

УДК 547.746:615.31

Д.В. Коваль<sup>1</sup>, М.В. Воевудський<sup>1</sup>, В.О. Астахіна<sup>1</sup>, С.І. Коваленко<sup>2</sup>, О.І. Петухова<sup>1</sup>,  
О.В. Крищик<sup>1</sup>, О.В. Харченко<sup>1</sup>

## СИНТЕЗ ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ N-ЗАМІЩЕНИХ N-(2, 4-ДИМЕТИЛ-3-КАРБЕТОКСИ)ПІРОЛ-5-ІЛ СЕЧОВИН

ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»<sup>1</sup>,  
м. Дніпропетровськ, Україна  
Запорізький державний медичний університет<sup>2</sup>,  
м. Запоріжжя, Україна

e-mail: ughtu@dicht.dp.ua

**Резюме:** Опрацьовано препаративну методику синтезу етил 5-[(гідразинокарбоніл)аміно]-2,4-диметил-1*H*-пірол-3-карбоноату та етил 5-амінокарбоніл-2,4-диметил-1*H*-пірол-3-карбоноату шляхом нетривалого кип'ятіння 5-азидокарбоніл-2,4-диметилпірол-3-карбоноату в діоксані з водним розчином гідразингідрату або аміаку. В зазначених умовах здійснено синтез нових *N*-заміщених *N*-(2,4-диметил-3-карбетокси)пірол-5-іл сечовин для фармакологічного скринінгу на антиоксидантну активність. Встановлено, що похідні пірол-5-іл сечовин проявляють виражену антиоксидантну активність при окисній модифікації білка в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення *in vitro*. Дані похідні запобігають накопиченню вмісту продуктів окисної модифікації.

**Ключові слова:** пірол-5-іл сечовини, перегрупування Курціуса, антиоксидантна активність.

**Вступ.** Відомо, що процеси вільнорадикального окислення біомолекул відіграють значну роль у патогенезі багатьох хвороб і патологічних станів (атеросклероз, артеріальна гіпертензія, ішемічні ураження мозку)<sup>3</sup>.

Ушкодження мембранних структур та порушення антиоксидантно-прооксидантного балансу клітин приводить до модифікації білкових фрагментів мембран нейронів; погіршення чутливості і специфічності рецепторів, генерації утворення і провідності нервового імпульсу, синаптичної передачі<sup>4</sup>.

Лікарські засоби (ЛЗ), що за механізмом основної фармакологічної дії є антиоксидантами, тобто інгібіторами процесів вільнорадикального окислення біомолекул, посідають важливе місце у комплексній терапії захворювань центральної нервової системи, деструктивного або дегенеративного генезу, які мають чітко окреслену вільно-радикальну фазу<sup>1,7,8,11,12</sup>. Разом з тим, слід визнати, що для клінічного застосування до сьогодні запропоновано недостатню кількість ЛЗ з антиоксидантним механізмом дії<sup>9</sup>.

Раніше нами повідомлялось про наявність високої антиоксидантної активності у різних похідних гідразиду 2,4-диметил-5-карбетокси-1*H*-піролкарбонової кислоти, при чому, як серед циклічних анельованих похідних, так і серед звичайних нециклічних сполук (основи Шиффа, 1,2-діацилгідразини та ін.)<sup>2</sup>.

На нашу думку, заміна гідразидного фрагменту на залишок сечовини або семікарбазиду може дозволити значно поширити кількість потенційно активних сполук з пірольним фрагментом, а також дає можливість наблизитися до вирішення найактуальнішої задачі фармацевтичної хімії – встановленню зв'язку «будова-дія».

Одним з найбільш поширених методів отримання сечовин та семікарбазидів є реакція ізоціанатів з первинними та вторинними амінами<sup>5</sup>. Проте не завжди є можливим отримати та зберегти в необхідній препаративній кількості відповідний ізоціанат, у зв'язку з їх нестійкістю; особливо це стосується гетероциклічних ізоціанатів. Тому, в деяких випадках, для отримання сечовин та семікарбазидів зручніше використовувати ацилазиди, які можуть *in situ* трансформуватися в ізоціанати з виділенням молекулярного азоту в умовах перегрупування Курціуса<sup>13</sup>.

Необхідною умовою початку перегрупування є термічна деструкція відповідного ацилазиду в інертному розчиннику. Вибір розчинника залежить від температури розкладу ацилазиду. Зазвичай більшість ацилазидів розкладаються при температурі від 35 до 75°C. Але деякі ацилазиди мають аномально високу температуру розкладу, що робить їх безпечними та зручними при використанні, проте в той же час значно звужується коло

можливих розчинників, в яких можливо перегрупування Курціуса.

