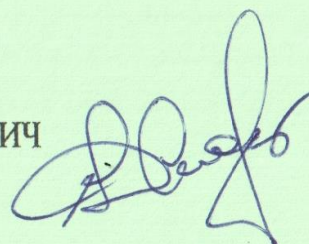


Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медичний університет

СКОРИНА ДМИТРО ЮРІЙОВИЧ



УДК 547.856.1'873.03/.04.057.000.57

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ  
(3-R-2-ОКСО-2Н-[1,2,4]ТРИАЗИНО[2,3-с]ХІНАЗОЛІН-6-ІЛ)КАРБОНОВИХ  
КИСЛОТ ТА ЇХ ПОХІДНИХ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2015



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;

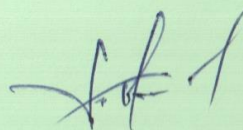
доктор фармацевтичних наук, професор **Лесик Роман Богданович**, Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, в. о. завідувача кафедри фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії.

Захист відбудеться «29» листопада 2015 р. о 12<sup>00</sup> 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 «24» листопада 2015 р.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради



В. В. Парченко

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Ангідриди та хлорангідриди дикарбонових кислот – важливий клас моно- та біелектрофільних реагентів, які широко застосовуються для введення карбоксильних груп до структури нуклеофільних скаффолдів. Зазначені перетворення є важливими, адже карбоксильна група завжди вважалась одним з ключових фрагментів при конструюванні нових лікарських препаратів, що пов'язано з багатогранністю її впливу на біологічну активність молекул. Введення зазначеного «фармакофору» до молекули надає широкі можливості для подальшої корекції фармакокінетичних параметрів потенційного біологічно активного агента через одержання його солей (підвищення гідрофільності) або естерів (підвищення ліпофільності). Висока реакційна здатність карбонових кислот та широкий вибір сучасних методів їх хімічної модифікації дозволяє вводити до молекули додаткові функціональні групи у складі амідного, гідразидного або гідразонного фрагментів. Отже, дослідження реакції [5+1]-гетероциклізації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідридами та ангідридами дикарбонових кислот, які можуть привести до нових гетероциклічних сполук з карбоксильною групою, їх структурна модифікація, дослідження фізико-хімічних властивостей, спектральних характеристик та біологічної активності є вкрай актуальною проблемою органічної, медичної хімії. Тим більше, що значна кількість лікарських засобів поєднує у своїй структурі гетероциклічний фрагмент з карбоксильною, алкілкарбоксилатною, карбоксамідною або карбоксигідразидною групами і, що важливо, саме такі комбінації «фармакофорів» присутні, наприклад, у анагетиків (індометацин, кеторолак, толметин, ніфлумова кислота та ін.), снодійних (золпідем), протисудомних (тіагабін), транквілізаторів (гідазепам), психотропних (клоразепат, пірацетам, пікамілон), місцевоанестезуючих (артикаїн, ропівакаїн) засобів тощо.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету за темою «Спрямований пошук біологічно активних сполук серед заміщених триазинохіназолінів» (№ державної реєстрації 0112U005643) та держбюджетною тематикою МОЗ України за темою «Спрямований пошук біологічно активних сполук серед заміщених триазинохіназолінів та створення кандидатів у лікарські препарати на їх основі» (№ державної реєстрації 0114U000968) згідно пріоритетного напрямку «Впровадження нових технологій створення нових лікарських засобів на основі спрямованого дизайну біологічно активних речовин та їх високопродуктивного скринінгу».

Дисертантом особисто проведено синтез і досліджено фізико-хімічні та біологічні властивості (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх похідних.

**Мета і задачі дослідження.** Дисертаційна робота присвячена дослідженню умов, закономірностей та обмежень реакції [5+1]-гетероциклізації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідридами та ангідридами дикарбонових кислот, розробці методів синтезу нових гетероциклічних систем на їх основі,

вивченню фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук, створенню комбінаторної бібліотеки з направленою біологічною дією та встановленню закономірностей «структура – біологічна дія» для пошуку ефективного напрямку оптимізації біологічно активних сполук.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- дослідити реакції [5+1]-гетероциклізації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідридами та ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот, несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот, ангідридами фталевої, біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-, 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3- та циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонових кислот, встановити за допомогою спектральних методів і рентгеноструктурного аналізу напрямки їх перебігу, обмеження та фактори, які впливають на даний процес;
- провести спрямовану модифікацію 3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот з метою покращення фармако-технологічних властивостей та посилення фармакологічної дії;
- розробити препаративні методи синтезу *N*-бензил-(гетероцикліл-)-(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)алкіламідів як перспективних протипухлинних засобів;
- встановити будову та вивчити фізико-хімічні властивості (елементний аналіз, ІЧ-, <sup>1</sup>H-, <sup>13</sup>C ЯМР-, хромато-мас-, мас-спектри та рентгеноструктурний аналіз) синтезованих сполук;
- дослідити *in vitro* антибактеріальну та протипухлинну активність;
- дослідити *in vivo* анальгетичну, актопротекторну, антигіпоксичну та церебропротекторну активність синтезованих сполук;
- на основі одержаних результатів провести кореляційний аналіз «структура – біологічна дія» та виявити «сполуки-лідери» для їх подальшої оптимізації, поглиблених досліджень та спрямованого синтезу нових біологічно активних молекул.

**Об'єкт дослідження:** реакції гетероциклізації у синтезі 3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)карбонових кислот, амінолізу, нейтралізації тощо.

**Предмет дослідження:** 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-они та продукти їх перетворень як перспективні сполуки для пошуку потенційних лікарських засобів.

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

**Наукова новизна одержаних результатів.** У процесі виконання експериментальної частини дисертації здійснено синтез неописаних у літературі 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів та продуктів їх хімічної модифікації, структура яких підтверджена даними ІЧ-, <sup>1</sup>H та <sup>13</sup>C ЯМР-спектроскопії, хромато-мас- та мас-спектрометрії, елементного аналізу, а в окремих випадках – рентгеноструктурним

аналізом. При цьому запропоновано нові ефективні методики синтезу як ключових інтермедіатів, так і кінцевих продуктів.

Показано, що взаємодія естерів 2-R-[2-[хіназолін-4(3*H*)-іліденгідразоно]-оцтових кислот та 3-R-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів із гідразин гідратом є зручним варіантом одержання відповідних 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів.

Вперше розроблено зручний препаративний метод синтезу (3-R-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, який ґрунтується на реакції [5+1]-гетероциклізації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідрідами, ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот та несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот.

Показано, що взаємодія 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із ангідридами фталевої та біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислот перебігає за «класичним» ацилуванням з утворенням 2-[2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1*H*- та [2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1*H*-3а,4,7,7а-тетрагідро-4,7-метано-ізоіндол-1,3-діонів.

Вперше з'ясовані закономірності [5+1]-гетероциклізації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із конформаційно жорстким ангідридом 7-оксо-біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти і встановлено, що ключовим моментом в реакції утворення 2(*E*)-3-(3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)акрилової кислоти є ряд тандемних процесів: ацилування, елімінація фрагмента фурану (реакція *ретро*-Дільса-Альдера) та гетероциклізація.

Встановлено, що 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-они вступають в реакцію із ангідридом циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонової кислоти з утворенням основного продукту, а саме оригінальної гетероциклічної системи – 2-арил-11,14*b*-дигідро-3*H*-ізоіндоло[2,1-*a*][1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-3,10(14*H*)-діону.

Обговорено можливі напрямки перебігу реакції і за допомогою хроматомас-спектрометрії встановлена будова інших продуктів реакції.

Вперше проведена структурна модифікація (3-R-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, а саме синтез їх натрієвих солей та амідів з метою покращення фармако-технологічних характеристик та направлено пошуку протипухлинних засобів.

Вперше створена комбінаторна бібліотека біологічно активних сполук з аналгетичною, актопротекторною, антигіпоксичною, церебропротекторною дією, а також встановлена певна кореляційна залежність «структура – біологічна дія» серед продуктів хімічної модифікації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів.

Наукова новизна роботи підтверджена 2 патентами України на винахід (№ 87413, № 97586) та 2 патентами України на корисну модель (№ 81634, № 84257).

**Практичне значення одержаних результатів.** Розроблено препаративні методики одержання та здійснений синтез нових біологічно активних речовин: (3-R-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, їх натрієвих солей та амідів, 2-[2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-

1*H*- та [2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1*H*-3а,4,7,7а-тетрагідро-4,7-метано-ізоіндол-1,3-діонів, 2(*E*)-3-(3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]-хіназолін-6-іл)акрилової кислоти та 2-арил-11,14*b*-дигідро-3*H*-ізоіндоло[2,1-*a*]-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-3,10-(14*H*)-діонів із потенційними аналгетичними, актопротекторними, антигіпоксичними та церебропротекторними властивостями.

Виявлено закономірності зв'язку «структура – біологічна дія», які становлять інтерес для подальшого цілеспрямованого синтезу церебро- та актопротекторів, антигіпоксантів та аналгетиків.

Для поглибленого вивчення як новий потенційний церебропротекторий засіб рекомендовано натрій (3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-бутаноат, який підвищує фізичну витривалість за умов нормо-, гіпер- та гіпотермії, підвищує динамічну та статичну витривалість на моделях циркуляторної та гемічної гіпоксії, запобігає летальності піддослідних тварин з ГПМК.

Фрагменти роботи впроваджено в науковий процес кафедр органічної та фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету; кафедр фармакології та фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова, кафедри фармацевтичної хімії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

**Особистий внесок здобувача.** Аналіз і систематизація літературних даних, а також основний об'єм синтетичних експериментальних досліджень виконані особисто автором. Постановка задач, обговорення отриманих результатів, формулювання основних положень та висновків здійснені за участю наукового керівника. Рентгеноструктурні дослідження проведені у співпраці з к. х. н, науковим співробітником С. В. Шишкіною (НТК «Інститут монокристалів» НАН України, м. Харків). Співавторами наукових публікацій є науковий керівник та науковці, які брали участь у вивченні фізико-хімічних та біологічних властивостей описаних у роботі речовин.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвяченій 90-річчю професора О. О. Столярчука (Вінниця, 2010), 71 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2011» (Запоріжжя, 2011), IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011), конференції «Медицина та фармація ХХІ століття – крок у майбутнє» (Запоріжжя, 2012), V Всеукраїнській науковій конференції «Домбровські хімічні читання – 2012» (Ніжин, 2012), III Всеукраїнській науково-практичній конференції «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012), 73 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвяченій Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2013» (Запоріжжя, 2013), Українській науково-практичній конференції «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій», присвяченій



100-річчю від дня народження д. х. н., проф. Петюніна П. О. (Харків, 2014), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014» (Запоріжжя, 2014).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр фармацевтичного профілю Запорізького державного медичного університету 20 квітня 2015 р.

