



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinių sintezė ir savybių tyrimas

Baigiamasis magistro projektas

Karolis Krikštaponis

Projekto autorius

m. d. dr. Birutė Grybaitė

Vadovė

Kaunas, 2023



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinių sintezė ir savybių tyrimas

Baigiamasis magistro projektas
Medicininė chemija (6281CX001)

Karolis Krikštonis
Projekto autorius

m. d. dr. Birutė Grybaitė
Vadovė

m. d. dr. Vaida Milišionaitė
Recenzentė

Kaunas, 2023



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Karolis Krikštaponis

1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinių sintezė ir savybių tyrimas

Akademinių sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdamas kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasis Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – KTU) ir Lietuvos sveikatos mokslų universiteto (toliau – LSMU) intelektinės nuosavybės valdymo ir perdavimo nuostatų bei KTU ir LSMU akademinės etikos kodeksuose nustatytų etikos reikalavimų;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjęs;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal KTU ar LSMU galiojančią tvarką ir būsiu pašalintas iš KTU ar LSMU, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinei etikos ir procedūrų kontroleriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Karolis Krikštaponis

Patvirtinta elektroniniu būdu

Krikštaponis, Karolis. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinių sintezė ir savybių tyrimas. Baigiamasis magistro projektas / vadovė m. d. dr. Birutė Grybaitė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypties grupė): Fiziniai mokslai, chemija.

Reikšminiai žodžiai: 5-oksopirolidinonai, hidrazonai, benzimidazolai, antioksidacinės savybės, antibakterinės savybės.

Kaunas, 2023. 71 p.

Santrauka

Didėjantis bakterijų atsparumas antibiotikams, prieš virusus nukreiptų vaistų trūkumas ir kasmet augantis vėžinių susirgimų skaičius pasaulyje reikalauja daugiau dėmesio skirti naujų vaistų kūrimui ir veikliųjų medžiagų, kurios pasižymėtų farmakologiškai naudingomis savybėmis, sintezei. Pastaruoju metu tiriamiems pirolidinonų dariniams būdingas platus biologinių savybių spektras. Tam tikri jų dariniai yra įvairių rinkoje vartojamų vaistų veikliosios medžiagos. Dėl to šio projekto tikslas buvo susintetinti naujus potencialiai biologiškai aktyvius 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinius ir ištirti jų chemines bei biologines savybes.

Susintetinus 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštį, toliau buvo atlikta jos esterifikacija, o gautas esteris hidrazinolisės reakcijos metu transformuotas į 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidą. Ištirtos gauto junginio cheminės savybės atliekant kondensacijos reakcijas su įvairiai pakeistas aromatiniais, heterocikliniais aldehidais ir monoketonais. Nustatyta, kad susidaro *N'*-pakeisti-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidai. Vykdamas kondensacijos reakcijas tarp pradinio hidrazido ir dikarbonilinių junginių, gauti įvairūs produktai – reaguojant su 2,4-pentadionu ir esant kataliziniam kiekiui druskos rūgšties, susidaro pirazolo fragmentą turintis darinys, o reaguojant su 2,5-heksandionu ir esant kataliziniam kiekiui acto rūgšties, gaunamas pirolis žiedą turintis darinys. Izatino fragmentą turintys dariniai dažnai pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu, todėl 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)pirolidin-3-karbohidrazidas buvo gautas vykdamas pradinio karbohidrazido kondensacijos reakciją su izatinu. Ištirta, kad aminorūgšties hidrazidas reaguoja su benzenizocianatu bei fenilo izotiocianatu ir sudaro 2-[1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-*N*-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidus, o atlikus šių junginių šarminę ciklizaciją su 4 % NaOH, gauti junginiai, struktūroje turintys triazolo žiedą. Pradinė karboksirūgštis reaguoja su benzen-1,2-diamino dariniais, todėl vykdamas *Phillips* kondensacijos reakcijas buvo gauti benzimidazolų dariniai. Alkilinimo reakcijos dažnai naudojamos junginių lipofiliškumui padidinti, todėl buvo tiriamos gautų hidrazonų ir benzimidazolų alkilavimo galimybės. Tai leido gauti šių junginių mono- bei dialkilintus darinius.

Antioksidacinės gautų junginių savybės ištirtos DPPH spektrofotometrinio metodu. Stipriausiu radikalus surišančiu aktyvumu pasižymėjo 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-4-(6-metil-1*H*-benz[d]imidazol-2-il)pirolidin-2-onas. Taip pat atlikti antibakteriniai tyrimai prieš tris gramteigiamas ir dvi gramneigiamas bakterijų padermes. Stipriausiu ir plačiausiu antibakteriniu poveikiu pasižymėjo 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-*N'*-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas ir 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-*N'*-[(5-nitrofuran-2-il)metilen]-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas.

Krikštaponis, Karolis. Synthesis of 1-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic Acid Derivatives and Investigation of Their Properties. Master's Final Degree Project / supervisor reasercher dr. Birutė Grybaitė; Faculty of Chemical technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian University of Health Sciences.

Study field and area (study field group): Physical sciences, chemistry.

Keywords: 5-oxopyrrolidinones, hydrazones, benzimidazoles, antioxidant properties, antibacterial properties.

Kaunas, 2023. 71 pages.

Summary

The increasing resistance of bacteria to antibiotics, the lack of new antiviral drugs and the worldwide annually growing number of cancer cases indicates that the synthesis of novel molecules with pharmacologically beneficial properties requires more attention. Widely examined various pyrrolidinone derivatives are characterized by a broad spectrum of biological properties. Some of the pyrrolidinone derivatives are the active ingredients of currently used drugs. Therefore, the aim of this project was to synthesize new potentially bioactive derivatives of 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acid and to investigate their chemical and biological properties.

After synthesis of 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acid, its esterification was carried out, and the resulting ester was transformed into 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carbohydrazide during the hydrazinolysis reaction. The chemical properties of the obtained compound were investigated by performing condensation reactions with variously substituted aromatic, heterocyclic aldehydes and monoketones. Condensation reactions between the amino acid hydrazide and dicarbonyl compounds allowed to obtain different products – a reaction with 2,4-pentadione in the presence of a catalytic amount of hydrochloric acid resulted in derivative containing a pyrazole moiety, and a reaction with 2,5-hexanedione in the presence of a catalytic amount of acetic acid resulted in a derivative containing a pyrrole ring. Compounds containing the isatin moiety often exhibit diverse biological activity, thus isatin fragment containing derivative was obtained in condensation reaction of initial carbohydrazide with isatin. Hydrazide reacts with phenyliso(thio)cyanates and forms 2-[1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carbonyl]-*N*-phenylhydrazine-1-carbo(thio)amides. After alkaline cyclization with 4 % NaOH, compounds containing a triazole ring were obtained. The initial carboxylic acid reacts with benzene-1,2-diamine derivatives, hence the Phillips condensation reactions were used to obtain new benzimidazole derivatives. Alkylation reactions are often used to increase the lipophilicity of molecules, therefore the alkylation of obtained hydrazones and benzimidazoles were investigated. As a result, mono- and dialkylated derivatives of these compounds were obtained.

The antioxidant properties of the compounds were investigated by the DPPH spectrophotometric method. 1-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-4-(6-methyl-1*H*-benz[*d*]imidazol-2-yl)pyrrolidin-2-one demonstrated the strongest radical scavenging activity. Antibacterial activity against three gram-positive and two gram-negative bacterial strains were also tested. 1-(2-Hydroxy-5-methylphenyl)-*N'*-[(5-nitrothiophen-2-yl)methylene]-5-oxopyrrolidine-3-carbohydrazide and 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-*N'*-[(5-nitrofuran-2-yl)methylene]-5-oxopyrrolidine-3-carbohydrazide held the strongest and broadest antibacterial effect.

Turinys

Santrumpų ir terminų sąrašas	8
Įvadas.....	9
1. Literatūros apžvalga	10
1.1. Funkcinių grupių įtaka vaistinių medžiagų savybėms.....	10
1.1.1. Metilo funkcinės grupės įtaka junginių biologinėms savybėms.....	10
1.1.2. Hidroksi- funkcinės grupės įtaka junginių biologinėms savybėms	12
1.2. Pirolidinono žiedo formavimo reakcijos	14
1.2.1. Pirolidinonų gavimas iš amidų darinių.....	14
1.2.2. Pirolidinonų gavimas iš anilino darinių.....	15
1.2.3. Pirolidinonų gavimas iš γ -aminorūgšties.....	16
1.2.4. Pirolidinonų gavimas iš piperidin-3-ono darinių.....	16
1.3. Karboksirūgščių, esterių, hidrazidų ir benzimidazolų cheminės savybės	18
1.3.1. Karboksirūgščių cheminės savybės	18
1.3.2. Esterių ir hidrazidų cheminės savybės	18
1.3.3. Benzimidazolų cheminės savybės	19
1.4. Biologinių savybių apžvalga	21
1.4.1. Antibakterinis ir priešgrybelinis veikimas.....	21
1.4.2. Antivirusinis veikimas.....	21
1.4.3. Priešvėžinis veikimas	23
1.4.4. Antioksidacinis veikimas.....	24
1.4.5. Kitos biologinės savybės	25
1.5. Projekto tikslo pagrindimas	26
2. Medžiagos ir tyrimo metodai.....	27
2.1. Medžiagos ir priemonės	27
2.2. Junginių sintezė ir ypatybės.....	27
2.3. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas.....	41
2.4. Antibakterinio aktyvumo nustatymas	42
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....	44
3.1. Pradinių junginių sintezė	44
3.2. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazido kondensacijos reakcijos su įvairiai pakeistais monokarbonilniais junginiais	45
3.3. Rūgšties hidrazido kondensacijos reakcijų su mono- ir diketonais produktai	46
3.4. 2-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-N-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidų gavimas ir ciklizacija	50
3.5. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties kondensacija su o-fenilendiaminų dariniais	51
3.6. Hidrazonų ir benzimidazolų alkilinimas	52
3.7. Biologinio aktyvumo tyrimai	53
3.7.1. Antioksidacinio aktyvumo rezultatai.....	53
3.7.2. Antibakterinio aktyvumo rezultatai	55
Rekomendacijos.....	58
Išvados	59
Literatūros sąrašas	60
Publikacijų sąrašas.....	70

Padėka	71
Priedai.....	72
1 priedas. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso- <i>N</i> -(2-oksoindolin-3-il-iden)pirolidin-3-karbohidrazido (11) ¹ H BMR spektras (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)	72
2 priedas. Junginių 2-21 antibakterinio aktyvumo prieš <i>S. aureus</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>B. cereus</i> , <i>P. aeruginosa</i> ir <i>E. coli</i> kamienus tyrimo rezultatų palyginimas	73

Santrumpų ir terminų sąrašas

Santrumpos:

^1H BMR – protoninis branduolių magnetinis rezonansas

^{13}C BMR – anglies izotopo ^{13}C branduolių magnetinis rezonansas

ATCC – Amerikos ląstelių kultūrų kolekcija

d – dupletas

DMSO- d_6 – deuteriuotas dimetilsulfoksidas

ekv. – ekvivalentas

FT-IR – Furjė transformacijos infraraudonųjų spindulių spektroskopija

IC₅₀ – pusinė maksimali inhibicinė koncentracija

J – sukinio-sukinio sąveikos konstanta (Hz)

KSV – kolonijas sudarantis vienetas

k. t. – kambario temperatūra

lyd. t. – lydymosi temperatūra

m – multiplotas

MS – masių spektrometrija

NCTC – Nacionalinė tipų kultūrų kolekcija

pl. s – platus singletas

s – singletas

t – tripletas

v. t. – virimo temperatūra

δ – cheminis poslinkis milijoninėmis dalimis (m. d.)

Terminai:

de novo – prieveiksmis reiškiantis nuo pradžios; iš naujo; naujai.

in silico – prieveiksmis nurodantis, kad veiksmas atliktas kompiuteryje; padaryta arba pagaminta naudojant kompiuterio programinę įrangą arba kompiuterinį modeliavimą.

per os – prieveiksmis, apibūdinantis vaistų vartojimą per burną, bet nenaudojamas pačioje burnoje.

Ivadas

Antibiotikų atradimas ir taikymas XX amžiaus pradžioje pakeitė žmonių sveikatą ir gerovę. Cheminė sintezė leido sukurti pirmąsias antibakterines medžiagas, tačiau netrukus jas pranoko daugybė veiksmingesnių ir daug sudėtingesnių gamtinių antibiotikų: penicilinas, streptomocinas, tetraciklinas ir eritromicinas. XXI amžiuje šios veikliosios medžiagos tampa vis mažiau veiksmingos. Plačiai paplitęs netinkamas antibiotikų vartojimas lėmė spartų patogeninių bakterijų atsparumo šioms veikliosioms medžiagoms vystymąsi [1]. Ne tik antibakterinių, bet ir naujų priešvėžinių preparatų paieška ir kūrimas tebėra aktualus. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis per 2020 metus visame pasaulyje nuo vėžio mirė daugiau nei 10 mln. žmonių, o naujų ligos atvejų užregistruota virš 18 mln. [2]. Pagal dabartines tendencijas prognozuojama, kad nuo 2025 metų per metus registruotų vėžio susirgimų atvejų bus virš 20 mln. [3]. Ne ką mažesnis medicinos chemikų dėmesys turėtų būti nukreiptas ir į naujų antivirusinių vaistų kūrimą. Šiuo metu kliniškai patvirtinti antivirusiniai vaistai yra tinkami tik 10 iš daugiau nei 220 virusų, kurie užkrečia žmones. COVID-19 pandemija parodė, kad trūksta antivirusinių junginių, kuriuos būtų galima greitai mobilizuoti ir panaudoti pasikartojančioms ar atsirandančioms virusinėms ligoms gydyti [4]. Cheminės naujų vaistinių molekulių sintezės taikymas antibakterinių, antivirusinių, priešvėžinių ir kitų vaistų kūrimui ir vystymui šiais laikais yra kaip niekada reikšmingas. Tai svarbu siekiant mažinti žmonių mirštamumą, kurį didina vėžio, bakterijų ir virusų sukeltos ligos, o taip pat siekiant užkirsti kelią esamų ir naujų gyvybei pavojingų ligų plitimui visame pasaulyje.

Šiuo metu didelis dėmesys skiriamas 5-oksopirolidinonų dariniams. Įvairių duomenų bazių duomenimis per pastarąjį dešimtmetį publikuota daugiau nei 21 tūkst. mokslinių straipsnių, susijusių su šių junginių organine sinteze, cheminėmis savybėmis, pritaikymu ar biologinėmis savybėmis. Šios grupės junginiams būdingas antimikrobinis, antivirusinis, priešvėžinis, antioksidacinis, antihipertenzinis ir priešuždegiminis veikimas [5]. Dėl plataus šių junginių farmakologinio aktyvumo spektro svarbu sintetinti ir tirti naujus pirolidinono darinius, kurie potencialiai gali pasižymėti antibakterinėmis, priešvėžinėmis ar kitomis naudingomis biologinėmis savybėmis.

Darbo tikslas – susintetinti naujus potencialiai biologiškai aktyvius 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinius ir ištirti gautų junginių savybes.

Darbo tikslui pasiekti išsikelti darbo uždaviniai:

1. susintetinti 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštį ir pasinaudojus jos funkcinėmis savybėmis atlikti modifikaciją ir gauti metil-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksilatą bei 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidą;
2. ištirti gauto aminorūgšties hidrazido kondensacijos reakcijas su įvairiai pakeistais aromatiniais aldehidais, mono- ir diketonais bei itakono rūgštimi;
3. transformuoti aminorūgšties hidrazidą į 2-[1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-*N*-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidus ir atlikti jų ciklizacijos reakcijas;
4. ištirti 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties reakcijas su benzen-1,2-diamino dariniais;
5. įvertinti gautų karbohidrazidų ir benzimidazolų darinių alkilavimo galimybes;
6. atlikti susintetintų junginių antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimus ir išanalizuoti gautus rezultatus.

1. Literatūros apžvalga

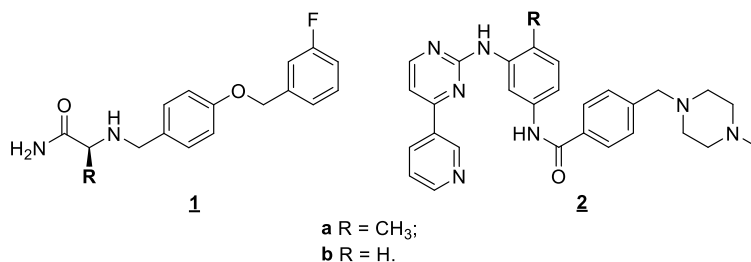
1.1. Funkcinių grupių įtaka vaistinių medžiagų savybėms

Šiame skirsnyje bus nagrinėjama metilo ir hidroksi- funkcinių grupių, esančių aromatiniam žiede, įtaka junginių farmakologinėms, farmakokinetinėms, farmakodinaminėms ir kitoms biologinėms savybėms.

1.1.1. Metilo funkcinės grupės įtaka junginių biologinėms savybėms

Metilo funkcinė grupė įeina į daugelio veikliųjų medžiagų struktūrą. Šios grupės įvedimas į molekulę sukelia molekulinės masės ir lipofiliškumo pokyčius. Tipiškos benzeno ir tolueno $C \log P$ vertės: 2,03 ir 2,52. Taigi, metilo funkcinė grupė didina aromatinio žiedo lipofiliškumą ($\Delta C \log P \approx 0,5$) [6]. Tinkamas molekulės lipofiliškumas reikalingas tam, kad ji galėtų kirsti biologines membranas ir taip pat kuo didesnė į organizmą patekusios veikliosios medžiagos dalis pasiektų reikalingą veikimo vietą ir taikinį [7].

Metilo grupės įvedimas į molekulę turi poveikį jos biologiniam aktyvumui ir selektyvumui [8]. Pavyzdžiui, safinamide **1a**, vaisto naudojamo Parkinsono ligos gydyme, metilo funkcinę grupę pakeitus vandeniliu, fermento monoamino oksidazės B (MAO B) slopinimo potencija sumažėja daugiau nei 20 kartų, o selektyvumas sumažėja daugiau nei 1000 kartų [9]. Imatinibas **2a** – selektyvus trombocitų kilmės augimo faktoriaus receptoriaus (PDGFR) kinazės inhibitorius, naudojamas lėtinėms mieloidinėms ligoms gydyti. Analogas **2b**, struktūroje neturintis metilo grupės, buvo daug silpnesnis ir mažiau selektyvus. Metilo grupė esanti *orto* padėtyje lėmė geresnius konformacinius pokyčius, todėl pastebėtas reikšmingas poveikio stiprumo ir selektyvumo padidėjimas [10–12]. Dar keletas vaistinių medžiagų, kuriose buvo stebimas teigiamas biologinis poveikis įvedant metilo grupę į junginio struktūrą: flukonazolis, lovastatinas, sonidegibas, anacetrapibas, alvimopanas ir kt. Remiantis šiais duomenimis, galima teigti, kad metilo funkcinė grupė gali padidinti junginių selektyvumą.

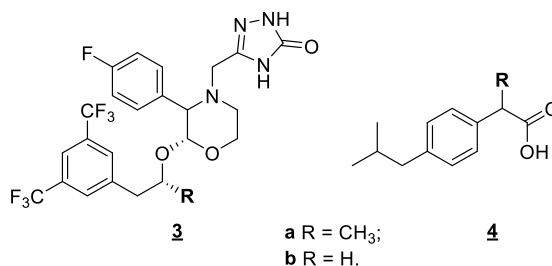


1.1 pav. Safinamido, imatinibo ir jų funkcionalizuotų darinių struktūrinės formulės

2012 metais atliktas daugiau nei 2000 biologiškai aktyvių junginių tyrimas apie metilo grupės įtaką receptorių ir ligandų sąveikai parodė, kad 8,0 % atvejų metilo grupės įvedimas padidina aktyvumą 10 arba daugiau kartų, o 0,4 % atvejų – net 100 kartų [13]. Toks reikšmingas pokytis dažniausiai nulemiamas metilo grupės gebėjimu užpildyti hidrofobines baltymų „kišenes“, taip skatinant palankų baltymo molekulės konformacinį pokytį [14]. Iš tyrimo rezultatų daroma išvada, kad metilo grupė gali didinti vaistinių medžiagų aktyvumą.

Metilo grupės įvedimas į junginį keičia ne tik jo lipofiliškumą, selektyvumą ir aktyvumą, bet ir kitas farmakokinetines bei farmakodinamines savybes. Metilo grupės prijungimas prie sotaus anglies atomo gali slopinti junginio metabolizmą, taip pagerinant farmokinetines ir farmakodinamines

savybes [8]. Aprepitantas **3a** – vaistas naudojamas *per os* arba intraveniškai chemoterapijos sukkelto pykinimo ir vėmimo prevencijai bei pooperaciniam pykinimui ir vėmimui išvengti. Iki klinikinių *in vivo* tyrimų metu buvo nustatyta, kad jo analogas **3b**, struktūroje neturintis metilo grupės, buvo mažiau efektyvus ir jo veikimo trukmė buvo trumpesnė. *Per os* pavartoto aprepitanto eliminacijos pusperiodis yra apie 9 valandas [15]. Kitas pavyzdys, tinkantis iliustruoti metilo grupės įtaką bioaktyviam junginiui – ibuprofenas **4a**. Šiuo metu tai vienas saugiausių nereceptinių nesteroidinių vaistų nuo uždegimo (NVNU). Tuo tarpu ibufenakas **4b** buvo pašalintas iš rinkos dėl savo didelio hepatotoksiškumo. Vienintelis struktūrinis skirtumas tarp šių dviejų vaistų yra ibuprofene esantis α -metilo fragmentas. Abi veikliosios medžiagos patekusios į organizmą yra intensyviai gliukuronizuojamos, bet ibuprofene esantis α -metilo fragmentas steriškai sulėtina acilgliukuronido perėjimą į tarpinį elektrofilinį produktą, kuris geba kovalentiškai prisijungti ir modifikuoti baltymus. Nustatyta, kad ibuprofeno acilgliukuronido pusinis skilimo laikas yra 3,6–4,6 valandos, o ibufenako – 1,1 valandos [16, 17]. Tai paaiškina toksikologinius šių junginių skirtumus. Apibendrinant pateiktus pavyzdžius, galima teigti, kad metilo grupės įvedimas gali pagerinti junginių farmakokinetines ir farmakodinamines savybes ne tik dėl ilgesnio eliminacijos pusperiodžio, bet ir dėl susidarančių mažesnio toksiškumo veikliosios medžiagos metabolitų.



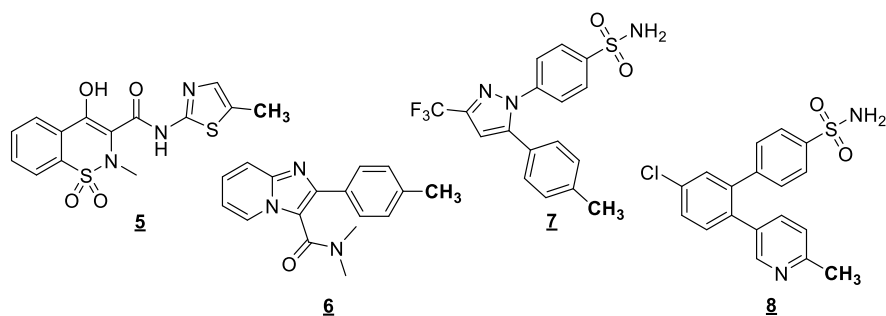
1.2 pav. Aprepitanto, ibuprofeno ir jų funkcionalizuotų darinių struktūrinės formulės

Dažniausiai metilo grupės įvedimas į aromatinį žiedą palengvina veikliosios medžiagos detoksikacinius procesus. Gyvūnų ir žmogaus organizmuose metilo grupės metabolizmas prasideda nuo oksidacijos iki hidroksimetilo grupės ir galiausiai iki karboksirūgšties grupės. Ši polinė grupė gali būti lengvai pašalinama. Metabolizme dalyvauja ir oksidaciją greitina citochromo P450 fermentai (CYP450) [18]. Tai supaprastina detoksikacinius metabolinius kelius metilo grupių turintiems vaistams, tokiems kaip meloksikamas **5** [19, 20] ir sudoksikamas **6** [21].

Kuriant naują vaistą kandidatą vienas svarbiausių parametrų yra tinkamas veikliosios medžiagos eliminacijos pusperiodis. Bendrai *per os* kartą per dieną vartojamiems vaistams idealus pusperiodis – 12–48 valandos. Jei pusperiodis trumpesnis, bus reikalingas dažnesnis dozavimas, kad būtų palaikoma reikalinga veikliosios medžiagos koncentracija kraujyje bei audiniuose ir būtų išvengta pernelyg aukštų žalingų momentinių koncentracijų. Priešingu atveju, jei veikliosios medžiagos pusperiodis per didelis, galimas vaisto kaupimasis organizmo audiniuose, dėl ko gali atsirasti nepageidaujamų šalutinių poveikių [22]. Jeigu veikliosios medžiagos molekulė yra pilnai metaboliškai stabili ir iš organizmo šalinama lėtai, metilo grupės įvedimas gali būti vienas iš būdų, siekiant sumažinti eliminacijos pusperiodį ir padidinti klirensą [23]. Toks sprendimas pritaikytas vaistams celekoksibui **7** ir etorikoksibui **8** [24].

Atlikta mokslinės literatūros analizė rodo, kad į junginio struktūrą įvesta metilo funkcinė grupė keičia junginio tirpumą, didinant jo lipofiliškumą. Taip pat turi tiesioginę įtaką junginio selektyvumui, potencijai, biologiniam aktyvumui, veikimo trukmei, metabolizmui, šalinimui bei kitoms farmakokinetinėms bei farmakodinaminėms savybėms. Dėl teigiamos metilo grupės įtakos, jos

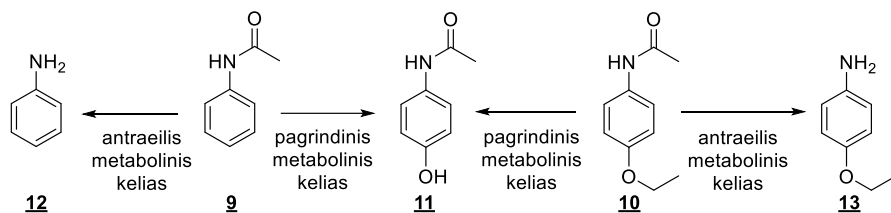
įvedimas į struktūrą dažnai pritaikomas vaistų kūrime, siekiant optimizuoti veikliosios medžiagos molekulę.



1.3 pav. Meloksikamo, zolpidemo, celekoksibo, etorikoksibo struktūrinės formulės

1.1.2. Hidroksi- funkcinės grupės įtaka junginių biologinėms savybėms

Benzeno žiedas yra dažniausias hidrofobinis farmakoforas farmakologiškai aktyviose molekulėse. Hidroksi- grupės įvedimas į šį aromatinį žiedą didina junginių hidrofilumą, o tai reiškia padidintą junginių tirpumą vandenyje. Dėl hidroksi- grupės įvedimo į junginio struktūrą, šis gali sudaryti vandenilinius ryšius su taikiniais. Šios savybės turi tiesioginę įtaką junginio farmakokinetinėms ir farmakodinaminėms savybėms [25].

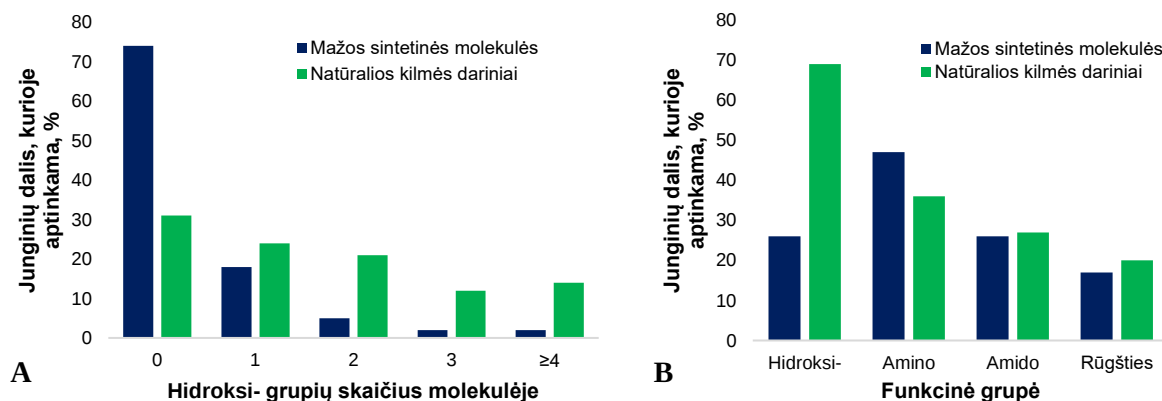


1.4 pav. Acetanilido ir fenacetino metaboliniai keliai

Hidroksi- grupė aromatiniame žiede keičia junginio farmakologines savybes. Tai puikiai iliustruoja dažniausiai vartojamo analgetiko ir karščiavimą mažinančio vaisto paracetamolio atradimo istorija [26]. Acetanilidas **9** ir fenacetinas **10** buvo vartojami kaip antipiretiniai analgetikai. Tačiau laikui bėgant buvo nustatytas stiprus šių veikliųjų medžiagų toksinis poveikis – cianozė, sukelta methemoglobinemijos. 1947 m. du JAV biochemikai Deividas Lesteris ir Leonas Grinbergas nustatė, kad paracetamolis **11** yra pagrindinis acetanilido **9** ir fenacetino **10** metabolitas, kuris ir yra atsakingas už sukeliamą antipiretinį ir analgetinį šių vaistų poveikį. Kartu nustatyta, kad paracetamolis nesukelia methemoglobinemijos, o už šį neigiamą šalutinį poveikį atsakingi kiti acetanilido **9** ir fenacetino **10** metabolitai – anilinas **12** ir 4-etoksianilinas **13** [27]. Kitais metais (1948) Bernardas Brodie su komanda ištyrė, kad paracetamolis yra toks pat veiksmingas analgetikas kaip ir jo prekursoriai ir turi net didesnę terapinę indeksą [28]. Metabolizmo metu paracetamolis **11** susidaro iš fenacetino **10** metabolinio deetilinimo būdu, o iš acetanilido **9** – aromatinio žiedo metabolinio *p*-hidroksilavimo būdu [29].

Paracetamolio veikimo mechanizmas paremtas slopinančiu poveikiu fermentams ciklooksigenazei-1 (COX-1) ir ciklooksigenazei-2 (COX-2). Dėl to slopinamas fenoksilo radikalų susidarymas, būtinas COX-1 ir COX-2 aktyvumui ir prostaglandinų (PG) sintezei. Pastarieji lemia skausmo ir karščiavimo atsiradimą bei paūmėjimą [30]. Paracetamolio analogas, *para* padėtyje neturintis hidroksi- grupės, acetanilidas **9** nepasižymi inhibiciniu COX-1 ir COX-2 poveikiu. Tai aiškinama tuo, kad hidroksi-

grupė paracetamolio molekulėje gali sudaryti vandenilinį ryšį su taikiniu. Tai lemia tinkamą junginio sąveiką ir erdvinį išsidėstymą taikinio atžvilgiu, dėl ko ir pasireiškia ciklooksigenazių inhibicija [31]. Be viso to, hidroksi- grupė šios bioaktyvios molekulės struktūroje turi teigiamą įtaką junginio metabolizmui. Kadangi struktūroje jau yra hidroksi- grupė, nebūtinai pirmos fazės metabolinis kitimas. Transferazės fermentai bioaktyviam junginiui patekus į kepenis gali vykdyti gliukurono rūgšties arba sulfato konjugacijos reakcijas. Šių reakcijų produktai – farmakologiškai neaktyvūs, netoksiški, vandenyje tirpesni ir lengviau šalinami iš organizmo konjugatai. Šiuo atveju pirmos metabolizmo fazės „aplenkimas“ yra saugesnis žmogui, nes susidaro mažesnis kiekis hepatotoksinių junginių [32]. Atlikta paracetamolio atradimo ir veikimo mechanizmo analizė įrodo, kad hidroksi- grupė gali turėti nemažą įtaką junginio farmakologinėms savybėms, jo toksiškumui ir šalinimui.



1.5 pav. ChEMBL duomenų bazėje esančių vaistinių ir rinkoje naudojamų junginių funkcinių grupių analizės rezultatai. A – junginių dalis, kurioje aptinkamas atitinkamas hidroksi- grupių skaičius. B – junginių dalis, kurioje aptinkamos atitinkamos funkcinės grupės, nepriklausomai nuo jų skaičiaus molekulėje [33].

Rinkoje esančių vaistinių medžiagų struktūroje nustatoma hidroksi- funkcinė grupė. Remiantis ChEMBL duomenų bazės 2019 m. statistiniais duomenimis, iš viso 37 % iš visų bazėje esančių vaistų turi bent vieną hidroksi- grupę. Remiantis šia duomenų baze matyti, kad natūralios kilmės vaistinės medžiagos sudaro apie ketvirtį visų rinkoje esančių vaistų, likusią dalį sudaro sintetinės kilmės vaistai. 69 % gamtinės kilmės vaistų savo struktūroje turi bent vieną hidroksi- grupę, o sintetinės kilmės vaistuose ši dalis siekia tik 23 %. Natūralios kilmės veikliosios medžiagos dažniausiai turi daugiau nei vieną hidroksi- grupę savo struktūroje, o sintetinės kilmės veikliosios medžiagos daugiausia turi tik vieną hidroksi- grupę [33, 34]. Įdomu tai, kad toks netolygus pasiskirstymas tarp natūralios ir sintetinės kilmės vaistinių medžiagų pastebimas tik hidroksi- funkcinės grupės atveju. Kitais atvejais, pavyzdžiui, amino, amido, karboksirūgščių funkcinių grupių pasiskirstymas yra sąlyginai tolygus. Šią ir papildomą informaciją galima pavaizduoti grafiškai. Į statistinius duomenis (žr. 1.5 pav.) neįtraukti fermentai, antikūnai, kiti baltymai, medžiagos, kurių molekulinė masė yra mažesnė už 100 g/mol ir didesnė už 2000 g/mol bei neorganiniai junginiai. Taigi, sintetinio junginio tikimybė tapti vaistu yra didesnė, kai struktūroje yra ne daugiau nei viena hidroksi- grupė [35–38].

Remiantis duomenis, matoma, kad *de novo* vaistų, turinčių hidroksi- grupę kūrimas ir vystymas yra sudėtingas ir dažniausiai nesėkmingas. Pagal esamus hidroksi- grupę turinčių junginių termodinaminių tyrimų duomenis žinoma, kad dažnai sintetinės kilmės junginiuose hidroksi- grupė junginio struktūroje yra termodinamiškai nepalanki ir apsunkina sąveikas su receptoriais. Įvesti šią funkcinę grupę pasirenkama tada, kada matoma akivaizdi nauda sąveikoje su konkrečiu baltymo centru [35–37]. Nepaisant to, anksčiau nagrinėtas paracetamolio atvejis įrodo, kad hidroksi- grupė

gali turėti didelę įtaką junginio specifiškumui. Dėl to, hidroksi- grupės įvedimas į junginio struktūrą turi būti apsvarstytas ir įvertintas pagal visus turimus duomenis.

Hidroksi- grupę turintys junginiai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis [39]. Oksidacinis stresas turi įtakos neurodegeneracinių, kardiovaskulinių, su mitochondrijomis susijusių, nutukimo, cukrinio diabeto, vėžio bei daugelio kitų ligų atsiradimui ir vystymuisi. Antioksidantai tiek natūralios, tiek sintetinės kilmės, yra labai veiksmingi, siekiant sumažinti reaktyviųjų deguonies formų (ROS) kiekį organizme. Jie pagreitina ir palengvina detoksikacinius mechanizmus [40]. Fenoliniai junginiai pasižymi stipriausiomis antioksidacinėmis savybėmis. Antioksidacinis veikimas yra siejamas su fenolinių junginių redukcinėmis savybėmis, t. y. gebėjimu atiduoti elektroną arba vandenilio atomą, taip mažinant laisvųjų radikalų kiekį [41]. Hidroksi- grupių skaičius junginyje bei jų erdvinis išsidėstymas yra pagrindiniai kriterijai, kurie nulemia vienokį ar kitokį fenolinių junginių antioksidacinį aktyvumą [42].

