

# СИНТЕЗ И ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МАФЕДИНА, ОБЛАДАЮЩЕГО НЕЙРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, И РОДСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

© 2021 г. Н. Ю. Сипкина<sup>а</sup>, В. Н. Юсковец<sup>а</sup>, Н. М. Чернов<sup>а,\*</sup>, Г. Л. Старова<sup>б</sup>, И. П. Яковлев<sup>а</sup>

<sup>а</sup> Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет,  
ул. Профессора Попова 14/А, Санкт-Петербург, 197376 Россия

<sup>б</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 198504 Россия  
\*e-mail: nikita.chernov@pharminnotech.com

Поступило в Редакцию 19 июля 2021 г.  
После доработки 9 августа 2021 г.  
Принято к печати 10 августа 2021 г.

Разработан и оптимизирован метод синтеза 6-гидрокси-3-фенил-2-(фениламино)пиримидин-4(3H)-она (мафедина) без применения этилатов щелочных металлов. Получены его родственные соединения в качестве возможных примесей в целевом продукте. Разработаны хроматографические условия для совместного определения родственных примесей мафедина методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием. Методом ВЭЖХ-ESI/MS установлена структура продукта разложения мафедина в растворе.

**Ключевые слова:** пиримидин, мафедин, ВЭЖХ-анализ

**DOI:** 10.31857/S0044460X21090080

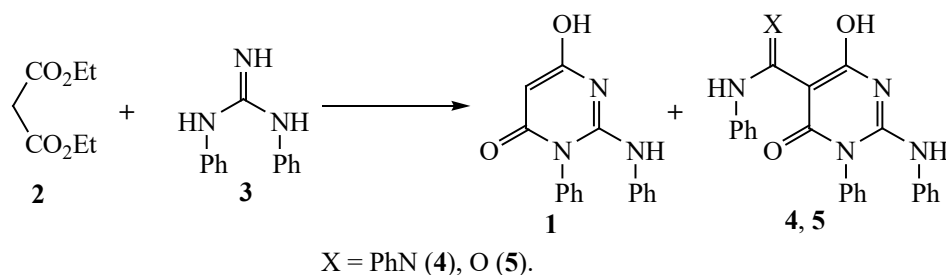
Пиримидиновый фрагмент является важным структурным блоком большого числа биологически активных веществ, что связано как с распространенностью этой гетероциклической системы, так и со способностью пиримидинов выступать миметиками первичных и вторичных метаболитов [1–3]. В частности, мафедин [6-гидрокси-3-фенил-2-(фениламино)пиримидин-4(3H)-он, **1**], применяемый в виде натриевой соли, показал себя эффективным нейротерапевтическим средством и альфа-2-адреномиметиком [4, 5]. В связи с этим актуальной задачей является оптимизация синтеза данного вещества и его стандартизация, которая подразумевает в том числе синтез и анализ возможных родственных примесей.

Впервые соединение **1** было получено взаимодействием 1,3-дифенилгуанидина **2** с малоновым эфиром **3** в классических условиях синтеза пири-

мидинов – при катализе этилатом натрия или калия [6], что обуславливает высокую пожароопасность такого процесса при реализации его в промышленных условиях. Исходя из этого, мы исследовали взаимодействие реагентов **2** и **3** в условиях высокотемпературной циклизации с использованием более доступных и безопасных катализаторов (схема 1, табл. 1).

Из данных табл. 1 следует, что наиболее оптимальным растворителем для синтеза соединения **1** является диметилформамид. Так, проведение реакции без растворителя, несмотря на наименьшее время процесса, является технологически неприемлемым из-за затвердевания реакционной массы ближе к концу выдержки, а применение *о*-ксилола заметно увеличивает время реакции. Также видно, что увеличение температуры процесса выше 150°C вызывает резкое увеличение количества

Схема 1.



примеси **4**, которая является продуктом ацилирования мафедина **1** еще одной молекулой дифенилгуанидина **3**. Отделить ее от продукта **1** удалось за счет ее низкой растворимости в растворе щелочи. Аналогично, применение триэтиленгликоля привело к выделению побочного пиримидина **5**, который, по-видимому, образуется из примеси **4** под действием остаточной или атмосферной влаги.

