в течение 2-2,5 часов с обратным холодильником. Смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл), подкисляли уксусной кислотой до нейтральной реакции среды. Сформированный осадок соединения **3** отфильтровывали из горячей реакционной смеси, промывали водой и высушивали. Аналитические образцы получали в результате кристаллизации из смеси пропанол-2/ДФФА с выходом **3**{1-8} – 10-72%.

2. Способ Б. Соответствующий амин (55 ммоль) постепенно добавляли к нагретому раствору **4** (50 ммоль) в пропанол-2 (40 мл) и затем, после перемешивания и охлаждения до комнатной температуры, прибавляли 50% КОН (6 мл). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником 30 минут. Смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл) и подкисляли уксусной кислотой до нейтральной реакции среды. Сформированный отфильтрованный осадок кристаллизовали из смеси этанол/DMF (1:1) с выходом продукта **3**{1-8} – 72-88%.

Общая методика синтеза 2-алкилтио-3-N-алкил/бензилтиено[3,2-d]пиримидин-4(3H)-онов. К раствору 0,5 ммоль соответствующего 3-N-алкил/бензил-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-d]пиримидин-4(1H)-она **3**{5, 7, 8} в диметилформамиде добавляли 1,5 ммоль триэтиламина и необходимое галогенпроизводное (в реакции использовали: бензилхлориды, α-бромацетофеноны, α-хлорацетамиды, хлоруксусную кислоту) (0,6 ммоль). Реакционную массу выдерживали при 60°C и постоянном перемешивании в течение 1-2 часов. Охлаждали до комнатной температуры. Разбавляли водой (30 мл), сформированный отфильтрованный осадок кристаллизовали из смеси этанол/DMF (1:1) с выходом продукта **5**{1-10} – 80-95%.

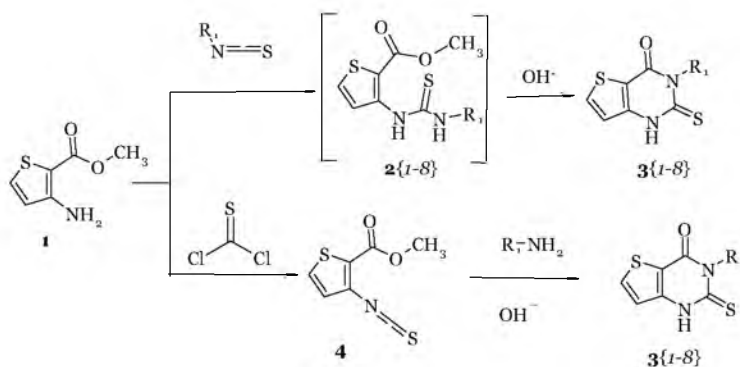
Изучение антимикробной активности. В соответствии с рекомендациями ВОЗ [4, 5] для оценки активности тестируемых соединений использовали тест-штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 653/ 885. Микробная нагрузка составляла 10⁷ микробных клеток на 1 мл среды и устанавливалась по стандарту McFarland. Культуры выдерживали в течение 18-24 часов при 36°C±1°C. Для исследований использовали агар Мюллера-Хинтона (Дагестанский НИИ питательных сред). Соединения вводили методом диффузии в агар (колодцами) в виде раствора в ДМСО в концентрации 100 мкг/мл в объеме 0,3 мл.

Результаты и их обсуждение.

Нами были исследованы два пути синтеза 3-N-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-d]пиримидин-4(1H)-онов. Первый из них базируется на реакции метилового эфира 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты с изотиоцианатами с образованием в качестве интермедиатов N,N'-дизамещенных тиомочевин и их дальнейшей циклизации щелочью. Второй способ – взаимодействие метилового эфира 3-изотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты с рядом алифатических аминов. Оба подхода имеют специфические ограничения, связанные либо с наличием изотиоцианатов, либо реакционной способностью реагентов. В целом, вторая стратегия является более гибкой и удобной для задач медицинской химии: обеспечивает более широкое разнообразие на основе одной базовой структуры.