**Публікації.** За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 22 роботи, в тому числі: 9 статей, серед яких – 5 статей у наукових фахових виданнях України, 2 статті у виданнях іноземних держав (2 статті у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз); 2 патенти України на винахід; 2 патенти України на корисну модель; 9 тез доповідей.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, чотирьох експериментальних розділів, висновків, списку використаних літературних джерел та 7 додатків. Дисертація викладена на 223 сторінках (обсяг основного тексту – 142 сторінки), ілюстрована 86 рисунками та 41 таблицею. Список використаних джерел містить 195 найменувань.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

### Реакції 1,4-*NCCN*-, 1,4-*NNCN*- та 1,5-*NCCCN*- бінуклеофілів з циклічними ангідридами дикарбонових кислот (огляд літератури)

Літературний огляд є спробою узагальнення реакцій взаємодії 1,4-*NCCN*-, 1,4-*NNCN*- та 1,5-*NCCCN*- бінуклеофілів з циклічними ангідридами дикарбонових кислот, які широко застосовуються у методах формування різноманітних гетероциклічних систем (імідазоли, хіназоліни, імідазо[*c*][1,2,4]триазоли, імідазо[4,5-*b*]піридини, імідазо[4,5-*b*]хіноксаліни, [1,2,4]триазоло[*a*]піридини, [1,2,4]триазоло[*c*]хіназоліни, [1,2,4]триазоло[*a*]хіноксаліни, пурини, піридазино- та фталазинохіназоли тощо). В огляді розкриті особливості перебігу реакцій, підходи до синтезу зазначених гетероциклів, їх фізико-хімічні та біологічні властивості. Відсутність матеріалу, який стосується [5+1]-циклоконденсації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів з хлорангідридами та ангідридами дикарбонових кислот, показує, що дослідження в даному напрямку є виправданими та актуальними.

### Гетероциклізація на основі 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів, хлорангідридів та ангідридів дикарбонових кислот

Синтез 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів (4) проведено за відомими методами, а саме гідразінолізом естерів 2-*R*-[2-[хіназолін-4(3*H*)-іліденгідразоно]-оцтової кислоти (2) та нуклеофільною деградацією 3-*R*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів (3, рис. 1).

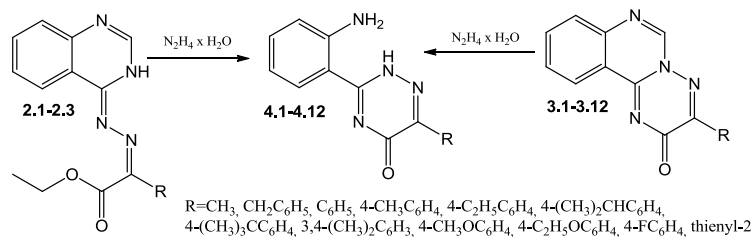


Рис. 1. Синтетичні підходи до одержання 6-R-3-(2-амінофеніл)-2H-[1,2,4]-триазин-5-онів

Реакція вихідних сполук 4 як «класичних» 1,5-NCCCN- біунклеофілів, із хлорангідридами моноетилових естерів дикарбонових кислот (хлоретилноксалат та хлоретилмалонат) та ангідридами дикарбонових кислот (бурштиновий та глутаровий) в оцтовій кислоті приводить до утворення цільових продуктів із виходами 50,2-99,8% (рис. 2).

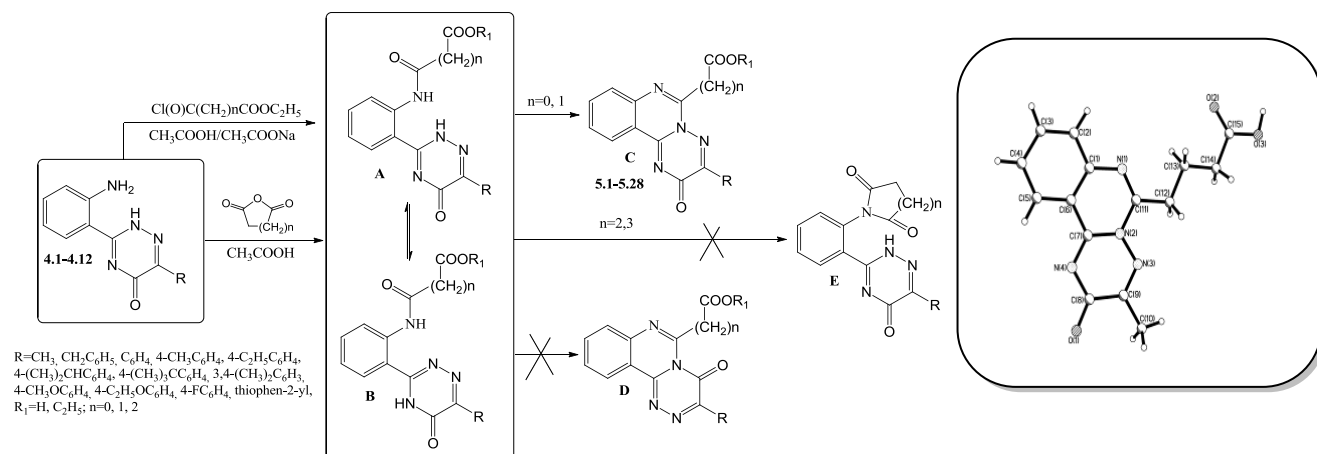


Рис. 2. Взаємодія 6-R-3-(2-амінофеніл)-[1,2,4]-триазин-5(4H)-онів з хлорангідридами та ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот та будова сполуки 5.18 за даними РСА

Для  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрів сполук 5 характерне парамагнітне зміщення ароматичних протонів, яке підтверджує утворення триазино[с]хіназолінового циклу. Зазначені протони утворюють ABCD-систему, яка резонує у вигляді послідовно розташованих дублетів: H-11 (8.65-8.44 м.ч.) і H-8 (7.94-7.76 м.ч.) та триплетів: H-10 (7.98-7.71 м.ч.) і H-9 (8.62-7.68 м.ч.), а у сильному полі реєструються сигнали протонів, обумовлені наявністю карбоксилкільного фрагмента в положенні 6 молекули. Поява в  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрах сполук 5 сигналів атомів Карбону СО-групи при 174.77-173.67 м.ч., С-6 при 160.74-154.97 м.ч. та С-2 при 153.95-151.34 м.ч. також підтверджує утворення триазино[с]хіназолінової системи. Для остаточної достовірності напрямку перебігу реакції [5+1]-гетероциклізації та будови синтезованих сполук було додатково проведено рентгеноструктурне дослідження (рис. 2).



Логічним продовженням систематичного пошуку БАР серед функціональних заміщених (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот є дослідження реакції [5+1]-гетероциклізації сполук 4 із несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот. Це надало б змогу дослідити закономірності перебігу та препаративні обмеження зазначеної реакції.

Взаємодію сполук 4 із несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот проводили за вищезазначених умов. Одержані результати виявилися досить несподіваними. Так, за даними хромато-мас-спектрометрії, реакція вихідних сполук із 2-метилбурштиновим ангідридом перебігає неоднозначно та приводить до утворення суміші 2-метил-3-(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)пропанових кислот (6) як основного, так і 3-*R*-1-(2-(6-метил-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)піролідин-2,5-діонів (7.1) як мінорного продуктів (рис. 3). Утворенню мінорних продуктів сприяє відсутність абсолютної регіоселективності *N*-ацилювання, так як метильна група проявляє помірний електронодонорний ефект.

Результатом реакції сполуки 4.3 з 2-фенілбурштиновим ангідридом за даними хромато-мас-спектрометрії була суміш двох сполук з однаковим значенням *m/z*, що відповідало молекулярній масі 3-(3-феніл-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-2-фенілпропанової кислоти (8.1) та 1-(2-(6-феніл-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл)-3-фенілпіролідин-2,5-діону (9.1, рис. 3). Утворенню зазначених продуктів сприяє фенільний замісник у 2-фенілбурштиновому ангідриді, який у даному випадку не проявляє ні вираженого електронодонорного, ні електроноакцепторного ефектів. Мінорні продукти 7.1 та 9.1 виділені з суміші та охарактеризовані як індивідуальні речовини.

