

СИНТЕЗ И ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ 5-АЛКИНИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2-ТИОУРИДИНА¹

© 2023 г. Я. Б. Платонова^{a, *}, В. А. Кириллова^a, А. Н. Волов^a, С. В. Савилов^{a, b}

^a ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»,
химический факультет, Россия, 119991 Москва, Ленинские горы 1, стр. 3

^b ФГБУН «Институт общей и неорганической химии им. Н.С. Курнакова» РАН,
Россия, 119071 Москва, Ленинский просп., 31

*e-mail: knoposk@gmail.com

Поступила в редакцию 01.10.2023 г.

После доработки 13.10.2023 г.

Принята к публикации 15.10.2023 г.

Описаны новые эффективные ингибиторы микобактерий на основе 5-замещенных производных 2-тиоуридина. Серия новых 5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина была синтезирована с помощью катализируемой палладием реакции кросс-сочетания Соногаширы 5-йод-2-тиопиримидинового основания с терминальными алкинами с хорошими выходами в ДМФА при комнатной температуре. Было обнаружено, что атом серы в положении С-2 пиримидинового кольца не оказывает влияния на выход целевых соединений. Все полученные соединения оценивали на предмет антимикобактериальной активности в отношении *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis* в концентрациях 0.1–100 мкг/мл с использованием МАВА теста. Синтезированные нуклеозиды проявили высокую антимикобактериальную активность в отношении *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis*. Полученные значения MIC₅₀ для 2-тионуклеозидов **14**, **15** и **16** (0.28–0.75 мкг/мл) значительно превосходят характеристики референтных препаратов рифампицина, D-циклосерина и изониазида, что создает интерес для дальнейшего более детального исследования.

Ключевые слова: 2-тиоуридин, антимикобактериальная активность, туберкулез, реакция Соногаширы

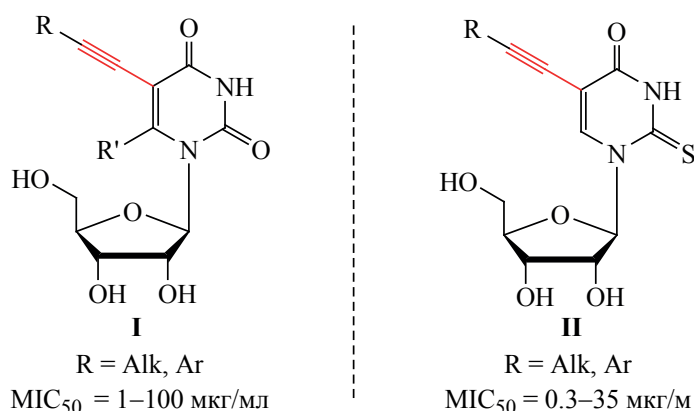
DOI: 10.31857/S0514749223120042, **EDN:** NZISZG

ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), туберкулез является инфекционным заболеванием, вызывающим наибольшее количество смертей во всем мире. Последние исследования, проведенные ВОЗ, выявили 9.6 миллиона новых случаев заболевания и 2 миллиона смертей в 2021 году [1]. Кроме того, появление и рост штаммов, вызывающих туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ) и с широкой лекарственной устойчивостью

(ШЛУ-ТБ), вызывают тревогу властей во всем мире. Эти штаммы туберкулеза характеризуются низким уровнем излечения и высоким уровнем смертности из-за трудностей в лечении [2, 3]. Помимо этого, в клиниках зарегистрировано больше случаев туберкулеза с полной лекарственной устойчивостью [4, 5]. За последние несколько лет был достигнут прогресс в поиске новых противотуберкулезных соединений [6, 7]. В настоящее время ведутся разработки лекарств для лечения лекарственно-чувствительного и/или лекарствен-

¹ Статья публикуется по материалам Всероссийской конференции с международным участием «Идеи и наследие А.Е. Фаворского в органической химии», г. Санкт-Петербург, 3–6 июля, 2023 г. К 300-летию со дня основания Санкт-Петербургского государственного университета.



Структуры C-5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина - эффективных ингибиторов микобактерий

но-устойчивого туберкулеза. Что касается МЛУ-ТБ, существуют эффективные зарубежные препараты, такие как бедаквилин (Sirturo®, Janssen Therapeutics, Титусвилль, Нью-Джерси, США) и деламанид (Delyba®, Otsuka Pharmaceutical, Токио, Япония). Но несмотря на недавние достижения, уже сообщалось о штаммах, устойчивых к этим новым молекулам, что усиливает острую необходимость в разработке новых лекарств для лечения туберкулеза [8–10]. Действительно, исследование новых препаратов против различных типов туберкулеза играет решающую роль в снижении заболеваемости и смертности, необходимых для достижения глобальных всемирных целей, установленных ВОЗ [1].