Согласно первому варианту синтеза (способ А, схема 1) при взаимодействии арилизоцианатов с метиловым эфиром 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты **1** в пропанол-2 в качестве промежуточных соединений образуются N, N'-дизамещенные тиомочевины **2**{1-8}, некоторые из которых были выделены как индивидуальные соединения.

Схема 1



2{1}, **3**{1} R₁ = -C₆H₄-4-Et; **2**{2}, **3**{2} R₁ = -C₆H₄-2,3-diCl; **2**{3}, **3**{3} R₁ = Et; **2**{4}, **3**{4} R₁ = n-butyl; **2**{5}, **3**{5} R₁ = sec-butyl; **2**{6}, **3**{6} R₁ = isobutyl; **2**{7}, **3**{8} R₁ = Bn; **2**{8}, **3**{8} R₁ = 4-Me-C₆H₄CH₂

В ¹H ЯМР-спектрах N,N'-дизамещенных тиомочевин **2**{1-8} зарегистрированы два синглетных сигнала NH-групп в диапазоне δ 10,10-10,52 м.д. и сигналы протонов ароматического



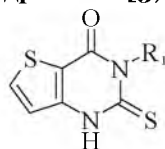
заместителя в области δ 6,90-7,40 м.д. Характерным является положение α-Н (δ 8,40-8,45 м.д.) и β -Н (δ 7,80 м.д.) протонов тиофена.

Тиенилтиомочевины **2**{1-8} при нагревании в щелочной среде циклизуются в соответствующие 3-*N*-замещенные 2-тиоксо-2,3-дигидро[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-оны **3**{1-8} (схема 1, табл. 1). Проведение циклизации без выделения промежуточных тиомочевин позволило повысить выходы реакции до 65-72% в случае использования арилизоотиоцианатов. Следует отметить низкие выходы конечных продуктов **3** в случае использования алкилизоотиоцианатов (около 10 %) по способу А, что можно считать ограничением данного метода при применении его при наработке библиотек.

Альтернативный способ синтеза (способ Б, схема 1) заключается во взаимодействии метилового эфира 3-изоотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты **4** с первичными аминами. Исходный эфир **4** получали обработкой аминоэфира **1** тиофосгеном в двухфазной системе хлороформ – вода при комнатной температуре. Избыток хлороводорода, образовавшегося в реакции, нейтрализовали водным раствором калий карбоната. Полученный метиловый эфир 3-изоотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты **4** использовали в дальнейших синтезах без дополнительной очистки. Образование продукта реакции контролировали методом ТСХ. При кипячении реакционной смеси изоотиоцианата **4** с алифатическими и ароматическими аминами в среде пропанола-2 в присутствии 50% водного раствора КОН получали соответствующие 3-*N*-замещенные 2-тиоксо-2,3-дигидро[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-оны **3**{1-8} (табл. 1).

Таблица 1

**Характеристики
3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидро[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов **3****



№ вещества	R ₁	Молекулярная формула М.м.	N, % Расч./ Эксп.	T _{пл.} , °С	Выход,% Способ А/Б
3{1}	-C ₆ H ₄ -4-Et	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ OS ₂ 288,39	<u>9,71</u> 9,73	216-218	67/80
3{2}	-C ₆ H ₄ -2,3-диCl	C ₁₂ H ₆ Cl ₂ N ₂ OS ₂ 329,23	<u>8,51</u> 8,52	232-234	65/80
3{3}	Et	C ₈ H ₈ N ₂ OS ₂ 212,29	<u>13,20</u> 13,21	156-158	12/72
3{4}	<i>n</i> -butyl	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ OS ₂ 240,35	<u>11,66</u> 11,68	160-162	10/75
3{5}	<i>sec</i> -butyl	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ OS ₂ 240,35	<u>11,66</u> 11,67	174-176	10/80
3{6}	<i>isobutyl</i>	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ OS ₂ 254,38	<u>11,01</u> 11,13	178-180	12/82
3{7}	Bn	C ₁₃ H ₁₀ N ₂ OS ₂ 274,37	<u>10,21</u> 10,22	180-182	12/88
3{8}	4-Me-C ₆ H ₄ CH ₂	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ OS ₂ 288,39	<u>9,71</u> 9,74	184-186	10/85

Способ Б позволяет значительно расширить число синтетически доступных веществ за счет проведения циклизации с участием алкиламинов, уменьшить количество опасных стадий (получение одного изоотиоцианата вместо нескольких) и несколько повысить выходы конечных продуктов (до 65-88 %). Контроль образования продуктов реакции осуществляли методом ТСХ.

