ДОКЛАДЫ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК. НАУКИ О ЖИЗНИ, 2023, том 509, с. 170–176

УДК 577.113.3.017

СИНТЕЗ 1-[ω-(БРОМФЕНОКСИ)АЛКИЛ]-3-НАФТАЛЕНИЛМЕТИЛ-ПРОИЗВОДНЫХ УРАЦИЛА И ИХ АНАЛОГОВ КАК ВЕРОЯТНЫХ ИНГИБИТОРОВ РЕПЛИКАЦИИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА ЧЕЛОВЕКА

© 2023 г. М. П. Парамонова[1], Е. С. Гуреева[1], А. А. Озеров[1], R. Snoeck[2], G. Andrei[2], Д. А. Александров[3], А. Л. Хандажинская[4,*], М. С. Новиков[1], академик РАН С. Н. Кочетков[4,]**

Поступило 30.09.2022 г.
После доработки 17.11.2022 г.
Принято к публикации 17.11.2022 г.

Осуществлен синтез нового ряда 1-[ω-(бромфенокси)алкил]-производных урацила, содержащих в положении 3 остатка урацила нафтален-1-ил-, нафтален-2-ил-, 1-бромнафтален-2-илметильный, бензильный и антрацен-9-илметильный фрагмент. Были изучены противовирусные свойства синтезированных соединений в отношении цитомегаловируса человека. Было обнаружено, что соединение, имеющее в своем составе мостик, состоящий из пяти метиленовых групп, обладает высокой анти-цитомегаловирусной активностью *in vitro*.

Ключевые слова: производные урацила, синтез, противовирусная активность, цитомегаловирус человека

DOI: 10.31857/S2686738922700093, **EDN:** NAUWWD

ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирус человека (HCMV), являющийся одной из наиболее распространенных причин ряда инфекционных заболеваний, поражает Т-клетки и изменяет их иммунные свойства. Считается, что HCMV способствует развитию атеросклероза [1], иммунного старения [2], провоцирует воспалительные заболевания кишечника [3] и может вызывать развитие злокачественных опухолей благодаря онкомодулирующему эффекту [4, 5]. Вирус HCMV крайне опасен для беременных женщин и может привести к развитию тяжелых патологий у новорожденных: потере слуха, микроцефалии, умственной отсталости, гепатоспленомегалии и тромботической тромбоцитопенической пурпуре [6]. Как следствие, врожденная HCMV инфекция может закончиться потерей плода или смертью новорожденного [6, 7].

В настоящее время для лечения заболеваний, вызванных HCMV, применяются ингибиторы вирусной ДНК-полимеразы: ганцикловир, цидофовир и фоскарнет, а также их пролекарственные формы – валганцикловир и бринцидофовир [8]. Однако эти препараты вызывают множество побочных эффектов, которые включают токсическое воздействия на костный мозг (ганцикловир, валганцикловир и цидофовир) и почки (фоскарнет, цидофовир и бринцидофовир) [9, 10]. Кроме того, длительная терапия, проводимая при HCMV инфекции, может приводить к возникновению устойчивых вариантов HCMV [11]. Недавно были одобрены имеющие иной механизм действия летермовир и нуклеозидный аналог марибавир в качестве средств для профилактики HCMV-инфекции у пациентов с трансплантацией аллогенных стволовых клеток [12, 13]. Однако, несмотря на низкую токсичность, их использование также приводило к появлению резистентных к летермовиру и марибавиру вариантов HCMV [14]. По этой причине поиск новых высокоэффективных анти-HCMV препаратов является важной и актуальной задачей.

Список сокращений: HCMV – цитомегаловирус человека; ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита; ДМФА – *N*,*N*-диметилформамид.

