



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas



**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

# **3-[(4-metilfenil)amino]propanhidrazido darinių sintezė ir savybės**

Baigiamasis magistro projektas

---

**Aira Dapkūnė**

Projekto autorė

**M. d. dr. Ingrida Tumosienė**

Vadovė

---

**Kaunas, 2023**



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas



**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

## **3-[(4-metilfenil)amino]propanhidrazido darinių sintezė ir savybės**

Baigiamasis magistro projektas  
Medicininė chemija (6281CX001)

---

**Aira Dapkūnė**  
Projekto autorė

**M. d. dr. Ingrida Tumosienė**  
Vadovė

**Doc. dr. Vida Malinauskienė**  
Recenzentė

---

**Kaunas, 2023**



**Kauno technologijos universitetas**  
Cheminės technologijos fakultetas



**Lietuvos sveikatos mokslų universitetas**  
Farmacijos fakultetas

**Aira Dapkūnė**

## **3-[(4-metilfenil)amino]propanhidrazido darinių sintezė ir savybės**

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autorius ar kitų teisių, laikydamasi Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto (toliau – KTU) ir Lietuvos sveikatos 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 mokėjusi;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal KTU ar LSMU galiojančią tvarką ir būsiu pašalinta iš KTU ar LSMU, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai nagrinėjant galimą akademinės etikos pažeidimą.

Aira Dapkūnė

*Patvirtinta elektroniniu būdu*

Dapkūnė, Aira. 3-[(4-metilfenil)amino]propanhidrazido darinių sintezė ir savybės. Magistro baigiamasis projektas / vadovė m. d. dr. Ingrida Tumosienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų kryptių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: hidrazonai, hidrazidas, 1,3,4-tiadiazolas, *N*-alkilinimas, antibakterinis aktyvumas, antioksidacinis aktyvumas, kondensacijos reakcijos.

Kaunas, 2023. 70 p.

## Santrauka

Šiuo metu vienas didžiausių iššūkių medicinos chemikams yra naujų antimikrobinių medžiagų kūrimas, siekiant kontroliuoti didėjančią vaistams atsparių mikrobu padermių skaičių. Remiantis literatūros apžvalgomis, hidrazono dariniai yra perspektyvios molekulės, galinčios veikti kaip priešvėžinis, antimikrobinis agentas. Be to, farmakologinis hidrazonų aktyvumas yra susijęs su antioksidantiniu, analgetiniu, priešuždegiminiu, antivirusiniu, prieštraukuliniu ir antimalarinu poveikiu. Hidrazonai dažniausiai yra kristaliniai, lengvai prieinami organiniai junginiai. Jie gali būti sintetinami organiniuose tirpikliuose, esant rūgščių priedams arba be jų. Remiantis literatūroje rastais duomenimis, hidrazonų bioaktyvumas didėja, struktūroje atsirandant tokių funkcinių grupių, kaip hidroksi, metoksi, nitro, amino ir kt.

Šiame darbe atliktos hidrazonų kondensacijos reakcijos su aromatiniais aldehidais ir ketonais. Tyrimų metu iš 3-[(4-metilfenil)amino]propanhidrazido (3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido) buvo gauti *N'*-pakeistieji hidrazono dariniai. Tada iš šio pradinio junginio buvo sintetintas 2-{3-[(4-metilfenil)amino]propanoil}-*N*-fenilhidrazinkarbotioamidas, reakcijoje naudojant fenilizotiocianatą, kaip reagentą. Šis junginys buvo sintetintas, norint atlikti rūgštinę ciklizaciją su konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ir gauti tiadiazolą – 5-{2-[(4-metilfenil)amino]etil}-*N*-fenil-1,3,4-tiadiazol-2-aminą. Literatūroje buvo rasta keletą skirtingų reakcijų sąlygų, kaip vykdyti tiadiazolo *N*-alkilinimo reakcijas, todėl šio darbo metu jos buvo išbandytos.

Biologinių tyrimų metu buvo ištirtas naujai gautų junginių antioksidacinis ir antibakterinis aktyvumas prieš keletą bakterijų padermių. Nustatyta, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *N'*-[1-(tiofen-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas ir *N'*-(1-[3-aminofenil)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas. Didžiausią antibakterinį aktyvumą prieš gramneigiamas bakterijas *E. coli* parodė *N'*-furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *X. campestris* – *N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *R. radiobacter* – *N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, o prieš gramteigiamą *B. subtilis* – *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas.

Dapkūnė, Aira. Synthesis and Properties of 3-[(4-Methylphenyl)amino]propanehydrazide Derivatives. Master's Final Degree Project / supervisor researcher Ingrida Tumosienė; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian University of Health Sciences.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: hydrazones, hydrazide, 1,3,4-thiadiazole, *N*-alkylation, antibacterial activity, antioxidant activity, condensation reactions.

Kaunas, 2023. 70 pages.

### Summary

Nowadays, one of the biggest challenges for medicinal chemists is the discovery of new antimicrobial agents. Because people have to control the increasing number of drug-resistant microbial strains. Various hydrazone derivatives can act as potential anticancer, antimicrobial agents. In addition, the pharmacological effects are related to antioxidant, analgesic, anti-inflammatory, antiviral, anticonvulsant and antimalarial effects. They can be synthesized in organic solvents with or without acid additives. Hydrazones are mostly crystalline, readily available organic compounds. According to the data found in the literature, the bioactivity of hydrazones increases with the appearance of functional groups such as hydroxy, methoxy, nitro, amino, etc. in the structure.

Condensation reactions of hydrazones with aromatic aldehydes and ketones were performed in this work. During the research, *N'*-substituted hydrazone derivatives were obtained from 3-[(4-methylphenyl)amino]propanehydrazide (3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide). 2-{3-[(4-methylphenyl)amino]propanoyl}-*N*-phenylhydrazinecarbothioamide was then synthesized from this main compound in a reaction using phenylisothiocyanate as a reagent. This compound was synthesized to undergo acidic cyclization with conc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> and give the thiadiazole – 5-{2-[(4-methylphenyl)amino]ethyl}-*N*-phenyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine. Several different reaction conditions for *N*-alkylation of thiadiazole have been found in the literature, so they were tested in this work.

The antioxidant and antibacterial activities of the newly obtained compounds against several bacterial strains were tested in biological assays. It was found that *N'*-[1-(furan-2-yl)ethylidene]-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide, *N'*-(1-(thiophen-2-yl)ethylidene)-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide and *N'*-[1-(3-aminophenyl)ethylidene]-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide had the highest antioxidant activity. *N'*-(furan-2-ylmethylene)-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide showed the highest antibacterial activity against gram-negative bacteria *E. coli*, *N'*-(1-phenylpropylidene)-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide – *X. campestris*, *N'*-(4-nitrophenylidene)-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide for *R. radiobacter*, and *N'*-[1-(furan-2-yl)ethylidene]-3-(*p*-tolylamino)propanehydrazide against Gram-positive *B. subtilis*.