Важным явился и вопрос выбора основного катализатора для проведения данного процесса. Наилучшие результаты в этом качестве показал гидрокарбонат калия (табл. 1, оп. № 2–6), взятый в эквимольных количествах для высвобождения реагента **3** из соли с мафедином **1**. Повышение основности катализатора (оп. № 7) привело к резкому снижению выхода целевого продукта **1** за счет активации побочной реакции ацилирования, которая приводит к примеси **4**. С этим результатом коррелирует и использование избытка высокоосновного реагента **3** в качестве катализатора (оп. № 1), которое привело, с одной стороны, к снижению

выхода мафедина **1**, а с другой – к его загрязнению дифенилгуанидином **3**. Снижение выхода мы связываем с образованием примеси **4**, которую оказалось сложно выделить препаративно из-за избытка вещества **3**. Гидрокарбонат натрия (оп. № 8) также показал себя хуже аналогичной калиевой соли, что объясняется большей жесткостью иона натрия [7].

Необычный результат был получен при попытке проведения синтеза мафедина **1** в условиях кислотного катализа *n*-толуолсульфокислотой (*p*-TSA). При этом с выходом 27% был выделен бипиридиин **6** (схема 2). Помимо того, что соединение **6** было охарактеризовано с помощью спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и масс-спектрометрии, его строение было доказано методом РСА (рис. 1). Можно предложить два пути образования димера **6** (схема 2). Согласно пути *a*, образующийся в реакционной массе мафедин **1** ацилируется малоновым эфиром **2**, после чего идет замыкание второй пиримидиновой системы. С другой стороны, в рамках пути *b* может протекать димеризация мало-

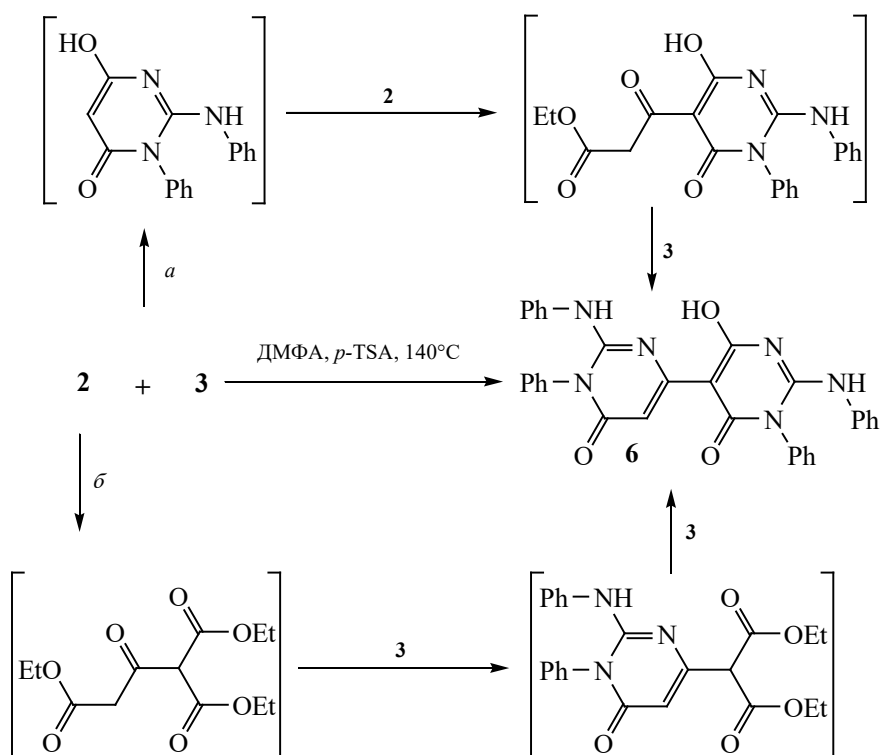
Таблица 1. Оптимизация параметров синтеза мафедина **1**