**Мета дослідження.** Здійснити синтез нових *N*-заміщених *N*-(2,4-диметил-3-карбетокси)пірол-5-іл сечовин та провести дослідження їх антиоксидантної активності *in vitro*.

**Матеріали та методи дослідження.** Синтетичні дослідження проведені з використанням реактивів компаній «Merck» (Дармштадт, Німеччина) та «Sigma-Aldrich» (Міссурі, США).

Структура і склад ключових синтезованих сполук підтверджено спектроскопією ПМР.

Оцінку антиоксидантної активності (АОА) сполук у досліджах *in vitro* проводили на кафедрі фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (зав. кафедрою, професор, д.біол.н. *Беленічев І.Ф.*) на моделях ініціації утворення вільних радикалів.

Окисну модифікацію білка проводили в гомогенаті мозку щурів лінії Вістар за відомою методикою<sup>10</sup>. АОА (%) визначали за пригніченням утворення карбонільних та карбоксильних груп в умовах ініціювання вільно радикального окиснення.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Раніше нами встановлено, що 5-азидокарбоніл-2,4-диметилпірол-3-карбоноат може використовуватися для синтезу різноманітних сечовин та семікарбазидів в умовах нетривалого кип'ятіння вихідних компонентів в толуолі<sup>6</sup>.

Вибір розчинника обумовлений високою термостабільністю вихідного ацилазиду ( $T_{\text{розкл}}=136^{\circ}\text{C}$ ).

При чому було показано, що при використанні в деяких випадках у якості розчинника самих агентів (водний розчин аміаку, гідрозингідрат 80%) реакція відбувається з утворенням відповідних похідних 2,4-диметил-5-карбетокси-1*H*-піролкарбонової кислоти (**2**, **3**), тобто в цих температурних умовах ацилазидна група реагує як псевдогалогенангідридна.

Проведення цієї ж реакції у толуолі призводить до утворення етил 5-[(гідразинокарбоніл)аміно]-2,4-диметил-1*H*-пірол-3-карбоноату та етил 5-аміно-карбоніл-2,4-диметил-1*H*-пірол-3-карбоноату, але гетерофазність реакційного середовища ускладнює проведення реакції та негативно впливає на вихід кінцевих продуктів.

У зв'язку з цим, нами проведена спроба оптимізувати дану методику шляхом заміни толуолу на діоксан.

Встановлено, що нетривале кип'ятіння ацилазиду в діоксані з водним розчином гідрозингідрату або аміаку призводить до утворення очікуваних семікарбазиду (**4**) та сечовини (**5**) з високими виходами.

Реакція відбувається в гомофазному середовищі (схема 1).

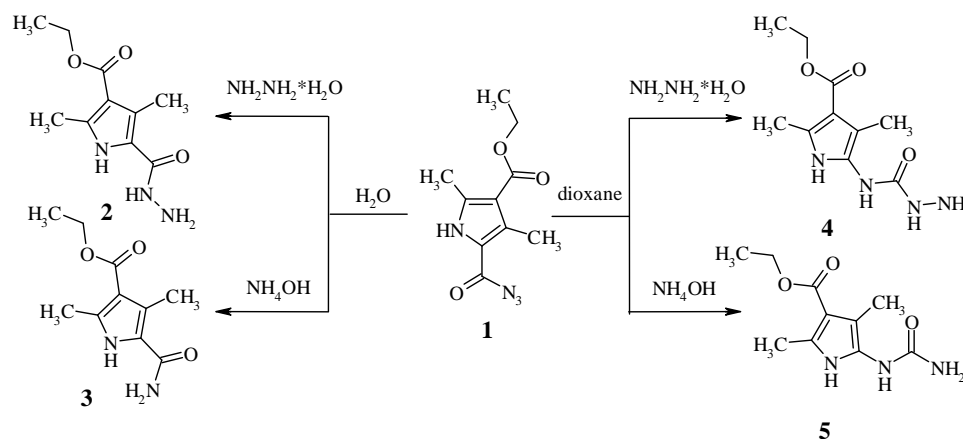
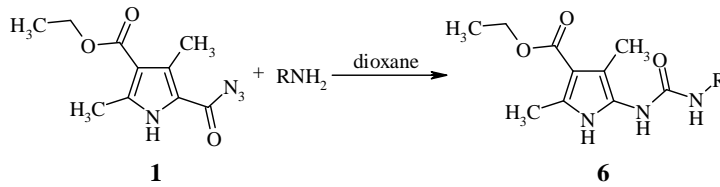


Схема 1

Також була проведена вдала спроба твердофазного синтезу сечовини (**5**), шляхом плавлення попередньо змішаної суміші ацилазиду з карбамідом при температурі  $200^{\circ}\text{C}$  у продовж 30 хв.