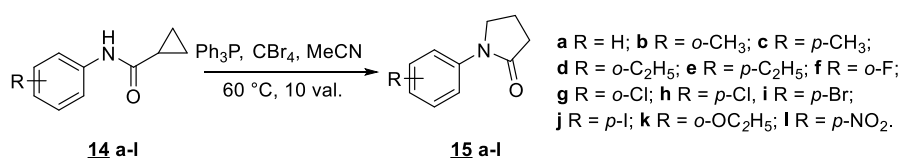
Iš mokslinėje literatūroje pateiktų duomenų matyti, kad hidroksi- grupė junginyje gali reikšmingai keisti junginio tirpumą, selektyvumą, specifiškumą, sąveiką su taikiniais, toksiškumą, eliminaciją ir biologines savybes. Didelę įtaką šioms savybėms taip pat turi hidroksi- grupių skaičius junginyje bei jų išsidėstymas.

1.2. Pirolidinono žiedo formavimo reakcijos

Literatūroje aprašyta daug skirtingų pirolidinonų gavimo būdų atliekant organinę sintezę. Šiame skirsnyje bus nagrinėjama tik keletas jų: iš amidų darinių, iš anilino darinių, iš γ -aminorūgšties ir iš piperidin-3-ono.

1.2.1. Pirolidinonų gavimas iš amidų darinių

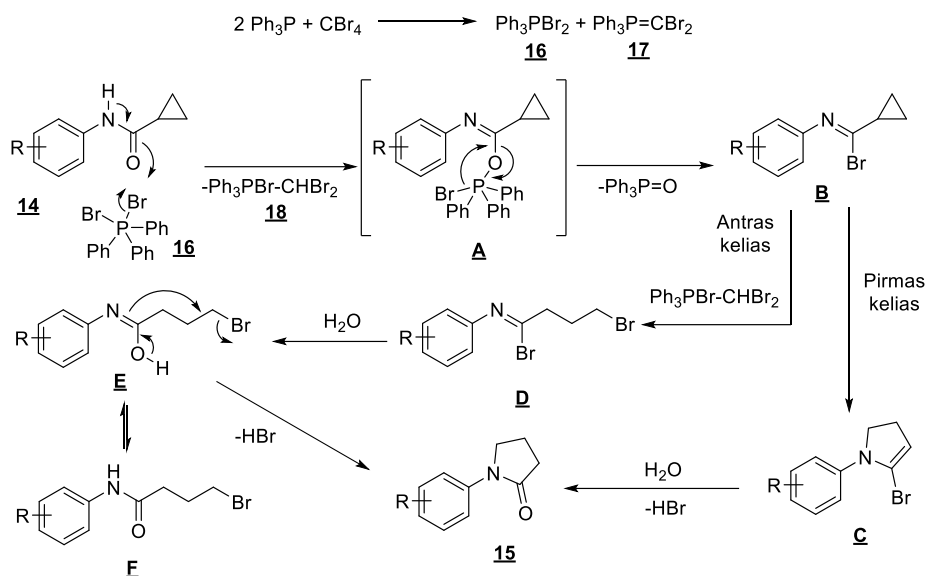
Galima *N*-arilpirolidin-2-onų **15** sintezė iš *N*-arilciklopropankarboksamido **14** [43].



1.1 schema. Pirolidinono žiedo sudarymo reakcija iš *N*-arilciklopropankarboksamido, naudojant trifenilfosfiną ir tetrabrommetaną

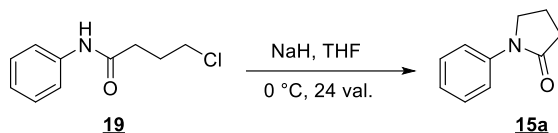
Išsamiau panagrinėsime šios reakcijos mechanizmą (žr. 1.2 schema) [44]. Pirmiausia trifenilfosfinas reaguoja su tetrabrommetanu ir susidaro junginiai **16** ir **17**. Toliau *N*-arilciklopropankarboksamidas **14** reaguoja su dibromtrifenilfosforanu **16**, išsiskiria druska **18**, kuri 60 °C temperatūroje acetonitrile yra tirpi, ir susidaro tarpinis produktas scheme pažymėtas **A**. Šis tarpinis produktas virsta į dvi elektronakceptorines grupes turintį junginį **B**, kartu išsiskiriant trifenilfosfino oksidui. Toliau yra įmanomi du reakcijos mechanizmo keliai. Pirmasis – tarpinio junginio **B** intramolekulinis persitvarkymas į junginį **C**. Pastarajam reaguojant su vandeniu susidaro tikslinis produktas **15**, po to kai bromo atomas yra pakeičiamas hidroksi- grupe. Nors ir yra ši mechanizmą pagrindžiančios literatūros [45], vis tik manoma, kad labiau tikėtinas yra antrasis reakcijos mechanizmas. Junginio **B** žiedo deciklizacijos reakcija vyksta dėl nukleofilinės junginio **18** bromo atomo atakos. Tai leidžia susidaryti tarpiniam produktui **D**, kuris yra jautrus aplinkos drėgmei [46]. Dėl reakcijos su vandeniu, kurios metu bromo atomas yra pakeičiamas hidroksi- grupe, susidaro tarpinis junginys **E**, esantis

pusiausvyroje su junginiu **E**. Dėl intramolekulinės nukleofilinės atakos, iš junginio **E** susidaro tikslinis junginys **15** [43].



1.2 schema. Pirolidinono žiedo sudarymo iš *N*-arilciklopropankarboksamido, naudojant trifenilfosfiną ir tetrabrommetaną numanomas reakcijos mechanizmas

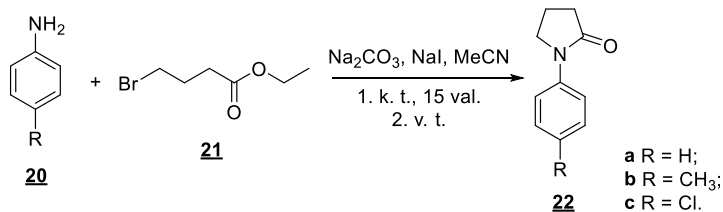
N-arilpirolidin-2-onus galima gauti iš junginio **E** analogų taikant ir kitas reakcijos sąlygas (žr. 1.3 schema). Šioje reakcijoje taip pat vyksta intramolekulinė ciklizacija ir iš 4-chlor-*N*-fenilbutanamido (**19**) gaunamas 1-fenilpirolidin-2-onas (**15a**). Tačiau pastebėtina, kad vykdant sintezę pagal anksčiau aptartas sąlygas (žr. 1.1 schema), **15a** junginio išeiga yra 8 % didesnė [43, 47].



1.3 schema. 1-Fenilpirolidin-2-ono sintezė iš 4-chlor-*N*-fenilbutanamido

1.2.2. Pirolidinonų gavimas iš anilino darinių

Žinoma reakcija tarp anilino darinių **20** ir etil-4-brombutanoato (**21**) (žr. 1.4 schema).



1.4 schema. Pirolidinonų gavimo reakcija iš anilino darinių kaip reagentą naudojant etil-4-brombutanoatą

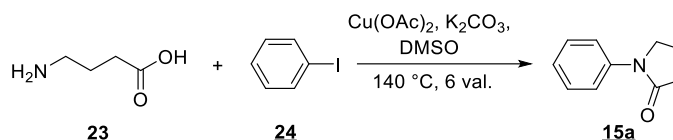
Naudojant šį gavimo būdą pirmiausia atitinkamas anilino darinys **20** ir Na_2CO_3 ištirpinami MeCN. Į mišinį pridėjus etil-4-brometanoato (**21**) ir NaI vykdomas maišymas 15 valandų kambario temperatūroje. Vėliau temperatūra padidinama iki mišinio virimo temperatūros ir reakcijos pabaiga nustatoma naudojant plonasluoksnię chromatografiją. Tirpiklis nudistiliuojamas iki sausumo, o likutis ekstrahuojamas iš vandens ir etilacetato mišinio. Atskirtas organinis sluoksnis džiovinamas su Na_2SO_4 . Dalis filtrato tirpiklio nudistiliuojama. Reakcijos produktas **22** išgryninamas naudojant

kolonėlinę chromatografiją. Sorbentas – silikagelis, eliuentas – DCM ir MeOH mišinys santykiu nuo 99:1 iki 90:10. Geriausia išeiga gauta, kai buvo vykdoma etil-4-brombutanoato reakcija su *p*-toluidinu (90 %). Reakcijų su anilinu ir *p*-chloranilinu metu gautos kiek mažesnės išeigos: 86 % ir 75 %. Taip pat ištirta, kad keičiant reakcijos sąlygas – kaip tirpiklį naudojant THF su bevandeniu Na₂CO₃ arba TEA kambario temperatūroje – galutinis reakcijos produktas išlieka toks pat [48].

Pirolidinono žiedo formavimas kaip pradinį junginį naudojant anilino darinius yra plati reakcijų grupė. Mokslinėje literatūroje atrandama ir daugiau analogiškų reakcijų. Keletas pavyzdžių: anilino reakcija su 1,4-butandioliu dalyvaujant rutenio katalizatoriui [49], *N*-metilanilino fotoredokso katalizinė reakcija su metilo prop-2-enoatu [50], 4-anilinbutannitrilo ciklizacija karštoje sieros rūgštyje [51] ir kt.

1.2.3. Pirolidinonų gavimas iš γ -aminorūgšties

Pirolidinonai gali būti gaunami ne tik iš atitinkamų amido ar anilino darinių, bet ir iš γ -aminorūgšties. Feniljodidu (**24**) paveikus γ -aminorūgštį **23** gaunamas junginys **15a**, turintis pirolidinono žiedą savo struktūroje.



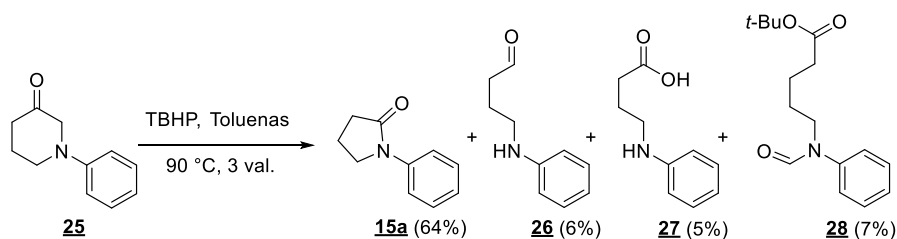
1.5 schema. *N*-fenilpirolidinono gavimo reakcija iš γ -aminorūgšties

Kaip katalizatorius šioje reakcijoje naudojamas vario (II) acetatas. Taip pat gali būti naudojamas vario (I) jodidas arba vario (II) bromidas. K₂CO₃ arba Na₂CO₃ šioje reakcijoje reikalingi bazinei terpei sudaryti. Nustatyta, kad kaip tirpiklis gali būti naudojamas DMSO, TCE, ksilenas arba etilenglikolis. Atliekant reakcijos optimizavimą, ištirta, kad geriausia junginio **15a** išeiga gaunama, kai katalizatorius – vario (II) acetatas, o tirpiklis – DMSO [52].

Ši pirolidinonų gavimo reakcija pranašesnė prieš anksčiau aptartas dėl kelių priežasčių. Visų pirma, šis sintezės būdas ekonomiškai naudingesnes, nes naudojamos sąlyginai pigios pradinės medžiagos ir gaunama aukšta reakcijos išeiga (91 %) [52]. Reakcija yra vieno žingsnio, bet svarbiau, kad nereikalingas papildomas junginio išskyrimas ar sudėtingas gryninimas. Dėl viso to, sintezės procesas tampa paprastesnis, pigesnis ir greitesnis.

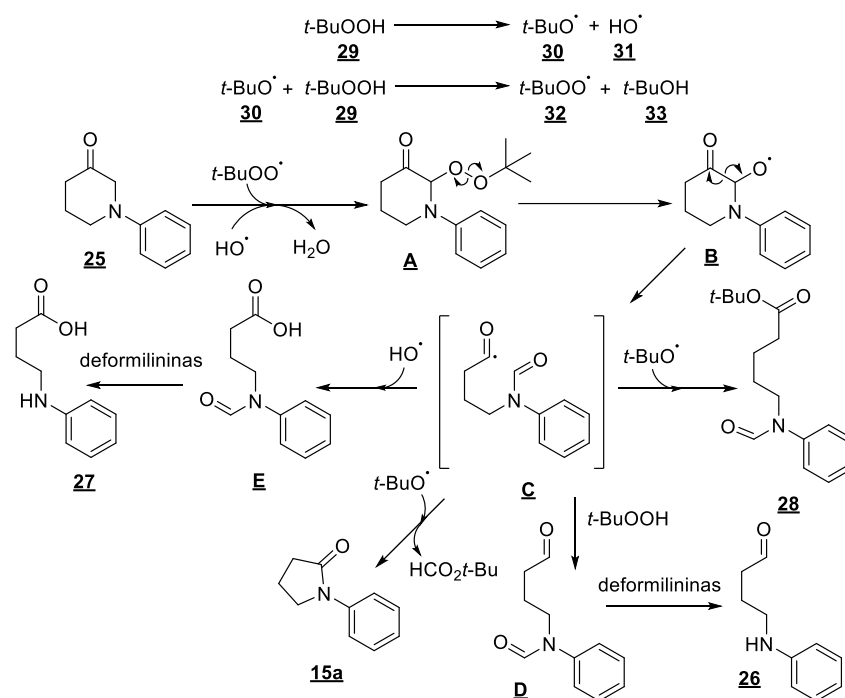
1.2.4. Pirolidinonų gavimas iš piperidin-3-ono darinių

Vienas iš naujesnių ir įdomesnių pirolidinono žiedo formavimo būdų – piperidin-3-ono žiedo demetileninimas. Reakcija skatinama *tert*-butilo hidroksiperoksido (TBHP) (žr. 1.6 schema).



1.6 schema. *N*-fenilpirolidin-2-ono gavimas iš 1-fenilpiperidin-3-ono

Reakcijos metu susidaro keturi produktai, iš kurių pagrindinis yra *N*-fenilpirolidin-2-onas. Pradinis junginys **25** buvo ištirpintas toluene. Į mišinį įdėta TBHP. Reakcija vykdyta Šlenko kolboje inertinėmis sąlygomis argono aplinkoje [53]. Remiantis literatūra [54, 55] ir nustatytais susidarančiais produktais, numanoma, kad reakcija vyksta pagal šį mechanizmą (žr. 1.7 schema). Pirmiausia prie junginio **25** prisijungia homolitinio skilimo metu susidaręs laisvasis *tert*-butilo hidroksiperoksido radikalas **32**. Po prisijungimo susidaro tarpinis junginys **A**, kurio O-O ryšiui nutrūkus dėl homolitinio skilimo susidaro junginys **B**. Šiame junginyje įvykus β -fragmentacijai, gaunamas tarpinis nepatvarus radikalas **C**. Šioje stadijoje gali susidaryti keturi skirtingi junginiai – **15a**, **26**, **27** ir **28**, priklausomai nuo to, kuris radikalas bei su kuria junginio **C** dalimi sąveikauja (žr. 1.7 schema) [53].



1.7 schema. *N*-fenilpirolidin-2-ono gavimo iš 1-fenilpiperidin-3-ono, naudojant TBHP, numanomas reakcijos mechanizmas

Šis naujas pirolidinono žiedo formavimo būdas yra patrauktas tuo, kad sintezės metu nenaudojama jokių metalų katalizatorių, rūgščių ar bazių. Tuo pačiu tai paprastas, pigus ir greitas sintezės metodas. Tačiau vienas iš didesnių trūkumų yra tai, kad susidaro daug šalutinių produktų, kas gali apsunkinti tikslinio junginio gryninimą.

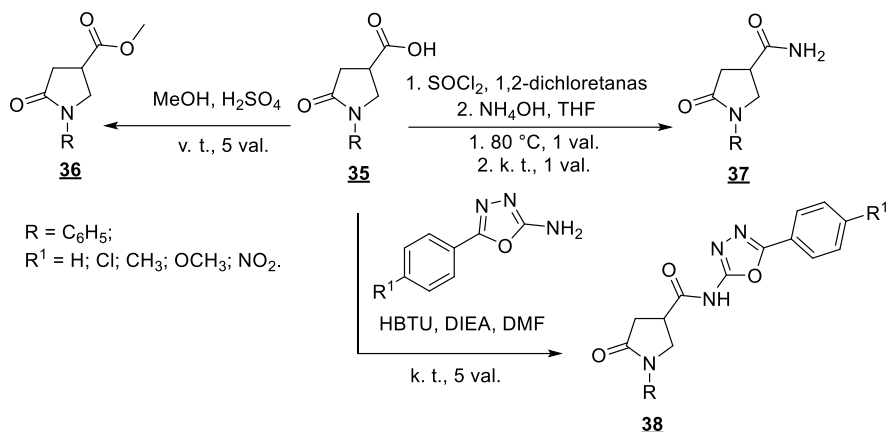
Be visų šiame skirsnyje apžvelgtų pirolidin-2-ono žiedo sudarymo būdų, mokslinėje literatūroje randama ir daugybė kitų metodų. Pastarąjį dešimtmetį pirolidinonai plačiai tiriami, todėl nenuostabu, kad nuolat atrandama ir naujų sintezės būdų. Planuojant šios grupės junginių organinę sintezę ir renkantis sintezės būdą, svarbu apsvarstyti ir atsižvelgti į keletą aspektų. Visų pirma, reikalinga nustatyti kokie reagentai, katalizatoriai, tirpikliai ir priemonės reikalingos, įvertinti jų prieinamumą ir kainą. Jeigu siekiama kurti vaistus kandidatus, svarbu ieškoti metodų, kuriuose būtų naudojama kuo mažiau toksiškų medžiagų. Taip pat aktualu rinktis sintezės būdus, kurie tenkina žaliavos chemijos principus. Viską apibendrinant, svarbu pasirinkti tokį būdą, kuris būtų ekonomiškai naudingiausias ir tuo pačiu patikimiausias, saugiausias bei tvariausias.

1.3. Karboksirūgščių, esterių, hidrazidų ir benzimidazolų cheminės savybės

Šiame skirsnyje apžvelgiamos pirolidinono žiedą turinčių darinių – karboksirūgščių, esterių, hidrazidų ir benzimidazolų svarbiausios cheminės savybės.

1.3.1. Karboksirūgščių cheminės savybės

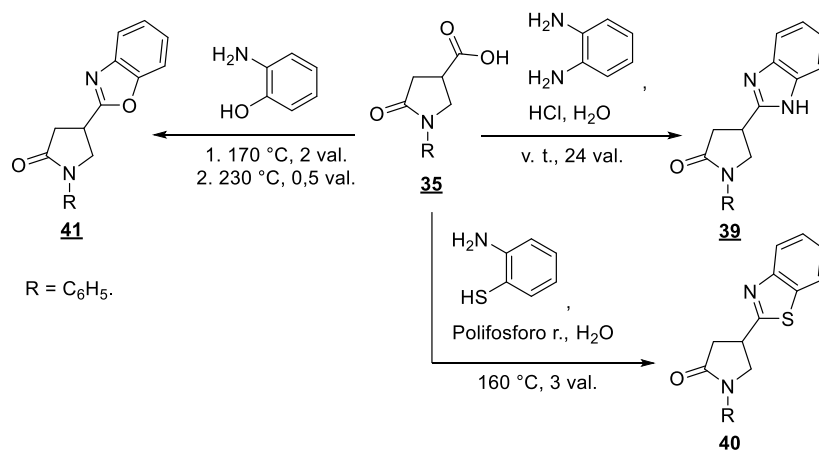
Karboksirūgštys rūgštinėje terpėje reaguoja su alkoholiais ir sudaro esterius – dalyvauja esterinimo reakcijose [56].



1.8 schema. Karboksirūgščių esterinimo ir amidinio ryšio sudarymo reakcijos

Karboksirūgštys gali būti halogeninamos, o susidariusius junginius paveikus amoniaku, gaunami amidai [57]. Karboksirūgštys gali sudaryti amidinius ryšius reakcijose su pirminiais arba antriniais aminais (žr. 1.8 schema) [58].

Viena iš išskirtinių karboksirūgščių cheminių savybių – dalyvavimas kondensacijos reakcijose, kurių metu susidaro heterociklinis žiedas. Dėl šios savybės, gali būti gaunami benzimidazoliai, benzotiazoliai bei benzoksazoliai. Benzimidazoliai ir benzotiazoliai gaunami reakciją vykdant rūgštinėje aplinkoje, o benzoksazoliai – pradinis junginius lydant (žr. 1.9 schema) [59, 60].



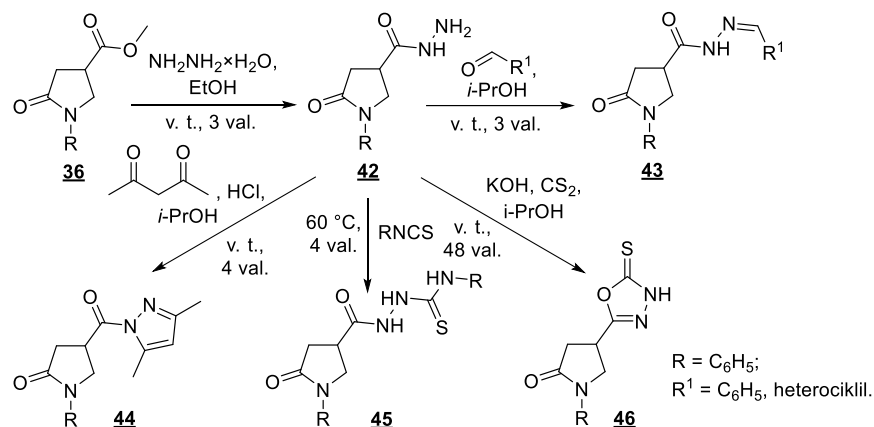
1.9 schema. Karboksirūgščių savybė dalyvauti kondensacijos reakcijose, kai susidaro heterociklinis žiedas

1.3.2. Esterių ir hidrazidų cheminės savybės

Pirolidinono darinio metilo esterui, kaip ir karboksirūgščiai, būdingos kondensacijos reakcijos, kurių metu susiformuoja heterociklinis žiedas kartu su kondensuota žiedų sistema. Junginiui **36** reaguojant

su benzen-1,2-diaminu, 2-aminobenzentioliu arba 2-aminofenoliu atitinkamai susidaro benzimidazolas **39**, benzotiazolas **40** arba benzoksazolas **41**. Svarbu paminėti, kad tokiu atveju, lyginant su šių junginių gavimu iš karboksirūgšties, keičiasi reakcijos sąlygos – naudojami giliai eutektiniai tirpikliai (CuCl_2 arba NiCl_2 /karbamidas), mikrobangos bei metalu dengtos nanodalelės (Cu - arba Ni-TiO_2) [61–63].

Esterio funkcinė grupė reaguoja su hidrazino monohidratu [64]. Susidaro aktyvus, hidrazido funkcinę grupę turintis junginys **42**.

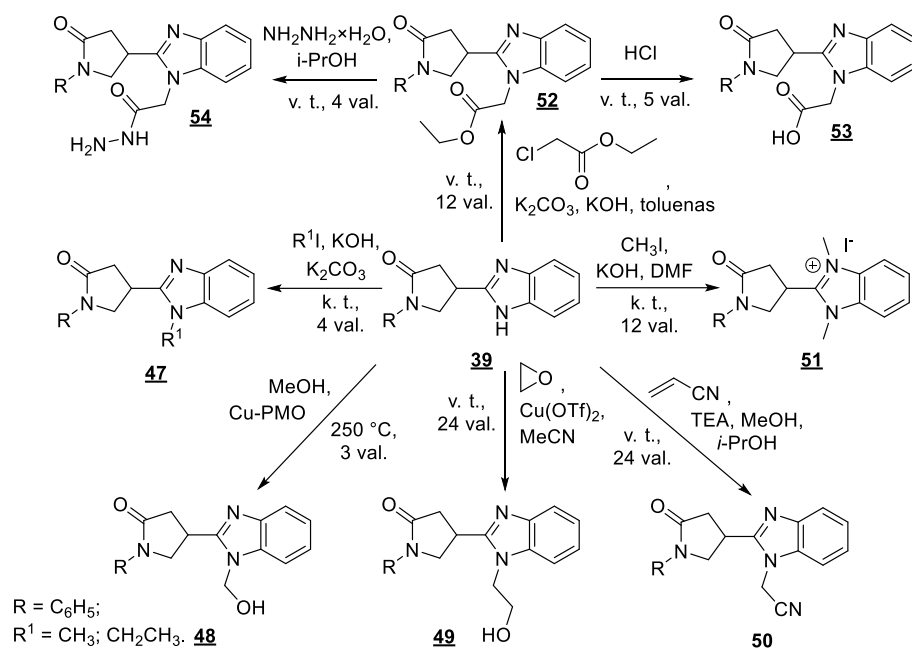


1.10 schema. Esterio ir hidrazino funkcinių grupių cheminės savybės

Hidrazidui būdinga reakcija su aromatiniais ir heterocikliniais aldehidais [65]. Hidrazido reakcijos su 2,5-pentandionu metu (žr. 1.10 schema) susidaro junginys, turintis pirazolo žiedą. Tačiau nustatyta, kad hidrazidas lengvai reaguoja ir su kitais diketonais bei monoketonais, pavyzdžiui, acetonu [66]. Taip pat hidrazido funkcinė grupė reaguoja su fenilizotiocianatu ir susidaro junginys **45** [67]. Šarminėje terpėje hidrazidui reaguojant su anglies disulfidu susidaro oksadiazolo žiedą turintis junginys **46** [68].

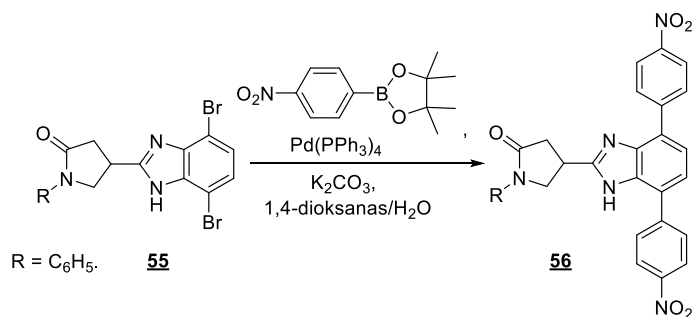
1.3.3. Benzimidazolų cheminės savybės

Benzimidazoliai dalyvauja alkilavimo reakcijose. Gali vykti *N*-alkilavimas arba *C*-alkilavimas, priklausomai nuo to, prie kurio atomo prijungiamas alkil- pakaitas. Kaip alkilinantys agentai gali būti naudojami metiljodidas, etiljodidas, formaldehidai, metanolis, oksiranas, akrilo nitrilas arba etil-2-chloracetatas atitinkamomis reakcijos sąlygomis (žr. 1.11 schema). Pabrėžtina, kad reakcijų su halogenalkanais metu, benzimidazoliai gali sudaryti druskas, identiškas arba panašias į junginį **51**. Benzimidazolio molekulė yra asimetriška ir dėl laisvos *N*-H jungties mažėja junginio selektyvumas prieš specifinius taikinius. Dėl to būtinas junginio *N*-alkilavimas, siekiant gauti vieną specifinį izomerą. Alkil- pakaitų su papildomomis funkcinėmis grupėmis: $-\text{OH}$, $-\text{COOH}$, $-\text{COOCH}_3$, $-\text{CN}$, įvedimas į struktūrą kartu padidina ir junginio funkcionalizavimo galimybes. Pavyzdžiui, iš junginio **52** gali būti gaunami junginiai, turintys karboksirūgšties ir hidrazido funkcines grupes. Tai sudaro papildomas charakterizavimo galimybes, kurios jau buvo aptartos 1.3.1 ir 1.3.2 skirsniuose [60, 69–74].



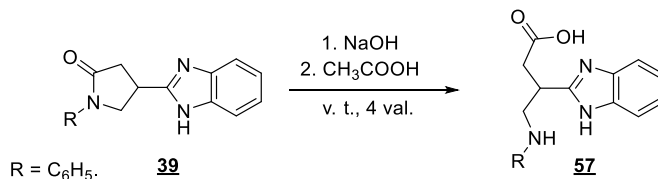
1.11 schema. Benzimidazolo darinių *N*-alkilinimo reakcijų pavyzdžiai

Benzimidazoluose elektronų tankis didžiausias imidazolo žiede, dėl to įvesti pakaitus į benzeno žiedą sudėtinga. Norint tai padaryti pirmiausia atliekamas benzeno žiedo halogeninimas. Tik tada gali būti vykdoma *Suzuki-Miyaura* reakcija ir halogenų atomai gali būti pakeisti norimomis grupėmis. Reakcijai reikalingas paladžio katalizatorius. Pagal pavyzdį, pateiktą toliau, buvo naudotas paladžio (0) tetrakis(trifenilfosfinas) kaip katalizatorius ir fenilboro rūgšties pinakolio esteris kaip alkilintis agentas [75]. Paladžio katalizuojamos reakcijos gali būti naudojamos ir *N*-alkilinimui.



1.12 schema. *Suzuki-Miyaura* reakcija, kaip benzimidazolų darinių *C*-alkilinimo reakcijos pavyzdys

Pirolidinono žiedas nėra atsparus šarminei hidrolizei, todėl šį žiedą turintiems benzimidazolo dariniams būdingos pirolidinono žiedo atidarymo reakcijos. Reakcijai naudojamas 20 % NaOH vandeninis tirpalas [76].



1.13 schema. Benzimidazolo darinio pirolidinono žiedo atidarymo reakcija

Plati aptartų cheminių savybių įvairovė leidžia susintetinti sudėtingus organinius junginius bei lengvai modifikuoti žinomas struktūras, taip ieškant naujų darinių, potencialiai pasižyminčių geromis farmakologinėmis savybėmis.

1.4. Biologinių savybių apžvalga

Šiame skirsnyje apžvelgiamos pirolidinono, hidrazono, benzimidazolo, semikarbazido, furano, tiofeno, pirolo, pirazolo ir triazolo struktūras turinčių junginių dažniausiai tyrinėjamos biologinės savybės.

1.4.1. Antibakterinis ir priešgrybelinis veikimas

Antimikrobinis aktyvumas nustatomas daugelyje junginių, kurių struktūroje yra pirolidinono, hidrazono, semikarbazido, benzimidazolo, pirolo, furano, tiofeno, pirazolo ir triazolo fragmentai [77–79]. Šiame skirsnyje išsamiau nagrinėjamos hidrazonų, pirazolų ir benzimidazolų antimikrobinės savybės ir jų veikimo mechanizmas.

Atlikta daugybė mokslinių tyrimų, įrodančių įvairių hidrazonų biologinį aktyvumą prieš plačią bakterijų ir grybelių įvairovę [80]. Hearn ir kt. [81] susintetino hidrazoną, kurio minimali slopinančioji koncentracija (MSK) prieš *Mycobacterium tuberculosis* buvo 0,06 µg/ml. Daugelis hidrazonų, kurie struktūroje turi įvairius heterociklinius fragmentus, parodė gerą aktyvumą prieš infekcinius grybelius ir bakterijas. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Proteus mirabilis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Lactobacillus* ir *Pediococcus* genties bakterijos yra tik keletas mikroorganizmų pavyzdžių, kurių augimą slopino nauji hidrazonų dariniai. Svarbu paminėti, kad *in vitro* ištirtas šių naujų hidrazono darinių veikimas tam tikrais atvejais buvo stipresnis nei rinkoje esančių antibakterinių ar priešgrybelinių preparatų ciprofloksacino, cefakloro ar flukonazolio [82, 83]. Antimikrobinis hidrazonų aktyvumas stebimas dėl šių junginių inhibicinio poveikio įvairiems viduląsteliniais fermentams – gliukozamino-6-fosfato sintazei, enoilacilo baltymo-nešiklio reduktazei, 3-ketoacilo baltymo-nešiklio reduktazei bei kitiems. Taip pat hidrazonai su tiofeno, furano arba pirolo žiedu gali veikti kaip RNR polimerazių inhibitoriai. Šiais būdais sutrinkdami transkripciniai ir metaboliniai keliai, būtini mikroorganizmo augimui ir dalijimuisi [84, 85].

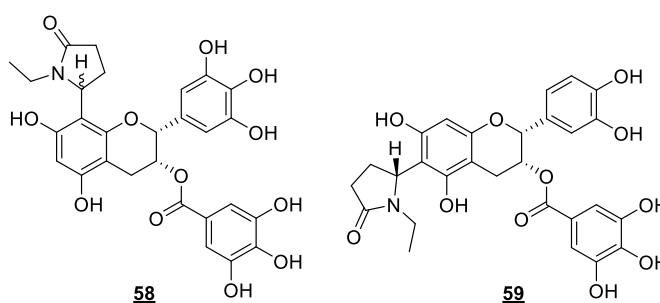
Įrodyta, kad benzimidazolo dariniai, ypač 2-pakeisti ir struktūroje turintys pirazolo žiedą, yra farmakologiškai aktyvūs. Nustatytas šių junginių biologinis aktyvumas prieš gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas, kartu ir prieš grybelius. Antibakterinis ir priešgrybelinis benzimidazolo ir pirazolo darinių aktyvumas siejamas su šios grupės junginių savybe slopinti DNR transkripcijos ir replikacijos procesus dėl antagonistinės sąveikos su fermentais topoizomeraze IV ir DNR giraze. Šių junginių taikiniai – viduląsteliniai, todėl skirtingas junginių aktyvumas susijęs su skirtingu gebėjimu prasiskverbti iki veikimo vietos. Taip pat įtakos aktyvumui turi ir skirtingos sąveikos su šiais fermentais [86, 87].

1.4.2. Antivirusinis veikimas

Žmogaus imunodeficito virusas (ŽIV), ebolavirusas ir sunkaus ūminio respiracinio sindromo koronavirusas (SARS-CoV-2) šiai dienai vis dar tebėra žmogaus gyvybei pavojingų ligų sukėlėjai. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis, per 2021 metus nuo ŽIV infekcijos pasekmių

mirė apie 650 tūkst. žmonių visame pasaulyje, o nuo SARS-CoV-2 – 1,88 mln. Ištirta, kad tam tikri pirolidinonų ir benzimidazolų dariniai veikia prieš šiuos virusus.

3-chimotripsino tipo cisteino proteazė (3CLpro) yra vienas iš svarbiausių koronaviruso baltymų. Tai svarbus farmakologinis taikinyss sergant koronaviruso liga 2019 (COVID-19) arba užsikrėtus Artimųjų Rytų kvėpavimo takų sindromo (MERS) virusu. Šis baltymas aktyvuoja daugybės fermentų sintezę, kurie reikalingi virusui daugintis ir vykdyti infekcinę veiklą. Kadangi 3CLpro homologinės proteazės žmogaus organizme nėra, tai tampa idealiu antikoronavirusiniu taikiniu [88]. Ištirta, kad įvairūs arbatos katechinai šias proteazes veikia inhibiciškai, o pirolidinono žiedo įvedimas į struktūrą, šį poveikį sustiprina. 1.7 pav. pateikti šių katechinų-pirolidinonų dariniai **58** ir **59**, kurių pusinė maksimali inhibicinė koncentracija (IC_{50}) prieš 3CLpro atitinkamai yra $0,90 \pm 0,03 \mu M$, $46,71 \pm 10,50 \mu M$. Palyginimui, analogiškų struktūrų be pirolidinono žiedo IC_{50} – $3,38 \pm 0,48 \mu M$ ir $71,78 \pm 8,36 \mu M$ [89]. Šiuo atveju pirolidinono žiedas struktūroje pagerina katechinų inhibicines koronaviruso proteazės savybes nuo 1,5 iki 3,8 karto. Dėl to pagerėja ir antivirusinis junginių aktyvumas.



1.6 pav. Antivirusiniu veikimu pasižymintys katechinų-pirolidinonų dariniai

Daugiafunkcinis ebolaviruso baltymas (VP35) palengvina imuninės sistemos vengimą antagonistiskai veikdamas antivirusinius gyvūnų ir žmogaus signalizacijos kelius. Šis baltymas yra svarbus viruso RNR sintezei ir yra vienas iš faktorių lemiančių tokį stiprų ebolaviruso virulentiškumą. VP35 yra vienas iš baltymų, kurie sudaro šio viruso polimerazės kompleksą. Įvairių *in silico* ir *in vitro* tyrimų metu nustatyta, kad tam tikri pirolidinono dariniai gali prisijungti prie VP35 baltymo kofaktoriaus α -spiralės ir taip mažinti jo aktyvumą. Tai gali turėti dvigubą poveikį, nes mažėjant kofaktoriaus aktyvumui ne tik slopinama ebolaviruso RNR sintezė, bet ir silpninami viruso imuninės sistemos vengimo mechanizmai [90–92]. Taigi, pirolidinono žiedo struktūras turintys junginiai gali būti pritaikyti kovai ir su ebolavirusu.