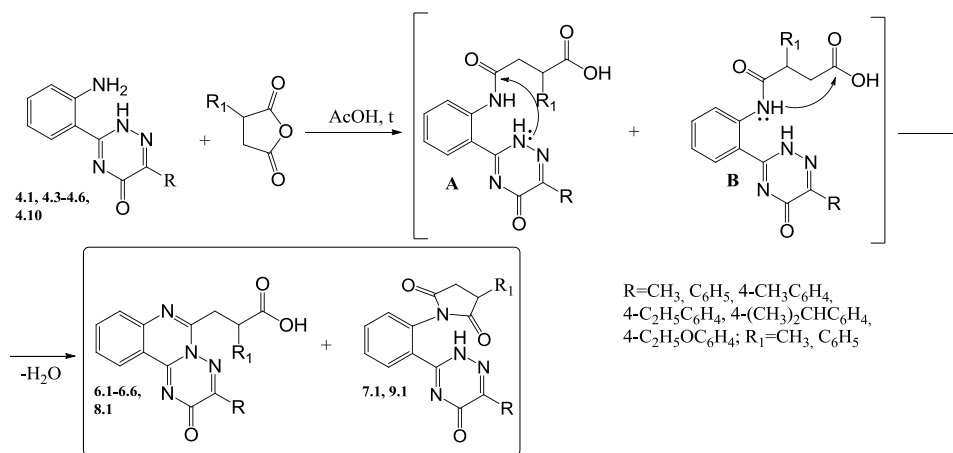


Рис. 3. Особливості взаємодії 3-(2-амінофеніл)-6-*R*-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів із 2-*R*-бурштиновими ангідридами

Розташування ABCD-системи сигналів протонів ароматичного фрагмента хіназолінової системи (6 та 8.1) в порівняно слабкому полі свідчить про формування електронодефіцитного трициклічного фрагмента. Взаємне розташування сигналів карбоксилкільного фрагмента сполук 6 у аліфатичній частині спектра, зокрема сигналів стереотопних протонів метиленового фрагмента при 3.74-3.79 та

3.10-3.40 м.ч. та розташування крос-пиків у кореляційному HSQC-експерименті сполуки 6.2, дозволяє стверджувати, що метильний фрагмент знаходиться в  $\alpha$ -положенні відносно карбоксильної групи. Сигнали протону COOH-групи у  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрах сполук 6 та 8.1 реєструються при 12.59-12.10 м.ч.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектри 7.1 та 9.1 істотно відрізняються від попередніх аномально дезекранованим сигналом NH-протону триазинового циклу при 13.90-13.88 м.ч., що пояснюється донорно-акцепторною взаємодією між NH-групою та Оксигеном піролідинового циклу.

Продовжуючи дослідження із вивчення обмежень реакції [5+1]-гетероциклізації у формуванні триазино[с]хіназолінових систем з карбоксильною функцією в положенні 6, було поставлено за мету вивчити поведінку сполук 4 по відношенню до ангідридів фталевої, біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-, 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3- та циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонових кислот. Тим більше, що утворені інтермедіати (аміди) будуть мати просторову відмінність у розташуванні нуклеофільного та електрофільного центрів у молекулі визначеної конформації, а їх подальша гетероциклізація може привести до синтезу ряду неочікуваних структур.

Реакцію вихідних сполук 4 з ангідридом фталевої кислоти проводили у льодяній оцтовій кислоті при кип'ятінні. Як і очікували, реакція реалізується з утворенням 2-[2-(6-R-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1H-ізоіндол-1,3(2H)-діонів (10, рис. 4). Зазначений факт може бути пояснений просторовою наближеністю карбоксильної групи до амідного зв'язку фталевого фрагмента.

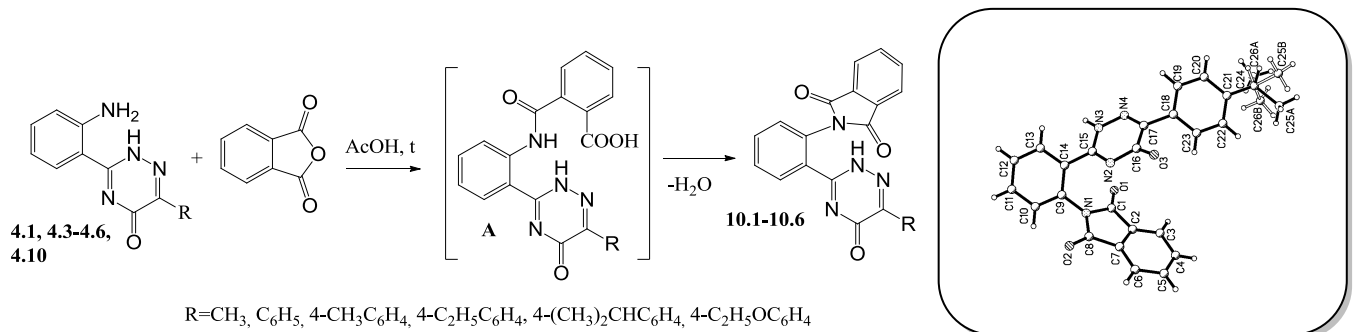


Рис. 4. Взаємодія 3-(2-амінофеніл)-6-R-1,2,4-триазин-5(2H)-онів з 2-бензофуран-1,3-діоном та будова 10.5 за даними РСА

Підтвердженням утворення сполук 10 є резонування аномально дезекранованого сигналу протону (14.48-14.02 м.ч.) NH-групи триазинового циклу та сигналів протонів фталімідного фрагмента у вигляді мультиплету при 7.99-7.85 м.ч. Крім того, у  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрах спостерігається класична мультиплетність та хімічний зсув протонів замісників положення 6 триазинової системи. В  $^{13}\text{C}$  ЯМР-спектрах сполук 10 спостерігаються сигнали  $sp^2$ -гібридизованих атомів Карбону положень 1, 3 ізоіндольного циклу та положень 5, 6 триазинового циклу при 167.25-166.36, 167.32-158.32, 166.30-159.83 м.ч. відповідно.

Реакцію гетероциклізації вихідних сполук 4 з ангідридом біцикло[2.2.1]-гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти (ендіковий ангідрид) проводили за подібних умов. Реакція відбувається за класичним механізмом, а саме через стадію *N*-ацилювання з наступною гетероциклізацією (рис. 5). Враховуючи те, що в утвореному інтермедіаті А фрагмент біцикло[2.2.1]гепт-5-ену конформаційно жорсткий, нуклеофільний (атом Нітрогену амідної групи) та електрофільний (карбоксільна група) центри знаходяться в *ендо*-положенні та зближені, результатом реакції є 2-[2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-3а,4,7,7а-тетрагідро-1*H*-4,7-метано-ізоіндол-1,3-діони (11.1-11.6).

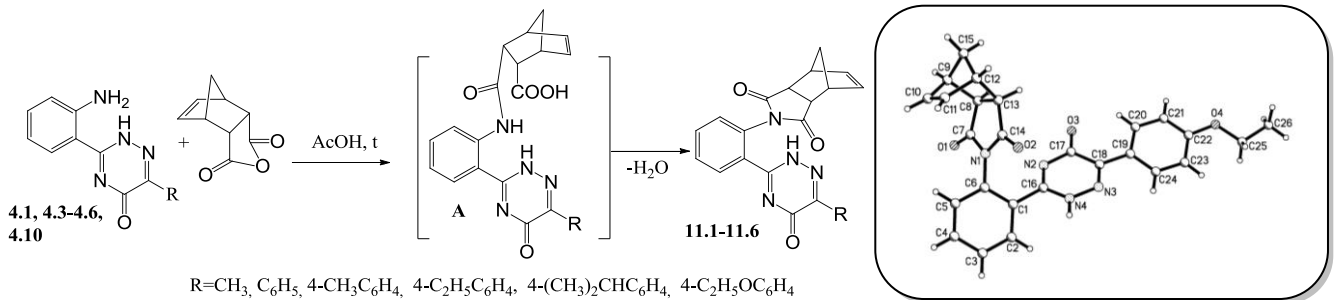


Рис. 5. Взаємодія 3-(2-амінофеніл)-6-*R*-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів із ангідридом біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти та будова 11.6 за даними РСА

В  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрах сполук 11 спостерігаються протони Н-5 та Н-6 ненасиченого зв'язку біцикло[2.2.1]гепт-5-енового фрагмента молекули, які резонують як еквівалентні синглети при 6.26-6.22 м.ч. Протони Н-8 за рахунок розщеплення на сусідніх протонах Н-4 та Н-7 проявляються у вигляді триpletу в сильному полі при 1.69-1.58 м.ч., а вузлові протони Н-3а, 7а та Н-4, 7 при 3.46-3.41 м.ч. та 3.38-3.32 м.ч. відповідно. Важливо, що в  $^1\text{H}$  ЯМР-спектрах сполук 11, як і у сполук 10, спостерігається аномально дезекранований сигнал протону (14.29-13.93 м.ч.) *NH*-групи триазинового циклу.

Цікавою виявилась реакція взаємодії сполуки 4.1 з ангідридом 7-оксо-біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти, яка згідно з даними хромато-мас-спектрів приводить до утворення чотирьох продуктів, основний з яких (61,23%) відрізняється за молекулярною масою від очікуваної на 68 а.о. Враховуючи той факт, що зазначений ангідрид отримують шляхом дієнового синтезу малеїнового ангідриду з фураном, то в процесі тандемної реакції інтермедіат А, окрім молекули води, втрачає молекулу фурану за реакцією *ретро*-Дільса-Альдера (рис. 6).

Отже, в даному випадку основним продуктом реакції є 3-(3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)акрилова кислота (12.1), яка була виділена з реакційної маси в індивідуальному вигляді. Розширити синтетичний потенціал реакції для одержання інших похідних [1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназоліну з етенілкарбоксільною групою в положенні 6 не вдалося. Спроба одержати сполуку 12.1 зустрічним синтезом, а саме взаємодією 3-(2-амінофеніл)-6-метил-

1,2,4-триазин-5(2*H*)-ону (4.1) з малеїновим ангідридом за різних умов не призвела до бажаного успіху.

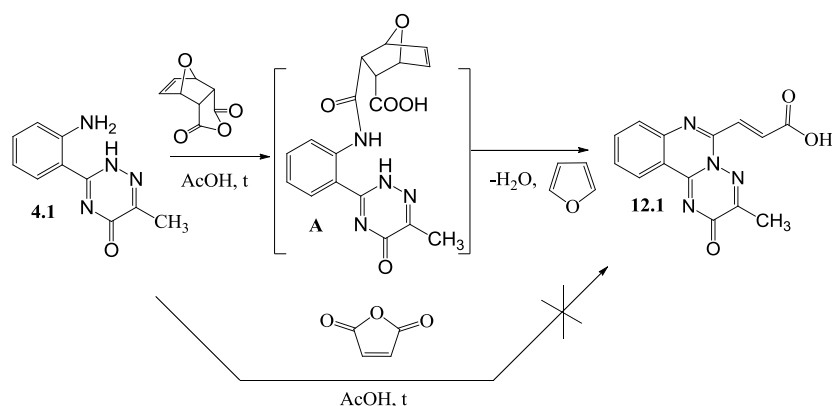


Рис. 6. Особливості взаємодії 3-(2-амінофеніл)-6-метил-1,2,4-триазин-5(2*H*)-ону (4.1) із ангідридом 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти

Структуру сполуки 12.1 доведено за допомогою  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопії. Характеристичними у спектрі є сигнали протонів ненасиченого зв'язку, які резонують як однопротонні дублети при 8.26 м.ч. ( $\underline{\text{C}}\text{H}=\text{CH}-\text{COOH}$ ) та 7.16 м.ч. ( $\text{C}=\underline{\text{C}}\text{H}-\text{COOH}$ ) з відповідними *транс*-константами ( $J=15.6-15.5$  Гц). Крім того, у спектрі спостерігається класична мультиплетність та хімічний зсув ароматичних протонів триазино[2,3-*c*]хіназолінової системи.

