

УДК 535.243;547.7

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2025.27.99.003>

СИНТЕЗ И АНАЛИЗ НОВОГО ДИГИДРОКСИФЕНИЛЬНОГО ПРОИЗВОДНОГО ПИРИМИДИН-4(1H)-ОНА, ОБЛАДАЮЩЕГО ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

И.П. Кодониди, доктор фарм. наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии Пятигорского ме-
дико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицин-
ский университет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск

kodonidiip@mail.ru

А.Ю. Айрапотова, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорского ме-
дико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский универ-
ситет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск

asyapgf@mail.ru

А.С. Чиряпкин, канд. фарм. наук, преподаватель кафедры фармацевтической химии Пятигорского меди-
ко-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский универ-
ситет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск

alexey.chiriapkin@yandex.ru

Е.А. Масловская, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорского ме-
дико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский универ-
ситет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск

maslovskaya.ek@yandex.ru

С.Л. Аджиахметова, канд. фарм. наук, доцент кафедры органической химии Пятигорского ме-
дико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский универси-
тет» Минздрава России, Ставропольский край, г. Пятигорск

similla503@mail.ru

Создание новых биологически активных ве-
ществ, обладающих противовоспалительной
активностью в сочетании с антигипоксиче-
ским эффектом, позволит расширить номенкла-
туру отечественных лекарственных средств
для лечения широкого ряда заболеваний с вос-
палительной симптоматикой. В качестве объ-
екта исследования выбран синтезированный
1-[2-(3,4-дигидроксифенил)этил]-2,6-диметил-5-
фенил-1H-пиримидин-4-он (III), который является
производным пиримидин-4(1H)-она. Посредством
квантовохимического расчета дипольного мо-
мента исходного N-ацил-β-кетоамида определе-
но направление атаки нейтрального нуклеофила,
приводящее к формированию дигидроксифениль-
ного производного пиримидин-4(1H)-она, а так-
же обосновано использование ацетата натрия
в качестве депротанирующего агента для ну-
клеофильной атаки. В работе выбраны и те-
оретически обоснованы оптимальные условия
качественного определения вещества с помо-
щью цветных характерных химических реакций
на функциональные группы, которые доказывают

наличие в анализируемой структуре третич-
ного азота и фенольных гидроксильных групп.
В УФ-спектре поглощения спиртового раство-
ра III наблюдается характерный максимум по-
глощения в области 258 нм, что позволяет осу-
ществлять его количественное определение
спектрофотометрическим методом анализа.
По уравнению градуировочного графика рассчита-
но количественное содержание соединения спек-
трофотометрическим методом анализа и про-
ведена валидационная оценка методики, которая
соответствует требованиям ОФС.1.1.0012. «Ва-
лидация аналитических методик» по следую-
щим критериям: линейность, прецизионность,
правильность. Результаты определения коли-
чественного содержания 2-бензоиламино-N- [2-
(3,4-дигидроксифенил) этил] бензамида в суб-
станции III составляет 99,85%.

Ключевые слова: пиримидин-4(1H)-она, про-
тивовоспалительная активность, качественный
и количественный анализ, дипольный момент,
N-ацил-β-кетоамид, спектрофотометрия, валида-
ция

В настоящее время стремительно увеличивается число заболеваний у людей с опорно-двигательным аппаратом. Наиболее частым среди них является остеоартроз [1,2]. По данным ВОЗ, это самое распространенное заболевание суставов, которым страдает каждый десятый житель планеты [2]. В группе риска находятся люди с нарушением обмена веществ и пожилые люди. Терапия остеоартроза симптоматическая, и в основном пациенты получают нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), которые реализуют фармакологический эффект через ингибирование циклооксигеназы [3]. Однако длительный прием этих препаратов сопровождается выраженными побочными эффектами, которые представляют угрозу здоровью [4]. Поэтому поиск новых лекарственных средств противовоспалительного действия с отсутствием нежелательных побочных эффектов – актуальная задача современной фармацевтической науки.