Таким чином обидві методики можуть бути використані для синтезу монозаміщених семікарбазиду (**4**) та сечовини (**5**) з пірольним фрагментом.

З метою дослідження антиоксидантної дії серед заміщених сечовин з пірольним фрагментом нами синтезовано низку сечовин із відповідного ацилазиду (**1**) та різноманітних первинних та вторинних амінів з використанням діоксану у якості розчинника (схема 2).



R = 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (а), CH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (б), 3-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (в), -C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>- (г),  
-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-O-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (д), 2-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (е), 5-tBut-C<sub>2</sub>N<sub>2</sub>S (ж), 2,4-(CH<sub>3</sub>O)<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub> (з),  
2,5-(CH<sub>3</sub>O)<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub> (і), N-морфоліл (к), 4-COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub> (л), -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH (м)

Структуру синтезованих сполук **6а-6м** підтверджено за допомогою <sup>1</sup>H ЯМР спектроско-

пії. Проаналізовані спектральні данні наведені у таблиці 1.

Таблиця 1. Спектральні характеристика синтезованих сполук

№	Ви-хід	T <sub>топл.</sub>	Дані спектрів				
			CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O	2,4-CH <sub>3</sub>	NH пір	NHCONH	Інші групи
<b>6а</b>	85	233-235	1,24 т, 4,11 кв	1,99 с, 2,33 с	11,02 с	7,76 с, 8,51 с	2,21 с (3H, 4-CH <sub>3</sub> -Ph), 7,06 д (2H, Ph), 7,28 д (2H, Ph)
<b>6б</b>	87	219-221	1,22 т, 4,11 кв	1,96 с, 2,31 с	10,97 с	6,53 с, 7,68 с	4,22 д (2H, CH <sub>2</sub> -Ph), 7,27 м (5H, Ph)
<b>6в</b>	50	235-238	1,24 т, 4,12 кв	1,99 с, 2,33 с	11,03 с	7,79 с, 8,52 с	2,24 с (3H, 3-CH <sub>3</sub> -Ph), 6,74 д (1H, Ph), 7,11 т (1H, Ph), 7,22 д (2H, Ph)
<b>6г</b>	75	290 р	1,24 т, 4,13 кв	2,00 с, 2,34 с	11,06 с	7,87 с, 8,75 с	7,43-7,51 м (8H, Ph-Ph)
<b>6д</b>	89	230-233	1,24 т, 4,12 кв	1,99 с, 2,33 с	11,03 с	7,81 с, 8,64 с	6,88 д (4H, Ph), 7,41 д (4H, Ph)
<b>6е</b>	69	231-234	1,24 т, 4,12 кв	2,02 с, 2,34 с	11,04 с	7,84 с, 8,19 с	2,20 с (3H, 2-CH <sub>3</sub> -Ph), 6,87-6,94 м (1H, Ph), 7,06-7,16 м (2H, Ph), 7,76-7,80 м (1H, Ph)
<b>6ж</b>	81	186-188	1,24 т, 4,12 кв	1,96 с, 2,33 с	11,12 с	8,25 с	1,20-1,35 м (9H, t-But)
<b>6з</b>	86	217-220	1,23 т, 4,11 кв	1,98 с, 2,32 с	11,01 с	6,57 с, 8,30 с	3,70 с (3H, CH <sub>3</sub> -O-Ph), 3,82 с (3H, CH <sub>3</sub> -O-Ph), 6,44 д (1H, Ph), 7,87 д (2H, Ph)
<b>6і</b>	87	199-202	1,23 т, 4,12 кв	1,99 с, 2,33 с	11,04 с	8,20 с, 8,52 с	3,64 с (3H, CH <sub>3</sub> -O-Ph), 3,78 с (3H, CH <sub>3</sub> -O-Ph), 6,45 м (1H, Ph), 6,89 д (1H, Ph), 7,81 д (1H, Ph)
<b>6к</b>	51	180 р	1,23 т, 4,11 кв	1,93 с, 2,30 с	10,96 с	8,02 с	3,55 м (8H, морфоліл)
<b>6л</b>	75	195-198	1,23 т, 4,12 кв	1,99 с, 2,33 с	11,07 с	7,98 с, 9,11 с	1,28 т (2H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-), 4,25 кв (3H, CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> O-), 7,56 д (2H, Ph), 7,85 д (2H, Ph)
<b>6м</b>	84	193-196	1,22 т, 4,10 кв	1,94 с, 2,30 с	10,91 с	6,05 с, 7,67 с	4,67 с (1H, -OH), 3,08 кв (2H, -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -), 3,38 м (2H, -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -)