| № опыта | Соотношение <b>2:3</b> | Растворитель     | Катализатор<br>(1.05 экв.)     | <i>T</i> , °C | Время, ч | Выход <sup>a</sup> , % |                  |          |
|---------|------------------------|------------------|--------------------------------|---------------|----------|------------------------|------------------|----------|
|         |                        |                  |                                |               |          | <b>1</b>               | <b>4</b>         | <b>5</b> |
| 1       | 1:2                    | –                | –                              | 145±5         | 0.5      | 79                     | н/о <sup>b</sup> | н/о      |
| 2       | 1:1                    | –                | KHCO <sub>3</sub>              | 145±5         | 0.5      | 88                     | 2                | –        |
| 3       | 1:1                    | <i>o</i> -Ксилол | KHCO <sub>3</sub>              | 145±5         | 3        | 85                     | 4                | –        |
| 4       | 1:1                    | ДМФА             | KHCO <sub>3</sub>              | 145±5         | 1.5      | 86                     | 3                | –        |
| 5       | 1:1                    | ДМФА             | KHCO <sub>3</sub>              | 155±5         | 1        | 72                     | 11               | –        |
| 6       | 1:1                    | Триэтиленгликоль | KHCO <sub>3</sub>              | 200±5         | 0.5      | 23                     | –                | 34       |
| 7       | 1:1                    | ДМФА             | K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | 145±5         | 1.5      | 65                     | 22               | –        |
| 8       | 1:1                    | ДМФА             | NaHCO <sub>3</sub>             | 145±5         | 1.5      | 32                     | 52               | –        |

<sup>a</sup> Считая на 1,3-дифенилгуанидин **3**.

<sup>b</sup> Не определен.

Схема 2.



нового эфира **2**, после чего эфир ацетонтрикарбоновой кислоты последовательно взаимодействует с двумя молекулами дифенилгуанидина **3**.

Подводя промежуточный итог, можно заключить, что оптимальным вариантом синтеза мафедина **1** является взаимодействие малонового эфира **2** с симметричным дифенилгуанидином **3** в диметилформамиде в присутствии  $\text{KHCO}_3$  при  $145 \pm 5^\circ\text{C}$ . Для повышения растворимости и биодоступности мафедина **1** было удобно превратить его в натриевую соль обычным методом – взаимодействием с раствором гидроксида натрия [8].

Для установления чистоты мафедина **1** нами была разработана методика определения примесей методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием, в ходе которой были подобраны хроматографические условия для разделения предполагаемых примесей, включая как исходные соединения (1,3-дифенилгуанидин **3**) так и возможные побочные продукты реакции. Среди последних следует отметить соединения **4–6** и продукт гидролиза гуанидина **3** – 1,3-дифенил-

мочевины **7**. Для этого нами была использована хроматографическая колонка с привитыми октадецильными группами, подходящая для анализа основных соединений, и подвижная фаза, состоящая из смеси ацетонитрила и 0.1%-ной фосфорной кислоты с целью полного протонирования всех возможных примесей. Для улучшения эффективности и селективности разделения компонентов пробы, содержащей все вышеперечисленные при-

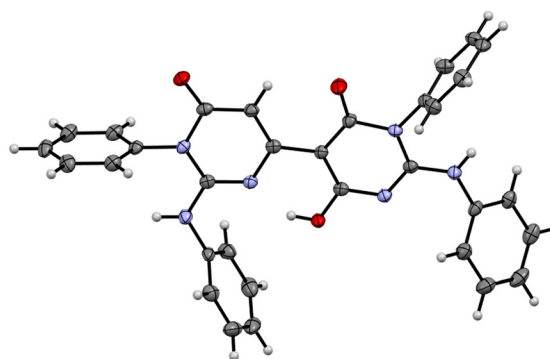

 Рис. 1. Общий вид молекулы соединения **6** в кристалле.

**Таблица 2.** Хроматографические характеристики пиков мафедина **1** и примесей **3–7** с концентрацией каждого компонента 0.01 мг/мл

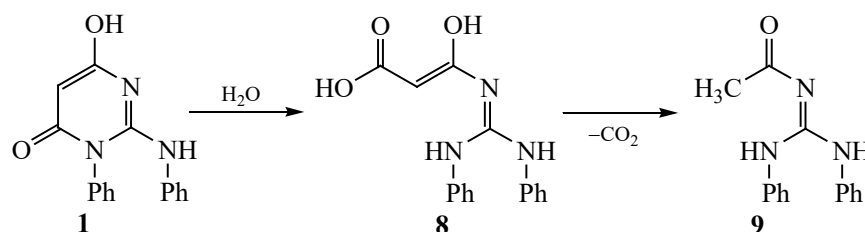
| Время удерживания $t_R$ , мин | Компонент | Площадь пика $S$ , $\mu\text{Au}\cdot\text{с}$ | Число теоретических тарелок $N$ | Асимметрия $As$ | Разрешение $Rs$ |
|-------------------------------|-----------|------------------------------------------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|
| 9.62                          | <b>3</b>  | 400684                                         | 15760                           | 1.99            | –               |
| 10.51                         | <b>1</b>  | 336847                                         | 34818                           | 1.48            | 3.33            |
| 14.44                         | <b>7</b>  | 325237                                         | 80377                           | 1.40            | 18.33           |
| 15.88                         | <b>6</b>  | 270340                                         | 66138                           | 1.50            | 6.37            |
| 17.76                         | <b>5</b>  | 269941                                         | 108148                          | 1.44            | 8.15            |
| 19.94                         | <b>4</b>  | 273337                                         | 18330                           | 2.30            | 5.41            |