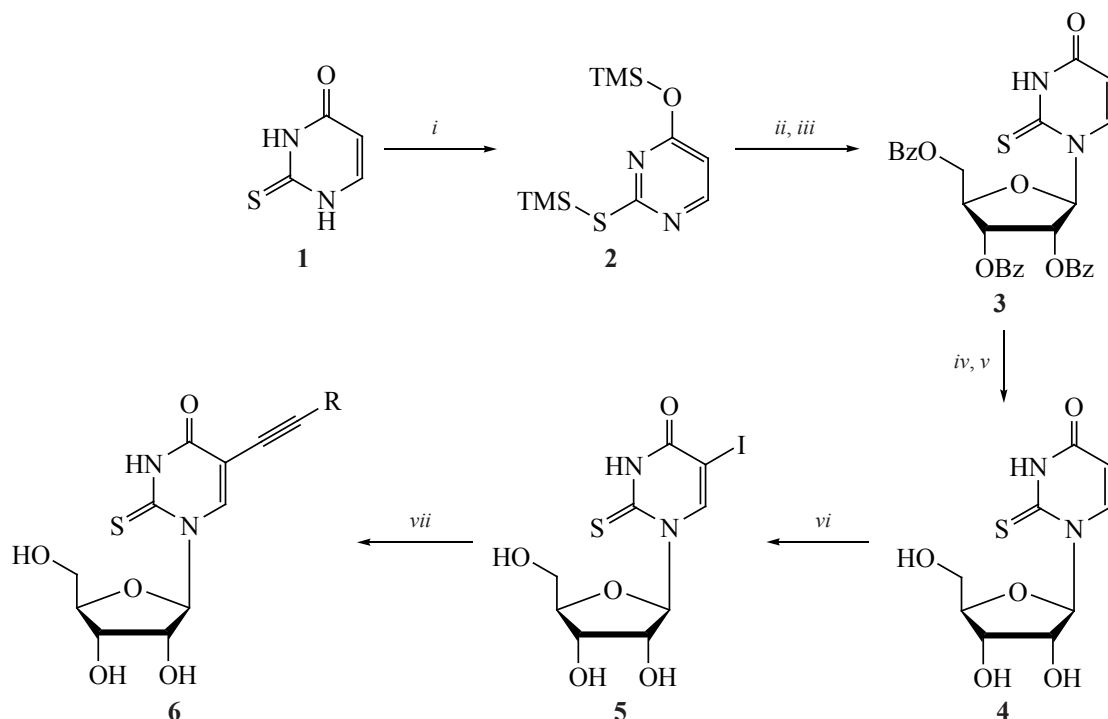
Анализ литературных данных о существующих в настоящее время соединениях, обладающих антимикобактериальной активностью в отношении *Mycobacterium tuberculosis* и *Mycobacterium bovis*, показал, что эффективными ингибиторами указанных микобактерий являются производные урацила и нуклеозиды на его основе [11, 12]. В продолжающихся усилиях по разработке новых и эффективных методов лечения микобактериальных инфекций наши предыдущие исследования 5-алкинилзамещенных пиримидиновых оснований и нуклеозидов **1** привели к идентификации производных уридина **1** с хорошей ингибирующей активностью в отношении *Mycobacterium bovis* (MIC₅₀ = 1.5–50 мкг/мл) и *Mycobacterium tuberculosis* (MIC₅₀ = 1.1–50 мкг/мл) в клеточных анализах [13]. В настоящем исследовании мы сообщаем о синтезе и противотуберкулезной активности 5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина **2** с различны-

ми 5-алкильными, 5-циклоалкильными и 5-арильными заместителями против *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis in vitro* (см. рисунок). Следует отметить, что производные 2-тиоуридина представляют большой интерес, поскольку являются важными модифицированными единицами природных нуклеиновых кислот и играют важную роль в настройке процесса трансляции посредством взаимодействий кодон-антикодон [14, 15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Целевые 5-алкинил-2-тиоуридины **6** были получены с помощью палладий-катализируемой реакции кросс-сочетания Соногаширы 5-йод-2-тиоуридина **5** с различными терминальными ацетиленами с хорошими выходами. Известно, что реакция кросс-сочетания позволяет в мягких условиях напрямую ввести алкиновый фрагмент в пиримидиновое кольцо без образования большого количества побочных продуктов. Исходный 5-йод-2-тиоуридин **5** был синтезирован региоселективным C⁵-йодированием в сухом метаноле с использованием в качестве йодирующего агента монохлорида йода (ICl) с выходом 80% (схема 1). Следует отметить, что использование других галогенирующих агентов, таких как йод и *N*-йодсукцинимид, не привело к образованию 5-йод-6-метилуридина с хорошим выходом. В свою очередь, 2-тиоуридин **4** не является коммерчески доступным соединением и его синтез из 2-тиоурацила **1** представлен на схеме 1.

Из 2-тиоурацила **1** был получен триметилсилиловый эфир **2**, который затем взаимодействует с 2,3,5-три-*O*-бензоил-1-*O*-ацетил-β-*D*-рибозой по модифицированной методике Гильберта–Джонсона [16] в присутствии катализатора

Схема 1. Синтез 5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина

Реагенты, условия и выходы: *i*) ГМДС, триметилхлорсилан, кипячение, 5 ч, 99%; *ii*) SnCl_4 , 1,2-дихлорэтан, 1-*O*-ацетил-три-2,3,5-*O*-бензоил- β -D-рибофураноза, rt, 5 ч; *iii*) H_2O , NaHCO_3 , rt, 8 ч, 86%; *iv*) MeONa , метанол, rt, 2 ч; *v*) DOWEX 50X8 протонированная форма, 93%; *vi*) ICl , метанол, 500°C , 4 ч, 80%; *vii*) терминальный алкин, $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, Et_3N , CuI , ДМФА, rt, 71–92%.

Фриделя–Крафтса (кислота Льюиса) и дает бензоилированный нуклеозид **3**. Снятие защиты бензильных групп метилатом натрия в метаноле привело к образованию желаемого 2-тиоурацилового нуклеозида **4**.