Протоны Н6 и Н7 тиофенового фрагмента в ¹H ЯМР-спектрах производных тиено[3,2-*d*]пиримидина **3**{1-8} иногда скрывают другие сигналы, но, как правило, четко определяются в виде дублетных сигналов в диапазоне δ 8,10-8,20 м.ч. (Н6) и при δ 6,90-7,05 м.д. (Н7). Сигнал протона NH в виде уширенного синглета проявляется при δ 13,20-13,81 м.д. Также в спектрах присутствуют сигналы алифатических и ароматических заместителей соответствующей мультиплетности (табл. 2).



Таблица 2

**Данные ¹H ЯМР-спектров
3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов 3**

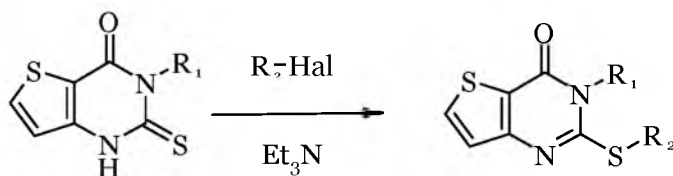
№	Химический сдвиг, δ, м.д.		
	NH(с.)	Алифатические протоны	Ароматические протоны
3{1}	13,30	3,10-3,14 кв.(2H, CH ₂); 1,20 т. (3H, CH ₃)	8,15 д. (1H, H6); 7,10-7,20 м. (4H, Ar-H); 7,05 д. (1H, H7)
3{2}	-	-	8,20 д. (1H, H6); 7,75-7,78 м. (1H, Ar-H); 7,50-7,54 м. (2H, Ar-H); 7,02 д. (1H, H7)
3{3}	13,52	1,40-4,42 м. (2H, CH ₂); 1,2-1,16 м. (3H, CH ₃)	8,12 д. (1H, H6); 7,02 д. (1H, H7)
3{4}	13,20	4,30-4,34 м. (2H, CH ₂); 1,60-1,62 м. (2H, CH ₂); 1,21-1,24 м. (2H, CH ₂); 0,90 т. (3H, CH ₃)	8,11 д. (1H, H6); 6,90 д. (1H, H7)
3{5}	13,21	5,90-5,92 м.(1H, CH); 2,12-2,14 м. (1H, CH ₂); 1,80-1,82 м. (1H, CH ₂); 1,40-1,43 м. (3H, CH ₃); 0,82 т. (3H, CH ₃)	8,12 д. (1H, H6); 7,02 д. (1H, H7)
3{6}	13,20	4,40 т. (2H, CH ₂); 1,55-1,57 м. (3H, CH ₂ CH); 0,92-0,96 м. (6H, 2CH ₃)	8,02 д. (1H, H6); 6,95 д. (1H, H7)
3{7}	13,40	5,15 с. (2H, CH ₂)	8,15 д. (1H, H6); 7,30-7,34 м. (5H, Ar-H); 7,05 д. (1H, H7)
3{8}	13,51	5,51 с. (2H, CH ₂); 2,10 с. (3H, CH ₃)	8,15 д. (1H, H6); 7,20 д (2H, Ar-H); 7,02-7,06 м. (3H, Ar-H)

В LC/MS-спектре 3-(2,3-дихлорфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-она присутствуют сигналы ионов с *m/z* 293, 295, 297 (M-Cl) и *m/z* 264, 265, 267, что соответствует фрагментации дихлорзамещённого продукта.

