

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

КОЛОМОЄЦЬ ОЛЕКСАНДРА СЕРГІЙВНА



УДК 547.856 ' 873.057.03/.04-026.8

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
6-МОНО- І 6,6-ДИЗАМЩЕНИХ 3-R-6,7-ДИГІДРО-2H-[1,2,4]ТРИАЗИНО-
[2,3-с]ХІНАЗОЛІН-2-ОНІВ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник доктор фармацевтичних наук, професор **Коваленко Сергій Іванович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри органічної і біоорганічної хімії.

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Омельянчик Людмила Олександрівна**, Запорізький національний університет, професор кафедри хімії;

доктор фармацевтичних наук, професор **Георгіянц Вікторія Акопівна**, Національний фармацевтичний університет, завідувач кафедри фармацевтичної хімії

Захист відбудеться «14» вересня 2018 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «02» липеня 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



С. О. Васюк

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Карбонільмісні сполуки давно відомі дослідникам, які займаються розробками в галузях органічної та медичної хімії, як вкрай затребуваний клас реагентів. Зазначений факт, перш за все, пов'язаний з високою реакційною здатністю карбонільної групи та її впливом на інші фрагменти молекули, що дозволяє використовувати названий клас сполук в якості вкрай гнучкого та потужного синтетичного інструменту. Так, карбонільний фрагмент може бути легко трансформований в інші функціональні групи, а альдегіди, наприклад, є вихідними сполуками для синтезу α -амінокислот за Штрекером. Значну увагу карбонільмісні сполуки привертають і як реагенти для конструювання гетероциклічних систем, особливо в різного роду мультикомпонентних перетвореннях. Також, зважаючи на їх високу реакційну здатність, карбонільмісні реагенти знайшли широке розповсюдження в комбінаторній хімії для модифікації «скафолдів», що містять нуклеофільні фрагменти, в тому числі азотовмісні. Зазначена стратегія є досить ефективною з огляду можливості синтезу комбінаторних бібліотек азагетероциклів для подальшого скринінгу їх біологічної дії. Враховуючи зазначене, пошук нових та доступних «скафолдів» зі здатністю до взаємодії з карбонільмісними сполуками, розробка та оптимізація умов їх хімічної модифікації, встановлення будови та біологічної активності продуктів реакції є актуальною проблемою сучасних досліджень, спрямованих на створення інноваційних лікарських засобів.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету за темою, що фінансується з державного бюджету України «Спрямований пошук біологічно активних сполук серед заміщених триазинохіназолінів та створення кандидатів у лікарські препарати на їх основі» (№ державної реєстрації 114U000968) у рамках пріоритетного наукового напрямку «Впровадження нових технологій створення нових лікарських засобів на основі спрямованого дизайну біологічно активних речовин та їх високопропускового скринінгу». Дисертантом особисто синтезовано ряд 6-моно- і 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, їх функціональні похідні, досліджені та обговорені їх фізико-хімічні та біологічні властивості.

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи був синтез нових 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, їх спрямована структурна модифікація за положеннями 3 та 6, вивчення фізико-хімічних властивостей та пошук серед них ефективних біологічно активних речовин як потенційних лікарських засобів.

Для досягнення мети вирішувались наступні завдання:

- дослідити реакції [5+1]-циклоконденсації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів, як «класичних» *NCCN*-бінуклеофілів, з параформом, аліфатичними, ароматичними альдегідами та кетонами, встановити за допомогою

спектральних методів аналізу напрями та обмеження їх перебігу як шлях спрямованого синтезу нових БАР;

- розробити оригінальні методи синтезу потенційних БАР 6-хлоро-(бромо-, дихлоро-, трихлоро-)метил-3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів на основі реакції [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з галогенвмісними альдегідами, їх гідратними формами та ацеталями, дослідити реакційну здатність галогенвмісних сполук по відношенню до нуклеофільних реагентів (морфолін) та нуклеофільних основ (DIPEA);

- на основі реакції [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з карбоциклічними та гетероциклічними кетонами запропонувати методи синтезу невідомих 3'-*R*₁-спіро[(аза/оксо/тіа)циклоалкіл-1(3, 4), 6'-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів, як перспективних біологічно активних речовин;

- встановити будову та вивчити фізико-хімічні властивості (елементний аналіз, ІЧ-, ¹H, ¹³C ЯМР-, хромато-мас-, мас-спектри) синтезованих сполук;

- дослідити для синтезованих сполук антирадикальну, антибактеріальну, протигрибкову активність *in vitro*, а також актопротекторну та протисудомну активність методами *in vivo*;

- розробити та реалізувати стратегію пошуку протизапальних засобів серед 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів з використанням молекулярного докінгу та традиційного фармакологічного скринінгу;

- на основі одержаних результатів фармакологічного скринінгу *in vivo* провести кореляційний аналіз «структура-біологічна дія» та виділити високоактивні сполуки для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул.

Об'єкт дослідження. Цілеспрямований синтез нових біологічно активних речовин у ряді 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів, 6-моно- і 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів.

Предмет дослідження. Реакції гідролітичного розщеплення та гідразинолізу в синтезі заміщених 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів, [5+1]-циклоконденсації в синтезі 6-моно- і 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів та їх функціональних похідних як шлях до одержання нових потенційних БАР, встановлення будови синтезованих речовин, фармакологічне дослідження та встановлення закономірностей «структура-біологічна дія».

Методи дослідження. Для одержання потенційно біологічно активних сполук застосовували методи органічного синтезу; структуру синтезованих речовин встановлювали за допомогою елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР-, хроматомас- та мас-спектрометрії; для відбору речовин для проведення фармакологічного скринінгу та визначення гострої токсичності застосовували молекулярний докінг; біологічну активність встановлювали фармакологічними дослідженнями *in vitro* та *in vivo*.

Наукова новизна отриманих результатів. Досліджена реакція [5+1]-циклоконденсації заміщених 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з карбонільними сполуками та вперше синтезовані невідомі 6-моно- та 6,6-дизаміщені 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-они, 3'-*R*-спіро[аза/оксо/тіа]-циклоалкіл-1(3,4), 6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-они, *N*-заміщені 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7'*H*)-діони, для яких вивчені фізико-хімічні та біологічні властивості.

У роботі вперше:

- одержана серія нових 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів на основі реакції [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з параформом, альдегідами та кетонами аліфатичного та ароматичного ряду і встановлено, що у випадку використання в зазначеній реакції в якості електрофілів алкіларилкетонів відбувається конкурентна реакція ацилювання з утворенням мінорних 6-метил-3-*R*-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів;

- розроблені препаративні методи синтезу невідомих 6-хлоро-(бромо-, дихлоро-, трихлоро-)-3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів на основі реакції [5+1]-циклоконденсації з галогенвмісними альдегідами, їх гідратними формами та ацеталями, показані особливості взаємодії синтезованих сполук з морфоліном та DIPEA;

- синтезовані нові 3'-*R*-спіро[аза/оксо/тіа/циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-они, як перспективні біологічно активні сполуки, реакцією [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з циклоалканами, тетрагідро-4*H*-піран-4-оном, 1-метилпіперидин-4-оном, тетрагідро-4*H*-тіопіран-4-оном, дигідротіофен-3(2*H*)-оном, дигідротіофен-3(2*H*)-он 1,1-діоксидом, дигідро-2*H*-тіопіран-3(4*H*)-оном, дигідро-2*H*-тіопіран-3(4*H*)-он 1,1-діоксидом;

- взаємодією 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з ізатином та його заміщеними синтезовані невідомі 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'-(7'*H*)-діони та 2-(3'-*R*₁-2,2'-діоксо-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-1-іл)-*N*-*R*₂-ацетаміди (ацетонітрили), для останніх розроблений зустрічний синтез, а саме алкілювання 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'-(7'*H*)-діонів *N*-*R*-хлорацетамідами та хлорацетонітрилом;

- вперше досліджені спектральні властивості (¹H та ¹³C ЯМР-спектри) та встановлені закономірності розщеплення характеристичних протонів положень 6 та 7, а також атому Карбону положення 6 від їх електронного оточення в молекулах 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, 3'-*R*-5-*R*₁-спіро[аза/оксо/тіа/циклоалкіл-1(2,3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів та *N*-заміщених 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7'*H*)-діонів;

- на основі структурної подібності, молекулярного докінгу та традиційного фармакологічного скринінгу розроблена стратегія пошуку протизапальних агентів серед 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів;

- встановлені певні закономірності зв'язку «структура-активність» та виявлені критичні «фармакофорні» фрагменти положення б у 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, які відповідають за актопротекторну (1-метилпіперидиновий фрагмент), протисудомну (2-оксоіндоліновий фрагмент), протизапальну (аза/оксо/тіа/циклоалкановий фрагмент).

У процесі виконання роботи синтезовано 138 сполук (107 вперше), серед яких ідентифіковані речовини з високою АРА, актопротекторною, проти-запальною, протисудомною, протимікробною та протигрибковою активністю.

Наукова новизна роботи підтверджена 2 патентами України на винахід (№№ 111245, 114148).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблені препаративні методи синтезу та створена комбінаторна бібліотека нових 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, 3'-*R*-5-*R*₁-спіро[аза/оксо/тіо/циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів, *N*-заміщених 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7'*H*)-діонів з АРА, антибактеріальною, протизапальною, актопротекторною, протисудомною активностями. Виявлені «сполуки-лідери», які рекомендовано для подальших поглиблених фармакологічних досліджень. Встановлені кореляції «структура-дія» та сформульовано ряд критеріїв для спрямованого пошуку БАР.

Фрагменти роботи впроваджено в навчальний та науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедр фармацевтичної хімії і органічної хімії Національного фармацевтичного університету, кафедри фармацевтичної хімії Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського; кафедри органічної хімії Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара; кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка»; кафедри технології органічних сполук та фармацевтичних препаратів ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»; відділу механізмів органічних реакцій Інституту органічної хімії НАН України.

Особистий внесок здобувача. Аналіз і систематизація літературних даних, синтетичні експериментальні дослідження виконані особисто автором. Постановка завдань, узагальнення отриманих результатів, формулювання основних положень та висновків здійснено спільно з науковим керівником.

У ході виконання дисертаційної роботи спільно з Навчальним медико-лабораторним центром ЗДМУ (керівник д. мед. н., проф. Абрамов А. В.) та кафедрами фармакології, фармакогнозії та фармацевтичної ботаніки Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. б. н., доц. Тржецинський С. Д.), фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. б. н., проф. Беленічев І. Ф.), мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. мед. н., доц. Камишний О. М.) та «Enamine Ltd» (м. Київ), НТК «Інститут монокристалів» НАН України (м. Харків) реалізовано виконання та узагальнення результатів

фізико-хімічних методів аналізу (елементного аналізу, ІЧ-спектрофотометрії, ^1H , ^{13}C ЯМР- і хроматомас-, мас-спектрометрії) та результатів вивчення біологічної активності. Особисто дисертантом здійснено систематизацію літературних даних, патентно-інформаційний пошук, розроблені нові препаративні методики, відповідно до яких здійснено синтез 6-моно- і 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів та їх функціональних похідних. Дисертантом узагальнені отримані результати, сформульовані основні положення, які захищаються.