## Turinys

<b>Santrumpų sąrašas .....</b>	<b>7</b>
<b>Įvadas.....</b>	<b>9</b>
<b>1. Literatūros apžvalga .....</b>	<b>10</b>
1.1 Heterocikliniai junginiai ir jų paplitimas .....	10
1.1.1 Heterociklinių junginių cheminės savybės .....	11
1.2 Hidrazidai ir hidrazonai .....	11
1.2.1 Hidrazido ir hidrazono darinių sintezė ir savybės .....	12
1.3 Semikarbazidų sintezė .....	15
1.4 Tiadiazolų ir oksadiazolų sintezė, struktūra ir savybės .....	17
1.5 <i>N</i> -alkilavimo reakcijos.....	22
1.6 Reikšmė medicininėje chemijoje ir biologinio aktyvumo nustatymas .....	25
1.7 <i>Pass online</i> programa.....	27
1.8 Literatūros apžvalgos apibendrinimas .....	28
<b>2. Medžiagos ir tyrimų metodai .....</b>	<b>29</b>
2.1 Medžiagos ir aparatūra.....	29
2.2 Eksperimentų aprašymas .....	29
2.3 Naujų junginių biologinių savybių tyrimai .....	38
2.3.1 Antibakterinis aktyvumas agaru difuziniu metodu.....	39
2.3.2 Antioksidacinių savybių tyrimas DPPH metodu .....	39
2.3.3 Antioksidacinių savybių tyrimas ABTS metodu .....	40
2.3.4 Antioksidacinių savybių tyrimas FRAP metodu .....	40
2.3.5 Antioksidacinių savybių tyrimas redukciniu metodu .....	40
<b>3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.....</b>	<b>41</b>
3.1 3-( <i>p</i> -tolilamino)propanhidrazido kondensacija su aromatiniais ketonais .....	42
3.2 3-( <i>p</i> -tolilamino)propanhidrazido kondensacija su aromatiniais aldehidais .....	47
3.3 <i>N</i> -fenil-5-[2-( <i>p</i> -tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino <i>N</i> -alkilavimas halogenalkanais ..	52
3.4 <i>Pass online</i> rezultatai naujai sintetintiems junginiams .....	53
3.5 Naujai sintetintų junginių biologinių tyrimų rezultatai.....	55
3.5.1 Antioksidacinių savybių tyrimas DPPH metodu .....	56
3.5.2 Antioksidacinių savybių tyrimas ABTS metodu .....	57
3.5.3 Antioksidacinių savybių tyrimas FRAP metodu .....	57
3.5.4 Antioksidacinių savybių tyrimas redukciniu metodu .....	59
3.5.5 Antibakterinių savybių tyrimas agaru disko difuzijos metodu.....	59
<b>Rekomendacijos .....</b>	<b>63</b>
<b>Išvados .....</b>	<b>64</b>
<b>Literatūros sąrašas .....</b>	<b>65</b>

## Santrumpų sąrašas

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino-6-sulfonrūgšties) diamonio druska;

BMR – branduolių magnetinis rezonansas;

CS<sub>2</sub> – anglies disulfidas;

d – dubletas;

DMF – *N,N*-dimetilformamidas;

DMSO – dimetilsulfoksidas;

DMSO-d<sub>6</sub> – deuteriuotas dimetilsulfoksidas;

DNR – deoksiribonukleorūgštis.

DPPH – 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas;

FDA – JAV maisto ir vaistų administracija;

FRAP – geležies jonus mažinanti antioksidacinė galia;

Hz – hercai;

IR – infraraudonieji spinduliai;

*J* – protonų tarpsukininės sąveikos konstanta;

kv – kvadrupletas;

LB – Lizogeninis sultinys (terpė);

m – multipletas;

m.d. – milijoninės dalys;

MCR – daugiakomponentinės reakcijos;

MSA – metansulfono rūgštis;

N, O, S, C, H – azoto, deguonies, sieros ir anglies ir vandenilio atomai;

PLC – plonasluoksnė chromatograma;

s – singletas;

SAR – struktūros ir aktyvumo ryšys;

t – tripletas;

THF – tetrahidrofuranas;

TPTZ – 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazinas;

UV – ultravioletiniai spinduliai;

ŽIV-1 – žmogaus imunodeficito virusas, naikinantis žmogaus imuniteto ląsteles (1 tipas)



## Įvadas

Nuolat augantis atsparumas antimikrobinėms medžiagoms tapo pagrindine priežastimi ieškoti naujų sintezės būdų bei gauti vis daugiau bioaktyvių junginių. Didelis įvairių medžiagų naudojimas žemės ūkio srityse dar labiau paspartino atsparių patogenų dauginimąsi bei naujų molekulių kūrimą [1]. Dėl anksčiau pateiktos literatūros, kuriant naujas molekules, mokslininkų dėmesys dažniausiai krypta į ciklines sistemas su heteroatomais. Atomai, kurie nėra nei anglis, nei vandenilis, organinėje chemijoje paprastai vadinami heteroatomais. Labiausiai paplitę heterociklai yra tie, kurie turi penkių ar šešių narių žiedus ir kuriuose yra azoto (N), deguonies (O) arba sieros (S) heteroatomų. Heterociklinės sistemos dariniai yra laikomi svarbia biojunginių, farmacinių vaistų, antibiotikų sudėtine dalimi.

Kuriant naujus vaistus, hibridinių molekulių kūrimas, derinant skirtingus farmakoforus viename, gali suteikti naujų, įvairių farmakologinį aktyvumą turinčių, junginių gavimą. Yra įrodyta, kad penkių narių heterociklai yra įdomi junginių klasė, pasižyminti plačiu biologiniu aktyvumu. Taip pat nustatyta, kad junginiai, turintys pirazolo fragmentą, turi priešnavikinį, priešuždegiminį ir antibakterinį poveikį. Teigiama, kad daugelis heterociklų yra antioksidantai [2]. Hidrazonų dariniai, kurie atlieka svarbų vaidmenį organinėje ir medicinos chemijoje, per daugelį metų sudomino daugelį mokslininkų dėl savo daug žadančios biologinės veiklos, įskaitant antimikrobinį, priešvėžinį poveikį, antituberkuliozinį, antivirusinį ir prieštraukulinį. Kai kurie hidrazono komponentai buvo naudojami kaip vaistai, pavyzdžiui, nitrofurazonas, furazolidonas ir kt. [3]. Taip pat yra žinoma, kad semikarbazidai yra įdomi junginių grupė, kuri yra vertingas penkių narių heterociklų sintezės pirmtakas. Mokslinėje literatūroje aprašoma, kad daugelis semikarbazidų pasižymi puikiu biologiniu aktyvumu [2].

Antioksidantai yra svarbūs keliuose biologiniuose procesuose, tokiuose kaip imunitetas, apsauga nuo audinių pažeidimo, dauginimasis, augimas ar vystymasis. Yra žinoma, kad daugelis žmonių ligų, pavyzdžiui, vėžys, aterosklerozė ir artritas, koreliuoja su oksidacine žala, kurią sukelia reaktyvūs laisvieji radikalai. Literatūroje teigiama, kad antioksidantai gali būti naudingi Parkinsono ir Alzheimerio ligų profilaktikai ir gydymui [2]. Todėl naujo aktyvaus antioksidanto paieška sulaukia didelio dėmesio ir yra nuolatos tobulinami tyrimai medicinos chemijos srityje.

Darbo tikslas – susintetinti hidrazonų struktūros junginius, atlikti cheminius kitimus 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido struktūroje ir ištirti naujai susintetintų junginių biologinį aktyvumą.

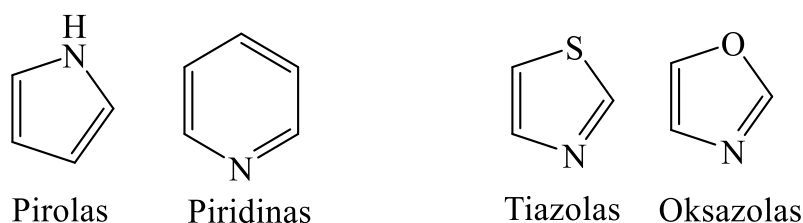
Šiam tikslui pasiekti išsikelti uždaviniai:

1. įvykdyti 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacijos reakcijas su aldehidais;
2. įvykdyti 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacijos reakcijas su ketonais;
3. ištirti naujai susintetintų junginių biologinį aktyvumą ir palyginti tarpusavyje;
4. išbandyti literatūroje rastas sąlygas *N*-prijungimui prie 5-{2-[(4-metilfenil)amino]etil}-*N*-fenil-1,3,4-tiadiazol-2-amino.

