Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

Міністерство охорони здоров'я України

лЬВІВСЬКИЙ НАЦіОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

імені ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО



На правах рукопису

**Кривошей Оксана Вікторівна**

**УДК 547.856.057/05:615.31**

**Cинтез, фізико-хімічні і біологічні властивості похідних (6-R-3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]­хіназолін-4-іл)оцтових кислот**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Львів 2009

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету Міністерства охорони здоров’я України

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор

**Коваленко Сергій Іванович,**

Запорізький державний медичний університет,

професор кафедри фармацевтичної хімії

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор

**Комариця Йосиф Дмитрович,**

Львівський національний медичний університет

імені Данила Галицького, професор кафедри

фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії

доктор хімічних наук, професор

**Українець Ігор Васильович,**

Національний фармацевтичний університет

професор кафедри фармацевтичної хімії

Захист відбудеться “25” червня 2009 року о 1200 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська 69.

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий “22” травня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Гасюк Г. Д.

**Загальна характеристика роботи**

**Актуальність теми.** Малеїновий ангідрид – перспективний реагент в органічній хімії, який широко використовується для побудови конденсо­ваних систем. Так, більшість циклічних дикарбонових кислот легко доступні шляхом [4+2]-циклоприєднання за Дільса-Альдером малеїнового ангідриду до ациклічних або циклічних дієнів. В реакціях з багатоцентровими N,N- та S,N-бінуклеофілами малеїновий ангідрид утворює різноманітні гетероцик­лічні системи (імідазоли, тіазоли, тіадіазоли тощо) з вільною метиленкар­боксильною групою. В той же час взаємодія малеїнового ангідриду з α-гідразиноазинами малодосліджена. Враховуючи наведене і високу практичну значимість реакції малеїнового ангідриду з заміщеними (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину, встановлення напрямків протікання реакції, а також опрацювання нових і зручних методів синтезу [1,2,4]тріазино-[4,3-*с*]-хіназолінової системи з вільною метиленкарбоксильною групою, як базового «структурного каркаса» для модифікації, дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук є актуальною задачею сучасної фармацевтичної хімії.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Представ­лена робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету за темами: «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду п'яти- та шестичленних азагетероциклів та створення на їх основі лікарських препаратів» (№ держ. реєстрації 0102U002863) та «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду заміщених та конденсованих похідних 1,2,4-тріазолу-(тріазину), хіназоліну і створення на їх основі лікарських препаратів» (№ держ. реєстрації 0107U005125).

**Мета і задачі дослідження.** Дисертаційна робота присвячена дослідженню реакції гетероциклізації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину малеїно-вим ангідридом, синтезу невідомих (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтових кислот та їх функціоналізації, а також вивченню фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Для досягнення мети необхідно було вирішити такі завдання:

* дослідити реакцію гетероциклізації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)­гідразину з малеїновим ангідридом та встановити за допомогою спектра­льних методів дослідження напрямок її перебігу;
* розробити препаративні методи синтезу естерів, амідів (3-оксо-3,4-ди-гідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти та встано-вити фактори, які впливають на цей процес;
* для одержання біологічно активних сполук із заданими фізико-хімічними та технологічними характеристиками і для встановлення

кореляції взаємозв’язку «будова-дія» синтезувати ряд солей (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти;

* для спрямованого пошуку протимікробних та протигрибкових засобів розробити метод синтезу гідразиду (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріа-зино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти, на основі якого одержати ряд відповідних іліденгідразидів;
* вивчити фізико-хімічні властивості (УФ-, ІЧ-, ЯМР-, хроматомас-, мас-спектри та рентгеноструктурний аналіз) синтезованих сполук і на основі даних фармакологічного скринінгу встановити деякі закономірності “будова-дія”.

*Об’єкт дослідження:* реакція гетероциклізації у синтезі (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтових кислот, реакції нуклеофільного заміщення, конденсації, нейтралізації тощо.

*Предмет дослідження:* (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]­хіназолін-4-іл)оцтові кислоти, одержані на основі заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину, як вихідні сполуки для пошуку біологічно активних сполук – потенційних лікарських засобів.

*Методи дослідження.* Експериментальні методи органічної хімії: синтез, фізико-хімічний аналіз із використанням ІЧ-, ЯМР-спектроскопії, хромато-мас- та мас-спектрометрії, дериватографії, елементного та рентгенострук-турного аналізу; фармакологічний скринінг *in vitro* та *in vivo*.

**Наукова новизна одержаних результатів.** На основі реакції гетеро-циклізації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангід-ридом вперше синтезовані невідомі (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино-[4,3-*с*]-хіназолін-4-іл)оцтові кислоти, для яких розроблені препаративні методи синтезу, проведена функціоналізація, встановлена будова синтезованих сполук, вивчені фізико-хімічні та біологічні властивості.

За допомогою спектральних методів та рентгеноструктурного аналізу встановлено, що результатом реакції гетероциклізації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангідридом за жорстких умов є (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтові кислоти або 1-[(3*H*-хіназолін-4-іліден)aміно]пірол-2,5-діони. Показано, що наведений процес є тандемом реакцій ацилювання з наступним нуклеофільним цикло-приєднанням за подвійним зв’язком з геометричним *цис-*розташуванням.

Встановлені закономірності перебігу реакції гетероциклізації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангідридом і показано, що на напрямок її протікання не впливають електронні ефекти замісників в ароматичному циклі, але суттєво впливають електронні ефекти замісника 2 положення піримідинового циклу хіназолінової системи.

Вивчена реакційна здатність (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти та її естерів по відношенню до нуклеофі-

льних реагентів (аміни, гідразин гідрат). З метою спрямованого пошуку протиракових, протимікробних та протигрибкових засобів синтезовані відповідні аміди та іліденгідразиди (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино-[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти.

В процесі виконання роботи синтезовано 80 сполук, із них 71 вперше, серед яких знайдені речовини з антиоксидантною, церебропротективною, анти-гіпоксичною, антиамнестичною, протираковою активністю, а також встановлений деякий зв’язок між хімічною будовою та фармакологічною дією.

Наукова новизна роботи підтверджена позитивним рішенням на деклараційний патент України на корисну модель (заявка u 2008 13275 від 17.02.2009 року).

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблені препаративні методи синтезу невідомих (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]-хіназолін-4-іл)оцтових кислот та їх функціональних похідних. Виявлені нові високоактивні сполуки з антиоксидантною, антигіпоксичною, антиамнестич-ною, нейропротекторною та протираковою активностями, щo свідчить про новизну та пріоритет досліджень.