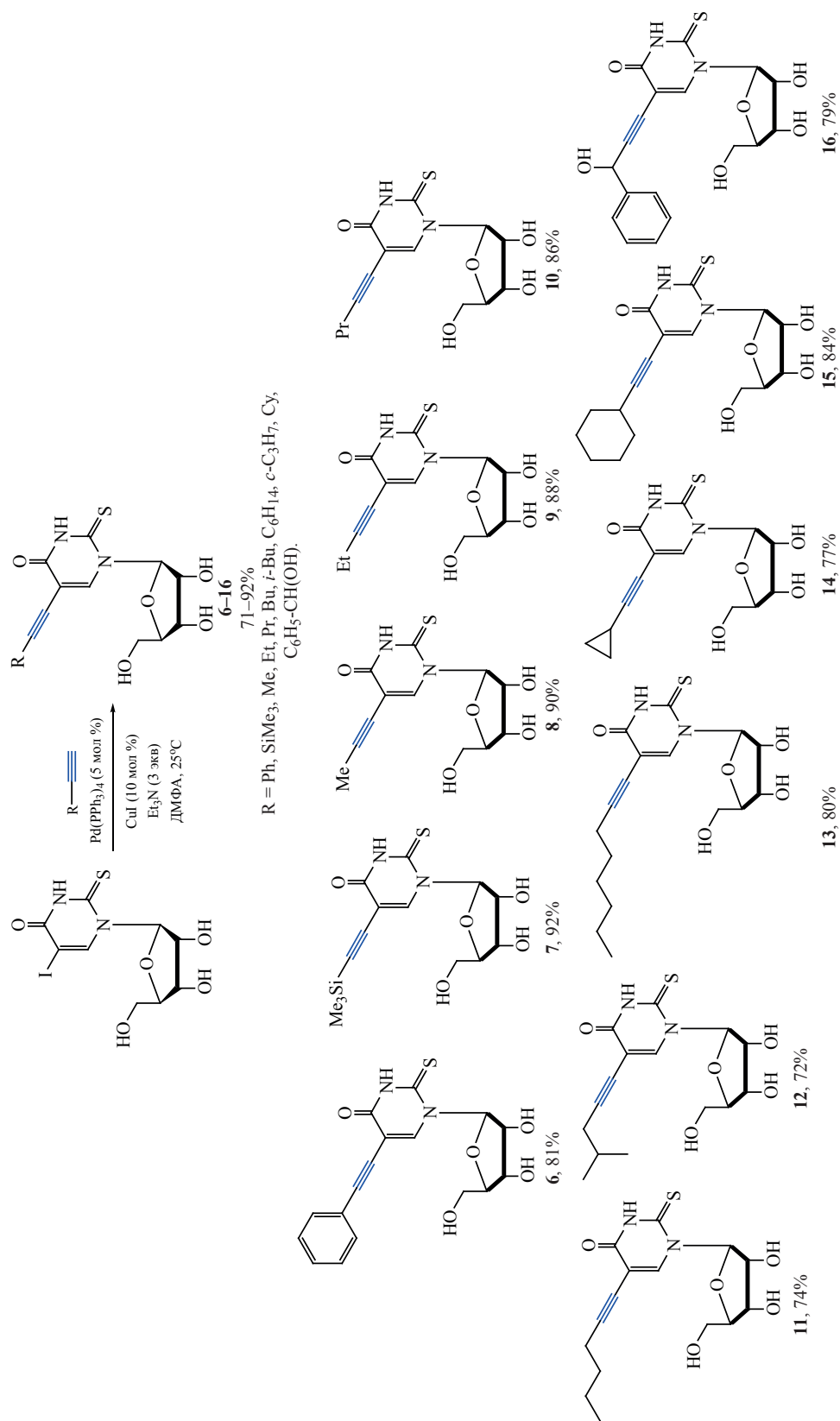
В нашем исследовании мы использовали комплекс тетракис(трифенилфосфин)палладия(0) в качестве катализатора реакции сочетания Соногаширы, который показал отличную активность в этом процессе. В ходе подбора и оптимизации условий реакции 5-йод-2-тиоуридина с фенилацетиленом установлено, что оптимальным растворителем и основанием для реакции являются *N,N*-диметилформамид (ДМФА) и триэтиламин (Et_3N). Следует отметить, что использование полярных растворителей [ДМФА, *N,N*-диметилацетамид (ДМА), ацетонитрил] связано исключительно с низкой растворимостью исходного субстрата из-за образования межмолекулярных водородных связей.

Использование других оснований приводило к низкой конверсии исходных реагентов или

снижению конверсии целевого продукта из-за образования побочных продуктов. За ходом реакции Соногаширы следили с помощью ТСХ и ВЭЖХМС (ESI-TOF), и во всех случаях происходила полная конверсия исходного 5-йод-2-тиоуридина, а тиогруппа в положении C^2 пиримидинового основания не влияла на выходы целевых соединений. Следует также отметить, что высокая эффективность каталитической системы позволила проводить реакцию при комнатной температуре и не защищать гидроксильные группы 5-йод-2-тиоуридина.

После установления оптимальных условий реакции кросс-сочетания Соногаширы между 5-йод-2-тиоуридином и фенилацетиленом был успешно синтезирован ряд 5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина, варьируя природу заместителей при $\text{C}\equiv\text{C}$ -связи терминального ацетилена, для установления связи структура-активность (схема 2). Также было обнаружено, что использование достаточно малого количества как катализатора, так и сокатализатора йодида меди(I)

Схема 2. Синтез C-5-замещенных производных 2-тиоуридина с помощью реакции кросс-сочетания Соногаширы с различными концевыми ацетиленами



позволило избежать как образования бициклического фурано[2,3-*d*]пиримидина, так и продукта окислительная димеризация исходного ацетилена, протекающая по механизму реакции Глазера.

Строение полученных соединений однозначно подтверждено методами ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения. Чистоту полученных 5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина определяли с помощью ВЭЖХМС и элементного анализа. Установлено, что значения химических сдвигов в спектрах ЯМР ^{13}C в ароматической области 5-алкинилуридинов сильно отличаются от фурано[2,3-*d*]пиримидинов. В масс-спектрах высокого разрешения значения m/z полностью соответствуют расчетным, а полученные фрагментации также подтверждают образование целевых соединений.