## 1. Literatūros apžvalga

### 1.1 Heterocikliniai junginiai ir jų paplitimas

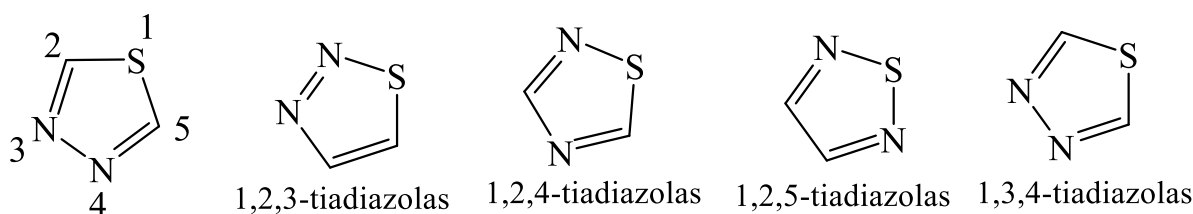
Heterociklinis junginys, dar vadinamas heterociklu, yra bet kuri iš pagrindinių organinių junginių klasės, kuriai būdinga, kad kai kurie arba visi jų molekulėse esantys atomai yra sujungti į ciklus, kuriuose yra bent vienas kito elemento nei anglis atomas. Savo bendra struktūra heterocikliniai junginiai primena ciklinius organinius junginius, kurių žieduose yra tik anglies atomai, pavyzdžiui, ciklopropanas (su trijų anglies atomų žiedu) arba benzenas (su šešių anglies atomų žiedu), tačiau yra heteroatomai, kurie suteikia heterocikliniams junginiams fizines ir chemines savybes, kurios dažnai visiškai skiriasi nuo jų anglies žiedo analogų [4].



**1.1 pav.** Heterociklinių junginių (pirolo, piridino, tiazolo ir oksazolo) cheminės struktūros

Dažniausiai pasitaikantys heterociklai yra tie, kurie turi penkių ar šešių narių žiedus ir turi azoto (N), deguonies (O) arba sieros (S) heteroatomus. Daugelio biologinių medžiagų molekulės sudaro piridino ir pirolo žiedai, tiazolas, oksazolas ir kt. (1.1 pav.). Piridinas ir pirolas buvo aptikti 1850-aisiais metais riebiame mišinyje, susidariusiame stipriai kaitinant kaulus [4].

Heterocikliniai junginiai apima daugybę gyvybei būtinų biocheminių medžiagų. Pavyzdžiui, nukleino rūgštys – cheminės medžiagos, turinčios genetinę informaciją, kontroliuojančią paveldėjimą, susideda iš ilgų heterociklinių vienetų grandinių. Daugelis natūraliai susidarančių pigmentų, vitaminų ir antibiotikų yra heterocikliniai junginiai. Šiuolaikinė visuomenė yra priklausoma nuo sintetinių heterociklų, naudojamų kaip vaistai, pesticidai, dažikliai ir plastikai [4].



**1.2 pav.** Tiadiazolų struktūros ir nomenklatura

Tiazolai ir oksazolai taip pat turi didelę biologinę reikšmę, todėl įvairūs šių struktūrų dariniai mokslininkams kelia didelį susidomėjimą. Tiazolų žiedų sistema yra tiamine (tiaminas, vitaminas B<sub>1</sub>), penicilino grupės antibiotikuose, taip pat daugelyje sintetinių dažų ir pramoninių cheminių medžiagų. Sintetiniai vaistai, priklausantys tiazolų šeimai, yra antimikrobinės medžiagos sulfatiazolas ir acinitrazolas, antidepresantas pramipeksolis ir vaistas nuo astmos cinalukastas [4]. Tiadiazolai ir oksadiazolai taip pat labai reikšmingi junginiai, kurie pasižymi stipriu biologiniu aktyvumu, todėl labai svarbu žinoti jų nomenklaturą. Kadangi cikle heteroatomai gali išsidėstyti keliose pozicijose, tai rašant junginių pavadinimus, numeracija prasideda nuo sieros atomo ir toliau tęsiasi prieš laikrodžio rodyklę (1.2 pav.). Tokiu būdu gaunami teisingi tiadiazolo darinių

pavadinimai. Toks pats principas galioja ir oksadiazolams, tik vietoje sieros atomo, heterociklinėse sistemose atsiranda deguonis.

### 1.1.1 Heterociklinių junginių cheminės savybės

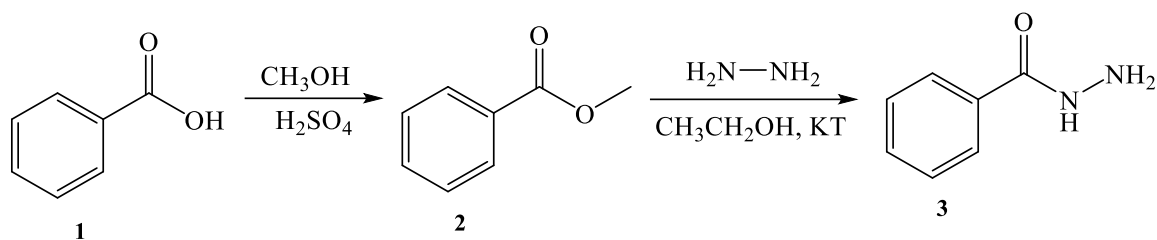
Aromatinio junginio reaktyvumui įtakos turi papildomas jame esančios konjuguotos sistemos stabilumas, kuris savo ruožtu lemia junginio polinkį reaguoti, pakeičiant vandenilį. Heteroatomas gali veikti kaip nukleofilas – atomas arba molekulė, kuri ieško teigiamai įkrauto centro, pavyzdžiui, iš dalies neapsaugoto atomo branduolio. Heteroatomas atakuoja teigiamai įkrautą anglies atomą, susidarantį dėl elektronų pasitraukimo. Heterociklinės žiedo formavimo reakcijos, kurių metu heteroatomas veikia kaip elektrofilas – elektronų ieškantis atomas arba molekulė – yra retos, nes azoto, deguonies ir sieros atomai patys yra daug elektronų turintys centrai, kurie paprastai veikia kaip nukleofilai [4].

Viena iš tokio didelio deguonies, sieros ir ypač azoto turinčių žiedų paplitimo vaistų molekulėse priežastis – tikslas atkartoti natūraliai gamtoje randamus junginius, įterpiant naujus fragmentus, funkcines grupes. Tai leidžia išgauti įvairesnes farmakologines savybes, jų stiprumą, patogesnę vartojimo būdą ir kt. Kadangi heterociklai yra pagrindiniai daugelio natūralių produktų elementai, medicininės chemijos pastangos dažnai vystosi siekiant imituoti tokius struktūrinius motyvus. Tačiau kai kurios vaisto savybės, kurias galima modifikuoti strategiškai įtraukiant heterociklinę dalį į molekulę, yra: stiprumas ir selektyvumas naudojant bioizosterinius pakaitalus, lipofiliškumas, poliškumas ir tirpumas vandenyje. Heterociklų naudojimo farmakologinė nauda siekiant didesnės galios ir specifiskumo daugeliu atvejų gali būti paaiškinta jų gebėjimu dalyvauti vandeniliniuose ryšiuose su tiksliniu baltymu, kur heterociklas gali atlikti *H*-akceptorius, kaip heteroaromatiniuose junginiuose, arba *H*-donoro vaidmenį, kaip ir sočiuosiuose *N*-heterocikluose. Pavyzdžiui, heterociklų gebėjimas pasiekti gerą chelatų sudarymą su metalo jonais buvo panaudotas kuriant ŽIV-1 integrazės inhibitorius [5].

Reakcijos gali būti vykdomos su elektrofilais, tokiais kaip halogenidai (alkilhalogenidai, heterocikliniai halogenidai), formaldehidu ir kt. Retai literatūroje rašoma apie nepakeisto tiadiazolo elektrofilinę ataką, tačiau kai pakaitas įvedamas į žiedą, ataka gali vykti. Nukleofilinė ataka žiedo anglies atomui lengvai įvyksta dėl to, kad žiede trūksta elektronų. Be to, žiedo anglies atomus paliekantys pakaitai yra labai suaktyvinti, kad galėtų būtų pakeisti [6].