Результати власних експериментальних досліджень висвітлено у наукових працях, опублікованих у співавторстві. Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідалися на VI-й Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології» (16-17 жовтня 2014 р., Харків), VII Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2015» (20–22 квітня 2015, Харків), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015» (14-15 травня 2015, Запоріжжя), IV Регіональній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук (22 листопада 2015, Запоріжжя), XIV Всеукраїнській конференції молодих вчених та студентів з актуальних питань сучасної хімії (24-26 травня 2016, Дніпро), XVII Науковій молодіжній конференції «Проблеми та досягнення сучасної хімії» (10 вересня 2016, Київ), VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (13-16 вересня 2016, Харків), VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (10-11 листопада 2016, Тернопіль), V Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми біології, екології та хімії» (26-28 квітня 2017, Запоріжжя), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2017» (11-12 травня 2017, Запоріжжя) та Підсумковій науково-практичній конференції, присвяченій 60-річчю ТДМУ «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (14 червня 2017, Тернопіль).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Запорізького державного медичного університету 15 грудня 2017 року.

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 19 наукових робіт, із них: 6 статей у виданнях, включених до наукометричних баз (2 статті у наукових фахових виданнях України, 4 статті у виданнях іноземних держав), 2 патенти України на винахід та 11 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 254 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 152 сторінки) і складається з анотації, вступу, огляду літератури, трьох експериментальних розділів, висновків, списку літературних джерел, який включає 275 посилань, з них 69 – кирилицею та 206 – латиницею, 3 додатків. Робота ілюстрована 73 рисунками та 32 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

***NCCCN*-Бінуклеофіли та карбонільвмісні сполуки в синтезі функціональних та конденсованих похідних хіназоліну. Біологічні властивості синтезованих сполук (огляд літератури)**

Проведений аналіз літературних даних показав, що синтез гідрованих похідних хіназоліну та анельованих гетероциклів на основі карбонільвмісних сполук та більшості *NCCCN*-бінуклеофілів (функціональні заміщені 2-амінобензойної кислоти, 2-(1-*R*-амінометил)аніліни та 2-(азоліл-)аніліни) вивчений на достатньому рівні. Проте, реакційна здатність 2-(азино-)анілінів (6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів), як маловідомих нуклеофілів, по відношенню до карбонільних сполук не досліджувалась, фізико-хімічні властивості та біологічні властивості гідрованих азинохіназолінів не вивчались. Тим більш, що конденсовані хіназоліни виявляють біологічну активність і є цікавими для пошуку та створення на їх основі нових високоєфективних і малотоксичних ЛЗ.

Реакції [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів з ациклічними карбонільвмісними сполуками та їх похідними

Карбонільвмісні сполуки привертають значну увагу дослідників як реагенти для конструювання гетероциклічних систем, особливо в різного роду мультикомпонентних перетвореннях. Зокрема, реакції Біджінеллі, Пассеріні, Ганча та Гевальда є невід’ємною складовою підходів до формування різноманітних гетероциклів. Важливим в даному аспекті є пошук «оригінальних» бінуклеофілів, які б надали змогу формувати гетероцикли за простими однокомпонентними реакціями. Отже, для подальшої роботи в якості «оригінального» *NCCCN*-бінуклеофілу були використані заміщені 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-они (4.1-4.13), отримані за відомими методами (рис. 1).

Вибір замісників в естерах кетокарбонових кислот був обумовлений відомостями щодо їх впливу на фармакодинамічні та фармакокінетичні параметри та результатами попередніх досліджень.

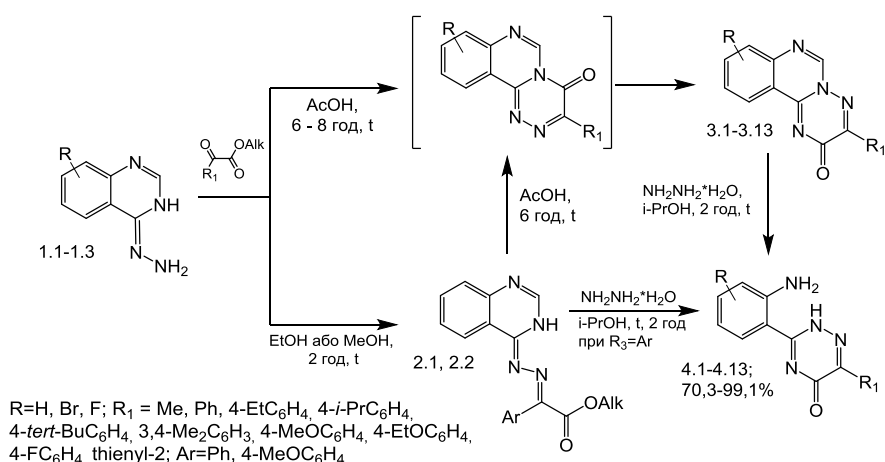


Рис. 1. Методи синтезу заміщених 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-2*H*-[1,2,4]триазин-5-онів

Як метод формування частково гідрованої [1,2,4]триазино[*c*]хіназолінової системи була обрана [5+1]-гетероциклізація. Встановлено, що взаємодія анілінів **4.1**, **4.2**, **4.7** та **4.9** з карбонільними сполуками (параформ, аліфатичні та ароматичні альдегіди) при кип'ятінні в ацетатній кислоті протягом 3 год приводить до утворення сполук **5.1**, **6.1-6.6**, **7.1-7.9** та **8.1-8.12** з виходами 40,9-98,9 % (рис. 2). Виявити проміжний продукт реакції, а саме азометин, не вдалося. Проведена зміна синтетичних протоколів шляхом підбору різноманітних розчинників (спирти та діоксан за присутності кислотного каталізатора, ДМФА) та зменшення часу перебігу реакції (від 15 хв до 60 хв) завжди призводила до утворення суміші речовин.

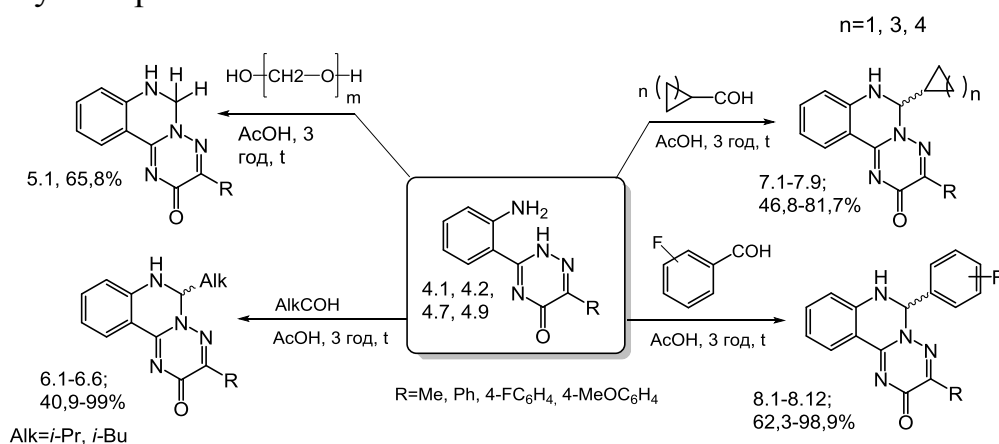


Рис. 2. Реакції 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-2*H*-[1,2,4]триазин-5-онів з параформом, аліфатичними та ароматичними альдегідами

Зазначений факт може вказувати на перебіг реакції, окрім основного (гетероциклізація азометинів за Ad_N -механізмом), за альтернативним механізмом. Тобто, нестійкі гідроксаміни самі можуть вступати в реакцію гетероциклізації за S_{N2} -механізмом (нуклеофільна атака N_2 -атома триазину за атомом Карбону гідроксамінів). Проте, незалежно від механізму реакції, в обох випадках згідно даними хроматомас-спектрів, утворюються індивідуальні сполуки **5.1**, **6.1-6.6**, **7.1-7.9** та **8.1-8.12**, що вказує на регіоселективність перебігу реакції. Значення m/z

сигналів позитивних іонів однозначно вказує на утворення гідрованої триазино[с]хіназолінової системи.

В ^1H ЯМР-спектрах сполук **5.1**, **6.1-6.6**, **7.1-7.9** та **8.1-8.12** сигнал *NH*-протона (положення 7) проявляється як синглет при 7.33 м.ч. (**5.1**), дублет при 7.66-7.42 м.ч. (**6.1-6.6**, **7.1-7.9**) або уширений синглет при 8.06-7.80 м.ч. (**8.1-8.12**) з КССВ 1.8-2.6 Гц. Протон положення 6 в спектрах ^1H ЯМР резонує як дублет дублетів при 5.57-5.24 м.ч. (**6.1-6.6**), дублет дублетів або дублет при 5.28-4.88 м.ч. (**7.1-7.9**) та уширений синглет при 6.71-6.53 м.ч. (**8.1-8.12**). Виключенням є сполука **5.1**, у спектрі якої сигнали протонів положення 6 проявляються у вигляді двопротонного синглету при 5.32 м.ч. Протони замісників положення 6 (**6.1-6.6**, **7.1-7.9** та **8.1-8.12**) в спектрах ^1H ЯМР характеризуються певними особливостями, які пов'язані з наявністю асиметричного атому Карбону. Наприклад, конформаційні перетворення у сполук **7.4-7.9** приводять до магнітної нееквівалентності аксіальних та екваторіальних протонів, що обумовлює їх резонування у вигляді мультиплетів з різним хімічним зсувом. ^{13}C ЯМР-спектри сполук **6.1**, **6.3** додатково підтверджують факт формування «гідрованої» триазино[2,3-с]хіназолінової системи, наявністю сигналу sp^3 -гібризованого атому Карбону положення 6 при 78.73 та 72.34 м.ч.

Карбоциклічні та гетероциклічні сполуки з галогеналкільними замісниками – важливий клас синтонів, які досить легко реагують з нуклеофільними реагентами і, як наслідок, широко використовуються в органічній хімії для пошуку БАР та створення ЛЗ. Одержання зазначеного класу сполук здебільшого зводиться до реакцій галогенування самих алкільних похідних або гідрогалогенування їх функціональних заміщених. Даний процес має певні недоліки, а саме необхідність використання досить токсичних реагентів і, що важливо, реакції не завжди перебігають регіоселективно. Очевидно, що існують альтернативні методи формування зазначених похідних з використанням інших типів реакцій. Показано, що взаємодія анілінів **4.1**, **4.2**, **4.4** та **4.9** з галогенвмісними альдегідами (50% водним розчином хлоретаналу та безпосередньо одержаним перед застосуванням дихлоретаналем) у середовищі ацетатної кислоти протягом 3 год приводить до утворення 6-хлор- (**9.1-9.3**) та 6-дихлор-(**10.1-10.3**)-метил-3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів (рис. 3). Аніліни **4** без особливостей реагують з трихлоретаналем або хлоралгідратом з утворенням 6-трихлорметилзаміщених (**11.1**, **11.2**). Тоді як у випадку взаємодії анілінів **4** з ацеталами (2-(хлор-)бром-1,1-диметоксіетан або 1,1-дихлор-2,2-диметоксіетан) реакція відбувається тільки при взаємодії з 2-бromo-1,1-диметоксіетаном з утворенням 6-бромметилзаміщених (**12.1-12.3**). Ймовірно, вирішальним у перебігу даної реакції є більш виражена поляризованість зв'язку C–Br, що приводить до більш високої електрофільності атому Карбону в ацеталах.