меси и мафедин **1**, хроматографирование осуществляли в градиентном режиме, увеличивая элюирующую силу подвижной фазы. Характеристики пиков, полученные в описанных хроматографических условиях представлены в табл. 2 (типичные хроматограммы приведены в Дополнительных материалах).

Нами установлено, что при длине волны  $\lambda$  250 нм отклик спектрофотометрического детектора для всех примесей находится в пределах  $\pm 20\%$  [9] относительно отклика мафедина **1**. В связи с этим оценку содержания примесей в испытуемых растворах вели относительно среднего значения площади пика мафедина **1**, полученного из хроматограмм раствора сравнения с концентрацией 0.001 мг/мл, что соответствует содержанию примеси 0.1% для испытуемых растворов с концентрацией 1.0 мг/мл, которое является допустимым согласно требованиям Российских и международных нормативных документов [10]. Относительные стандартные отклонения времени удерживания и площади пика мафедина (**1**) при этом составили 0.11 и 1.25% ( $n = 5$ ) соответственно. Используя вышеописанную методику для анализа полученных образцов мафедина **1**, а также для

установления сроков годности растворов мафедина **1**, мы установили, что содержание примесей в образцах мафедина **1** составляет менее 0.1%. Это подтверждается отсутствием пиков примесей на типичной хроматограмме раствора мафедина **1** с концентрацией 1.0 мг/мл.

Однако при повторных испытаниях того же самого раствора после 60 минут экспозиции на хроматограмме был обнаружен дополнительный пик неидентифицированной примеси со временем удерживания около 9.3 мин. Для установления структуры примеси нами были разработаны хроматографические условия, подходящие для использования масс-спектрометрического детектора с ионизацией методом электроспрей. Для этого мы заменили 0.1%-ный раствор фосфорной кислоты на 0.1%-ный раствор муравьиной кислоты. Для уменьшения скорости потока использовали хроматографическую колонку с внутренним диаметром 2.1 мм. Масс-спектр регистрировали в режиме полного ионного тока (SCAN) при положительной ионизации в диапазоне  $m/z$  85–600. В масс-спектре неизвестной примеси со временем удерживания 4.67 мин присутствуют два основных сигнала со значениями  $m/z$  298 и 254, первый из которых со-

**Схема 3.**

ответствует молекулярному иону  $[M + H]^+$  соединения **8**, образовавшегося в результате гидролиза и раскрытия пиримидинового кольца (схема 3). В то же время, наиболее вероятно, что пик с  $m/z$  254 принадлежит иону  $[M + H]^+$  вещества **9**, образующегося в результате декарбоксилирования примеси **8** в условиях съемки масс-спектра.

Таким образом, нами были разработаны методики ВЭЖХ со спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детектированием для установления чистоты и идентификации примесей мафедина. Натриевая соль мафедина, получаемая по разработанному и оптимизированному методу, содержит менее 0.1% родственных примесей. При хранении в растворе происходит разложение мафедина с раскрытием пиримидиновой системы.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР  $^1H$  и  $^{13}C$  в ДМСО- $d_6$  зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance III (400 и 100 МГц соответственно) с использованием остаточного сигнала дейтерированного растворителя как внутреннего стандарта. Масс-спектры с положительной ионизацией методом ESI записаны на спектрометре PerkinElmer SQ 300. Температуры плавления определяли капиллярным методом и не корректировали. Растворители очищали и сушили обычными методами.