Фрагменти роботи впроваджено у науковий та навчально-методичний процеси кафедри органічної хімії Національного фармацевтичного універ­ситету; відділу хімії гетероциклічних сполук НТК «Інститут монокристалів» НАН України; кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галиць­кого; лабораторії біотехнології фізіологічно активних речовин Запорізького національного університету; кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політех­ніка» та кафедри фармацевтичної хімії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (акти впровадження від 22.01.2008, 23.01.2008, 13.02.2008, 10.03.2008, 17.03.2008 та 23.12.2008).

**Особистий внесок здобувача.** У ході роботи над дисертацією автором особисто визначена мета дослідження, шляхи її реалізації, планування та виконання експериментальної частини роботи, проведена статистична обробка та узагальнення одержаних результатів, формування основних положень та висновків, які захищаються. Розроблені та визначені науково-методичні підходи щодо синтезу, встановлення будови та біологічних досліджень функціональних заміщених (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино-[4,3-*с*]-хіназолін-4-іл)оцтових кислот. Рентгеноструктурні дослід­ження проведено у співпраці з С. В. Шишкіною та О. В. Шишкіним (НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків). Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей.

**Апробація результатів дослідження.** Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на IV Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії (Дніпропетровськ, 2006), II Міжнародній науково-практичній конференції «Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок» (Харків, 2006), IX Конференції молодих учених та студентів-хіміків Південного регіону України (Одеса, 2006), XXI Українській конференції з органічної хімії (Чернігів, 2007), Всеукраїнському конгресі «Сьогодення та майбутнє фармації» (Харків, 2008), Українській науково-практичній конференції пам’яті д-ра хім. наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна (до 95-річчя з дня народження, Харків, 2009).

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 12 робіт, із них 6 статей у фахових виданнях, 6 тез доповідей на з’їздах, симпозіумах та науково-практичних конференціях.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація складається із вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літератури та додатків (6 с.). Загальний обсяг дисертації 152 сторінки. Робота ілюстрована 28 таблицями (19 с.), 25 схемами (12 с.) та 9 рисунками (4 с.). Перелік використаної літератури містить 173 джерела.

**Основний Зміст роботи**

У розділі 1 «Тріазинохіназолінові системи: методи синтезу, фізико-хімічні та біологічні властивості»проаналізовані та узагальнені літературні дані щодо методів синтезу [1,2,4]тріазино[2,3-с]- та [4,3-с]хіназолінів шляхом формування тріазинового циклу на бензпіримідиновій системі та піримідинового циклу на тріазиновій системі, розглянуті напрямки їх функціоналізації, фізико-хімічні та біологічні властивості.

**1. Синтез, фізико-хімічні властивості похідних (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтових кислот (розділ 2)**

Теоретично реакція заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину **1** з малеї­новим ангідридом може перебігати в різних напрямках. Першою стадією таких реакцій, безумовно, буде звичайне ацилювання з утворенням гідра-зидів **2** (шлях **А**), які надалі можуть циклодегідратуватися в 1-(хіназолін-4-іл)-1,2-дигідропіридазин-3,6-діони **3** (шлях **B**), 5-R-[1,2,4]тріазоло-[4,3-*с*]-хіназоліни **4** (шлях **C**) чи 1-(3*Н*-хіназолін-4-іліденаміно)пірол-2,5-діони **5** (шлях **D**) або ж піддаватися нуклеофільному циклоприєднанню з форму-ванням (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтових кислот **6** (шлях **E**).

Проведені нами експерименти показали, що за м’яких умов (етанол, пропанол-2, діоксан за кімнатної температури протягом 12 годин або за температури 60-80 °С протягом 30 хвилин) досліджувана реакція, як і передбачалось, приводить до відповідних гідразидів **2** (схема 1).

Схема 1



За відносно жорстких умов (льодяна оцтова кислота, ДМФА за темпе-ратури кипіння розчинника) відбуваються більш глибокі хімічні перетворення, причому за даними хроматомас-спектрометрії (рис. 1) у більшості розглянутих нами прикладів кінцевими продуктами є хіназолін-оцтові кислоти **6**, тобто реалізується шлях **Е** (схема 1). Лише у випадку гідразинів **1** з об’ємними замісниками в положенні 2 хіназолінового ядра (R = CF3, С6Н5) доступ до циклічної вторинної аміногрупи стає настільки ускладненим, що подальша трансформація здійснюється вже без її участі і проходить як повторне ацилювання аміно-групи гідразину з утворенням піроло-хіназолінів **5** (шлях **D**). Слід зазначити, що гідразиди **2** залежно від замісника зазнають аналогічних перетворень, що є однозначним підтверд-женням утворення саме цих сполук на першій стадії реакції (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразинів **1** з малеїновим ангідридом.



Рис. 1. Фрагмент хроматомас-спектру (АРСІ) сполуки **6.1**.

Додатковим підтвердженням будови синтезованих сполук є дані 1Н ЯМР-спектрів. Тоді, як 1Н ЯМР-спектри сполук **2** характеризуютьсянееквівалент-ними дублетами протонів -СН=СН-груп при 6.94-6.47 та 6.40-6.23 м.ч., які зберігають *цис*-конфігурацію (КССВ; *J* = 12.1-12.7 Гц) вихідного малеїно­вого ангідриду та уширеними трьома синглетами протонів 3-NH-групи, амідних та СООН-груп у слабопольній частині спектру, то сполуки **6,** на відмінувід сполук **2,** маютьхарактеристичний триплет протону Н-4 при 5,08-5.02 м.ч. (КССВ; *J* = 5.6-4.7 Гц), дублет СН2-протонів при 2,71-2.98 м.ч. (КССВ; *J* = 5.2-4.7 Гц) та два уширених слабопольних синглети протонів NH- та СООН-груп, що додатково підтверджує утворення (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтових кислот. В 1H ЯМР-спектрах сполук **5** характерним є поява cигналів двох магнітноеквівалентних протонів гетероциклу піролу в ароматичній частині спектру при 7.33 м.ч. (**5.1**, рис. 3) та 7.88 м.ч. (**5.2**), що говорить на користь утворення 1-[(2-R-3*H*-хіназолін-4-іліден)аміно]пірол-2,5-діонів (**5**). Мас-спектри (ЕУ) синтезова­них сполук додатково підтверджують їх будову (рис. 2).



Рис. 2. Основні напрямки фрагментації сполук **2.1**, **6.1** та **5.2.**

Для розширення синтетичного потенціалу сполук **6**, а саме їх одержання термолізом, нами проведено дериватографічне дослідження сполуки **2.1.**Результати досліджень показали (рис. 3), що до початку процесу розкладан-ня відбувається зміна структури кристалічної гратки. На це вказують екзотермічні зміни за 65, 115, 150 та 175 °С, а також ендотермічні процеси за 80, 130 та 165 °С, які не супроводжуються зміною маси зразка. Розкладання починається за 240 °С та являє собою складний процес, що перетинається. Згідно з кривою ТГ, втрата маси при цьому становить близько 16% (41 а.о.м.), тому термоліз як метод не може бути застосований для їх одержання.