Реакцію взаємодії вихідних сполук 4 з ангідридом *цис*-циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонової кислоти проводили за вищезначених умов (рис. 7).

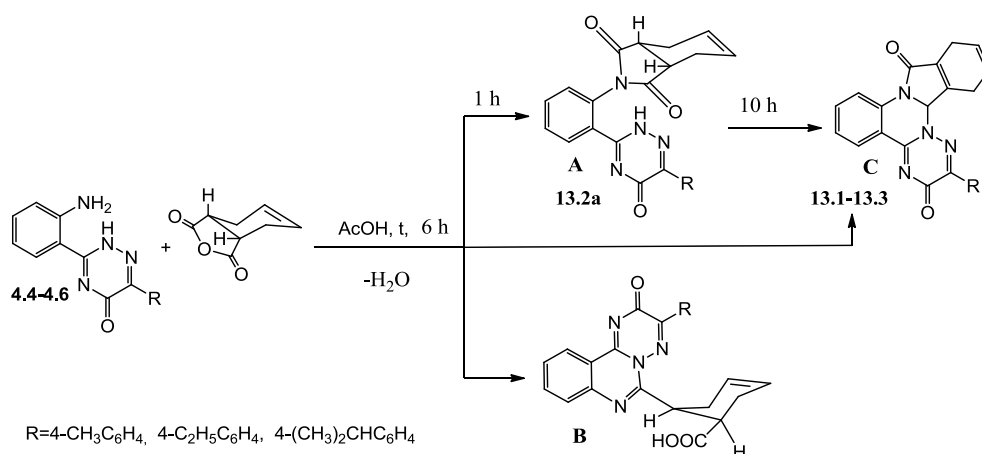


Рис. 7. Особливості взаємодії 3-(2-амінофеніл)-6-R-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онів із ангідридом *цис*-циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонової кислоти

Як і в попередніх випадках, реакція на першому етапі відбувається через стадію *N*-ацилювання з наступною гетероциклізацією. В ацильованому похідному за рахунок високих температур та впливу розчинника можлива конформаційна

рівновага між двома ізомерними формами (*1eba*- та *1abe*-ізомери). Враховуючи зазначене, подальша гетероциклізація може проходити неоднозначно, а саме з утворення іміду (А) або відповідної карбонової кислоти (В, рис. 7).

Дані хроматомас-спектрів продуктів реакції дають три чіткі піки, два з яких відповідають розрахунковій молекулярній масі 2-{2-[6-арил-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл]феніл}-3а,4,7,7а-тетрагідро-1*H*-ізоіндол-1,3-(2*H*)-діонів (А, вміст 19-38%) та 6-[3-арил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл]-циклогекс-3-ен-1-карбонових кислот (В, 4-8%), інший (С, 56-70%) відрізняється від очікуваної маси на 18 а.о. Тобто, один із продуктів реакції (А або В), додатково зазнає дегідратації з утворенням 2-арил-11,14*b*-дигідро-3*H*-ізоіндоло[2,1-*a*][1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-3,10(14*H*)-діонів (С).

Для доведення цього припущення проведена взаємодія сполуки 4.5 із ангідридом *cis*-циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонової кислоти за м'яких умов (льодяна оцтова кислота, температура 80-90°C, тривалість – 1 год). При цьому утворюється індивідуальний продукт реакції, а саме 2-{2-[6-(4-етилфеніл)-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл]феніл}-3а,4,7,7а-тетрагідро-1*H*-ізоіндол-1,3-(2*H*)-діон (13.2а), який у подальшому був перетворений у сполуку 13.2 за умов: льодяна оцтова кислота, кип'ятіння, тривалість – 10 год. Основні продукти (С, 13.1-13.3) були виділені та охарактеризовані.

<sup>1</sup>Н ЯМР-спектри сполук 13.1-13.3 мають певні характеристичні особливості. По-перше, резонування протонів ненасиченого (Н-12, Н-13) зв'язку у вигляді синглетів при 5.91 м.ч. та специфічна мультиплетність протонів Н-11 та Н-14 ізоіндольного фрагмента (4.02-3.70 м.ч. (м, 1Н, Н-14), 3.53-3.24 м.ч. (м, 1Н, Н-11), 3.15-2.87 м.ч. (м, 2Н, Н-11, 14)). По-друге, зсув (6.56-6.54 м.ч.) аномально дезекранованого синглетного протону (ангулярний) при *sp*<sup>3</sup>-гібридизованому атомі Карбону положення 14*b* цієї ж системи. Цікавою особливістю спектра є також значне зміщення у слабке поле протону Н-8 (8.01-7.99 м.ч.) триазинохіназолінового фрагмента за рахунок утворення внутрішньоводневого зв'язку з –СО-групою ізоіндольного циклу, що є додатковим доказом утворення структури 13. Інші протони триазинохіназолінового циклу резонують класично з характерним хімічним зсувом, а саме два дублети при 8.30-8.29 м.ч. (Н-5), 8.01-7.99 м.ч. (Н-7) та триплет при 7.40-7.39 м.ч. (Н-6). Крім того, у спектрі спостерігається класична мультиплетність та хімічний зсув протонів замісників положення 2 гетероциклу.

В мас-спектрі сполуки 13.3 відсутній  $M^{+}$ , проте реєструється  $\Phi_1$  з  $m/z$  379, який утворюється внаслідок викиду ізопропільного радикалу. Для  $\Phi_1$  характерна подібна фрагментація до триазино[*c*]хіназолінових систем за зв'язками N(15)–N(1), C(2)–C(3) з утворенням  $\Phi_2$  з  $m/z$  277.  $\Phi_2$  в подальшому викидає СО-радикал і утворює іон з  $m/z$  249 з максимальною інтенсивністю у спектрі. Останній після подальшої фрагментації утворює характеристичні іони з  $m/z$  130 (хіназоліній-іон),  $m/z$  102 (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>CN),  $m/z$  105 (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>CN),  $m/z$  78 (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>).



## Хімічна модифікація

(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот

Підходи до модифікації структури з метою підвищення толерантності, покращення результативності, активації або зміни спектра активності широко застосовуються на стадії створення лікарських засобів. Для цього використовуються різноманітні препаративні методи, одним з яких є покращення розчинності. Виходячи з цього, було поставлено за мету синтезувати ряд натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів з різною довжиною алкілкарбоксильного фрагмента.

На першому етапі дослідження було проведено гідроліз етил (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбоксилатів (5.1-5.3) та етил (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)ацетатів (5.3, 5.4) з метою синтезу відповідних кислот (рис. 8).

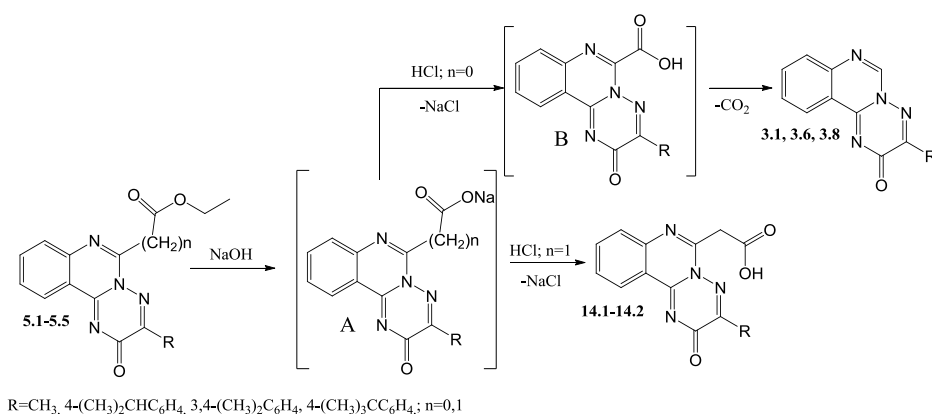


Рис. 8. Особливості гідролізу етил 2-[(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбоксилатів

Необхідно відмітити, що не в усіх випадках при підкисленні хлористоводневою кислотою натрієвих солей (інтермедіат А) вдалося виділити відповідні кислоти. Так, кислоти (інтермедіат В) за зазначених умов декарбоксилуються з утворенням 3-*R*-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів (3.1, 3.6, 3.8, рис. 8).

Синтез солей 15 проведено шляхом взаємодії кислот 5.6-5.8, 5.11, 5.13, 5.14, 5.16-5.21, 5.24, 5.25, 5.28 та 14.1 з еквімолекулярною кількістю натрію гідроксиду у спирто-водному середовищі (рис. 9).

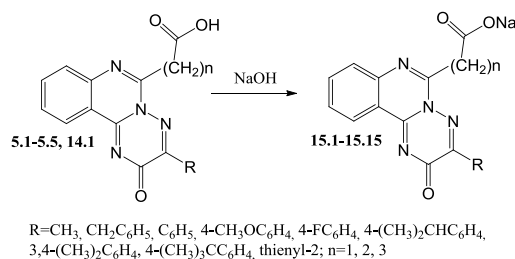


Рис. 9. Схема синтезу натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів

Відповідні натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилати (15, рис. 9) з кількісним виходом утворювались після видалення розчинника під вакуумом.