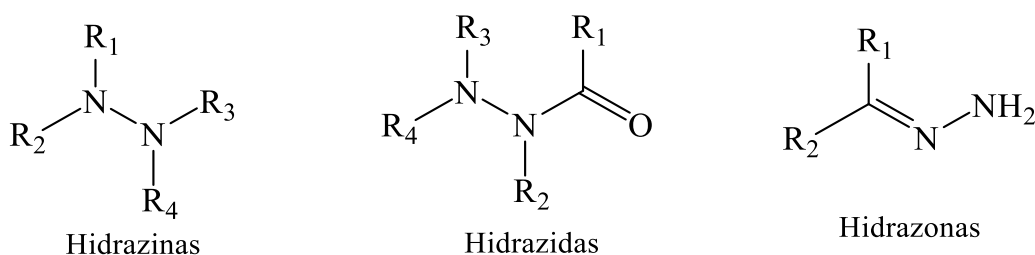
### 1.2 Hidrazidai ir hidrazonai

Hidrazidai apima daugybę organinių hidrazinų darinių, turinčių aktyvią ir svarbią veikimo mechanizmui funkcinę grupę –  $-C(=O)NHNH_2$ . Išanalizavus literatūrą, stipriu antibakteriniu, antioksidaciniu ir priešvėžiniu poveikiu dažnai pasižymi hidrazido įvairūs dariniai. Jie yra labai svarbūs tarpiniai produktai heterociklinių junginių sintezeje, taip pat turi skirtingą ir įvairų biologinį aktyvumą. Šie dariniai plačiai naudojami kaip vaistai, polimerų, klijų gamyboje ir kitose pramonės srityse, todėl dėmesys bei jų įvairių darinių sintezė yra ypač aktuali net ir šiomis dienomis, kai farmacinių junginių įvairovė yra labai plati [7].



**1.1 schema.** Hidrazido sintezė, naudojant karboksirūgštį ir pridėdant hidrazinhidratą

Pati paprasčiausia hidrazido sintezė yra naudojant karboksirūgštį kartu su metanolio rūgštinėje aplinkoje, taip gaunant esterį. Į kurį pridėjus hidrazinhidrato etanolyje yra gaunamas hidrazidas be ypatingų sąlygų (1.1 schema). Norint gauti hidrazidą pakanka esterio konversiją vykdyti kambario temperatūroje. Hidrazidai ir jų dariniai gali būti paverčiami įvairiais heterocikliniais junginiais ciklizuojant arba pridėdant ciklą su daugybe reagentų [7].

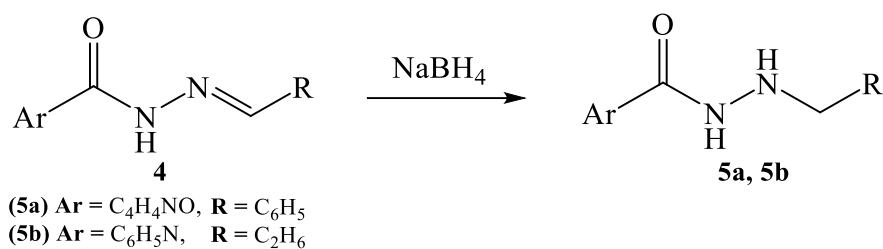


**1.3 pav.** Hidrazino, hidrazido ir hidrazono struktūriniai skirtumai

Hidrazonai yra svarbūs dvišakiai ligandai, kurie paprastai egzistuoja keto pavidalu kietoje būsenoje, o pusiausvyroje tarp keto ir enolio formų – tirpalo būsenoje. Tokie hidrazonai sintetinami laboratorijoje kaitinant pakeistus hidrazidus arba hidrazinus su atitinkamais aldehidais arba ketonais skirtinguose organiniuose tirpikliuose, tokiuose kaip etanolis, metanolis, butanolis, tetrahidrofuranas ir kt. 1.3 pav. pavaizduoti hidrazino, hidrazido ir hidrazono struktūriniai panašumai ir skirtumai. Hidrazonai gali reaguoti ir su elektrofilais, ir su nukleofilais vienu metu. Junginiuose yra nukleofilinis azotas, elektrofilinis ir nukleofilinis imino anglies atomas ir rūgštinis N-H protonas. Šie junginiai buvo pritaikyti biologiniams, farmakologiniams ir pramoniniams tikslams, tokiems kaip antibakteriniai, antimaliariniai, antimikobakteriniai, prieštraukuliniai, priešūždegiminiai vaistai, antidepresantai, priešvėžiniai, antimikrobiniai vaistai ir dažikliai [8]. Hidrazono funkcinė grupė yra -CO-NH-N=CH- fragmentas, turintis imino (C=N) dvigubą jungtį, todėl susidaro E/Z izomerija. Taip pat, C=N ir karbonilo (C=O) grupių buvimas struktūroje gerina metalų jonų koordinavimo galimybes, o NH ir (arba) C=O grupės padeda sudaryti vandenilinius ryšius, kad surištų atitinkamus anijonus / katijonus ir biomolekules. Tokia hidrazono struktūra leidžia junginius naudoti įvairiose srityse. Šie struktūriniai motyvai suteikia hidrazono grupei jos fizines, chemines ir biochemines savybes [9].

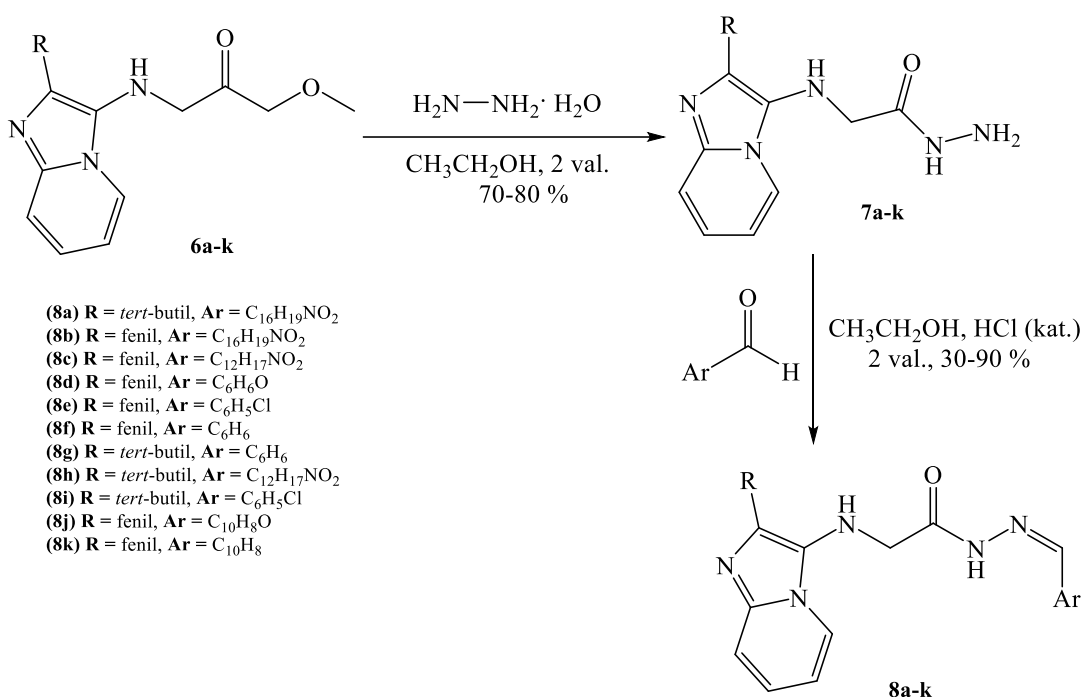
### 1.2.1 Hidrazido ir hidrazono darinių sintezė ir savybės

Hidrazono dariniai yra dar viena reikšminga vaistų ir farmacijos chemijos junginių grupė. Nustatyta, kad hidrazono junginių biologinis aktyvumas, susijęs su aktyviu azometino (-NH-N=CH-) fragmentu molekulėje. Junginiai, derinami su įvairiais heterocikliniais karkasais, pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu, įskaitant priešvėžinį, antibakterinį, antivirusinį, antioksidacinį. Mokslininkų įrodyta, kad vienos ar kelių metoksi grupių įvedimas į benzeno žiedą sustiprina įvairių junginių priešvėžinį aktyvumą [10].