Наиболее перспективным в этом направлении является молекулярное конструирование биологически активных веществ (БАВ) на основе эндогенных веществ. Такие структуры имеют наиболее безопасные пути метаболизма, так как они родственны организму. Производные пиримидин-4(1H)-она схожи по структуре с урацилом, а дигидроксифенильный фрагмент формируется взаимодействием N-ацил-β-кетоамида с дофамином, который относится к нейромедиаторам [5]. Благодаря структурной близости соединений данного ряда с эндогенными азотистыми основаниями они обладают низкой токсичностью, что позволяет расширить возможности молекулярного конструирования новых БАВ производных пиримидин-4(1H)-она. Предварительные фармакологические исследования подтвердили ранее осуществленное компьютерное моделирование и выявили противовоспалительную активность нового производного пиримидин-4(1H)-она, которая соизмерима с широко применяемым препаратом «Диклофенак» [6].

Цель исследования – разработка методик качественного и количественного анализа нового дигидроксифенильного производного пиримидин-4(1H)-она для контроля степени чистоты БАВ, что имеет большое значение в доклинических фармакологических исследованиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования выбран 1-[2-(3,4-дигидроксифенил)этил]-2,6-диметил-5-

фенил-1H-пиримидин-4-он (III), полученный реакцией циклоконденсации эквимолекулярных количеств N-ацетил-2-фенилацетоацетамида и 2-(3,4-дигидроксифенил) – этиламинагидробромида.

Органолептические характеристики, растворимость и температуру плавления синтезированного производного пиримидин-4(1H)-она проводили согласно методикам ГФ XV издания. Идентификацию осуществляли с помощью цветных химических реакций на функциональные группы.

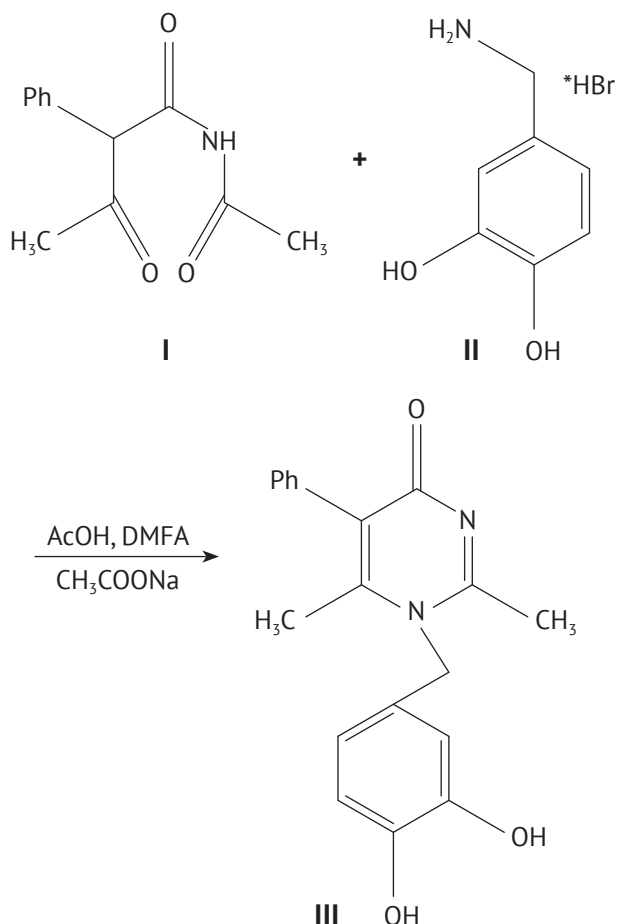
Методика идентификации вещества III методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). На линию старта хроматографической пластинки Sorbfil-ПТСХ-А-УФ наносили по 200 мкг спиртового раствора субстанции III. После высушивания пятна пластинку вносили в систему спирта этилового и устанавливали под углом 80–90° к поверхности жидкости. После прохождения растворителя до линии финиша 10 см пластинку вынимали, высушивали при комнатной температуре до полного удаления запаха растворителя. Просматривали в УФ-свете при длине волны 254 нм.

Количественное определение проводили спектрофотометрическим методом в УФ-области. Для этого 30 мг (точная навеска) вещества помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 40 мл спирта этилового 96%, взбалтывали до полного растворения и доводили спиртом этиловым 96% до метки (раствор А). Далее 2 мл раствора А переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили спиртом этиловым 96% до метки, перемешивали. Измеряли спектр поглощения полученного раствора в области 200–400 нм.