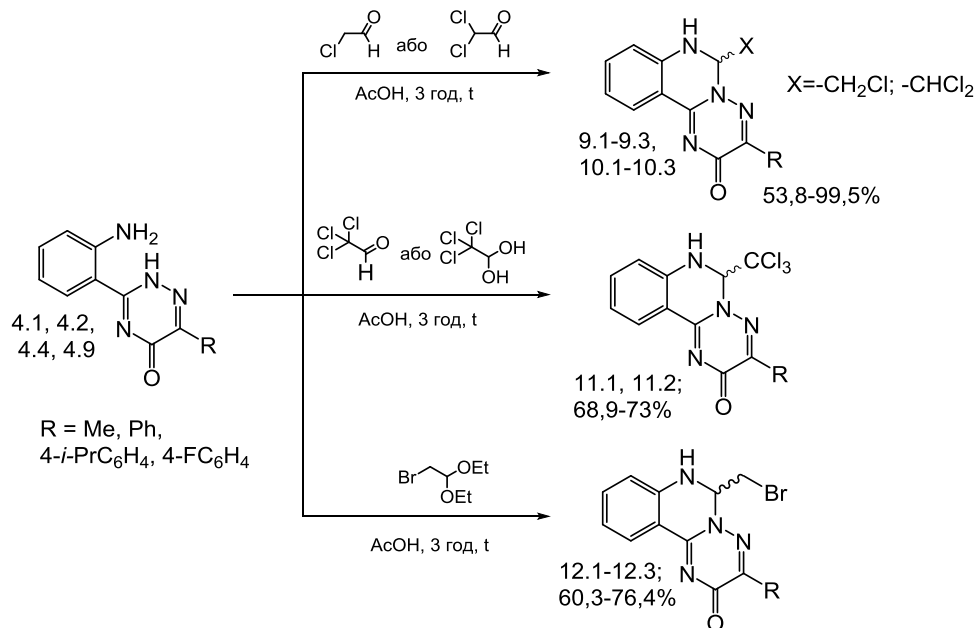


Рис. 3. Реакції 6-R-3-(2-амінофеніл)-2H-[1,2,4]триазин-5-онів з галогенвмісними альдегідами, їх гідратними формами та ацеталами

Взаємодія сполук з галогенметильними замісниками в молекулах з нуклеофільними реагентами також має певні особливості, які визначаються кількістю атомів галогену біля зазначеного замісника та природою самого циклу. Встановлено, що тривале кип'ятіння (понад 10 год) сполуки **9.2** з еквімолярною кількістю морфоліну або DIPEA в діоксані очікувано не призвело до позитивного результату (табл. 1).

Таблиця 1

Особливості взаємодії 6-хлор-(дихлор-, трихлор-)метил-3-арил-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів з морфоліном та DIPEA

Вихідна сполука	Нуклеофільний реагент	Умови проведення реакції*	Результат реакції**
1	2	3	4
9.2	морфолін (1 екв.)	діоксан	–
	DIPEA (1,1 екв.)	діоксан або етилцелозольв	–
	морфолін (3 екв.)	етилцелозольв	±
	морфолін (1 екв.) та DIPEA (1,1 екв.)	діоксан	+
10.2	морфолін (1 екв.)	діоксан	–
	DIPEA (1,1 екв.)	діоксан або етилцелозольв	–
	морфолін (3 екв.)	етилцелозольв	+
	морфолін (1 екв.) та DIPEA (1,1 екв.)	діоксан	–

1	2	3	4
11.2	DIPEA (3 екв.)	діоксан або етилцелозольв	+
	морфолін (7 екв.)	діоксан	±
	морфолін (1 екв.) та DIPEA (1,1 екв.)	діоксан	+

Примітки: * – при температурі кипіння розчинника протягом 10 год;
 ** (–) – виділена вихідна речовина;
 (+) – виділений кінцевий продукт;
 (±) – суміш продуктів, компоненти якої не ідентифіковані.

Тоді як кип'ятіння сполуки **9.2** з еквімолярною кількістю морфоліну за присутності DIPEA в етилцелозольві перебігає класично, з утворенням продукту *N*-алкілювання (**13.1**, рис. 4). Також встановлено, що за відсутності DIPEA заміщення не відбувається, а кип'ятіння сполуки **9.2** з триразовим надлишком морфоліну в етилцелозольві приводить до формування суміші продуктів (табл. 1). Згідно даних хроматомас-спектрів суміш складається з вихідної сполуки **9.2**, продукту нуклеофільного заміщення **13.1** та сполук не встановленої природи.

У випадку 6-дихлорметилзаміщеного (**10.2**), продукт модифікації **14.1**, а саме 6-(морфолінометил)-3-феніл-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-он, було одержано тільки у випадку кип'ятіння вихідної сполуки з триразовим надлишком морфоліну в етилцелозольві (рис. 4). Згідно з даними фізико-хімічних методів дослідження, одержана за зазначених умов сполука **14.1** є продуктом послідовного дегідрогалогенування, ізомеризації та нуклеофільного заміщення. При моделюванні реакцій **10.2** з іншими кількостями нуклеofilів за вищезазначених умов були виділені виключно вихідні сполуки (табл. 1).

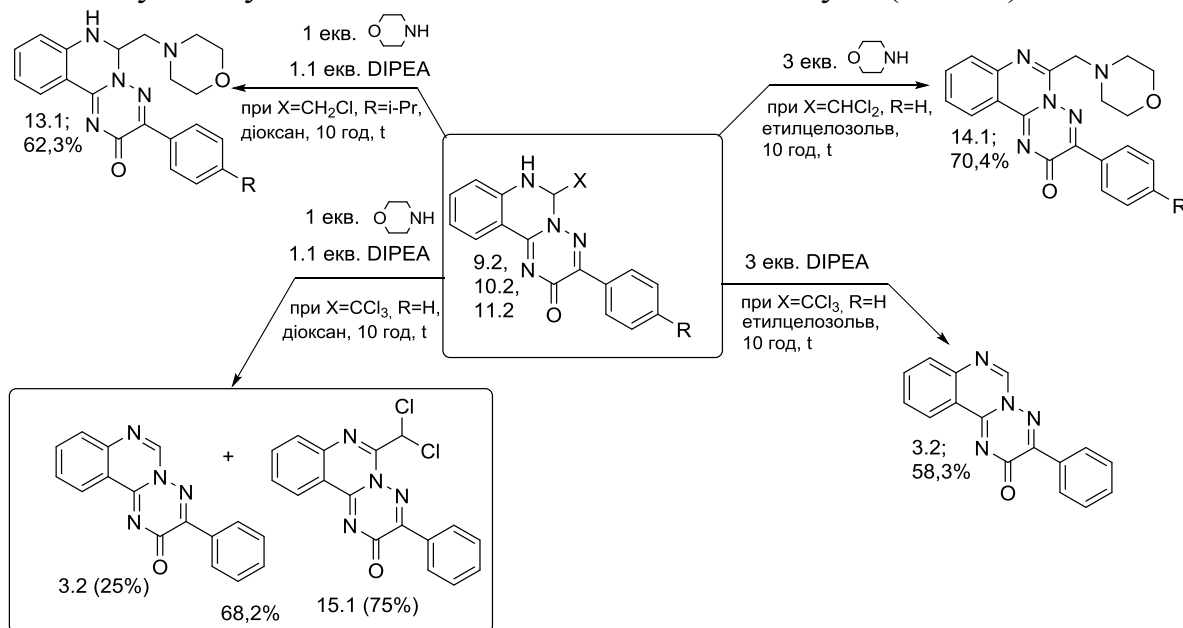


Рис. 4. Особливості взаємодії 6-хлор-(дихлор-, трихлор-)метил-3-арил-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів з морфоліном та DIPEA

Найбільш неочікувані результати були одержані при дослідженні взаємодії 6-трихлорметилзаміщеного (**11.2**) з триразовим надлишком DIPEA в етилцелозольві або діоксані (рис. 4). Встановлено, що кип'ятіння приводить до елімінування трихлорметильного фрагменту з молекули у вигляді хлороформу та утворення 3-феніл-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-ону (**3.2**). Також, сполука **3.2** утворюється як мінорний компонент реакційної суміші при тривалому кип'ятінні розчину еквімолярних кількостей сполуки **11.2**, морфоліну та DIPEA в діоксані. Основним продуктом у даному випадку є продукт дегідрогалогенування з наступною ізомеризацією **15.1**. Окрім цього показано, що взаємодія сполуки **11.2** зі значним надлишком морфоліну в діоксані веде до утворення складної суміші продуктів реакції (табл. 1).

¹H ЯМР-спектри підтвердили утворення сполук **9.1-9.3**, **10.1-10.3**, **11.1**, **11.2**, **12.1-12.3**. Так, сигнали протону *NH* (положення 7) в зазначених сполуках проявляються у вигляді дублетів або мультиплетів при 8.97-7.66 м.ч., а в свою чергу сигнали протону Н-6, за рахунок наявності стереоцентру в молекулі та залежності від магнітного оточення, резонують як дублети, триплети або мультиплети при 6.51-5.69 м.ч. Цікавою особливістю ¹H ЯМР-спектрів сполук **9.1-9.3**, **10.1-10.3** та **12.1-12.3** є додаткове розщеплення стереотопних протонів замісників положення 6, які зв'язані з асиметричним центром молекули. Так, у сполук **9.1-9.3** та **12.1-12.3** протони –CH₂Cl(Br) фрагменту реєструються у вигляді двох дублет дублетів при 3.90-3.65 м.ч. та 3.99-3.76 м.ч. з відповідними КССВ 11.7-10.6 Гц та 6.3-3.8 Гц. Тоді як у сполук **10.1-10.3** сигнали протонів –CHCl₂ фрагменту реєструються у вигляді дублета при 6.43-6.24 м.ч. з КССВ 4.4-4.2 Гц. Що стосується ¹H ЯМР-спектра сполуки **13.1**, то він має сигнали чотирьох протонних мультиплетів морфолінового залишку при 2.48-2.37 м.ч. (–N(CH₂)₂–) та 3.51-3.36 м.ч. (–O(CH₂)₂–), мультиплету та –CH₂-групи при 2.81-2.63 м.ч. Важливо, що зовсім іншу картину мають спектри ¹H ЯМР сполук **14.1**, **15.1** та **3.2**, а саме значний парамагнітний зсув сигналів Н-10, Н-9, Н-8 та Н-7 «ароматичного» гетероциклу. Дане ствердження наглядно ілюструється хімічним зсувом триплетного Н-10 на 0.94-0.86 м.ч. та дублетного Н-11 на 0.70-0.64 м.ч. Крім того, сполука **14.1** характеризується сигналами протонів морфолінового фрагменту, а **3.2** – синглетним сигналом Н-6 при 9.09 м.ч.