Полученные 5-алкинил-2-тиоуридины **6–16** оценивали *in vitro* против *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) с помощью использованием количественного теста с реагентом «аламаровый синий» (МАВА-тест) в концентрациях от 0.1 до 100 мкг/мл. Рифампицин, изониазид

и D-циклосерин были использованы в качестве веществ контрольной группы. Результаты испытаний *in vitro* для производных 5-алкинил-2-тиоуридина описаны в таблице как процентное ингибирование при различных концентрациях и минимальной концентрации, обеспечивающей 50% ингибирование (MIC_{50}).

Данные МАВА-теста на антимикобактериальную активность в различных средах показали (см. таблицу), что большинство синтезированных производных 5-алкинилзамещенных-2-тиоуридина обладают высокой эффективностью ингибирования изученных клеточных линий, в особенности соединения, имеющие объемный алкил или ароматический заместитель в положении C^5 пиримидинового кольца. Полученные данные коррелируют с нашими предыдущими исследованиями, посвященными 5-алкинилзамещенным производным урацила и уридина [13]. Наибольшую активность проявили 5-фенил-**6**, 5-циклопропил-**14**, 5-циклогексил-**15** и 5-фенил-(3-гидрокси-3-фенилпроп-1-ин-1-ил)-**16** этинил-2-тиоуридины и показали значения MIC_{50} 0.2–1.5 мкг/мл соответственно.

In vitro оценка соединений **6–16** в отношении BCG и H37Rv-TB в различных средах (MIC_{50} в мкМ)

Соединение	Мол. масса	Рассчит. коэф. липофильности ^a	<i>M. bovis</i> (BCG)			<i>M. tuberculosis</i> (H37Rv)		
			GAS	GAST	7H12	GAS	GAST	7H12
6	360.07	0.57	0.8	1.1	1.7	1.1	1.3	1.5
7	356.09	0.43	—	—	—	—	—	—
8	298.06	–1.26	32.1	32.4	33.1	34.6	35.1	35.3
9	312.08	–0.73	28.9	29.5	29.8	29.3	29.7	30.4
10	326.09	–0.20	27.8	28.1	28.5	28.0	28.3	28.7
11	340.11	0.32	11.2	11.5	12.0	12.1	12.8	13.2
12	340.11	0.19	10.9	11.2	11.6	11.6	11.9	12.4
13	368.14	1.38	12.4	12.8	13.4	12.2	12.6	13.4
14	324.08	–0.82	0.63	0.71	0.75	0.59	0.62	0.68
15	366.12	0.86	0.39	0.42	0.47	0.41	0.44	0.50
16	390.09	–1.60	0.28	0.32	0.36	0.34	0.37	0.42
Рифампицин	822.95	3.71	0.81	0.67	0.39	0.84	0.77	0.80
Изониазид	137.14	–0.67	0.93	0.78	0.72	0.95	0.97	1.01
D-циклосерин	102.09	–1.19	5.1	5.3	5.6	5.2	5.4	5.7

^a Коэффициент липофильности рассчитан программой ChemDraw версия 14.0

Замена фенильного кольца на 3-гидрокси-3-фенилпроп-1-ин-1-ильный фрагмент в 5-алкинильной боковой цепи привела к значительному улучшению активности против обеих микобактерий. Повышенная активность **16**, возможно, связана с усилением взаимодействия (H-связывания) гетероарильного кольца с микобактериальными ферментами. Следует отметить, что наличие тиогруппы в положении C² пиримидинового кольца значительно повышает антимикобактериальную активность в отношении *Mycobacterium bovis* и *Mycobacterium tuberculosis* (H37Rv) по сравнению с нашими предыдущими результатами и эталонными соединениями, из чего можно сделать вывод, что дальнейшие исследования в этой области являются перспективным и весьма актуальными.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все реагенты и растворители были получены и очищены в соответствии со стандартными методиками. Используемые реактивы были приобретены в Sigma-Aldrich Co. и использованы без дополнительной очистки, если не указано иное. Дихлорметан (ДХМ) и метанол осушали гидридом кальция в атмосфере аргона, *N,N*-диметилформамид (ДМФА) осушали пятиокисью фосфора в атмосфере аргона, все растворители хранили под аргоном.

2-Тиоурацил, 1-*O*-ацетил-2,3,5-три-*O*-бензоил-β-*D*-рибофураноза, гексаметилдисалазан (ГМДС), триметилхлорсилан (ТМХС), тетрагидрохлорид олова(IV), метоксид натрия, ионообменная смола dowex 50X8, йодид меди(I), тетракис(трифенилфосфин)палладий(0), триэтиламин (ТЭА), фенилацетилен, этилтриметилсилан, циклопропилацетилен, пропин, бутин-1, пентин-1, гексин-1, октин-1, циклогексилацетилен, 1-фенил-2-пропин-1-ол, 4-метил-пентин-1 производства фирмы ABCR Chemical и Merck использовали без дополнительной очистки.

Спектры ЯМР ¹H (600 МГц) и ¹³C (150 МГц) зарегистрированы на спектрометре Bruker Ascend 600 (Германия) в ДМСО-*d*₆ и CDCl₃, внутренний стандарт – ТМС (тетраметилсилан) (0.00 м.д., ДМСО-*d*₆: 2.50 м.д., CDCl₃: 7.26 м.д. для ядер ¹H; ДМСО-*d*₆: 39.50 м.д., CDCl₃: 77.00 м.д. для ядер ¹³C), температура измерения ЯМР – 25°C. ТСХ

проводили с использованием пластин Merck Silica F₂₅₄, элюент – ДХМ, проявитель – УФ-излучение. Масс-спектры высокого разрешения (HRMS) были зарегистрированы с использованием ионизации электроспреем (Bruker LC-QTOF maXis II). Элементный анализ выполнен на автоматическом CHNS-анализаторе Euro Vector EA-3000 (Италия).