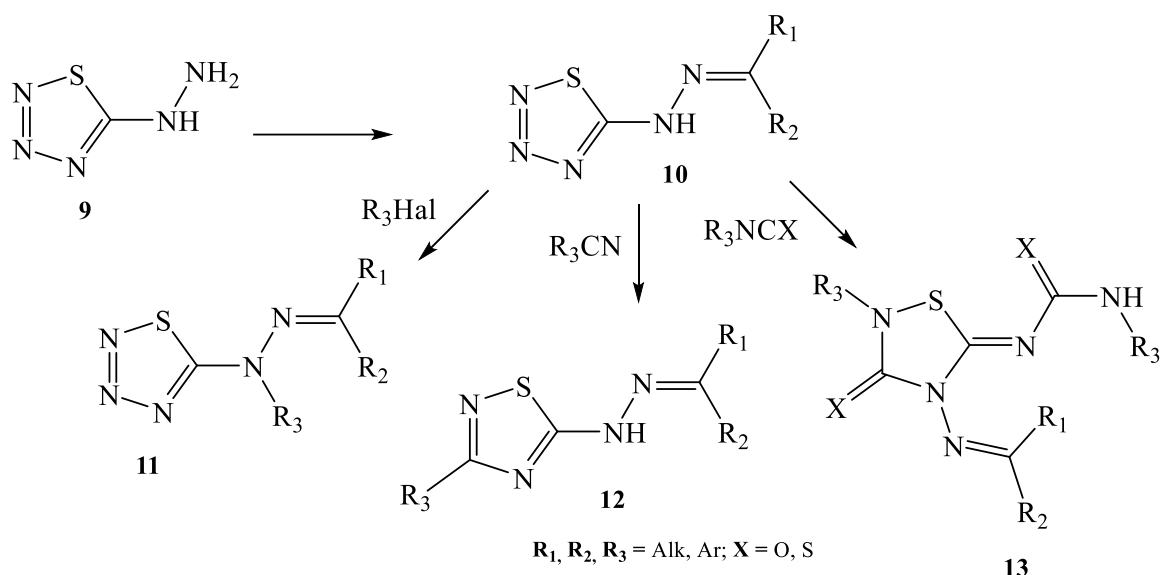
### 1.2 schema. N-alkilhidrazidų gavimas, naudojant NaBH<sub>4</sub>

N-alkilhidrazidai gali būti sintetinami redukuojant hidrazonus NaBH<sub>4</sub> (1.2 schema). Daugelis veiksmingų junginių, tokių kaip iproniazidas ir izokarboksazidas, yra sintezuojami redukuojant hidrazido-hidrazonus. Junginiai vartojami tuberkuliozei gydyti, taip pat turi antidepresinį poveikį, o pacientų nuotaika gydymo metu tampa geresnė. Kitas kliniškai veiksmingas hidrazidas-hidrazonas yra nifuroksazidas, kuris naudojamas kaip žarnyno antiseptikas [10].



### 1.3 schema. Hidrazono darinių gavimas naudojant daugiakomponentines reakcijas

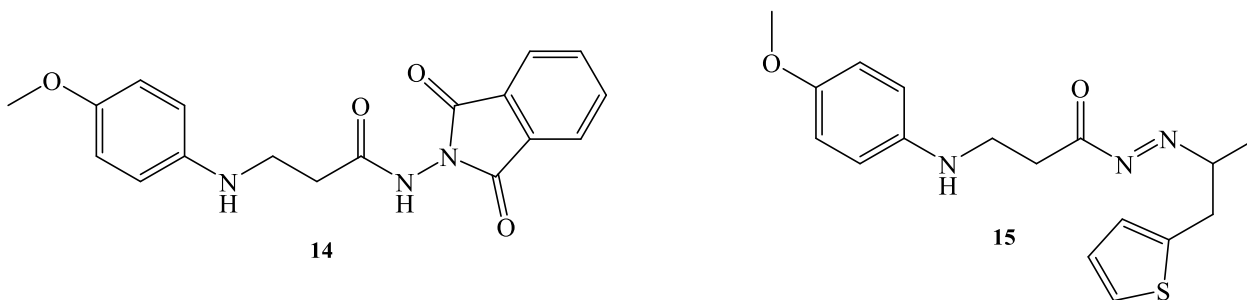
Norint gauti naujus hidrazono darinius, mokslininkai atliko daugiakomponentes reakcijas (MCR) tarp 2-aminopiridino, atitinkamo aldehido ir etil-2-izocianoacetato (izonitrilo). MCR yra greita ir efektyvi bioaktyvių junginių generavimo strategija, nes galimų produktų skaičius didėja didėjant komponentų skaičiui. Be to, siūloma strategija yra ekonomiška. MCR vyksta tarp aminoazino, aldehido ir izonitrilo, kai viename inde susidaro 3-aminais pakeisti heterociklai. Taigi pirmasis hidrazono darinių gamybos etapas buvo imidazo[1,2- $\alpha$ ]piridino esterių gavimas 75 % išeiga etanolyje kambario temperatūroje. Po to, metilo esterių reakcija su hidrazino hidratu etanolyje, virinant su grįžtamuju šaldytuvu. Mokslininkai gavo atitinkamus tarpinius hidrazido produktus 70–80 % išeiga. Galiausiai, nauji hidrazono dariniai buvo pagaminti patenkinama išeiga (30–90 %) per rūgštimi katalizuojamą hidrazidų kondensaciją su pasirinktais aromatiniais aldehidais kambario temperatūroje (1.3 schema). Gana stabilūs hidrazonai susidaro iš 5-hidrazino-1,2,3,4-tiazolo ir ketonų arba aldehidų [11].



**1.4 schema.** Hidrazonų alkilavimo reakcijos halogenidais, nitrilais, izo(tio)cianatais

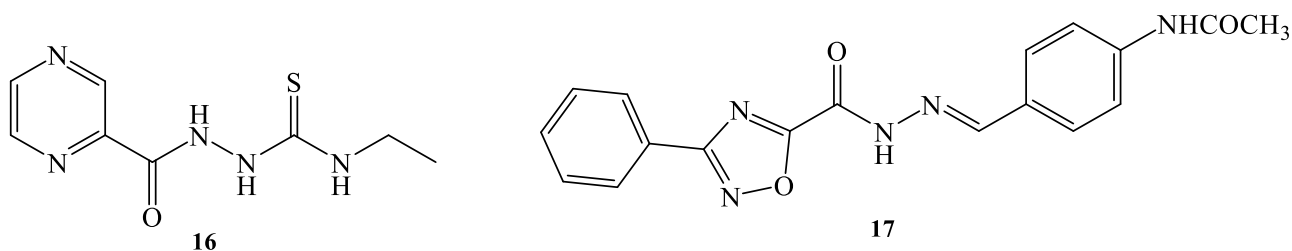
Hidrazonai gali būti alkilinti su halogenidais ( $R_3\text{Hal}$ ), kad susidarytų nauji junginiai, arba toliau reaguoti su elektrofiliniais nitrilais ( $R_3\text{CN}$ ) arba izo(tio)cianatais ( $R_3\text{NCX}$ ), gaunant atitinkamus hidrazono darinius (*1.4 schema*). Visos šios hidrazonų reakcijos vyksta azoto atome, esančiame šalia žiedo, o ne *N*-4 ar kito hidrazono azoto. Taip pat mokslininkai nustatė, kad monopakeisti 5-amino-1,2,3,4-tiazolai turi daugybę biologinių savybių, įskaitant antihipertenzinį, fungicidinį, antituberkulinį, antivirusinį, priešvėžinį ir centrinės nervų sistemos raumenis stimuliuojantį poveikį [12].

Įvairių biologinių tyrimų metu nustatyta, kad hidrazoną turinti 2-naftaleno dalis pasižymėjo mažesniu aktyvumu nei hidrazinas, bet vis tiek prilygo antioksidantui vitaminui C.



**1.4 pav.** Mokslininkų tyrimo metu naudotų junginių struktūros

Tačiau *N*-(1,3-dioiksoizoindolin-2-il)-3-((4-metoksifenil)amino)propanamido (**14**) antioksidacinis aktyvumas yra 1,37 karto didesnis nei gerai žinomo antioksidanto askorbo rūgšties. Hidrazono, turinčio tiofeno fragmentą (**15**), antioksidacinis aktyvumas buvo 1,26 karto didesnis nei teigiamos kontrolės (*1.4 pav.*). Taip pat, dauguma susintetintų junginių buvo aktyvūs prieš glioblastomą U-87. Tiofeno dariniai, kurie buvo nustatyti kaip stiprūs antioksidantai atliekant DPPH tyrimą, turėjo labai silpną poveikį ląstelių gyvybingumui. Antioksidacinio ir priešvėžinio aktyvumo ryšį ne visada galima paaiškinti, nes daugelis kitų skirtingų veikimo mechanizmų prisideda prie priešvėžinio aktyvumo pasiekimo. Tyrime buvo išsiaiškinta, kad fluoru pakeistas tiofeniltriazolas, kurio aktyvumas skiriasi prieš ląstelių linijas, buvo nustatytas kaip turintis daug žadantį priešvėžinį aktyvumą [13].