Синтез дизаміщених **16.1-16.6**, **19.1**, **19.2** проводили взаємодією анілінів **4.1**, **4.2** та **4.9** з аліфатичними кетонами або 2-кетопропановою кислотою в оцтовій кислоті при кип'ятінні протягом 3 год, при цьому вихід кінцевих продуктів реакції складав 60,6-99,2% (рис. 5). Для одержання сполук **17.1-17.4** з ароматичними кетонами час реакції подовжували до 4 год (вихід 24,2-90%). Крім того, сполуки **17.1-17.4** потребували додаткової очистки, оскільки містили домішки 6-метил-3-*R*-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів (**18.1**, **18.2**), як продуктів конкурентного ацилування з наступною гетероциклізацією. На користь утворення сполук **18.1**, **18.2** вказує значний парамагнітний зсув (0.67-1.08 м.ч.) сигналів Н-10, Н-9, Н-8 та Н-11 гетероциклу в спектрах ЯМР ¹H, тобто його «ароматичність». Зазначене, вірогідно, може бути пояснено стеричними ускладненнями замісників ароматичних кетонів.

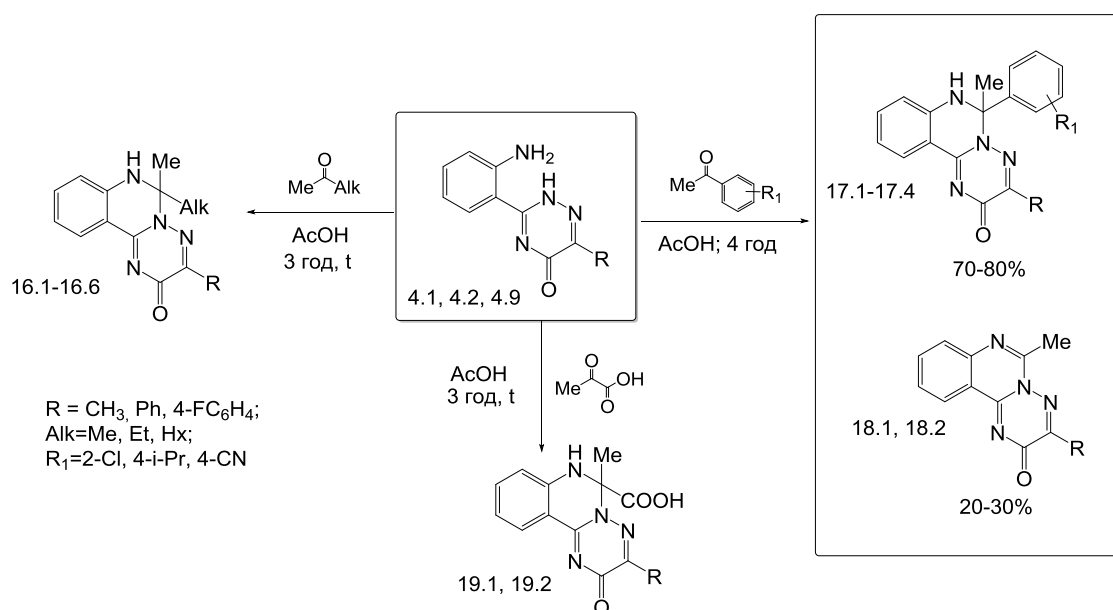


Рис. 5. Особливості взаємодії 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів з кетонами та кетокарбоновими кислотами

В спектрах ^1H ЯМР синглетні протони *NH*-групи (положення 7) сполук **16.1-16.6**, **19.1**, **19.2** проявляються в інтервалі 7.17-7.42 м.ч., сполук **17.1-17.4** – при 7.85-8.47 м.ч. Сполуки **16.1-16.2** характеризуються еквівалентними синглетами протонів двох метильних груп положення 6 при 1.67-1.78 м.ч., а метильна група у сполук **17.1-17.4** – синглетами при 2.21-1.66 м.ч. Більш складна картина спостерігається в спектрах сполук **16.3-16.6**, в яких наближені метиленові протони етильного та гексильного залишку положення 6 діастереотопні. Так, у сполук **16.3**, **16.4** з етильним замісником зазначені протони проявляються як два дублет дублети при 1.89 м.ч. та 2.28-2.29 м.ч. з КССВ $J_2 = 13.1\text{-}14.0$ та $J_3 = 6.5\text{-}7.1$ Hz. Тоді, як у сполук **16.5**, **16.6** з гексильним замісником вони проявляються як два триплет дублети при 1.82-1.83 м.ч. та 2.21-2.23 м.ч. з КССВ $J_2 = 12.3\text{-}12.5$ Hz. Інші протони гексильного замісника в спектрі проявляються як мультиплети з відповідними хімічними зсувами.

Синтез та фізико-хімічні властивості 3'- R^1 -спіро[циклоалкіл-(гетарил)-1 (2, 3, 4), 6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів

Продовжуючи попередні дослідження по створенню оригінальних частково гідрованих гетероциклічних систем та механізмів їх утворення, була розглянута можливість застосування в даних реакціях циклоалкілкетонів. По-перше, взаємодія 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів з циклоалкілкетонами надасть змогу дослідити вплив стеричних та електронних ефектів; по-друге, детально зрозуміти механізм перебігу реакції [5+1]-циклоконденсації; по-третє, можливість ввести у спіропозицію циклоалкільний замісник. Встановлено, що реакція анілінів **4.1**, **4.2**, **4.7** та **4.9** з циклічними кетонами при кип'ятінні в льодяній ацетатній кислоті перебігає регіоселективно, і при цьому утворюються індивідуальні сполуки (**20.1-20.8**, **21.1-21.3**, **22.1**, **22.2**) з виходами 53,1-95,2% (рис. 6).

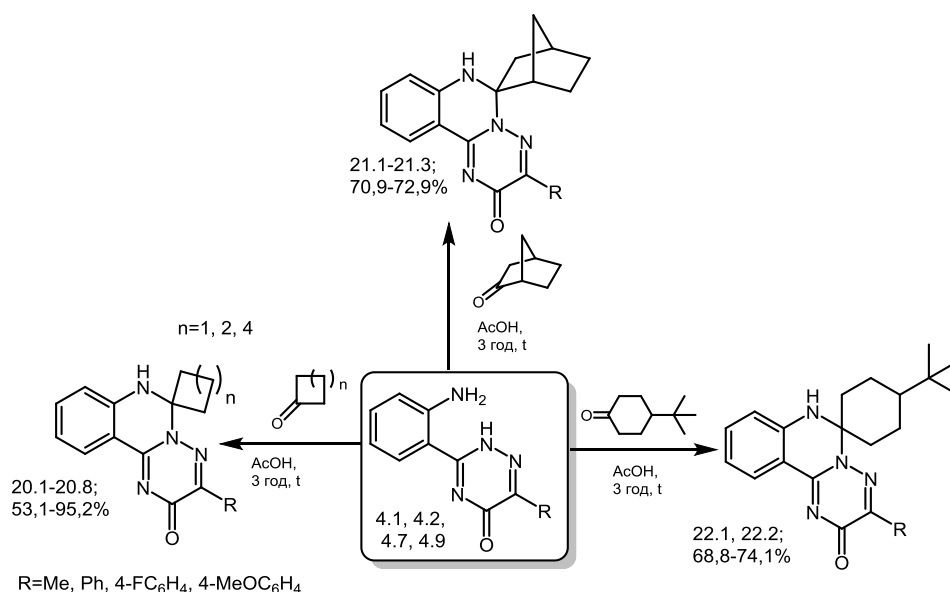


Рис. 6. Взаємодія 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2H)-онів з циклоалкілкетонами

Як і в попередніх випадках, модифікація синтетичного протоколу реакції не дозволила виділити проміжні продукти. Виходячи з цього, реакція перебігає подібно за Ad_N -механізмом або за A_N -механізмом з наступною циклоконденсацією за S_{N2} -механізмом, а стеричні фактори не впливають на сам процес перебігу реакції і для їх завершення необхідно 1,5-3 год.

Отримані дані спектрів ЯМР 1H також дозволили виявити ряд закономірностей, які характерні для спіротриазинохіназолінів. Так, у спектрах сполук **20.1-20.8**, **21.1-21.3**, **22.1**, **22.2** відмічаються синглетні сигнали NH -протону при 7.86-7.14 м.ч. Досить цікава мультиплетність NH -протону спостерігається в сполуках **21.1-21.3** з біцикло[2.2.1]гептильним замісником. Наявність центрів симетрії приводить до подвоєння синглетних сигналів NH -протону, і вони реєструються при 7.64-7.60 та 7.56-7.52 м.ч. Крім того, в спектрах 1H ЯМР сполук (**20.1-20.8**, **21.1-21.3**, **22.1**, **22.2**) характерними є сигнали протонів спірокомпоненти положення 6. Наявність у даних фрагментів магнітно-нееквівалентних аксиальних та екваторіальних атомів Гідрогену обумовлює їх специфічність положення і мультиплетність у спектрі. В ^{13}C ЯМР-спектрах сполук **20.2**, **20.7** спостерігається характерний сигнал sp^3 -гібридизованого атома Карбону в спіропозиції при 78.45 та 82.31 м.ч., відповідно. Важливо, що в ^{13}C ЯМР-спектрі сполуки **21.2**, яка містить конформаційно жорсткий біцикл, сигнали атомів Карбону подвоюються за рахунок магнітної нееквівалентності у стереоізомерах.

Відомо, що введення гетероатому до спіроциклоалкільного фрагменту змінює фізико-хімічні властивості, фармакологічний профіль та токсикологічні параметри спірогетероциклів синтезованих на їх основі. Встановлено, що [5+1]-циклоконденсація анілінів **4.1-4.9**, **4.10-4.13** з гетероциклічними кетонами перебігає без особливостей з формуванням відповідних спіропохідних (**23.1-23.2**, **24.1-24.10**, **25.1-25.3**, **26.1**, **26.2**, **27.1**, **28.1**, **28.2**, **29.1**, **29.2**, рис. 7). Також встановлено, що наведена реакції є регіоселективною та реалізуються при кип'ятінні в льодяній ацетатній кислоті протягом 3 год.