2-Триметилсилилтио-4-триметилсилилоксипиримидин (2). Суспензию производного урацила **1** (1.28, 10 ммоль) в 30 мл 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазана (ГМДС) и 1 мл триметилсилилхлорида кипятили с обратным холодильником в течение 5 ч до получения прозрачного раствора. Раствор охлаждали, и избыток ГМДС удаляли при пониженном давлении (на ротационном испарителе). Силилированное производное урацила выдерживали под аргоном до дальнейшего использования. Небольшой образец маслянистого сиропа растворяли в CDCl₃ и проверяли на полное силилирование методом ЯМР-спектроскопии. Выход 2.70 г (99%), белый порошок. Спектр ЯМР ¹H (600 МГц, CDCl₃), δ, м.д.: 0.33 с (9H), 0.44 с (9H), 6.3 д (1H, *J* 5.6 Гц), 8.1 д (1H, *J* 5.8 Гц). Спектр ЯМР ¹³C (150 МГц, CDCl₃), δ, м.д.: 0.10, 0.25, 106.0, 145.3, 157.64, 167.49. Масс-спектр (HRMS), *m/z*: 273.0872 [*M* + H]⁺. C₁₀H₂₀N₂OSSi₂. *M* + H 273.0868.

2-Тио-1-(2',3',5'-три-*O*-бензоил-β-*D*-рибофуранозил)(3H)пиримидин-2,4-дион (3). Силилированное производное урацила **2** (1.36 г, 5 ммоль), выдержанное в атмосфере аргона, растворяли в 50 мл 1,2-дихлорэтана и 1.43 г (0.65 мл, 5.5 ммоль) SnCl₄ (10% избыток) добавляли к раствору при интенсивном перемешивании. Затем к смеси по каплям добавляли раствор 1-*O*-ацетил-2,3,5-три-*O*-бензоил-β-*D*-рибофуранозы (4.4 г, 8.8 ммоль), в 50 мл 1,2-дихлорэтана до получения слегка желтоватого раствора. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 5 ч, реакцию контролировали методом ТСХ (дихлорметан–метанол, 9:1). Полученный раствор выливали в насыщенный водный раствор NaHCO₃ при интенсивном перемешивании и затем оставляли на ночь. Суспензию фильтровали через силикагель и гель дважды промывали 50 мл этилацетата и дважды 100 мл хлороформа. Органическую фазу отделяли, сушили над безводным Na₂SO₄, выделяли с помощью колоноч-

ной хроматографии на силикагеле и выпаривали досуха. Остаток выделяли при помощи перекристаллизации из этанола с получением белого порошка или кристаллов. Выход 2.46 г (86%), белый порошок. Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 4.72 д (2H, J 4.7 Гц), 4.85 к (1H, J 5.1 Гц), 5.83 т (1H, J 6.1 Гц), 5.8–5.9 м (1H), 5.97 д (1H, J 8.2 Гц), 7.22 д (1H, J 4.7 Гц), 7.4–8.0 м (16H), 12.7 с (1H). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 63.63, 70.23, 73.88, 79.50, 90.19, 107.36, 128.54–134.05, 140.56, 159.43, 164.55, 164.65, 165.58, 176.16. Масс-спектр (HRMS), m/z : 573.1281 [$M + \text{H}$] $^+$. $\text{C}_{30}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$. $M + \text{H}$ 573.1287.

2-Тио-1- β -D-рибофуранозил(3H)пиримидин-2,4-дион (4). Бензоилированное производное нуклеозида **3** (69 мг, 1.2 ммоль) растворяли в смеси 20 мл абсолютного CH_3OH и 3.9 мл 5%-ного метанолового раствора NaOCH_3 . Раствор выдерживали при перемешивании при комнатной температуре в течение 3 ч и завершение реакции определяли методом ТСХ (дихлорметан–метанол, 3:1).

Нейтрализация раствора была достигнута при добавлении ионообменной смолы DOWEX-50 WX-8 (протонированная форма), предварительно промытой CH_3OH . После чего смолу отфильтровали, выпарили CH_3OH и добавили 20 мл воды. Метиловый эфир бензойной кислоты (или уксусной кислоты) экстрагировали 2 раза по 30 мл диэтиловым эфиром и водную фракцию лиофилизировали для получения незащищенного нуклеозида. Выход 29 мг (93%), белый порошок. Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 3.60 м (2H), 3.88 м (1H), 3.95 к (1H, J 4.6 Гц), 4.04 к (1H, J 4.4 Гц), 5.07 д (1H, J 5.0 Гц), 5.2 т (1H, J 4.5 Гц), 5.37 д (1H, J 5.3 Гц), 5.95 д (1H, J 8.1 Гц), 6.53 д (1H, J 3.7 Гц), 8.14 д (1H, J 8.1 Гц), 12.50 с (1H). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 60.03, 69.12, 74.71, 84.80, 92.74, 106.56, 141.13, 159.73, 176.53. Масс-спектр (HRMS), m/z : 261.0514 [$M + \text{H}$] $^+$. $\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. $M + \text{H}$ 261.0500.