[1] *Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия*
[2] *Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Herestraat 49 bus 1043, Leuven B-3000, Belgium*
[3] *Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия*
[4] *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, Россия*
**e-mail: khandazhinskaya@bk.ru*
***e-mail: snk1952@gmail.com*

Ранее нами была описана серия 1-[ω-(фенокси)алкил]-производных урацила, которые ингибировали репликацию HCMV в концентрациях, сравнимых с действием ганцикловира [15]. Введение в положение 3 пиримидинового кольца (4-феноксифенил)-ацетамидного фрагмента привело к усилению вирусингибиторных свойств [16]. В литературе были описаны 3-(3,5-диметилбензил)-производные 1-бензил- и 1-(пиридилметил)урацила, проявляющие двойную активность как в отношении ВИЧ-1, так и в отношении HCMV [17, 18]. Недавно нами был обнаружен ряд 1-циннамил-производных урацила, содержащих при атоме азота N^3 бензильный и нафтален-1-илметильный заместители, которые также обладали активностью в отношении ВИЧ-1 и HCMV [19]. Также высокую анти-HCMV активность проявили производные 1-[5-(4-бромфенокси)пентил]урацила, которые имели при атоме азота N^3 3-(4-оксохиназолин-3(4*H*)-ил)пропильный [20] или 3-[(4-метил-2-оксо-2*H*-хромен-7-ил)окси]пропильный заместитель [21].

В этой связи этим нами было сделано предположение о том, что наличие объемного заместителя у атома азота N^3 пиримидинового кольца дает соединения, обладающие высокой активностью в отношении HCMV. В рамках этой гипотезы нами был осуществлен синтез ряда 1-[ω-(фенокси)алкил]-производных урацила, содержащих нафталенилметильный заместитель в положении 3 остатка урацила.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Все реагенты были получены от компаний Sigma-Aldrich и Acros Organics и были использованы без предварительной очистки.

Общий метод получения 3-арилметил-1-[ω-(бромфенокси)алкил]- производных урацила 11–19 и 22–24. Суспензию 1-[ω-(4-бромфенокси)алкил]-производного урацила **1–7** или 1-[5-(4-бромфенокси)пентил]хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дион (**25**) (1.416 ммоль) и свежепрокаленного карбоната калия (0.3 г, 2.171 ммоль) перемешивали в растворе ДМФА (10 мл) при 80°C в течение 1 ч, охладили до комнатной температуры и добавили раствор бромметилнафталина **8–10**, бензилхлорида (**20**) или 9-(хлорметил)антраценом (**21**) (1.469 ммоль) в ДМФА (5 мл). Полученную смесь перемешивали при той температуре в течение 24 ч, упарили при пониженном давлении и остаток обработали водой (80 мл). Смесь экстрагировали 1,2-дихлорэтаном (4 × 20 мл), объединенный экстракт упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле, элюируя смесью этилацетат-1,2-дихлорэтан (1:1), фракции, содержащие продукт, объединяли и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из смеси этилацетат-гексан (1:1). Целевые соединения **11–19** и **22–24** были получены с выходами 74–89%.

1-[5-(4-Бромфенокси)пентил]хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дион (25). Суспензию хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона (4.0 г, 24.67 ммоль) и свежепрокаленного карбоната калия (0.86 г, 6.222 ммоль) перемешивали в растворе ДМФА (50 мл) при 80°C в течение 1 ч, добавили раствор 1-бром-4-[(5-бромпентил)окси]бензола (**26**) (1.99 г, 6.179 ммоль) в ДМФА (20 мл) и полученную смесь перемешивали при той температуре в течение 24 ч. Реакционную массу упарили при пониженном давлении, остаток обработали водой (100 мл) и экстрагировали 1,2-дихлорэтаном (4 × 50 мл), объединенный экстракт упаривали при пониженном давлении. Остаток нанесли на колонку с силикагелем и элюировали этилацетатом, фракции, содержащие продукт, объединяли и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из смеси изопропанол-гексан (1:1). Получили 1.7 г белого мелкокристаллического продукта. Выход 68%, т. пл. 178–180°C, R_f 0.80 (этилацетат).