Наличие в структуре синтезированных нами соединений тиаомидного фрагмента предоставляло возможность проведения серии химических превращений с участием атома серы. В частности, мы остановили свое внимание на реакции алкилирования. На сегодняшний день разработаны эффективные методики алкилирования циклических тиаомидов [3, 6, 7, 8], которые обеспечивают достаточно высокие выходы конечных продуктов. Направленность данного процесса также не вызывает никакого сомнения, поскольку, эти вопросы не раз обсуждались в литературе [3, 7]. Перед нами встала задача адаптировать методики *S*-алкилирования 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов для условий комбинаторного синтеза.

С целью обеспечения максимального разнообразия структур и с учетом ADMET-ограничений для биологического скрининга нами было спланирован эксперимент и проведен синтез систематических рядов *S*-алкилированных производных 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов. В частности, было проведено реакции соединений 3{5, 7, 8} с алкилгалогенидами, α-бромкетонами, хлоруксусной кислотой, амидами хлоруксусной кислоты (схема 2).

Схема 2



3{5,7,8}

5{1-10}

5{1} R₁= *sec*-butyl R₂= -CH₂CONH(4-EtO-C₆H₄); 5{2} R₁= *sec*-butyl R₂= -CH₂(2-Me-C₆H₄); 5{3} R₁= *sec*-butyl R₂= -CH₂CO(4-Br-C₆H₄); 5{4} R₁= Bn R₂= -CH₂COPh; 5{5} R₁= Bn R₂= -CH₂(2-Cl-C₆H₄); 5{6} R₁= Bn R₂= -CH₂COOH; 5{7} R₁= Bn R₂= -CH₂CONHBn; 5{8} R₁= -CH₂(4-Me-C₆H₄) R₂= -CH₂COPh; 5{9} R₁= -CH₂(4-Me-C₆H₄) R₂= -CH₂CONH(2-MeO-C₆H₄); 5{10} R₁= -CH₂(4-Me-C₆H₄) R₂= -CH₂(2-Me-C₆H₄)

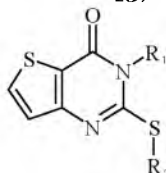
Изменяя условия алкилирования, мы изучили несколько методик проведения реакций. Классический способ алкилирования α-галогенкарбоксамидами в водно-спиртовом растворе щелочи [7, 8] наряду с образованием *S*-алкилированных производных давал частичный щелочной гидролиз амидной группы, что приводило к загрязнению и уменьшению выхода продуктов реакции.



Алкилирование 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов в безводном ДМФА в присутствии триэтиламина при 60°C в течение 1-2 часов привело к синтезу продуктов **5** с высокими выходами (85-90 %) и удовлетворительной степенью чистоты (90-98 %) (табл. 3). Алкилированные соединения выделяли из реакционной смеси разбавлением водой и очищали кристаллизацией из пропанола-2 (в случае реакции с алкилгалогенидами, α-бромкетонами, хлоруксусной кислотой) и кристаллизацией из смеси пропанол-2/ДМФА (1:1) (в случае алкилирования α-хлорацетамидами). Контроль образования и чистоты продуктов реакции осуществляли методами ТСХ и ¹H ЯМР-спектроскопии.