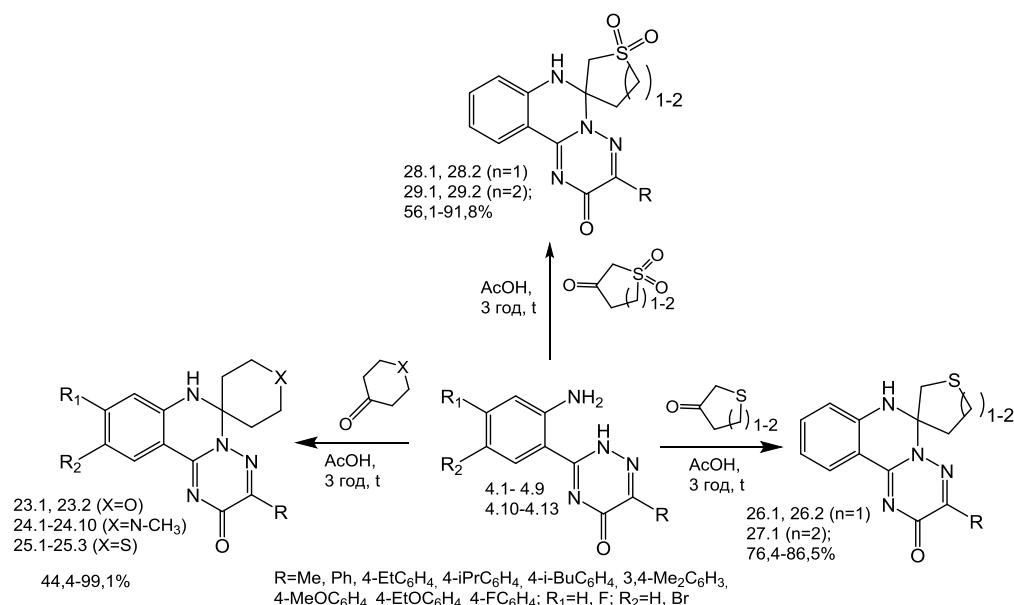


Рис. 7. Взаємодія 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2H)-онів з гетерилкетонами

Поява в ^{13}C ЯМР-спектрі сполук **23**, **24**, **25**, **26**, **27**, **29** характеристичних сигналів sp^3 -гібридизованих атомів Карбону положення 6 та безпосередньо циклу в спіропозиції при 75.61-87.60 м.ч. підтверджує перебіг [5+1]-циклоприєднання. На користь цього також вказують сигнали протонів спірокомпоненти положення 6 сполук (**23.1-23.2**, **24.1-24.10**, **25.1-25.3**, **26.1**, **26.2**, **27.1**, **28.1**, **28.2**, **29.1**, **29.2**) у спектрах ^1H ЯМР, які реєструються у вигляді складних мультиплетів в аліфатичній частині спектра. Так, магнітно-нееквівалентні протони піперидинового циклу (**24.1-24.10**) в положенні 6 реєструються як попарні широкі мультиплети аксіальних Н-3',5' (2.00-1.81 м.ч.), Н-2',6' (2.55-2.47 м.ч.) та екваторіальних Н-3,5 (2.21-2.01 м.ч.), Н-2,6 (2.85-2.65 м.ч.) сигналів протонів, що в повній мірі відповідає структурі синтезованих сполук. Подібна картина в ^1H ЯМР-спектрі також характерна для сполук **23.1-23.2**, **25.1-25.3**. Тоді як, сполуки **26.1**, **26.2**, **27.1**, **28.1**, **28.2**, **29.1**, **29.2** мають особливості резонування протонів гетероциклу положення 6, що пов'язано з наявністю в структурі асиметричного атому Карбону. Так, у наведених сполуках сигнали протонів метиленової групи положення 2 тіофенового або тіопіранового фрагментів реєструються у вигляді двох дублетів, Н-2' при 3.53-2.92 м.ч. та Н-2 при 4.24-3.38 м.ч. з КССВ 15.4-11.2 Гц.

Для синтезу відповідних 3'-R-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2,2'(7'H)-діонів (**30.1-30.9**) була використана реакція [5+1]-циклоконденсації анілінів **4.1**, **4.2**, **4.4**, **4.7-4.10** з індолін-2,3-діоном (ізатином) та 5-бром-1H-індолін-2,3-діоном у льодяній ацетатній кислоті протягом 3 год (рис. 8). Аналіз реакційної здатності інших карбонільних сполук щодо анілінів **4** показав, що регіоселективний перебіг [5+1]-циклоконденсації буде характерним також і для N-заміщених ізатинів. Так, дійсно, подальша взаємодія анілінів **4** з N-арил-(бензил)-2-(2,3-діоксоіндолін-1-іл)ацетамідами без особливостей перебігає за заданих умов з високими виходами (60,7-96,6%) кінцевих продуктів **31.1-31.4** (рис. 8).

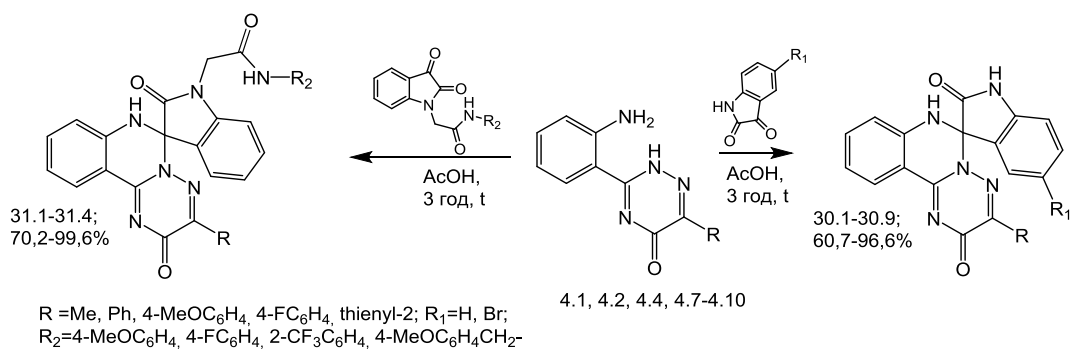


Рис. 8. Взаємодія 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів з ізатином та його заміщеними

В ¹H ЯМР-спектрах сполук **30.1-30.9**, **31.1-31.4** та **32.1-32.2** синглетний сигнал протону *NH*-групи проявляється при 8.21-7.94 м.ч., що вказує на можливість утворення водневого зв'язку з -C=O групою індолінового фрагменту. Сполуки **30.1-30.9** в спектрі ¹H ЯМР також характеризуються сигналами *NH*-протону індолінового циклу, який реєструється у вигляді синглету при 10.86-10.64 м.ч. В «ароматичній» ділянці спектра сполук **30.1-30.6** протони індолінового циклу проявляються як субспектр, який складається з дублетного сигналу H-7 (6.85-6.79 м.ч.), триплетного H-5 (7.09-6.98 м.ч.) та мультиплетного сигналу H-4, 6 (7.50-7.16 м.ч.).

З урахуванням наявності декількох нуклеофільних центрів у спіропохідних **30.1-30.9** подальша модифікація була направлена на дослідження їх поведінки по відношенню до електрофільних реагентів. Встановлено, що реакція алкілування сполук **30.1**, **30.2** та **30.5** хлорацетонітрилами та *N*-арил-(бензил-)ацетамідами без особливостей перебігає лише за умов її проведення в середовищі ДМФА за наявності калію карбонату (рис. 9). Що стосується реакції 3'-*R*¹-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7*H*)-діонів (**30.1**, **30.2**) з арилізоціанатами та арилізотіоціанатами, то не залежно від умов її проведення, досягти позитивних результатів не вдалося (неідентифікована суміш речовин).

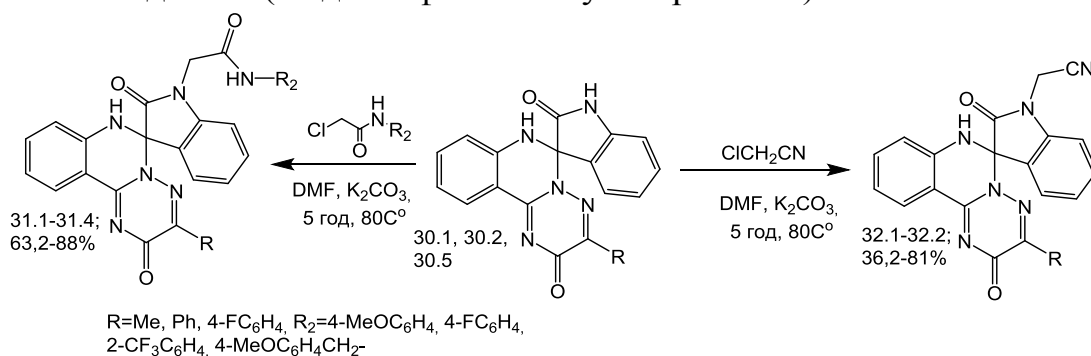


Рис. 9. Реакція алкілування 3'-*R*-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7*H*)-діонів

На користь утворення сполук **31.1-31.4** у спектрі ¹H ЯМР вказує, по-перше, відсутність сигналу імідного протону індолінового циклу, по-друге, поява синглетного сигналу амідного протону при 10.65-10.5 м.ч. та мультиплетного сигналу протонів -NCH₂-групи при 5.02-4.03 м.ч.

Біологічна активність синтезованих сполук

Дослідження АРА, актопротекторної та протизапальної активності проводились на кафедрі фармакології, фармакогнозії та фармацевтичної ботаніки Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. б. н., доц. Тржецинський С. Д.), дослідження протисудомної активності проводилось на кафедрі фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. б. н., проф. Беленічев І. Ф.), вивчення антимікробної та протигрибкової активності проводилось на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Запорізького державного медичного університету (зав. каф., д. мед. н., проф. Камишний О. М.). Результати фармакологічного скринінгу синтезованих сполук наведено у табл. 2.

Дослідження АРА *in vitro* показали, що здатність до інгібування DPPH-радикалу більш характерна для 3'-R-спіро[циклоалкіл-1(2), 6'-(**20.1-20.3**, **22.1**, **22.2**) та 3'-R-спіро[2-оксоіндолін-3,6'-(**30.1-30.9**, **31.1**)-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7*H*)-онів. Серед зазначених сполук найвищу АРА проявляють сполуки **30.1**, **30.8** та **30.9**, які інгібують утворення радикалів на 51,56-66,42% і наближаються до активності еталону порівняння – аскорбінової кислоти (АРА 68,21%).

Таблиця 2

Результати фармакологічного скринінгу синтезованих сполук

Біологічна активність	Кількість досліджених сполук	Кількість сполук-лідерів	Еталони порівняння
Антирадикальна (інгібування DPPH-радикалу)	62	15	Кислота аскорбінова
Актопротекторна (нормотермія 24-26°C) з додатковим навантаженням (10% від ваги тіла щура)	54	3	Мілдронат
Протисудомна (пентилентетразолові судоми)	23	3	Ламотриджин
Протизапальна (формаліновий набряк)	11	6	Диклофенак натрій
Протимікробна (протигрибкова)	105	2 (1)	Фурацилін Кетоконазол

Проведене дослідження на актопротекторну активність показало, що попереднє введення щурам синтезованих сполук приводило як до збільшення (актопротекторна активність), так і скорочення (депримуюча активність) тривалості плавання експериментальних тварин. Так, найбільш перспективними актопротекторами виявились сполуки **24.1**, **24.2** та **24.10**, які є 3'-R-1-метил-спіро[піперидин-4,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7*H*)-онами і перевищують

активність еталону-порівняння «Мілдронату» на 52-59%.