1-(Нафтален-1-илметил)урацил (28). К раствору 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина, полученного из урацила (1.5 г, 13.38 ммоль), в безводном 1,2-дихлорэтане (50 мл) добавили 1-(бромметил)нафталин (**8**) (2.85 г, 13.50 ммоль). Полученную смесь кипятили с обратным холодильником с защитой от влаги воздуха в течение 36 ч. Реакционную массу охладили до комнатной температуры, обработали изопропанолом (10 мл), упарили при пониженном давлении на 2/3 объ-ема и разбавили гексаном (20 мл). Выпавший осадок отфильтровали и перекристаллизовали из смеси ДМФА-вода (2:1). Получили 2.26 г мелкокристаллического продукта белого цвета. Выход 67%, т. пл. 266–268°C (262–266°C лит.[21]), R_f 0.44 (этилацетат).

3-[5-(4-Бромфенокси)пентил]-1-(нафтален-1-илметил)урацил (27). Суспензию 1-(нафтален-1-илметил)урацил (**28**) (0.5 г, 1.982 ммоль) и свежепрокаленного карбоната калия (0.5 г, 3.618 ммоль) перемешивали в растворе ДМФА (10 мл) при 80°C в течение 1 ч, добавили раствор 1-бром-4-[(5-бромпентил)окси]бензола (**26**) (0.64 г, 1.987 ммоль) и полученную смесь перемешивали при той температуре в течение 24 ч. Реакционную массу упарили при пониженном давлении и остаток обработали водой (80 мл). Смесь экстрагировали 1,2-дихлорэтаном (4 × 20 мл), объединенный экстракт упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали флэш-хроматографией на силикагеле, элюируя смесью этилацетат-1,2-дихлорэтан (1:1), фракции, содержащие продукт, объединяли и упаривали в вакууме. Остаток кристаллизовали из смеси этилацетат-гексан (1:1). Получили 0.83 г мелкокристаллического продукта белого цвета.