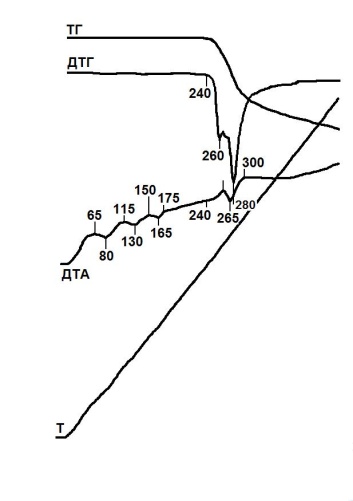


Рис. 3. Дериватограма (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразиду малеїнової кислоти (**2.1).**

Таким чином, заміщені (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину (**1**) з малеїновим ангідридом або відповідні гідразиди (**2**) в льодяній оцтовій кислоті формують хіназолін-оцтові кислоти (**6**) або 1-[(2-R-3*Н*-хіназолін-4-іліден)-аміно]пірол-2,5-діони (**5**). На напрямок протікання реакції гетероциклізації не впливають електронні ефекти замісника в ароматичному циклі, але суттєво впливають електронні ефекти замісника 2 положення піримідинового циклу хіназолінової системи.

Для розширення комбінаторної бібліотеки нових маловідомих гетеро-циклічних систем з вільною метиленкарбоксильною групою та подальшого вивчення впливу будови електрофільного реагенту на протікання даної реакції нами досліджена взаємодія (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину (**1.1**) зі сполуками, які містять ненасичені подвійні зв’язки. Проведена взаємодія сполуки **1.1** із 4-оксо-4-фенілбут-2-еновою кислотою в льодяній оцтовій кислоті або ДМФА призводить до утворення складно ідентифікованої за допомогою хроматомас-спектрів (АРСІ) суміші продуктів, які, на нашу думку, представляють собою продукти полімеризації (схема 2). Реалізувати зазначену гетероциклізацію, використовуючи в якості вихідної сполуки 4-феніл-4-[(3*Н*-хіназолін-4-іл)гідразоно]бут-2-енову кислоту (**7**) в зазначених умовах, також не вдалося. Тобто, гетероциклізація в даних випадках неможлива, по-перше, за рахунок менш виражених електрофільних властивостей атому Карбону ненасиченого залишку, а по-друге, неоднозначної геометричної ізомерії сполуки **7** (згідно зі спектральними даними).

Схема 2



Таким чином, гетероциклізація заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідра-зину (**1**) з малеїновим ангідридом у випадку формування хіназолін-оцтових кислот (**6**) являє собою тандем реакцій ацилювання з наступним нуклео-фільним циклоприєднанням за подвійним зв’язком, і, що важливо, з геометричним *цис-*розташуванням останнього.

Для однозначного доведення будови за допомогою рентгеноструктурного аналізу, а саме можливості протікання рециклізаційної ізомеризації за типом перегрупування Дімрота, та з метою спрямованого пошуку біологічно активних сполук серед нових малодосліджених [1,2,4]тріазино[4,3*-c*]хіна зо-лінових систем, нами поставлено за мету синтезувати ряд естерів хіназолін-оцтової кислоти **6.1**, яку вибрано для подальших досліджень як комерційно доступний об’єкт.

Синтез естерів **9** було здійснено двома методами, а саме: в середовищі відповідного спирту за умови кислотного каталізу (метод А) або в присут-ності тіонілхлориду (метод Б) (схема 3).

Схема 3



З метою розширення комбінаторної бібліотеки біологічно активних сполук нами була досліджена реакція етерифікації кислоти **6.1** 2-хлор­етанолом за методом Б (схема 3). В подальшому одержану сполуку **10** піддавали амінолізу, але одержати аміноестери **11** не вдалося.

ІЧ-спектри естерів **9, 10,** як і кислоти **6.1,** характеризуються коливаннями νNH-групи при 3199-3186 см-1 та супроводжуються смугою при 3074-3061 см-1, яка є комбінаційною смугою коливань νС=О та δNН-груп. Відмінністю естерів **9, 10** є коливання νС=О-групи при 1748-1729 см-1, смуга коливань νС–О-зв’язку при 1360-1300 см-1.

1H ЯМР-спектри естерів **9, 10** характеризуються сильнопольними сигналами аліфатичних груп, які залежно від замісника мають різне розщеп-лення. Крім того, характеристичними сигналами даних сполук є триплет Н-4 при 5.12-5.03 м.ч. з КССВ (*J* = 5.0-4.8-Гц), дублет СН2-протонів при 3.03-2.91 м.ч. з КССВ (*J* = 5.0-4.8 Гц), уширений слабопольний синглет протону 2-NH-групи при 11.00-10.87 м.ч. та сигнали хіназолінового циклу.

В хроматомас-спектрах (хімічна іонізація) синтезованих сполук **9, 10** реєструється високоінтенсивний пік квазимолекулярного іону [M] або [M-H]+. Для мас-спектру (ЕУ) естеру **9.1** на першому етапі є характерним викид з молекулярних іонів [М-Н]+ та [М] частинок CООСН3• і НСООСН3 (α-фрагментація) з утворенням іонів з *m/z* 214 (5,7%), 213 (54,4%) та 212 (100%). Подальший напрямoк фрагментації подібний до сполуки **6.1**.

Проведене рентгеноструктурне дослідження естеру **9.1** показало, що в результаті гетероциклізації утворюється [1,2,4]тріазино[4,3-c]хіназолінова система (рис. 4).

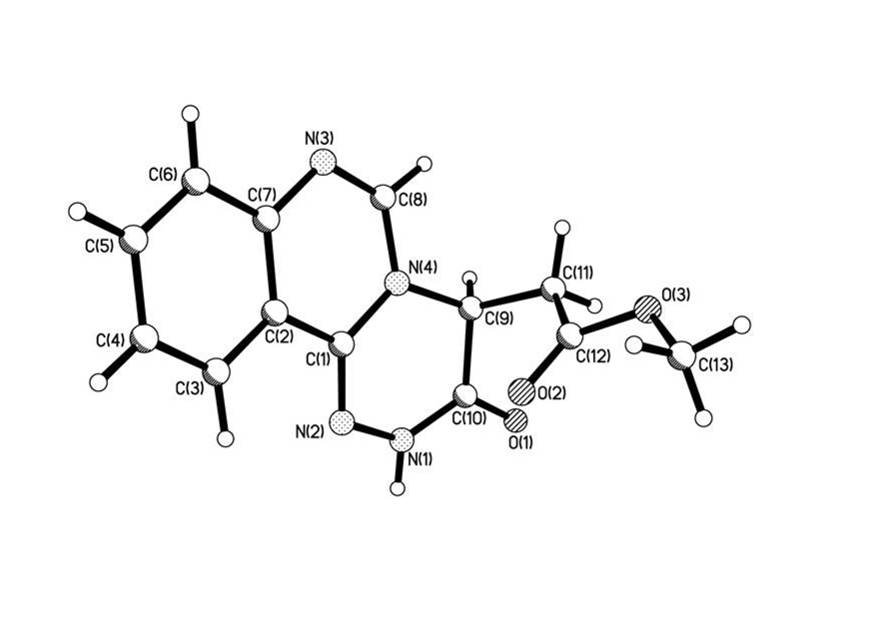


Рис. 4. Будова естеру **9.1** та схема нумерації атомів.