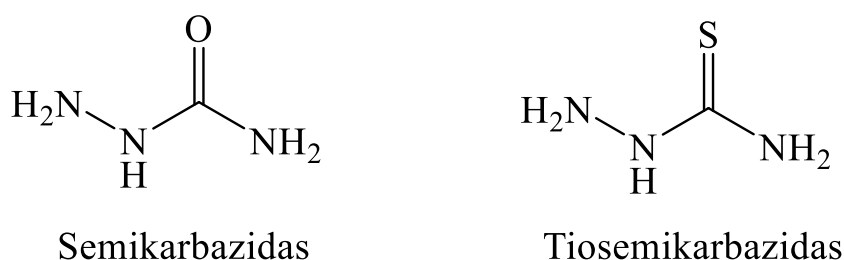


**1.5 pav.** Junginių, pasižyminčių biologiniu aktyvumu, struktūra

Mokslininkų buvo susintetinta pirazino-2-karboksirūgšties hidrazido darinių serija ir patikrintas jų aktyvumas prieš *M. tuberculosis*. N4-etil-N1-pirazinoil-tiosesemikarbazidas (**16**) parodė didžiausią aktyvumą prieš šią bakteriją (1.5 pav.). Filhas ir jo kolegos aprašė dviejų naujų 3-(4-pakeistas-aril)-1,2,4-oksadiazol-N-acilhidrazonų serijų sintezę ir jų *in vitro* aktyvumą prieš parazitą *T. cruzi*. N-{4-[(3-fenil-[1,2,4]oksadiazol-5-karbonil)-hidrazonometil]-fenil}-acetamidas (**17**) buvo toks pat stiprus kaip ir etaloninis vaistas benznidazolas [14].

### 1.3 Semikarbazidų sintezė

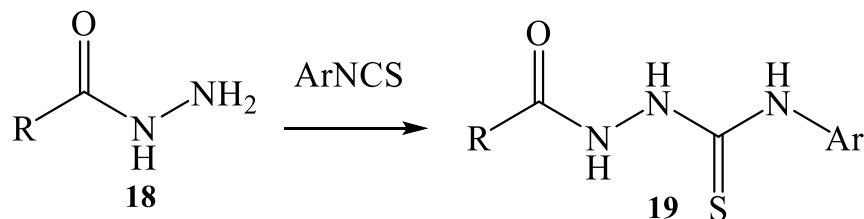
Semikarbazidas yra monokarboksirūgšties amidas (karbamidas), kuriame viena iš amino grupių pakeista hidrazinu. Kitaip tariant, tai karbamido ir karbohidrazido kombinacija. Semikarbazido dariniai yra mokslininkų traukos centras, nes jie turi plačiausią biologinį aktyvumą ir yra pagrindinė kelių rūšių reikšmingų vaistų molekulių dalis. Jie yra ligandai, kurie veikia kaip azoto (N) ir deguonies (O) donorai. Semikarbazonai ir jų dariniai atlieka gyvybiškai svarbų vaidmenį organinėje ir medicininėje chemijoje. Jie daugiausia naudojami kuriant vaistus ir pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu: priešgrybeliniu, antibakteriniu, prieštraukuliniu, antiproliferaciniu, širdies apsauginiu antihelminciniu, priešgrybeliniu, antimikrobiniu, priešuždegiminiu, antituberkuliniu, antivirusiniu, priešvėžiniu ir kt. Semikarbazonai paskatino mokslininkus jų darinių sintezės ir biologinio vertinimo link, siekiant sukurti puikias terapines priemones kovai su gyvūnų ir žmonių ligomis. Kai kurie hidrazonai ir semikarbazonai taip pat pasižymėjo prieštraukulinėmis savybėmis. Lipofilinio arilo žiedo, turinčio  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$  arba  $\text{NO}_2^-$  grupes, buvimas yra atsakingas už šį aktyvumą. Vandenilinio ryšio atsiradimą semikarbazono dariniuose nustatė Dimmockas ir jo kolegos. Arilo semikarbazonai turi didesnę stabilumą, nes jų struktūroje yra elektroneigiama grupė arilo žiedo *para* padėtyje [15].



**1.6 pav.** Semikarbazido ir tiosemikarbazido struktūra

Tiosesemikarbazidas ( $\text{NH}_2\text{-NH-(C=S)-NH}_2$ ) yra klasikinė semikarbazido ( $\text{NH}_2\text{-NH-(C=O)-NH}_2$ ) bioizosterė, kurioje deguonis yra pakeistas siera (1.6 pav.). Bendrą, aktyvių (tio)semikarbazonų struktūrą, sudaro aromatinė sistema, susieta su (tio)semikarbazono dalimi. Dirbant su šiuo struktūriniu pagrindu, buvo atlikta daug mokslinių tyrimų projektų, siekiant atrasti naujus (tio)semikarbazono darinius, turinčius optimizuotą stiprumą ir saugumą. Sriramo ir jo kolegų atliktame moksliniame darbe buvo susintetinti kai kurie skirtingų aromatinių sistemų N-

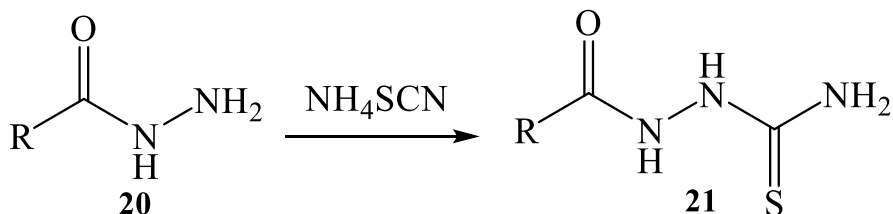
hidroksitiosemikarbazonai ir ištirtas jų antibakterinis aktyvumas. Nustatyta, kad tarp panaudotų aromatinių karbonilo junginių kondensavimuisi su *N*-hidroksitiosemikarbazidu junginių aktyvumo tvarka buvo tokia: diarilo ketonai > acetofenonai > aromatinių aldehydų *Schiff* bazės [16]. Yra žinoma, kad molekulių biologinis aktyvumas yra susijęs su jų struktūra ir fizikinėmis-cheminėmis savybėmis. Elektroniniai efektai ir pakaitų padėtis, pH vertė ir tirpiklio poliškumas yra pagrindiniai veiksniai, darantys įtaką šiai tautomerijai [17]. Taigi, semikarbazidas ir tiosemikarbazidas yra vieni iš labiausiai paplitusių terapiškai vertingų molekulių cheminių struktūrų. Jie yra svarbūs vaistų kūrimo proceso komponentai dėl jų gebėjimo sudaryti vandenilio ryšius, kurie laikomi viena iš svarbiausių vaistų ir biologinių taikinių sąveikų. Be daugybės farmakologinių savybių, tiosemikarbazidai ir semikarbazido dariniai dažnai veikia kaip strateginiai farmakoforai.



**R** = Me, Et, fenil, 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-CH<sub>3</sub>O-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>;  
**Ar** = fenil, 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-

**1.5 schema.** 1,4-dipakeistų tiosemikarbazido darinių sintezė su arilizotiocianatais

Literatūroje rašoma, kad karbohidrazidus apdorojant arilo izotiociantais skirtingomis reakcijos sąlygomis (pvz., piridinu, NaOH, KOH ir NaH), gaunami 1,4-dipakeistai tiosemikarbazido dariniai (**19**) (1.5 schema) [18].