Аналіз отриманих даних по спонтанній окисній модифікації білка показав, що у гомогенаті відмічається підвищення рівня про-

дуктів вільно-радикального окиснення (табл. 2, табл. 3).

Таблиця 2. Антиоксидантна активність досліджуваних сполук (6 а-м) при окисній модифікації білка (пригнічення утворення АФГ) в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення (λ=274nm)

	R	АФГ (10 <sup>-3</sup> моль/л)	%	АФГ (10 <sup>-5</sup> моль/л)	%	АФГ (10 <sup>-7</sup> моль/л)	%
1	2	3	4	5	6	7	8
<b>6а</b>	4-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	37,894	-8,96	33,482	3,72	29,645	14,76
<b>6б</b>	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	29,735	14,50	32,595	6,27	29,284	15,79

Продовження табл. 2							
1	2	3	4	5	6	7	8
6в	3-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	28,121	19,14	30,503	12,29	29,464	15,28
6г	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -	31,688	8,88	32,761	5,80	32,2	7,41
6д	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -	34,881	-0,30	33,89	2,55	31,071	10,66
6е	2-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	31,619	9,08	32,443	6,71	28,848	17,05
6ж	3-tBut-C <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S	33,329	4,16	30,247	13,03	30,337	12,77
6з	2,4-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	30,76	11,55	30,995	10,88	28,661	17,59
6і	2,5-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	30,524	12,23	26,479	23,86	29,665	14,70
6к	N-морфоліл	24,789	28,72	27,276	21,57	27,511	20,89
6л	4-COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	30,372	12,67	26,41	24,06	31,196	10,30
6м	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ОН	34,154	1,79	25,184	27,58	30,587	12,05
контроль		34,777		34,777		34,777	
інтакт		10,057		10,057		10,057	

Таблиця 3. Антиоксидантна активність досліджуваних сполук (6 а-м) при окисній модифікації білка (пригнічення утворення КФГ) в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення ( $\lambda=363\text{nm}$ )

	R	КФГ (10 <sup>-3</sup> моль/л)	%	КФГ (10 <sup>-5</sup> моль/л)	%	КФГ (10 <sup>-7</sup> моль/л)	%
6а	4-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	31,605	-34,52	26,465	-12,65	21,596	8,08
6б	CH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	22,822	2,86	27,56	-17,31	20,391	13,21
6в	3-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	21,88	6,87	24,748	-5,34	21,146	9,99
6г	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -	24,81	-5,60	25,738	-9,55	24,696	-5,12
6д	-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -O-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -	29,471	-25,44	28,245	-20,22	23,605	-0,47
6е	2-CH <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24,831	-5,69	25,625	-9,07	21,589	8,11
6ж	3-tBut-C <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S	26,791	-14,03	23,937	-1,89	21,395	8,93
6з	2,4-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	25,426	-8,22	25,516	-8,61	22,607	3,78
6і	2,5-(CH <sub>3</sub> O) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>3</sub>	27,691	-17,86	16,166	31,19	21,838	7,05
6к	N-морфоліл	19,387	17,48	17,98	23,47	20,64	12,15
6л	4-COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub>	24,519	-4,36	17,433	25,80	23,362	0,56
6м	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ОН	28,045	-19,37	16,748	28,71	20,827	11,35
контроль		23,494		23,494		23,494	
інтакт		8,173		8,173		8,173	

Так, рівень карбонільних та карбоксильних груп – основних маркерів окисної модифікації білка, які кількісно реагують з 2,4-динітрофенілгідразином, утворюючи при цьому 2,4-динітрофенілгідразони, був у 3,7 ( $\lambda=274\text{ nm}$ ) та 4 ( $\lambda=363\text{ nm}$ ) рази вище у порівнянні з інтактом.