Таблица 3

**Характеристики
2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(3*H*)-онов 5**



№	R ₁	R ₂	Молекулярная формула М.м.	N, % Расч./ Эксп.	T _{пл.} , °C	Выход, %
5{1}	<i>sec</i> -butyl	-CH ₂ CONH(4-EtO-C ₆ H ₄)	C ₂₀ H ₂₃ N ₃ O ₃ S ₂ 417,55	10,06 10,08	169-170	80
5{2}	<i>sec</i> -butyl	-CH ₂ (2-Me-C ₆ H ₄)	C ₁₈ H ₂₀ N ₂ OS ₂ 344,50	8,13 8,17	110-112	75
5{3}	<i>sec</i> -butyl	-CH ₂ CO(4-Br-C ₆ H ₄)	C ₁₈ H ₁₇ BrN ₂ O ₂ S ₂ 437,38	6,40 6,44	120-122	78
5{4}	Bn	-CH ₂ COPh	C ₂₁ H ₁₆ N ₂ O ₂ S ₂ 392,50	7,14 7,16	171-173	76
5{5}	Bn	-CH ₂ (2-Cl-C ₆ H ₄)	C ₂₀ H ₁₅ ClN ₂ OS ₂ 398,94	7,02 7,08	130-132	80
5{6}	Bn	-CH ₂ COOH	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₃ S ₂ 332,40	8,43 8,47	150-152	68
5{7}	Bn	-CH ₂ CONHBn	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₂ S ₂ 421,54	9,97 9,94	190-192	85
5{8}	4-Me-C ₆ H ₄ CH ₂	-CH ₂ COPh	C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O ₂ S ₂ 406,53	6,89 6,93	160-162	74
5{9}	4-Me-C ₆ H ₄ CH ₂	-CH ₂ CONH(2-MeO-C ₆ H ₄)	C ₂₂ H ₂₁ N ₃ O ₃ S ₂ 451,57	9,31 9,34	185-187	90
5{10}	4-Me-C ₆ H ₄ CH ₂	-CH ₂ (2-Me-C ₆ H ₄)	C ₂₂ H ₂₀ N ₂ OS ₂ 392,55	7,14 7,18	110-112	70

¹H ЯМР-спектры веществ серии **5** характеризуются наличием сигналов протонов тиафенового цикла в виде двух дублетных сигналов протонов Н-6 (δ 8,15-8,20 м.д.) и Н-7 (δ 6,90-7,20 м.д.) Для соединения **5{6}**, алкилированного хлоруксусной кислотой, характерен уширенный синглетный сигнал протона карбоксильной группы в области δ 3,25-3,30 м.д. (протон в дейтероброме). Расположение сигнала протонов метиленовой группы в более сильном поле (δ 4,01-4,85 м.д.) по сравнению с сигналами, присущими NCH₂-группе (около δ 5,00 м.д.), подтверждает региоселективность алкилирования. Мультиплетность и расположения сигналов протонов других заместителей подтверждает предложенную структуру (табл. 4).

С целью поиска биологически активных веществ в ряду 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(3*H*)-онов проведено изучение противомикробного действия ряда синтезированных соединений.

Противомикробную активность соединений **5{1-5, 7-10}** изучали методом диффузии в агар. Антибактериальную активность оценивали путем измерения зон задержки роста соответствующего микроорганизма [4, 5]. При оценке противомикробной активности полученных соединений, а также при исследовании антибиотико-резистентных штаммов применяли следующие критерии: отсутствие зоны задержки роста микроорганизма, а также задержка зоны, не превышающая 10 мм, указывают на отсутствие чувствительности микроорганизма к соединению или недостаточную его концентрацию; зона задержки роста диаметром 10-15 мм указывает на малую чувствительность культуры микроорганизма к исследуемой концентрации вещества; зона задержки роста диаметром 15-25 мм расценивается как показатель чувствительности микроорганизма к исследуемому веществу, диаметр зоны задержки роста, который превышает



25 мм, свидетельствует о высокой чувствительности микроорганизмов к рассматриваемым веществам. Данные результатов исследования противомикробной активности исследуемых образцов приведены в табл. 5.