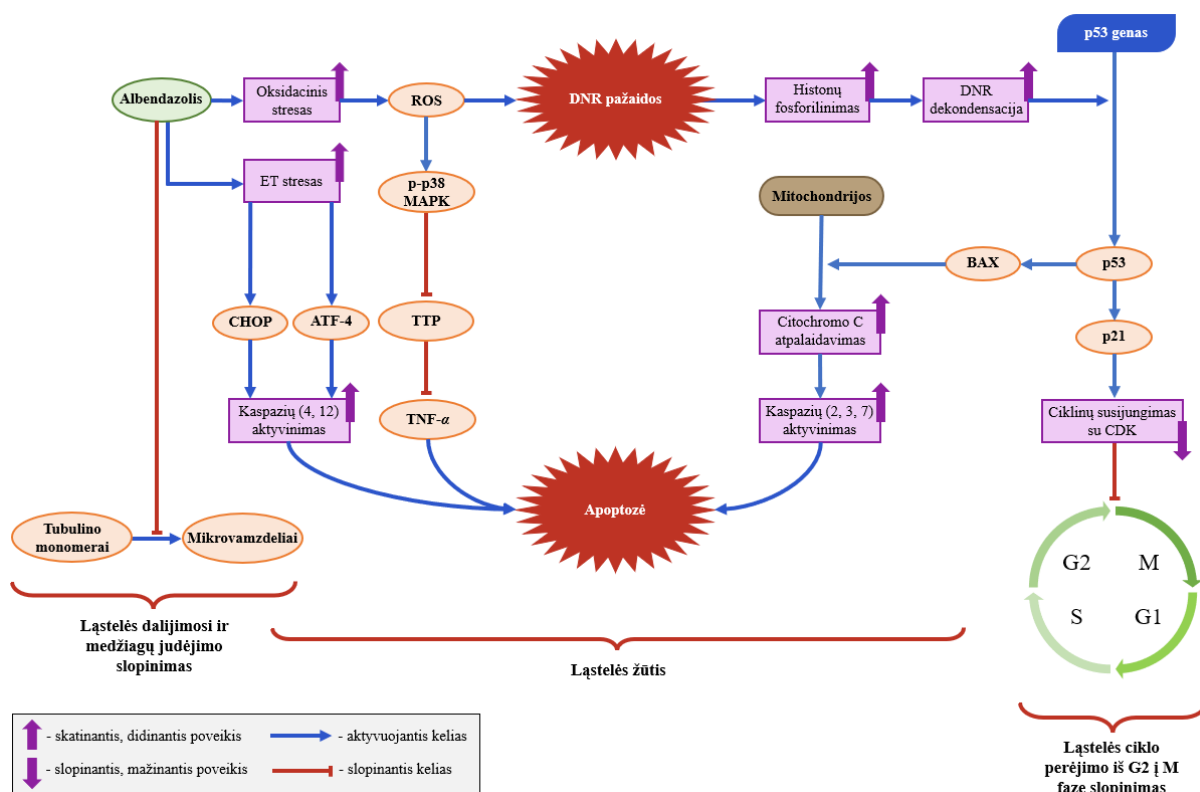
Benzimidazolo dariniai veikia ŽIV slopindami jų dauginimąsi [93]. Tetrahydroimidazo[4,5,1-jk][1,4]-benzodiazepin-2(1*H*)-ionas, praktikoje trumpinamas TIBO, prisijungia prie alosterinio kai kurių atvirkštinių transkriptazių centro. TIBO šiuos fermentus veikia kaip nekonkurencinis ligandas. Svarbu tai, kad šio junginio veikimo vieta yra ne branduolys, o citoplazma, kur ir aktyvuojama viruso atvirkštinė transkriptazė. TIBO yra inhibitorius ir selektyviai, specifiskai ir efektyviai veikia ŽIV-1 atvirkštinės transkriptazės. Taip sustabdoma virusinės DNR įsiterpimas į žmogaus ląsteles ir tolimesnis viruso plitimas ir dauginimasis. Didelis preparato selektyvumas ir specifiskumas turi ir trūkumų – jis neveikia kitokių atvirkštinių transkriptazių, pavyzdžiui, ŽIV-2 [94]. Benzimidazolų dariniai pasižymi antivirusiniu aktyvumu ir prieš kitus virusus – pikornavirusus, poliovirusus, enterovirusus ir tabako mozaikos virusus [95].

1.4.3. Priešvėžinis veikimas

Mokslinių tyrimų duomenys rodo, kad hidrazonų, benzimidazolų, triazolų dariniai gali turėti priešnavikinį aktyvumą. Šių junginių poveikis buvo pastebėtas tyrimuose su įvairiomis krūties, storosios žarnos, melanomos, inkstų ir prostatos vėžinių ląstelių linijomis [96]. Šiame skirsnyje nagrinėjamas priešvėžinis benzimidazolo darinio veikimo mechanizmas.

Išsirta, kad rinkoje esantys vaistai mebendazolas ir albendazolis dėl benzimidazolo fragmento savo struktūroje pasižymi priešvėžiniu veikimu [97]. Išsamiau bus nagrinėjamas albendazolio priešnavikinio veikimo mechanizmas. Albendazolis patekęs į ląsteles sukelia oksidacinį stresą ir todėl padidėja ROS kiekis. Tai sukelia sumažėjusį glutationo (GSH) kiekį bei didesnį antioksidacinių fermentų, tokių kaip superoksido dismutazė (SOD), katalazė (CAT), glutationo peroksidazė (GPX) ir glutationo reduktazė (GSR), aktyvumą. Taip pat padidėja tiobarbitūro rūgšties reaktyviųjų junginių (TBARS) kiekis [98]. Dėl šių veiksnių gerokai padidėja tikimybė atsirasti ląstelės DNR pažaidoms. Jei susidaro DNR pažaidos, pradedami fosforilinti histoniniai (H2AX) baltymai. Dėl histonų fosforilinimo DNR tampa ne tokia kondensuota, o tai nulemia p53, dar žinomo kaip vėžio supresoriaus, geno ekspresiją. To galutinis rezultatas – citoplazmoje susidaręs baltymas p53 [99]. Baltymas p53 indukuoja baltymą p21, o tai slopina ciklinų susijungimą su nuo ciklinų priklausomais baltymais (CDK). Ciklinų ir pastarųjų baltymų susijungimas nulemia ląstelės ciklo perėjimą iš G2 fazės į M fazę, kuomet ir vyksta ląstelės dalinimasis [94]. Šis netiesioginis albendazolio poveikis kartu su tubulino monomerų polimerizacijos ir mikrovamzdelių formavimosi slopinimu nulemia ląstelės dalijimosi sustojimą.

Albendazolis ne tik stabdo navikinių ląstelių dalinimąsi, bet ir slopina angiogenezę ir metastazę hipoksinėmis sąlygomis. Taip pat nustatyta, kad šie vaistai skatina vėžinių ląstelių žuvimą. Pastarasis biologinis procesas yra sukeliamas keleto skirtingų veikimo mechanizmų ir metabolinių kelių. Čia taip pat įtakos turi baltymas p53, kadangi dėl jo padidėja ir su B ląstelių limfoma 2 (Bcl-2) susijusio baltymo X (BAX) kiekis citoplazmoje, o tai skatina citochromo C atsipalaidavimą iš mitochondrijų. Citochromas C patekęs į citoplazmą aktyvuoja kaspazę 2, 3 ir 7. Šios cisteino šeimos proteazės veikia proteolitiškai ir suardo gyvybiškai svarbias ląstelines struktūras – citoskeletą, tarpląstelines jungtis, mitochondrijas, endoplazminį tinklą, Goldžio kompleksą ir branduolį [100]. Kitas būdas kaip albendazolis sukelia ląstelių apoptozę – endoplazminio tinklo stresas. Dėl streso citozolyje padidėja C/EBP homologinių baltymų (CHOP) ir aktyvuojančio transkripcijos faktoriaus 4 (ATF-4) kiekis [101–102]. Tuomet padaugėja aktyvių fermentų – kaspazės 4 ir 12, kurios, kaip ir aprašyta anksčiau, sukelia apoptozinę ląstelės žūtį. Dar vienas atskiras priešnavikinis veikimo mechanizmas sukeliantis apoptozę yra susijęs su ROS. Dėl reaktyvių deguonies rūšių kiekio padidėjimo, padidėja ir fosforilinto-p43 mitogeno aktyvuotos kinazės (p-p43 MAPK) geno raiška. Ši kinazė veikia tristetraproliną (TTP), kuris natūralioje ląstelės būsenoje slopina naviko nekrozės faktorių (TNF- α). Nutrūkus slopinamajam signalui, šis faktorius prisijungia prie ląstelės plazminės membranos „mirties“ receptorių, kurių atsakas sukelia apoptozę [94, 103, 104]. Visi aptarti priešvėžiniai veikimo mechanizmai schematiškai pavaizduoti 1.7 pav.

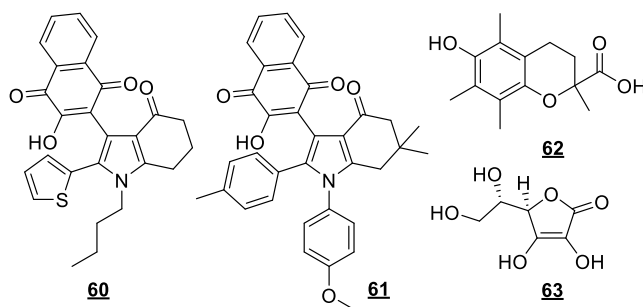


1.7 pav. Supaprastinti albendazolio priešvėžinio veikimo mechanizmai

Daugelis benzimidazolo fragmentą turinčių junginių pasižymi sąlyginai geromis priešvėžinėmis savybėmis. Šiais laikais didžiausias iššūkis šiuos junginius pritaikyti vėžio gydyme yra jų mažas biopasisavinamumas žmogaus organizme [105].

1.4.4. Antioksidacinis veikimas

Daugelis bioaktyvių junginių pasižymi antioksidacinėmis savybėmis. Tarp jų pirolo, tiofeno ir furano dariniai. Šių junginių antioksidacinės savybės pasireiškia dėl jų gebėjimo efektyviai pašalinti įvairias ROS. Laikoma, kad oksidacinis stresas yra pagrindinis neurodegeneracines ligas, įskaitant Parkinsono, Alzheimerio, Hantingtono ligas, depresiją ir išsėtinę sklerozę, sukeliantis faktorius. Taip pat oksidacinis stresas įtakos turi ir širdies bei kraujagyslių ligoms [106]. Antisoksidacinis veikimas susijęs su junginių gebėjimu reaguoti su laisvaisiais deguonies radikalais: hidroksilo radikalais ($\text{HO}^\bullet$), superoksido anijonais ($\text{O}_2^{\bullet-}$), peroksido jonais (O_2^{2-}), hidroksido jonais (HO^-), azoto oksido radikalais ($\text{NO}^\bullet$), vandenilio peroksidu (H_2O_2) ir kitais [107, 108]. Reakcijos metu šios aktyvios dalelės praranda savo oksidacines savybes. 1.8 pav. pavaizduoti pirolo, tiofeno ir furano žiedus turintys dariniai, kurie pasižymi šiomis savybėmis. Junginių **60**, **61** ir **62** antioksidacinis aktyvumas prieš skirtingas ROS pateiktas 1.1 lentelėje. Iš pateiktų duomenų matoma, kad sintetiniai junginiai, turintys pirolo ir tiofeno žiedus, gali pasižymėti stipriomis antioksidacinėmis savybėmis, prilygstančiomis rinkoje naudojamam stipriam antioksidantui – vitamino E analogui – troloksui (**62**) [106]. Dar vienas stipresnių antioksidantų – askorbo rūgštis (**63**), yra furano darinys [109].



1.8 pav. Heterocikliniai junginiai, pasižymintys antioksidacinėmis savybėmis

Aptarti junginiai yra pakankamai stabilūs ir pasižymintys elektrondonorinėmis savybėmis. Laisvieji radikalai yra „neutralizuojami“ prie jų prijungiant elektronus iš antioksidacinėmis savybėmis pasižyminčių junginių. Būtent tokiu būdu šie junginiai mažina oksiduotų ir redukuotų junginių disbalansą ląstelėse [110].

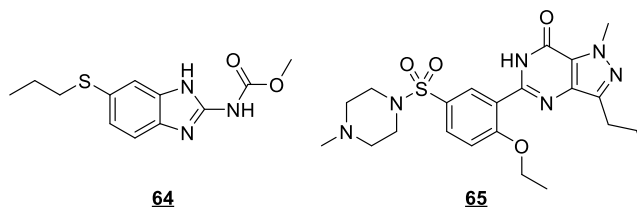
1.1 lentelė. Kai kurių junginių *in vitro* antioksidacinių savybių palyginimas

Junginys	$\cdot\text{OH}$ (IC_{50}), μM	$\text{O}_2^{\cdot-}$ (IC_{50}), μM	DPPH $\cdot$ (IC_{50}), μM
60	$17,67 \pm 0,63$	$9,64 \pm 2,43$	$45,50 \pm 3,18$
61	$17,40 \pm 2,37$	$7,11 \pm 1,49$	$47,36 \pm 1,86$
62	$16,93 \pm 1,67$	$3,95 \pm 1,87$	$34,83 \pm 2,73$

Šiame skirsnyje buvo aptarta pirolo, tiofeno ir furano darinių antioksidacinis veikimas, kai junginys tiesiogiai reaguoja ir pašalina ROS. Tačiau šiems bei kitiems heterocikliniams junginiams būdingas ir netiesioginis antioksidacinis veikimas, kai yra slopinama fermentų, kurie generuoja ląstelėje ROS, veikla [111].

1.4.5. Kitos biologinės savybės

Ankstesniuose skirsniuose aptartų junginių grupėms būdingos ir kitos įvairios biologinės savybės. Šie junginiai gali veikti antiparazitiškai, antimaliariškai, antikonvulsiškai, priešuždegimiškai, kraujo krešėjimą stabdančiai, priešopiškai, antiproliferaciškai, antidepresiškai ir net antidiabetiškai [79, 80, 95, 107]. Išsamiau nagrinėjamas rinkoje esančio vaisto albendazolio (**64**) antihelminntinis veikimas ir sildenafilo (**65**) antihipertenzinis veikimo mechanizmas.



1.9 pav. Albendazolio **64** ir sildenafilo **65** struktūrinės formulės.

Anksčiau aptartas albendazolis **64** yra praktikoje vartojamas antihelminntinis vaistais [112]. Jis skirtas gydyti naminių gyvūnų ir žmonių endoparazitines ligas [95]. Dėl mažo toksiškumo terapinis šio vaisto indeksas labai aukštas. Taip pat šis vaistas pasižymi labai plačiu antihelminntiniu veikimo spektru. Todėl šie vaistai skiriami ligoms, kurias sukelia žarnyno nematodų infekcijos (askaridozė, trichuriazė, strongiloidozė ir enterobiozė), žarnyno kaspinuočių infekcijos (tenazė ir himenolepiozė),

gydyti [112]. Antiparazitinis šių vaistų veikimas grindžiamas jų poveikiu mikrovamzdeliams. Kaip parodyta 1.7 pav., albendazolis blokuoja mikrovamzdelių formavimąsi. Taip sutrinka gliukozės įsisavinimas, transportavimas, ląstelių mitozinių verpsčių formavimasis ir galiausiai – ląstelių mitozė [113]. Tai nulemia ovicidinį, lervicidinį ir vermicidinį poveikį parazitams.

Pirazolo dariniai turi farmakologinį poveikį kardiovaskulinei sistemai. Pirazolo darinys sildenafilas **65** yra specifinės 5 tipo fosfodiesterazės (PDE5), kuri yra atsakinga už ciklinio guanozinmonofosfato (cGMP) skaidymą, inhibitorius. Todėl padidėja cGMP koncentracija lygiųjų raumenų ląstelėje. Nuo ciklinio guanozinmonofosfato (cGMP) priklausoma baltymų kinazė (PKG) intensyviau fosforilina lygiųjų raumenų ląstelių taikinius: miozino lengvosios grandinės fosfatazę, baltymą RhoA, inozitolio trisfosfato (IP₃) receptorių, fosfolipazę C ir kt. Dėl šių baltymų fosforilinimo sumažėja kalcio kiekis ląstelėje ir sumažėja baltymų jautrumas kalcio poveikiui. Tai sukelia lygiųjų raumenų atsipalaidavimą, kuris reiškia, kad yra nesutraukiamos kraujagyslės, nepadidėja periferinis pasipriešinimas ir sumažėja arterinis kraujo spaudimas. Tokiu būdu veikia praktikoje naudojamas antihipertenzinis vaistas – sildenafilas [114, 115].

1.5. Projekto tikslo pagrindimas

Atlikta literatūros analizė parodė, kad egzistuoja daug praktikoje taikomų pirolidinono žiedo formavimo būdų. Keletas iš jų buvo išsamiau aptarti 1.2 skirsnyje. Nuo 2013 m., Amerikos chemikų draugijos duomenimis, buvo publikuota daugiau nei 7000 mokslinių straipsnių ir užregistruota apie 3000 patentų susijusių su pirolidinonų dariniais. Šie skaičiai rodo, kad dariniai šiai dienai vis dar aktualūs ir plačiai sintetinami bei tyrinėjami. Didelį susidomėjimą šiais junginiais galima paaiškinti jų plačiu biologinių savybių spektru, kuris buvo aptartas 1.4 skirsnyje. Taip pat, jų plačiu bei įvairiu praktiniu panaudojimu ir pritaikymu, kadangi egzistuoja daug rinkoje vartojamų vaistų, savo molekulinėje struktūroje turinčių pirolidinono žiedą.

Pirolidinono dariniai, turintys hidroksi-, karboksi-, esterio ir hidrazido funkcines grupes, gali būti lengvai modifikuojami į junginių struktūras įvedant kitus farmakologiškai aktyvius pakaitus bei funkcines grupes. Galimas pirolidinono darinių charakterizavimas ir modifikavimas buvo apžvelgtas 1.3 skirsnyje. Analizė parodė, kad pirolidinono darinių modifikavimas gali būti nesudėtingas, greitas ir ekonomiškai procesas, atliekamas švelniais bei saugiomis sąlygomis vienpakopių reakcijų metu. Šio proceso rezultatas – nauji dariniai, struktūroje turintys hidrazono, pirolo, furano, tiofeno, pirazolo, semikarbazido, triazolo, benzimidazolo ar kitus funkcinius fragmentus, pagerinančius antibakterines, priešgrybelines, antivirusines, priešvėžines, antioksidacines ar kitas biologines savybes. Iš literatūros analizės 1.1 skirsnyje taip pat paaiškėjo, kad benzeno žiedo, hidroksi- ir metilo funkcinių grupių įvedimas į junginio struktūrą gali turėti teigiamą farmakokinetinį ir farmakodinaminį poveikį.

Remiantis literatūrinės analizės duomenimis, nuspręsta šio tyrimo metu susintetinti naujus bioaktyvius *N*-pakeistus pirolidin-2-ono darinius, kaip pradinį junginį naudojant 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštį. Taip pat ištirti junginio chemines savybes, atliekant įvairias cheminio modifikavimo reakcijas, ir ištirti gautų junginių biologinį aktyvumą. Pagal gautus rezultatus galima įvertinti susintetintų junginių praktinio pritaikymo galimybes.

2. Medžiagos ir tyrimo metodai

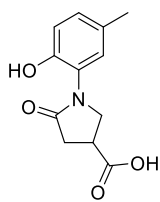
2.1. Medžiagos ir priemonės

Reagentai buvo pirkti iš „Sigma-Aldrich“ firmos. Reakcijų eiga stebėta plonasluoksnės chromatografijos metodu, naudojant *Merc Silica gel 60 F254* plokšteles, kurios ryškintos ultravioletinėje šviesoje ($\lambda = 254$ nm). Kolonėlinėje chromatografijoje naudotas „Sigma-Aldrich“ 60 Å porų dydžio silikagelis.

BMR spektrai rašyti spektrometru *Bruker BioSpin GmbH* (^1H 400 MHz, ^{13}C 100 MHz), kaip vidinis standartas pasitelktas tetrametilsilanas (TMS). Cheminiai poslinkiai δ skalėje išmatuoti milijoninėmis dalimis (m. d.). IR spektrai užrašyti spektrometru *PERKIN ELMER Spectrum Bx FT-IR*, naudojant tabletes su KBr. Elementinė analizė atlikta aparatu *Exeter Analytical CE-440 Elemental*. Lydymosi temperatūros nustatytos atviraime kapiliare automatiškai lydymosi temperatūrų prietaisu *APA1* ir nekoreguotos. Junginių masės spektrai užrašyti *Waters SQ Detector 2* spektrometru, naudojant elektropurkštuvinę jonizaciją (ESI).

2.2. Junginių sintezė ir ypatybės

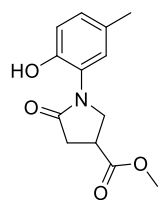
1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštis (2)



2-Amino-4-metilfenolis (**1**) (10,00 g, 0,081 mol) ir itakono rūgštis (12,36 g, 0,095 mol) ištirpinami vandenyje (40 ml). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 2 valandas. Atvėsinus reakcijos mišinį, susidarę kristalai nufiltruojami. Vykdomas persodinimas gautus kristalus ištirpinant 5 % NaOH (60 ml). Tirpalas nufiltruojamas. Gautas filtratas rūgštinamas druskos rūgštimi iki pH 2. Susidarę junginio **2** kristalai filtruojami, plaunami vandeniu ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išiga 16,75 g (88%). Lyd. t. 172–173 °C. ^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,18 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,68 (m, 2H, COCH₂); 3,26–3,42 (m, 1H, CH₂CH, persidengia su H₂O); 3,76–3,93 (m, 2H, NCH₂); 6,70–6,82 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–6,98 (m, 2H, H_{Ar}); 9,31 (pl. s, 1H, OH); 12,60 (pl. s, 1H, COOH). ^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,96 (CH₃); 33,74 (COCH₂); 36,22 (CH₂CH); 50,98 (NCH₂); 116,65, 125,15, 127,88, 128,31, 128,71, 150,26 (C_{Ar}); 172,19, 174,41 (2x CO). IR (KBr), ν , cm⁻¹: 3302 (2x OH); 1699, 1641 (2x C=O). Nustatyta, %: C 61,69; H 5,34; N 6,46. Apskaičiuota, C₁₂H₁₃NO₄, %: C 61,27; H 5,57; N 5,95.

Metil-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksilatas (3)

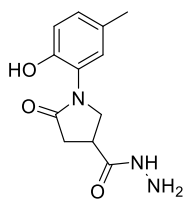


Pradinis junginys **2** (8,03 g, 0,34 mol) ištirpinamas metanolyje (131 ml). Įlašinamas katalizinis kiekis sieros rūgšties. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 8 valandas. Vakuuminės distiliacijos būdu atskiriamas metanolis. Gautas likutis neutralinamas naudojant 5 % Na₂CO₃ tirpalą iki pH 8–9. Susidarę junginio **3** kristalai nufiltruojami, plaunami 5 % Na₂CO₃ tirpalu, heksanu ir paliekami džiuoti kambario temperatūroje.

Išiga 8,26 g (97%). Lyd. t. 116–117 °C. ^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,59–2,72 (m, 2H, COCH₂); 3,43–3,52 (m, 1H, CH₂CH); 3,68 (s, 3H, OCH₃); 3,79–3,92 (m, 2H, NCH₂); 6,76–6,81 (m, 1H, H_{Ar}); 6,93 (s, 2H, H_{Ar}); 9,31 (s, 1H, OH). ^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,94 (CH₃); 33,60 (COCH₂); 36,00 (CH₂CH); 50,73 (NCH₂); 52,13 (OCH₃); 116,61,

125,01, 127,86, 128,34, 128,75, 150,26 (C_{Ar}); 171,86, 173,30 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3287 (OH); 1732, 1682 (2x C=O); 1213 (COOCH₃). Nustatyta, %: C 61,34; H 5,89; N 5,28. Apskaičiuota, C₁₃H₁₅NO₄, %: C 62,64; H 6,07; N 5,62.

1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (4)



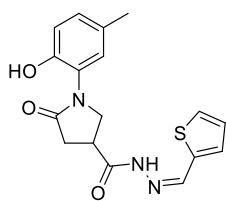
Pradinis junginys (3) (3,00 g, 0,012 mol) šildant ištirpinamas 2-propanolyje (10 ml). Į atvėsintą tirpalą supilamas hidrazino monohidratas (1,20 g, 0,024 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 8 valandas. Reakcijos mišiniui atvėsus, gauti junginio **4** kristalai nufiltruojami, perkristalinami iš 2-propanolio ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išga 1,98 g (67%). Lyd. t. 190–191 °C (iš 2-propanolio). Išga 1,98 g (67%). Lyd. t. 190–191 °C. **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 2,18 (s, 3H, CH₃); 2,45–2,63 (m, 2H, COCH₂); 3,14–3,26 (m, 1H, CH₂CH); 3,62–3,71 (m, 1H, NCH₂); 3,74–3,84 (m, 1H, NCH₂); 4,32 (pl. s, 2H, NH₂); 6,72–6,82 (m, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,00 (m, 2H, H_{Ar}); 8,59 (s, 1H, NH); 9,29 (s, 1H, OH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,96 (CH₃); 34,42 (COCH₂); 35,56 (CH₂CH); 51,65 (NCH₂); 116,62, 125,13, 127,89, 128,39, 128,78, 150,36 (C_{Ar}); 171,82, 172,43 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3295 (OH, NH₂); 3144 (NH); 1687, 1646 (2x C=O). Nustatyta, %: C 55,98; H 5,93; N 16,63. Apskaičiuota, C₁₂H₁₅N₃O₃, %: C 57,82; H 6,07; N 16,86.

Bendrasis 5 a-d junginių gavimo būdas

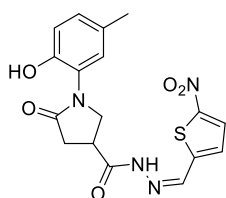
Pradinis junginys **4** (0,30 g 0,0012 mol) šildant ištirpinamas 2-propanolyje (13 ml). Į atvėsusį tirpalą įdedama atitinkamo heterociklinio aldehido (0,00144 mol). Reakcija 1 valandą vykdoma mišinio virimo temperatūroje. Tirpalas atšaldomas ir iškritus kristalams vykdomas filtravimas. Gauti junginių **5 a-d** kristalai džiovinami kambario temperatūroje. Tikslinio junginio **5c** išskyrimui iš reakcijos mišinio papildomai atliktas skiedimas heksanu. Produktai **5 a-d** gryninami perkristalinant juos iš 1,4-dioksano.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-N'-(tiofen-2-il-metilen)pirolidin-3-karbohidrazidas (5a)



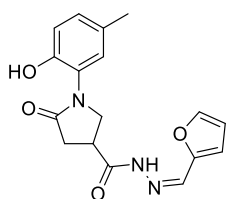
Išga 0,30 g (73%). Lyd. t. 203–204 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (*Z/E* izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,79 (m, 2H, COCH₂); 3,70–3,93 (m, 2H, NCH₂); 3,97 (s, 1H, CH₂CH); 6,70–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,02 (m, 2H, H_{Ar}); 7,04–7,17 (m, 1H, H_{Ar}); 7,36–7,50 (m, 1H, H_{Ar}); 7,53–7,70 (m, 1H, H_{Ar}); 8,19, 8,42 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,31 (2s, 1H, OH); 11,53, 11,55 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,92 (CH₃); 33,16, 34,17 (COCH₂); 36,17 (CH₂CH); 51,05, 51,44 (NCH₂); 116,62, 125,18, 127,83, 127,97, 128,37, 128,37, 128,43, 128,64, 129,00, 130,37, 138,55, 138,88, 138,93, 142,18, 150,24 (C_{Ar}); 168,61 (NCH); 172,13, 172,29, 173,27 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3274 (OH); 2911 (NH); 1692, 1653 (2x C=O); 1509 (C=N). Nustatyta, %: C 57,79; H 5,06; N 11,51. Apskaičiuota, C₁₇H₁₇N₃O₃S, %: C 59,46; H 4,99; N 12,24.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-N'-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (5b)



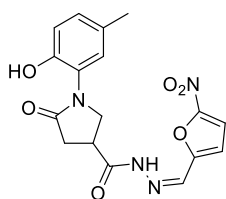
Išeiga 0,34 g (73%). Lyd. t. 210–211 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (*Z/E* izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,60–2,80 (m, 2H, COCH₂); 3,74–3,85 (m, 1H, CH₂CH); 3,87–4,09 (m, 2H, NCH₂); 6,74–6,83 (m, 1H, H_{Ar}); 6,89–6,99 (m, 2H, H_{Ar}); 7,49–7,59 (m, 1H, H_{Ar}); 8,06–8,14 (m, 1H, H_{Ar}); 8,19, 8,47 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,33 (2s, 1H, OH); 11,92, 11,96 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,92 (CH₃); 33,18, 34,04 (COCH₂); 36,23 (CH₂CH); 50,94, 51,26 (NCH₂); 116,63, 125,11, 127,85, 128,36, 128,68, 129,20, 129,77, 130,65, 136,82, 140,55, 146,57, 150,26, 150,52, 150,87 (C_{Ar}); 169,27 (NCH); 172,01, 172,17, 173,93 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3191 (OH); 3045 (NH); 1703, 1675 (2x C=O); 1509 (C=N); 1335, 1314 (NO₂). Nustatyta, %: C 49,24; H 3,98; N 13,22. Apskaičiuota, C₁₇H₁₆N₄O₅S, %: C 52,57; H 4,15; N 14,43.

(Z)-N'-(furan-2-il-metilen)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (5c)



Išeiga 0,22 g (57%). Lyd. t. 153–154 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (*Z/E* izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,79 (m, 2H, COCH₂); 3,70–3,84 (m, 1H, CH₂CH); 3,85–4,13 (m, 2H, NCH₂); 6,61 (s, 1H, H_{Ar}); 6,72–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,01 (m, 3H, H_{Ar}); 7,75–7,87 (m, 1H, H_{Ar}); 7,91, 8,10 (2s, 1H, NCH); 9,28, 9,32 (2s, 1H, OH); 11,50, 11,54 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,93 (CH₃); 34,04, 34,15 (COCH₂); 36,21 (CH₂CH); 51,12, 51,45 (NCH₂); 112,13, 112,19, 113,42, 113,71, 116,59, 116,64, 125,09, 125,20, 127,86, 128,28, 128,37, 128,65, 128,70, 133,70, 136,88, 114,98, 145,98, 145,25, 149,14, 149,24, 150,23, 150,23, 150,27 (C_{Ar}); 168,72 (NCH); 172,17, 172,34, 173,57 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3263 (OH); 3153 (NH); 1702, 1655 (2x C=O); 1509 (C=N). Nustatyta, %: C 61,15; H 5,01; N 12,16. Apskaičiuota, C₁₇H₁₇N₃O₄, %: C 62,38; H 5,23; N 12,84.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-N'-[(5-nitrofuran-2-il)metilen]-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (5d)



Išeiga 0,28 g (63%). Lyd. t. 116–117 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (*Z/E* izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,80 (m, 2H, COCH₂); 3,68–3,87 (m, 1H, CH₂CH); 3,87–4,15 (m, 2H, NCH₂); 6,72–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,87–7,03 (m, 2H, H_{Ar}); 7,24 (s, 1H, H_{Ar}); 7,70–7,86 (m, 1H, H_{Ar}); 7,97, 8,18 (2s, 1H, NCH); 9,29, 9,33 (2s, 1H, OH); 11,94, 11,98 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,92 (CH₃); 33,25, 33,94 (COCH₂); 36,26 (CH₂CH); 50,96, 51,27 (NCH₂); 114,60, 114,73, 115,45, 116,57, 116,62, 125,03, 125,12, 127,86, 128,34, 128,34, 128,69, 131,72, 134,90, 150,27, 151,57, 151,76 (C_{Ar}); 169,33 (NCH); 172,00, 172,17, 174,16 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3204 (OH); 2969 (NH); 1673 (2x C=O); 1510 (C=N); 1352, 1316 (NO₂). Nustatyta, %: C 52,76; H 4,17; N 14,21. Apskaičiuota, C₁₇H₁₆N₄O₆, %: C 54,84; H 4,33; N 15,05.

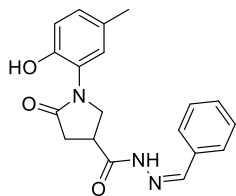
(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-N'-(naftalen-1-il-metilen)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (6)

Pradinis junginys **4** (0,30 g, 0,0012 mol) šildant ištirpinamas 2-propanolyje (14 ml). Į atvėsintą tirpalą sulašinamas 1-naftaldehidas (0,24 g, 0,00144 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 3 valandas. Atvėsinus reakcijos mišinį vykdomas skiedimas heksanu (20 ml). Susidarę junginio **6**

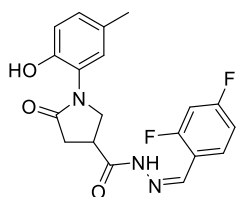
Cc1ccc(cc1)N2C(=O)CC(C2)C(=O)N=N/C=C/c3ccc4ccccc43

Bendrais 7 a-i junginių gavimo būdas

(Z)-N'-benziliden-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okspiroolidin-3-karbohidrazidas (7a)



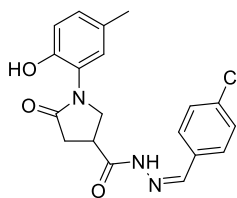
(Z)-N'-(2,4-difluorbenziliden)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas
(7b)



30

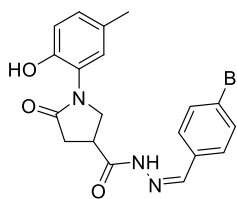
d.): 19,93 (CH₃); 33,27, 34,07 (COCH₂); 36,23 (CH₂CH); 51,00, 51,36 (NCH₂); 104,26, 104,51, 104,77, 112,54, 112,76, 116,58, 116,64, 118,64, 125,08, 125,19, 127,84, 128,28, 128,36, 128,62, 128,69, 135,77, 139,04, 150,19, 150,26, 159,59, 162,11 (C_{Ar}); 168,83 (NCH); 172,11, 172,31, 173,77 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3072 (OH); 2959 (NH); 1671, 1613 (2x C=O); 1520 (C=N). Nustatyta, %: C 61,14; H 4,57; N 10,90. Apskaičiuota, C₁₉H₁₇F₂N₃O₃, %: C 61,12; H 4,59; N 11,25.

(Z)-N'-(4-chlorbenziliden)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (7c)



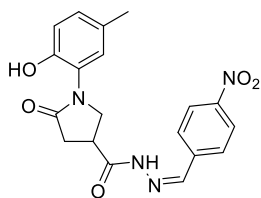
Išga 0,39 g (87%). Lyd. t. 246–247 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,59–2,81 (m, 2H, COCH₂); 3,71–4,04 (m, 2H, NCH₂); 4,06–4,17 (m, 1H, CH₂CH); 6,70–6,85 (m, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,04 (m, 2H, H_{Ar}); 7,40–7,57 (m, 2H, H_{Ar}); 7,63–7,82 (m, 2H, H_{Ar}); 8,01, 8,20 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,32 (2s, 1H, OH); 11,61, 11,67 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,93 (CH₃); 33,32, 34,11 (COCH₂); 36,19 (CH₂CH); 51,05, 51,42 (NCH₂); 116,59, 116,64, 125,09, 125,19, 127,85, 128,27, 128,36, 128,47, 128,61, 128,72, 128,93, 133,10, 134,30, 134,56, 142,28, 145,69, 150,18, 150,27 (C_{Ar}); 168,86 (NCH); 172,15, 172,34, 173,75 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3068 (OH); 2960 (NH); 1671 (2x C=O); 1520 (C=N). Nustatyta, %: C 60,73; H 4,76; N 11,00. Apskaičiuota, C₁₉H₁₈ClN₃O₃, %: C 61,38; H 4,88; N 11,30.