Введення синтезованих сполук до гомогенату мозку щурів в умовах окисної модифікації білка не у всіх випадках приводить до зниження рівня альдегідфенілгідразону (АФГ) та карбоксифенілгідразону (КФГ) – основних маркерів деструкції білкових молекул (рис. 3, рис. 4).

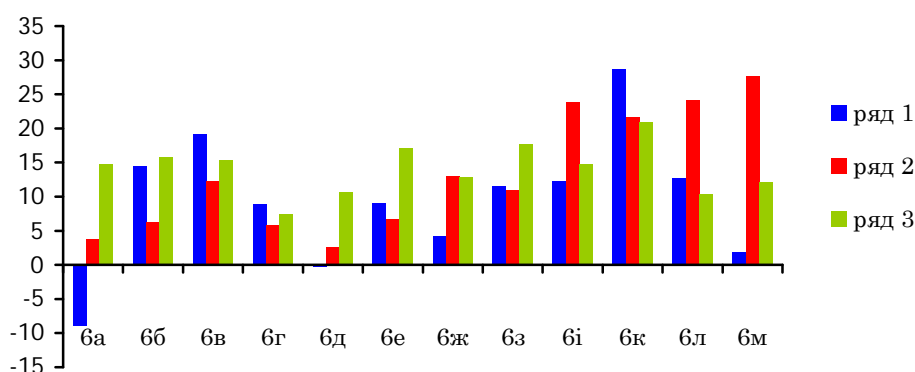


Рис. 3. Антиоксидантна активність досліджуваних сполук (6 а-м) при окисній модифікації білка в умовах ініціювання вільнорадикального окиснення ( $\lambda=274\text{nm}$ ).

Примітки: Ряд 1 – концентрація досліджуваної речовини 10<sup>-3</sup> моль/л;  
Ряд 2 – концентрація досліджуваної речовини 10<sup>-5</sup> моль/л;  
Ряд 3 – концентрація досліджуваної речовини 10<sup>-7</sup> моль/л.

Як видно, з наведених гістограм майже всі сполуки в досліджуваних концентраціях приводили до зниження рівня АФГ.

Слід зазначити, що деякі речовини (**6а**) та (**6д**) зі зменшенням концентрації змінюють прооксидант-ну на антиоксидантну дію, а саме у концентрації  $10^{-3}$  моль/л вони є прооксидантами, але вже при концентрації  $10^{-5}$  моль/л проявляють антиоксидантні властивості. Слід відзначити, що для сполук (**6ж**), (**6і**), (**6л**), (**6м**) найоптимальнішою концентрацією, при якій спос-терігалось зниження кількості карбонільних груп, виявилась

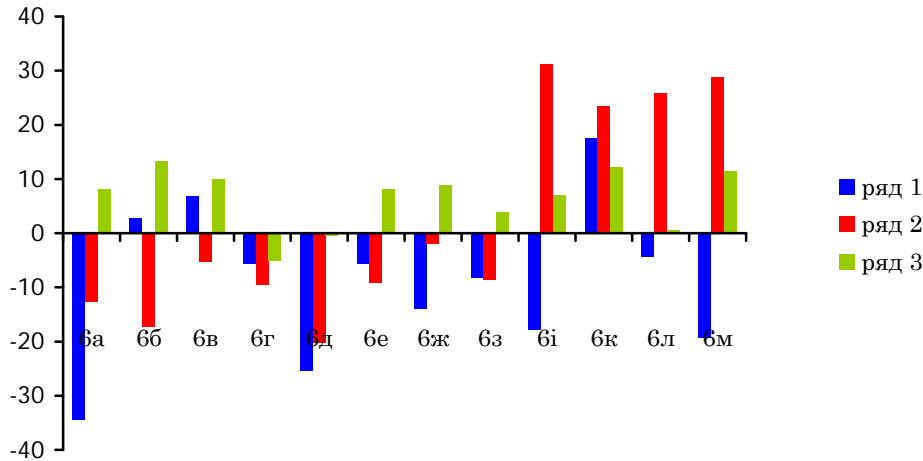


Рис. 4. Антиоксидантна активність досліджуваних сполук (**6 а-м**) при окисній модифікації білка в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення ( $\lambda=363\text{nm}$ ).

Примітки: Ряд 1 – концентрація досліджуваної речовини  $10^{-3}$  моль/л;  
Ряд 2 – концентрація досліджуваної речовини  $10^{-5}$  моль/л;  
Ряд 3 – концентрація досліджуваної речовини  $10^{-7}$  моль/л.