Враховуючи дані літератури та проведені раніше дослідження, відповідні 3'-R-спіро[циклоалкіл-(гетарил)-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7'H)-они (**20.2**, **20.7**, **21.2**, **22.1**, **22.2**, **23.1**, **23.2**, **24.1**, **24.2**, **24.8**, **25.1**, **27.1**, **29.2**, **30.1-30.9**, **31.1**, **31.2**) були досліджені на протисудомну активність. Зазначені сполуки зменшували летальність тварин на 30-90% та летальний період у 1.97-10.85 рази, а тривалість клоніко-тонічної фази скорочували у 1.08-3.85 рази у порівнянні з контролем. Проте, найбільш вдалою хімічною модифікацією в пошуку протисудомних агентів виявилась модифікація, яка передбачала введення у спіропозицію положення 6 індолінового фрагменту (рис. 10). Так, серед 3'-R-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2,2'(7'H)-діонів (**30.1-30.9**) найбільша протисудомна активність характерна для **30.2** та **30.8**, які збільшували летальний період на 47,9 та 49,7 хв, скорочували тривалість клоніко-тонічної фази в 1,08-3,85 рази в порівнянні з контролем. Вдалою також виявилась модифікація сполук **30.1-30.9**, яка передбачала введення замісника за атомом Нітрогену індолінового циклу. Так, сполуки з (4-метоксифеніламіно)- (**31.1**) та 4-(фторфеніламіно)- (**31.2**) карбоксиметильними залишками збільшували латентний період судом на 62,4 та 43,3 хв, зменшували тривалість клоніко-тонічних судом на 5,0 та 6,0 хв та запобігали летальності тварин до 20% та 30%, відповідно. Сполука **31.1** конкурує з препаратом-порівняння «Ламотриджин». Крім того, сполуки **30.2**, **30.8** та **31.1** та **31.2** на фоні протисудомної активності проявляють високу АРА, що може лежати в основі їх механізму дії.

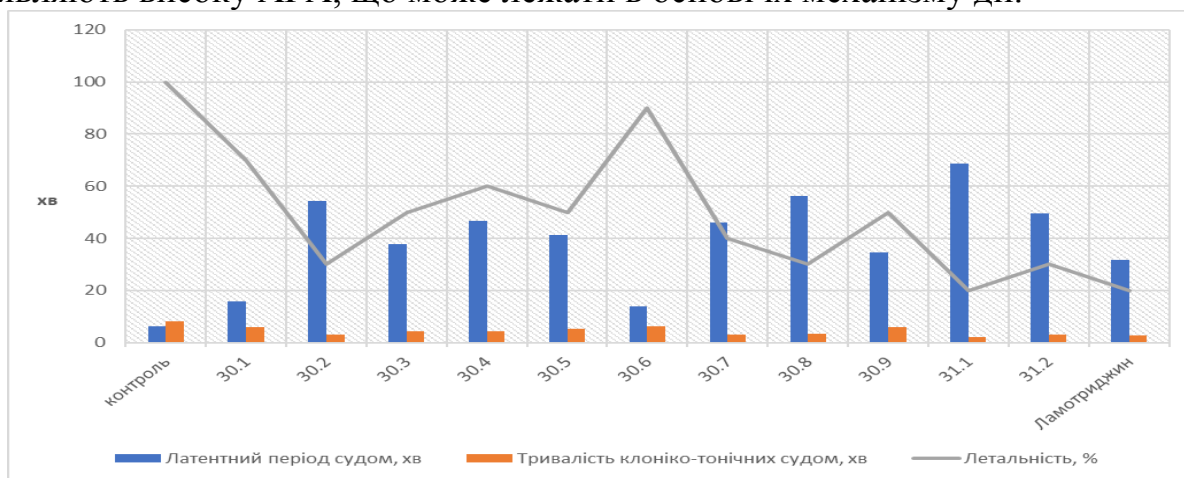


Рис. 10. Протисудомна активність синтезованих сполук

Виходячи з принципів структурної подібності синтезованих сполук до НПЗ, була створена віртуальна комбінаторна бібліотека (понад 80 сполук) 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, які завідомо в положенні 6 містили спіроциклоалкільні, спірогетарильні фрагменти та різноманітні функціональні групи за положеннями 8, 9, 10 та 11 (галоген, метил-, метоксигрупи) та замісники за положенням 3. Бібліотека була піддана аналізу з використанням молекулярного докінгу до циклооксигеназ (ЦОГ-1 та ЦОГ-2), які є важливими фармакологічними мішенями, і їх інгібітори є основою для розробки НПЗ. Результати досліджень та їх візуалізація показали, що проаналізовані

структури мають високу спорідненість до ЦОГ-2 та значно нижчу до ЦОГ-1 (рис. 11).

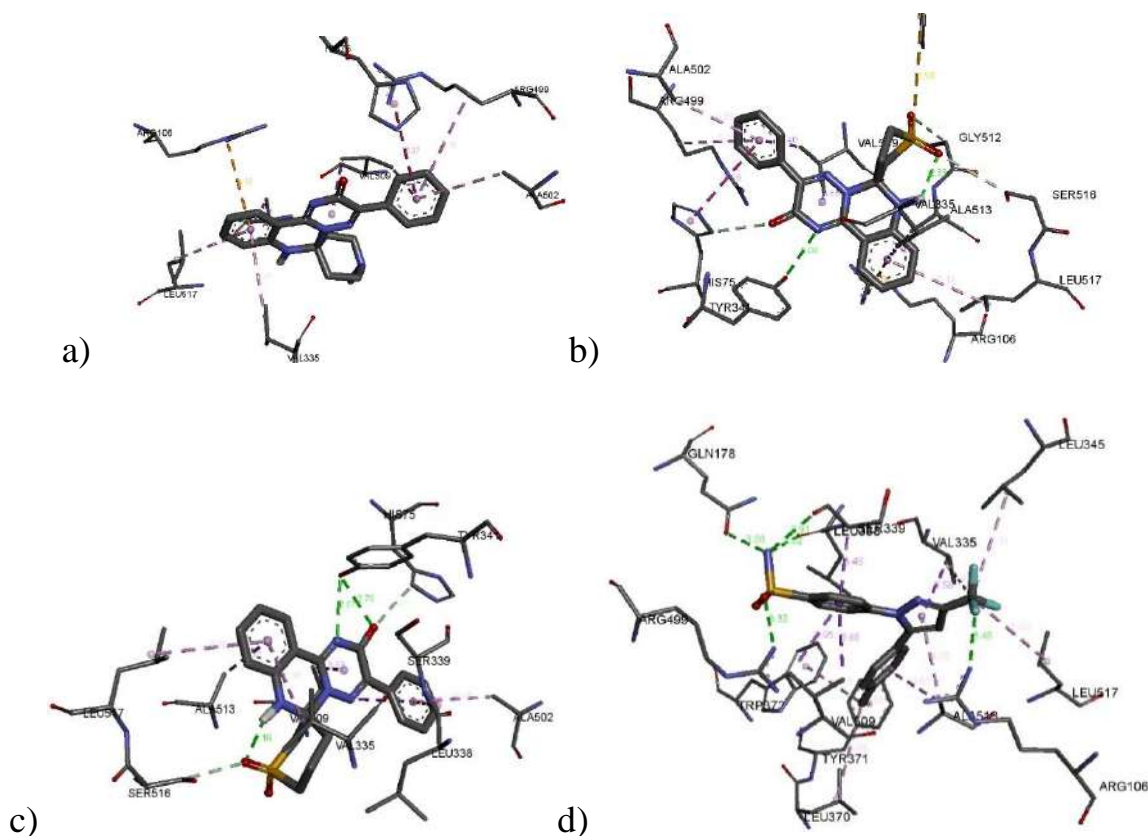


Рис. 11. Візуалізація взаємодій сполук **24.1** (a), **28.1** (b), **29.1** (c), целекоксибу (d) з ЦОГ-2 (PDB ID:3LN1)

Детальний аналіз комплексів целекоксибу з ЦОГ-2 та досліджуваних сполук з ЦОГ-2 показав, що вони мають подібні види взаємодій з ключовими амінокислотними залишками (рис. 11). Відмічено, вірогідно, вказує на можливість зазначеного класу сполук інгібувати ЦОГ-2 і, як наслідок, проявляти протизапальну активність.

Результати біологічних досліджень підтвердили дані прогнозу. Так, дійсно, введення тваринам з експериментальною патологією синтезованих сполук (відібраних на етапі молекулярного докінгу) приводить до високої протизапальної дії (рис. 12).

Аналіз даних фармакологічних досліджень (вплив замісників за положеннями 3 та 6) показав, що 3'-арил-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7*H*)-они, які у 3(4),6'-спіропозиції містять 1-метилпіперидиновий (**24.4**, **24.6**, **24.8**), гідрований тіопірановий (**26.1**), гідрований тіофеновий (**28.1**) та тіофен 1,1-діоксидний (**29.1**) фрагменти перевищують за протизапальною активністю натрію диклофенак на 4,04-40,41%, відповідно.

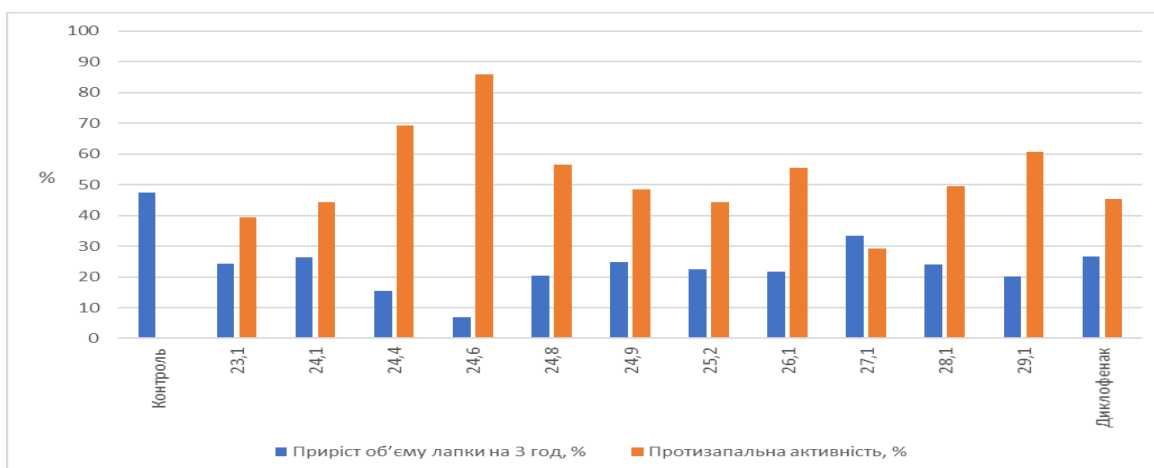


Рис. 12. Протизапальна активність синтезованих сполук

Скринінгові дослідження синтезованих речовин на протимікробну та протигрибкову активність показали, що 6-моно- та 6,6-дизаміщені 3-R-6,7-дигідро[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-они проявляють помірну антимікробну дію щодо *St. aureus*, *E. coli* та *P. aeruginosa* (МІК 50,0-200,0 мкг/мл) та фунгіцидну дію щодо *C. albicans* (МІК 12,5-100,0 мкг/мл). Тоді як, до перспективних антистафілококових агентів можна віднести сполуки **28.2** та **30.9** (МІК 12,5 мкг/мл), які потребують подальшого дослідження на резистентностіштамах. Сполука **7.7**, інгібує ріст та має значну фунгіцидну дію щодо *C. albicans* (МІК 12,5 мкг/мл, МФЦК 25,0 мкг/мл), перевищуючи при цьому активність препарату «Кетоконазол» (МІК 25 мкг/мл, МФЦК 50 мкг/мл) – протигрибковий агент.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена дослідженню умов, закономірностей та синтетичних обмежень реакції [5+1]-гетероциклізації заміщених 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із карбонільними сполуками, розробці методів синтезу нових 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, їх спрямованій структурній модифікації за положеннями 3 та 6, вивченню фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук, створенню комбінаторної бібліотеки речовин з антирадикальною, актопротекторною, протисудомною, протизапальною, антибактеріальною дією та встановленню закономірностей «структура – активність» для подальшої розробки ефективного напрямку оптимізації названої гетероциклічної системи. Пріоритет досліджень підтверджено двома патентами України на винахід.