Біологічна дія більшості відомих лікарських препаратів – солей алкіл-(арил-, гетерил-)карбонових кислот, обумовлена або залежить не тільки від основної (фармакофорної) частини молекули, але й від наявності того чи іншого катіону. По-перше, це може бути пояснено значно кращою їх розчинністю, і, як правило, покращеними фармакокінетичними та фармакотехнологічними характери-тиками. Синтез солей **12.1** проведено взаємодією кислоти **6.1** з натрію гідроксидом, натрію гідрокарбонатом або калію карбонатом у водно-спиртовому середовищі (схема 4). Солі **12.2** синтезовано нагріванням кислоти **6.1** в етанолі або пропанолі-2 з відповідними амінами (схема 4).

Схема 4



ІЧ-спектри солей **12.1** та **12.2** відрізняються від спектрів кислоти **6.1** більш інтенсивними коливаннями асоційованих νNH та νОН-груп при 3563-3042 см-1, для яких характерний гіпсохромний зсув. Крім того, солі характер-ризуються смугою коливань νasСО-групи при 1643-1512 см-1 та інтенсивною смугою коливань νsСО-групи при 1480-1377 см-1. Цікаво відмітити, що у солей **12.2** наявні чіткі валентні коливання між 3200 та 3055 см-1, які характеризують первинну або вторинну аміногрупу катіонних компонентів.

**2. (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтова кислота та її естери в реакціях з нуклеофільними реагентами (розділ 3)**

Пошук протиракових засобів інтенсивно проводиться серед різноманіт­них гетероциклічних сполук з метою дослідження взаємозв’язку «структура-активність» з подальшою можливістю модифікації фармакологічного про-філю «структури-лідера». Пошук протипухлинних засобів серед похідних хіназоліну є актуальною проблемою, і безперечно цікавими об’єктами в даному плані є нові, маловідомі аміди (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти.

Результати проведених досліджень показали, що взаємодія естеру **9.1** з 25% розчином амоніаку за кімнатної температури протягом 7 діб приводить до утворення відповідного аміду **13.1**. Одержати метиламід **13.2** вдалося з відповідного естеру **9.1** та 70% спиртового розчину метиламіну в запаяній ампулі за температури 100 °С протягом 60 хвилин (схема 5).

Схема 5



Одержати аміди **14** через естер **9.1** нам не вдалося, що можна пояснити незначною електрофільністю атому Карбону естерної функції. Враховуючи зазначене, нами розроблені методи синтезу відповідних амідів **14** активацією карбоксильної групи кислоти **6.1**, а саме – використанням N,N´-карбонілді­імідазолу (СDI). В подальшому до утвореного імідазоліду кислоти додавали відповідний амін (схема 6).

Cхема 6



Цікаво відмітити, що взаємодія кислоти **6.1** з 2-аміноетанолом та 3-аміно­пропанолом-1 у безводному діоксані за карбонілдіімідазольним методом призводить до утворення суміші продуктів, яка представляє собою, згідно з даними хроматомас-спектрів, суміш аміду **15** та естеру **16**. Важливо відмі­тити, що з суміші продуктів шляхом кристалізації вдалося виділити відпо-відні аміди **15**. Проведена спроба зустрічного синтезу аміду **14.6** шляхом взаємодії вихідної сполуки **1.1** з N-фенілмалеїнімідом в спирті та льодяній оцтовій кислоті не призвела до бажаного результату (схема 6).

ІЧ-спектри амідів **13**, **14**, **15** мають смуги поглинань при 3199-3024 см-1 та 3387-3149 см-1, які характеризують амідний зв’язок, а також коливання νNH-групи при 1659-1628 см-1 (амід I) та δ NH-групи при 1613-1550 см-1 (амід II).

1Н ЯМР-спектри амідів **13**, **14**, **15** характеризуються триплетом Н-4 та дублетом СН2-протонів. Зазначені протони залежно від електронного ефекту замісників зміщені у сильне або слабке поле, а для сполук **13.1**, **14.6**-**14.8** протони СН2-групи проявляються як нееквівалентні дублети.

Аналіз хроматомас-спектрів показав, що аміди **13**, **14**, **15** характери­зуються високоінтенсивним піком квазимолекулярного іону [М-Н]+, а для сполук **13.1** та **13.2**, крім того, характерна фрагментація з утворенням іону з m/z 213, що пояснюється α-елімінацією кислоти та її похідних. Мас-спектри (ЕУ) амідів **14.3-14.6**, **14.10** мають подібну до кислоти **6.1** та естеру **9.1** фрагментацію молекулярного іону .

Гідразид хіназолін-оцтової кислоти **17** одержано гідразинолізом естеру **9.1** в середовищі етанолу за температури кипіння розчинника (схема 7). Незважаючи на те, що в реакції використовувався 2-5 кратний надлишок гідразин гідрату, у всіх випадках утворювалася сполука **17**.

Схема 7



Синтез іліденгідразидів **18** проводили шляхом конденсації гідразиду **17** із заміщеними бензальдегідами, 2-гідроксинафтален-1-карбальдегідом, антра­цен-9-карбальдегідом та фурфуролом в пропанолі-2 з додаванням каталі­тичної кількості кислоти хлористоводневої концентрованої (схема 8).

Схема 8



ІЧ-спектр сполуки **17** характеризується коливаннями νNH2-групи при 3323 см-1, νNh-групи при 3256 см-1 та νС=О-групи – при 1739 см-1. Крім того, в молекулі присутні широкі смуги коливань δNН-групи при 1657 см-1 (амід I) та 1633 см-1 (амід II). В ІЧ-спектрах сполук **18** відсутні коливання νNH2-групи при 3323 см-1, і спостерігаються високоінтенсивні смуги коливань νСH=N-групи при 1694-1659 см-1 та смуги коливань νNh-групи при 3197-3170 см-1.