Дотримуючись певної стратегії пошуку протипухлинних засобів, цікавою є оптимізація молекули шляхом функціоналізації замісника в положенні 6, а саме введення алкілкарбоксихильних, алкілкарбоксамідних груп зі збереженням при цьому визначальних «фармакофорів» положення 3. Отже, синтез амідів 16.1-16.10 проведено загальноприйнятим методом, а саме амінолізом активованих кислот 5.6, 5.8, 5.18 та 5.20, де в якості активуючої компоненти було обрано *N,N'*-карбонілдіімідазол (CDI, рис.10).

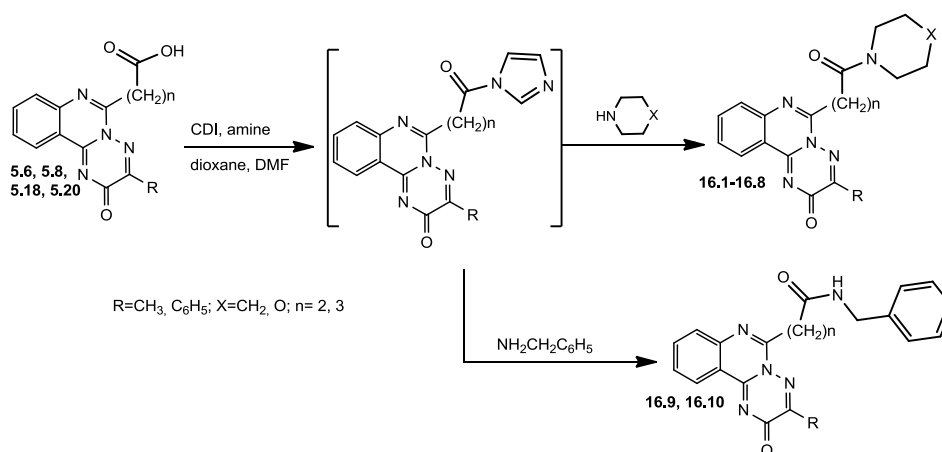


Рис. 10. Синтез амідів (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-алкілкарбонових кислот

Характеристичними для сполук 16.1-16.4 є протони  $-(\text{CH}_2)_2\text{CO}$ -груп, які резонують у вигляді триплетів ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ) при 2.97-2.90 та мультиплетів ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ) при 3.48-3.34 м.ч. Аліфатичний фрагмент бутамідів (16.5-16.8, 16.10) резонує у вигляді мультиплету ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ) при 3.51-3.25 м.ч., триплету ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ) при 2.60-2.54 м.ч. та мультиплету ( $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ ) при 2.26-2.04 м.ч.

### Біологічна активність синтезованих сполук

Дослідження анагетичної, актопротекторної, церебропротекторної активності проводилось на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (зав. каф., д. мед. н., проф. Степанюк Г. І.).

*Анагетичну активність* сполук на щурах оцінювали за динамікою (у %) ПБЧ відносно початкового показника. Дію сполук вивчали при одноразовому в/о введенні в організм в дозах 10 мг/кг, 15.10 – в дозах 5-20 мг/кг, 15.12 – 10-20 мг/кг. Препарати порівняння вводили аналогічно: диклофенак натрію (Фармак, Київ) в дозах 2-10 мг/кг, анальгін (Здоров'я, Харків) – 250 та 500 мг/кг. Результати показали, що на моделі ноцицептивного ефекту активними виявилися сполуки 15.10 та 15.12, які за показником  $\text{ED}_{50}$  ( $6,5 \pm 0,52$  мг/кг та  $10,5 \pm 0,96$  мг/кг)

перевищували анальгін ( $ED_{50} 290,0 \pm 21,4$  мг/кг) у 44,6 та 27,6 рази відповідно. Проте,  $ED_{50}$  сполуки 15.10 поступалась в 1,85 рази диклофенаку натрію ( $3,5 \pm 0,32$  мг/кг).

Дослідження *актопротекторної дії* синтезованих сполук проведено за допомогою плавального тесту на щурах при нормо- (24-26°C), гіпер- (39-40°C) та гіпо- (10-12°C) термії. Величину актопротекторного ефекту оцінювали за динамікою (у %) середньої тривалості плавального тесту відносно контролю. На етапі скринінгу сполуки вводили тваринам в/о одноразово за 40-50 хв до початку експерименту у дозах 10 мг/кг. Препарат порівняння «Бемітил» застосовували подібним чином у терапевтично ефективній дозі (50 мг/кг).

Результати досліджень показали, що на тривалість плавального тесту щурів при нормотермії найбільше впливають сполуки 15.10 та 15.12 і, що важливо, за актопротекторною дією вони перевищують референс-препарат «Бемітил» на 30-150% (рис. 11).

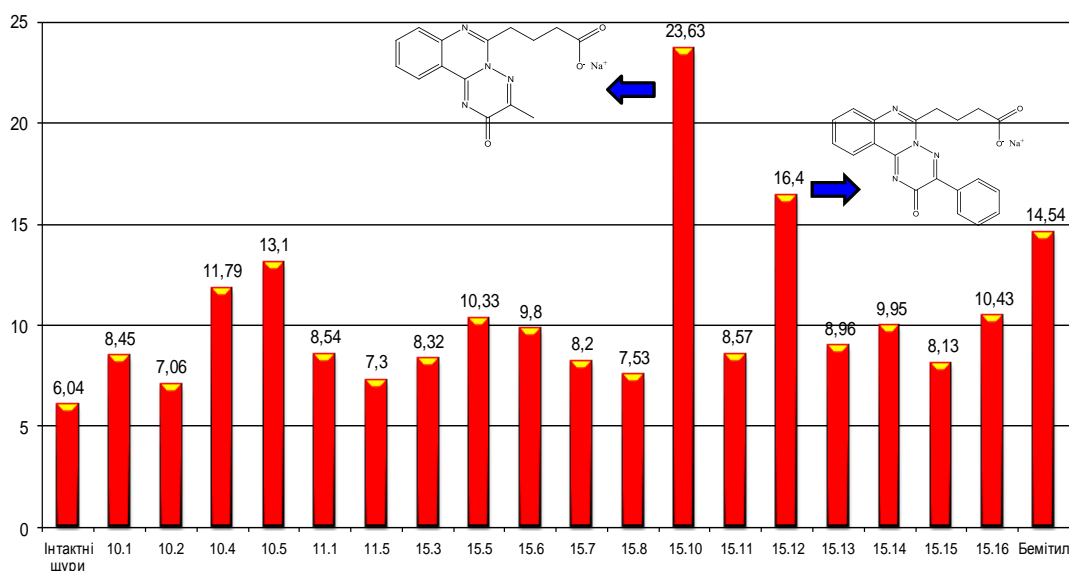


Рис. 11. Вплив досліджуваних сполук та «Бемітилу» на тривалість плавального тесту (у %) при нормотермії

Найбільш ефективними дозами для сполук 15.10, 15.12 виявилась доза 10 мг/кг, для «Бемітилу» – 50 мг/кг. Важливо, що за показником  $ED_{50}$  сполуки 15.10 (4,8 мг/кг) та 15.12 (5,5 мг/кг) перевищували «Бемітил» (34,0 мг/кг) у 5,4 та 6,2 рази.

Дослідження актопротекторної дії сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу» у середньоєфективних дозах за плавальним тестом на щурах при гіпер- та гіпотермії показали, що натрій (3-метил-(15.10)- та 3-феніл-(15.12)- 2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутаноати збільшували тривалість плавального тесту на 3,2 хв (76,9%) при гіпертермії, на 1,61 хв (47,2%) та 1,28 хв (37,6%) при гіпотермії (рис. 12), тоді як активність «Бемітилу» за умов даного експерименту склала 59,6 та 33,5% відповідно.

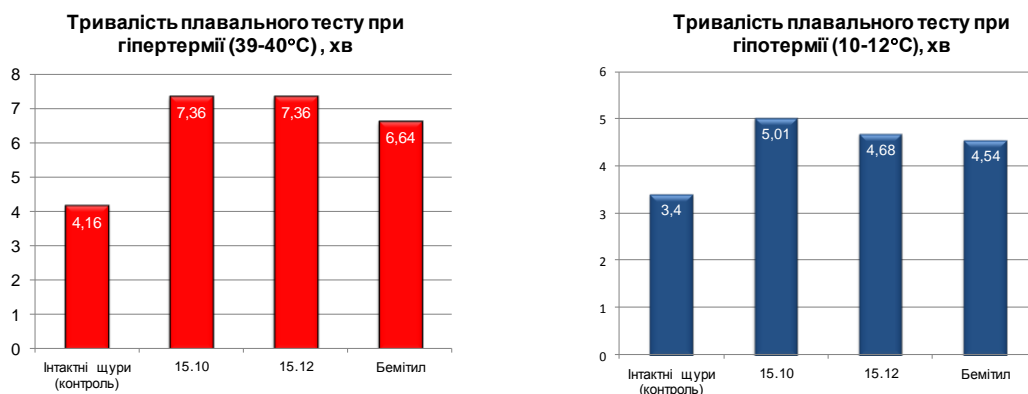


Рис. 12. Вплив сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу» на тривалість плавального тесту щурів при гіпер- (39-40°C) та гіпо- (10-12°C) термії

Дослідження на динамічну та статичну витривалість показали, що курсове введення щурам сполук 15.10, 15.12 приводить до збільшення тривалості їх бігу на тредбані на 133,6 та 102% та показника утримування на стрижні, що обертається, на 136,5 та 108% відповідно у порівнянні з контролем (табл. 1). Важливо, що сполуки 15.10 та 15.12 виявились більш ефективними за референс-препарат «Бемітил».

Таблиця 1

**Вплив сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу»  
на динамічну та статичну витривалість щурів**

Умови досліджу	Доза, мг/кг	Тривалість бігу на тредбані, с	Тривалість утримування на стрижні, що обертається, с
Інтактні щури (контроль)	–	287,4±12,0	82,2±10,2
15.10	4,8	671,4±39,0 <sup>*#</sup>	194,4±27,6 <sup>*</sup>
15.12	5,5	580,2±38,4 <sup>*</sup>	171,0±17,4 <sup>*</sup>
«Бемітил»	34,0	517,2±29,4 <sup>*</sup>	141±20,4 <sup>*</sup>

Примітка. <sup>\*</sup> –  $p \leq 0,05$  відносно контролю; <sup>#</sup> –  $p \leq 0,05$  відносно «Бемітилу»

Дослідження на фізичну витривалість організму щурів за умов циркуляторної гіпоксії показало, що на фоні ГПМК має місце значне зниження фізичної витривалості тварин на 5 та 15 добу експерименту. Введення тваринам з ГПМК сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу» позитивно впливає на тривалість плавання у зазначені терміни.