Валидацию методики проводили по показателям: линейность, прецизионность и правильность. Для построения градуировочного графика отмеривали последовательно 1, 2, 3, 4, 5 и 6 мл раствора А. Каждую аликвоту помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводили спиртом этиловым 96% до метки. При длине волны 258 нм измеряли значение оптической плотности каждого из полученных растворов. Полученные данные представляли в виде градуировочного графика с линией тренда, уравнения графика и величины коэффициента корреляции, который должен быть ≥0,99. Данные показатели рассчитывали с помощью компьютерной программы Excel. По полученным данным строили градуировочный график зависимости оптической плотности вещества III от его концентрации в растворе. Расчет количественного содержания соединения III проводили по уравнению градуировочного графика.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез целевого 1-[2-(3,4-дигидроксифенил)этил]-2,6-диметил-5-фенил-1Н-пиримидин-4-она (III) осуществлялся реакцией циклоконденсации эквимолекулярных количеств N-ацетил-2-фенилацетоацетамида (I) и 2-(3,4-дигидроксифенил) – этиламина гидробромида (II) [7,8].



Первая стадия реакции основана на атаке нейтральным нуклеофилом атома углерода кетогруппы вещества I. Сопоставление величины орбитальных факторов наиболее заселенных -орбиталей атома кислорода позволяет судить, что наибольший вклад в формирование высшей занятой молекулярной орбитали (ВЗМО) вносит карбонильный кислород кетогруппы.

С целью подтверждения направления нуклеофильной атаки осуществлен квантовохимический расчет дипольного момента наиболее устойчивой конформации N-ацетил-2-фенилацетоацетамида (I). Из **рис. 1** следует, что направление дипольного момента в молекуле вещества (I) позволяет судить о предпочтительной атаке нуклеофилом атома углерода кетогруппы.

Однако для использования в качестве нуклеофила 2-(3,4-дигидроксифенил) – этиламина

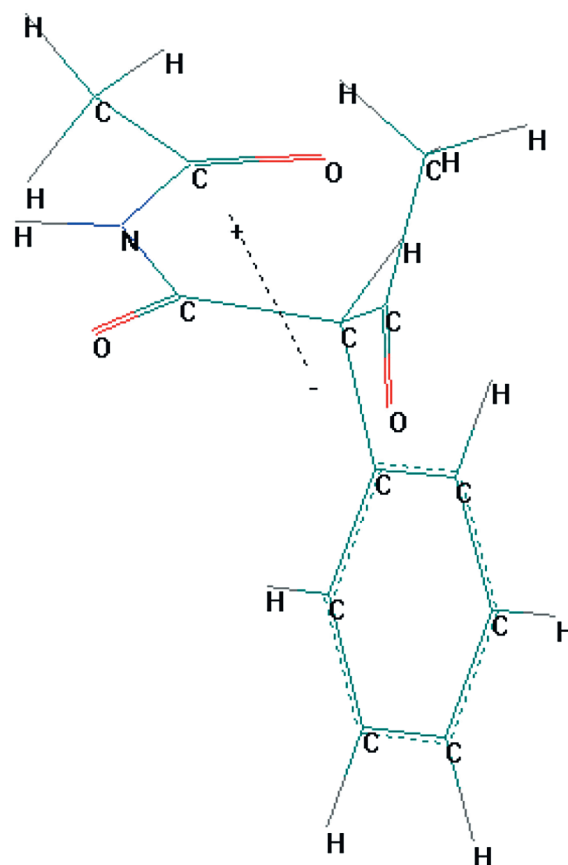


РИС. 1. Устойчивая конформация N-ацетил-2-фенилацетоацетамида (пунктиром указано направление дипольного момента)

гидробромида (II) требуется его депротонирование и перевод в основание. С этой целью использовали ацетат натрия, что усложняет процесс контроля прохождения реакции и анализ чистоты продукта. Все это послужило основанием для разработки методов качественного и количественного анализа целевого продукта.

Таблица 1

ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, РАСТВОРИМОСТЬ И ТЕМПЕРАТУРА ПЛАВЛЕНИЯ III

Определяемая характеристика	Результат испытания
Описание	Светло-желтый кристаллический порошок, без запаха
Растворимость	Малорастворим в этаноле, практически не растворим в воде, эфире, хлороформе
Температура плавления	237–238°C

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ С ПОМОЩЬЮ ЦВЕТНЫХ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Наименование реактива	Бушарда	Вагнера	Зонненштейна	Раствор железа (III) хлорида	Реакция азосочетания	Драгендорфа
Вещество III	Коричневый осадок	Коричневый осадок	Желтый осадок	Зеленое окрашивание	Красное окрашивание	Коричневый осадок

Данные определения органолептических характеристик, растворимости в различных растворителях и температуры плавления III представлены в **табл. 1**.