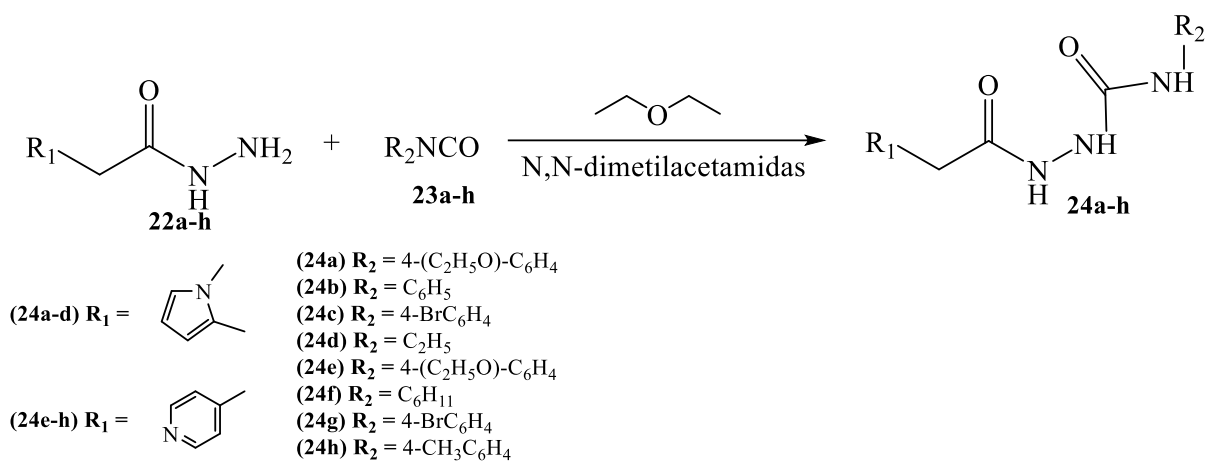


**R** = Me, Et, Cikloheksil, fenil, 4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, 4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>-

**1.6 schema.** 1-aciltiosemikarbazido sintezė su amonio tiocianatu

Taip pat, kaitinant karbohidrazidus su amonio tiocianatu acetone, gaunami 1-aciltiosemikarbazidai (**21**) (1.6 schema) [18].



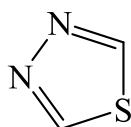


### 1.7 schema. Hidrazido reakcija su 4,4-difenilmetano diizocianatu

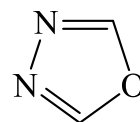
Dar viena serija naujų pakeistų semikarbazido darinių buvo susintetinta, vykstant karboksirūgšties hidrazido reakcijai su 4,4-difenilmetano diizocianatu. Reakcijos buvo vykdomos bevandeniame dietilo eteryje. Literatūroje rašoma, kad semikarbazidas buvo gautas iš hidrazido (10 arba 20 mmol) ir izocianato (10 mmol) dietilo eteryje po 48 valandų laikymo kambario temperatūroje (1.7 schema). Gautas produktas (24a-h) buvo nufiltruotas, perplautas dietilo eteriu ir kristalizuotas iš etanolio [17].

### 1.4 Tiadiazolų ir oksadiazolų sintezė, struktūra ir savybės

Diazolai turi elektronneigiamą aromatinę sistemą, kuri yra susijusi su pakaitais, prisijungusiais prie ciklo. Kai kurie tyrimai įrodė, kad junginiai, kurių sudėtyje yra diazolo ciklai yra veiksmingi prieš daugybę bakterijų. Diazolai pasižymi puikiu stabilumu stiprioms rūgštims ir oksidacijai. Šis ciklas yra plokščias penkiakampis žiedas, pasižymintis daugybe aromatinių junginių savybių bei sąveikų ir turintis bazinę struktūrą, turinčią  $\pi$ -elektronus [19].



1,3,4-tiadiazolas



1,3,4-oksadiazolas

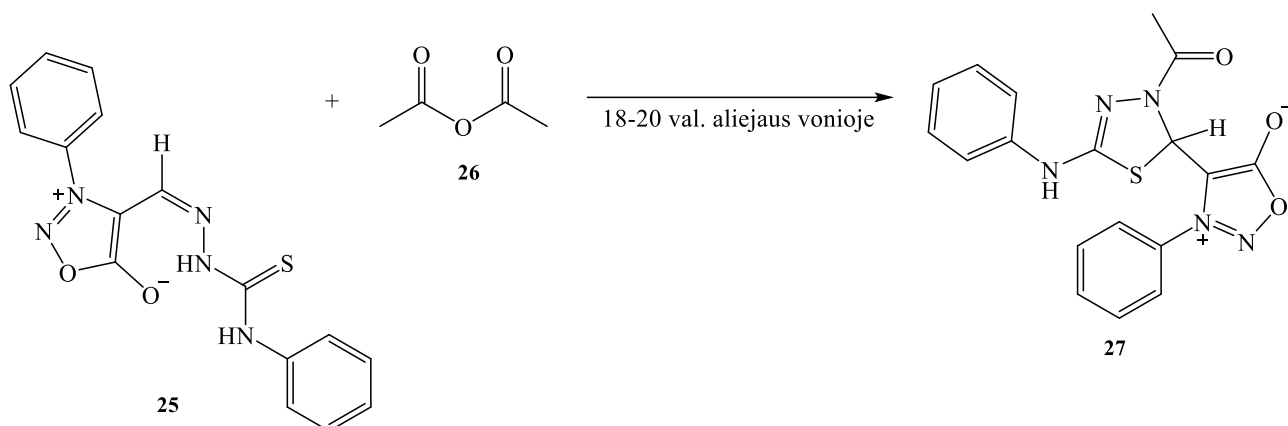
### 1.7 pav. 1,3,4-tiadiazolo ir 1,3,4-oksadiazolo struktūros

Tiadiazolai yra heterocikliniai aromatiniai junginiai, susidedantys iš dviejų azoto atomų ir sieros atomo. Tiadiazolai plačiai naudojami medicininėje chemijoje. Oksadiazolo junginiai yra heterocikliniai aromatiniai junginiai, susidedantys iš dviejų anglies atomų, dviejų azoto atomų ir vieno deguonies atomo (1.7 pav.). Yra keturios oksadiazolo formos, kurios skiriasi priklausomai nuo heterociklinių atomų išsidėstymo [20].

Įprasti sintezės metodai atliekami gana sudėtingomis sąlygomis ir yra neišvengiamas šalutinių produktų susidarymas. Per pastaruosius dešimtmečius buvo aprašytos kelios 1,3,4-tiadiazolų sintezės vienoje kolboje, kurių metu galima išvengti daugiapakopės sintezės vargo. Tarp šių metodų kai kurie vis dar atliekami sudėtingomis sąlygomis, o kiti – patobulinti [6].

Kitame mokslininkų aprašytame tyrime, kaitinant su trietilaminu etanolyje, tiesemikarbazidai buvo ciklizuojami per dehidrataciją, kad gautųsi atitinkami triazolai. Tiadiazolai buvo gauti ciklizuojant

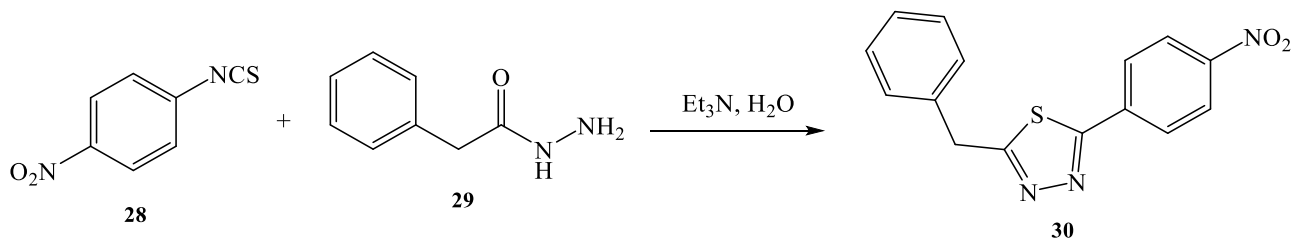
semikarbazidą, apdorojant ortofosforo rūgštimi. Ciklizacija vykdyta 4 valandas, virinant su grįžtamu šaldytuvu DMF ir etanolio mišinyje. Tada reakcijos mišinys atšaldytas ir supiltas į ledinį vandenį. Kietos nuosėdos nufiltruotos ir perkristalintos iš atitinkamų tirpiklių [21].