Високу активність як на 5, так і 15 добу проявляє сполука 15.10, яка за фізичною витривалістю перевищує інтактну групу тварин на 87,6 та 93,1% і референс-препарат «Бемітил» – на 41,6 та 12,8% відповідно (табл. 2).

**Вплив сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу» на тривалість плавального тесту щурів за умов циркуляторної гіпоксії**

Групи тварин	Доза, мг/кг	Тривалість плавального тесту, с	
		5 доба	15 доба
Інтактні щури	–	552,0±25,2	450,8±19,2
Щури з ГПМК (контроль)	–	379,8±31,8*	366,0±28,1*
Щури з ГПМК + 15.10	4,8	712,8±60,6 <sup>#</sup>	706,8±69,0 <sup>#</sup>
Щури з ГПМК + 15.12	5,5	567,6±38,4 <sup>#</sup>	602,3±37,2 <sup>#</sup>
Щури з ГПМК + «Бемітил»	34,0	555,0±58,2 <sup>#</sup>	660±86,4 <sup>#</sup>

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  відносно інтакту; <sup>#</sup> –  $p \leq 0,05$  відносно контролю

Дослідження на фізичну витривалість організму щурів за умов гострої гемічної гіпоксії показало, що у даному випадку має місце значне зниження тривалості плавального тесту на 3,1 хв у порівнянні з інтактними тваринами. Введення тваринам сполук 15.10 та 15.12 приводить до підвищення цього показника на 64 та 51% відповідно. Сполука 15.10 за тривалістю плавального тесту перевищує «Бемітил» на 6,0% (табл. 3).

**Вплив сполук 15.10, 15.12 та «Бемітилу» на тривалість плавального тесту щурів за умов гемічної гіпоксії**

Групи тварин	Доза, мг/кг	Тривалість плавального тесту, с
Інтактні щури	–	364,6±24,4
Щури з гіпоксією (контроль)	–	175,0±14,1*
Щури з гіпоксією + 15.10	4,8	287,0±21,9 <sup>#</sup>
Щури з гіпоксією + 15.12	5,5	264,2±24,0 <sup>#</sup>
Щури з гіпоксією + «Бемітил»	34,0	276,5±25,4 <sup>#</sup>

Примітка. \* –  $p \leq 0,05$  відносно інтакту; <sup>#</sup> –  $p \leq 0,05$  відносно контролю

Оцінка церебропротекторної дії синтезованих сполук на моделі ГПМК у щурів показала, що найвищий церебропротекторний ефект характерний для натрій 4-(3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)бутаноатів (15.10 та 15.12). Під впливом 15.10 та 15.12 показник летальності тварин з ГПМК в критичний період експерименту (6 год) знизився у 6 разів. При цьому сполука 15.10, як і мексидол, протягом перших 4-х год спостереження на 100% запобігала летальності щурів з ГПМК (рис. 13). Статистично вірогідна захисна дія сполук 15.10 та 15.12 на ішемізований мозок, як і у мексидолу, тривала 48 год.



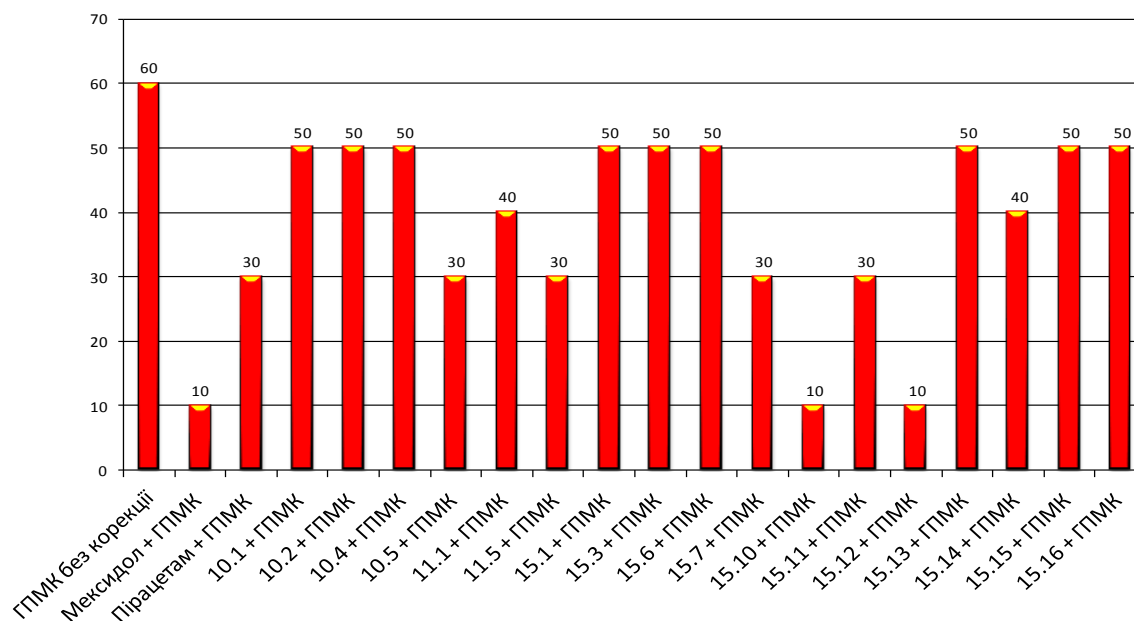


Рис. 13. Показник летальності щурів (у %) в критичний період експерименту (6 год) після моделювання ГПМК

Встановлено, що натрій (3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)бутаноат (15.10) є практично нетоксичною сполукою (ЛД<sub>50</sub> 1500±156 мг/кг).

*Противухлинний in vitro скринінг* (I фаза досліджень) проведено для 24 сполук шляхом їх тестування на 60 лініях людських ракових клітин у концентрації 10,00 μМ. Результати досліджень показали, що синтезовані сполуки практично не впливають на ріст ракових клітин (4.12, 5.6-5.8, 5.14, 5.18-5.20, 5.25, 10.1-10.3, 10.6, 11.1-11.3, 11.6) або проявляють незначну протипухлинну активність (3.1-3.3, 3.9, 3,12, 4.2, середній приріст ракових ліній – від 92,99 до 109,27%).

Вивчення *антимікробної та протигрибкової активності* проводилось у бактеріологічній лабораторії Запорізької обласної клінічної лікарні диско-дифузійним методом на середовищі Мюллера-Хінтона на наступних штаммах мікроорганізмів: *St. aureus*, *E. aeruginosa*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *E. scherichia coli*, *Kl. Pneumonia* та *C. albicans*. Результати досліджень показали, що синтезовані сполуки 4.1-4.12, 5.6-5.28, 10.1-10.6, 11.1-11.6 у досліджуваних концентраціях не виявляли протимікробної та протигрибкової дії (діаметр затримки росту – 6 мм). Тільки сполука 10.2 пригнічувала ріст грибів *C. albicans* (зона затримки росту 12 мм), але її активність не перевищувала еталони порівняння.

Результати одержаних фармакологічних досліджень дозволили провести кореляційний аналіз «структура – біологічна дія» та виявити основні фрагменти, що впливають на активність синтезованих сполук:

- величина церебропротекторного ефекту досліджуваних сполук визначається як самою молекулою 1,2,4-триазино[2,3-*c*]хіназоліну (або тетразафенантрени – згідно з «а» номенклатурою), так і карбоксиалкільною групою положення 6 та алкільною або арильною групами положення 3. Найвищий церебропротекторний ефект характерний для натрій 3-(3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)бутаноатів, що не викликає сумніву, оскільки зазначені сполуки містять

фрагмент  $\gamma$ -аміномасляної кислоти і, вірогідно, для них може бути характерною активація різних типів ГАМК-рецепторів, що є принципово важливим для нормального функціонування мозку;

- аналгетична та актопротекторна активності синтезованих натрій (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбоксилатів визначаються довжиною карбоксиалкільного фрагмента положення 6 та природою замісника в положенні 3;

- введення до 6 положення 3-*R*-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів алкілкарбоксільних груп з різною довжиною алкільного радикалу ( $n=2, 3$ ) та модифікація молекули до 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів та 2-[2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]ізоіндол-1,3-діонів призводить до втрати цитотоксичної дії не залежно від природи замісника в положенні 3, тому зазначений шлях оптимізації молекули з метою пошуку протипухлинних засобів слід вважати нераціональним.

## ВИСНОВКИ

В дисертаційній роботі вперше досліджені умови, закономірності перебігу та препаративні обмеження реакцій [5+1]-гетероциклізації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідрідами, ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот, несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот, ангідридами фталевої, біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-, 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3- та циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонових кислот, розроблені методи синтезу нових гетероциклічних систем на їх основі та створено комбінаторну бібліотеку з аналгетичною, антигіпоксичною, актопротекторною, церебропротекторною та протипухлинною дією для пошуку серед них кандидатів у лікарські засоби.

1. Показано, що взаємодія естерів 2-*R*-[2-[хіназолін-4(3*H*)-іліденгідразоно]-оцтових кислот та 3-*R*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-онів із гідразин гідратом є зручним варіантом одержання відповідних 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів.

2. Вперше розроблено зручний препаративний метод синтезу (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, який ґрунтується на реакції [5+1]-гетероциклізації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідрідами, ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот та несиметричними ангідридами аліфатичних дикарбонових кислот.

3. Показано, що взаємодія 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із ангідридами фталевої та біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислот перебігає за «класичним» ацилуванням з утворенням 2-[2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1*H*- та [2-(6-*R*-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-триазин-3-іл)феніл]-1*H*-3*a*,4,7,7*a*-тетрагідро-4,7-метано-ізоіндол-1,3-діонів.