(Z)-N'-(4-brombenziliden)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (7d)



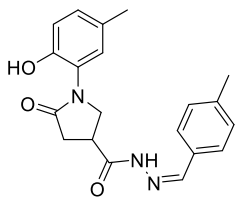
Išga 0,45 g (92%). Lyd. t. 244–245 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,59–2,81 (m, 2H, COCH₂); 3,73–4,03 (m, 2H, NCH₂); 4,05–4,17 (m, 1H, CH₂CH); 6,70–6,83 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,02 (m, 2H, H_{Ar}); 7,52–7,70 (m, 4H, H_{Ar}); 8,00, 8,18 (2s, 1H, NCH); 9,31, 9,33 (2s, 1H, OH); 11,61, 11,68 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,95 (CH₃); 33,32, 34,13 (COCH₂); 36,19 (CH₂CH); 51,06, 51,43 (NCH₂); 116,59, 116,65, 123,09, 123,23, 125,10, 125,19, 127,87, 128,29, 128,72, 128,97, 130,24, 131,86, 132,05, 133,45, 142,41, 145,80, 150,19, 150,28 (C_{Ar}); 168,89 (NCH); 172,17, 172,36, 173,77 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3078 (OH); 2964 (NH); 1671 (2x C=O); 1519 (C=N). Nustatyta, %: C 54,10; H 4,30; N 10,02. Apskaičiuota, C₁₉H₁₈BrN₃O₃, %: C 54,82; H 4,36; N 10,09.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-N'-(4-nitrobenziliden)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (7e)



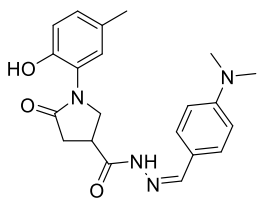
Išga 0,46 g (98%). Lyd. t. 261–262 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,60–2,88 (m, 2H, COCH₂); 3,72–4,07 (m, 2H, NCH₂); 4,10–4,23 (m, 1H, CH₂CH); 6,70–6,86 (m, 1H, H_{Ar}); 6,87–7,09 (m, 2H, H_{Ar}); 7,82–8,02 (m, 2H, H_{Ar}); 8,06–8,44 (m, 3H, NCH, H_{Ar}); 9,35 (s, 1H, OH); 11,84, 11,91 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 20,39 (CH₃); 33,73, 34,61 (COCH₂); 36,67 (CH₂CH); 51,40, 51,81 (NCH₂); 117,07, 124,53, 125,51, 125,59, 128,24, 128,31, 128,49, 128,77, 128,84, 129,10, 129,18, 140,90, 140,95, 141,71, 145,02, 148,17, 148,35, 150,63, 150,72 (C_{Ar}); 169,69 (NCH); 172,56, 172,74, 174,54 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3083 (OH); 2968 (NH); 1671 (2x C=O); 1520 (C=N); 1342, 1317 (NO₂). Nustatyta, %: C 59,53; H 4,63; N 14,13. Apskaičiuota, C₁₉H₁₈N₄O₅, %: C 59,68; H 4,75; N 14,65.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-N'-(4-metilbenziliden)-5-okso-pirolidin-3-karbohidrazidas (7f)



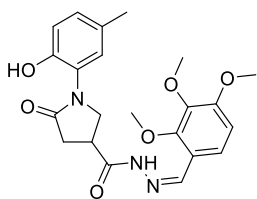
Išėiga 0,37 g (87%). Lyd. t. 263–264 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, NCCHCCH₃); 2,32 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,82 (m, 2H, COCH₂); 3,70–4,03 (m, 2H, NCH₂); 4,05–4,21 (m, 1H, CH₂CH); 6,70–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,00 (m, 2H, H_{Ar}); 7,10–7,30 (m, 2H, H_{Ar}); 7,46–7,64 (m, 2H, H_{Ar}); 7,99, 8,17 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,32 (2s, 1H, OH); 11,49, 11,54 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,93 (NCCHCCH₃); 21,02 (CH₃); 33,33, 34,12 (COCH₂); 36,19 (CH₂CH); 51,11, 51,47 (NCH₂); 116,64, 125,11, 125,21, 126,79, 127,08, 127,84, 128,27, 128,36, 128,61, 128,69, 129,46, 131,44, 139,67, 139,95, 147,04, 150,20, 150,27 (C_{Ar}); 168,65 (NCH); 172,19, 172,39, 173,57 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3083 (OH); 2962 (NH); 1671 (2x C=O); 1520 (C=N). Nustatyta, %: C 67,46; H 5,87; N 11,83. Apskaičiuota, C₂₀H₂₁N₃O₃, %: C 68,36; H 6,02; N 11,96.

(Z)-N'-[4-(dimetilamino)benziliden]-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-pirolidin-3-karbohidrazidas (7g)



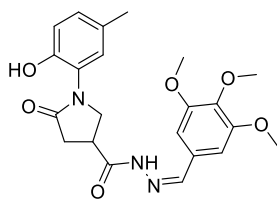
Išėiga 0,38 g (83%). Lyd. t. 262–263 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,83 (m, 2H, COCH₂); 2,95, 2,96 (2s, 6H, N(CH₃)₂); 3,66–4,01 (m, 2H, NCH₂); 4,02–4,12 (m, 1H, CH₂CH); 6,73 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H, H_{Ar}); 6,76–7,04 (m, 3H, H_{Ar}); 7,34–7,59 (m, 2H, H_{Ar}); 7,89, 8,06 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,32 (2s, 1H, OH); 11,27, 11,31 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,93 (CH₃); 33,31, 34,18 (COCH₂); 36,18 (CH₂CH); 51,12, 51,58 (NCH₂); 53,25, 62,03 (N(CH₃)₂); 111,77, 111,84, 115,58, 116,65, 121,35, 121,51, 125,12, 125,24, 127,85, 128,06, 128,26, 128,36, 128,36, 128,43, 128,60, 128,69, 144,36, 147,84, 150,20, 150,28, 151,36, 151,54 (C_{Ar}); 168,17 (NCH); 172,27, 172,49, 173,06 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3099 (OH); 2924 (NH); 1672, 1660 (2x C=O); 1520 (C=N). Nustatyta, %: C 65,52; H 6,28; N 14,16. Apskaičiuota, C₂₁H₂₄N₄O₃, %: C 66,30; H 6,36; N 14,73.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-N'-(2,3,4-trimetoksibenziliden)pirolidin-3-karbohidrazidas (7h)



Išėiga 0,45 g (88%). Lyd. t. 226–227 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,81 (m, 2H, COCH₂); 3,68–3,84 (m, 9H, 3OCH₃); 3,86–4,02 (m, 2H, NCH₂); 4,03–4,15 (m, 1H, CH₂CH); 6,71–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,03 (m, 3H, H_{Ar}); 7,46–7,62 (m, 1H, H_{Ar}); 8,21, 8,37 (2s, 1H, NCH); 9,30, 9,32 (2s, 1H, OH); 11,42, 11,55 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,93 (CH₃); 33,29, 34,19 (COCH₂); 36,21 (CH₂CH); 51,17, 51,49 (NCH₂); 56,00, 60,48, 61,73 (3x OCH₃); 108,74, 108,77, 116,60, 116,65, 120,10, 120,31, 120,37, 120,53, 125,12, 125,22, 127,86, 128,28, 128,34, 128,62, 128,69, 139,45, 141,53, 141,60, 142,50, 150,20, 150,27, 152,47, 152,57, 154,98, 155,21 (C_{Ar}); 168,43 (NCH); 172,21, 172,42, 173,34 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3059 (OH); 2943 (NH); 1700 (2x C=O); 1519 (C=N); 1091 (3x COCH₃). Nustatyta, %: C 60,55; H 5,98; N 9,50. Apskaičiuota, C₂₂H₂₅N₃O₆, %: C 61,82; H 5,90; N 9,83.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N'*-(3,4,5-trimetoksibenziliden)pirolidin-3-karbohidrazidas (7i)

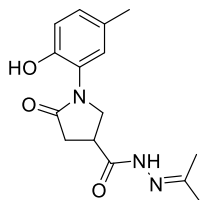


Išėiga 0,39 g (75%). Lyd. t. 185–186 °C (iš metanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,18 (s, 3H, CH₃); 2,58–2,86 (m, 2H, COCH₂); 3,69, 3,81 (dd, *J* = 7,5 Hz, 9H, 3x OCH₃); 3,72–4,01 (m, 2H, NCH₂, persidengia su 3x OCH₃); 4,03–4,17 (m, 1H, CH₂CH); 6,79 (t, *J* = 6,7 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,06 (m, 4H, H_{Ar}); 7,93, 8,13 (2s, 1H, NCH); 9,28, 9,33 (2s, 1H, OH); 11,43, 11,58 (s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,91 (CH₃); 33,19, 34,22 (COCH₂); 36,17 (CH₂CH); 51,28, 51,50 (NCH₂); 55,91, 55,95, 60,11 (3x OCH₃); 104,03, 104,32, 116,57, 116,65, 125,10, 125,17, 127,86, 128,37, 128,67, 128,69, 129,65, 129,68, 139,02, 139,23, 143,27, 147,27, 147,00, 150,27, 153,19 (C_{Ar}); 168,77 (NCH); 172,18, 172,46, 173,68 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3181 (OH); 2940 (NH); 1663 (2x C=O); 1505 (C=N); 1127 (3x COCH₃). Nustatyta, %: C 61,57; H 5,77; N 9,67. Apskaičiuota, C₂₂H₂₅N₃O₆, %: C 61,82; H 5,90; N 9,83.

Bendrasis 8 a, b junginių gavimo būdas

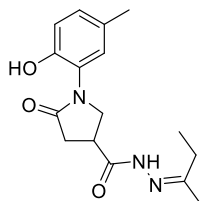
Pradinis junginys **4** (0,30 g, 0,0012 mol) ištirpinamas acetone (6 ml) **8a** sintezės atveju arba etilmetilketone (6 ml) **8b** sintezės atveju. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 4 valandas. Reakcijai pasibaigus, mišinys atvėsinaamas ir susidarę junginių **8 a, b** kristalai nufiltruojami, gryninami perkristalinant iš 2-propanolio ir vandens mišinio (1:1), plaunami heksanu, džiovinami kambario temperatūroje.

(Z)-1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N'*-(propan-2-iliden)pirolidin-3-karbohidrazidas (8a)



Išėiga 0,30 g (86%). Lyd. t. 199–200 °C (iš 2-propanolio ir vandens mišinio (1:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 1,86, 1,87 (2s, 3H, NC(CH₃)₂); 1,91, 1,93 (2s, 3H, NC(CH₃)₂); 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,53–2,76 (m, 2H, COCH₂); 3,40–4,04 (m, 3H, NCH₂, CH₂CH); 6,72–6,83 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,00 (m, 2H, H_{Ar}); 9,26, 9,30 (2s, 1H, OH); 10,20, 10,29 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 17,11, 17,63 (NC(CH₃)₂); 19,93 (CH₃); 24,98, 25,25 (NC(CH₃)₂); 34,26, 34,38 (COCH₂); 35,76 (CH₂CH); 51,31, 51,80 (NCH₂); 116,57, 116,63, 125,15, 125,25, 127,85, 128,24, 128,35, 128,61, 128,67, 150,21, 150,28, 151,23, 156,34 (C_{Ar}); 168,74 (NC); 172,37, 172,50, 173,82 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3184 (OH); 3051 (NH); 1682, 1660 (2x C=O); 1522 (C=N). Nustatyta, %: C 63,10; H 6,48; N 14,50. Apskaičiuota, C₁₅H₁₉N₃O₃, %: C 62,27; H 6,62; N 14,52.

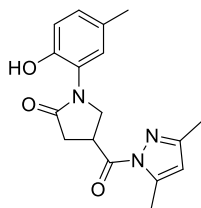
(Z)-*N'*-(butan-2-il-iden)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (8b)



Išėiga 0,28 g (77%). Lyd. t. 172–173 °C (iš 2-propanolio ir vandens mišinio (1:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 1,02 (t, *J* = 6,5 Hz, 3H, CH₂CH₃); 1,84, 1,86 (2s, 3H, NCCH₃); 2,09–2,36 (m, 5H, CH₃, CH₂CH₃); 2,53–2,81 (m, 2H, COCH₂); 3,40–4,04 (m, 3H, NCH₂, CH₂CH); 6,72–6,84 (m, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,03 (m, 2H, H_{Ar}); 9,27, 9,31 (2s, 1H, OH); 10,17, 10,24, 10,32, 10,40 (4s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 10,35, 10,77 (CH₂CH₃); 16,05, 16,11 (NCCH₃); 19,92 (CH₃); 31,43, 31,56 (CH₂CH₃); 33,25, 34,42 (COCH₂); 35,81 (CH₂CH); 51,19, 51,79 (NCH₂); 116,57, 116,62, 125,16, 125,23, 127,84, 128,26, 128,35, 128,60, 128,66,

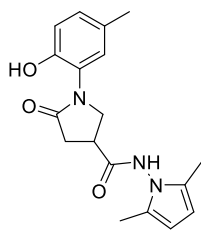
150,21, 150,27, 154,48, 155,35, 159,82, 160,16 (C_{Ar}); 168,80 (NC); 172,37, 172,51, 173,91 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3200 (OH); 3055 (NH); 1682, 1659 (2x C=O); 1522 (C=N). Nustatyta, %: C 63,18; H 6,71; N 13,41. Apskaičiuota, $C_{16}H_{21}N_3O_3$, %: C 63,35; H 6,98; N 13,85.

4-(3,5-Dimetil-1*H*-pirazol-1-karbonil)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)pirolidin-2-onas (9)



Pradinis junginys **4** (0,50 g, 0,002 mol) ištirpinamas šildant 2-propanolyje (16 ml). Į atvėsusį tirpalą sulašinamas 2,4-pentandionas (0,24 g, 0,0024 mol). Įlašinamas katalizinis kiekis 37% HCl. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 2 valandas. Reakcijos mišinys atvėsinaamas. Susidarę junginio **9** kristalai nufiltruojami, gryninami perkristalinant juos iš 1,4-dioksano ir džiovinami kambario temperatūroje. Išeiga 0,29 g (46%). Lyd. t. 170–171 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,19 (s, 6H, 2x CH₃); 2,50 (s, 3H, CH₃, persidengia su DMSO- d_6); 2,65–2,85 (m, 2H, COCH₂); 3,75–4,12 (m, 2H, NCH₂); 4,42–4,55 (m, 1H, CH₂CH); 6,22 (s, 1H, H_{Pirazol}); 6,79 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,01 (m, 2H, H_{Ar}); 9,32 (s, 1H, OH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 13,54, 14,07 (2x CH₃ pirazolo); 19,91 (CH₃); 33,47 (COCH₂); 36,69 (CH₂CH); 51,22 (NCH₂); 111,50, 116,57, 124,97, 127,82, 128,39, 128,70, 143,81, 150,26, 152,06 (C_{Ar}); 171,80, 172,61 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 2975 (OH); 1729, 1664 (2x C=O); 1512 (C=N). Nustatyta, %: C 64,31; H 5,90; N 12,83. Apskaičiuota, $C_{17}H_{19}N_3O_3$, %: C 65,16; H 6,11; N 13,41.

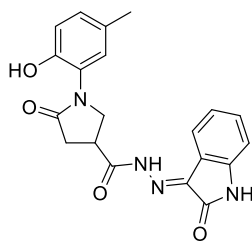
N-(2,5-dimetil-1*H*-pirol-1-il)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-1,2,3,4-tetrahidropirolidin-3-karboksamidas (10)



Pradinis junginys **4** (0,55 g, 0,0022 mol) ištirpinamas šildant 2-propanolyje (22 ml). Į tirpalą sulašinamas 2,5-heksandionas (0,44 g, 0,0039 mol). Įlašinamas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 4 valandas. Reakcijos mišinys atvėsinaamas. Susidarę junginio **10** kristalai nufiltruojami, gryninami perkristalinant juos iš 1,4-dioksano ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išeiga 0,34 g (48%). Lyd. t. 208–209 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 1,97, 2,00 (2s, 6H, 2x CH₃); 2,19 (s, 3H, NCCHCCH₃); 2,58–2,78 (m, 2H, COCH₂); 3,41–3,58 (m, 1H, CH₂CH); 3,73–4,06 (m, 2H, NCH₂); 5,65 (s, 2H, H_{Ar} pirolo); 6,80 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,87–7,02 (m, 2H, H_{Ar}); 9,35 (s, 1H, OH); 10,86 (s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 10,92, 10,96 (2x CH₃ pirolo); 19,93 (CH₃); 33,82 (COCH₂); 35,28 (CH₂CH); 51,41 (NCH₂); 103,08, 116,55, 124,99, 126,74, 126,76, 127,85, 128,46, 128,75, 150,32 (C_{Ar}); 171,89, 171,99 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3265 (OH); 2979 (NH); 1667, 1608 (2x C=O). Nustatyta, %: C 65,83; H 6,50; N 12,75. Apskaičiuota, $C_{18}H_{21}N_3O_3$, %: C 66,04; H 6,47; N 12,84.

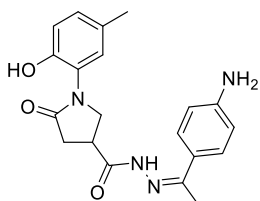
1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N'*-(2-oksoindolin-3-il-iden)pirolidin-3-karbohidrazidas (11)



Pradinis junginys **4** (0,50 g, 0,002 mol) šildant ištirpinamas metanolyje (10 ml). Į atvėsintą tirpalą suberiamas izatinas (0,44 g, 0,003 mol). Įlašinamas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties ir reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 3 valandas. Reakcijos mišinys atvėsinaamas ir susidarę kristalai nufiltruojami. Gauti kristalai gryninami juos 3 kartus perkristalinant iš 2-propanolio, džiovinami kambario temperatūroje.

Išėiga 0,36 g (48%). Lyd. t. 210–211 °C (iš 2-propanolio). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,62–2,87 (m, 2H, COCH₂); 3,84–4,40 (m, 3H, NCH₂, CH₂CH); 6,79 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,84–6,99 (m, 3H, H_{Ar}); 7,05 (t, *J* = 7,0 Hz, 1H, H_{Ar}); 7,38 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, H_{Ar}); 8,12 (s, 1H, H_{Ar}); 9,33 (s, 1H, OH); 10,81, 11,33 (2s, 2H, 2x NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,94 (CH₃); 33,51 (COCH₂); 34,71 (CH₂CH); 51,27 (NCH₂); 110,63, 115,23, 116,62, 121,71, 125,12, 126,28, 127,87, 128,39, 128,72, 132,67, 143,84, 150,31 (C_{Ar}); 164,60 (NC); 172,11 (3x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 3139 (OH); 3086 (2x NH); 1732, 1717, 1691 (3x C=O); 1510 (C=N). Nustatyta, %: C 59,99; H 4,57; N 14,31. Apskaičiuota, C₂₀H₁₈N₄O₄, %: C 63,49; H, 4,80; N 14,81.

(Z)-N'-[1-(4-aminofenil)etiliden)]-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidas (12)



(A) Pradinis junginys **4** (0,50 g, 0,002 mol) ištirpinamas šildant 1,4-dioksane (15 ml). Į atvėsintą tirpalą suberiamas 4-aminoacetofenonas (0,67 g, 0,0050 mol), sulašinamas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 24 valandas. Praėjus 24 valandoms, iš reakcijos mišinio nudistiliuojama apie 10 ml tirpiklio ir likutis atvėsინamas. Susidarę kristalai nufiltruojami, plaunami heksanu ir džiovinami kambario temperatūroje. Gautas produktas toliau gryninamas jį 2–5 minutes virinant vandenyje, o susidariusią dervinio pobūdžio medžiagą karštą nufiltruojant. Vykdomas perkristalinimas. Pirma ant filtro esanti dervinga medžiaga šildant ištirpinama 2-propanolyje, o po to tirpalas atvėsინamas. 2-Propanolyje susidarę junginio **12** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje.

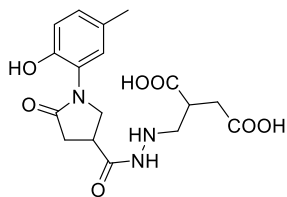
(B) Pradinis junginys **4** (0,30 g, 0,0012 mol) ištirpinamas šildant 2-propanolyje (14 ml). Į atvėsintą tirpalą suberiamas 4-aminoacetofenonas (0,18 g, 0,0013 mol), sulašinamas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 20 valandų. Reakcijos mišinys atvėsინamas. Susidarę junginio **12** kristalai nufiltruojami, plaunami dietileteriu ir džiovinami kambario temperatūroje.

(C) Pradinis junginys **4** (0,30 g, 0,0012 mol) ištirpinamas šildant vandenyje (10 ml). Į atvėsintą tirpalą suberiamas 4-aminoacetofenonas (0,18 g, 0,0013 mol), sulašinamas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 30 valandų. Reakcijos mišinys atvėsინamas. Nudekantuojamas tirpalas nuo susidariusios dervinio pobūdžio medžiagos. Vykdomas perkristalinimas iš 2:1 vandens ir 2-propanolio mišinio. Pirmiausia gauta dervinio pobūdžio medžiaga ištirpinama šiame mišinyje, tada pavirinama 2–5 minutes ir karštas tirpalas nufiltruojamas. Filtratui atvėsinus susidariusi dervinio pobūdžio medžiaga atskiriama nuo tirpalo jį nudekantuojant. Perkristalinimas pakartojamas su kitu tirpikliu – 2-propanoliu. Atšaldžius gautą tirpalą, susidarę junginio **12** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išėiga 0,15 g (20%, **A**). Lyd. t. 178–179 °C (iš 2-propanolio). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): (Z/E izomerų mišinys 65/35) 2,08–2,25 (m, 6H, 2x CH₃); 2,58–2,82 (m, 2H, COCH₂); 3,45–4,23 (m, 3H, NCH₂, CH₂CH); 5,43, 5,46 (2s, 2H, NH₂); 6,56 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H, H_{Ar}); 6,79 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,85–7,04 (m, 2H, H_{Ar}); 7,51 (t, *J* = 8,6 Hz, 2H, H_{Ar}); 9,29, 9,33 (2s, 1H, OH); 10,34, 10,47 (2s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 13,24, 13,81 (NCCH₃); 19,94 (CH₃); 34,42, 34,53 (COCH₂); 35,99 (CH₂CH); 51,32, 51,88 (NCH₂); 112,46, 113,13, 113,28, 116,58, 116,66, 125,05, 125,18, 125,24, 127,21, 127,62, 127,86, 128,26, 128,38, 128,61, 128,68, 130,58, 149,00, 149,98, 150,03, 150,20, 150,24, 150,29, 153,63, 153,79 (C_{Ar}); 168,87 (NC); 172,42, 172,58, 174,05

(2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3064 (OH); 2920 (2x NH); 1669 (2x C=O); 1519 (C=N). Nustatyta, %: C 64,96; H 5,85; N 14,97. Apskaičiuota, $\text{C}_{20}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_3$, %: C 65,56; H 6,05; N 15,29.

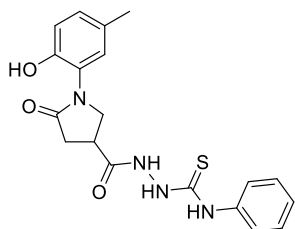
2-{[2-[1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okspiroolidin-3-karbonil]hidrazinil]metil}butano dirūgštis (13)



Pradinis junginys **4** (0,50 g, 0,002 mol) šildant ištirpinamas vandenyje (5 ml). Į atvėsintą tirpalą suberiama itakono rūgštis (0,39 g, 0,003 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 4 valandas. Reakcijai pasibaigus, iš reakcijos mišinio iki sausumo nudistiliuojamas vanduo. Susidarę junginio **13** kristalai plaunami heksanu, gryninami perkristalinant iš 1,4-dioksano ir vandens mišinio (2:1), po to nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išeiga 0,66 g (91%). Lyd. t. 88–89 °C (perkristalinant iš 1,4-dioksano ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,18 (s, 3H, CH₃); 2,54–2,73, 3,06–3,24 (2m, 4H, COCH₂, CH₂NH); 3,46–4,04 (m, 6H, NCH₂, CH₂CHCOOH, CH₂CH); 5,69 (s, 1H, NH); 6,79 (d, J = 8,6 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,93 (s, 2H, H_{Ar}); 9,30 (pl. s, 1H, OH); 10,32 (s, 1H, NH); 12,54 (pl. s, 2H, 2x COOH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,96 (CH₃); 31,30, 33,84, 34,13 (CH₂CHCOOH, CH₂NH); 36,23 (CH₂CO); 37,63 (CH₂CH); 51,48 (NCH₂); 116,62, 125,05, 127,24, 128,37, 128,76, 150,29 (C_{Ar}); 170,91, 171,44, 172,05, 174,07 (4x CO). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3227 (3x OH); 3023 (2x NH); 1718, 1671 (4x C=O). Nustatyta, **MS** (m/z): [M+H]⁺=380,14. Apskaičiuota, $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$, **MS** (m/z): [M+H]⁺=380,42. Nustatyta, %: C 56,83; H 5,65; N 11,45. Apskaičiuota, $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$, %: C 53,82; H 5,58; N 11,08.

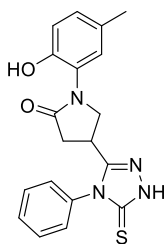
2-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okspiroolidin-3-karbonil]-N-fenilhidrazin-1-karbotioamidas (14)



Pradinis junginys **4** (0,55 g, 0,0022 mol) ištirpinamas šildant metanolyje (10 ml). Į tirpalą sulašinamas fenilo izotiocianatas (0,26 g, 0,0022 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 4 valandas. Reakcijai pasibaigus, mišinys atvėsinaamas ir skiedžiamas su metanoliu (20 ml). Iš lėto maišomas mišinys ir lašinamas vanduo. Susidariusi dervinio pobūdžio medžiaga atskiriama, ištirpinama metanolyje ir vėl maišant į tirpalą lašinamas vanduo. Mišinys atšaldomas. Susidarę junginio **14** kristalai nufiltruojami, plaunami metanoliu ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninami perkristalinant iš 1,4-dioksano.

Išeiga 0,22 g (69%). Lyd. t. 165–166 °C (iš 1,4-dioksano). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,54–2,79 (m, 2H, COCH₂); 3,50–4,19 (m, 3H, CH₂CH, NCH₂); 6,80 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,86–6,73 (m, 2H, H_{Ar}); 7,17 (t, J = 6,9 Hz, 1H, H_{Ar}); 7,34 (t, J = 7,4 Hz, 2H, H_{Ar}); 7,38–7,51 (m, 2H, H_{Ar}); 9,31 (s, 1H, OH); 9,58, 9,86, 10,17 (3s, 3H, 3x NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,97 (CH₃); 34,07 (COCH₂); 35,44 (CH₂CH); 48,65, 51,35 (NCH₂); 116,63, 125,14, 126,07, 126,26, 127,91, 128,20, 128,29, 128,35, 128,73, 139,08, 150,26 (C_{Ar}); 172,24 (2x CO); 181,04 (CS). **IR (KBr)**, ν , cm^{-1} : 3470 (OH); 3224 (3x NH); 1664, 1622 (2x C=O); 1194 (C=S). Nustatyta, %: C 58,23; H 5,32; N 14,32. Apskaičiuota, $\text{C}_{19}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$, %: C 59,36; H 5,24; N 14,57.

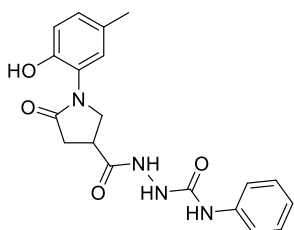
1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-4-(4-fenil-5-tiokso-4,5-dihidro-1H-1,2,4-triazol-3-il)pirolidin-2-onas (15)



Pradinis junginys **15** (0,45 g, 0,0012 mol) šildant ištirpinamas 4% NaOH tirpale (11 ml). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 3 valandas. Reakcijos mišinys atvėsinaamas ir šaldant ledo vonelėje neutralinamas lašinant ledinę acto rūgštį iki pH 6. Susidarę junginio **15** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninami perkristalinant iš 2-propanolio.

Išieiga 0,36 g (83%). Lyd. t. 261–262 °C (iš 2-propanolio). ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 2,16 (s, 3H, CH₃); 2,35–2,47 (m, 2H, COCH₂); 3,51–3,98 (m, 3H, CH₂CH, NCH₂); 6,75 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,81–6,99 (m, 2H, H_{Ar}); 7,20–7,70 (m, 5H, H_{Ar}); 9,51 (pl. s, 1H, OH); 13,41 (pl. s, 1H, NH). ¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,90 (CH₃); 29,03 (COCH₂); 34,59 (CH₂CH); 51,39 (NCH₂); 116,54, 124,73, 126,17, 127,68, 128,38, 128,56, 128,76, 129,55, 129,63, 133,77, 150,33, 152,72 (C_{Ar}); 168,38 (NC); 171,45 (CO); 182,99 (CS). IR (KBr), ν, cm⁻¹: 3139 (OH); 2898 (NH); 1667 (C=O); 1519 (C=N); 1271 (C=S). Nustatyta, %: C 62,39; H 4,97; N 14,98. Apskaičiuota, C₁₉H₁₈N₄O₂S, %: C 62,28; H 4,95; N 15,29.

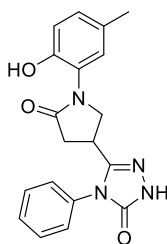
2-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-N-fenilhidrazin-1-karboksamidas (16)



Pradinis junginys **4** (0,80 g, 0,0032 mol) ištirpinamas šildant metanolyje (12 ml). Į atvėsintą tirpalą sulašinamas benzenizocianatas (0,48 g, 0,004 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 6 valandas. Reakcijai pasibaigus nugarinama dalis tirpiklio. Tirpikliui nugaravus susidarę junginio **16** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninami perkristalinant iš 1,4-dioksano.

Išieiga 1,07 g (91%). Lyd. t. 98–99 °C (iš 1,4-dioksano). ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 2,19 (s, 3H, CH₃); 2,54–2,74 (m, 2H, COCH₂); 3,66–4,00 (m, 3H, CH₂CH, NCH₂); 6,80 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,86–7,02 (m, 3H, H_{Ar}); 7,16–7,31 (m, 2H, H_{Ar}); 7,44 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H, H_{Ar}); 8,11, 8,79, 9,91 (3s, 3H, 3x NH); 9,30 (s, 1H, OH). ¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 19,94 (CH₃); 34,07 (COCH₂); 35,18 (CH₂CH); 51,43, 51,63 (NCH₂); 116,61, 118,18, 118,51, 121,98, 122,38, 125,12, 127,88, 128,34, 128,69, 128,76, 139,16, 139,58, 148,33, 150,27, 154,02, 155,27 (C_{Ar}); 172,21, 172,61, 172,79 (3x CO). IR (KBr), ν, cm⁻¹: 3299 (OH); 3040 (NH); 1686, 1642, 1602 (3x C=O). Nustatyta, %: C 60,71; H 5,38; N 14,56. Apskaičiuota, C₁₉H₂₀N₄O₄, %: C 61,95; H 5,47; N 15,21.

5-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-il]-4-fenil-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-onas (17)

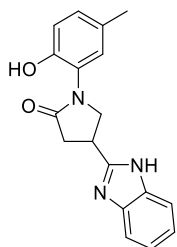


Pradinis junginys **16** (0,30 g, 0,00081 mol) šildant ištirpinamas 4% NaOH tirpale (7 ml). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 4 valandas. Reakcijai pasibaigus mišinys atvėsinaamas ir neutralinamas ledo vonelėje ledine acto rūgštimi iki pH 6. Susidarę kristalai kartu su tirpalu nuo susidariusios dervinio pobūdžio medžiagos atskiriami dekantuoiant. Junginio **17** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninami perkristalinant iš 2-propanolio.

Išieiga 0,11 g (38%). Lyd. t. 217–218 °C (iš 2-propanolio). ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 2,15 (s, 3H, CH₃); 2,35–2,48 (m, 2H, COCH₂); 3,48–3,83 (m, 3H, NCH₂, CH₂CH); 6,77 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,81–6,94 (m, 2H, H_{Ar}); 7,38–7,63 (m, 5H, H_{Ar}); 11,93 (pl. s, 2H, OH, NH). ¹³C BMR

(101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,90 (CH₃); 29,02 (COCH₂); 33,96 (CH₂CH); 51,00 (NCH₂); 116,58, 124,80, 127,30, 127,82, 128,34, 128,64, 128,96, 129,60, 132,77, 147,33, 150,63, 154,70 (C_{Ar}); 168,48 (NC); 171,57, 173,63 (2x CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3157 (NH, OH); 1697, 1663 (2x C=O); 1519 (C=N). Nustatyta, %: C 63,40; H 5,07; N 15,18. Apskaičiuota, C₁₉H₁₈N₄O₃, %: C 65,13; H 5,18; N 15,99.

4-(1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)pirolidin-2-onas (**18a**)

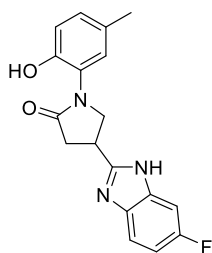


Pradinis junginys **2** (0,70 g, 0,003 mol) šildant ištirpinamas 2:1 H₂O:HCl mišinyje (14 ml). Į atvėsintą mišinį suberiamas *o*-fenilendiaminas (0,65 g, 0,006 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 24 valandas. Reakcijai pasibaigus mišinys atvėsinaamas ir neutralinamas ledo vonelėje lašinant 5% Na₂CO₃ tirpalą iki pH 8. Susidarę kristalai nufiltruojami ir plaunami 5% Na₂CO₃ tirpalu. Vykdomas persodinimas, gautus kristalus ištirpinant 5% NaOH tirpale (15 ml) ir nufiltruojant.

Filtratas rūgštinamas ledine acto rūgštimi iki pH 6 ir atšaldomas. Susidarę junginio **18a** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išieiga 0,35 g (45%). Lyd. t. 239–240 °C. **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,20 (s, 3H, CH₃); 2,64–2,77, 2,90–3,04 (2m, 2H, COCH₂); 3,93–4,04 (m, 2H, NCH₂); 4,06–4,15 (m, 1H, CH₂CH); 6,83 (m, J = 8,2 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,90–7,03 (m, 2H, H_{Ar}); 7,11–7,26 (m, 2H, H_{Ar}); 7,35–7,76 (pl. s, 2H, H_{Ar}); 10,19 (s, 1H, OH); 12,57 (s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,96 (CH₃); 32,12 (COCH₂); 36,72 (CH₂CH); 53,31 (NCH₂); 111,29, 116,80, 118,17, 121,57, 122,18, 124,89, 127,76, 128,58, 129,07, 134,19, 142,29, 150,93 (C_{Ar}); 172,29 (CO). **IR (KBr)**, ν , cm⁻¹: 3183 (OH); 3061 (NH); 1663 (C=O); 1506 (C=N). Nustatyta, %: C 67,94; H 5,34; N 13,62. Apskaičiuota, C₁₈H₁₇N₃O₂, %: C 70,34; H 5,58; N 13,67.

4-(6-Fluor-1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)pirolidin-2-onas (**18b**)



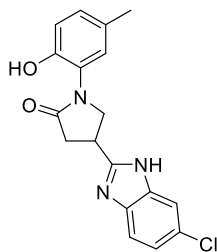
Pradinis junginys **2** (0,70 g, 0,003 mol) šildant ištirpinamas 2:1 H₂O:HCl mišinyje (15 ml). Į atvėsintą mišinį suberiamas 4-fluorbenzen-1,2-diaminas (0,76 g, 0,006 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 24 valandas. Reakcijai pasibaigus mišinys atvėsinaamas ir neutralinamas ledo vonelėje lašinant 5% Na₂CO₃ tirpalą iki pH 8. Susidarę kristalai nufiltruojami ir plaunami 5% Na₂CO₃ tirpalu. Vykdomas persodinimas, gautus kristalus ištirpinant 5% NaOH tirpale (30 ml) ir nufiltruojant.

Filtratas rūgštinamas ledine acto rūgštimi iki pH 6 ir atšaldomas. Susidarę kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Atliekamas pakartotinis persodinimas aukščiau aprašytomis sąlygomis, naudojant 5% NaOH tirpalą (15 ml). Po persodinimo gauti kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Vykdomas perkristalinimas, gautus kristalus ištirpinant, pavirinant 5 minutes 2-propanolyje ir karštą mišinį nufiltruojant. Tirpalas atvėsinaamas. Susidarę junginio **18b** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išieiga 0,10 g (11%). Lyd. t. 246–247 °C (iš 2-propanolio). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 2,20 (s, 3H, CH₃); 2,69–2,82, 2,88–3,03 (2m, 2H, COCH₂); 3,92–4,03 (m, 2H, NCH₂); 4,05–4,16 (m, 1H, CH₂CH); 6,82 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,90–7,12 (m, 3H, H_{Ar}); 7,34 (d, J = 9,2 Hz, 1H, H_{Ar}); 7,46–7,61 (m, 1H, H_{Ar}); 10,10 (pl. s, 1H, OH); 12,48 (s, 1H, NH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO- d_6) δ (m. d.): 19,93 (CH₃); 32,04 (COCH₂); 36,42 (CH₂CH); 53,17 (NCH₂); 109,61, 109,86, 116,71, 120,67, 124,94, 127,75, 128,46, 128,92, 150,69, 157,18, 157,72, 157,26 (C_{Ar}); 172,20 (CO). **IR**

(KBr), ν , cm^{-1} : 3137 (NH, OH); 1660 (C=O); 1507 (C=N). Nustatyta, %: C 57,26; H 4,33; N 11,05. Apskaičiuota, $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{FN}_3\text{O}_2$, %: C 66,45; H 4,96; N 12,92.