Результаты идентификации с помощью цветных химических реакций представлены в **табл. 2**. Итоги опытов доказывают наличие в анализируемой структуре третичного азота и фенольных гидроксильных групп.

Методом ТСХ установлено, что на хроматограмме после детектирования УФ-светом при длине 254 нм наблюдали одно темно-фиолетовое пятно с $R_f=0,71\pm 0,02$.

В УФ-спектре поглощения спиртового раствора III наблюдается характерный максимум поглощения в области 258 нм (**рис. 2**).

Заключительный этап исследования включал разработку спектрофотометрической методики количественного определения. На первом этапе изучалась линейная зависимость оптической плотности анализируемого раствора при 258 нм от его концентрации. На **рис. 3** приведены УФ-спектры в различной концентрации для определения данной зависимости.

По результатам строили градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации. Рассчитанное уравнение представлено

в виде: $y = 350,71x + 0,006$ с коэффициентом 0,9987, что позволяет судить о линейности методики. Полученные данные представлены в виде градуировочного графика (**рис. 4**).

Результаты определения количественного содержания 2-бензоиламино-N-[2-(3,4-дигидроскифенил)этил]бензамида в субстанции III представлены в **табл. 3**. Расчет содержания проводили по уравнению градуировочного графика.

Повторяемость определяется путем выполнения не менее 9 определений концентраций, входящих в диапазон применения аналитической методики (3 концентрации и 3 повтора для каждой концентрации). Результаты определения правильности приведены в **табл. 4**.

В результате проведенных экспериментов установлено, что значение открываемости (R)