4. Вперше з'ясовані закономірності [5+1]-гетероциклізації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із конформаційно жорстким ангідридом 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-дикарбонової кислоти і встановлено, що

ключовим моментом у реакції утворення 2(*E*)-3-(3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)акрилової кислоти є ряд тандемних процесів: ацилування, елімінація фрагмента фурану (реакція *retro*-Дільса-Альдера) та гетероциклізація.

5. Встановлено, що 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-они вступають в реакцію із ангідридом циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонової кислоти з утворенням основного продукту, а саме оригінальної гетероциклічної системи – 2-арил-11,14*b*-дигідро-3*H*-ізоіндоло[2,1-*a*][1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-3,10-(14*H*)-діону. Обговорено можливі напрямки перебігу реакції і за допомогою хромато-мас-спектрометрії встановлена будова інших продуктів реакції.

6. Вперше проведена структурна модифікація (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, а саме синтез їх натрієвих солей та амідів з метою покращення фармако-технологічних характеристик та направленою пошуку протипухлинних засобів.

7. Вперше створена комбінаторна бібліотека біологічно активних сполук із анагетичною, актопротекторною, антигіпоксичною, церебропротекторною, антибактеріальною та протипухлинною дією, а також встановлена певна кореляційна залежність «структура – біологічна дія» серед продуктів хімічної модифікації 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів.

8. Встановлено, що натрій (3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)бутаноат є практично нетоксичною сполукою (ЛД<sub>50</sub> 1500±156 мг/кг), яка підвищує фізичну витривалість за умов нормо-, гіпер- та гіпотермії, динамічну та статичну витривалість на моделях циркуляторної та гемічної гіпоксії, запобігає летальності піддослідних тварин з ГПМК і, як наслідок, проявляє високу актопротекторну, антигіпоксичну та церебропротекторну активність.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Скринінг актопротекторної активності серед похідних хіназоліну та його конденсованих аналогів / Г. І. Степанюк, А. В. Саєнко, О. К. Шевчук, Г. Г. Берест, С. І. Коваленко, Д. Ю. Скорина // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4 (17). – С. 60-63. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

2. Скринінг анагетичної активності в ряду похідних (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот / Г. І. Степанюк, Н. Г. Чорноіван, С. І. Коваленко, О. Г. Шелест, Д. Ю. Скорина, В. В. Цимбалюк, В. В. Гриб, Р. В. Глушак, О. К. Шевчук // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 1 (20). – С. 52-55. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

3. Оцінка церебропротекторної дії похідних (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровообігу в щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, С. І. Коваленко, Д. Ю. Скорина, С. І. Семененко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 6 (25). – С. 22-26. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

4. Вплив похідних 4-оксо(аміно-)хіназоліну (сполук DSK-38 та DSK-39) на церебральну гемодинаміку за умов експериментального постреперфузійного ішемічного враження головного мозку / Н. О. Семененко, Г. І. Степанюк, Н. Г. Черноіван, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко, О. П. Драчук // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 3 (28). – С. 21-25. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

5. Peculiarities of interaction between 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazin-5(2H)-ones and cyclic anhydrides of non-symmetric dicarboxylic acids / O. Yu. Voskoboynik, D. Yu. Skorina, S. V. Shishkina, O. V. Shishkin, S. I. Kovalenko, V. V. Ivchuk // Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry. – 2015. – Т. 13, вип. 1 (49). – Р. 25-31. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

6. Synthesis of 6-R-3-(2-aminophenyl)-4H-[1,2,4]thiazin-5-ones: resources and limitations / A. Voskoboynik, G. Berest, D. Skorina, A. Karpenko, S. Kovalenko // Chemistry & Chemical Technology. – Lviv Polytechnic National University. – 2011. – Vol. 5, № 2. – Р. 129-132. (Дисертант провів аналіз літературних джерел, виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

7. Скринінг актопротекторної дії в ряду похідних (3-R-оксо-2H-[1,2,4]-триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот / Г. І. Степанюк, О. В. Почелова, Н. Г. Черноіван, С. І. Коваленко, О. Ю. Воскобойник, Д. Ю. Скорина // Biomedical and biosocial anthropology. – 2012. – № 19. – С. 132-134. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

8. Interaction of 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazin-5-ones with acylating reagents – an efficient method for preparation of 6-substituted 3-R-2H-[1,2,4]triazino[2,3-с]quinazolin-2-ones / A. Yu. Voskoboynik, D. Yu. Skorina, T. Yu. Sergeieva, S. I. Kovalenko, S. I. Okovytyu, I. V. Omelchenko, O. V. Shishkin // J. Het. Chem. – 2014 (accepted for publication). (DOI 10.1002/jhet.2120). (Дисертант провів аналіз літературних джерел, виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

9. Скорина Д. Ю. Синтез и противораковая активность N-замещенных фталиламидов с триазиновым фрагментом / Д. Ю. Скорина, А. Ю. Воскобойник, С. И. Коваленко // Фармация Казахстана. – 2015. – № 6 (169). – С. 36-41. (Дисертант проводив аналіз літературних джерел, виконав експериментальну хімічну частину, приймав участь у підготовці статті до друку).

10. Пат. 87413 Україна, МПК (2009) C07D 253/00. Заміщені 3-(2'-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(4H)-они / Коваленко С. І., Воскобойник О. Ю., Карпенко О. В., Скорина Д. Ю. – № а 2008 05071 ; заявл. 18.04.08 ; опубл. 10.07.09, Бюл. № 13. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальної хімічної частини та підготовці патенту).

11. Пат. 97586 Україна, C07D 253/06. (3-R-8-R1-9-R2-10-R3-11-R4-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)алкілкарбонові кислоти / Коваленко С. І., Степанюк Г. І., Скорина Д. Ю., Воскобойник О. Ю., Шелест О. Г., Берест Г. Г., Носуленко І. С., Гриб В. В., Томашевський А. В. – № а 2010 13450 ; заявл. 12.11.10 ; опубл. 27.02.12, Бюл. № 4. (Дисертант приймав участь у патентному

пошуку, аналізі літератури, виконанні експериментальної хімічної частини та підготовці патенту).

12. Пат. на корисну модель 81634 Україна, МПК (2013.01) А61К 31/00. Солі (3-*R*-8-*R*<sub>1</sub>-9-*R*<sub>2</sub>-10-*R*<sub>3</sub>-11-*R*<sub>4</sub>-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкіл-карбонових кислот, що підвищують фізичну витривалість організму / Степанюк Г. І., Почелова О. В., Черноіван Н. Г., Воскобойнік О. Ю., Скорина Д. Ю., Коваленко С. І. – № у 2012 14626 ; заявл. 20.12.12 ; опубл. 10.07.13, Бюл. № 13. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальної хімічної частини та підготовці патенту).

13. Пат. на корисну модель 84257 Україна, А61К 31/215 (2006.01). Застосування натрієвої солі 4-(2-оксо-3-метил-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)бутанової кислоти як церебропротекторного засобу / Семененко Н. О., Степанюк Г. І., Семененко А. І., Коваленко С. І., Воскобойнік О. Ю., Скорина Д. Ю. – № у 2013 06088 ; заявл. 17.05.13 ; опубл. 10.10.13, Бюл. № 19. (Дисертант приймав участь в аналізі літератури, виконанні експериментальної частини та підготовці патенту).

14. Пошук речовин з церебропротекторним ефектом серед похідних (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот / Н. О. Семененко, Г. І. Степанюк, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : зб. матеріалів VI Всеукраїнської наук.-практ. конференції з міжнар. участю з клінічної фармакології, присвяченої 90-річчю проф. О. О. Столярчука, 10-11 лист. 2010 р. – Вінниця, 2010. – С. 355-356. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину дослідження).

15. Скорина Д. Ю. 3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонові кислоти – перспективні анальгетики / Д. Ю. Скорина, О. Ю. Воскобойнік // Актуальні питання фармацевтичної науки і практики. – 2011. – Вип. XXIV. – № 2, додаток. – С. 177-178. (Дисертант приймав участь в аналізі літератури, виконанні експериментальної частини роботи та підготовці тез).

16. Характеристика церебропротекторної дії похідних (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонових кислот на моделі гострого порушення мозкового кровотоку в щурів / Г. І. Степанюк, Н. О. Семененко, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – № 5. – С. 307-308. (Дисертант виконав експериментальну хімічну частину роботи).

17. Скорина Д. Ю. Використання циклічних ангідридів дикарбонових кислот у синтезі нових похідних [1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолінів / Д. Ю. Скорина // Актуальні питання фармацевтичної науки і практики. – 2012. – № 2, додаток. – С. 221-222.

18. Воскобойнік О. Ю. Похідні дикарбонових кислот в реакціях із 3-(2-амінофеніл)-6-*R*-1,2,4-триазин-5(2*H*)-онами / О. Ю. Воскобойнік, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко // V Всеукраїнська наук. конф. «Домбровські хімічні читання – 2012», 26-28 верес. 2012 р. – Ніжин, 2012. – С. 21-22. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальної частини роботи та підготовці тез).



19. Воскобойнік О. Ю. 3-(2-амінофеніл)-6-R-[1,2,4]триазин-5-они в реакціях із ацилюючими агентами // О. Ю. Воскобойнік, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко // Хімія природних сполук : матеріали III Всеукраїнської наук.-практ. конф., 30-31 жовт. 2012 р. – Т., 2012. – С. 154-155. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальної частини роботи, обробці одержаних результатів, підготовці тез).

20. Скорина Д. Ю. Синтез нових похідних [1,2,4]триазино[2,3-с]хіназоліну на основі реакції анелювання піримідинового циклу до триазинової системи / Д. Ю. Скорина, О. Ю. Воскобойнік // Актуальні питання фармацевтичної науки і практики. – 2013. – № 2, додаток. – С. 238. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальну, обробці одержаних результатів, підготовці тез).

21. Спрямований пошук аналгетичних засобів серед 2-(8-R<sub>1</sub>-9-R<sub>2</sub>-10-R<sub>3</sub>-3-R<sub>4</sub>-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх похідних / О. Ю. Воскобойнік, Д. Ю. Скорина, С. І. Коваленко // Українська науково-практична конференція «Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій», присвячена 100-річчю від дня народження д. х. н., проф. Петюніна П. О., 24-25 квіт. 2014 р. – Х., 2014. – С. 25. (Дисертант приймав участь в аналізі літературних джерел, виконанні експериментальної частини роботи, обробці одержаних даних та підготовці тез).