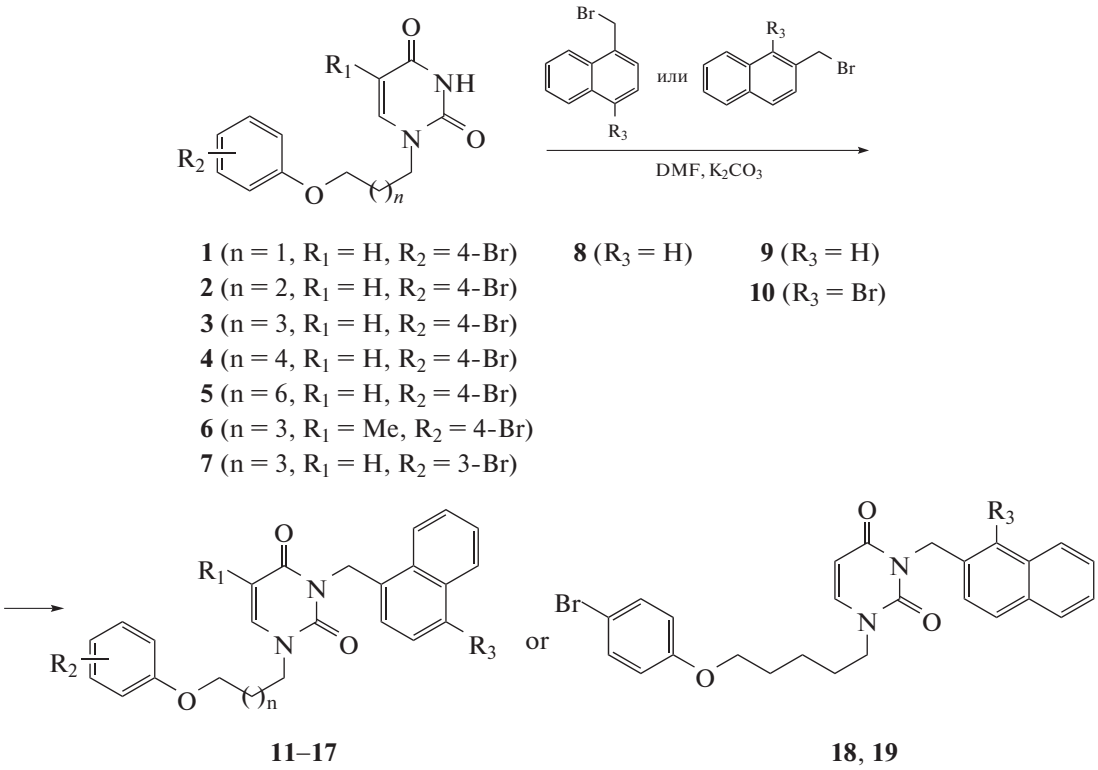

Схема 1

Выход 85%, т. пл. 92.5–93.5°C, R_f 0.65 (этилацетат-1,2-дихлорэтан, 1:1).

Противовирусные исследования и оценка цитостатической активности. Соединения были оценены в отношении следующих вирусов: цитомегаловирус человека (HCMV, штаммы AD-169 и Davis) и вирус ветряной оспы (VZV, штаммы OKA и YS). Противовирусные исследования основывались на ингибировании цитопатичного эффекта, вызванного вирусом или образования бляшек в культуре клеток легкого эмбриона человека (HEL) по опубликованной методике [22]. Исследования цитостатической активности также проводили методом, описанным ранее [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Получение исходных 1-[ω-(4-бромфенокси)алкил]-производных урацила **1–6** было описано ранее [15]. Синтез 1-[5-(3-бромфенокси)урацила (**7**) описан в работе Парамоновой и др. [21]. Получение целевых соединений нафталенилметильного ряда заключалось в алкилировании 1-[ω-(фенокси)алкил]-производных урацила **1–7** 1-(бромметил)нафталином (**8**, R_3 = H), 2-(бромметил)нафталином (**9**, R_3 = H) или 1-бром-2-(бромметил)нафталином (**10**, R_3 = Br) в ранее описанных условиях [18, 23]. В растворе ДМФА в присутствии K_2CO_3 образовывались соответствующие 1-[ω-(фенокси)алкил]-3-(нафтален-1-илметил)- **11–14** или 3-(нафтален-2-илметил)-производные урацила **18**, **19** (схема 1), выход которых был в пределах 74–89%.

Для изучения закономерности структура–противовирусная активность был синтезирован ряд аналогов. В частности, путем обработки урацила **1** бензилхлоридом (**20**) или 9-(хлорметил)антраценом (**21**) в растворе ДМФА в присутствии K_2CO_3 были получены 1-[5-(4-бромфенокси)пентил]-3-бензил- (**22**) и -(антрацен-9-илметил)урацилы (**23**), выход которых составил 81 и 79% (схема 2).

Еще одним аналогом явился 1-[5-(4-бромфенокси)пентил]-3-(нафтален-1-илметил)хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дион (**24**). Исходный 1-[5-(4-бромфенокси)пентил] хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дион (**25**) был получен путем алкилирования 4-х кратного мольного избытка хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-диона 1-бром-4-[(5-бромпентил)окси]бензола (**26**) в растворе ДМФА в присутствии K_2CO_3. 1-Замещенный хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дион (**25**) действием 1-(бромметил)нафталином (**8**) с выходом 77% превращали в целевое соединение **24** (схема 3).