**Рентгеноструктурный анализ.** Монокристаллы соединения **6** были выращены из метанола. Исследование выполнено на дифрактометре Supernova, Dual, Cu at zero, Atlas при 100(2) К. Расшифровка структуры выполнена с использованием программ Olex2 [11], SHELXS [12] и SHELXL [13]. Кристаллы моноклинные,  $C_{32}H_{24}N_6O_3 \cdot 2CH_3OH$ ,  $M$  605.65, пространственная группа  $P2_1/c$ ;  $a$  10.5879(4),  $b$  17.7778(6),  $c$  16.7129(7) Å,  $\beta$  104.748(4)°,  $V$  3042.2(2) Å<sup>3</sup>,  $Z$  4,  $\mu(MoK_{\alpha})$  0.091 мм<sup>-1</sup>,  $d_{выч}$  1.320 г/см<sup>3</sup>. Измерено 16111 отражений ( $6.172^\circ \leq 2\theta \leq 54.998^\circ$ ), из них 6913 уникальных ( $R_{int}$  0.0291,  $R_{\sigma}$  0.0475), которые были использованы во всех расчетах;  $R_1$  0.0547 [ $I > 2\sigma(I)$ ],  $wR_2$  0.1376 (все данные). Результаты РСА зарегистрированы в Кембриджском центре кристаллографических данных (CCDC 1944540).

**Оптимизация синтеза 6-гидрокси-3-фенил-2-(фениламино)пиримидин-4(3H)-она (1).**

Смесь 75 г (0.47 моль) малонового эфира **2**, 100 г (0.47 моль) (или 200 г для оп. № 1) 1,3-дифенилгуанидина **3** и 0.5 моль катализатора (табл. 1) в 100 мл соответствующего растворителя нагревали, отгоняя выделяющиеся этанол и воду. Конец реакции определяли по прекращению отгона. Охлажденную реакционную массу выливали в раствор 50 г гидроксида калия в 1.5 л воды. Через 10 мин перемешивания отфильтровывали нерастворимый осадок (смесь соединений **3** и **4** в оп. № 1, пиримидин **4** в оп. № 2–5, 7, 8, соединение **5** в оп. № 6). К фильтрату прибавляли уксусную кислоту до pH 6.0, осадок мафедина **1** отфильтровывали, промывали водой и сушили. Условия реакций и выходы соединений указаны в табл. 1.

**6-Гидрокси-3-фенил-2-(фениламино)пиримидин-4(3H)-он (1).** Т. пл. 214–215°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 5.04 с (1H, H<sup>5</sup>), 7.12 м (1H, Ph), 7.30 м (2H, Ph), 7.37 м (4H, Ph), 7.48–7.61 м (3H, Ph), 7.73 с (1H, NH), 10.93 уш. с (1H, OH). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta_C$ , м. д.: 81.60, 124.90, 125.03, 128.74, 129.60, 129.88, 130.35, 135.37, 138.50, 152.93, 164.04, 169.32. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{отн}$ , %): 280 (100)  $[M + H]^+$ .

**4-Гидрокси-6-оксо-N,N',1-трифенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-5-карбоксимидамид (4).** Т. пл. 159–161°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 6.88–6.96 м (6H, Ph), 7.04 м (4H, Ph), 7.15 м (1H, Ph), 7.32 м (2H, Ph), 7.45–7.61 м (7H, Ph), 7.87 с (1H, NH), 13.50 уш. с (2H, NH, OH). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta_C$ , м. д.: 84.92, 122.34, 123.21, 125.13, 125.25, 125.44, 128.54, 128.93, 129.82, 130.30, 134.76, 137.07, 138.27, 151.66, 158.66, 166.24, 173.68. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{отн}$ , %): 474 (100)  $[M + H]^+$ .

**4-Гидрокси-6-оксо-N,1-дифенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-5-карбоксамид (5).** Т. пл. 254–256°C. Спектр ЯМР  $^1H$ ,  $\delta$ , м. д.: 7.13 м (1H, Ph), 7.23 м (1H, Ph), 7.35 м (6H, Ph), 7.61 м (7H, Ph), 8.74 уш. с (1H, NH), 11.57 уш. с (1H, CONH), 15.54 уш. с (1H, OH). Спектр ЯМР  $^{13}C$ ,  $\delta_C$ , м. д.: 85.72, 120.66, 124.68, 126.34, 126.60, 128.71, 129.55, 129.88, 130.25, 130.57, 134.13, 137.33, 137.84, 154.07, 163.85, 166.66, 174.20. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{отн}$ , %): 399 (100)  $[M + H]^+$ .