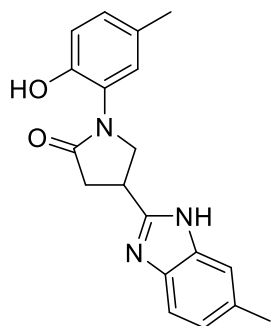
4-(6-Chlor-1H-benz[d]imidazol-2-il)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)pirolidin-2-onas (18c)



Pradinis junginys **2** (0,70 g, 0,003 mol) šildant ištirpinamas 2:1 $\text{H}_2\text{O}:\text{HCl}$ mišinyje (15 ml). Į atvėsintą mišinį suberiamas 4-chlorbenzen-1,2-diaminas (0,86 g, 0,006 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 24 valandas. Reakcijai pasibaigus mišinys atvėsinaamas ir neutralinamas ledo vonelėje lašinant 5% Na_2CO_3 tirpalą iki pH 8. Susidarę kristalai nufiltruojami ir plaunami 5% Na_2CO_3 tirpalu. Vykdomas persodinimas, gautus kristalus ištirpinant 5% NaOH tirpale (30 ml) ir nufiltruojant. Filtratas rūgštinamas ledine acto rūgštimi iki pH 6 ir atšaldomas. Susidarę kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Atliekamas pakartotinis persodinimas aukščiau aprašytomis sąlygomis, naudojant 5% NaOH tirpalą (15 ml). Po persodinimo gauti kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Vykdomas perkristalinimas, gautus kristalus ištirpinant, pavirinant 5 minutes minimaliame 2-propanolio kiekyje ir karštą tirpalą nufiltruojant. Tirpalas atvėsinaamas. Susidarę junginio **18c** kristalai nufiltruojami, plaunami heksanu ir džiovinami kambario temperatūroje.

Išga 0,16 g (15%). Lyd. t. 239–240 °C (iš 2-propanolio). ^1H BMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (m. d.): 2,20 (s, 3H, CH_3); 2,64–2,84, 2,88–3,05 (2m, 2H, COCH_2); 3,90–4,04 (m, 2H, NCH_2); 4,05–4,22 (m, 1H, CH_2CH); 6,81 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H_{Ar}); 6,88–7,04 (m, 2H, H_{Ar}); 7,18 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H_{Ar}); 7,53 (d, $J = 8,5$ Hz, 1H, H_{Ar}); 7,59 (s, 1H, H_{Ar}); 11,27 (pl. s, 2H, OH, NH). ^{13}C BMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (m. d.): 19,93 (CH_3); 32,11 (COCH_2); 36,46 (CH_2CH); 53,17 (NCH_2); 114,60, 115,84, 116,76, 121,83, 124,96, 125,98, 127,54, 128,47, 128,91, 137,11, 139,71, 150,95 (C_{Ar}); 172,18 (CO). IR (KBr), ν , cm^{-1} : 3115 (NH, OH); 1670 (C=O); 1521 (C=N). Nustatyta, %: C 62,18; H 4,92; N 11,68. Apskaičiuota, $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$, %: C 63,25; H 4,72; N 12,29.

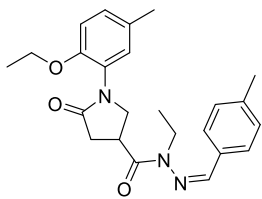
1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-4-(6-metil-1H-benz[d]imidazol-2-il)pirolidin-2-onas (18d)



Pradinis junginys **2** (1,50 g, 0,0064 mol) šildant ištirpinamas 2:1 $\text{H}_2\text{O}:\text{HCl}$ mišinyje (21 ml). Į atvėsintą mišinį suberiamas 4-metilbenzen-1,2-diaminas (1,56 g, 0,0128 mol). Reakcija vykdoma mišinio virimo temperatūroje 24 valandas. Reakcijai pasibaigus mišinys atvėsinaamas ir neutralinamas ledo vonelėje lašinant 5% Na_2CO_3 tirpalą iki pH 8. Susidarę junginio **18d** kristalai nufiltruojami, plaunami vandeniu ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninami perkristalinant juos iš 2-propanolio.

Išga 1,38 g (67%). Lyd. t. 247–248 °C (iš 2-propanolio). ^1H BMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (m. d.): 2,20 (s, 3H, CH_3); 2,47 (s, 3H, CH_3); 3,00 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, COCH_2); 4,09 (t, $J = 8,3$ Hz, 1H, NCH_2); 4,17 (t, $J = 8,9$ Hz, 1H, NCH_2); 4,24–4,40 (m, 1H, CH_2CH); 6,85 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H_{Ar}); 6,96 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, H_{Ar}); 7,03 (s, 1H, H_{Ar}); 7,28 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H_{Ar}); 7,53 (s, 1H, H_{Ar}); 7,62 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H, H_{Ar}); 12,43 (pl. s, 2H, OH, NH). ^{13}C BMR (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ (m. d.): 19,96 (NCCCHCCH_3); 21,15 (CH_3); 30,65 (COCH_2); 35,62 (CH_2CH); 52,38 (NCH_2); 113,46, 113,70, 116,65, 124,65, 126,22, 127,73, 128,53, 128,99, 130,77, 132,79, 134,58, 150,61 (C_{Ar}); 171,27 (CO). IR (KBr), ν , cm^{-1} : 3051 (OH, NH); 1654 (C=O); 1519 (C=N). Nustatyta, %: C 65,26; H 5,75; N 12,45. Apskaičiuota, $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$, %: C 71,01; H 5,96; N 13,08.

1-(2-Etoksi-5-metilfenil)-N-etil-N'-(4-metilbenziliden)-5-okspiroolidin-3-karbohidrazidas (19)



Pradinis junginys **7f** (0,25 g, 0,00071 mol) ištirpinamas DMF (9 ml). Į tirpalą suberiamas maltas KOH (0,12 g, 0,00213 mol) ir K₂CO₃ (0,12 g, 0,00213 mol). Mišinys maišomas 15 min kambario temperatūroje. Sulašinamas etiljodidas (0,80 g, 0,00213 mol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 4 valandas.

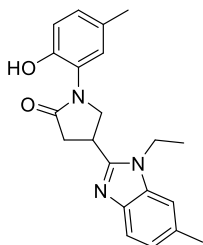
Pasibaigus reakcijai iš mišinio nufiltruojamos neorganinės druskos ir po to iš filtrato nudistiliuojamas etiljodido perteklius. Atvėsintas likutis skiedžiamas distiliuotu vandeniu (10 ml). Susidarę junginio **19** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Gryninimui naudojamas perkristalinimas iš 2-propanolio ir vandens mišinio (2:1).

Išeiga 0,24 g (97%). Lyd. t. 130–131 °C (iš 2-propanolio ir vandens mišinio (2:1)). **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 1,09 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H, CH₂CH₃); 1,27 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H, CH₂CH₃); 2,22, 2,33 (2s, 6H, 2x CH₃); 2,58–2,86 (m, 2H, COCH₂); 3,66–4,14 (m, 6H, NCH₂, 2x CH₂CH₃); 3,18–4,32 (m, 1H, CH₂CH); 6,94 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,99–7,10 (m, 2H, H_{Ar}); 7,25 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H_{Ar}); 7,67 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H_{Ar}); 8,04 (1s, 1H, NCH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 10,94, 14,66 (2x CH₂CH₃); 19,93, 21,00 (2x CH₃); 33,36, 34,52, 35,06, 35,62 (CH₂CH, COCH₂, 2x CH₂CH₃); 51,75 (NCH₂); 113,40, 126,38, 126,77, 127,77, 128,60, 129,09, 129,30, 129,38, 132,17, 139,42, 140,17, 140,36 (C_{Ar}); 151,55 (NCH); 172,39, 172,64 (2x CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 1690, 1656 (2x C=O); 1513 (C=N). Nustatyta, %: C 70,27; H 7,11; N 10,40. Apskaičiuota, C₂₄H₂₉N₃O₃, %: C 70,74; H 7,17; N 10,31.

Bendrasis 20 a, b junginių gavimo būdas

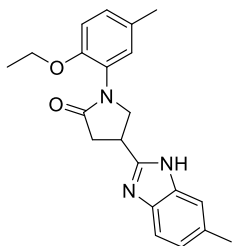
Pradinis junginys **16d** (0,25 g, 0,00078 mol) ištirpinamas DMF (6 ml). Į tirpalą suberiamas maltas KOH (0,09 g, 0,0016 mol) ir K₂CO₃ (0,08 g, 0,00055 mol). Mišinys maišomas 15 min kambario temperatūroje. Sulašinamas etiljodidas (0,37 g, 0,00234 mol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 20 valandų. Pasibaigus reakcijai iš mišinio nufiltruojamos neorganinės druskos, o po to iš filtrato nudistiliuojamas etiljodido perteklius. Atvėsintas likutis skiedžiamas distiliuotu vandeniu (10 ml). Susidarę kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Kristalai gryninami kolonėlinės chromatografijos būdu, pirmiausia juos ištirpinant acetone (7 ml). Kaip sorbentas naudojamas silikagelis, o nešiklis – 2:1 acetono ir heksano mišinys. Junginio **20a** R_f = 0,625, o junginio **20b** R_f = 0,400. Surinktos tikslinių junginių **20a** ir **20b** frakcijos atskirai nudistiliuojamos iki sausumo. Gauti kristalai džiovinami džiovyklėje 60,0 °C temperatūroje.

4-(1-Etil-6-metil-1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)pirolidin-2-onas (20a)



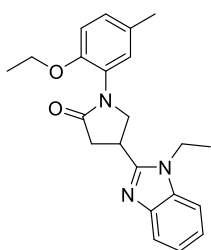
Išeiga 0,032 g (12%). Lyd. t. 134–135 °C. **¹H BMR** (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 1,33 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H, CH₂CH₃); 2,21 (s, 3H, CONCCHCCH₃); 2,36–3,46 (m, 3H, CH₃); 2,53–3,11 (m, 2H, COCH₂); 3,91–4,17 (m, 4H, NCH₂, CH₂CH₃); 4,19–4,35 (m, 1H, CH₂CH); 6,83 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H, H_{Ar}); 6,92–7,12 (m, 3H, H_{Ar}); 7,31–7,51 (m, 2H, H_{Ar}); 10,64 (s, 1H, OH). **¹³C BMR** (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 15,12 (CH₂CH₃); 19,92, 21,12 (2x CH₃); 36,01, 36,93, 37,77 (CH₂CH, COCH₂, CH₂CH₃); 53,28 (NCH₂); 109,61, 110,16, 113,47, 114,73, 116,79, 117,85, 118,43, 118,64, 127,60, 128,61, 129,03, 134,71, 151,32, 154,43, 155,11, 155,55 (C_{Ar}); 172,03 (CO). **IR (KBr)**, ν, cm⁻¹: 2977 (OH); 1698 (C=O); 1509 (C=N). Nustatyta, %: C 69,84; H 6,88; N 11,05. Apskaičiuota, C₂₁H₂₃N₃O₂, %: C 72,18; H 6,63; N 12,03.

1-(2-Etoksi-5-metilfenil)-4-(6-metil-1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)pirolidin-2-onas (20b)



Išauga 0,033 g (12%). Lyd. t. 114–115 °C. ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 1,12–1,27 (m, 3H, CH₂CH₃); 2,21 (s, 3H, CONCCHCCH₃); 2,40 (s, 3H, CH₃); 2,81–3,02 (m, 2H, COCH₂); 3,90–4,03 (m, 4H, NCH₂, CH₂CH₃); 4,09 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H, CH₂CH); 6,96 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, H_{Ar}); 7,01–7,10 (m, 2H, H_{Ar}); 7,30 (s, 1H, H_{Ar}); 7,40 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H_{Ar}); 12,28 (s, 1H, NH). ¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 14,58 (CH₂CH₃); 19,95, 21,27 (2x CH₃); 29,61 (CH₂CH₃); 31,96 (COCH₂); 35,64 (CH₂CH); 53,48 (NCH₂); 113,43, 116,79, 122,89, 124,82, 126,88, 127,65, 128,60, 128,99, 129,28, 130,63, 151,57, 154,67 (C_{Ar}); 172,29 (CO). IR (KBr), ν, cm⁻¹: 2922 (NH); 1682 (C=O); 1511 (C=N). Nustatyta, %: C 70,64; H 6,98; N 11,12. Apskaičiuota, C₂₁H₂₃N₃O₂, %: C 72,18; H 6,63; N 12,03.

1-(2-Etoksi-5-metilfenil)-4-(1-etil-1*H*-benz[*d*]imidazol-2-il)pirolidin-2-onas (21)

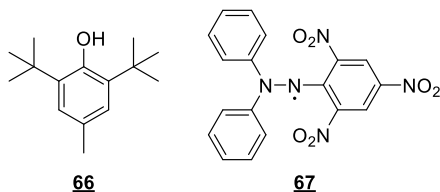


Pradinis junginys **5** (0,15 g, 0,0005 mol) ištirpinamas DMF (3 ml). Į tirpalą suberiamas maltas KOH (0,06 g, 0,00105 mol) ir K₂CO₃ (0,05 g, 0,00035 mol). Mišinys maišomas 15 min kambario temperatūroje. Sulašinamas etiljodidas (0,47 g, 0,003 mol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje 6 valandas. Pasibaigus reakcijai iš mišinio nufiltruojamos neorganinės druskos, iš filtrato nudistiliuojamas etiljodido perteklius. Atvėsintas likutis skiedžiamas distiliuotu vandeniu (10 ml) ir šaldomas ledo vonelėje. Susidarę junginio **21** kristalai nufiltruojami ir džiovinami kambario temperatūroje. Grynimui naudojamas perkristalinimas iš 2-propanolio ir vandens mišinio (2:1).

Išauga 0,061 g (34%). Lyd. t. 210–211 °C (iš 2-propanolio ir vandens mišinio (2:1)). ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 1,19 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H, CH₂CH₃); 1,36 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H, CH₂CH₃); 2,24 (s, 3H, NCCHCCH₃); 2,91–3,08 (m, 2H, COCH₂); 3,80–4,44 (m, 7H, NCH₂, 2x CH₂CH₃, CH₂CH); 6,81–7,12 (m, 3H, H_{Ar}); 7,21–7,39 (m, 2H, H_{Ar}); 7,57–7,74 (m, 2H, H_{Ar}). ¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ (m. d.): 14,53, 14,57 (2x CH₂CH₃); 19,93 (CH₃); 29,46, 29,74 (2x CH₂CH₃); 35,77 (COCH₂); 36,60 (CH₂CH); 53,01 (NCH₂); 110,76, 113,42, 116,71, 122,61, 122,85, 123,55, 124,67, 126,68, 128,69, 128,77, 129,00, 129,27, 151,57, 154,30 (C_{Ar}); 171,78 (CO). IR (KBr), ν, cm⁻¹: 1692 (C=O); 1510 (C=N). Nustatyta, %: C 71,03; H 6,74; N 10,86. Apskaičiuota, C₂₂H₂₅N₃O₂, %: C 72,70; H 6,93; N 11,56.

2.3. Antioksidacinio aktyvumo nustatymas

Reaktyviųjų deguonies rūšių (ROS) ir kitų laisvųjų radikalų surišančioji geba buvo nustatyta DPPH metodu, aprašytu literatūroje [116]. Paruošiami 20 mM tiriamųjų junginių DMSO tirpalai ir kontrolinis 20 mM 2,6-di-*tret*-butil-4-metilfenolio (BHT) (**66**) DMSO tirpalas. Po to paruošiamas 0,1 mM 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazilo (DPPH) laisvojo radikalo (**67**) DMSO tirpalas. Kontrolinio antioksidanto HBT ir DPPH laisvojo radikalo struktūrinės formulės pateiktos 2.1 pav.



2.1 pav. Antioksidanto BHT (**66**) ir DPPH laisvojo radikalo (**67**) struktūrinės formulės

Tuomet po 1,0 ml 0,1 mM DPPH* tirpalo supilama į 1,0 ml 20 mM kontrolinį ir tiriamųjų bandinių tirpalus. Tirpalai išmaišomi ir paliekami tamsoje kambario temperatūroje. Po 60 min UV-1280 spektrofotometru (Shimadzu, Kiotas, Japonija) matuojama reakcijos mišinio sugertis 517 nm bangos ilgyje. Kiekvienas eksperimentas kartojamas tris kartus. Tiriamųjų junginių surišta DPPH laisvųjų radikalų dalis apskaičiuojama pagal (1) formulę:

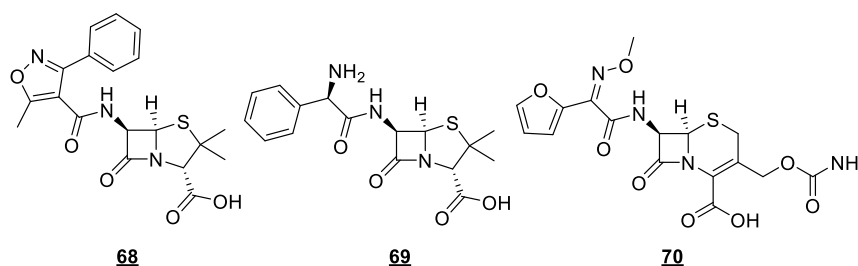
$$S, \% = \frac{A_B - A_A}{A_B} \times 100\%; \quad (1)$$

čia S – DPPH surišimo geba, %; A_B – palyginamojo tirpalo šviesos sugertis; A_A – tiriamojo tirpalo šviesos sugertis.

2.4. Antibakterinio aktyvumo nustatymas

Junginių antibakterinis aktyvumas nustatytas tiriant skirtingas koncentracijas prieš gramteigiamus kokus – *Staphylococcus aureus* (ATCC 9144), gramteigiamas lazdelines nesporines bakterijas – *Listeria monocytogenes* (ATCC 35152), gramteigiamas sporines lazdelines bakterijas – *Bacillus cereus* (ATCC 14579), gramneigiamas lazdelines bakterijas – *Escherichia coli* (ATCC 8739) bei *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Pirmiausia buvo paruoštos tiriamųjų bakterijų kultūros. Tiriamos bakterijų padermės buvo pasėtos ant triptono sojų agarų (TSA) (OXOID, Anglija) ir inkubuotos 37 °C temperatūroje 24 val. Iš išaugusių bakterijų kultūrų buvo paruošta 0,5 Mac Farlando drumstumo koncentracija (10^8 KSV/ml). Antibakterinio aktyvumo tyrimas atliktas LSMU Veterinarijos fakulteto, veterinarinės patobiologijos katedroje. Tyrimą atliko prof. dr. Jūratė Šiugždaite.

Tiriamųjų junginių TSB su 1 % DMSO tirpalai paruošti iš 10 mg/ml pradinių tiriamųjų junginių DMSO tirpalų serijinio mikroskiedimo būdu. Paruošti 250,00, 125,00, 62,50, 31,25, 15,60, 7,80, 3,90, 0,00 µg/ml tiriamųjų junginių TSB tirpalai. Analogiškai paruošti ir kontroliniai antibiotikų oksacilino (**68**), ampicilino (**69**) ir cefuroksimo (**70**) tirpalai. Kontrolinių junginių struktūrinės formulės pateiktos 2.2 pav.



2.2 pav. Antibakteriniuose tyrimuose naudotų antibiotikų oksacilino (**68**), ampicilino (**69**) ir cefuroksimo (**70**) struktūrinės formulės

Minimalios inhibicinės koncentracijos (MIK) nustatymas buvo atliktas pagal metodiką aprašytą literatūroje [117]. Su tiriamųjų ir kontrolinių junginių TSB tirpalais turimi bakterijų tirpalai TSB terpėje buvo praskiesti iki 5×10^4 KSV/ml koncentracijos. MIK nustatymui naudotos 96 šulinėlių mikroplokštelės (OXOID, Anglija) ir Miulerio Hintono (MH) terpė. Kiekviename šulinėlyje buvo 100 µl tiriamojo mišinio, kurį sudarė 5×10^4 KSV/ml koncentracijos bakterijų tirpalas ir skirtingų koncentracijų tiriamųjų junginių tirpalas. Taip pat buvo atliekama terpės sterilumo, tiriamųjų bakterijų augimo ir jautrumo antibiotikams oksacilinui, ampicilinui, cefuroksimui kontrolės.

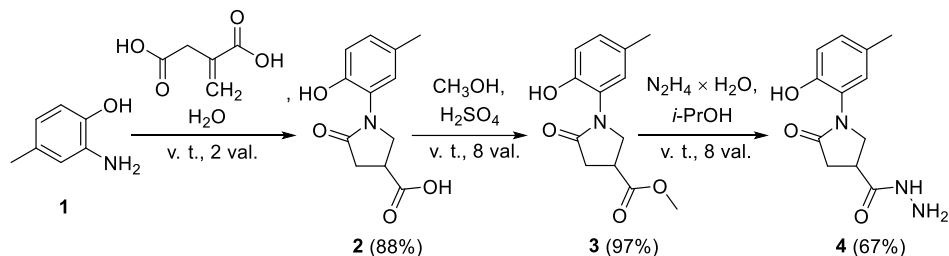
Mikrotitravimo plokštelės su tiriamaisiais mišiniais buvo inkubuojamos 37 °C temperatūroje 24 val. Tuomet vizualiai įvertintas bakterijų augimas (tirpalų drumstumas) ir nustatyta minimali inhibicinė koncentracija. MIK laikoma mažiausia tiriamojo arba kontrolinio junginio koncentracija, kuri slopina mikroorganizmų augimą.

Minimali baktericidinė koncentracija (MBK) buvo nustatyta pritaikant žinomą metodiką [118]. MBK buvo laikoma mažiausia tiriamųjų junginių koncentracija, sukelianti $\geq 3 \log_{10}$ bakterijų kiekio (5×10^4 KSV/100 μ l) sumažėjimą ($\geq 99,9$ % žūtis). 10 μ l buvo paimta iš šulinėlio, kuriame nustatyta MIK vertė ir iš dviejų papildomų šulinėlių, kuriuose tiriamųjų junginių koncentracija buvo didesnė 2 ir 4 kartus. Tiriamasis mišinys paskleistas ant MH agaro. Kolonijų skaičius buvo vertinamas po 24 val. inkubacijos 37 °C temperatūroje. MBK buvo laikoma mažiausia tiriamųjų junginių koncentracija, kai ant agaro išaugusių kolonijų skaičius buvo ≤ 5 .

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Pradinių junginių sintezė

Pradinis šio tyrimo objektas – 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštis (**2**) – buvo susintetintas iš 2-amino-4-metilfenolio (**1**). Šį junginį veikiant itakono rūgštimi pagal literatūroje pateiktą metodiką [119] gautas pradinis junginys **2**, kurio išeiga 88 %.



3.1 schema. Pradinių junginių – karboksirūgšties, esterio ir hidrazino – sintezė

Gautos karboksirūgšties **2** struktūra buvo patvirtinta ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR spektroskopijos ir elementinės analizės metodais. Šio junginio ^1H BMR spektre matomi susidariusio pirolidinono žiedo COCH_2 , CH ir NCH_2 grupių protonų signalai. Multipletai atitinkamai stebimi stipriuose magnetiniuose laukuose ties 2,58–2,68 m. d., 3,26–3,42 m. d. ir 3,76–3,93 m. d. Charakteringas metilo grupės protonų signalas stebimas singletu ties 2,18 m. d. Benzeno žiedo protonų signalai spektre stebimi dviem multipletais 6,70–6,82 m. d. ir 6,85–6,98 m. d. intervaluose. Silpniausiųjų magnetinių laukų srityje matomi du platūs singletai, kurių integralai atitinka po 1 vandenilio protonų skaičių. Signalai esantys ties 9,31 m. d. ir 12,60 m. d. atitinkamai priskiriami hidroksi- grupės ir karboksi- grupės protonams. O IR spektre ties 1699, 1641 cm^{-1} matomos absorbcijos juostos patvirtina karbonilo grupių buvimą.

Esterinimo reakcijos metu, junginį **2** veikiant metanolio ir katalizuojant sieros rūgštimi susintetinamas esteris **3**, kurio išeiga siekia 97 %.

Lyginant su karboksirūgšties **2** ^1H BMR spektru, šio junginio ^1H BMR spektre nebėra karboksi- grupės protonui būdingo signalo. Vietoj to, ties 3,68 m. d. matomas dar vienos metilo grupės protonų singletas. Junginio **3** ^{13}C BMR spektre stebima naujai atsiradusi metilo grupės anglies atomui būdinga spektrinė linija ties 52,13 m. d.

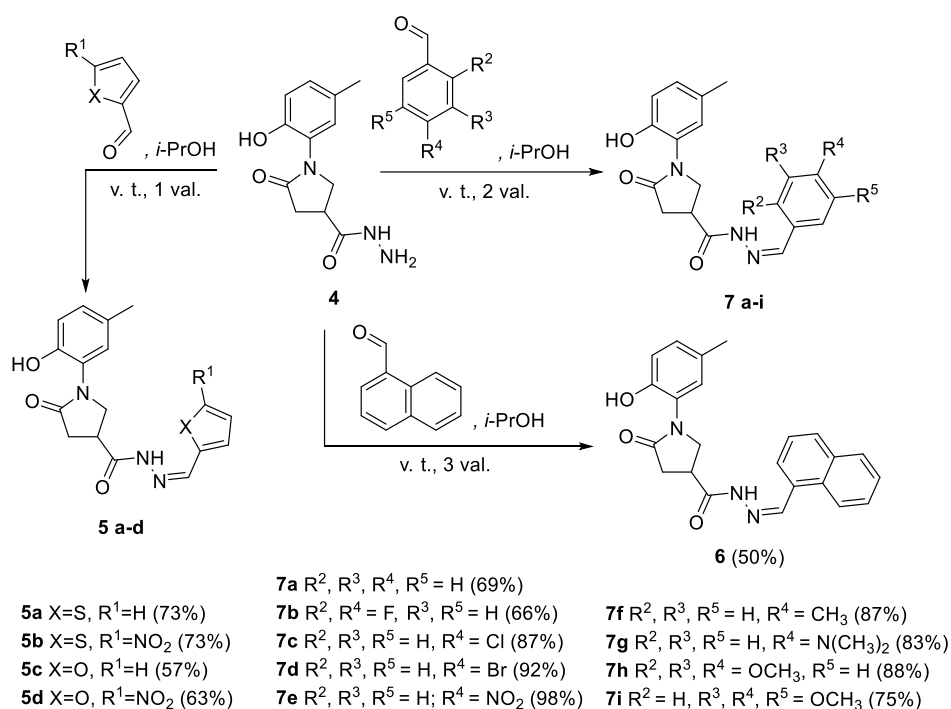
Hidrazidas **4** buvo susintetintas iš esterio **3** hidrazinolizės reakcijos metu pagal mokslinėje literatūroje aprašytą metodiką [64]. Reakcijai naudotas du kartus didesnis reagento – hidrazinmonohidrato kiekis. Gauto produkto išeiga – 67 %. Išgryninti karbohidrazido **4** kristalai buvo panaudoti tolimesnėje sintezėje.

Produkto **4** struktūrą patvirtina šio junginio ^1H BMR spektre atsiradę du singletai – platus ties 4,32 m. d. bei įprastas ties 8,59 m. d. atitinkamai priskiriami $-\text{NH}_2$ bei $-\text{NH}-$ grupių protonams esantiems prie karbonilo grupės. FT-IR spektre stebimos šio junginio sugerties juostos, kurios būdingos hidrazido grupę turintiems junginiams. NH_2 grupės sugerties juostos matomos ties 3295 cm^{-1} ir persidengia su OH grupės sugerties juosta. Antrinio amino NH grupės smailė yra pasislinkusi į mažesnių bangos skaičių sritį ir šiuo atveju ji matoma ties 3144 cm^{-1} .

Visų junginių struktūrą patvirtina ir elementinė analizė.

3.2. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazido kondensacijos reakcijos su įvairiai pakeistais monokarboniliniais junginiais

Norint gauti 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazido darinius atliekamos junginio **4** kondensacijos reakcijos su įvairiais aldehidais: **5a–d** atveju su skirtingais heterocikliniais aldehidais, **6** – su 1-naftaldehidu, o **7a–i** – su atitinkamais aromatiniais aldehidais (3.2 schema). Reakcijos vykdytos 2-propanolyje dėl gero pradinio junginio **4** ir mažo susidarančių produktų **5–7** tirpumo šiame tirpiklyje. Iš visų gautų produktų junginiai **5c** ir **6** buvo gerai tirpūs 2-propanolyje, todėl jiems išskirti iš reakcijos mišinio buvo panaudotas skiedimas heksanu. Reakcijose naudotas 1,20 karto aldehidų perteklius. Šiose kondensacijos reakcijose gauti hidrazonai, kurie DMSO-*d*₆ tirpaluose dėl azometininio fragmento buvimo molekulėse ir suvaržyto sukimosi apie -CO-NH- ryšį, egzistuoja izomerų mišinių pavidalu. Šių susintetintų hidrazonų ¹H ir ¹³C BMR spektrus palyginus su pradinio junginio **4** spektrais, protoniniame spektre nebematyti -NH₂ grupės signalo, tačiau ties 8,31 (± 0,42) m. d. ir 8,44 (± 0,38) m. d. matomi du singletai, kurie įrodo metino grupės buvimą.



3.2 schema. Hidrazido kondensacijos reakcijos su aromatiniais aldehidais

Silpnėsiuose laukuose stebimi -N=CH- fragmento protono ir -NHN= fragmento protono signalai dviejų linijų rinkiniais ir tai rodo, kad šie junginiai pasižymi *Z/E* posūkio izomerija. DMSO-*d*₆ tirpale dėl suvaržyto sukimosi apie amidinį ryšį ir dvigubą ryšio buvimo molekulėje -NHN= ir -N=CH- grupių protonai stebimi dviejų linijų rinkiniais: -NHN= – ties 11,61 (± 0,33) ir 11,65 (± 0,34) m. d., o -N=CH- – ties 8,31 (± 0,42) m. d. ir 8,44 (± 0,38) m. d., santykiu 0,35:0,65. Kadangi *Z* izomerą atitinkanti linija yra labiau ekranuota ir visada yra stebima stipresniame magnetiniame lauke, galima teigti, kad šiuo atveju vyrauja *Z* izomeras. Gautų junginių **7a–i** aromatinėje spektro dalyje pastebimi papildomi signalai (stebimas aromatinų protonų signalų pagausėjimas), kurie patvirtina antrojo aromatinio žiedo buvimą struktūroje. Susintetintų hidrazonų, turinčių heterociklinį tiofeno ar furfurolo fragmentą, struktūrą patvirtina aromatinėje ¹H BMR spektro dalyje matomi papildomi multipletai, pavyzdžiui, junginio **5b** atveju 6,74–8,14 m. d. intervale, atitinkamai junginio **5d** – 6,72–7,86 m. d. intervale. Junginių **5b** ir **5d** FT-IR spektruose matoma intensyvi sugerties juosta,

išsišakojanti į dvi smailes. Jų viršūnės **5b** atveju ties 1335 ir 1314 cm^{-1} , o **5d** atveju ties 1352 ir 1316 cm^{-1} . Tokių sugerties juostų junginių **5a** ir **5c** spektruose nėra, todėl tai patvirtina NO_2 grupės buvimą junginių **5b** ir **5d** struktūroje. Visų šių junginių FT-IR spektruose stebima vidutinio intensyvumo smailė ties 1509 (junginių **5 a-c** atveju) arba 1510 (junginio **5d** atveju) cm^{-1} , kuri būdinga $-\text{N}=\text{CH}-$ fragmentui.

Junginio **6** ^1H BMR spektre 6,72–8,92 m. d. intervale matomi multiplėtai, kurių integralai bendrai atitinka 10 vandenilio protonų skaičių. Šie protonai priskiriami aromatinių sistemų – benzeno ir nafteleno žiedų – protonams. Lyginant šio junginio **6** ^{13}C BMR spektrą su pradinio junginio **4** spektru, jame stebimas aromatinių anglies atomų signalų pagausėjimas. Junginio **6** ^{13}C BMR spektre stebimas daug didesnis anglies atomų skaičius nei būtų tikimasi pagal junginio molekulinę struktūrą. Aromatiniams anglies atomams spektre priskiriami 29 signalai, kai molekulėje aromatinių anglių yra tik 16. Taip yra dėl jau anksčiau aptartos hidrazonų tipo junginių izomerijos. Junginio **6** FT-IR spektre OH grupės absorbcijos juosta matoma ties 3190 cm^{-1} .

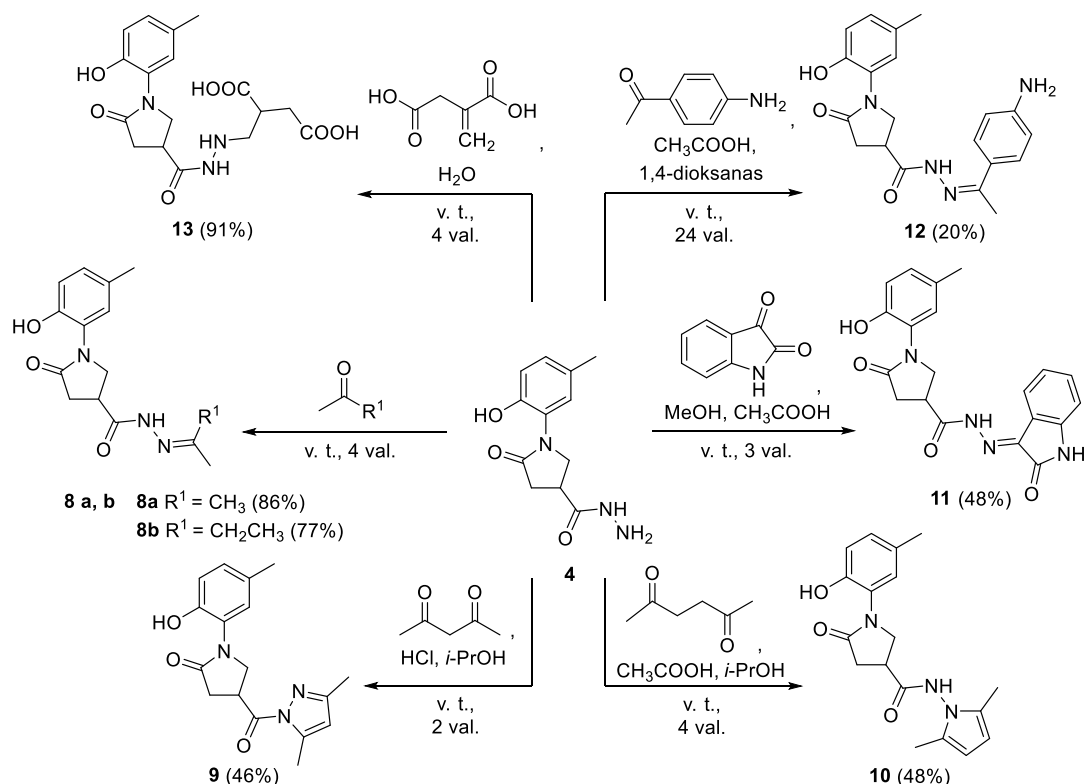
^1H BMR spektre stipriuose magnetiniuose laukuose ties 2,32 m. d. singletu matomi **7f** junginio aromatinio žiedo *para* padėtyje esančios $-\text{CH}_3$ grupės protonai, **7g** junginio – *para* padėties abi metilgrupės stebimos singletais ties 2,95 ir 2,96 m. d. **7h** ir **7i** junginių stipriųjų laukų dalyje trys metoksigrupės atitinkamai matomos intervaluose ties 3,68–3,84 m. d. bei 3,69–3,81 m. d. Lyginant su pradinio junginio **4** ^1H BMR spektru, naujai susintetintų darinių **7a–i** spektruose taip pat stebimas charakteringas metilo grupės protonams būdingas singletas ties 2,19 m. d. Tuo pačiu hidroksi- grupės protono signalas matomas dviem singletais ties 9,32 ($\pm 0,04$) ir 9,34 ($\pm 0,02$) dėl anksčiau aptartos izomerijos šiuose junginiuose. Susintetintų hidrazonų **5–7** ^1H BMR spektrai ($\text{DMSO}-d_6$) parodė, kad jiems yra būdinga tiek posūkio, tiek geometrinė izomerija. Norint įvertinti jų santykius, būtini papildomi spektroskopiniai tyrimai, tačiau šiame darbe jie atliekami nebuvo. Straipsniuose [120, 121] teigiama, kad šiose reakcijose iš galimų geometrinių izomerų susidaro tik vienas iš jų – *Z* izomeras. Visų šių junginių FT-IR spektruose 1505–1520 cm^{-1} srityje matoma vidutinio intensyvumo sugerties juosta, kuri parodo $\text{N}=\text{C}$ ryšių buvimą gautose struktūrose. Junginio **7e** FT-IR spektre esančios smailės ties 1317 ir 1342 cm^{-1} patvirtina NO_2 grupės buvimą, o sugerties juostos pirštų antspaudų srityje ties 1091 ir 1127 cm^{-1} priskiriamos junginių **7 h, i** metoksigrupėms.