1Н ЯМР-спектр сполуки **17**, окрімкласичного набору сигналів протонів хіназолінової системи, характеризується слабопольним синглетом протону 2-NH-групи при 10,92 м.ч., подвоєним синглетом протону гідразидної групи при 10,86/9,06 м.ч. та уширеним синглетом двох протонів при 3,56 м.ч., триплетом Н-4 при 5,11/5.03 м.ч. Цікавою особливістю спектру сполуки **17** є магнітнонееквівалентні дублети протонів -СН2-групи при 3,01 та 2,64 м.ч. Подвоєння в спектрі основних характеристичних протонів підтверджує гідразид-гідразонну таутомерію у ДМСО-d6 сполуки **17** (рис. 5).



Рис. 5. Гідразид-гідразонна таутомерія у ДМСО-*d6* сполуки **17**.

Для 1Н ЯМР-спектрів сполук **18** крім гідразид-гідразонної таутомерії характерна геометрична ізомерія за азометиновим зв’язком (рис. 6). Дане твердження насамперед пояснюється додатковим подвоєнням магнітно-нееквівалентних дублетів протонів -СН2-групи та триплету Н-4 у сильному полі. В слабкому полі знаходяться подвоєні синглети (11,99-11,17/11,75-11,15 м.ч.) протонів гідразидної та 2-NH-групи (11,27-10,91/11,25-10,88 м.ч.) та сигнали обмінних протонів (13,15-13,01 м.ч.) СOOH-груп та фенольних гідроксилів при 9,56-9,31 м.ч. у вигляді уширених синглетів.



Рис. 6. Геометрична ізомерія у ДМСО-*d6* для сполук **18**.

Важливо також відмітити, що суттєвою відмінністю сполук **18** від сполуки **17** є характерне подвоєння протонів як хіназолінового циклу, так і протонів ароматичного замісника. Знаходження сигналу протону азамети-нового залишку при 8,53-7,86 м.ч. та 8,48-7,76 м.ч. вказує на існування гідразонів **18** як суміші *син-анти*-ізомерів. Зміщення зазначеного протону у слабопольну частину спектру дає можливість стверджувати *анти-*розташу-вання (27-32% згідно з інтегральними кривими) ариліденового залишку відносно подвійного зв'язку азометинової групи та зумовлює існування у розчині ДМСО-*d6* динамічної рівноваги між геометричними ізомерами з переважним існуванням *син*-ізомеру.

Мас-спектр (ЕУ) гідразиду **17** та відповідних гідразонів **18.1, 18.8** харак­теризується поетапним відщепленням осколкових іонів, які утворюються за рахунок розриву одинарних зв’язків під електронним ударом і появою основних високоінтенсивних піків з *m/z* 213 (51,4-32,2%), 212 (100%) та 199 (53,0-28,8%). Подальшим напрямком їх фрагментації є розрив зв’язків С(11b)–N(1) та N(5)–С(4) з утворенням іонів з *m/z* 129 (37,0%), які мають класичну фрагментацію хіназоліну.

**3. Біологічна активність синтезованих сполук (розділ 4)**

Дослідження антиоксидантної активності (АОА), впливу синтезованих сполук на окисну модифікацію білка (ОМБ) у гомогенаті мозку щурів, антигіпоксичної та антиамнестичної активності проводилися на кафедрі фармакології Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри, д.біол.н., професор Бєлєнічев І. Ф.). Вивчення протимікробної та протигрибкової активностей синтезованих сполук проводилося на кафедрі технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національ­ного університету „Львівська політехніка” (завідувач кафедри, д.хім.н., професор Новіков В. П.). Вивчення протипухлинної активності проводилось у відділі терапії раку Національного Інституту Раку у складі Національного Інституту Здоров’я CША (Division of Cancer Treatment, National Cancer Institute, National Institute of Health).

Результати досліджень показали, що cинтезовані сполуки проявляють значну АОА на моделях *in vitro*, перевищуючи при цьому активність еталонів порівняння – емоксипіну, N-АЦЦ та наближаючись за силою ефекту до препарату «Тіотриазолін». Найбільш активними сполуками на моделі інгі­бування супероксидрадикалу виявились естери **9** (рис. 7), що також харак­терно для даних сполук і на моделі фотоіндукування утворення NO (рис. 8).

Рис. 7. Антиоксидантна активність синтезованих сполук на моделі інгібування супероксидрадикалу *in vitro.*

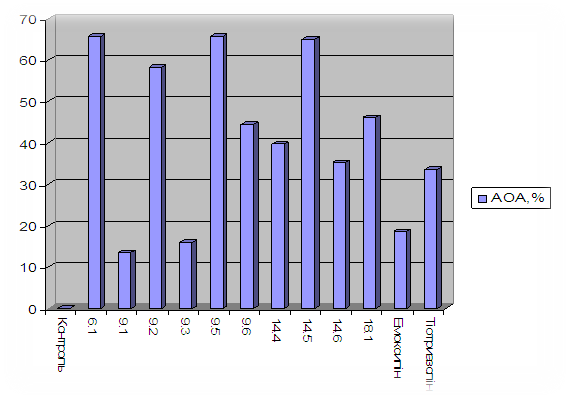


Рис. 8. Антиоксидантна активність синтезованих сполук на моделі фотоіндукування утворення NO *in vitro.*

В подальшому сполуки, які проявили високу антиоксидантну активність, досліджувалися на антигіпоксичну та антиамнестичну активності. Прове­дене попереднє дослідження антигіпоксичної дії для сполук у широкому діапазоні доз (0,1-100 мг/кг) для визначення ефективної дози показали, що вони проявляють виражену дію і в 1,4-3,6 рази збільшують тривалість життя експериментальних тварин в умовах гіпоксії замкнутого простору. Важливо відмітити, що найбільш ефективною виявилася доза 10 мг/кг маси тіла експериментальної тварини. Цікавим також є той факт, що всі сполуки в діапазоні досліджуваних доз за силою антигіпоксичного ефекту перевищують активність пірацетаму. Результати показали, що найбільше збільшують тривалість життя експериментальних тварин в умовах гіпоксії замкнутого простору естери **9**, а саме - етиловий, пропіловий та бензиловий естери. Зазначені сполуки за антигіпоксичним ефектом перевищують активність класичного ноотропа – пірацетаму на 97-142% та тіотриазоліну на 40-85%.