В заключение был получен изомер соединения **14** – 3-[5-(4-бромфенокси)пентил]-1-(нафтален-1-илметил)урацил (**27**). Его синтез включал стадию получения 1-(нафтален-1-илметил)урацила (**28**)

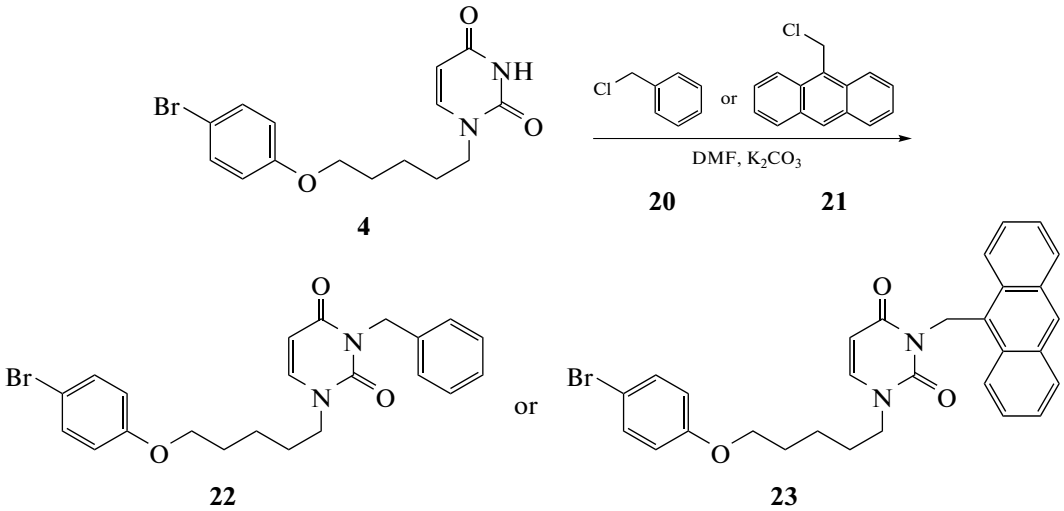

Схема 2

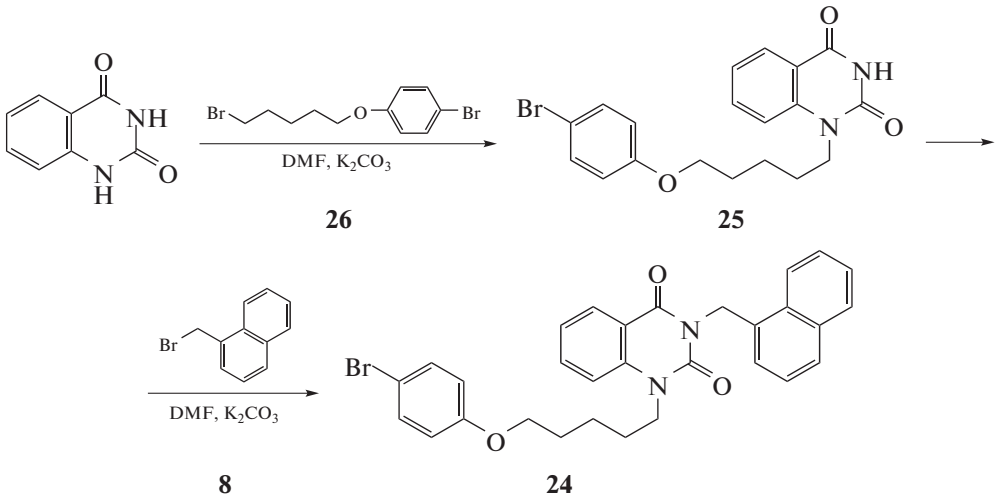

Схема 3

путем конденсации 2,4-бис(триметилсилилокси)пиримидина с 1-(бромметил)нафталином (**8**) при кипячении в растворе безводного 1,2-дихлорэтана. Урацил **28** в растворе ДМФА в присутствии K_2CO_3 обрабатывали 1-бром-4-[(5-бромпентил)окси]бензолом (**26**), что вело с выходом 85% к целевому соединению **27** (схема 4).

Активность соединений оценивали в отношении вируса герпеса простого типа 1, вируса герпеса простого типа 2, вируса ветряной оспы, вируса осповакцины, респираторно-синцитиального вируса, вируса везикулярного стоматита, вируса Коксаки B4, вируса парагриппа 3, вируса гриппа A (подтипы H1N1, H3N2), вируса гриппа B, реовируса-1, вируса Синдбис, вируса Пунта Торо, а также в отношении HCMV (штаммы AD-169 и Davis).