1. Вперше одержана серія нових похідних 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів на основі реакції [5+1]-циклоконденсації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з параформом, альдегідами та кетонами аліфатичного та ароматичного ряду і встановлено, що у випадку використання в зазначеній реакції як електрофілів ароматичних кетонів, відбувається конкурентна реакція ацилування з утворенням мінорних 6-метил-3-R-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів.

2. Розроблені препаративні методи синтезу невідомих 6-хлоро-(дихлоро-, трихлоро-)-3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів на основі реакції [5+1]-циклоконденсації з галогенвмісними альдегідами, полуацетальми та їх гідратними формами та показані особливості взаємодії синтезованих сполук з нуклеофілами (морфолін) та не нуклеофільними основами (діізопропілетиламін (DIPEA)).

3. Вперше синтезовані нові 3'-*R*-спіро[(аза/оксо/тіа)циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-они, як перспективні біологічно активні сполуки, реакцією [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з циклоалканонами, тетрагідро-4*H*-піран-4-оном, 1-метилпіперидин-4-оном, тетрагідро-4*H*-тіопіран-4-оном, дигідротіофен-3(2*H*)-оном, дигідротіофен-3(2*H*)-он 1,1-діоксидом, дигідро-2*H*-тіопіран-3(4*H*)-оном, дигідро-2*H*-тіопіран-3(4*H*)-он 1,1-діоксидом.

4. Взаємодією 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з ізатином та його похідними синтезовані невідомі 3'-*R*-5-*R*₁-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'-(7'*H*)-діони та *N*-заміщені 2-(3'-метил-2,2'-діоксо-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-1-іл)ацетаміди, для яких розроблений альтернативний синтез, а саме алкілування 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'-(7'*H*)-діонів *N*-*R*-хлорацетамідами та хлорацетонітрилом.

5. Вперше досліджені спектральні властивості (¹H та ¹³C ЯМР-спектри) та встановлені закономірності розщеплення характеристичних протонів положення 6 та 7, а також атому Карбону положення 6 в залежності від електронного оточення в 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, 3'-*R*-5-*R*₁-спіро[(аза/оксо/тіа)циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів, 3'-*R*-спіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2,2'(7'*H*)-діонів.

6. Вперше на основі структурної подібності, молекулярного докінгу та традиційного фармакологічного скринінгу розроблена стратегія пошуку протизапальних агентів серед 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, яка може розглядатись як новий та перспективний напрям пошуку біологічно активних сполук серед даної гетероциклічної системи.

7. Встановлені певні закономірності зв'язку «структура-активність» та виявлені критичні «фармакофорні» фрагменти положення 6 в 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, які відповідають за актопротекторну (1-метилпіперидиновий фрагмент), протисудомну (2-оксоіндоліновий фрагмент), протизапальну (аза/оксо/тіа)циклоалкановий фрагмент).

8. У процесі виконання роботи синтезовано 138 сполук (107 вперше), серед яких ідентифіковані речовини з високою антирадикальною (15), протимікробною (2), протигрибковою (1), актопротекторною (3), протизапальною (6), протисудомною (3) активностями.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Актопротекторна активність 6-монозаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів / О. С. Коломоець, І. С. Носуленко, О. Ю. Воскобойнік, Г. Г. Берест, С. І. Коваленко, С. Д. Тржецинський. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2016. № 3 (22). С. 59-66. (Дисертант брала участь у проведенні літературного пошуку за темою публікації, синтезувала 6-монозаміщені 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-они, брала участь у біологічних дослідженнях, обговоренні та узагальненні результатів біологічних досліджень сполук та підготовці тексту статті).

2. 3'-R-Spiro[cycloalkyl-1(2), (hetaryl-3(4), 6'-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazoline]-2'(7'H)-2-ones as a perspective class of compounds with actoprotective activity / O. S. Kolomoets, O. Yu. Voskoboynik, I. S. Nosulenko, O. V. Krivoshey, A. I. Avramenko, G. G. Berest, S. I. Kovalenko. *Запорозж. мед. журн.* 2017. Т. 2. № 2 (201). С. 227-232. (Дисертант брала участь у проведенні літературного пошуку за темою публікації, синтезувала 3'-R-спіро[циклоалкіл-1(2), (гетарил-3(4), 6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7'H)-2-онів, брала участь у біологічних дослідженнях, обговоренні та узагальненні результатів біологічних досліджень сполук та підготовці тексту статті).

3. Preparation and biological properties of 2-thio-containing pyrimidines and their condensed analogues / O.Yu. Voskoboynik, O. S. Kolomoetsch, G. G. Berest, I. S. Nosulenko, Yu. V. Martunenko, S. I. Kovalenko. *Chem. Heterocycl. Compd.* 2017. Vol. 53 (3). P. 256-272. (Дисертант брала участь у проведенні літературного пошуку за темою публікації, обговоренні результатів та підготовці тексту статті).

4. [1,2,4]Триазино[2,3-с]хиназолины 1. Методы получения и спектральные характеристики замещенных 3-R¹-6-R³-6,7-дигидро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хиназолин-2-онов / А. Ю. Воскобойнік, А. С. Коломоець, С. І. Коваленко, С. В. Шишкіна. *Химия гетероцикл. соединений*. 2017. Т. 53 (8). С. 892-904. (Дисертант синтезувала частину 3-R₁-6-R₃-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, брала участь в обговоренні результатів та підготовці тексту статті).

5. [1,2,4]Триазино[2,3-с]хиназолины 2. Синтез, строение и противосудорожная активность новых 3'-R¹-спиро[(аза/окса/тіа)циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолин]-2'(7'H)-онов / А. Ю. Воскобойнік, А. С. Коломоець, В. А. Пальчиков, С. І. Коваленко, І. Ф. Беленичев, С. В. Шишкіна. *Химия гетероцикл. соединений*. 2017. Т. 53 (10). С. 1134-1147. (Дисертант синтезувала частину 3'-R¹-спіро[(аза/окса/тіо)циклоалкіл-1(2,3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7'H)-онів, брала участь в обговоренні результатів та підготовці тексту статті).

6. Desing, synthesis and anti-inflammatory activity of derivatives 10-R-3-aryl-6,7-dihydro-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones of spiro-fused cyclic frameworks / O. S. Kolomoets, O. Yu. Voskoboynik, O. M. Antypenko, G. G. Berest, I. S. Nosulenko, V. V. Palchikov, O. V. Karpenko, S. I. Kovalenko. *Acta Chim.Slov.* 2017. Vol. 64. № 4. P. 902-910. (Дисертант брала участь у синтетичних та

біологічних дослідженнях, інтерпретації спектрів, обговоренні результатів та підготовці тексту статті).

7. Пат. на винахід № 111245 Україна, C07D 253/06 (2006.01), C07D 253/10 (2006.01), C07D 239/72 (2006.01), C07D 487/04 (2006.01). 6-Моно- та 6,6-дизаміщені 3-R-8-R₃-9-R₄-10-R₅-11-R₆-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]-хіназолін-2-они / О. Ю. Воскобойник, О. С. Коломоєць, С. І. Коваленко, Г. Г. Берест, С. В. Холодняк, Т. Ю. Сергеева, С. І. Оковитий, В. О. Пальчиков. № а 2014 06068 ; заявл. 02.06.2014 ; опубл. 10.12.2015, Бюл. № 23. (Дисертант синтезувала частину 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів, брала участь в оформленні патенту).

8. Патент на винахід № 114148 Україна, C07D 253/06 (2006.01), C07D 253/10 (2006.01), C07D 407/14 (2006.01), C07D 409/14 (2006.01), C07D 487/04 (2006.01), C07D 487/20 (2006.01), C07D 495/20 (2006.01), C07D 497/20 (2006.01). 6-Спіроконденсовані похідні [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну / С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойник, О. С. Коломоєць, В. О. Пальчиков. № а 2016 01084 ; заявл. 08.02.2016 ; опубл. 25.04.2017, Бюл. № 8. (Дисертант синтезувала частину 6-спіроконденсованих похідних [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну, брала участь в оформленні патенту).

9. Спрямований пошук аналгетичних засобів серед карбоксилвмісних 3-R₁-8-R₂-9-R₃-10-R₄-11-R₅-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів та їх функціональних похідних / О. С. Коломоєць, О. Ю. Воскобойник, Т. С. Малкова, С. І. Коваленко, Є. В. Гладух, В. А. Тонконог. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : VI-а наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 16-17 жовт. 2014 р. Х., 2014. С. 147. (Дисертант брала участь в проведенні експериментальних досліджень та оформленні патенту).

10. Коломоєць О. С. Спіроконденсовані похідні [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолінової системи, що містять індольний фрагмент – новий клас потенційних хіміотерапевтичних агентів. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015* : Всеукраїн. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки, 14-15 трав. 2015. Запоріжжя, 2015. С. 154.

11. Коломоєць О. С., Носуленко І. С. Спрямований пошук сполук з актопротекторною дією серед похідних [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих, медичних та фармацевтичних наук* : IV регіон. наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих вчених, 22 листоп. 2015. Запоріжжя, 2015. С. 163-164. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

12. Коломоєць О. С. 6-(Хлоро-(дихлоро-, трихлоро-)метил)-3-R-6,7-дигідро-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-они: синтез та можливості хімічної модифікації. *Хімічні Каразинські читання 2015* : VII Всеукраїн. наук. конф. студентів та аспірантів, 20-22 квітн. 2015. Х., 2015. С. 220-221.

13. Коломоєць О. С., Пальчиков В. О., Воскобойник О. Ю. 6-Спіроконденсовані похідні [1,2,4]триазино[2,3]хіназолін-2-ону. XIV Всеукраїнська конференція молодих вчених та студентів з актуальних питань

сучасної хімії 24-26 трав. Д., 2016. С. 38. (Дисертант провів експериментальні дослідження, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

14. Коломоєць О. С. Заміщені 3-(2-Амінофеніл)-6-R-1,2,4-триазин-5-они в реакціях з альдегідами та кетонами. XVII Наукова молодіжна конференція «Проблеми та досягнення сучасної хімії». К., 2016. С. 59.