**6'-Гидрокси-1,3'-дифенил-2,2'-бис(фениламино)-4,5'-бипиримидин-4',6(1H,3'H)-дион (6).** Смесь 8 г (0.05 моль) малонового эфира, 10.6 г

(0.05 моль) дифенилгуанидина и 1.9 г (0.01 моль) моногидрата *n*-толуолсульфокислоты нагревали при 200°C в течение 1 ч. К застывшей реакционной массе добавляли 30 мл ацетона и после кристаллизации отфильтровывали продукт **6** в виде белого порошка. Выход 3.6 г (27%), т. пл. 211–213°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 7.15 м (1H, Ph), 7.18 с (1H, H<sup>5</sup>), 7.29 м (7H, Ph), 7.41 м (4H, Ph), 7.47 м (2H, Ph), 7.51–7.61 м (6H, Ph), 8.14 с (1H, NH), 8.48 с (1H, NH), 16.36 с (1H, OH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 87.91, 96.86, 125.59, 125.94, 127.04, 127.28, 128.61, 128.74, 129.54, 129.69, 129.74, 130.01, 130.36, 130.39, 134.78, 135.06, 137.48, 137.81, 152.20, 152.66, 156.78, 161.99, 162.12, 172.15. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 541 (100)  $[M + \text{H}]^+$ , 563 (67)  $[M + \text{Na}]^+$ .

**6-Оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-4-олят натрия (1-Na).** К суспензии 70 г (0.25 моль) мафедина **1** в 300 мл воды прибавляли 2 н. раствор гидроксида натрия до растворения осадка (pH 10.0). Реакционную массу фильтровали и упаривали в вакууме до объема 50 мл. После охлаждения выпавший осадок отфильтровывали и сушили. Выход 64 г (85%), т. пл. 354–356°C. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м. д.: 4.01 с (1H, H<sup>5</sup>), 6.72 м (2H, Ph), 6.93 м (1H, Ph), 7.19–7.27 м (5H, Ph), 7.39 м (2H), 7.58 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $\delta_{\text{C}}$ , м. д.: 74.20, 122.09, 122.87, 126.74, 128.57, 129.87, 130.70, 139.37, 146.14, 149.44, 163.18, 165.13. Масс-спектр,  $m/z$  ( $I_{\text{отн}}$ , %): 280 (100)  $[M + \text{H}]^+$ .

**Методика определения содержания примесей в мафедине 1 методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием.** Хроматографическое разделение проводили с помощью жидкостного хроматографа Flexar (Perkin Elmer, США), снабженного четырехкомпонентным насосом, термостатом колонок и диодно-матричным детектором, на хроматографической колонке Lichrosphere RP Select B длиной 250 мм, внутренним диаметром 4.6 мм, размер частиц – 5 мкм. Объем пробы составил 20 мкл при скорости потока подвижной фазы 1.0 мл/мин и температуре термостата колонки 40°C. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.1%-го водного раствора фосфорной кислоты (элюент А) и ацетонитрила (элюент Б). Анализ осуществляли в градиентном режиме: в течение 2 мин элюировали при 85%

элюента А, затем за 15 мин содержание элюента А уменьшали до 10%, далее выдерживали еще 5 мин при 10% элюента А.

**Методика идентификации примесей в мафедине 1 методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием.** Хроматографическое разделение осуществляли с помощью жидкостного хроматографа Flexar FX15 (Perkin Elmer, США), снабженного двухкомпонентным насосом, термостатом колонок, спектрофотометрическим и масс-спектрометрическим детекторами, на хроматографической колонке Kromasil C18 длиной 150 мм, внутренним диаметром 2.1 мм с размером частиц 3.5 мкм. Объем пробы составил 20 мкл, при скорости потока подвижной фазы 0.3 мл/мин и температуре термостата колонки 40°C. В качестве подвижной фазы использовали смесь 0.1%-ого водного раствора муравьиной кислоты (элюент А) и ацетонитрила (элюент Б). Анализ осуществляли в градиентном режиме, при котором за 30 мин содержание элюента А уменьшали с 85% до 10%. В качестве масс-спектрометрического детектора использовали масс-спектрометр SQ300 (Perkin Elmer, США) с ионизацией электроспреем и квадрупольным масс анализатором. Съемку вели в режиме положительной ионизации в диапазоне  $m/z$  85–600 при скорости потока (азот) 15 л/мин и температуре 300°C.