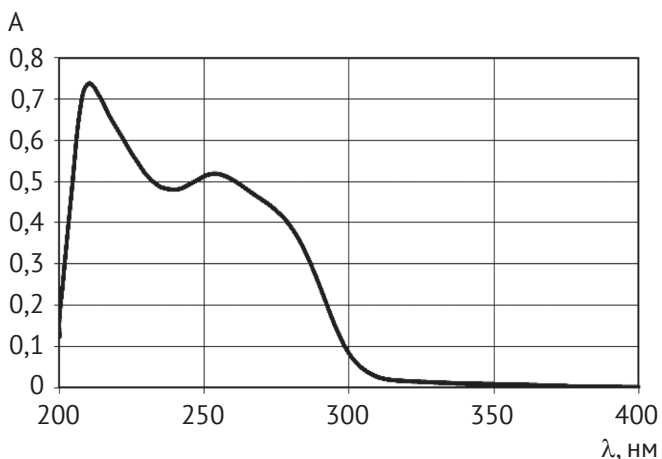


РИС. 2. УФ-спектр поглощения спиртового раствора субстанции III

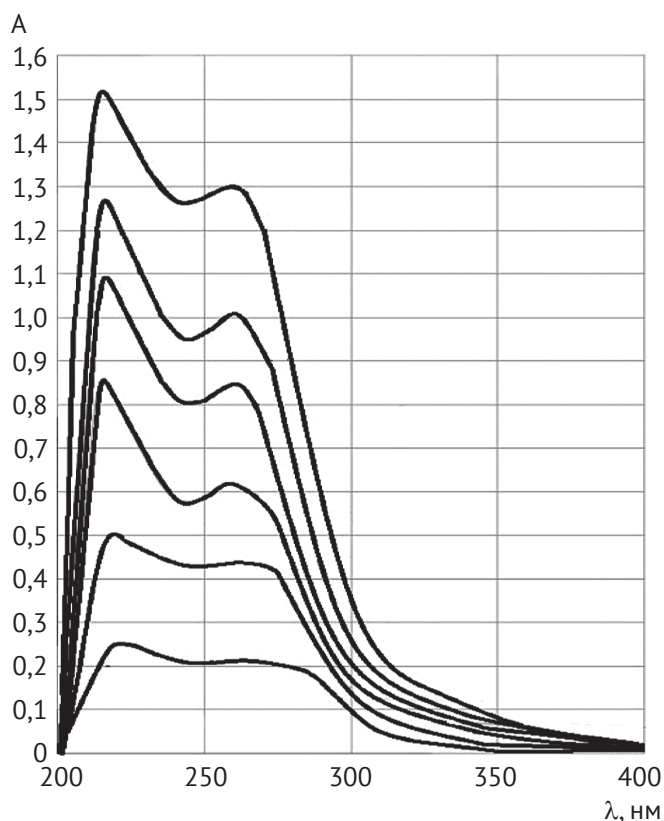


РИС. 3. УФ-спектры поглощения растворов вещества III при определении линейности

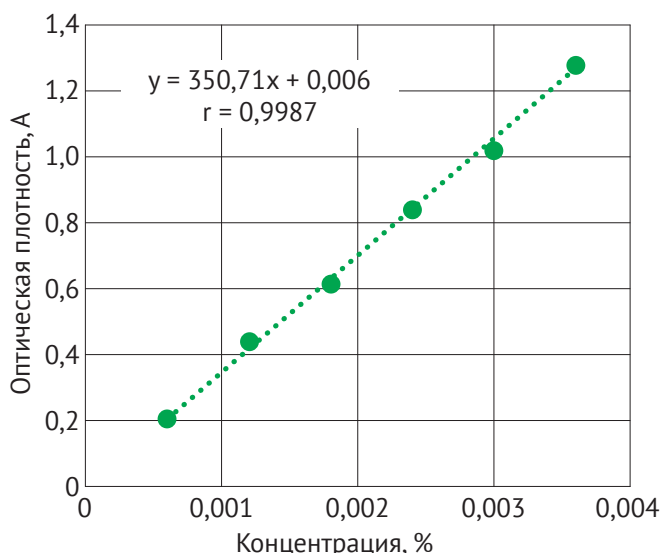


РИС. 4. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации

составило 99,93, что удовлетворяет требованиям аналитических методик. Величина табличного значения $t_{\text{табл}}$ для 9 опытов равна 2,36, поэтому вычисленное значение коэффициента Стьюдента – $1,304 < 2,36$, что является приемлемым результатом. Результаты определения вещества III позволяют говорить о том, что данная методика не отягощена систематической ошибкой, так как соблюдается неравенство $t_{\text{выч}} < t_{\text{табл}}$ (P, f), и является точной.

Таким образом, разработанная УФ-спектрофотометрическая методика анализа вещества III является правильной, поскольку открываемость находится в пределах нормы, как и значение RSD .

Таблица 3

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПРЕЦИЗИОННОСТИ**

№ эксперимента	Оптическая плотность	Содержание, %	Метрологические характеристики
1	0,622	99,90	$\bar{X} = 99,85$ $SD = 0,758$ $S_{\bar{x}} = 0,309$ $RSD = 0,76\%$ $\varepsilon = 1,95$ $\bar{\varepsilon} = 0,80$
2	0,635	100,61	
3	0,628	99,52	
4	0,622	98,51	
5	0,632	100,12	
6	0,634	100,41	

Таблица 4.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ
ПРАВИЛЬНОСТИ СОЕДИНЕНИЯ III
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

C, %	A	X, %	R, %
I уровень			
0,0006%	0,218	100,75	100,95
0,0006%	0,213	98,37	98,57
0,0006%	0,216	99,80	100,0
II уровень			
0,0018%	0,624	97,89	98,09
0,0018%	0,647	101,54	101,74
0,0018%	0,635	99,64	99,84
III уровень			
0,0030%	1,075	101,6	101,80
0,0030%	1,041	98,37	98,57
0,0030%	1,054	99,61	99,81
		$X_{\text{сред.}} = 99,70$	$R_{\text{сред.}} = 99,93$

ВЫВОДЫ

Проведена идентификация производного пиримидин-4(1H)-она: 1-[2-(3,4-дигидроксибензил)этил]-2,6-диметил-5-фенил-1H-пиримидин-4-она (III) с помощью качественных реакций и метода тонкослойной хроматографии. По уравнению градуировочного графика рассчитано количественное содержание соединения и проведена валидационная оценка методики. Установлено, что методика валидна.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ferreira R.J. O., Dougados M., Kirwan J.R. et al. An investigators, RAID investigators and COMEDRA investigators. Drivers of patient global assessment in patients with rheumatoid arthritis who are close to remission: An analysis of 1588 patients // *Rheumatology (Oxford)*. 2017; 56(9): 1573–1578. DOI: 10.1093/rheumatology/kex211
2. Anke J.R., Cosimo D.B. Osteoarthritis year in review 2023: Biology // *Osteoarthritis and Cartilage*.