15. [1,2,4]Триазино[2,3-с]хіназоліни – новий клас біологічно активних сполук / О. С. Коломоєць, О. Ю. Воскобойнік, І. С. Носуленко, С. І. Коваленко. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : VIII Націон. з'їзд фармац. України, 13-16 верес. 2016. Х., 2016. Т. 1. С. 29. (Дисертант провів частину експериментальних досліджень, узагальнив результати досліджень та підготував тези до друку).

16. Коломоєць О. С. Спіро[піперидин-4,6'-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін]-2'(7'Н)-они – перспективний клас сполук з нейротропною та аналгетичною дією. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення*

лікарських препаратів : VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 10-11 листоп. 2016. Т. : ТДМУ, 2016. 19 с.

17. Коломоєць О. С., Мартиненко Ю. В., Ставицький В. В. Конденсовані та спіроконденсовані похідні хіназоліну – перспективний клас протизапальних агентів. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії* : V міжнарод. наук.-практ. конф., 26-28 квітн. 2017. Запоріжжя, 2017. С. 284-285. (Дисертант провів частину експериментальних досліджень, узагальнив результати власних досліджень, приймав участь у підготовці тез до друку).

18. Коломоєць О. С. 6-Моно- та 6,6-дизаміщені 3-R₁-6,7-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-они – новий клас потенційних біологічно сполук. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2017* : Всеукраїн. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжн. участю, присвячена дню науки, 11-12 трав. 2017. Запоріжжя, 2017. С. 148-149.

19. Спрямований пошук сполук с протизапальною дією серед конденсованих похідних хіназоліну / О. С. Коломоєць, Ю. В. Мартиненко, В. В. Ставицький, І. С. Носуленко. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : підсумк. наук.-практ. конф., присвячена 60-річчю ТДМУ, 14 трав. 2017. Т., 2017. С. 302. (Дисертант провів частину експериментальних досліджень, узагальнив результати власних досліджень, приймав участь у підготовці тез до друку).

АНОТАЦІЯ

Коломоєць О. С. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 6-моно- і 6,6-дизаміщених 3-R-6,7-дигідро-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-2-онів. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2018.

Дисертаційна робота присвячена дослідженню умов, закономірностей та синтетичних обмежень реакції [5+1]-гетероциклізації заміщених 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із карбонільними сполуками (параформ, альдегіди, кетони алифатичного та ароматичного ряду, галогенвмісні альдегіди, їх гідратні форми та ацеталі, циклічні, гетероциклічні кетони та ізатини), розробці методів синтезу нових 6-моно- та 6,6-дизаміщених 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів, 3'-*R*-спіро[аза/оксо/тіа/циклоалкіл-1(3, 4), 6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін]-2'(7'*H*)-онів, *N*-заміщених 3'-*R*-2',7'-дигідроспіро[індолін-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]-хіназолін]-2,2'(7'*H*)-діонів, вивченню фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук, створенню комбінаторної бібліотеки речовин з антирадикальною, актопротекторною, протисудомною, протизапальною, антибактеріальною дією та встановленню закономірностей «структура – активність» для подальшої розробки ефективного напряму оптимізації даної гетероциклічної системи.

Ключові слова: 6-моно- і 6,6-дизаміщені 3-*R*-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-они, 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-они, карбонільвмісні сполуки, синтез, спектральні характеристики, молекулярний докінг, SAR-аналіз, біологічно активні речовини.

АННОТАЦІЯ

Коломеец О. С. Синтез, физико-химические и биологические свойства 6-моно- и 6,6-дизамещенных 3-*R*-6,7-дигидро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-2-онов. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2018.

Диссертационная работа посвящена исследованию условий, закономерностей и синтетических ограничений реакции [5+1]-гетероцикллизации замещенных 6-*R*-3-(2-аминофенил)-1,2,4-триазин-5-онов с карбонильными соединениями (параформ, альдегиды, кетоны алифатического и ароматического ряда, галогенсодержащие альдегиды, их гидратные формы и ацетали, циклические, гетероциклические кетоны и изатини), разработке методов синтеза новых 6-моно- и 6,6-дизамещенных 3-*R*-6,7-дигидро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин-2-онов, 3'-*R*-спиро[аза/оксо/тиа/циклоалкил-1(3, 4), 6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин]-2,2'(7'*H*)-онов, *N*-замещенных 3'-*R*-2',7'-дигидроспиро[индолин-3,6'-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хинозолин]2,2'(7'*H*)-диононов, изучению физико-химических свойств синтезированных соединений, созданию комбинаторной библиотеки веществ с антирадикальным, актопротекторным, противосудорожным, противовоспалительным, антибактериальным действием и установлению закономерностей «структура-активность» для дальнейшей разработки эффективного направления оптимизации данной гетероциклической системы.

Ключевые слова: 6-моно- и 6,6-дизамещенные 3-*R*-6,7 дигидро-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хиназолин-2-оны, 6-*R*-3-(2-аминофенил)-1,2,4-триазин-5-оны, карбонилсодержащие соединения, синтез, спектральные характеристики, молекулярный докинг, SAR-анализ, биологически активные вещества.

ANNOTATION

Kolomoets O. S. Synthesis, physicochemical and biological properties of 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-*R*-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones – Manuscript.

Thesis for the PhD Degree in Pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhya State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhya, 2018.

The thesis is devoted to the investigation of substituted 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones [5+1]-cyclocondensation with carbonyl compounds and the synthesis of unknown 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-*R*-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones, 3'-*R*-spiro[aza/oxo/thia]cycloalkyl-1(3,4),6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones, *N*-substituted 3'-*R*-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2,2'(7'*H*)-diones, for which the physicochemical and biological properties were studied.

A series of new 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-*R*-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones was obtained for the first time on the basis of the [5+1]cyclocondensation of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones with paraformaldehyde, aldehydes and ketones of the aliphatic and aromatic series. And it was established, that competitive acylation occurs with the formation of minor 6-methyl-3-*R*-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-one, in the case of alkylaryl ketones usage as an electrophiles in the indicated reaction.

Preparative methods for the synthesis of unknown 6-chloro-(bromo-, dichloro-, trichloro-)methyl-3-*R*-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones based on the [5+1]-cyclocondensation of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones with halogen-containing aldehydes, their hydrated forms and acetals were developed. Peculiarities of the synthesized compounds interaction with morpholine and DIPEA were shown.

The synthesis of a new promising biologically active compounds among 3'-*R*-5-*R*₁-spiro[aza/oxo/thio]cycloalkyl-1(3,4),6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones was conducted by the [5+1]cyclocondensation of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones with cycloalkanones, tetrahydro-4*H*-pyran-4-one, 1-methylpiperidine-4-one, tetrahydro-4*H*-thiopyran-4-one, dihydrothiophen-3(2*H*)-one, dihydrothiophen-3(2*H*)-one 1,1-dioxide, dihydro-2*H*-thiopyran-3(4*H*)-one, dihydro-2*H*-thiopyran-3(4*H*)-one 1,1-dioxide.

Unknown 3'-*R*-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2,2'-(7'*H*)-diones and 2-(3'-*R*₁-2,2'-dioxo-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-1-yl)-*N*-*R*₂-acetamides (acetonitriles) were obtained by the interaction of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones with isatin and its substituted

derivatives. For the synthesis of 2-(3'-R₁-2,2'-dioxo-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-1-yl)-*N*-R₂-acetamides the alternative way of synthesis was developed, namely, the alkylation of 3'-R-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2,2'-(7'*H*)-diones by *N*-R-chloroacetamides and chloroacetonitrile.

Spectral properties (¹H and ¹³C NMR spectra) of 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-R-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones, 3'-R-5-R₁-spiro[aza/oxo/thia]cycloalkyl-1(2,3,4),6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones and *N*-substituted 3'-R-2',7'-dihydrospiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2,2'(7'*H*)-diones were investigated for the first time. And the peculiarities of the splitting of the characteristic protons at the 6th and 7th positions and the carbon signals at the 6th positions depending on their electronical surrounding were established.

A strategy for the search of anti-inflammatory agents among 6,6-disubstituted 3-R-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones was developed, based on structural similarity, molecular docking and traditional pharmacological screening. It was established, that high anti-inflammatory activity was characteristic for 3'-aryl-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones, which at the 3(4),6'-spiro position contain 1-methylpiperidine, saturated thiopyran, saturated thiophene and thiophene 1,1-dioxide fragments.

It was found, for the first time, that the corresponding 3'-R-spiro[cycloalkyl-(hetaryl)-1(3,4),6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones reveal anticonvulsant activity on the pentylenetetrazole induced seizures model. The most successful chemical modification, aimed for the search of anticonvulsants, involved the introduction of the indolinic fragment at the 6th spiro-position. Thus, 3'-R-spiro[indoline-3,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2,2'(7'*H*)-diones and their substituted derivatives compete with the known anti-convulsant drug «Lamotrigine». In addition, these derivatives besides anticonvulsant activity exhibit high antiradical activity, what may be one of the possible mechanisms of their pharmacological activity.

It was found, that the oral administration of the synthesized compounds under conditions of normothermia (24-26°C) with an additional load (10% of the body weight of the rat) resulted both the increase (actoprotective activity) and the reduction (depressant activity) of the swimming duration of experimental animals. Thus, 3'-R-1-methylspiro[piperidine-4,6'-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin]-2'(7'*H*)-ones turned to be the most promising actoprotectors and exceed the activity of the referent drug «Mildronate» by 52-59%.

It was found, that 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-R-6,7-dihydro[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones exhibit a moderate antimicrobial activity against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *St. aureus*, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (MIC 50.0-200.0 µg/ml) and antifungicidal activity against *Candida albicans* ATCC 885-653 (MIC 12.5-100.0 µg/ml).

Keywords: 6-mono- and 6,6-disubstituted 3-R-6,7-dihydro-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones, 6-R-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-one, carbonyl-containing compounds, synthesis, spectral characteristics, molecular docking, SAR analysis, biologically active substances.

Перелік умовних позначень

АРА	– антирадикальна активність;
БАР	– біологічно активні речовини;
ЛЗ	– лікарський засіб;
ІЧ	– інфрачервоний;
КССВ	– константа спін-спінової взаємодії;
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація;
МФцК	– мінімальна фунгіцидна концентрація;
НПЗ	– нестероїдні протизапальні засоби
м.ч.	– масова частка;
ЦОГ-1	– циклооксигеназа I типу;
ЦОГ-2	– циклооксигеназа II типу;
¹ H ЯМР	– протонний ядерний магнітний резонанс;
¹³ C ЯМР	– вуглецевий ядерний магнітний резонанс;
DIPEA	– N,N-діізопропілетиламін;
DPPH	– 2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил;
SAR-analysis	– structure-activity relationship (залежність «структура-активність»).