22. Поглиблене фармакологічне вивчення впливу сполуки DSK-38 за умов експериментального гострого порушення мозкового кровообігу / Н. О. Семененко, А. І. Семененко, О. В. Марчук, Д. Ю. Скорина, О. Ю. Воскобойнік // 74 Всеукраїнська наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнародною участю, присвячена Дню науки «Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014», 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 192. (Дисертант приймав участь у виконанні експериментальної хімічної частини роботи, підготовці тез до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Скорина Д. Ю. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості (3-R-2-оксо-2H-[1,2,4]триазино[2,3-с]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх похідних. – 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, 2015.

В дисертаційній роботі вперше досліджені умови, закономірності перебігу та препаративні обмеження реакцій [5+1]-гетероциклізації 6-R-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онів із хлорангідами, ангідами аліфатичних дикарбонових кислот, несиметричними ангідами аліфатичних дикарбонових кислот, ангідами фталевої, біцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-, 7-оксобіцикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3- та циклогекс-4-ен-1,2-дикарбонових кислот, розроблені методи синтезу нових гетероциклічних систем на їх основі та створено комбінаторну бібліотеку з аналгетичною, антигіпоксичною, актопротекторною, церебро-

протекторною та протипухлинною дією для пошуку «сполук-лідерів». Структура синтезованих сполук підтверджена ІЧ-, УФ-,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, хромато-мас-, мас-спектрами та рентгеноструктурним аналізом.

Виявлено натрій (3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-бутаноат – практично нетоксичну сполуку (ЛД<sub>50</sub> 1500±156 мг/кг), яка підвищує фізичну витривалість за умов нормо-, гіпер- та гіпотермії, динамічну та статичну витривалість на моделях циркуляторної та гемічної гіпоксії, запобігає летальності піддослідних тварин з гострим порушенням мозкового кровообігу і, як наслідок, проявляє високу актопротекторну, антигіпоксичну та церебропротекторну активність.

**Ключові слова:** синтез, 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-они, хлорангідриди та ангідриди дикарбонових кислот, похідні (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]-триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, спектральні характеристики, біологічна активність.

## АННОТАЦІЯ

**Скорина Д. Ю. Синтез, физико-химические и биологические свойства (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)карбоновых кислот и их производных. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание учёной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. – Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2015.

В диссертационной работе впервые исследованы условия, закономерности протекания и препаративные ограничения реакции [5+1]-гетероциклизации 6-*R*-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5-онов с хлорангідридами, ангідридами алифатических дикарбоновых кислот, несимметричными ангідридами алифатических дикарбоновых кислот, ангідридами фталевой, бицикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3-, 7-оксобицикло[2.2.1]гепт-5-ен-ендо,ендо-2,3- та циклогекс-4-ен-1,2-дикарбоновых кислот, разработаны методы синтеза новых гетероциклических систем и создана комбинаторная библиотека с анальгетическим, антигипоксическим, актопротекторным, церебропротекторным и протипухольным действием для поиска «соединений-лидеров». Строение синтезированных соединений подтверждено ИК-, УФ-,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  ЯМР-, хромато-масс-, масс-спектрами и рентгеноструктурным анализом.

Виявлен натрій (3-метил-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)-бутаноат – практично нетоксичне соединение (ЛД<sub>50</sub> 1500±156 мг/кг), збільшувальне фізичну витривалість в умовах нормо-, гіпер- і гіпотермії, динамічну і статичну витривалість на моделях циркуляторної і гемічної гіпоксії, запобігає летальності піддослідних тварин з гострим порушенням мозкового кровообігу і, як наслідок, проявляє високу актопротекторну, антигіпоксичну і церебропротекторну активність.

**Ключевые слова:** синтез, 6-*R*-3-(2-аминофенил)-1,2,4-триазин-5-оны, хлорангидриды и ангидриды дикарбоновых кислот, производные (3-*R*-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хиназолин-6-ил)алкилкарбоновых кислот, спектральные характеристики, биологическая активность.

## ANNOTATION

**Skorina D. Yu. Synthesis, physico-chemical and biological properties of (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)carboxylic acids and their derivatives. – Manuscript.**

Thesis for the Ph. D. Degree in Pharmacy, speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhya State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhya, 2015.

Conditions, features and preparative limitations of [5+1]-heterocyclisation reactions of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones with acylhalides, anhydrides of symmetric and non-symmetric aliphatic dicarboxylic acids, anhydrides of phthalic, bicyclo[2.2.1]hept-5-en-*endo,endo*-2,3-, 7-oxobicyclo[2.2.1]hept-5-en-*endo,endo*-2,3- and cyclohex-4-en-1,2-dicarboxylic acids have been studied in presented work for the first time. Synthetic protocols for novel heterocyclic system and related combinatorial libraries of compounds with analgesic, antihypoxic, actoprotective, cerebroprotective and anticancer activities have been discussed to discover a «lead-compounds».

It has been shown that interaction of 2-*R*-[2-[quinazolin-4(3*H*)-ylidenhydrazono]acetic acids and 3-*R*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-2-ones with hydrazine hydrate is a convenient method for synthesis of corresponding 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones.

Convenient protocols for synthesis of (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazoline-6-yl)alkylcarboxylic acids based on [5+1]-heterocyclisation reaction of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones with acylhalides and anhydrides of symmetric and non-symmetric aliphatic dicarboxylic acids have been proposed.

It has been shown that interaction of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones with anhydrides of phthalic and bicyclo[2.2.1]hept-5-en-*endo,endo*-2,3-dicarboxylic acids anhydrides proceeded as «classic» acylation and yielded 2-[2-(6-*R*-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl]-1*H*- and [2-(6-*R*-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)phenyl]-1*H*-3*a*,4,7,7*a*-tetrahydro-4,7-methano-isoindol-1,3-diones.

The regularities of [5+1]-heterocyclisation of 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones with conformationally restricted anhydrides of 7-oxobicyclo[2.2.1]hept-5-en-*endo,endo*-2,3-dicarboxylic acids have been evaluated for the first time. It has been found that key-step in formation of 2(*E*)-3-(3-methyl-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)acrylic acid were the series of tandem processes: acylation, of *retro*-Diels-Alder elimination of furan molecule, and cyclization process.

It has been found that 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazine-5-ones react with cyclohex-4-en-1,2-dicarboxylic acid anhydride resulting in novel heterocyclic system, namely 2-aryl-11,14*b*-dihydro-3*H*-isoindolo[2,1-*a*][1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazoline-3,10-

(14*H*)-dione. The possible pathways of reaction have been discussed, and structures of other products have been evaluated via LC-MS method.

Structural modifications of (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)-alkylcarboxylic acids, namely synthesis of sodium salts and amides have been conducted. The mentioned transformations were aimed to improve the pharmaco-technological characteristics and purposeful search of the novel anticancer agents.

Structure and physicochemical properties of synthesized compounds have been proved by complex of instrumental methods including IR-, <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR-, chromatomass-, mass-spectrometry and X-ray structural study. Particularities of 2-aryl-11,14*b*-dehydro-3*H*-isoindolo[2,1-*a*][1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-3,10-(14*H*)-diones structure, namely presence in <sup>1</sup>H NMR-spectrum of anomalously deshielded proton of position 14*b* at the 6.56-6.54 ppm and significant low-field shift (8.01-7.99 ppm) of proton in the 8<sup>th</sup> position caused by intramolecular hydrogen bond have been discussed.

The obtained results of pharmacological studies allowed to conduct analysis of “structure – biological activities” correlations.

It has been found that intensity of cerebroprotective activity has been stipulated as by 1,2,4-triazino[2,3-*c*]quinazoline fragment so by carboxyalkyl moiety in the 6<sup>th</sup> position as well as by alkyl or aryl group in the 3<sup>rd</sup> position. Analgetic and actoprotective activities were predominately peculiar for sodium (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylates and depended on the length of carboxyalkyl moiety in the 6<sup>th</sup> position and on the nature of substituent in the 3<sup>rd</sup> position. Also it has been found that introduction of carboxyalkyl moiety of different alkyl fragment length or conformational modification of molecule led to the loss of cytotoxicity. Thus, the mentioned approach of molecular optimization was irrational for constructing the novel antitumor agents.

It has been found that sodium (3-methyl-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)butanoate was almost non-toxic compound (LD<sub>50</sub> 1500±156 mg/kg), which increased physical endurance in normo-, hypo- and hyperthermic conditions, dynamic and static endurance during circulatory and hemic hypoxia, prevented lethality of experimental animals with acute dysfunction of cerebral blood flow and had high actoprotective, antihypoxic and cerebroprotective action.

**Key words:** synthesis, 6-*R*-3-(2-aminophenyl)-1,2,4-triazin-5-ones, acylhalides, dicarboxylic acids anhydrides, derivatives of (3-*R*-2-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[2,3-*c*]quinazolin-6-yl)alkylcarboxylic acids, spectral data, biological activity.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР	– біологічно активні речовини;
в/о	– внутрішньоочеревинне введення;
ГАМК	– γ-аміномасляна кислота;
ГПМК	– гостре порушення мозкового кровообігу;
ЕД <sub>50</sub>	– середня ефективна доза;
ІЧ	– інфрачервоний;
ЛД <sub>50</sub>	– середня летальна доза;

- ПБЧ – поріг больової чутливості;  
 $^{13}\text{C}$  ЯМР – вуглецевий ядерний магнітний резонанс;  
 $^1\text{H}$  ЯМР – протонний ядерний магнітний резонанс.







Підписано до друку 23.11.2015 р. Гарнітура Times New Roman.  
Папір друкарський. Формат 60×90/16. Умовн. друк. арк. 0,9.  
Обл.-вид. арк. 0,9. Друк – ризограф.  
Наклад – 100 прим. Зам. № 6631.

---

Надруковано з оригінал-макету в типографії  
Запорізького державного медичного університету  
м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26