3.3. Rūgšties hidrazido kondensacijos reakcijų su mono- ir diketonais produktai

Hidrazidas **4** lengvai dalyvauja kondensacijos reakcijose su monoketonais. Reakcijose acetonas ir etilmetilketonas dalyvauja ir kaip tirpiklis, ir kaip reagentas. Susidaro junginiai **8 a, b**, kurių išeiga atitinkamai 86 % ir 77 %. Reakcijos metu sureaguoja visas pradinis junginys **4**, o tokią gautą išeigą lemia tai, kad vėsinant reakcijos mišinį, dalis produktų liko ištirpę tirpale ir neperėjo į kristalinę būseną. Iš reakcijos mišinio ši produkto dalis nebuvo papildomai išskirta.

Junginių **8 a, b** struktūra buvo patvirtinta ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR spektroskopijos ir elementinės analizės metodais. Junginio **8a** ^1H BMR spektre be benzeno ir pirolidinono žiedams būdingų protonų stebimi dar dviejų metilo grupių vandenilių signalai. Dėl *Z/E* izomerijos hidrazono **8a** metilo grupės protonai alifatinėje spektro dalyje matomi kaip du singletai. Vienos metilo grupės būdingi protonų singletai matomi ties 1,86 ir 1,87 m. d., o kitos – ties 1,91 ir 1,93 m. d. Junginio **8b** ^1H BMR spektre charakteringi metilo grupės protonų signalai, kaip ir junginio **8a** atveju, stebimi dviem singletais, atitinkamai ties 1,84 ir 1,86 m. d. Šiame spektre stebimas multiplėtas 2,09–2,36 m. d. intervale, kurio integralas atitinka 5 vandenilio protonų skaičių. Šis signalas patvirtina etilo grandinės buvimą

junginyje. Taip pat analizuojant **8a** ir **8b** hidrazonų ^1H BMR spektrą, pastebėta, jog išnyksta =CH- grupės protonų signalai.



3.3 schema. Hidrazido kondensacijos reakcijos su mono-, diketonais ir itakono rūgštimi

Junginio **4** hidrazininis fragmentas pasižymi nukleofilinėmis savybėmis. Tai leidžia junginiams, turintiems šį fragmentą, dalyvauti įvairiose nukleofilinio jungimosi reakcijose, kurių metu gali susidaryti heterocikliniai dariniai. Dėl to buvo atliekamos junginio **4** kondensacijos reakcijos su diketonais. Junginys **9**, savo struktūroje turintis pirazolo žiedą, buvo gautas reakcijos su 2,4-pentandionu metu, o junginys **10**, savo struktūroje turintis pirolo žiedą, – reakcijos su 2,5-heksandionu. Abi reakcijos buvo vykdytos 2-propanolyje, naudojant rūgštinį katalizatorių pagal žinomas metodikas, aprašytas mokslinėje literatūroje [65, 66]. Junginio **9** gavimo reakcijos metu buvo naudotas katalitinis 37 % druskos rūgšties kiekis, o junginio **10** gavimo reakcijos metu – katalitinis kiekis ledinės acto rūgšties. Pastebėta, kad reakcija, kurioje kaip katalizatorius naudotas HCl vyko dvigubai greičiau. Stipresnėmis rūgštinėmis savybėmis pasižymintis HCl intensyviau protonizavo diketono karbonylines grupes, dėl ko reakcija su nukleofiliniu hidrazininiu fragmentu vyko greičiau.

Junginio **9** ^1H BMR spektre stebimi trijų metilo grupių protonų signalai. Vienos pirazolo žiedo metilo grupės protonų signalai persidengia su benzeno žiedo metilo grupės protonų singletu ir ^1H BMR spektre matomi ties 2,19 m. d., o kitos metilo grupės protonų signalas persidengia su DMSO- d_6 ties 2,50 m. d. Būdingas dimetilpirazolo žiedo -CH- grupės protono signalas stebėtas ties 6,22 m. d. Lyginant su junginių **8a, b** ^1H BMR spektrais, junginio **9** spektre nebėra -NH- fragmentui būdingo protono signalo. Be benzeno žiedo metilo grupės anglies atomo smailės ties 19,91 m. d. ^{13}C BMR spektre, stebimos dvi pirazolo žiede, esančių metilo grupių, spektrinės linijos, kurių cheminiai poslinkiai matomi atitinkamai ties 13,54 ir 14,07 m. d.

Junginio **10** protoniniame spektre ties 1,97 ir 2,00 m. d. matomi intensyvūs singletai charakterizuoja dvi pirolo žiede esančias metilo grupes, kurių smailės ^{13}C BMR spektre atitinkamai stebimos ties

10,92 ir 10,96 m. d. Taip pat -CH-CH- fragmento protonų signalai ^1H BMR spektre identifikuoti charakteringa smaile ties esančia 5,65 m. d. Lyginant su junginio **9** ^1H BMR spektru, šio junginio spektre stebimas NH fragmento protono signalas silpnesnių magnetinių laukų srityje – ties 10,86 m. d., kurio junginio **9** spektre nėra.

Atlikus literatūros apžvalgos analizę [122] buvo rasta duomenų, jog heterocikliniai dariniai turintys izatino fragmentą pasižymi priešvėžinėmis savybėmis, tuo tikslu buvo nuspręsta atlikti hidrazido **4** reakciją su izatinu. Reakcija vykdyta ne 2-propanolyje, o labiau poliniame tirpiklyje – metanolyje, dėl didesnio izatino tirpumo šiame tirpiklyje. Katalizinis ledinės acto rūgšties kiekis buvo reikalingas karbonilo grupei protonizuoti.

Junginio **11** ^1H BMR spektre, aromatinių protonų signalų integralai atitinka 7 vandenilių protonų skaičių – 4 daugiau nei pradiname junginyje **4**. Taip pat be benzeno ir pirolidinono žiedo vandenilio protonų bendrai stebimi dviejų -NH- fragmentų protonų singletai ties 10,81 ir 11,33 m. d. Šio junginio išanalizuotas ^1H BMR spektras pateiktas 2 priede. Junginio **11** ^{13}C BMR spektre matoma 12 spektrinių linijų 110,63–150,31 srityje, kurios priskiriamos dviejų benzeno žiedų, esančių junginio struktūroje, anglims. FT-IR spektras parodė tris intensyvias sugerties juostas ties 1732, 1717 ir 1691 cm^{-1} , kurios patvirtina trijų karbonilinių grupių buvimą junginyje. N=C fragmento sugerties juosta stebima prie 1510 cm^{-1} . Remiantis šiais duomenimis patvirtinama junginio **11** molekulinė struktūra.

Junginys **12** buvo gautas pradinį hidrazidą **4** veikiant 4-aminoacetofenonu. Atliktas pirminis šio junginio reakcijos sąlygų optimizavimas, reakciją vykdant skirtinguose tirpikliuose. Rezultatai pateikti 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Junginio **12** reakcijos sąlygų optimizavimas

Reakcija	Tirpiklis	Reakcijos trukmė, val.	Katalizatorius	Tikslinio junginio išskyrimui ir gryninimui taikyti metodai pagal eiliškumą	Tikslinio junginio išeiga, %
A	1,4-Dioksanas	24	CH_3COOH	Distiliacija, filtravimas, virinimas vandenyje ir filtravimas, perkristalinimas iš 2-propanolio	20
B	2-Propanolis	20		Filtravimas	55
C	Vanduo	30		Dekantavimas, perkristalinimas iš vandens ir 2-propanolio 2:1 mišinio, dekantavimas, perkristalinimas iš 2-propanolio, filtravimas	11

Kiekviena iš trijų reakcijų vykdyta naudojant skirtingą tirpiklį. Naudotas minimalus tirpiklio kiekis, kurio pakanka ištirpinti pradinį hidrazidą **4**. Reakcijose naudotas katalizinis kiekis ledinės acto rūgšties. Nei vienos iš reakcijų metu pradinės medžiagos pilnai nesureagavo. Reakcijos sustabdytos remiantis plonasluoksnės chromatografijos rezultatais, kai buvo nustatyta, kad laikui bėgant pradinių medžiagų ir produktų kiekis reakcijos mišiniuose pastebimai nebekinta. Pasibaigus reakcijoms, gauti mišiniai buvo atvėsinti. Reakcijos A mišinyje kristalai nesusidarė, todėl sumažintame slėgyje buvo nudistiliuota dalis tirpiklio. Likutyje susidarę kristalai buvo junginio **12** ir pradinių medžiagų mišinys. Siekiant kristalus išgryninti jie buvo virinami vandenyje, o gautas karštas tirpalas iškart filtruojamas. Po to gautas dervinio pobūdžio likutis buvo perkristalintas iš 2-propanolio. Po perkristalinimo gauti

gryni kristalai. Reakcijos B mišinyje po atvėsimo iškart susidarė tik produkto **12** kristalai, kuriuos nufiltravus gautas grynas tikslinis junginys. Atvėsus reakcijos C mišiniui susidarė dervinio pobūdžio medžiaga. Nudekantavus tirpalą, vykdytas perkristalinimas iš 2:1 vandens ir 2-propanolio mišinio. Gauta dervinio pobūdžio medžiaga atskirta nuo tirpalo šį nudekantuoju ir toliau vykdytas perkristalinimas naudojant 2-propanolį. Nufiltravus susidariusius kristalus buvo gautas grynas tikslinis junginys **12**. Reakcija B parodė geriausią išeigą – 55 %. Galutinė išeiga beveik 3 kartus didesnė nei reakcijos A ir net 5 kartus didesnė nei reakcijos C. Reakcijų išeigų skirtumai gali būti siejami su skirtingais išskyrimo ir gryninimo būdais. Reakcijų A ir C gryninimo procesas sąlyginai ilgas ir susidedantis iš keleto etapų. Tai galėjo lemti tokį ženklų skirtumą lyginant galutines išeigas. Atlikus ir apžvelgus šiuos tris skirtingus reakcijos ir tikslinio produkto išskyrimo ir gryninimo būdus galima daryti išvadą, kad optimalu junginio **12** gavimo reakciją iš hidrazido **4** ir 4-aminoacetofenono vykdyti 2-propanolyje, nes tokiu būdu gaunamas didžiausias produkto kiekis, o pats procesas yra paprastesnis, greitesnis ir ekonomiškesnis.

Svarbu akcentuoti, kad šiame darbe buvo siekiama parinkti reakcijos sąlygas, o ne optimizuoti jos vykdymą. Siekiant atlikti tolimesnį ir pilną reakcijos optimizavimą reikėtų atlikti daugiau eksperimentų, kad būtų surinkta daugiau duomenų. Reikėtų vykdyti reakcijas naudojant skirtingus tirpiklius, katalizatorius ir jų kiekius, reakciją vykdyti naudojant skirtingus pradinių medžiagų santykius, taikyti skirtingą reakcijos trukmę, atsižvelgti į maišymo būdą ir intensyvumą, temperatūrą ar kitus nepriklausomus kintamuosius. Įvertinus gautus rezultatus ir susidarius tinkamą modelį, toliau galėtume nustatyti kiekvieno kintamojo bei jų tarpusavio sąveikos įtaką galutiniam rezultatui – kas šiuo atveju galėtų būti reakcijos išeiga ir trukmė. Pagal paviršiaus atsako kreives galėtume nustatyti optimalias sąlygas arba jų ribas, kuriose gautume didžiausią išeigą per trumpiausią laiką su mažiausiais kaštais. Jeigu šio arba bet kurio kito junginio cheminę sintezę būtų siekiama perkelti į pramoninės gamybos lygį, būtų reikalingi papildomi eksperimentai ir optimizavimas, nes dėl reakcijos mišinio tūrio skirtumo, šilumos mainų, maišymo pokyčių bei daugybės kitų faktorių, kurių dalis jau buvo paminėti anksčiau, reakcija gali nevykti taip pat kaip laboratoriniame lygmenyje.

Junginio **12** struktūra buvo patvirtinta ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR spektroskopijos ir elementinės analizės metodais. Junginio **12** ^1H BMR spektre naujai atsiradusios metilo grupės protonų signalas persidengia su benzeno žiedo metilo grupės protonų signalu ir stebimas multipletu 2,08–2,25 m. d. intervale. NH_2 grupės protonai matomi dviem singletais ties 5,43 ir 5,46 m. d. ^1H BMR spektre stebimas aromatinųjų protonų signalų pagausėjimas 6,56–7,51 m. d. intervale, lyginant su pradinio junginio **4** spektru. Silpnųjų magnetinių laukų srityje aptinkami OH ir NH grupių signalai, kurių kiekvienas matomas dviem singletais atitinkamai ties 9,23, 9,33 m. d. ir 10,34, 10,47 m. d. Šių signalų išskaidymas į du singletus rodo, kad junginys DMSO- d_6 tirpiklyje egzistuoja kaip Z/E izomerų mišinys.

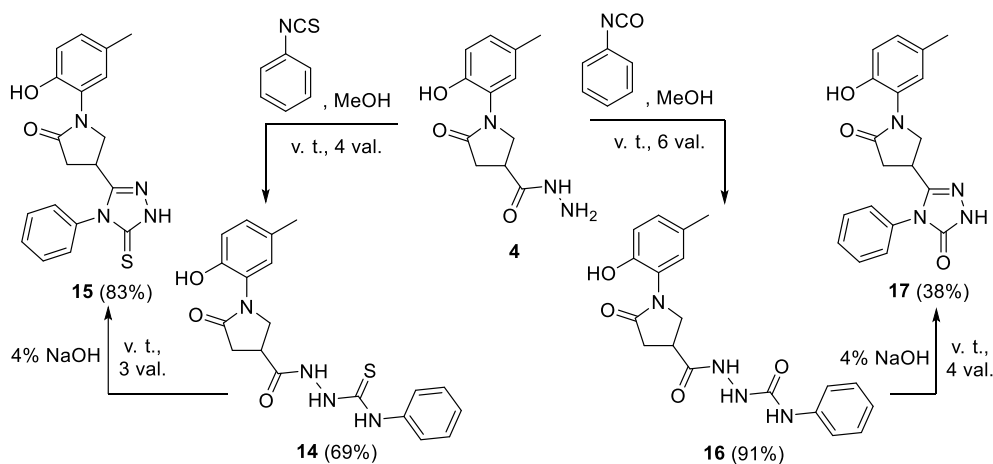
Literatūroje [123] aprašyta hidrazidų reakcija su itakono rūgštimi. Reakcija vyksta palaipsniui, pirmiausia itakono rūgšties molekulei per metileno grupę prisijungiant prie hidrazido fragmento. Po to vykstant ciklizacijos reakcijai susidaro pirolidinono žiedas ir atskykla vandens molekulė. Šiame darbe taip pat buvo tiriama hidrazininio **4** fragmento savybės reakcijoje su itakono rūgštimi. Reakcija vykdyta minimaliame vandens kiekyje su 1,5 karto itakono rūgšties pertekliumi 4 valandas mišinio virimo temperatūroje. Gautas junginys **13**, kurio išeiga 91 %.

Susidariusio junginio **13** struktūrai įrodyti buvo pasitelkti ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR, elementinės ir masių spektrometrijos analizės metodai. Pirmiausia, analizuojant ^1H BMR rezultatus pastebėta, kad

gauto junginio struktūra kitokia nei tikėtasi remiantis literatūra [123], pagal kurią atlikta organinė sintezė. Spektre pastebimi tik vieno pirolidinono žiedo protonų signalai, kurių cheminio poslinkio vertės nežymiai skiriasi nuo pradinio junginio **4** pirolidinono žiedo cheminio poslinkio verčių. Kiti du signalai spektre priskiriami dviem NH grupės protonams patvirtina, kad struktūroje antro pirolidinono žiedo nesusidarė. Vienas NH-CH₂ fragmento protonas spektre stebimas singletu ties 5,69, o kitas (CONH) – ties 10,32 m. d. OH grupės protono signalas stebimas prie 9,30 m. d., o dviejų COOH grupės protono signalai matomi kaip platus singletas ties 12,54 m. d. ¹³C BMR spektre ties 170,91, 171,44, 172,05 ir 174,07 m. d. stebimi šio junginio struktūroje esančių keturių karbonilo grupių anglies atomų signalai. Būtent tokią junginio struktūrą patvirtina ir masių spektrometrijos analizės rezultatai.

3.4. 2-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-N-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidų gavimas ir ciklizacija

Tolimesniame sintezės etape triazolo žiedą turintys junginiai buvo gauti hidrazidą **4** veikiant benzenizocianatu arba fenilo izotiocianatu metanolyje mišinio virimo temperatūroje. Po to vykdant šarminę ciklizaciją su 4 % NaOH vandeniniu tirpalu tiesemikarbazidas **14** ir semikarbazidas **16** buvo paversti į triazolo žiedą turinčius darinius **15** ir **17** pagal žinomą metodiką [67]. Skirtingos junginių **14** ir **16** išeigos gautos dėl skirtingų junginių išskyrimo iš reakcijos mišinio. Junginys **14** buvo išskirtas vykdant skiedimus su metanolio ir vandens mišiniu, o junginys **16** išskirtas kambario temperatūroje nugarinus tirpiklį. Po šarminės junginių **14** ir **16** ciklizacijos gautų produktų **15** ir **17** išeigų skirtumas taip pat susijęs su junginių išskyrimu iš reakcijos mišinio. Junginio **15** išeiga daugiau nei dukart didesnė nei junginio **17**, nes, rūgštinant tirpalus ledine acto rūgštimi, junginio **15** atveju iškart susidarė kristalai, o junginio **17** atveju susidarė ir kristalai, ir dervinio pobūdžio medžiaga. Pastarosios atsiradimą tirpale galėjo lemti nepakankamai žema tirpalo temperatūra ir/ar per staigus tirpalo parūgštinimas.



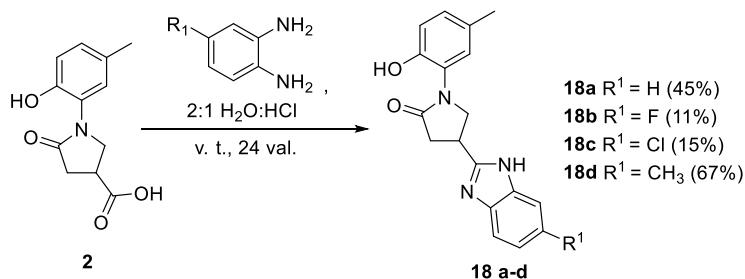
3.4 schema. 2-[1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]-N-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidų gavimas ir ciklizacija

Junginių **14-17** struktūros buvo įrodytos ¹H BMR, ¹³C BMR, FT-IR ir elementinės analizės metodais. Pirmiausia, analizuojant šių junginių ¹H BMR spektrus be pradiniam junginiui **4** būdingų aromatinio ir pirolidinono žiedų protonų signalų, aromatinėje spektro srityje matomi papildomi protonų signalai, kurių integralai atitinka 5 vandenilio protonų skaičių. Tai parodo, kad junginių struktūrose, lyginant su pradinio junginio **4**, yra pakaitų neturintis benzeno žiedas. Junginio **14** ¹H BMR spektre silpnesnių

magnetinių laukų srityje stebimi trys singletai ties 9,58, 9,86 ir 10,17 m. d., kurie patvirtina trijų NH fragmento protonų buvimą junginio struktūroje. Junginio **16** spektre šių trijų NH fragmentų protonų signalai matomi ties 8,11, 8,79 ir 9,91 m. d. Dėl ciklizacijos ir triazolo žiedo susidarymo junginiuose **15** ir **17** išlieka tik viena NH grupė, kurios protono signalas spektre matomas kaip platus singletas atitinkamai ties 13,41 ir 11,93 m. d. Junginio **17** spektre šio protono signalas persidengia su OH grupės protono signalu. Junginių **14** ir **15** ^{13}C BMR spektruose ties 181,04 ir 182,99 matomos spektrinės linijos, kurios būdingos C=S grupę turintiems junginiams. Šio fragmento buvimą junginių struktūroje patvirtina ir FT-IR spektruose matomos intensyvios smailės ties 1194 cm^{-1} junginio **14** spektre ir ties 1271 cm^{-1} junginio **15** spektre. Gauti rezultatai rodo, kad tiosemikarbazido **14**, semikarbazido **16** ir triazolo darinių **15** ir **17** sintezė buvo sėkminga.

3.5. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties kondensacija su o-fenilendiaminų dariniais

Benzimidazolų darinius galima gauti tiesiogiai iš karboksirūgščių, jas veikiant o-fenilendiaminiais. Siekiant susintetinti benzimidazolo fragmentą turinčius junginius **18 a-d**, karboksirūgštis **2** buvo veikama benzen-1,2-diaminiais pagal literatūroje aprašytą metodiką, žinomą kaip *Phillips* kondensacijos reakciją [59, 124]. Reakcijoje naudojama ne koncentruota, o praskiesta druskos rūgštis, kuri protonizuoja karboksirūgštį, tačiau nesudaro rūgšties hidroklorido. Tai palengvina azoto atomų acilinimą ir pagreitina reakciją. Pirmiausia acilinama viena amino grupė, prijungiant karboksirūgšties molekulę per karbonilo anglies atomą. Po to vyksta antrojo azoto atomo acilinimas susidarant ryšiui tarp amino grupės azoto ir tos pačios karbonilo grupės anglies. Taip kondensacijos reakcijos metu susidaro nauja ciklinė sistema [125, 126]. Skirtingos junginių **18 a-d** gautos išeigos siejamos su šių produktų skirtingais gryninimo būdais, kurie išsamiau aprašyti 2.2 skirsnyje.

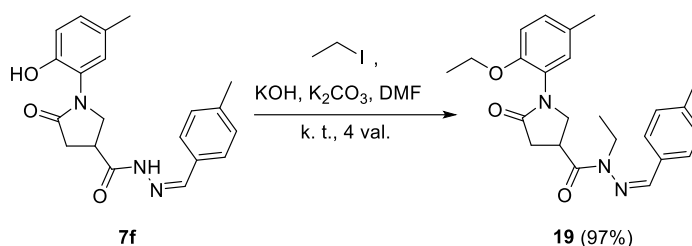


3.5 schema. Benzimidazolo žiedo formavimo reakcijos

Šių junginių, kaip ir anksčiau aptartų, struktūros buvo įrodytos ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR ir elementinės analizės metodais. Junginio **18a** ^1H BMR spektre intervale 6,83–7,76 m. d. stebimi signalai, kurių integralai atitinka 7 vandenilio protonų skaičių, iš kurių 3 priskiriami benzeno žiedui, o 4 – benzimidazolo žiedų sistemai. Didžiausias cheminis poslinkis, 12,57 m. d., priskiriamas imidazolo žiedo NH fragmento protonui. Junginio **18b** spektre šis protonas yra labiau ekranuojamas ir jo signalas matomas ties 12,48 m. d., o junginyje **18c** pasireiškia didžiausias ekranavimas ir signalas matomas ties 11,27 m. d. Junginių **18 a-d** benzeno žiedo metilo grupės protonų singletas matomas ties 2,20 m. d., o junginio **18d** benzimidazolo fragmento metilo grupės protonų singletas spektre stebimas ties 2,47 m. d. Dėl imidazolo žiedo vandenilio laisvo judėjimo tarp dviejų azoto atomų, ^{13}C BMR spektre skirtingų anglių signalų cheminiai poslinkiai sutampa, todėl spektre matomas anglių signalų skaičius yra mažesnis už junginį sudarančių anglių atomų skaičių. Šių, FT-IR spektrų bei elementinės analizės rezultatai patvirtina gautų benzimidazolų **18 a-d** struktūrą.

3.6. Hidrazonų ir benzimidazolų alkilimas

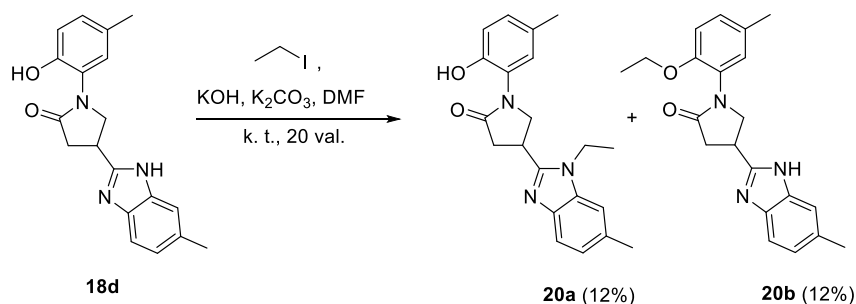
Norint pagerinti gautų hidrazonų ir benzimidazolų darinių tirpumą organiniuose tirpikliuose ištirtos šių junginių alkilinimo reakcijos pagal literatūroje aprašytą metodiką [124]. Kaip alkilinimo agentas naudotas etiljodidas. KOH paskirtis šiose reakcijoje atitraukti protoną nuo nukleofilinio NH fragmento azoto atomo. K_2CO_3 reikalingas surišti etiljodido perteklių. Reakcijos vykdytos dimetilformamide (DMF) dėl gero neorganinių druskų tirpumo šiame tirpiklyje. Reakcijos vykdytos kambario temperatūroje (20–25 °C) dėl mažo etiljodido stabilumo aukštesnėje temperatūroje. Junginio **7f** alkilinimo reakcijos metu įvyko ne tik NH, bet ir OH grupės alkilimas. Gautas produktas **19**, kurio išeiga 97 %.



3.6 schema. Junginio **7f** alkilinimo reakcija

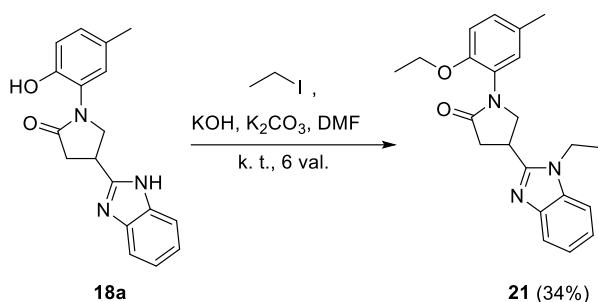
Junginio **19** struktūra patvirtinta 1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR ir elementinės analizės metodais. Lyginant šio junginio 1H BMR spektrą su analogiškais sąlygomis užrašyto junginio **7f** spektru pagrindinis skirtumas yra junginio **19** spektre matomi papildomi signalai, priskiriami naujai įvestoms alkilinėms grandinėms, kurių nėra pradiniam **7f** junginyje. Šių grandinių metilo grupių protonų tripletai, kurių sukinio-sukinio sąveikos konstanta lygi 6,7 Hz ir 6,8 Hz, spektre matomi stipriausių magnetinių laukų srityje ties 1,09 ir 1,27 m. d. Alkilinių grandinių metileno fragmentų protonų signalai persidengia su pirolidinono žiedo NCH_2 protonų signalu ir stebimi 3,66–4,14 m. d. intervale. Spektre nėra NH ir OH grupių protonų signalų. Šie bei kitų analizų duomenys patvirtina junginio **19** struktūrą.

Benzimidazolų **18 a, d** alkilimas vykdytas analogiškais sąlygomis kaip ir junginio **7f**, tačiau naudotas didesnis etiljodido perteklius. Hidrazono **7f** ir benzimidazolo **18d** alkilinimui panaudoti 3 ekv. etiljodido lyginant su pradine medžiaga, o junginiui **18a** – 6 ekv. Skirtingas alkilinimo agento kiekis mišinyje lėmė skirtingą rezultatą. Junginio **18d** alkilinimo reakcija ir susidarę produktai pateikti toliau (žr. 3.7 schema). Pagal iš chromatografinės kolonėlės išskirtų junginių 1H ir ^{13}C BMR spektrus nustatyta, kad šioje reakcijoje lygiavertiškai alkilinasi NH ir OH grupės – *N*-alkilinto darinio **20a** ir *O*-alkilinto darinio **20b** išeigos siekia 12%.



3.7 schema. Junginio **18d** alkilinimo reakcija

Naudojant didesnę etiljodido perteklių (6 ekv.) reakcijos metu (žr. 3.8 schema) iš junginio **18a** gautas dialkilintas darinys **21**.



3.8 schema. Junginio **18a** alkilinimo reakcija

Junginių **20 a, b** ir **21** struktūra įrodyta ^1H BMR, ^{13}C BMR, FT-IR ir elementinės analizės metodais. Lyginant junginių **20 a, b** ^1H BMR spektrus su pradinio junginio **18d** ^1H BMR spektru matomi po vieną papildomą metilo ir metileno grupių protonų signalą. Junginio **20a** spektre alkilinės grandinės metilo grupės protonų tripletas matomas ties 1,33 m. d., o metileno grupės protonai stebimi 3,91–4,17 m. d. intervale. Junginio **20b** alkilinės grandinės metilo grupės protonai matomi kaip multipletas 1,12–1,27 m. d. intervale, o metileno grupės protonai stebimi 3,90–4,03 m. d. intervale. Kuri grupė kuriame junginyje buvo alkilinta nustatoma pagal OH ir NH grupių protonų signalų buvimą spektre. Junginio **20a** spektre matomas singletas ties 10,64 m. d. Šioje spektro srityje, remiantis kitų šiame darbe susintetintų junginių spektrais, matomi OH grupės protonų signalai. Taipogi, spektre nėra NH grupės protono signalo, dėl to junginys **20a** yra *N*-alkilintas. Junginio **20b** spektre ties 12,28 m. d. stebimas NH grupės protono singletas, o OH grupės protono signalo nėra. Todėl gautas junginys **20b** yra *O*-alkilintas. Junginio **21** ^1H BMR spektre stebimi dviejų etilo grandinėlių protonų signalai. O tai, kad spektre nėra nei OH, nei NH protonų signalų leidžia daryti išvadą, kad gautas junginys yra dialkilintas. Junginių **20 a, b** ir **21** struktūras pagrindžia ir ^{13}C BMR bei FT-IR išanalizuotų spektrų rezultatai, kurie išsamiau pateikti 2.2 skirsnyje.

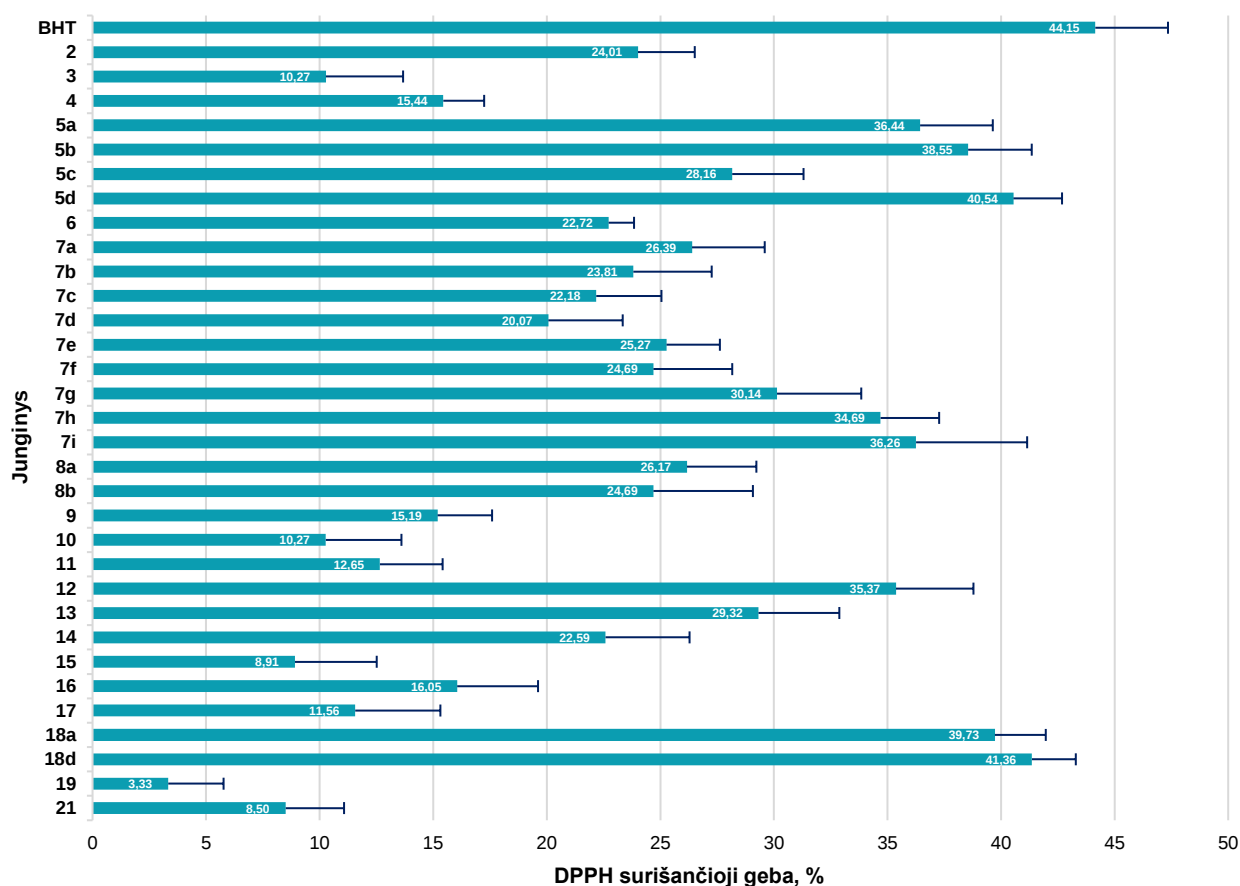
Šio tyrimo metu gauti junginiai **2-21** turi chiralinį centrą (CHCH_2CO). Jau anksčiau atlikti pirolidinonų klasės analogiškų junginių rentgenostruktūrinės analizės tyrimai [127]. Pagal aprašytus rezultatus daroma prielaida, kad šiame darbe aptariamieji pirolidinonų dariniai **2-21** kristalinėje būsenoje egzistuoja kaip raceminis R/S enantiomerų mišinys, kurių santykis mišinyje 1:1.

3.7. Biologinio aktyvumo tyrimai

Šiame skyriuje analizuojami tyrimo metu susintetintų junginių biologinio aktyvumo tyrimų rezultatai. Atlikti pirminiai antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimai. Gauti rezultatai pateikti ir nagrinėjami tolimesniuose skirsniuose.

3.7.1. Antioksidacinio aktyvumo rezultatai

Gautų 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties ir jos darinių antioksidacinis aktyvumas buvo nustatytas pagal metodiką aprašytą 2.3 skirsnyje. Gauti rezultatai pateikti 3.1 pav.