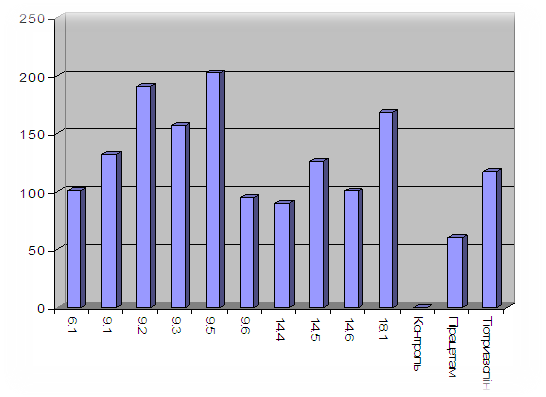


Рис. 9. Антигіпоксична активність синтезованих сполук в умовах гіпоксії замкнутого простору *(n = 6).*



Рис. 10. Антиамнестична активність синтезованих сполук (оцінка збере-ження УРПУ у тварин *(n = 6)* на 2 добу експерименту при антероградній амнезії.

Введення сполук в дозі 10,0 мг/кг за 60 хвилин до навчання, викликало достовірне збільшення латентного періоду рефлексу у порівнянні з контрольними тваринами і тваринами, які отримували до навчання пірацетам (рис. 10). Важливо відмітити, що найбільш вірогідно підвищували відсоток навчених тварин кислота **6.1** та її естери **9**. Так, естери **9.1** та **9.5** проявляли антиамнестичну активність в 16,2-17,0 рази вищу за пірацетам і в 8,7-9,2 рази – за тіотриазолін.

Призначення тваринам з церебральною ішемією сполуки **9.5** приводило до значної активації окиснювальної продукції енергії в циклі Кребса, про що свідчило підвищення рівня малату на 100% та ізоцитрату – на 58,3% (табл.), що забезпечило підвищення продукції АТФ на 53,3% на фоні підвищення рівня АДФ на 20,0% і зниження рівня АМФ на 33,3%.

Таблиця

***Вплив сполуки 9.5 на вміст аденілових нуклеотидів та показники окиснювальних процесів у корі мозку гербілів при церебральній ішемії.***

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи  тварин | Малат, мкм/г тканини | Ізоцитрат, мкм/г тканини | Лактат, мкм/г тканини | АТФ, мкм/г тканини | АДФ, мкм/г тканини | АМФ, мкм/г тканини |
| Інтактна | 0,33±0,01 | 0,45+0,02 | 2,26±0,08 | 3,68±0,06 | 0,45±0,03 | 0,15±0,01 |
| ішемія  (контроль) | 0,19±0,008 | 0,19±0,01 | 4,96±0,09 | 1,77±0,03 | 0,22±0,01 | 0,23±0,02 |
| ішемія +  **сполука 9.5** | 0,35±0,01\* | 0,37±0,009\* | 2,33±0,08\* | 3,40±0,01\* | 0,47±0,01\* | 0,15±0,01\* |
| ішемія + тіотриазолін | 0,23±0,008 | 0,36±0,009\* | 2,36±0,09\* | 3,18±0,01\* | 0,44±0,01\* | 0,15±0,01\* |

Примітка. \* - р<0,05 щодо контролю.

Важливо відмітити, що сполука **9.5** перевищувала активність еталону порівняння – тіотриазоліну за умов церебральної ішемії за рівнем АТФ та АДФ на 15,6% і 5,8% відповідно у корі мозку гербілів (табл.).

Результати мікробіологічного скринінгу показали, що синтезовані сполу-ки є малоефективними протимікробними та протигрибковими засобами. Найбільш ефективними виявилися сполуки **9.4 та 18.10,** які затримували ріст St. aureus 209-p, M. luteum, C. tenuis та Аs. niger на 8-30 мм, конкуруючи при цьому із протигрибковою активністю ністатину.

Результати біологічних досліджень *in vitro* на 60 найбільш поширених клітинних лініях людських пухлин в концентрації 1,00·10-5 М показали, що ряд синтезованих сполук (**6.1, 14.8, 14.9, 18.3-18.5**) проявляють протиракову активність по відношенню до раку яєчників (IGROV1, SK-OV-3, OVCAR-8), меланоми (LOX IMVI, MALME-3M, UACC-257 та UACC-62). Найбільш ефективними сполуками з протираковою активністю виявились ариламіди (3-оксо-3,4-дигідро-*2Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-c]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти,які містять в анілідній субституенті фтор-(**14.8**) та хлор- (**14.9**) замісники.

**Загальні висновки**

Запропонована та експериментально обґрунтована реакція гетероциклі­зації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангідридом, синтезовані невідомі (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтові кислоти та їх функціональні похідні, досліджені фізико-хімічні та біологічні властивості синтезованих сполук.

1. Заміщені (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину в реакції з малеїновим ангідридом за жорстких умов формують (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]-хіназолін-4-іл)оцтові кислоти або 1-[(3*H*-хіназолін-4-іліден)-aміно]пірол-2,5-діони. На напрямок протікання реакції гетероциклізації не впливають електронні ефекти замісника в ароматичному циклі, але суттєво впливають електронні ефекти замісника 2 положення піримідинового циклу хіназолінової системи.
2. За допомогою спектральних методів та рентгеноструктурного аналізу встановлено, що реакція утворення (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино-[4,3-c]хіназолін-4-іл)оцтових кислот являє собою тандемну реакцію, а саме – ацилювання з наступним нуклеофільним циклоприєднанням за подвійним зв’язком з геометричним *цис-*розташуванням.
3. Розроблені методи синтезу естерів (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино-[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти за умови кислотного ката-лізу та в присутності тіонілхлориду і показано, що останній метод забезпечує кількісні виходи та є зручнішим у виконанні.
4. Для одержання біологічно активних сполук із заданими фармакотехноло-гічними характеристиками та для встановлення кореляції взаємозв’язку “будова-дія” синтезовано ряд солей (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти.
5. Розроблені альтернативні методи синтезу амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти, встановлена їх будова, вивчені фізико-хімічні властивості. Показано, що препаративним методом синтезу амідів є карбонілдіімідазольний метод.
6. Гідразинолізом метилового естеру (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино-[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти одержаний гідразид, конденсацією якого з карбонільними сполуками синтезовані відповідні іліденгідразиди.
7. Структура синтезованих сполук підтверджена за допомогою елементного аналізу, фізико-хімічних методів (УФ-, ІЧ-, ЯМР-спектроскопії та хрома-томас-, мас-спектрометрії), а їх чистоту та індивідуальність контролювали за допомогою хроматомас-спектрометрії (хімічна іонізація).
8. Проведений фармакологічний скринінг методами *in vitro* та *in vivo* похід-них (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-c]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти на наявність антиоксидантної, антиамнестичної, антигіпоксич-ної, нейропротекторної, протимікробної та протиракової дії дозволив виявити ряд «сполук-лідерів» з високою біологічною активністю та встановити закономірності «будова-дія» серед синтезованих сполук.