Таблица 4

**Данные ¹H ЯМР-спектров
2-алкилтио-3-N-алкил/бензилтиено[3,2-d]пиримидин-4(3H)-онов 5**

№	Химический сдвиг, δ, м.д.		
	NH OH	Алифатические протоны	Ароматические протоны
5{1}	10,20 с. (1H, NH)	4,50-4,54 м. (1H, CH); 4,21 с. (2H, с., CH ₂); 3,88-3,92 м. (2H, CH ₂); 1,80-2,20 м. (2H, CH ₂); 1,52-1,56 м. (3H, CH ₃); 1,40-1,45 м. (3H, м., CH ₃); 0,80-0,87 м. (3H, CH ₃)	8,15 д. (1H, H6); 7,42 д. (2H, Ar-H); 7,12 д. (1H, H7); 6,82 д. (2H, Ar-H)
5{2}	-	4,50 с. (2H, CH ₂); 4,30-4,34 м. (1H, CH); 2,30 с. (3H, CH ₃); 1,52-2,20 м. (2H, CH ₂); 1,40 т. (3H, CH ₃); 0,80 т. (3H, CH ₃)	8,15 д. (1H, H6); 7,42-7,46 м. (2H, Ar-H); 7,30 д. (1H, H7); 7,12-7,20 м. (2H, Ar-H)
5{3}	-	4,70 с. (2H, CH ₂); 4,40-4,45 м. (1H, CH); 2,30-2,34 м. (1H, CH ₂); 1,70-1,75 м. (1H, CH ₂); 1,50 т. (3H, CH ₃); 0,75 т. (3H, CH ₃)	8,10 д. (1H, H6); 8,01 д. (2H, Ar-H); 7,70 д. (2H, Ar-H); 6,72 д. (1H, H7)
5{4}	-	5,15 с. (2H, CH ₂); 4,85 с. (2H, CH ₂)	8,15 д. (1H, H6); 7,51-8,10 м. (5H, Ar-H); 7,22-7,50 м. (5H, Ar-H); 6,90 д. (1H, H7)
5{5}	-	5,15 с. (2H, CH ₂); 4,85 с. (2H, CH ₂)	8,20 д. (1H, H6); 7,11-7,70 (9H, Ar-H); 7,10 д. (1H, H7)
5{6}	3,25-3,30 с. (1H, OH)	5,20 с. (2H, CH ₂); 4,01 с. (2H, CH ₂)	8,15 д. (1H, H6); 7,20-7,40 м. (6H, Ar-H)
5{7}	8,65 т. (1H, NH)	5,20 с. (2H, CH ₂); 4,20 д. (2H, CH ₂); 4,01 с. (2H, CH ₂)	8,20 д. (1H, H6); 7,12-7,40 м. (10H, м., Ar-H); 7,10 д. (1H, H7)
5{8}	-	5,50 с. (2H, CH ₂); 4,20 с. (2H, CH ₂); 2,10 (3H, с., CH ₃)	8,10-8,15 м. (3H, Ar-H); 7,52-7,70 м. (5H, Ar-H); 7,10-6,90 м. (3H, Ar-H)
5{9}	9,50 с. (1H, NH)	5,30 с. (2H, CH ₂); 4,20 с. (2H, CH ₂); 3,60 с. (3H, CH ₃); 2,20 с. (3H, CH ₃)	8,20 д. (1H, H6); 7,88-7,91 м. (3H, Ar-H); 7,22 д. (1H, H7); 7,16-7,20 м. (3H, Ar-H); 7,01-6,86 м. (2H, Ar-H)
5{10}	-	5,20 с. (2H, CH ₂); 4,50 с. (2H, CH ₂); 2,20 с. (3H, CH ₃); 2,10 с. (3H, CH ₃)	8,20 д. (1H, H6) 7,25 д. (1H, H7); 7,06-7,20 м. (8H, Ar-H)

Таблица 5

**Противомикробная активность
2-алкилтио-3-N-алкил/бензилтиено[3,2-d]пиримидин-4(3H)-онов 5**

Вещества	Диаметры зон задержки роста в мм количество повторений исследований n=2					
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 653/885
5{1}	++	++	++	-	++	+
5{2}	+++	+++	++	-	+++	+
5{3}	++	++	++	-	++	+
5{4}	++	-	-	-	++	+
5{5}	++	-	-	-	++	+
5{7}	++	+	-	-	++	-
5{8}	++	-	-	-	++	+
5{9}	++	++	++	-	++	+
5{10}	++	++	++	-	++	+
ДМСО	+	-	-	-	+	-

*- - Диаметр зоны задержки роста до 10 мм; + - диаметр зоны задержки роста - 10-15 мм; ++ - диаметр зоны задержки роста - 15-25 мм; +++ - диаметр зоны задержки роста - более 25 мм.