Активность соединений **11–19, 22–24** и **27** в отношении HCMV была изучена в культуре HEL-клеток. Результаты исследования представлены в табл. 1. Обнаружено, что соединение **13** проявило заметную анти-HCMV-активность: оно блокировало репликацию вируса в концентрации (EC_{50}) 2.19 μM (штаммы AD-169 и Davis), что заметно превосходило действие ганцикловира и было сравнимо с действием цидофовира. Соединения **11** и **12**, имеющие короткий мостик, оказались менее эффективными ингибиторами репликации HCMV. Их EC_{50} было в пределах 8.94–10.94 μM. В то же время удлинение мостика до шести и осо-

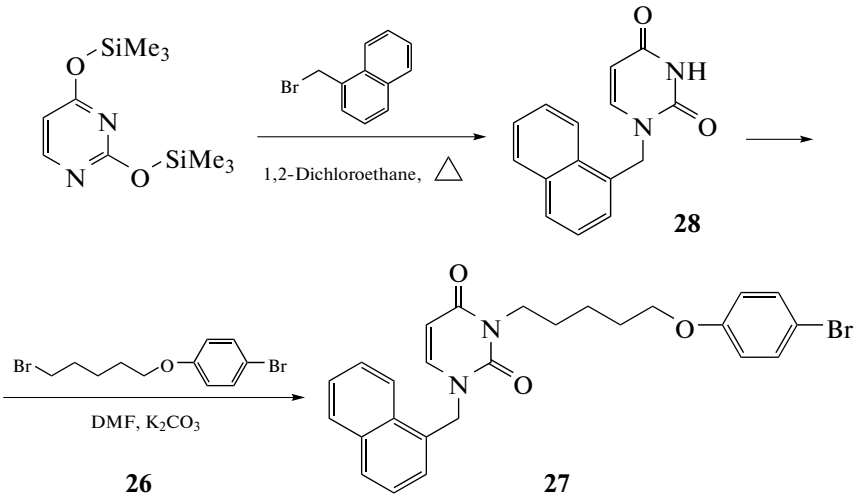

Схема 4

бенно до восьми метиленовых групп вело к усилению цитотоксичности (соединения **14** и **15**). Перемещение атома брома в 4-бромфеноксильном фрагменте из *пара*-положения в *мета*-положение вело к полной потере противовирусной активности (соединение **16**). Тиминовый аналог со-

Таблица 1. Анти-HCMV свойства 3-арилметил-1-[ω-(бромфенокси)алкил]-производных урацила **11**–**19**, **22**–**24** и **27**

Соединение	R_1	R_2	R_3	n	Противовирусная активность, EC_{50} (мкМ)[a]		Цитотоксичность (мкМ)	
					AD-169	Davis	Морфология клеток (МСС)[b]	Рост клеток (CC_{50})[c]
11	H	4-Br	H	1	9.78	10.94	100	>100
12	H	4-Br	H	2	8.94	8.94	100	10.82
13	H	4-Br	H	3	2.19	2.19	>100	75.7
14	H	4-Br	H	4	>4	8.94	20	–
15	H	4-Br	H	6	>0.8	1.79	4	–
16	H	3-Br	H	3	>20	>100	20	–
17	Me	4-Br	H	3	44.72	48.9	100	–
18	–	–	H	3	>4	>4	20	–
19	–	–	Br	3	>20	>20	100	–
22	–	–	–	–	10.9	15.3	100	>100
23	–	–	–	–	>4	>4	20	–
24	–	–	–	–	>100	>100	>100	–
27	–	–	–	–	36.57	44.72	>100	–
Ганцикловир	–	–	–	–	3.15	9.21	>350	>350
Цидофовир	–	–	–	–	1.49	1.49	>300	>300

[a] Эффективная концентрация, необходимая для снижения образования бляшек вируса на 50%.
[b] Минимальная цитотоксическая концентрация, которая вызывает микроскопически детектируемые изменения морфологии клеток.
[c] Цитотоксическая концентрация, необходимая для снижения клеточного роста на 50%.