3.1 pav. Gautų produktų ir kontrolinio junginio HBT apskaičiuota DPPH surišimo geba

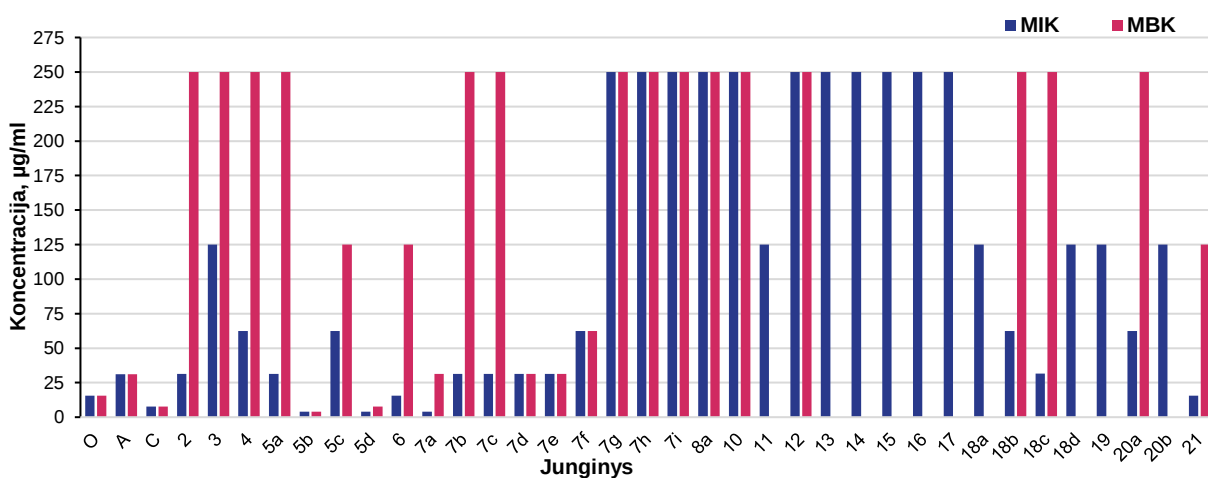
Kaip aptarta 1.4.4 skirsnyje, junginių antioksidacinės savybės siejamos su jų gebėjimu atiduoti elektronus arba vandenilio protonus. 2,2-Difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazilo (DPPH) laisvasis radikalas prisijungęs vandenilio protoną arba elektronus virsta stabilia 1,1-difenilpikrilhidrazino molekule. Iš gautų rezultatų matome, kad nei vienas iš susintetintų junginių nepasižymėjo stipresnėmis antioksidacinėmis savybėmis nei BHT, kurio DPPH surišimo geba siekė 44,15 %. Lyginant pradinis junginius **2-4**, šiomis savybėmis labiausiai pasižymėjo karboksirūgštis **2**. Šios rūgšties esterio **3** antioksidacinės savybės buvo dvigubai silpnesnės už karboksirūgšties **2** ir 1,5 karto silpnesnės už karbohidrazido **4**. Iš pateiktų rezultatų matome, kad teigiamą įtaką antioksidacinėms savybėms turėjo tiofeno ir furano žiedo įvedimas į junginių **5 a-d** struktūras, o šios struktūros su nitro grupėmis suteikė junginiams dar geresnį radikalus surišančią poveikį. Hidrazonai **6-8b** pasižymėjo panašiu aktyvumu. Stipriausiomis savybėmis iš hidrazonų **7 a-i** išsiskyrė junginiai **7 h, i**, kurių aukštas antioksidacinis aktyvumas gali būti siejamas su trijų metoksigrupių buvimu junginių struktūrose. Junginių **12-13** aukštesnė DPPH surišimo geba, lyginant su junginiais **9-11**, stebima dėl didesnio OH ir NH grupių skaičiaus molekulėse. Triazolo dariniai **15** ir **17** savo struktūroje turi mažiau laisvų vandenilio protonų nei jų pirmtakai tiosemikarbazidas **14** ir semikarbazidas **16**, dėl to jų antioksidacinis aktyvumas atitinkamai 2,5 ir 1,5 karto mažesnis. Dialkilinti dariniai **19** ir **21** pasižymėjo silpniausiomis antioksidacinėmis savybėmis, o stipriausios antioksidacinės savybės nustatytos benzimidazolo darinyje **18 d**.

Antioksidacinio aktyvumo nustatytas DPPH metodu dėl to, kad šis metodas greitas, paprastas ir pigus. Kadangi antioksidacinis aktyvumas šiuo atveju yra skaičiuojamas pagal absorbcijos 517 nm bangos ilgyje pokytį, šis metodas nėra tinkamas junginiams, kurių tirpalai pasižymi sugertimi šiame bangos

ilgyje, tirti. Dėl to nepavyko tiksliai nustatyti junginių **18 b, c** ir **20 a, b** DPPH surišimo gebos. Čia pateikti pirminiai antioksidacinio aktyvumo rezultatai, kurie įrodo, kad laisvųjų radikalų surišimas yra būdingas daugeliui susintetintų junginių. Siekiant kritiškai įvertinti gautų produktų antioksidacinį potencialą, svarbu atlikti antioksidacinių savybių tyrimą ir kitais metodais, pavyzdžiui, geležies redukciniu metodu (FRAP) [128, 129].

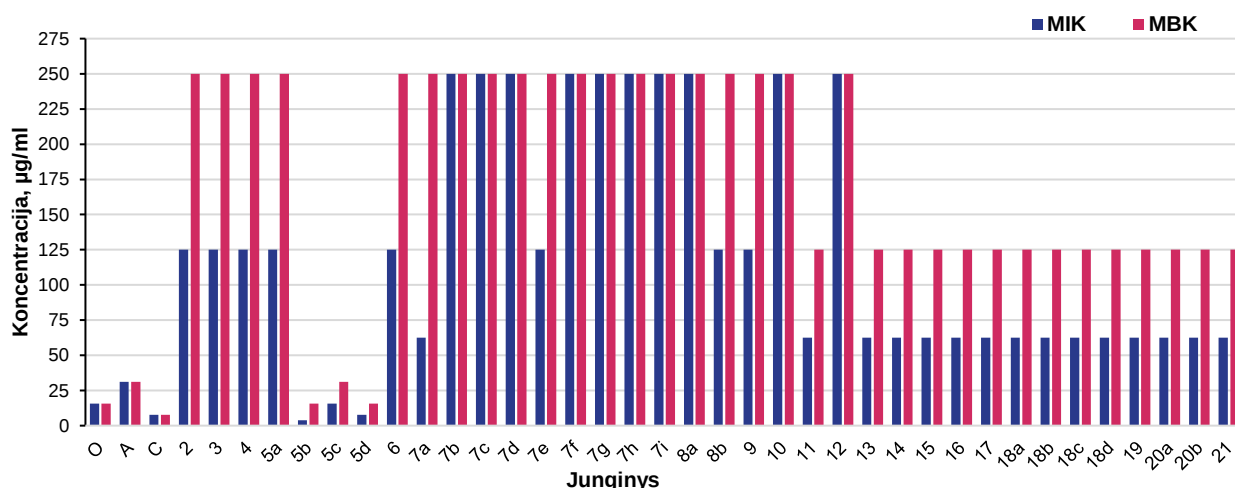
3.7.2. Antibakterinio aktyvumo rezultatai

Antibakterinis junginių aktyvumas nustatytas pagal metodiką aprašytą 2.4 skirsnyje. Tyrime susintetintų junginių MIK ir MBK vertės buvo nustatytos trims gramteigiamiesiems bakterijų kamienams – *Staphylococcus aureus* ATCC 9144, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus cereus* ATCC 11778, ir dviem gramneigiamiesiems – *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6750, *Escherichia coli* ATCC 8739. Gauti tyrimo duomenys pateikti 2 priede. Duomenys grafiškai pavaizduoti 3.2 pav., 3.3 pav., 3.4 pav. ir 3.5 pav. pateiktuose grafikuose.



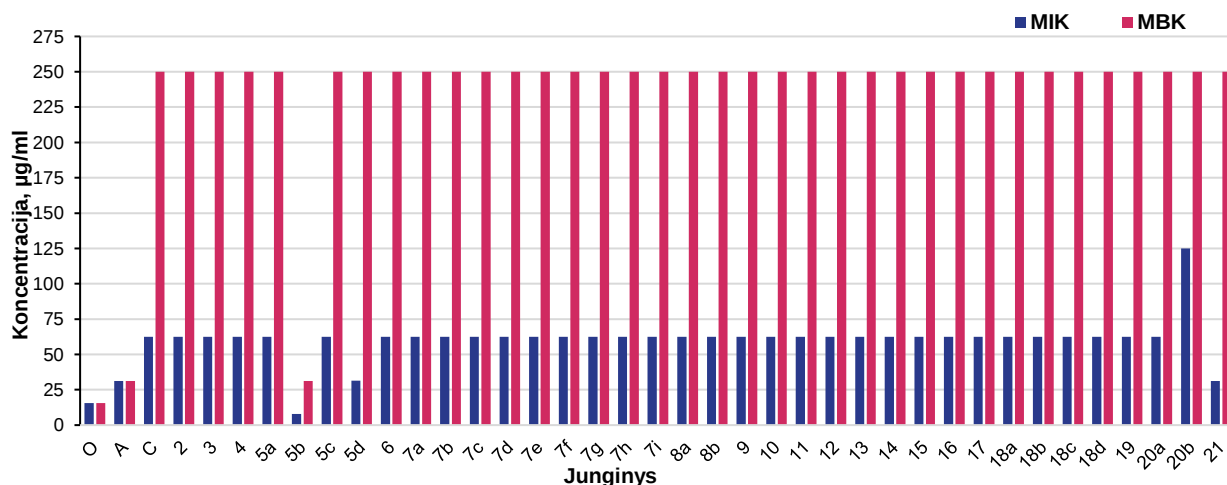
3.2 pav. Junginių 2-21 antibakterinis aktyvumas prieš *S. aureus* ATCC 9144

S. aureus yra oportunistinis patogenas, sukeliantis odos, viršutinių kvėpavimo takų infekcijas ir apsinuodijimą maistu [130]. Trys hidrazonų klasės junginiai, struktūroje turintys 5-nitro-2-tiofeno, 5-nitro-2-furfurolo arba papildomą benzeno žiedą – **5b**, **5d** ir **7a**, pasižymėjo selektyviu bakteriostatinį poveikiu prieš šią gramteigiamą bakteriją. Paminėtų junginių MIK prieš šiuos kokus yra 3,90 µg/ml. Tai 2 kartus mažiau nei cefuroksimo, 4 kartus mažiau nei oksacilino ir 8 kartus mažiau nei ampicilino MIK. Junginiai **5b** ir **5d** prieš *S. aureus* pasižymėjo ir stipriomis baktericidinėmis savybėmis. Junginio **5d** MBK prilygo geriausiu baktericidiniu poveikiu iš kontrolinių antibiotikų pasižyminčiam cefuroksimui, o ši vertė junginio **5b** atveju buvo dukart mažesnė. Kitų nepaminėtų junginių baktericidinės ir bakteriostatinės savybės buvo silpnesnės. O hidrazonas **8b**, pirazolo fragmentą turintis junginys **9**, izatino fragmentą struktūroje turintis junginys **11**, butano dirūgšties darinys **13**, hidrazinkarbo(tio)amidai **14**, **16**, triazolo dariniai **15**, **17**, benzimidazoliai **18 a, d** ir dialkilintas hidrazono darinys **19** baktericidiniu veikimu prieš *S. aureus* nepasižymėjo visai.



3.3 pav. Junginių 2-21 antibakterinis aktyvumas prieš *L. monocytogenes* ATCC 7644

L. monocytogenes yra gramteigiama, sporų nesudaranti, judri, lazdelės formos bakterija. Tai yra vienas virulentiškiausių per maistą plintančių patogenų [131]. Iš visų tyrimo metu gautų naujų junginių, tik tiofeno ir furfurolo heterociklinius žiedus turinys junginiai **5 b-d** pasižymėjo stipriomis antibakterinėmis savybėmis. Junginio **5b**, minimali slopinanti koncentracija (MIK) buvo 2 kartus mažesnė nei antros kartos cefalosporino – cefuroksimo, tačiau minimali baktericidinė koncentracija buvo 2 kartus didesnė. Šio bei kitų junginių, pasižyminčių antibakterinėmis savybėmis, veikimas gali būti siejamas su DNR, RNR, ląstelės sienelės arba baltymų sintezės slopinimu. Laktaminį žiedą turintiems junginiams būdingas ląstelės sienelės peptidoglikano sluoksnio sintezės slopinimas. Tokie junginiai trukdo transpeptidazės, transglikozilazės ir (arba) karboksiptidazės rūšies fermentų, atsakingų už galutinį peptidoglikano sintezės etapą, normaliam veikimui, dėl ko bakterijos žūva [132].



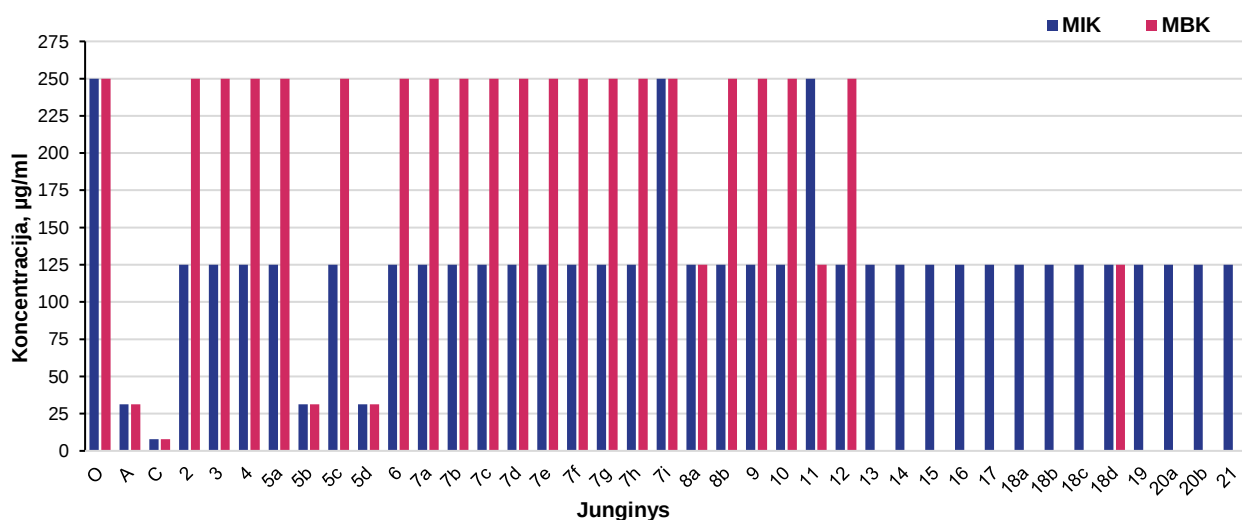
3.4 pav. Junginių 2-21 antibakterinis aktyvumas prieš *B. cereus* ATCC 11778

B. cereus yra gramteigiama lazdelės formos bakterija, dažniausiai randama dirvožemyje ir maiste. Šios bakterijos sudaro ir sporas, ir bioplėveles, todėl maisto pramonei kelia papildomas maisto užterštumo rizikas [133]. Nustatyta junginio **5b** MIK buvo 2 kartus mažesnė nei oksacilino ir 4 kartus mažesnė nei ampicilino. Junginio **5d** ir *N*-alkilintą benzimidazolo fragmentą turinčio junginio **21** MIK buvo lygi ampicilino MIK (15,60 µg/ml) ir 2 kartus mažesnė nei cefuroksimo. Stipriausiomis

baktericidinėmis savybėmis prieš *B. cereus* pasižymėjo junginys **5b**. Gauta minimali baktericidinė koncentracija – 31,20 µg/ml.

P. aeruginosa yra gramneigiama lazdelės formos bakterija, galinti sukelti augalų, gyvūnų ir žmonių ligas. Tai daugeliui vaistų atsparus patogenas, galintis sukelti pneumoniją ir sepsį [134]. Nei vienas iš tirtų junginių nepasižymėjo stipresnėmis antibakterinėmis savybėmis prieš *P. aeruginosa* nei ampicilinas, kurio nustatytos MIK ir MBK vertės lygios 31,25 µg/ml.

Tyrimo metu susintetintų junginių antibakterinis aktyvumas buvo ištestuotas ir prieš *E. coli*. Tai gramneigiama, sporų nesudaranti ir bioplevėles formuojanti žarnyno lazdelė. Didžiausiu antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo hidrazonai **5b** ir **5d**, struktūroje turintys 5-nitro-2-tiofeno ir 5-nitro-2-furfurolo fragmentus. Šių junginių MIK ir MBK vertės buvo lygios nustatytoms ampicilino MIK ir MBK vertėms (31,25 µg/ml) ir 4 kartus didesnė nei cefuroksimo (7,80 µg/ml). Kitų junginių minimalios inhibicinės koncentracijos vertės buvo ≤125 µg/ml. Daugelio junginių minimali baktericidinė koncentracija siekė 250 µg/ml arba baktericidiniu poveikiu prieš *E. coli* nepasižymėjo visai.



3.5 pav. Junginių 2-21 antibakterinis aktyvumas prieš *E. coli* ATCC 8739

Iš pateiktų rezultatų matome, kad junginiai **5b** ir **5d** pasižymėjo plačiausiu veikimo spektru. Jiems būdingas antibakterinis aktyvumas prieš visas tirtas bakterijų padermes, tačiau stipriausias bakteriostatinis veikimas pastebėtas prieš gramteigiamas *S. aureus* (3,90 µg/ml) ir *L. monocytogenes* (3,90 µg/ml – junginys **5b** ir 7,80 µg/ml – junginys **5d**). Stipriausiomis antibakterinėmis savybėmis pasižymėjo hidrazonai, struktūroje turintys 5-nitro-2-tiofeno ir 5-nitro-2-furfurolo struktūras.

Rekomendacijos

Šis tyrimas parodė, kad organinės sintezės būdu galima nesudėtingai gauti įvairius pirolidinonų darinius, kuriems būdingas antioksidacinis ir antibakterinis aktyvumas. Tęsiant pradėtus tyrimus reikėtų susintetinti įvairesnių struktūrų darinius, atlikti biologiniu aktyvumu pasižyminčių junginių cheminę modifikaciją ir įvertinti platesnio spektro biologines savybes.

Pirmiausia būtų galima padidinti tiriamų junginių įvairovę. Dariniai struktūroje turintys sulfanilamido, γ -aminorūgšties, 1,2,4-triazino fragmentus galimai pasižymėtų stipresniu antibakteriniu aktyvumu. Teigiamą pokytį gautų junginių farmakologinėms savybėms galėtų turėti ir jų modifikavimas, pavyzdžiui, alkilinimas, sulfonamido arba nitro bei kitų biologiškai aktyvių funkcinių grupių ir pakaitų įvedimas į junginių struktūras. Halogenintos molekulės neretai pasižymi geromis priešvėžinėmis ir antivirusinėmis savybėmis, todėl būtų naudinga ištirti pradinės karboksirūgšties halogeninimo, pavyzdžiui, chlorinimo, reakcijas. Atlikus sėkmingą junginio funkcionalizavimą, taikytą šio projekto metu, ir biologinių savybių tyrimus, būtų galima palyginti šiame darbe gautų junginių biologinį aktyvumą su chlorintų analogų biologiniu aktyvumu. Siekiant objektyviai įvertinti visų gautų produktų biologinį potencialą svarbu atlikti ir kitų farmakologinių savybių tyrimus. Atsižvelgiant į tyrime gautų produktų struktūrą, toliau rekomenduotina tirti jų priešgrybelines, antivirusines ir priešvėžines savybes. Pagal šio projekto metu gautus pirminius biologinio aktyvumo rezultatus daugiausiai dėmesio toliau būtų verta skirti tiofeno ir furano žiedų struktūroje turintiems dariniams **5 a-d** bei benzimidazolų dariniams **18 a-d** – jų platesnių farmakologinių savybių tyrimams ir struktūros modifikavimui.

Didelė susintetintų ir modifikuotų junginių įvairovė bei plataus spektro biologiniai tyrimai leistų išsirinkti junginius, kurie galėtų būti potencialūs vaistai kandidatai ir į kurių tolimesnius tyrimus verta investuoti. Tokiems junginiams toliau galėtų būti atliekamas farmakologinio pralaidumo charakteristikų nustatymas, farmakologinės ekskrecijos savybių tyrimas, sąveikos su pagrindinėmis žmogaus citochromo metabolizmo sistemomis identifikavimas, citotoksiškumo, hepatotoksiškumo, imunotoksiškumo ir kiti toksikologiniai bei atitinkami selektyvumo ir aktyvumo tyrimai. Gauti rezultatai leistų įvertinti susintetintų junginių pritaikomumą, o taip pat atitinkamai planuoti ir tęsti tyrimus. Visos išvardintos rekomendacijos, papildomos analizės ir tyrimai galėtų prisidėti prie sėkmingo vaisto kandidato kūrimo ir vystymo proceso.

Išvados

1. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgštį (**2**) galima gauti reakcijos tarp 2-amino-4-metilfenolio ir itakono rūgšties metu, o pasinaudojus jos funkcinėmis savybėmis, galima atlikti modifikaciją ir susintetinti metil-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksilatą (**3**) bei 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidą (**4**).
2. Gautas aminorūgšties hidrazidas **4** dalyvauja kondensacijos reakcijose su įvairiai pakeistais aromatiniais aldehidais susidarant *N'*-benziliden-1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbohidrazidams **5 a-d**, **6**, **7 a-i**. Reakcijose su mono- ir diketonais atitinkamai gaunami 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N'*-(pakeisti-2-iliden)pirolidin-3-karbohidrazidai **8 a, b** bei **12** ir 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-4-(3,5-dimetil-1*H*-pirazol-1-karbonil)pirolidin-2-onas (**9**), o su 2,5-heksandionu – 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-*N*-(2,5-dimetil-1*H*-pirol-1-il)-5-oksopirolidin-3-karboksamidas (**10**). Vykstant hidrazido **4** reakcijai su itakono rūgštimi susintetinta 2-/[2-[1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonil]hidrazinil]metil/butano dirūgštis (**13**).
3. Atlikus sėkmingą aminorūgšties hidrazido **4** transformaciją į 2-[1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karbonol]-*N*-fenilhidrazin-1-karbo(tio)amidą, triazolo žiedą turintys dariniai **15** ir **17** gali būti gaunami šarminės ciklizacijos būdu naudojant 4 % NaOH vandeninį tirpalą.
4. Karboksirūgštis **2** reaguoja su benzen-1,2-diamino dariniais ir sudaro benzimidazolus.
5. Hidrazonų alkilavimo reakcijos vyksta lengviau nei benzimidazolų, o šių alkilavimo reakcijos produktai priklauso nuo naudojamo etiljodido pertekliaus kiekio.
6. Daugeliui gautų junginių būdingas antioksidacinis aktyvumas, tačiau nei vieno iš junginių aktyvumas nebuvo didesnis už kontrolinio junginio BHT aktyvumą. Plačiausio spektro ir stipriausiomis antibakterinėmis savybėmis pasižymėjo hidrazonų klasės dariniai, struktūroje turintys 5-nitro-2-tiofeno ir 5-nitro-2-furfurolo fragmentus.

Literatūros sąrašas

1. WRIGHT, P. M., SEIPLE, I. B. ir MYERS, A. G. The evolving role of chemical synthesis in antibacterial drug discovery. *Angewandte Chemie - International Edition*. 2014. Vol. 53, no. 34, p. 8840–8869. DOI 10.1002/anie.201310843.
2. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Estimated number of new cases in 2020, World, both sexes, all ages (excl. NMSC). *International Agency for Research on Cancer*. 2020. [Žiūrėta 2023-05-15]. Tinkle: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-table?v=2020&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&group_cancer=1&i
3. ZUGAZAGOITIA, J., GUEDES, C., PONCE, S., FERRER, I., MOLINA-PINELO, S. ir PAZ-ARES, L. Current Challenges in Cancer Treatment. *Clinical Therapeutics*. 2016. Vol. 38, no. 7, p. 1551–1566. DOI 10.1016/j.clinthera.2016.03.026.
4. ADAMSON, C. S., CHIBALE, K., GOSS, R. J. M., JASPARS, M., NEWMAN, D. J. ir DORRINGTON, R. A. Antiviral drug discovery: Preparing for the next pandemic. *Chemical Society Reviews*. 2021. Vol. 50, no. 6, p. 3647–3655. DOI 10.1039/d0cs01118e.
5. BHAT, A. A., SINGH, I., TANDON, N. ir TANDON, R. Structure activity relationship (SAR) and anticancer activity of pyrrolidine derivatives: Recent developments and future prospects (A review). *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 246, no. 2022, p. 114954. DOI 10.1016/j.ejmech.2022.114954.
6. SUN, S. ir FU, J. Methyl-containing pharmaceuticals: Methylation in drug design. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2018. Vol. 28, no. 20, p. 3283–3289. DOI 10.1016/j.bmcl.2018.09.016.
7. BRUNO, C. D., HARMATZ, J. S., DUAN, S. X., ZHANG, Q., CHOW, C. R. ir GREENBLATT, D. J. Effect of lipophilicity on drug distribution and elimination: Influence of obesity. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2021. Vol. 87, no. 8, p. 3197–3205. DOI 10.1111/bcp.14735.
8. LEESON, P. D. ir SPRINGTHORPE, B. The influence of drug-like concepts on decision-making in medicinal chemistry. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2007. Vol. 6, no. 11, p. 881–890. DOI 10.1038/nrd2445.
9. LEONETTI, F., CAPALDI, C., PISANI, L., NICOLOTTI, O., MUNCIPINTO, G., STEFANACHI, A., CELLAMARE, S., CACCIA, C. ir CAROTTI, A. Solid-phase synthesis and insights into structure-activity relationships of safinamide analogues as potent and selective inhibitors of type B monoamine oxidase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2007. Vol. 50, no. 20, p. 4909–4916. DOI 10.1021/jm070725e.
10. DEMETRI, G. D., VON MEHREN, M., BLANKE, C. D., VAN DEN ABEELE, A. D., EISENBERG, B., ROBERTS, P. J., HEINRICH, M. C., TUVESON, D. A., SINGER, S., JANICEK, M., FLETCHER, J. A., SILVERMAN, S. G., SILBERMAN, S. L., CAPDEVILLE, R., KIESE, B., PENG, Bin, DIMITRIJEVIC, S., DRUKER, B. J., CORLESS, C., FLETCHER, C. D. M. ir JOENSUU, H. Efficacy and Safety of Imatinib Mesylate in Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors. *New England Journal of Medicine*. 2002. Vol. 347, no. 7, p. 472–480. DOI 10.1056/nejmoa020461.
11. ZIMMERMANN, J., BUCHDUNGER, E., METT, H., MEYER, T. ir LYDON, N. B. Potent and selective inhibitors of the Abl-kinase: Phenylaminopyrimidine (PAP) derivatives. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 1997. Vol. 7, no. 2, p. 187–192. DOI 10.1016/S0960-894X(96)00601-4.
12. NAGAR, B., BORNHANN, W. G., PELLICENA, P., SCHINDLER, T., VEACH, D. R., MILLER, W. T., CLARKSON, B. ir KURIYAN, J. Crystal structures of the kinase domain of c-Abl in complex with the small molecule inhibitors PD173955 and imatinib (STI-571). *Cancer Research*. 2015. Vol. 62, no. 15, p. 4236–4243.
13. LEUNG, C. S., LEUNG, S. S. F., TIRADO-RIVES, J. ir JORGENSEN, W. L. Methyl Effects

- on Protein – Ligand Binding. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 55, no. 9, p. 4489–500 DOI: 10.1021/jm3003697 .
14. ANGELL, R., ASTON, N. M., BAMBOROUGH, P., BUCKTON, J. B., COCKERILL, S., DEBOECK, S. J., EDWARDS, C. D., HOLMES, D. S., JONES, K. L., LAINE, D. I., PATEL, S., SMEE, P. A., SMITH, K. J., SOMERS, D. O. ir WALKER, A. L. Biphenyl amide p38 kinase inhibitors 3: Improvement of cellular and in vivo activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 2008. Vol. 18, no. 15, p. 4428–4432. DOI 10.1016/j.bmcl.2008.06.048.
 15. HALE, J. J., MILLS, S. G., MACCOSS, M., FINKE, P. E., CASCIERI, M. A., SADOWSKI, S., BER, E., CHICCHI, G. G., KURTZ, M. ir METZGER, J. Structural optimization affording 2-(R)-(1-(R)-3,5-bis(trifluoromethyl)phenylethoxy)-3'-(S)-(4-fluoro)phenyl-4-(3-oxo-1,2,4-triazol-5-yl)methylmorpholine, a potent, orally active, long-acting morpholine acetal human NK-1 receptor antagonist. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1998. Vol. 41, no. 23, p. 4607–4614. DOI 10.1021/jm980299k.
 16. CASTILLO, M. ir SMITH, P. C. Disposition and reactivity of ibuprofen and ibufenac acyl glucuronides in vivo in the Rhesus monkey and in vitro with human serum albumin. *Drug Metabolism and Disposition*. 1995. Vol. 23, no. 5, p. 566 – 572.
 17. IRVINE, J., AFROSE, A. ir ISLAM, N. Formulation and delivery strategies of ibuprofen: challenges and opportunities. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2018. Vol. 44, no. 2, p. 173–183. DOI 10.1080/03639045.2017.1391838.
 18. ESTEVES, F., RUEFF, J. ir KRANENDONK, M. The central role of cytochrome p450 in xenobiotic metabolism—a brief review on a fascinating enzyme family. *Journal of Xenobiotics*. 2021. Vol. 11, no. 3, p. 94–114. DOI 10.3390/jox11030007.
 19. LOMBARDINO, J. G. ir WISEMAN, E. H. Sudoxicam and Related N-Heterocyclic Carboxamides of 4-Hydroxy-2H-1,2-benzothiazine 1,1-Dioxide. Potent Nonsteroidal Antiinflammatory Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1972. Vol. 15, no. 8, p. 848–849. DOI 10.1021/jm00278a016.
 20. LAZER, E. S., MIAO, C. K., CYWIN, C. L., SORCEK, R., WONG, H. C., MENG, Z., POTOCKI, I., HOERMANN, M. A., SNOW, R. J., TSCHANTZ, M. A., KELLY, T. A., MCNEIL, D. W., COUTTS, S. J., CHURCHILL, L., GRAHAM, A. G., DAVID, E., GROB, P. M., ENGEL, W., MEIER, H. ir TRUMMLITZ, G. Effect of structural modification of enol-carboxamide-type nonsteroidal antiinflammatory drugs on COX-2/COX-1 selectivity. *Journal of Medicinal Chemistry*. 1997. Vol. 40, no. 6, p. 980–989. DOI 10.1021/jm9607010.
 21. BARNETTE, D. A., SCHLEIFF, M. A., OSBORN, L. R., FLYNN, N., MATLOCK, M., SWAMIDASS, S. J. ir MILLER, G. P. Dual mechanisms suppress meloxicam bioactivation relative to sudoxicam. *Toxicology*. 2020. Vol. 440, no. 5, p. 152478. DOI 10.1016/j.tox.2020.152478.
 22. SMITH, D. A., BEAUMONT, K., MAURER, T. S. ir DI, L. Relevance of Half-Life in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2018. Vol. 61, no. 10, p. 4273–4282. DOI 10.1021/acs.jmedchem.7b00969.
 23. PENNING, T. D., TALLEY, J. J., BERTENSHAW, S. R., CARTER, J. S. ir COLLINS, P. W. Synthesis and Biological Evaluation of the 1, 5-Diarylpyrazole Class of Cyclooxygenase-2 Inhibitors: Identification of 4-[5-(4-Methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-pyrazol-1-yl] benzenesulfonamide (SC-58635, Celecoxib). 1997. Vol. 2623, no. 96, p. 1347–1365.
 24. TANG, C., SHOU, M., MEI, Q., RUSHMORE, T. H. ir RODRIGUES, A. D. Major role of human liver microsomal cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) in the oxidative metabolism of celecoxib, a novel cyclooxygenase-II inhibitor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2000. Vol. 293, no. 2, p. 453–459.
 25. EL-HAJ, B. M., AHMED, S. B. M., GARAWI, M. A. ir ALI, H. S. Linking aromatic hydroxy metabolic functionalization of drug molecules to structure and pharmacologic activity. *Molecules*. 2018. Vol. 23, no. 9. DOI 10.3390/molecules23092119.
 26. SNEADER, W. *Drug Discovery: A History*. John Wiley & Sons, Ltd, 2005.
 27. GREENBERG, L. A. ir LESTER, D. The metabolic fate of acetanilid and other aniline

- derivatives. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1946. Vol. 88, no. 1, p. 87–98.
28. BRODIE, B. B. ir AXELROD, J. The estimation of acetanilide and its metabolic products, aniline, N-acetyl p-aminophenol and p-amino-phenol, free and total conjugated, in biological fluids and tissues. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 1948. Vol. 94, no. 1, p. 22–28.
 29. BRODIE, B. B. ir AXELROD, J. The fate of acetophenetidin (phenacetin) in man and methods for the estimation of acetophenetidin and its metabolites in biological material. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1949. Vol. 97, no. 1, p. 58–67.
 30. GRAHAM, G. G., DAVIES, M. J., DAY, R. O., MOHAMUDALLY, A. ir SCOTT, K. F. The modern pharmacology of paracetamol: therapeutic actions, mechanism of action, metabolism, toxicity and recent pharmacological findings. *Inflammopharmacology*. 2013. Vol. 21, no. 3, p. 201–232. DOI 10.1007/s10787-013-0172-x.
 31. ARONOFF, D. M., OATES, J. A. ir BOUTAUD, O. New insights into the mechanism of action of acetaminophen: Its clinical pharmacologic characteristics reflect its inhibition of the two prostaglandin H₂ synthases. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*. 2006. Vol. 79, no. 1, p. 9–19. DOI 10.1016/j.clpt.2005.09.009.
 32. MAZALEUSKAYA, L. L., SANGKUHL, K., THORN, C. F., FITZGERALD, G. A., ALTMAN, R. B. ir KLEIN, T. E. PharmGKB summary: pathways of acetaminophen metabolism at the therapeutic versus toxic doses. *Pharmacogenetics and genomics*. 2015. Vol. 25, no. 8, p. 416–426. DOI 10.1097/FPC.0000000000000150.
 33. CRAMER, J., SAGER, C. P. ir ERNST, B. Hydroxyl Groups in Synthetic and Natural-Product-Derived Therapeutics: A Perspective on a Common Functional Group. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 62, no. 20, p. 8915–8930. DOI 10.1021/acs.jmedchem.9b00179.
 34. DAVIES, M., NOWOTKA, M., PAPADATOS, G., DEDMAN, N., GAULTON, A., ATKINSON, F., BELLIS, L. ir OVERINGTON, J. P. ChEMBL web services: Streamlining access to drug discovery data and utilities. *Nucleic Acids Research*. 2015. Vol. 43, no. W1, p. W612–W620. DOI 10.1093/nar/gkv352.
 35. SAGER, C. P., ERIŞ, D., SMIEŠKO, M., HEVEY, R. ir ERNST, B. What contributes to an effective mannose recognition domain? *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 2017. Vol. 13, p. 2584–2595. DOI 10.3762/bjoc.13.255.
 36. VEDANI, A. ir HUHTA, D. W. A new force field for modeling metalloproteins. *Journal of the American Chemical Society*. 1990. Vol. 112, no. 12, p. 4759–4767. DOI 10.1021/ja00168a021.
 37. STEINER, T. *The whole palette of hydrogen bonds*. 2002.
 38. JEFFREY, G. A. *An Introduction to Hydrogen Bonding*. Oxford University Press, 1997. Topics in Physical Chemistry - Oxford University Press. ISBN 9780195095494.
 39. ABDEL-HACK, M. E., EL-SAADONY, M. T., SHAFI, M. E., ZABERMAWI, N. M., ARIF, M., BATIHA, G. E., KHAFAGA, A. F., ABDEL-HAKIM, Y. M. ir AL-SAGHEER, A. A. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. Vol. 164, p. 2726–2744. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.153.
 40. MARTINS, N., BARROS, L. ir FERREIRA, I. C.F. R. In vivo antioxidant activity of phenolic compounds: Facts and gaps. *Trends in Food Science and Technology*. 2016. Vol. 48, p. 1–12. DOI 10.1016/j.tifs.2015.11.008.
 41. VUOLO, M. M., LIMA, V. S. ir MÁRIO, R. Phenolic Compounds. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*. 2019. p. 33–50. DOI 10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5.
 42. GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*. 2020. Vol. 94, no. 3, p. 651–715. DOI 10.1007/s00204-020-02689-3.
 43. YANG, Y. H. ir SHI, M. Ring-expanding reaction of cyclopropyl amides with

- triphenylphosphine and carbon tetrahalide. *Journal of Organic Chemistry*. 2005. Vol. 70, no. 21, p. 8645–8648. DOI 10.1021/jo0516988.
44. LEBEDEV, A. T., MAZUR, D. M., KUDELIN, A. I., FEDOTOV, A. N., GLORIOZOV, I. P., USTYNYUK, Y. A. ir ARTAEV, V. B. Cyclization of N-arylcyclopropanecarboxamides into N-arylpyrrolidin-2-ones under electron ionization and in the condensed phase. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2016. p. 2416–2422. DOI 10.1002/rcm.7717.
 45. GILLER, M., MEIJERE, A. ir BAIRD, K. Spiroanellated 1-Cyclopropyldihydro-2-azaazulenes: Cyclopropylimine Rearrangement to Cyclohepta [a] pyrrolizines. *Synlett*. 1992. Vol. 1992, no. 06, p. 524–526. DOI 10.1055/s-1992-21402.
 46. TAMURA, K., MIZUKAMI, H., MAEDA, K., WATANABE, H. ir UNEYAMA, K. One-pot synthesis of trifluoroacetimidoyl halides. *The Journal of Organic Chemistry*. 1993. Vol. 58, no. 1, p. 32–35. DOI 10.1021/jo00053a011.
 47. GAGNÉ-BOULET, M., BOUZRIBA, C., CHAVEZ ALVAREZ, A. C. ir FORTIN, S. Phenyl 4-(2-oxopyrrolidin-1-yl)benzenesulfonates and phenyl 4-(2-oxopyrrolidin-1-yl)benzenesulfonamides as new antimicrotubule agents targeting the colchicine-binding site. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2021. Vol. 213. DOI 10.1016/j.ejmech.2020.113136.
 48. WALY, M. A., YOSSIF, S. A., IBRAHIM, I. T. ir SOFAN, M. A. Efficient Synthesis of N-Substituted 2,4-Azepandione Ring System as an Active Intermediate for Heterocyclic Syntheses. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 2017. Vol. 54, no. 2, p. 1318–1326. DOI 10.1002/jhet.2709.
 49. ZHENG, Y., NIE, X., LONG, Y., JI, L., FU, H., ZHENG, X., CHEN, H. ir LI, R. Ruthenium-catalyzed synthesis of: N -substituted lactams by acceptorless dehydrogenative coupling of diols with primary amines. *Chemical Communications*. 2019. Vol. 55, no. 82, p. 12384–12387. DOI 10.1039/c9cc06339k.
 50. CHOWDHURY, S., CHAUHAN, G., KUMAR, A., CHATURVEDI, B. ir BEHERA, C. Copper-Mediated Intramolecular Amidation/C–N-Coupling Cascade Sequence: Straightforward One-Pot Synthesis of N-Aryl γ - and δ -Lactams by Using Amino Acids as Precursors. *European Journal of Organic Chemistry*. 2022. Vol. 2022, no. 41. DOI 10.1002/ejoc.202200850.
 51. ZHAO, B., WANG, M. ir SHI, Z. Single-Electron-Transfer-Induced C(sp³)-N Couplings via C-C Bond Cleavage of Cycloketoxime Esters. *Journal of Organic Chemistry*. 2019. Vol. 84, no. 16, p. 10145–10159. DOI 10.1021/acs.joc.9b01338.
 52. ZHAO, H. ir LEONORI, D. Minimization of Back-Electron Transfer Enables the Elusive sp³ C–H Functionalization of Secondary Anilines. *Angewandte Chemie - International Edition*. 2021. Vol. 60, no. 14, p. 7669–7674. DOI 10.1002/anie.202100051.
 53. PENG, X., WANG, H. H., CAO, F., ZHANG, H. H., LU, Y. M., HU, X. L., TAN, W. ir WANG, Z. TBHP promoted demethylation of α -amino carbonyl compounds: A concise approach to substituted γ -lactams. *Organic Chemistry Frontiers*. 2019. Vol. 6, no. 11, p. 1837–1841. DOI 10.1039/c9qo00103d.
 54. ZHOU, W., FAN, W., JIANG, Q., LIANG, Y. F. ir JIAO, N. Copper-Catalyzed Aerobic Oxidative C-C Bond Cleavage of Unstrained Ketones with Air and Amines. *Organic Letters*. 2015. Vol. 17, no. 10, p. 2542–2545. DOI 10.1021/acs.orglett.5b01114.
 55. ZHANG, X. ir WANG, L. TBHP/I₂-promoted oxidative coupling of acetophenones with amines at room temperature under metal-free and solvent-free conditions for the synthesis of α -ketoamides. *Green Chemistry*. 2012. Vol. 14, no. 8, p. 2141–2145. DOI 10.1039/c2gc35489f.
 56. KAHREMANY, S., BABAEV, I., HASIN, P., TAMIR, T.Y., BEN-ZUR, T., COHEN, G., JIANG, Z., WEINTRAUB, S., OFFEN, D., RAHIMIPOUR, S., MAJOR, M. B., SENDEROWITZ, H. ir GRUZMAN, A. Computer-Aided Design and Synthesis of 1-{4-[(3,4-Dihydroxybenzylidene)amino]phenyl}-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic Acid as an Nrf2 Enhancer. *ChemPlusChem*. 2018. Vol. 83, no. 5, p. 320–333. DOI 10.1002/cplu.201700539.