Сполуки (**6і**), (**6к**), (**6л**), (**6м**) в концентрації  $10^{-5}$  моль/л знижували рівень карбоксильних груп ( $\lambda=363$  нм) на 16–18%. Меншу ефективність проявили сполуки (**6а**), (**6д**), котрі мали іншу направленість антиоксидантної активності. У концентрації  $10^{-3}$  моль/л вони збільшують рівень 2,4-динітрофенілгідразонів при довжині хвилі 274 нм та 363 нм на 0,3–8,96 та 25,44–34,52 % відповідно (табл. 2, табл. 3).

Слід відзначити, що при зменшенні концентрації досліджуваних сполук прооксидантна активність змінювалась на антиоксидантну.

Таким чином, найбільше пригнічують утворення 2,4-динітрофенілгідразонів речовини, які мають 2-гідроксіетиловий (**6м**) та морфоліновий (**6к**) замісники або замісники з переважним мезомерним ефектом (метокси- (**6з**), (**6і**), карбетоксигрупи (**6л**) у бензиліденовому субституенті. Найефективнішою концентрацією досліджуваних сполук виявилась  $10^{-5}$  моль/л.

#### Експериментальна хімічна частина.

Визначення чистоти продуктів і контроль проходження реакцій здійснювалися мето-

$10^{-5}$  моль/л. Найбільшу ефективність у зниженні концентрації АФГ, на рівні 15% або вище при концентрації досліджуваної сполуки  $10^{-7}$  моль/л, проявили сполуки (**6б**), (**6в**), (**6е**), (**6з**).

При чому їх активність в концентрації  $10^{-5}$  моль/л була значно нижчою.

Зміна концентрації сполуки **6к** незначним чином впливала на її антиоксидантну активність, зниження рівня 2,4-динітрофенілгідразонів при довжині хвилі 274 нм залишалось на рівні 20–30%

дом тонкошарової хроматографії на пластинках «Silufol UV-254», елюент: толуол-ізопропанол-10:3. Прояв парами йоду.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектри зареєстровані на спектрометрі Varian 300VXR в DMSO- $D_6$ , внутрішній стандарт – тетраметилсилан. Синтез сполук **2**, **3** здійснено за відомим методом<sup>6</sup>.

Метод синтезу 2,4-диметил-3-карбетокси-5-ацилазидопіролу (**1**). 30 г (0,133 моль) 2,4-диметил-3-карбетокси-5-гідразидокарбоніліпіролу суспендували у 200 мл води. Додавали 30 мл соляної кислоти та охолоджували суміш до  $t=0-5^\circ\text{C}$ , після чого при перемішуванні додавали порціями розчин 9,2 г (0,133 моль) нітриту натрію у 15 мл води. Отриманий осад відфільтровували, промивали водою та сушили. Вихід 91%.

Метод синтезу етил 5-[(гідразінокарбоніл)аміно]-2,4-диметил-1H-пірол-3-карбонату (**4**). 1 г (0,004 моль) вихідного ацилазиду (**1**) розчиняли у 30 мл абсолютного діоксану і нагрівали до кипіння. Додавали 1,3 мл (0,02 моль) 80% водного розчину гідрозин гідрату та кип'ятили 1–2 год. Охолоджували,

відфільтровували і промивали петролейним ефіром. Вихід 76%.

*Метод синтезу етил 5-амінокарбоніл-2,4-диметил-1Н-пірол-3-карбоноату (5).*

**Метод (а).** 2 г (0,008 моль) вихідного ацилазиду (1) розчиняли у 20 мл абсолютного діоксану і нагрівали до кипіння. Додавали 10 мл 27%-го водного розчину аміаку та кип'ятили 1–2 год. Охолоджували, фільтрували, промивали петролейним ефіром. Вихід 83%.

**Метод (б).** Суміш 1 г (0,004) моль ацилазиду (1) та 1,3 г (0,022 моль) карбаміду перетирали у ступці та нагрівали на пісчаній бані до 200°C. Після цього реакційну масу розчиняли у воді, охолоджували. Осад відділяли на фільтрі та перекристалізовували з води. Вихід 42%.