единения **13** (соединение **17**) оказался более чем на порядок менее активным (EC_{50} 44.72 и 48.9 μM для штаммов AD-169 и Davis соответственно). Нафтален-2-ильный аналог **18** и его 1-бром-производное **19** не проявили какой-либо ингибиторной активности. По-видимому, пространственное положение нафталинового фрагмента играет важную роль в проявлении противовирусных свойств. Замена нафталинового фрагмента на бензильный дало соединение **22** с достаточно интересными свойствами, EC_{50} которого составила 10.9 μM (штамм AD-169) и 15.3 μM (штамм Davis). 3-(Антрацен-9-илметил)-производное **23** оказалось полностью неактивным. Замена остатка урацила на хиназолин-2,4(1*H*,3*H*)-дионовый дало также неактивное соединение **24**. Региоизомер соединения **13** – 3-[5-(4-бромфенокси)пентил]-1-(нафтален-1-илметил)урацил (соединение **27**) оказался более чем на порядок менее активным в отношении HCMV.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами обнаружен ряд высокоактивных анти-HCMV агентов, которые подавляли репликацию HCMV в концентрациях, превосходящих действие ганцикловира и сравнимых с действием цидофовира. Результаты данного исследования послужат основой для создания высокоэффективного лекарственного средства для лечения HCMV инфекций.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме “Производные нуклеиновых оснований как ингибиторы репликации SARS-CoV-2”. Биологическая часть работы поддержана KU Leuven.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Rodríguez-Goncer I., Fernández-Ruiz M., Aguado J.M.* // Expert Rev. Anti. Infect. Ther. 2020. V. 18. P. 113–125.
2. *Karrer U., Mekker A., Wanke K., Tchang V., Haeberli L.* // Exp. Gerontol. 2009. V. 44. P. 689–694.
3. *Jentzer A., Veyrard P., Roblin X., Saint-Sardos P., Rochereau N., Paul S., Bourlet T., Pozzetto B., Pillet S.* // Microorganisms. 2020. V. 8. P. 1078.
4. *Richardson A.K., Walker L.C., Cox B., Rollag H., Robinson B.A., Morrin H., Pearson J.F., Potter J.D., Paterson M., Surcel H.M., Pukkala E., Currie M.J.* // Clin. Transl. Oncol. 2020. V. 22. P. 585–602.
5. *Lv Y.L., Han F.F., An Z.L., Jia Y., Xuan L.L., Gong L.L., Zhang W., Ren L.L., Yang S., Liu H., Liu L.H.* // Intervirology. 2020. V. 63. P. 10–16.
6. *Plotkin S.A., Boppana S.B.* // Vaccine. 2019. V. 37. P. 7437–7442.
7. *Permar S.R., Schleiss M.R., Plotkin S.A.* // J. Virol. 2018. V. 92. P. e00030-18.
8. *Kotton C.N.* // Curr Opin Organ Transplant. 2019. V. 24. P. 469–475.
9. *Sellar R.S., Peggs K.S.* // Expert Opin. Biol. Ther. 2012. V. 12. P. 1161–1172.
10. *Faure E., Galperine T., Cannesson O., Alain S., Gnemmi V., Goeminne C., Dewilde A., Béné J., Lasri M., Lessore de Sainte Foy C., Lionet A.* // Medicine. 2016. V. 95. P. e5226.
11. *Tan B.H.* // Options Infect. Dis. 2014. V. 6. P. 256–270.
12. *El Helou G., Razonable R.R.* // *Infect. Drug Resist*. 2019. V. 12. P. 1481–1491.
13. *Papanicolaou G.A., Silveira F.P., Langston A.A., Pereira M.R., Avery R.K., Uknis M., Wijatyk A., Wu J., Boeckh M., Marty F.M., Villano S.* // Clin. Infect. Dis. 2019. V. 68. P. 1255–1264.
14. *Piret J., Boivin G.* // Antiviral Res. 2019. V. 163. P. 91–105.
15. *Novikov M.S., Babkov D.A., Paramonova M.P., Khandazhinskaya A.L., Ozerov A.A., Chizhov A.O., Andrei G., Snoeck R., Balzarini J., Seley-Radtke K.L.* // Bioorg. Med. Chem. 2013. V. 21. P. 4151–4157.
16. *Babkov D.A., Khandazhinskaya A.L., Chizhov A.O., Andrei G., Snoeck R., Seley-Radtke K.L., Novikov M.S.* // Bioorg. Med. Chem. 2015. V. 23. P. 7035–7044.
17. *Maruyama T., Kozai S., Yamasaki T., Witvrouw M., Pannecouque C., Balzarini J., Snoeck R., Andrei G., De Clercq E.* // Antivir. Chem. Chemother. 2003. V. 14. P. 271–279.
18. *Maruyama T., Demizu Y., Kozai S., Witvrouw M., Pannecouque C., Balzarini J., Snoecks R., Andrei G., De Clercq E.* // Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 2007. V. 26. P. 1553–1558.
19. *Novikov M.S., Valuev-Elliston V.T., Babkov D.A., Paramonova M.P., Ivanov A.V., Gavryushov S.A., Khandazhinskaya A.L., Kochetkov S.N., Pannecouque C., Andrei G., Snoeck R., Balzarini J., Seley-Radtke K.L.* // Bioorg. Med. Chem. 2013. V. 21. P. 1150–1158.
20. *Paramonova M.P., Khandazhinskaya A.L., Ozerov A.A., Kochetkov S.N., Snoeck R., Andrei G., Novikov M.S.* // Acta Naturae. 2020. V. 12. P. 134–139.
21. *Paramonova M.P., Snoeck R., Andrei G., Khandazhinskaya A.L., Novikov M.S.* // Mendeleev Commun. 2020. V. 30. P. 602–603.
22. *Snoeck R., Sakuma T., De Clercq E., Rosenberg I., Holy A.* // Antimicrob. Agents Chemother. 1988. V. 32. P. 1839–1844.
23. *Baker B.R., Kelley J.L.* // J. Med. Chem. 1970. V. 13. P. 458–461.