57. LIN, X., CHEN, W., QIU, Z., GUO, L., ZHU, W., LI, W., WANG, Z., ZHANG, W., ZHANG, Z., RONG, Y., ZHANG, M., YU, L., ZHONG, S., ZHAO, R., WU, X., WONG, J. C. ir TANG, G. Design and synthesis of orally bioavailable aminopyrrolidinone histone deacetylase 6 inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 58, no. 6, p. 2809–2820. DOI 10.1021/jm502011f.
58. SONIA, G. ir RAVI, T. K. Oxadiazolo pyrrolidine carboxamides as enoyl-ACP reductase inhibitors: Design, synthesis and antitubercular activity screening. *Medicinal Chemistry Research*. 2013. Vol. 22, no. 7, p. 3428–3433. DOI 10.1007/s00044-012-0340-3.
59. ALTAMIMI, A. S. A., BAWA, S., ATHAR, F., HASSAN, M. Q., RIADI, Y. ir AFZAL, O. Pyrrolidin-2-one linked benzofused heterocycles as novel small molecule monoacylglycerol lipase inhibitors and antinociceptive agents. *Chemical Biology and Drug Design*. 2020. Vol. 96, no. 6, p. 1418–1432. DOI 10.1111/cbdd.13751.
60. MICKEVICIUS, M., BERESNEVICIUS, Z. J., MICKEVICIUS, V. ir MIKULSKIENE, G. Condensation products of 1-Aryl-4-carboxy-2-Pyrrolidinones with o-diaminoarenes, o-aminophenol, and their structural studies. *Heteroatom Chemistry*. 2006. Vol. 17, no. 1, p. 47–56. DOI 10.1002/hc.20171.
61. GEESI, M. H., OUERGHI, O., DEHBI, O. ir RIADI, Y. Metal-doped TiO₂ nanocatalysts in an MX₂/urea mixture for the synthesis of benzothiazoles bearing substituted pyrrolidin-2-ones: Enhanced catalytic performance and antibacterial activity. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2021. Vol. 9, no. 4, p. 105344. DOI 10.1016/j.jece.2021.105344.
62. RIADI, Y., GEESI, M. H., OUERGHI, O., DEHBI, O., ELSANOUSI, A. ir AZZALLOU, R. Synergistic Catalytic Effect of the Combination of Deep Eutectic Solvents and Hierarchical H-TiO₂ Nanoparticles toward the Synthesis of Benzimidazole-Linked Pyrrolidin-2-One Heterocycles: Boosting Reaction Yield. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 2022. Vol. 42, no. 10, p. 6868–6882. DOI 10.1080/10406638.2021.1991397.
63. RIADI, Y., OUERGHI, O., GEESI, M. H., KAIBA, A., ANOUAR, E. H. ir GUIONNEAU, P. Efficient novel eutectic-mixture-mediated synthesis of benzoxazole-linked pyrrolidin-2-one heterocycles. *Journal of Molecular Liquids*. 2021. Vol. 323. DOI 10.1016/j.molliq.2020.115011.
64. PEREIRA, B., DE BASTOS, A. V., TEIXEIRA, W. K. O., SILVA, S. M., FLORES, A. F. C. ir FLORES, D. C. Synthesis of diverse N-acyl-pyrazoles via cyclocondensation of hydrazides with α -oxoketene dithioacetal. *Molecular Diversity*. 2017. Vol. 21, no. 4, p. 1021–1026. DOI 10.1007/s11030-017-9771-6.
65. INTAITĖ, V. Synthesis and structure of new 1,3-disubstituted 5-oxopyrrolidine derivatives. *CHEMIJA*. 2012. Vol. 23, no. 1, p. 52–60.
66. MICKEVIČIUS, V. ir VAICKELIONIENĖ, R. Condensation products of 1-aryl-4-hydrazinocarbonyl-2-pyrrolidinones with diketones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2008. Vol. 44, no. 2, p. 170–172. DOI 10.1007/s10593-008-0031-7.
67. SEMENETS, A. P., SULEIMAN, M. M., FEDOSOV, A. I., SHTRYGOL, S. Y., HAVRYLOV, I. O., MISHCHENKO, M. V., KOVALENKO, S. M., GEORGIYANTS, V. A. ir PEREKHODA, L. O. Synthesis, docking, and biological evaluation of novel 1-benzyl-4-(4-(R)-5-sulfonylidene-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl)pyrrolidin-2-ones as potential nootropic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 244, no. 8, p. 114823. DOI 10.1016/j.ejmech.2022.114823.
68. MICKEVIČIUS, V., VAICKELIONIENĖ, R. ir SAPIJANSKAITĖ, B. Synthesis of substituted 1,3,4-oxadiazole derivatives. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2009. Vol. 45, no. 2, p. 215–218. DOI 10.1007/s10593-009-0252-4.
69. BEVINGTON, J. C. Chemical Reviews. *Nature*. 1970. Vol. 227, no. 5256, p. 419–419. DOI 10.1038/227419a0.
70. FONKUI, T. Y., IKHILE, M. I., NJOBEH, P. B. ir NDINTEH, D. T. Benzimidazole schiff base derivatives: Synthesis, characterization and antimicrobial activity. *BMC Chemistry*. 2019. Vol. 13, no. 1, p. 1–11. DOI 10.1186/s13065-019-0642-3.

71. TUMOSIENĖ, I., PELECKIS, A., JONUŠKIENĖ, I., VAICKELIONIENĖ, R., KANTMINIENĖ, K., ŠIUGŽDAITĖ, J., BERESNEVIČIUS, Z. J. ir MICKEVIČIUS, V. Synthesis of novel 1,2- and 2-substituted benzimidazoles with high antibacterial and antioxidant activity. *Monatshefte fur Chemie*. 2018. Vol. 149, no. 3, p. 577–594. DOI 10.1007/s00706-017-2066-x.
72. WRIGHT, J. B. The chemistry of the benzimidazoles. *Chemical Reviews*. 1951. Vol. 48, no. 3, p. 397–541. DOI 10.1021/cr60151a002.
73. SUN, Z., BOTTARI, G. ir BARTA, K. Supercritical methanol as solvent and carbon source in the catalytic conversion of 1,2-diaminobenzenes and 2-nitroanilines to benzimidazoles. *Green Chemistry*. 2015. Vol. 17, no. 12, p. 5172–5181. DOI 10.1039/c5gc01040c.
74. DEVI, R., MUKHOPADHYAY, S., JYOTI DAS, A. ir KUMAR DAS, S. Base-mediated synthesis of benzimidazole-fused 1,4-benzoxazepines via sequential intermolecular epoxide ring-opening/intramolecular S_NAr reactions. *Tetrahedron Letters*. 2020. Vol. 61, no. 46, p. 152491. DOI 10.1016/j.tetlet.2020.152491.
75. MARINESCU, M. *Chemistry and Applications of Benzimidazole and its Derivatives*. 2019. ISBN 978-1-78984-553-2.
76. MICKEVIČIENĖ, K., VOSKIENĖ, A. ir MICKEVIČIUS, V. Synthesis of some 1- and 2-carboxyalkyl substituted benzimidazoles and their derivatives. *Research on Chemical Intermediates*. 2014. Vol. 40, no. 4, p. 1619–1631. DOI 10.1007/s11164-013-1067-6.
77. MUNEER, S., MEMON, S., PAHNWAR, Q. K., BHATTI, A. A. ir KHOKHAR, T. S. Synthesis and investigation of antimicrobial properties of pyrrolidine appended calix[4]arene. *Journal of Analytical Science and Technology*. 2017. Vol. 8, no. 1, p. 4–9. DOI 10.1186/s40543-017-0111-3.
78. YANG, Z., SUOMALAINEN, T., MÄYRÄ-MÄKINEN, A. ir HUTTUNEN, E. Antimicrobial activity of 2-Pyrrolidone-5-Carboxylic acid produced by lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*. 1997. Vol. 60, no. 7, p. 786–790. DOI 10.4315/0362-028x-60.7.786.
79. ANUSH, S. M., VISHALAKSHI, B., KALLURAYA, B. ir MANJU, N. Synthesis of pyrazole-based Schiff bases of Chitosan: Evaluation of antimicrobial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018. Vol. 119, p. 446–452. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2018.07.129.
80. VERMA, G., MARELLA, A., SHAQUIQUZZAMAN, M., AKHTAR, M., ALI, M. R. ir ALAM, M. M. A review exploring biological activities of hydrazones. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*. 2014. Vol. 6, no. 2, p. 69–80. DOI 10.4103/0975-7406.129170.
81. HEARN, M. J., CYNAMON, M. H., CHEN, M. F., COPPINS, R., DAVIS, J., JOO-ON KANG, H., NOBLE, A., TU-SEKINE, B., TERROT, M. S., TROMBINO, D., THAI, M., WEBSTER, E. R. ir WILSON, R. Preparation and antitubercular activities in vitro and in vivo of novel Schiff bases of isoniazid. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, no. 10, p. 4169–4178. DOI 10.1016/j.ejmech.2009.05.009.
82. POPIOŁEK, Ł. ir BIERNASIUK, A. Hydrazide-hydrazones of 3-methoxybenzoic acid and 4-tert-butylbenzoic acid with promising antibacterial activity against *Bacillus* spp. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 31, p. 62–69. DOI 10.3109/14756366.2016.1170012.
83. RUDRAPAL, M., SATYANANDAM, R. S., SWAROOPINI, T. S., LAKSHMI, T. N., JAHA, S. K. ir ZAHEERA, S. Synthesis and antibacterial activity of some new hydrazones. *Medicinal Chemistry Research*. 2013. Vol. 22, no. 6, p. 2840–2846. DOI 10.1007/s00044-012-0278-5.
84. POPIOŁEK, Ł. Updated information on antimicrobial activity of hydrazide–hydrazones. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, no. 17. DOI 10.3390/ijms22179389.
85. VICINI, P., ZANI, F., COZZINI, P. ir DOYTCHINOVA, I. Hydrazones of 1,2-benzisothiazole hydrazides: Synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2002. Vol. 37, no. 7, p. 553–564. DOI 10.1016/S0223-5234(02)01378-8.

86. JOSHI, D. ir PARIKH, K. Synthesis and evaluation of novel benzimidazole derivatives as antimicrobial agents. *Medicinal Chemistry Research*. 2014. Vol. 23, no. 3, p. 1290–1299. DOI 10.1007/s00044-013-0732-z.
87. MARINESCU, M. Synthesis of Antimicrobial Benzimidazole-Pyrazole Compounds and Their Biological Activities. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*. 2021. Vol. 10, no. 8. DOI 10.3390/antibiotics10081002.
88. GROTTESI, A., BEŠKER, N., EMERSON, A., MANELFI, C., BECCARI, A. R., FRIGERIO, F., LINDAHL, E., CERCHIA, C. ir TALARICO, C. Computational studies of SARS-CoV-2 3clpro: Insights from md simulations. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, no. 15, p. 1–18. DOI 10.3390/ijms21155346.
89. LIU, S.Y., WANG, W., KE, J. P., ZHANG, P., CHU, G. X. ir BAO, G. H. Discovery of Camellia sinensis catechins as SARS-CoV-2 3CL protease inhibitors through molecular docking, intra and extra cellular assays. *Phytomedicine*. 2022. Vol. 96, no. 2021, p. 153853. DOI 10.1016/j.phymed.2021.153853.
90. PRINS, K.C., BINNING, J. M., SHABMAN, R.S., LEUNG, D. W., AMARASINGHE, G. K. ir BASLER, C. F. Basic Residues within the Ebolavirus VP35 Protein Are Required for Its Viral Polymerase Cofactor Function. *Journal of Virology*. 2010. Vol. 84, no. 20, p. 10581–10591. DOI 10.1128/jvi.00925-10.
91. LEUNG, D. W., PRINS, K. C., BASLER, C. F. ir AMARASINGHE, G. K. Ebolavirus VP35 is a multifunctional virulence factor. *Virulence*. 2010. Vol. 1, no. 6, p. 526–531. DOI 10.4161/viru.1.6.12984.
92. EKINS, S., FREUNDLICH, J.S. ir COFFEE, M. A common feature pharmacophore for FDA-approved drugs inhibiting the Ebola virus. *F1000Research*. 2014. Vol. 3, p. 277. DOI 10.12688/f1000research.5741.1.
93. BUCKHEIT, R. W. Jr., GERMANY-DECKER, J., HOLLINGSHEAD, M. G., ALLEN, L. B., SHANNON, W. M., JANSSEN, P. A. ir CHIRIGOS, M. A. Differential antiviral activity of two TIBO derivatives against the human immunodeficiency and murine leukemia viruses alone and in combination with other anti-HIV agents. *AIDS research and human retroviruses*. 1993. Vol. 9, no. 11, p. 1097–1106. DOI 10.1089/aid.1993.9.1097.
94. NATH, J., PAUL, R., GHOSH, S. K., PAUL, J., SINGHA, B. ir DEBNATH, N. Drug repurposing and relabeling for cancer therapy: Emerging benzimidazole antihelminthics with potent anticancer effects. *Life Sciences*. 2020. Vol. 258, no. 5, p. 118189. DOI 10.1016/j.lfs.2020.118189.
95. PALIT, R., KUMAR, R., SARASWAT, N., WAL, A. ir UPADHYAYA, P. K. Benzimidazole: an Overview. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2017. Vol. 7, no. 6, p. 68–73. DOI 10.7897/2277-4343.076243.
96. SALEH, M. M., ABUARQOUB, D. A., HAMMAD, A. M., HOSSAN, M. S., AHMED, N., ASLAM, N., NASER, A., MOODY, C., LAUGHTON, C. A. ir BRADSHAW, T. D. In Vitro Anticancer Properties of Novel Bis-Triazoles. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023. Vol. 45, no. 1, p. 175–196. DOI 10.3390/cimb45010014.
97. BŁASZCZAK-ŚWIĄTKIEWICZ, K., OLSZEWSKA, P. ir MIKICIUK-OLASIK, E. Biological approach of anticancer activity of new benzimidazole derivatives. *Pharmacological reports*. 2014. Vol. 66, no. 1, p. 100–106. DOI 10.1016/j.pharep.2014.01.001.
98. SANGIOVANNI, E., FUMAGALLI, M. ir DELL'AGLI, M. *Berries: Gastrointestinal Protection against Oxidative Stress and Inflammation*. Elsevier Inc., 2017. ISBN 9780128093009.
99. HE, Guangan, SIDDIK, Zahid H, HUANG, Zaifeng, WANG, Ruoning, KOOMEN, John, KOBAYASHI, Ryuji, KHOKHAR, Abdul R ir KUANG, Jian. Induction of p21 by p53 following DNA damage inhibits both Cdk4 and Cdk2 activities. *Oncogene*. 2005. Vol. 24, no. 18, p. 2929–2943. DOI 10.1038/sj.onc.1208474.
100. LIE, P. P. Y., CHENG, C. Y. ir MRUK, D. D. The biology of the desmosome-like junction a versatile anchoring junction and signal transducer in the seminiferous epithelium.

- International review of cell and molecular biology*. 2011. Vol. 286, p. 223–269. DOI 10.1016/B978-0-12-385859-7.00005-7.
101. YI, S., SHI, W., WANG, H., MA, C., ZHANG, X., WANG, S., CONG, B. ir LI, Y. Endoplasmic Reticulum Stress PERK-ATF4-CHOP Pathway Is Associated with Hypothalamic Neuronal Injury in Different Durations of Stress in Rats. *Frontiers in neuroscience*. 2017. Vol. 11, p. 152. DOI 10.3389/fnins.2017.00152.
 102. SU, N. ir KILBERG, M.S. C/EBP homology protein (CHOP) interacts with activating transcription factor 4 (ATF4) and negatively regulates the stress-dependent induction of the asparagine synthetase gene. *The Journal of biological chemistry*. 2008. Vol. 283, no. 50, p. 35106–35117. DOI 10.1074/jbc.M806874200.
 103. WANG, Bin, JIANG, Huayong, MA, Ning ir WANG, Yajie. Phosphorylated-p38 mitogen-activated protein kinase expression is associated with clinical factors in invasive breast cancer. *SpringerPlus*. 2016. Vol. 5, no. 1, p. 934. DOI 10.1186/s40064-016-2636-0.
 104. DELEAULT, K. M., SKINNER, S. J. ir BROOKS, S. A. Tristetraprolin regulates TNF TNF-alpha mRNA stability via a proteasome dependent mechanism involving the combined action of the ERK and p38 pathways. *Molecular immunology*. 2008. Vol. 45, no. 1, p. 13–24. DOI 10.1016/j.molimm.2007.05.017.
 105. GABA, M. ir MOHAN, C. *Development of drugs based on imidazole and benzimidazole bioactive heterocycles: Recent advances and future directions*. Springer US, 2016. ISBN 0004401514.
 106. KUNDU, T. ir PRAMANIK, A. Expeditious and eco-friendly synthesis of new multifunctionalized pyrrole derivatives and evaluation of their antioxidant property. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 98, p. 103734. DOI 10.1016/j.bioorg.2020.103734.
 107. MATUSZEWSKA, A., JASZEK, M., STEFANIUK, D., CISZEWSKI, T. ir MATUSZEWSKI, Ł. Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLOS ONE*. 2018. Vol. 13, no. 6, p. 1–14. DOI 10.1371/journal.pone.0197044.
 108. BEYER, R. E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: Interaction with vitamin E and coenzyme Q. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. 1994. Vol. 26, no. 4, p. 349–358. DOI 10.1007/BF00762775.
 109. NJUS, D., KELLEY, P. M., TU, Y. J. ir SCHLEGEL, H. B. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020. Vol. 159, no. 7, p. 37–43. DOI 10.1016/j.freeradbiomed.2020.07.013.
 110. LOBO, V., PATIL, A., PHATAK, A. ir CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. 2010. Vol. 4, no. 8, p. 118–126. DOI 10.4103/0973-7847.70902.
 111. LÜ, J. M., LIN, P. H., YAO, Q. ir CHEN, C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2010. Vol. 14, no. 4, p. 840–860. DOI 10.1111/j.1582-4934.2009.00897.x.
 112. CHAI, J.Y., JUNG, B. K. ir HONG, S. J. Albendazole and mebendazole as anti-parasitic and anti-cancer agents: An update. *Korean Journal of Parasitology*. 2021. Vol. 59, no. 3, p. 189–225. DOI 10.3347/kjp.2021.59.3.189.
 113. PAWLUK, S. A., ROELS, C. A., WILBY, K. J. ir ENSOM, M. H. H. A Review of Pharmacokinetic Drug–Drug Interactions with the Anthelmintic Medications Albendazole and Mebendazole. *Clinical Pharmacokinetics*. 2015. Vol. 54, no. 4, p. 371–383. DOI 10.1007/s40262-015-0243-9.
 114. WEBB, D. J., FREESTONE, S., ALLEN, M. J. ir MUIRHEAD, G. J. Sildenafil citrate and blood-pressure-lowering drugs: Results of drug interaction studies with an organic nitrate and a calcium antagonist. *American Journal of Cardiology*. 1999. Vol. 83, no. 5 A, p. 21–28. DOI 10.1016/S0002-9149(99)00044-2.
 115. FRANCIS, S.H., BUSCH, J. L. ir CORBIN, J. D. cGMP-dependent protein kinases and cGMP phosphodiesterases in nitric oxide and cGMP action. *Pharmacological Reviews*. 2010. Vol. 62,

- no. 3, p. 525–563. DOI 10.1124/pr.110.002907.
116. SZTANKE, M. ir SZTANKE, K. Biologically important hydrazide-containing fused azaisocytosines as antioxidant agents. *Redox Report*. 2017. Vol. 22, no. 6, p. 572–581. DOI 10.1080/13510002.2017.1364330.
117. BALOUIRI, M., SADIKI, M. ir IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016. Vol. 6, no. 2, p. 71–79. DOI 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
118. PARVEKAR, P., PALASKAR, J., METGUD, S., MARIA, R. ir DUTTA, S. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of silver nanoparticles against *Staphylococcus aureus*. *Biomaterial Investigations in Dentistry*. 2020. Vol. 7, no. 1, p. 105–109. DOI 10.1080/26415275.2020.1796674.
119. AVNY, Y., SAGHIAN, N. ir ZILKHA, A. THERMALLY STABLE POLYMERS DERIVED FROM ITACONIC ACID. *Israel Journal of Chemistry*. 1972. Vol. 10, p. 949–957.
120. ANUSEVIČIUS, K., MICKEVIČIUS, V. ir MIKULSKIENĖ, G. Synthesis and structure of N-(4-bromophenyl)-N-carbo-xyethyl-β-alanine derivatives. *Chemija*. 2014. Vol. 21, no. 5, p. 127–134.
121. BROKAITE, K., MICKEVICIUS, V. ir MIKULSKIENE, G. Synthesis and investigation of some 1,4-disubstituted 2-pyrrolidinones. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2006. Vol. 42, no. 9, p. 1158–1167. DOI 10.1007/s10593-006-0220-1.
122. ENOQUE, R., PAIVA, F. D., VIEIRA, E. G. ir RODRIGUES, D. Anticancer Compounds Based on Isatin-Derivatives : Strategies to Ameliorate Selectivity and Efficiency. *Frontiers in Molecular Bioscience*. 2021. Vol. 7, no. 02, p. 1–24. DOI 10.3389/fmolb.2020.627272.
123. MICKEVICIUS, V., BERESNEVICIUS, Z. G., MICKEVICIUS, M. ir SAPIJANSKAITE, B. Synthesis of 1-[(aryl-5-oxo-pyrrolidin-3-yl)carbonyl]-amino}-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acids. *Chemistry of Heterocyclic Compounds*. 2005. Vol. 41, no. 7, p. 1100–1101.
124. MICKEVICIUS, M., BERESNEVICIUS, Z. J., MICKEVICIUS, V. ir MIKULSKIENE, G. Condensation products of 1-Aryl-4-carboxy-2-pyrrolidinones with o-diaminoarenes, o-aminophenol, and their structural studies. *Heteroatom Chemistry*. 2006. Vol. 17, no. 1, p. 47–56. DOI 10.1002/hc.20171.
125. MOHANTY, S. K., KHUNTIA, A., YELLASUBBAIAH, N., AYYANNA, C., NAGA SUDHA, B. ir HARIKA, M. S. Design, synthesis of novel azo derivatives of benzimidazole as potent antibacterial and anti tubercular agents. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2018. Vol. 7, no. 4, p. 646–651. DOI 10.1016/j.bjbas.2018.07.009.
126. WAGNER, E. C. ir MILLETT, W. H. Benzimidazole. *Organic Syntheses*. 1939. Vol. 19, no. 9, p. 12. DOI 10.15227/orgsyn.019.0012.
127. BROKAITE, K., N-aril-β- ir β, γ- aminorūgščių ciklizacijos produktai ir jų savybės. Daktaro disertacija. Kauno technologijos universitetas. Kaunas. 2009.
128. MINICKAITĖ, R., GRYBAITĖ, B., VAICKELIONIENĖ, R., KAVALIAUSKAS, P., PETRAITIS, V., PETRAITIENĖ, R., TUMOSIENĖ, I., JONUŠKIENĖ, I. ir MICKEVIČIUS, V. Synthesis of Novel Aminothiazole Derivatives as Promising Antiviral, Antioxidant and Antibacterial Candidates. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23, no. 14, p. 1–19. DOI 10.3390/ijms23147688.
129. MUNTEANU, I. G. ir APETREI, C. Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. Vol. 22, no. 7. DOI 10.3390/ijms22073380.
130. MYLES, I. A. ir DATTA, S. K. *Staphylococcus aureus*: An introduction. *Seminars in Immunopathology*. 2012. Vol. 34, no. 2, p. 181–184. DOI 10.1007/s00281-011-0301-9.
131. DANESHVAR, D. H. Athletic exposure to repetitive brain trauma and its effect on the development of chronic traumatic encephalopathy. *ProQuest Dissertations and Theses*. 2013. Vol. 55, no. 3, p. 253.
132. KOHANSKI, M. A., DWYER, D. J. ir COLLINS, J. J. How antibiotics kill bacteria: From targets to networks. *Nature Reviews Microbiology*. 2010. Vol. 8, no. 6, p. 423–435.

- DOI 10.1038/nrmicro2333.
133. BOTTONE, E. J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010. Vol. 23, no. 2, p. 382–398. DOI 10.1128/CMR.00073-09.
 134. QIN, S., XIAO, W., ZHOU, C., PU, Q., DENG, X., LAN, L., LIANG, H., SONG, X. ir WU, M. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022. Vol. 7, no. 1, p. 1–27. DOI 10.1038/s41392-022-01056-1.

Publikacijų sąrašas

MOKSLINIŲ TYRIMŲ REZULTATŲ SKELBIMAS KONFERENCIJOSE

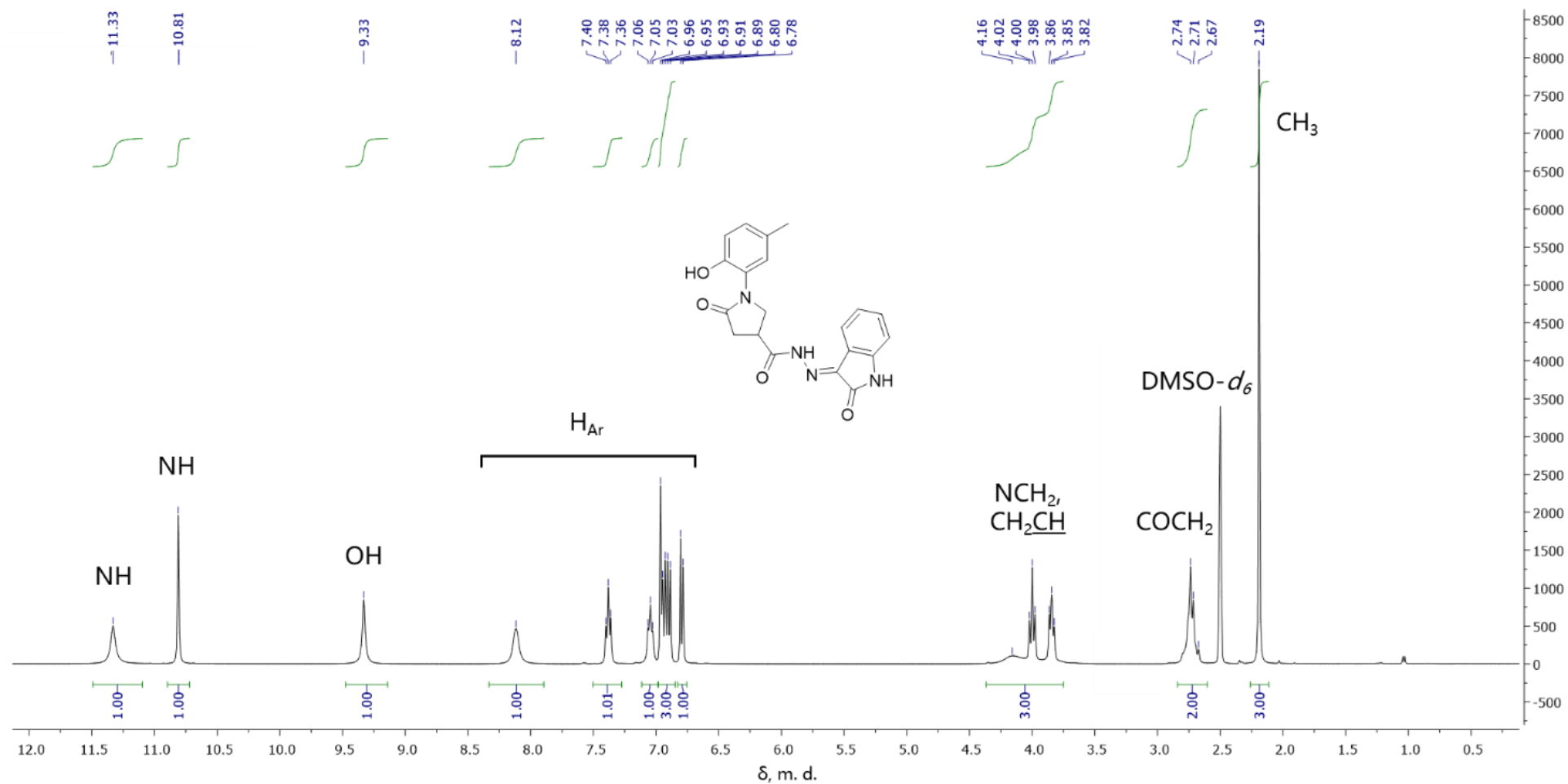
1. **KRIKŠTAPONIS, K.**, GRYBAITĖ, B. Synthesis and chemical properties of 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acid. Open readings 2023: 66th international conference for students of physics and natural sciences. Balandžio 18-21 d. Vilnius : Vilniaus universiteto leidykla. 2023. p. 126
2. **KRIKŠTAPONIS, K.**, GRYBAITĖ, B., MICKEVIČIUS, V. Synthesis of novel 1-(2-hydroxy-5-methylphenyl)-5-oxopyrrolidine-3-carboxylic acid derivatives. COINS 2023: international conference of life sciences. Balandžio 24-27 d. Vilnius : Vilniaus universiteto leidykla. 2023, B. 44, p. 120.
3. **KRIKŠTAPONIS, K.**, GRYBAITĖ, B., MICKEVIČIUS, V. Naujų 1-(2-hidroksi-5-metilfenil)-5-oksopirolidin-3-karboksirūgšties darinių sintezė. 27-osios studentų mokslinės konferencijos „Chemija ir cheminė technologija 2023“ pranešimų medžiaga. Gegužės 12 d. Klaipėda : Klaipėdos universiteto leidykla. 2023. ISSN 2538-7332. p. 52.

Padėka

Noriu padėkoti visiems prisidėjusiems prie šio tyrimo. Pirmiausia KTU Organinės chemijos katedros darbuotojams: dr. G. Račkauskienei – už BMR spektrų užrašymą, dr. D. Liudvinavičiūtei – už pagalbą rašant FT-IR spektrus, B. Barvainienei – už pagalbą atliekant elementinę analizę, dr. I. Jonuškienei ir R. Stankevičienei – už suteiktas galimybes atlikti antioksidacinio aktyvumo tyrimus. Taip pat didžiulė padėka LSMU Veterinarinės patobiologijos katedros prof. Jūratei Šiugždaitei ir jos mokslo grupės darbuotojams – už atliktus antibakterinio aktyvumo tyrimus. Dėkoju prof. V. Mickevičiui, dr. B. Sapijanskaitei-Banevič ir K. Anusevičiui už pagalbą ir palaikymą. Taip pat visiems kitiems kolegoms, kurie tyrimo metu supo, palaikė šiltą atmosferą, pozityvią ir gerą nuotaiką bei draugišką darbo aplinką. Labiausiai noriu padėkoti savo projekto vadovei dr. B. Grybaitei – už skirtą laiką, patarimus, pastabas, konsultacijas, kantrybę, greitą komunikaciją, atsidavimą savo darbui, paslaugumą, rūpestį ir įkvėpimą. Ačiū.

Priedai

1 priedas. 1-(2-Hidroksi-5-metilfenil)-5-okso-*N*-(2-oksoindolin-3-il-iden)pirolidin-3-karbohidrazido (11) ^1H BMR spektras (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$)



2 priedas. Junginių 2-21 antibakterinio aktyvumo prieš *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* ir *E. coli* kamienus tyrimo rezultatų palyginimas

Junginys	Gramteigiamos bakterijos						Gramneigiamos bakterijos			
	<i>S. aureus</i>		<i>L. monocytogenes</i>		<i>B. cereus</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>E. coli</i>	
	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK	MIK	MBK
Oksacilinas (O)	15,60	15,60	15,60	15,60	15,60	15,60	250,00	250,00	250,00	250,00
Ampicilinas (A)	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25	31,25
Cefuroksimas (C)	7,80	7,80	7,80	7,80	62,40	250,00	250,00	250,00	7,80	7,80
2	31,25	250,00	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
3	125,00	250,00	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
4	62,50	250,00	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
5a	31,25	250,00	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
5b	3,90	3,90	3,90	15,60	7,80	31,20	62,50	250,00	31,25	31,25
5c	62,50	125,00	15,60	31,20	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
5d	3,90	7,80	7,80	15,60	31,50	250,00	62,50	250,00	31,25	31,25
6	15,60	125,00	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7a	3,90	31,25	62,50	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7b	31,25	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7c	31,25	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7d	31,25	31,25	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7e	31,25	31,25	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7f	62,50	62,50	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7g	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
7h	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00	125,00	250,00
7i	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	250,00	250,00
8a	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	125,00
8b	-	-	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
9	-	-	125,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
10	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
11	125,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	250,00	125,00
12	250,00	250,00	250,00	250,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	250,00
13	250,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	125,00	125,00	-
14	250,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
15	250,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
16	250,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
17	250,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
18a	125,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
18b	62,50	250,00	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
18c	31,50	250,00	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-

2 priedo tęsinys.

18d	125,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	125,00
19	125,00	-	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
20a	62,50	250,00	62,50	125,00	62,50	250,00	62,50	250,00	125,00	-
20b	125,00	-	62,50	125,00	125,00	250,00	62,50	250,00	125,00	-
21	15,60	125,00	62,50	125,00	31,25	250,00	62,50	62,50	125,00	-