- 2024; 32(2): 148–158. DOI: 10.1016/j.joca.2023.11.002
3. Pandey P., Singh R., Srivastava S., Mishra M.K. A Review on Osteoarthritis and its Eradication Approaches: An Update // *Curr. Drug. Res. Rev.* 2024. DOI: 10.2174/0125899775267865231115051056
 4. Bliźniak F., Chęciński M., Chęcińska K. et al. Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs Administered Intra-Articularly in Temporomandibular Joint Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis // *J. Clin. Med.* 2024 Jul 11; 13(14): 4056. DOI: 10.3390/jcm13144056
 5. Кодониди И.П., Оганесян Э.Т., Глушко А.А. и др. Молекулярное конструирование и целенаправленный синтез N-замещенных производных 4-оксо-1,4-дигидропиримидина на основе тормозных нейромедиаторов // *Химико-фармацевтический журнал.* 2009; 43(10): 32–39.
 6. Сочнев В.С., Кодониди И.П., Сергеева Е.О. и др. Изучение взаимосвязи «структура – противовоспалительная активность» в ряду 2-винилзамещенных производных 4-(2,6-диметил-4-оксо-5-фенил-4h-пиримидин-1-ил)-бензсульфамида // *Современные проблемы науки и образования.* 2015; 2(2): 480.
 7. Луговой И.С., Кодониди И.П., Глушко А.А. и др. Прогноз и синтез новых производных 1,3-дiazинона-4 и их ациклических предшественников, полученных на основе дофамина // *Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке».* 2016; 18(4): 102–107.
 8. Кодониди И.П., Новиков О.О., Кулешова С.А. и др. Синтез новых N-гидроксифенильных и толильных производных пиримидин-4(1H)-она, обладающих противовоспалительной активностью // *Фармация и фармакология.* 2017; 5(6): 556–567.

SYNTHESIS AND ANALYSIS OF A NEW DIHYDROXYPHENYL DERIVATIVE OF PYRIMIDINE-4(1H)-ONE WITH ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY

I.P. Kodonidi, A. Yu. Ayrapetova, A.S. Chiryapkin, E.A. Maslovskaya, S.L. Adzhiakhmetova

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, branch of the Volgograd State Medical University

The creation of new biologically active substances with anti-inflammatory activity in combination with an antihypoxic effect will expand the range of domestic medicines for the treatment of a wide range of diseases with inflammatory symptoms. The synthesized 1-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl]-2,6-dimethyl-5-phenyl-1H-pyrimidine-4-one (III), which is a derivative of pyrimidine-4(1H)-one, was selected as the object of the study. By quantum chemical calculation of the dipole moment of the initial N-acyl-β-ketoamide, the direction of attack of the neutral nucleophile is determined, leading to the formation of the dihydroxyphenyl derivative pyrimidine-4(1H)-one, and the use of sodium acetate as a deprotonating agent for the nucleophilic attack is justified. The optimal conditions for the qualitative determination of a substance using color-coded characteristic chemical reactions to functional groups, which prove the presence of tertiary nitrogen and phenolic hydroxyl groups in the analyzed structure, are selected and theoretically substantiated. In the UV absorption spectrum of alcohol solution III, a characteristic absorption maximum is observed in the region of 258 nm, which allows its quantitative determination by the spectrophotometric analysis method. According to the equation of the calibration graph, the quantitative content of the compound was calculated by the spectrophotometric analysis method and a validation assessment of the methodology was carried out, which meets the requirements of the general pharmacopoeia article 1.1.0012. "Validation of analytical techniques" according to the following criteria: linearity, precision and correctness. The results of the determination of the quantitative content of 2-benzoylamino-N-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl] benzamide in substance III is 99,85%.

Keywords: pyrimidine-4(1H)-one, anti-inflammatory activity, qualitative and quantitative analysis, dipole moment, N-acyl-β-ketoamide, spectrophotometry, validation