5-Иод-2-тиоуридин (5). К суспензии 2-тиоуридина **4** (1 г, 2.60 ммоль) в сухом метаноле (50 мл), перемешиваемой при температуре 450°C, добавляли монохлорид йода (0.6 г, 3.90 ммоль) и выдерживали смесь в течение 2 ч при данной температуре. После завершения реакции (контроль ТСХ) процесс завершали добавлением насыщен-

ного водного раствора тиосульфата натрия и продукт экстрагировали дихлорметаном (2×100 мл). Органические экстракты объединяли и сушили над Na_2SO_4 , фильтровали и выпаривали на ротационном испарителе. Полученный неочищенный продукт добавляли к 7 н. раствору аммиака в метаноле при 0°C. Реакции давали медленно нагреться до комнатной температуры и перемешивали в течение 5 ч до получения желтого раствора. Затем растворитель удаляли на ротационном испарителе, а полученный остаток очищали методом колоночной хроматографии (дихлорметан–метанол, 9:1) на силикагеле. Выход 75 мг (75%), белый порошок. Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 3.68–3.65 м (1H, H^4), 3.69–3.55 м (2H, H^5), 4.08 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.46 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.55 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.82 д (1H, OH^3 , J 6.3 Гц), 4.99 д (1H, OH^2 , J 4.8 Гц), 6.03 д (1H, H^1 , J 3.7 Гц), 11.10 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 53.1, 62.5, 70.3, 71.0, 84.4, 87.3, 151.1, 152.4, 162.9. Масс-спектр (HRMS), m/z : 386.9472 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 28.12; Н 2.98; N 7.30. $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{IN}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 27.99; Н 2.87; N 7.25. $M + \text{H}$ 386.9467.

Общая методика получения С-5-алкинилзамещенных производных 2-тиоуридина с помощью палладий- и медь-катализируемой реакции Соногаширы. Тетракис(трифенилфосфин)-палладий(0) (5 мол %), йодид меди(I) (10 мол %), триэтиламин (3.0 экв) и источник ацетилена (1 экв) добавляли к раствору 5-иод-2-тиоуридина (1 экв) в безводном диметилформамиде (20 мл). Реакционную смесь оранжевого цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 8 ч в атмосфере азота (ход реакции контролировали методом ТСХ в метанол–трихлорметан (1:4; об/об). После перемешивания в течение 12 ч, к реакционной смеси добавляли 15 капель 5%-ной динатриевой соли ЭДТА/ H_2O и концентрировали содержимое в ротационном испарителе. Полученный остаток выделяли с помощью колоночной хроматографии на силикагеле, используя трихлорметан–метанол (95:5, об/об) в качестве элюента для получения целевых соединений в виде белого твердого вещества.

5-Фенилэтинил-2-тиоуридин (6). Получен из 50 мг **5** и 13.2 мг фенилацетилена согласно общей методике. Выход 34.5 мг (74%), белый порошок,

т.пл. 192°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 3.32–3.28 м (1H, H^4), 3.54–3.47 м (2H, H^5), 4.10 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.21 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.38 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.47 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.62 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.98 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 7.56–7.40 м ($5\text{H}_{\text{аром}}$), 11.05 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 61.5, 69.4, 70.1, 83.5, 86.4, 87.1, 89.2, 91.5, 122.4, 128.2, 128.6, 132.5, 150.7, 151.9, 161.7. Масс-спектр (HRMS), m/z : 361.0817 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 56.83; Н 4.60; N 7.81. $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 56.66; Н 4.47; N 7.77. $M + \text{H}$ 361.0813.

5-(Триметилсилил)этинил-2-тиоуридин (7).

Получен из 50 мг **5** и 12.7 мг этинилтриметилсилана согласно общей методике. Выход 36 мг (78%), белый порошок, т.пл. 181°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 0.18 с (9H, CH_3), 3.31–3.27 м (1H, H^4), 3.56–3.50 м (2H, H^5), 4.12 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.20 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.41 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.48 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.60 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.95 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.08 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 1.9, 60.9, 69.5, 70.0, 83.6, 86.5, 87.2, 89.3, 91.3, 150.4, 151.8, 161.5. Масс-спектр (HRMS), m/z : 357.0893 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 47.32; Н 5.79; N 7.90. $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{SSi}$. Вычислено, %: С 47.17; Н 5.66; N 7.86. $M + \text{H}$ 357.0896.

5-Метилэтинил-2-тиоуридин (8).

Получен из 50 мг **5** и 5.2 мг пропина согласно общей методике. Выход 29.7 мг (77%), белый порошок, т.пл. 186°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 1.82 с (3H, CH_3), 3.30–3.28 м (1H, H^4), 3.57–3.51 м (2H, H^5), 4.11 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.21 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.39 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.47 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.65 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.90 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.07 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 3.6, 60.7, 69.7, 70.2, 83.8, 86.6, 87.0, 89.4, 91.5, 150.3, 151.7, 161.4. Масс-спектр (HRMS), m/z : 299.0634 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 48.55; Н 4.89; N 9.44. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 48.31; Н 4.73; N 9.39. [$M + \text{H}$] $^+$ 299.0657.

5-Этилэтинил-2-тиоуридин (9).

Получен из 50 мг **5** и 7 мг бутина-1 согласно общей методике. Выход 31.9 мг (79%), белый порошок, т.пл. 184°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 1.22 т (3H, CH_3 , J 7.5 Гц), 2.38 к (2H, CH_2 ,

J 7.5 Гц), 3.29–3.26 м (1H, H^4), 3.55–3.50 м (2H, H^5), 4.10 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.23 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.38 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.46 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.63 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.92 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.10 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 15.6, 28.9, 60.8, 69.9, 70.3, 83.7, 86.8, 87.1, 89.6, 91.3, 150.5, 151.8, 161.5. Масс-спектр (HRMS), m/z : 313.0821 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 50.14; Н 5.30; N 9.02. $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 49.99; Н 5.16; N 8.97. $M + \text{H}$ 313.0813.

5-(*n*-Пропил)этинил-2-тиоуридин (10).