**Список опублікованих праць за темою дисертаціїї**

1. Кривошей О. В. Синтез, фізико-хімічні властивості та протиракова активність амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти / О. В. Кривошей, С. І. Коваленко // Мед. хімія. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 109–117 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень, підготувала статтю до друку).
2. Kovalenko S. I. Substituted (3*Н*-quinazoline-4-yliden)hydrazines in reaction with maleic acid anhydride / S. I. Kovalenko, O. V. Krivoshey // Журн. органіч. та фармац. хімії. – 2008. – Т. 6. – Вип. 4(24). – С. 49–54 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень, підготувала статтю до друку).
3. Кривошей О. В. Синтез, фізико-хімічні властивості та протимікробна активність іліденгідразидів (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]- хіназолін-4-іл)оцтової кислоти / О. В. Кривошей, С. І. Коваленко, О. З. Комаровська-Порохнявець // Запорож. мед. журн. – 2008. – № 4. – С. 121–125 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень, підготувала статтю до друку).
4. Беленічев І. Ф. Експериментальна оцінка нейропротективної дії нового похідного [1,2,4]триазино[4,3-c]хіназоліну (КО-17) в умовах фотоінду-кованої ішемії головного мозку / І. Ф. Беленічев, Н. В. Бухтіярова, В. В. Галиця, С. І. Коваленко, О. В. Кривошей // Клініч. фармація. – 2008. – Т. 12, № 1. – С. 56–61 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень).
5. Галиця В. В. Похідні [1,2,4]-триазино[2,3-*c*]- і [1,2,4]-триазино[4,3-*c*]-хіназолінів перспективні сполуки з антиоксидантною та ноотропною дією / В. В. Галиця, О. Ю. Воскобойнік, О. В. Кривошей, І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, О. В. Карпенко // Мед. хімія. – 2007. – Т. 9, № 2. – С. 50–54 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень, приймала участь у підготовці статті до друку).
6. Kovalenko S. I. Novel Method for the Synthesis of [1,2,4]Triazino[4,3-*c*]quinazoline System / S. I. Kovalenko, A. V. Karpenko, O. V. Krivoshey, S. V. Shishkina, O. V. Shishkin // Synthetic Communications. – 2007. – Vol. 37. – P. 3719–3727 (Дисертант самостійно виконала частину хімічного експерименту, здійснила аналіз даних фізико-хімічних та спектральних досліджень, приймала участь у підготовці статті до друку).
7. Карпенко О. В. Синтез конденсованих систем на основі 4-гідразино-хіназоліну та ангідридів кислот / О. В. Карпенко, О. В. Кривошей, С. І. Коваленко // IV Всеукр. конф. молодих вчених та студентів з актуальних питань хімії, 29 трав. – 2 черв. 2006 р. : тези доп. – Д., 2006. – C. 23.
8. Галиця В. В. Похідні [1,2,4]триазино[2,3-c]- і [1,2,4]триазино[4,3-c]-хіназолінів перспективні ноотропні засоби / В. В. Галиця, О. Ю. Воско­бойнік, О. В. Кривошей, І. Ф. Белєнічев, С. І. Коваленко, О. В. Карпенко // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослід-ження лікарських засобів та біологічно активних добавок: II Міжнар. наук.-практ. конф., 12–13 жовт. 2006 р. : тези доп. – Х., 2006. – C. 8–9.
9. Кривошей О. В. 4-Гідразинохіназолін у реакції [2+3]-циклоконденсації / О. В. Кривошей // IX Конф. молодих учених та студентів-хіміків Південного регіону України, 16–17 жовт., 2006 р. : тези доп. – Одеса, 2006. – С. 53.
10. Коваленко С. І. Малеїновий ангідрид у реакціях з 4-гідразинохіназо-ліном та його заміщеними / С. І. Коваленко, О. В. Кривошей, О. В. Карпенко // XXI Укр. конф. з органіч. хімії., 1–5 жовт., 2007 р. : тези доп. – Чернігів, 2007. – С. 190.
11. Кривошей О. В. 2-(3,4-Дигідро-3-oксо-2*H*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хіна зо-лін-4-іл)оцтова кислота та її естери в реакціях амінолізу / О. В. Криво-шей, С. І. Коваленко, В. В. Галиця, І. Ф. Беленічев // Сьогодення та майбутнє фармації: Всеукр. конгрес, 16–19 квіт., 2008 р. : тези доп. – Х., 2008. – С. 55.
12. Коваленко С. І. Заміщені (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразини в реакції з малеїновим ангідридом / С. І. Коваленко, О. В. Кривошей // Пробл. синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарсь­ких субстанцій : матеріали Укр. наук.-практ. конф., присвяченої пам’яті доктора хімічних наук, проф. Павла Олексійовича Петюніна (до 95-річчя з дня народження), 26 лют. 2009 р. : тези доп. – Х., 2009. – С. 71.

**Анотація. – Кривошей О. В. Синтез, фізико-хімічні і біологічні властивості похідних (6-R-3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]-хіназолін-4-іл)оцтових кислот. - Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. - Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Міністерство охорони здоров'я України, Львів, 2009.

Запропонована та експериментально обґрунтована реакція гетероциклі­зації заміщених (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангідридом, синтезовані невідомі (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*с*]хіназолін-4-іл)оцтові кислоти та їх функціональні похідні (естери, солі, аміди, гідразид та іліденгідразиди), досліджені фізико-хімічні та біологічні властивості синтезованих сполук.

Показано, що заміщені (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразину з малеїновим ангідридом за жорстких умов формують (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]-тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтові кислоти або 1-[(3*H*-хіназолін-4-іліден)-aміно]пірол-2,5-діони. На напрямок протікання реакції гетероциклізації не впливають електронні ефекти замісника в ароматичному циклі, але суттєво впливають електронні ефекти замісника 2 положення піримідинового циклу хіназолінової системи.

За допомогою спектральних методів та рентгеноструктурного аналізу встановлено, що реакція утворення (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино-[4,3-c]хіназолін-4-іл)оцтових кислот являє собою тандемну реакцію, а саме – ацилювання з наступним нуклеофільним циклоприєднанням за подвійним зв’язком з геометричним *цис-*розташуванням.

Будова синтезованих сполук підтверджена фізико-хімічними методами, а їх чистота та індивідуальність – хроматомас-спектрометрично.

Проведені фармакологічні дослідження показали, що синтезовані сполуки проявляють високу антиоксидантну, антиамнестичну, антигіпок-сичну та нейропротекторну дію, і помірну протимікробну, протигрибкову та протиракову активності.

***Ключові слова***: синтез, (3*Н*-хіназолін-4-іліден)гідразини, малеїновий ангідрид, (3-оксо-3,4-дигідро-2*Н*-[1,2,4]тріазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтові кислоти, спектральні характеристики, біологічна активність.