*Загальний метод синтезу N-заміщених N-(2,4-диметил-3-карбетокси)пірол-5-іл сечовин (6а-6м).*

0,5 г (0,002) моль ацилазиду (1) розчиняли у 10 мл абсолютного діоксану при нагріванні. Після закипання додавали 0,002 моль відповідного аміну (або 0,001 моль діаміну) та кип'ятили 1–2 год. Охолоджували, фільтрували, промивали петролейним ефіром. Отри-

мані сполуки очищували перекристалізацією з ацетонітрилу або етанолу. Вихід 73–87%.

**Експериментальна біологічна частина.**

Окисну модифікацію білка проводили в гомогенаті мозку щурів лінії Вістар<sup>10</sup>. До 0,25 г гомогенату тканини додають 7 мл 0,5 М фосфатного буфера (температура розчину 5°C) і центрифугують 30 хв. при 11000 об/хв. До 0,1 мл підготовленого гомогенату додають 0,1 мл досліджуваної речовини ( $10^{-6}$  М), 0,1 мл 2,8% заліза (II) сульфату, 0,1 мл 4% перекису водню і інкубують 2 год. Потім додають 1 мл 25% трихлороцтової кислоти і центрифугують 30 хв. при 3000 об/хв. До осаду, що залишився після центрифугування, додають 1 мл 2,2% 2,4-динітрофенілгідразину (приготовленого на 7% розчині соляної кислоти) та інкубують 1 год. при температурі 37°C, центрифугують 10 хв. при 3000 об/хв. Осад промивають 3 мл етилацетату, розчиняють у 3 мл 50% розчину сечовини, додають 1 кр. 7% розчину соляної кислоти і розводять дистильованою водою в 12 разів. Підготовлений розчин спектрофотометрують при довжині хвилі 274 та 363 нм, розчин порівняння – 0,5 М фосфатний буфер. По показнику екстинкції визначають кількість карбонільних і карбоксільних груп.

## Висновки:

1. Удосконалено методику синтезу етил 5-[[гідразінокарбоніл)аміно]-2,4-диметил-1Н-пірол-3-карбоноату та етил 5-амінокарбоніл-2,4-диметил-1Н-пірол-3-карбоноату. Вдалий вибір розчинника (діоксан) дозволив здійснити реакцію в гомофазному середовищі та значно підвищити виходи цільових продуктів. Здійснено синтез нових N-заміщених N-(2,4-диметил-3-карбетокси)пірол-5-іл сечовин для

фармакологічного скринінгу на антиоксидантну активність.

2. Проведені біологічні дослідження показали, що похідні пірол-5-іл сечовин проявляють виражену антиоксидантну активність при окисній модифікації білка в умовах ініціювання вільно-радикального окиснення *in vitro*. Дані похідні запобігають накопиченню вмісту продуктів окисної модифікації.

## Література:

1. Антиоксидантна система захисту організму : (огляд літ.) / І.Ф. Беленічев, Ю.І. Губський, Е.Л. Левицький [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 24-31.
2. Астахіна В.О. Антиоксидантна та антирадикальна активність етилового естеру 5-гідразінокарбоніл-2,4-диметил-1Н-пірол-3-карбонової кислоти / В.О. Астахіна, М.В. Вовсудський, О.В. Харченко // Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. – 2010. – № 1-2 (6-7). – С. 88-92.
3. Беленічев І.Ф. Рациональная нейропротекция / И.Ф. Беленічев, В.И. Черний, Ю.М. Колесник – Донець, 2009. – 268 с.
4. Биоантиоксиданты и свободнорадикальная патология / под ред. О.Н. Воскресенского. – Полтава, 1987. – 154 с.
5. Вишнякова Т.П. Замещенные мочевины, методы синтеза и области применения / Т.П. Вишнякова, И.А. Голубева, Е.В. Глебова // Успехи химии. – 1985. – Т. 54. – № 3. – С. 429-449.
6. Взаимодействие этил 5-азидокарбонил-2,4-диметил пиррол-3-карбоноата с N-нуклеофилами / М.В. Вовсудський, Е.И. Петухова, Т.Н. Чуб, В.В. Ребенюк // Вестник ДНУ. – 2008. – № 14. – С. 66-69.
7. Гончарук С.Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / С.Г. Гончарук, М.М. Коришун // Журнал АМН України. – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 131-150.
8. Классификация, механизмы действия и перспективы создания антиоксидантных средств: (обзор) / И.Ф. Беленічев, С.И. Коваленко, І.А. Мазур [и др.] // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики. – Запоріжжя, 1999. – Вип. 4. – С. 61-75.

9. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства / *М.Д. Машковский* – М.: Новая волна, 2005. – 1200 с.
10. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у досліджах *in vitro*: метод. рекомендації / *Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, І.Ф. Беленічев* [та ін.] – К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
11. *Левіцкий Е.Л.* Свободно-радикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки / *Е.Л. Левіцкий, Ю.И. Губский* // Укр. биохим. журн. – 1994. – Т. 66, № 4. – С. 18-30.
12. *Носков С.М.* Свободнорадикальные реакции при ревматоидном артрите / *С.М. Носков, Г.С. Козлов, Г.С. Широкова* // Ревматология. – 1988. – № 4. – С. 72-76.
13. *Curtius T.* Ueber stickstoffwasserstoffsäure (azoimid) N<sub>3</sub>H / *T. Curtius* // Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. – 1890. – Vol. 23. – № 2. – С. 3023-3033.

УДК 547.746:615.31

**СИНТЕЗ И АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ N-ЗАМЕЩЕННЫХ N-(2,4-ДИМЕТИЛ-3-КАРБОЭТОКСИ) ПИРРОЛ-5-ИЛ МОЧЕВИН**

*Д.В. Коваль<sup>1</sup>, М.В. Воевудский<sup>1</sup>, В.О. Астахина<sup>1</sup>, С.И. Коваленко<sup>2</sup>, Е.И. Петухова<sup>1</sup>, О.В. Крицик<sup>1</sup>, А.В. Харченко<sup>1</sup>*

*ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет»<sup>1</sup>, г. Днепропетровск, Украина*

*Запорожский государственный медицинский университет<sup>2</sup>, г. Запорожье, Украина*

**Резюме:** Разработано препаративные методики синтеза этил-[(гидразинокарбонил)амино]-2,4-диметил-1*H*-пиррол-3-карбоноата и этил 5-аминокарбонил-2,4-диметил-1*H*-пиррол-3-карбоноата путем непродолжительного кипячения 5-азидокарбонил-2,4-диметилпиррол-3-карбоноата в диоксане с водным раствором гидразингидрата или аммиака. В указанных условиях осуществлен синтез новых *N*-замещенных *N*-(2,4-диметил-3-карбоэтокси)пиррол-5-ил мочевины для фармакологического скрининга на антиоксидантную активность. Проведенные биологические исследования показали наличие выраженной антиоксидантной активности синтезированных веществ на различных моделях иницирования свободно радикального окисления. Обнаружены перспективные вещества, что являются основанием для последующей химической оптимизации и направленного синтеза новых представителей этого класса соединений в качестве потенциальных антиоксидантных агентов.

**Ключевые слова:** пиррол-5-ил мочевины, перегруппировка Курциуса, антиоксидантная активность.

UDC 547.746:615.31

**SYNTHESIS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF N-SUBSTITUTED N-(2,4-DIMETHYL-3-CARBOETHOXY)PYRROLE-5-YL UREAS**

*D.V. Koval<sup>1</sup>, M.V. Voyevudskyi<sup>1</sup>, V.O. Astakhina<sup>1</sup>, S.I. Kovalenko<sup>2</sup>, O.I. Petuhova<sup>1</sup>, O.V. Kryshchik<sup>1</sup>, O.V. Harchenko<sup>1</sup>*

*Ukrainian State University of Chemical Technology<sup>1</sup>, Dnipropetrovs'k, Ukraine*

*Zaporizhzhia State Medical University<sup>2</sup>, Zaporizhzhia, Ukraine*

**Summary:** Preparative method of synthesis of ethyl 5-[(hydrazinocarbonyl) amino]-2,4-dimethyl-1*H*-pyrrol-3-carboxylate and ethyl 5-aminocarbonyl-2,4-dimethyl-1*H*-pyrrole-3-carboxylate by short refluxing of ethyl 5-azidocarbonyl-2,4-dimethyl-1*H*-pyrrol-3-carboxylate in dioxane with aqueous hydrazine hydrate or ammonia were developed. New *N*-substituted *N*-(2,4-dimethyl-3-carboethoxy)pyrrole-5-yl ureas were obtained for pharmacological screening for antioxidant activity. Biological research conducted showed significant antioxidant activity of the synthesized compounds on various models of free radical oxidation initiation. The promising substances have been discovered which can be the basis for further chemical optimization and direct synthesis of new derivatives as potential antioxidant agents.

**Keywords:** pyrrole-5-yl urea, Curtius rearrangement, antioxidant activity.

Надійшла до редакції 11.07.2012 р.