Получен из 50 мг **5** и 8.8 мг пентина-1 согласно общей методике. Выход 33.8 мг (80%), белый порошок, т.пл. 187°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 1.08–0.98 м (3H, CH_3), 1.59–1.42 м (2H, CH_2), 2.26–2.07 м (2H, CH_2), 3.30–3.26 м (1H, H^4), 3.56–3.50 м (2H, H^5), 4.12 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.25 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.36 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.45 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.62 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.91 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.11 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 13.3, 20.4, 21.9, 60.7, 70.0, 70.2, 83.6, 86.7, 87.1, 89.7, 91.2, 150.4, 151.9, 161.3. Масс-спектр (HRMS), m/z : 327.0979 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 51.63; Н 5.71; N 8.69. $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 51.52; Н 5.56; N 8.58. $M + \text{H}$ 327.0970.

5-(*n*-Бутил)этинил-2-тиоуридин (11).

Получен из 50 мг **5** и 10.6 мг гексина-1 согласно общей методике. Выход 32.2 мг (73%), белый порошок, т.пл. 180°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 0.84 т (3H, CH_3 , J 7.0 Гц), 1.40–1.25 м (4H, 2CH_2), 2.31 т (2H, CH_2 , J 7.0 Гц), 3.31–3.25 м (1H, H^4), 3.52–3.48 м (2H, H^5), 4.09 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.22 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.33 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.41 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.59 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.89 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.12 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO}-d_6$), δ , м.д.: 14.3, 20.2, 23.2, 29.4, 60.6, 69.8, 70.1, 83.4, 86.5, 86.8, 89.5, 91.0, 150.4, 151.8, 161.1. Масс-спектр (HRMS), m/z : 341.1135 [$M + \text{H}$] $^+$. Найдено, %: С 53.12; Н 6.10; N 8.34. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: С 52.93; Н 5.92; N 8.23. $M + \text{H}$ 341.1126.

5-(Изобутил)этинил-2-тиоуридин (12). Получен из 50 мг **5** и 10.6 мг 4-метил-пентина-1 согласно общей методике. Выход 31.3 мг (71%), бе-

лый порошок, т.пл. 181°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 0.92 д (6H, CH_3 , J 6.4 Гц), 1.75 септет (1H, CH, J 6.4 Гц), 3.32–3.25 м (1H, H^4), 3.39 д (2H, CH_2 , J 6.5 Гц), 3.51–3.48 м (2H, H^5), 4.07 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.21 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.34 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.39 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.60 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.90 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.11 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 18.8, 30.8, 60.5, 69.8, 69.9, 70.2, 83.4, 86.4, 86.9, 89.6, 91.0, 150.3, 151.6, 160.8. Масс-спектр (HRMS), m/z : 341.1129 $[M + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 53.20; H 6.17; N 8.29. $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 52.93; H 5.92; N 8.23. $M + \text{H}$ 341.1126.

5-(*n*-Гексил)этинил-2-тиоурин (13). Получен из 50 мг **5** и 14.3 мг октина-1 согласно общей методике. Выход 37.2 мг (78%), белый порошок, т.пл. 178°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 0.90 т (3H, CH_3 , J 7.0 Гц), 1.38–1.27 м (6H, 3CH_2), 1.61–1.54 м (2H, CH_2), 2.38 т (2H, CH_2 , J 7.0 Гц), 3.33–3.27 м (1H, H^4), 3.49–3.46 м (2H, H^5), 4.09 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.22 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.33 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.40 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.58 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.91 (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.12 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 18.9, 20.2, 23.3, 29.5, 29.7, 32.3, 60.5, 70.2, 70.4, 83.5, 86.5, 87.1, 89.8, 91.1, 150.4, 151.8, 160.6. Масс-спектр (HRMS), m/z : 369.1428 $[M + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 55.68; H 6.81; N 7.71. $\text{C}_{17}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 55.42; H 6.57; N 7.60. $M + \text{H}$ 369.1439.

5-Циклопропилэтинил-2-тиоурин (14). Получен из 50 мг **5** и 8,6 мг циклопропилацетилена согласно общей методике. Выход 31,5 мг (75%), белый порошок, т.пл. 188°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 0.71–0.65 м (2H, CH_2), 0.96–0.92 м (2H, CH_2), 1.89–1.84 м (1H, CH), 3.36–3.29 м (1H, H^4), 3.52–3.47 м (2H, H^5), 4.12 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.25 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.36 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.44 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.61 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.96 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.15 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 2.7, 13.4, 60.7, 70.3, 70.6, 83.6, 86.7, 87.4, 89.9, 91.3, 150.6, 152.0, 160.9. Масс-спектр (HRMS), m/z : 325.0817 $[M + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 51.99; H 5.11; N 8.73. $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 51.84; H 4.97; N 8.64. $M + \text{H}$ 325.0813.

5-Циклогексилэтинил-2-тиоурин (15). Получен из 50 мг **5** и 14 мг циклогексилацетилена согласно общей методике. Выход 36 мг (76%), белый порошок, т.пл. 191°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 1.10–1.03 м (2H, CH_2), 1.16–1.11 м (1H, CH), 1.27–1.21 м (2H, CH_2), 1.69–1.62 м (1H, CH), 1.77–1.71 м (4H, 2CH_2), 1.95–1.90 м (1H, CH), 3.37–3.29 м (1H, H^4), 3.53–3.47 м (2H, H^5), 4.14 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.26 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.37 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.45 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.60 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.95 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 11.14 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 2.7, 13.4, 26.2, 26.5, 33.1, 42.1, 60.9, 70.4, 70.7, 83.7, 86.7, 87.3, 90.0, 91.4, 150.8, 152.1, 160.8. Масс-спектр (HRMS), m/z : 367.1288 $[M + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 55.92; H 6.23; N 7.80. $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 55.72; H 6.05; N 7.64. $M + \text{H}$ 367.1283.