SYNTHESIS OF 1-[ω-(BROMOPHENOXY)ALKYL]-3-NAPHTHALENYLMETHYL DERIVATIVES OF URACIL AND THEIR ANALOGUES AS PROBABLE INHIBITORS OF HUMAN CYTOMEGALOVIRUS REPLICATION

M. P. Paramonova[a], E. S. Gureeva[a], A. A. Ozerov[a], R. Snoeck[b], G. Andrei[b], D. A. Aleksandrov[c], A. L. Khandazhinskaya[d], M. S. Novikov[a], and Academician of the RAS S. N. Kochetkov[d,#]

[a] *Volgograd State Medical University, Volgograd, Russian Federation*

[b] *Rega Institute for Medical Research, KU Leuven, Herestraat 49 bus 1043, Leuven B-3000, Belgium*

[c] *Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

[d] *Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, V.A. Engelhardt RAS, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: snk1952@gmail.com*

A synthesis of a new series of 1-[ω-(bromophenoxy)alkyl]-uracil derivatives containing in position 3 naphthalen-1-yl-, naphthalen-2-yl-, 1-bromonaphthalen-2-ylmethyl, benzyl, and anthracene 9-methyl fragment was carried out. The antiviral properties of the synthesized compounds were studied against human cytomegalovirus. It was found that the compound, which has in its composition a bridge consisting of five methylene groups, has a high anti-cytomegalovirus activity in vitro.

Keywords: uracil derivatives, synthesis, antiviral activity, human cytomegalovirus