Соединения 5{1-5, 7-10} проявили активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Наиболее активное противомикробное действие среди исследованных соединений относительно *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* показало соединение 5{2}, которое содержит втор-бутильный заместитель в положении 3 и о-



метилбензильный фрагмент в положении 2. Ни одно из исследованных соединений **5** не выявило противомикробного действия по отношению к *Proteus vulgaris*. Показатели противогрибковой активности к штаммам *Candida albicans* и противомикробной активности к штаммам *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* исследованных образцов оказались низкими (табл. 5).

Выводы.

Осуществлен синтез новых 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4-онов и 2-*S*-алкил-3-*N*-алкил/бензил-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4-онов и проведен скрининг противомикробной активности полученных веществ. В результате установлено, что все из исследованных соединений активны по отношению к *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Наиболее активное противомикробное действие среди исследованных соединений относительно *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* показало соединение **5{2}**, которое содержит *втор-*бутиловый заместитель в положении 3 и *о-*метилбензильный фрагмент в положении 2.

Литература

1. CODES, a novel procedure for ligand-based virtual screening: PDE7 inhibitors as an application example / Castro A., Jerez M. J., Gil C et al. // Eur. J. Med. Chem. — 2008. — Vol. 43. — P. 1349-1359.
2. Pat. WO 2005/049613 A1 WIPO, C07D 471/04, 495/04, 513/04, 473/22.A61K 31/522, A61P 25/04. Bicyclic pyrimidin-4-(3h)-ones and analogues and derivatives there of which modulate the function of the Vanilloid-1 receptor (VR1) / Hollingworth G. J., Jones A. B., Sparey T. J.; заявитель и патентообладатель Merck Sharp and Dohme Limited.; заявл. 11.12.2004; опубл. 06.02.2005.
3. Pat. US 6,262,058 B1 USA, A01N 43/54, C07D 495/04. Pyrimidin-4-one derivatives as pesticide / H. Walter.; заявитель и патентообладатель Syngenta Crop Protection Inc.; заявл. 25.08.1998; опубл. 17.07.2001.
4. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційне письмо МЗ України №05.4.1/1670. — К., 2001.
5. Методические рекомендации «Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів». — К., 2004. — 38 с.
6. Kidwai, M. A novel synthesis of thieno-pyrimidines using inorganic solid support / M. Kidwai, A. D. Bull // Bull. Kor. Chem. Soc. — 2003. — Vol. 24, № 7. — P. 1038-1040.
7. Pat. US5753664 A USA, C07D 239/95, C07D 239/00, C07D 239/70. Heterocyclic compounds, their production and use / Tetsuya A., Fumio I., Shogo M. et al.; заявитель и патентообладатель Takeda Chemical Industries Ltd.; заявл. 13.03.1996; опубл. 19.05.1998.
8. Ivachtchenko, A.V. Synthesis of substituted 4-oxo-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolines and 4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-thioles / A. V. Ivachtchenko, S. M. Kovalenko, O. G. Drushlyak // J. Comb. Chem. — 2003. — Vol. 5, № 7. — P. 775-788.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 2-S-ALKYLTHIO-3-N-SUBSTITUTED THIENO[3,2-*d*]PYRIMIDIN-4(3*H*)-ONES

E.V. TKACHENKO
S.V. VLASOV
I.A. ZHURAVEL
S.N. KOVALENKO
V.P. CHERNYKH

University of Pharmacy,
Kharkov Ukraine

e-mail: nau-
ka@ukrfa.kharkov.ua

Two approaches to the synthesis of novel 3-*N*-substituted 2-thioxo-2,3-dihydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-ones were investigated. By the alkylation of these intermediates 2-alkylthio-3-*N*-alkyl/benzyl-thieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-ones were obtained, which were further screened for antimicrobial activity. It was found that all of the compounds are active against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. The highest activity against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* strains has been shown by the compound with *sec*-butyl substituent in position 3 and *o*-methylbenzyl substituent attached to the sulfur atom in position 2 of thieno[3,2-*d*]pyrimidine ring system.

Key words: thiophene, pyrimidine, aromatic compounds, amides, antimicrobial agents.