5-(3-Фенил-3-гидрокси)этинил-2-тиоурин (16). Получен из 50 мг **5** и 17.1 мг 1-фенил-2-пропин-1-ола согласно общей методике. Выход 36.4 мг (72%), белый порошок, т.пл. 185°C (разл.). Спектр ЯМР ^1H (600 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 3.24 с (1H, OH), 3.34–3.28 м (1H, H^4), 3.52–3.47 м (2H, H^5), 4.12 к (1H, H^3 , J 6.0 Гц), 4.26 д (1H, OH^5 , J 5.5 Гц), 4.35 т (1H, H^2 , J 5.8 Гц), 4.46 д (1H, OH^3 , J 6.5 Гц), 4.62 д (1H, OH^2 , J 4.9 Гц), 5.40 т (1H, CH, J 2.2 Гц), 5.93 д (1H, H^1 , J 3.8 Гц), 7.56–7.23 м ($5\text{H}_{\text{аром}}$), 11.15 с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C (150 МГц, $\text{DMCO-}d_6$), δ , м.д.: 14.5, 60.7, 61.9, 70.1, 70.6, 83.9, 86.8, 87.5, 90.3, 91.6, 126.8, 127.2, 129.1, 139.8, 150.5, 152.0, 160.7. Масс-спектр (HRMS), m/z : 391.0920 $[M + \text{H}]^+$. Найдено, %: C 55.47; H 4.72; N 7.27. $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$. Вычислено, %: C 55.38; H 4.65; N 7.18. $M + \text{H}$ 391.0919.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (грант Президента РФ № МК-1003.2022.1.3).

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Платонова Яна Борисовна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6846-3421>

Кириллова Валерия Арамовна, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-6149-3484>

Волов Александр Николаевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6389-6372>

Савилов Сергей Вячеславович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5827-3912>

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report. *World Health Organization*. Geneva, Switzerland. **2021**.
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Report. *World Health Organization*. Geneva, Switzerland. **2014**.
3. Zumla A., Nahid P., Cole S.T. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*, 388–404. doi 10.1038/nrd4001
4. Kloppe M., Warren R.M., Hayes C., van Pittius N.C.G., Streicher E.M., Muller B., Sirgel F.A., Chabula-Nxiweni M., Hoosain E., Coetzee G., Trollip A.P. *Emerg. Infect. Dis.* **2013**, *19*, 449–455. doi 10.3201/eid1903.120246
5. Slomski A. *J. Am. Med. Assoc.* **2013**, *309*, 1097–1098. doi 10.1001/jama.2013.1802
6. Koul A., Arnoult E., Lounis N., Guillemont J., Andries K. *Nature*. **2011**, *469*, 483–490. doi 10.1038/nature09657
7. Fernandes G.F.S., Jornada D.H., Souza P.C., Man Chin C., Pavan F.R., Santos J.L. *Curr. Med. Chem.* **2015**, *22*, 3133–3161. doi 10.2174/0929867322666150818103836
8. Bloemberg G.V., Keller P.M., Stucki D., Trauner A., Borrell S., Latshang T., Coscolla M., Rothe T., Hönke R., Ritter C., Böttger E.C. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 1986–1988. doi 10.1056/NEJMc1505196
9. Zhang S., Chen J., Cui P., Shi W., Shi X., Niu H., Chan D., Yew W.W., Zhang W., Zhang Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2016**, *60*, 2542–2544. doi 10.1128/AAC.02941-15
10. Segala E., Sougakoff W., Nevejans-Chauffour A., Jarlier V., Petrella S. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2012**, *56*, 2326–2334. doi 10.1128/AAC.06154-11
11. Srivastav N.C., Manning T., Kunimoto D.Y., Kumar R. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 2045–2053. doi 10.1016/j.bmc.2006.12.032
12. Srivastav N.C., Rai D., Tse C., Agrawal B., Kunimoto D.Y., Kumar R. *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 6180–6187. doi 10.1021/jm100568q
13. Platonova Ya.B., Volov A.N., Tomilova L.G. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127351. doi 10.1016/j.bmcl.2020.127351
14. Shigi N. *Front. Genet.* **2014**, *5*, 1–11. doi 10.3389/fgene.2014.00067
15. Jackman J.E., Alfonzo J.D. *Wiley Interdiscip. Rev. RNA*. **2013**, *4*, 35–48. doi 10.1002/wrna.1144
16. Hilbert G.E., Johnson T.B. *J. Am. Chem. Soc.* **1930**, *52*, 4489–4494. doi 10.1021/ja01374a045

Synthesis and Antituberculosis Activity of New 5-Alkynyl Derivatives of 2-Thiouridine: Application of New Scaffold

Ya. B. Platonova^{a, *}, V. A. Kirillova^a, A. N. Volov^a, and S. V. Savilov^{a, b}

^a Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1/3, Moscow, 119991 Russia

^b Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky prosp., 31, Moscow, 119071 Russia

*e-mail: knoposk@gmail.com

Received October 1, 2023; revised October 13, 2023; accepted October 15, 2023

We herein describe new potent inhibitors of mycobacteria based on 5-substituted 2-thiouridine derivatives. A series of new 5-alkynyl-substituted 2-thiouridine derivatives were synthesized via palladium-catalysed Sonogashira cross-coupling reaction of 5-iodo-2-thiopyrimidine base with terminal acetylenes with good yields in DMF at room temperature. It was found that sulfur atom in C² position of pyrimidine ring had no impact on yields of target compounds. All obtained compounds were evaluated for their antimycobacterial activity against *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis* at concentrations of 0.1–100 µg/ml using MABA test. Synthesized nucleosides showed high antimycobacterial activity against *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium tuberculosis*. The obtained MIC₅₀ values of 2-thionucleosides **14**, **15** and **16** (0.28–0.75 µg/ml) significantly exceed characteristics of reference drug rifampicin, D-cycloserine and isoniazid, which gives prerequisites for further more detailed studies.

Keywords: 2-thiouridine, antimycobacterial activity, tuberculosis, Sonogashira reaction