В качестве растворителя для испытуемых образцов использовали подвижную фазу начального состава. Все анализируемые растворы фильтровали через мембранные капроновые фильтры с диаметром пор 0.45 мкм (Технофильтр, Россия).

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Сипкина Надежда Юрьевна, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7501-8254>

Юсковец Валерий Николаевич, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8674-725X>

Чернов Никита Максимович, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1278-8109>

## ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Оптимизация синтеза соединения **1** и синтез веществ **4–6** выполнены в рамках государственного задания № АААА-А20-120121790030-8. Результаты аналитической части работы получены

с использованием оборудования Аналитического центра Санкт-Петербургского химико-фармацевтического университета Министерства здравоохранения России в рамках проектов № 075-15-2021-685 и № 112-2019-0003 при финансовой поддержке Министерства образования и науки России.

# КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

# ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Дополнительные материалы для этой статьи доступны по doi 10.31857/S0044460X21090080 для авторизованных пользователей.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kumar S., Narasimhan B. // Chem. Cent. J. 2018. Vol. 12. P. 38. doi 10.1186/s13065-018-0406-5
2. Roopan S.M., Sompalle R. // Synth. Commun. 2016. Vol. 46. No. 8. P. 645. doi 10.1080/00397911.2016.1165254
3. Zhuang J., Ma S. // ChemMedChem. 2020. Vol. 15. P. 1875. doi 10.1002/cmdc.202000378
4. Sysoev Yu.I., Whaley A.K., Prikhodko V.A., Semivelichenko E.D., Eletskaia E.I., Luzhanin V.G.,

- Okovityi S.V. // Pharm. Chem. J. 2021. Vol. 54. No. 12. P. 1193. doi 10.1007/s11094-021-02342-y
5. Sysoev Yu.I., Meshalkina D.A., Petrov D.V., Okovityi S.V., Musienko P.E., Kalueff A.V. // Neurosci. Lett. 2019. Vol. 701. P. 234. doi 10.1016/j.neulet.2019.03.001
6. Skinner G.S., Reneberger J.M., Vogt H.C. // J. Am. Chem. Soc. 1957. Vol. 79. P. 6207. doi 10.1021/ja01580a027
7. Краснов К.А., Слесарев В.И. // ЖОрХ. 1997. Т. 33. Вып. 4. С. 601.
8. Юсковец В.Н., Чернов Н.М., Яковлев И.П., Оковитый С.В., Сысоев Ю.И., Анисимова Н.А. Пат. РФ 2669555 (2018).
9. Миронов А.Н., Бондарев В.П., Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Кулес В.Г., Лепехин В.К., Медуницын Н.В., Меркулов В.А., Сакаева И.В. Руководство по экспертизе лекарственных средств. М.: Гриф и К., 2013. Т. 2. 280 с.
10. Impurities in New Drug Substances Q3A (R2). International Conference on Harmonisation (ICH). London, 2006. 15 p.
11. Dolomanov O.V., Bourhis L.J., Gildea R.J., Howard J.A.K., Puschmann H. // J. Appl. Crystallogr. 2009. Vol. 42. P. 339. doi 10.1107/S0021889808042726
12. Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. (A). 2008. Vol. 64. P. 112. doi 10.1107/S0108767307043930
13. Sheldrick G.M. // Acta Crystallogr. (C). 2015. Vol. 71. P. 3. doi 10.1107/S2053229614024218

## Synthesis and Chromatographic Analysis of Mafedine with Neuroprotective Activity and Related Compounds

N. Yu. Sipkina<sup>a</sup>, V. N. Yuskovets<sup>a</sup>, N. M. Chernov<sup>a,\*</sup>, G. L. Starova<sup>b</sup>, and I. P. Yakovlev<sup>a</sup>

<sup>a</sup> St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical University, St. Petersburg, 197376 Russia

<sup>b</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, 198504 Russia

\*e-mail: nikita.chernov@pharminnotech.com

Received July 19, 2021; revised August 9, 2021; accepted August 10, 2021

A method for the synthesis of 6-hydroxy-3-phenyl-2-(phenylamino)pyrimidin-4(3H)-one (mafedine) without the alkali metal ethylates has been developed and optimized. Its related compounds were obtained as impurities in the target product. Chromatographic conditions have been developed for common related impurities of mafedine by HPLC with spectrophotometric detection. The structure of the degradation product of mafedine in solution was established by HPLC-ESI/MS.

**Keywords:** pyrimidine, mafedine, HPLC