**Аннотация. - Кривошей О. В. Синтез, физико-химические и биологические свойства производных (6-R-3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*с*]хиназолин-4-ил)уксусных кислот. - Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Львовский национальный университет имени Данила Галицкого, Министерство здравоохранения Украины, Львов, 2009.

Предложена и экспериментально обоснована реакция гетероциклизации замещенных (3*Н*-хиназолин-4-илиден)гидразина малеиновым ангидридом, синтезированы неизвестные (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*с*]хина-

золин-4-ил)уксусные кислоты и их функциональные производные, исследованы физико-химические и биологические свойства синтезированных веществ.

Показано, что замещенные (3*Н*-хиназолин-4-илиден)гидразина с малеи­новым ангидридом в жестких условиях формируют (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хиназолин-4-ил)уксусные кислоты или 1-[(3*H*-хина­золин-4-илиден)aмино]пиррол-2,5-дионы. На направление протекания реакции гетероциклизации не влияют электронные эффекты заместителя в ароматическом цикле, но существенно влияют электронные эффекты заместителя 2 положения пиримидинового цикла хиназолиновой системы.

С помощью спектральных методов и рентгеноструктурного анализа установлено, что реакция образования (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-c]хиназолин-4-ил)уксусных кислот, является тандемной реакцией, а именно ацилирования с последующим нуклеофильным цикло-присоединением по двойной связи с геометрическим *цис-*расположением.

Разработаны методы синтеза эфиров (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-*с*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоти в условиях кислотного катализа и при наличии тионилхлорида, и показано, что последний метод обеспечивает количественные выходы и являтся более препаративным.

Для получения биологически активных веществ с определенными фармакотехнологическими характеристиками синтезован ряд солей (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*с*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоты.

Разработаны альтернативные методы синтеза амидов (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоты, показано, что более препаративным является карбонилдиимидазольный метод синтеза.

Гидразинолизом метилового эфира (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-*c*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоты получен гидразид, конденсацией которого с карбонильными соединениями синтезированы соответствующие илиденгидразиды.

Структура синтезированных соединений подтверждена с помощью элементного анализа, физико-химических методов (УФ-, ИК-, ЯМР-спектро-скопии и хроматомасс-, масс-спектрометрии), а их чистоту и индивидуаль-ность контролировали с помощью хроматомасс-спектрометрии (химическая ионизация). Показано, что для гидразида (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-*с*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоты характерна гидразид-гидразонная таутомерия в ДМСО-*d6*, а для соответствующих илиденгидра-зидов, кроме прототропной таутомерии, и *син-анти*-изомерия. При этом изомеры находятся в ДМСО-*d6* в динамическом равновесии с преоблада-нием *син*-изомера.

Проведенный фармакологический скрининг методами *in vitro* (модели ингибирования супероксид-, пероксинитрит-радикала, окислительной моди-фикации белка) и *in vivo* (гипоксия замкнутого пространства, антероградная амнезия) производных (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-c]хиназо-лин-4-ил)-уксусной кислоты на наличие антиоксидантного, антигипоксиче-ского, антиамнестического действия позволил выявить ряд веществ с высокой

биологической активностью и установить некоторые закономерности «строение-действие» среди синтезированных веществ.

Для «соединения-лидера», бензиловый эфир (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]-триазино[4,3-*c*]хиназолин-4-ил)уксусной кислоты (**5.5**), исследована нейро-протекторная активность на модели церебральной ишемии у гербилов. Установлено, что соединение **5.5** проявляет выраженное антиоксидантное и метаболитотропное действие нейропротекторной направленности, уменьшая при этом явления энергодефицита за счет интенсификации окислительной продукції АТФ, усиления активности цикла Кребса, уменьшения дефицита тормозных аминокислот в ишемизированом головном мозге экспериментальных животных.

Синтезированные соединения проявляют умеренную противомикробную, противогрибковую и противораковую активности.

***Ключевые слова***: синтез, (3*Н*-хиназолин-4-илиден)гидразины, малеиновый ангидрид, (3-оксо-3,4-дигидро-2*Н*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хиназолин-4-ил)уксусные кислоты, спектральные характеристики, биологическая активность.

**Summery. – Кrivoshey О. V. Synthesis, physico-chemical and biological properties of (6-R-3-oxo-3,4-dihydro-2*Н*-[1,2,4]triazino[4,3-*с*]­quinazolin-4-yl)acetic acid derivatives. – Manuscript.**

Ph.D. thesis in pharmacy in the specialty 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy - Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ministry of Public Health of Ukraine, Lviv, 2009.

The reaction of heterocyclisation of (3*Н*-quinazolin-4-yliden)hydrazine with maleic anhydride was offered and experimentally proved, unknown (3-oxo-3,4-dihydro-2*Н*-[1,2,4]triazino[4,3-*с*]quinazolin-4-yl)acetic acids and their functional derivates (esters, salts, amides, hydrazides and ylidenhydrazides) were synthesized, physico-chemical and biological properties of the synthesized compounds were investigated.

It was shown that (3*Н*-quinazolin-4-yliden)hydrazine substituted with maleic anhydride formed (3-oxo-3,4-dihydro-2*Н*-[1,2,4]triazino[4,3-*с*]quinazolin-4-yl)-acetic acids or 1-[(3*H*-quinazolin-4-yliden)-amino]pyrrol-2,5-dions in narrow conditions. The electronic effects of aromatic cycle substituent did not influence on the direction of heterocyclisation, but the electronic effects of substituent in the 2 position of pyrimidine ring of the quinazoline system substantially did.

It was established by spectral methods and X-ray analysis, that formation of (3-oxo-3,4-dihydro-2*Н*-[1,2,4]triazino[4,3-*с*]quinazolin-4-yl)acetic acids, was the tandem reaction, namely acylation with subsequent nucleofilic cycloaddition by double bond with geometrical *cys*-location*.*

The structures of the synthesized compounds were confirmed by physico-chemical methods, and their purity and individuality – with LC-MS.

Pharmacological researches established that the synthesized compounds demonstrated antioxidant, antiletheral, antihypoxic, neuroprotective, antimicrobial and anticarcinogenic activities.

***Keywords***: synthesis, (3*Н*-quinazolin-4-yliden)hydrazines, maleic anhydride, (3-oxo-3,4-dihydro-2*Н*-[1,2,4]triazino[4,3-*с*]quinazolin-4-yl)acetic acids, spectral characteristics, biological activity.

Підписано до друку 12.05.2009. Гарнітура Times New Roman

Папір друкарський. Формат 60×84 1/16. Умовн. друк. арк. 0,9.

Наклад – 100 прим. Замовлення № 4030.

Надруковано з оригінал-макету в типографії

Запорізького державного медичного університету

м. Запоріжжя, пр. Маяковського 24, тел. 34-97-82.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>