**1.8 schema.** Tioseмикarbazonų ciklizacija, naudojant acto rūgšties anhidridą

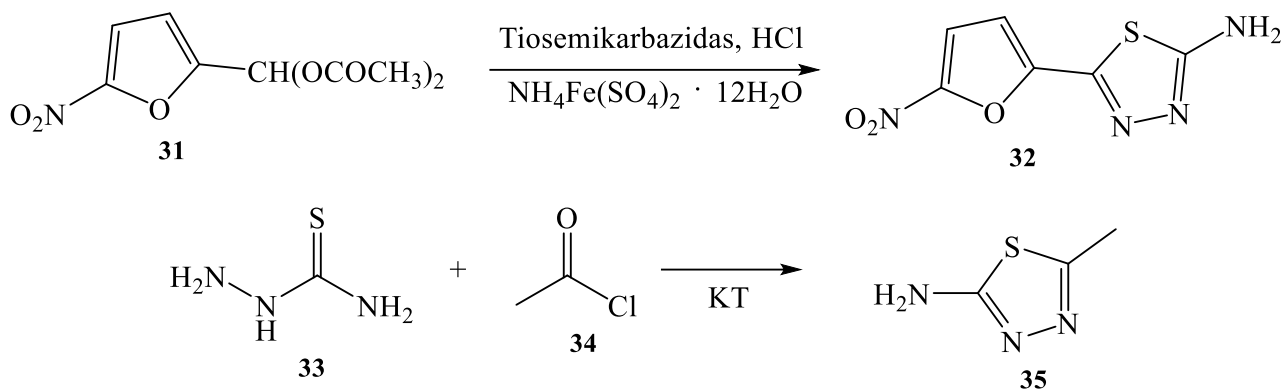
Aldehydiniai tiosemikarbazonai taip pat yra tinkami substratai gaminant penkių ar šešių narių heterociklinius žiedus, kuriuose yra trys heteroatomai, reaguojant jiems su oksiduojančiais reagentais arba kitais ciklizacijos reagentais. Taigi, mokslininkai išnagrinėjo heterociklinių junginių sintezę iš tiosemikarbazonų, kai reaguojant su acto rūgšties anhidridu yra gaunami pakeisti tiadiazolino dariniai. Apdorojant acto rūgšties anhidridu dichlormetano tirpale, po to kaitinant 75 °C temperatūroje aliejaus vonioje 18-20 valandų, buvo gautas **27** produktas (*1.8 schema*) [21].

Polshettivaras ir jo kolegos pranešė, kad reakcija tarp rūgšties hidrazido ir sieros reagentų CS<sub>2</sub>, izotiocianato arba ditiokarbamatų, gaminant tiadiazolus, visada susideda iš dviejų ar daugiau etapų, iš kurių pirmasis yra atitinkamų tiosemikarbazidų sintezė, kurie vėliau virsta tiadiazolais [6].



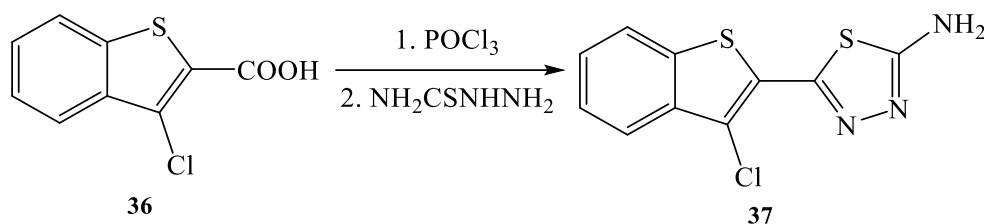
**1.9 schema.** 2-pakeistojo-1,3,4-tiadiazolo gavimas, esant vandeniui ir trietilaminui

Mokslininkai pranešė, kad izotiocianatas tiesiogiai reaguoja su rūgšties hidrazidu, kad gautų 2-pakeistą 1,3,4-tiadiazolą (**30**), esant vandeniui ir trietilaminui (*1.9 schema*).



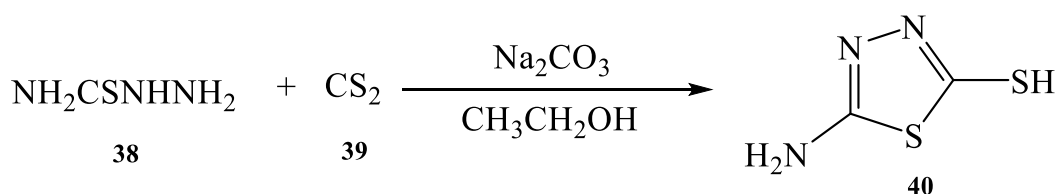
**1.10 schema.** 1,3,4-tiadiazolų sintezės būdai (ciklizacijos)

1,3,4-tiadiazolai taip pat gali būti pagaminti ciklizuojant tiohidrazinus. Kiekvienas tiohidrazinų darinys gali įvesti specialius pakaitus į tiadiazolo žiedą. Daugelis 1,3,4-tiadiazolų sintezės vyksta naudojant tiosemikarbazidus, pakeistus tiosemikarbazidus arba tiosemikarbazonus. Tiosemikarbazidus arba pakeistus tiosemikarbazidus efektyviai gaminant susidaro 2-amino-1,3,4-tiadiazolai, kurie buvo plačiai tiriami kaip pagrindiniai tarpiniai produktai gaminant 1,3,4-tiadiazolo darinius. Šioje reakcijoje acilinimas arba *Schiff* bazės susidarymas  $\alpha$ -amino grupėje inicijuoja tiosemikarbazidų ciklizaciją ir veikiant dehidratuojančiam agentui galima gauti tiadiazolų (*1.10 schema*). Naudota daug įprastų acilinimo agentų, tokių kaip karboksirūgštis, rūgšties halogenidas, ir rūgšties anhidridas [6].



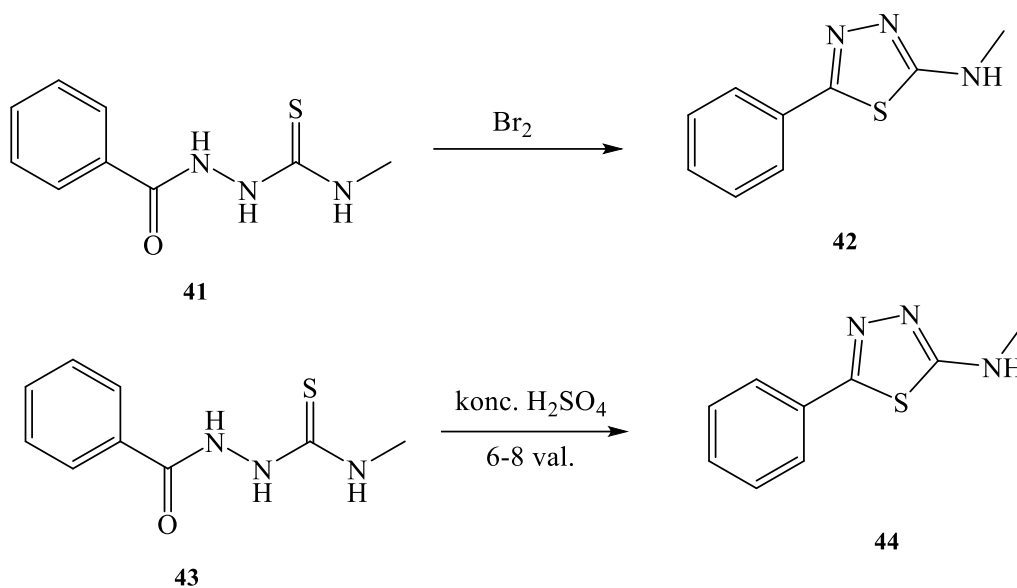
**1.11 schema.** Ciklizacijos reakcijos su karboksirūgštimi ir  $\text{POCl}_3$  bei tiosemikarbazidu

Tiadiazolai egzistuoja skirtingomis struktūromis, kurias lemia heterociklinių atomų padėtis penkiakampiame žiede. Vienas iš seniausių tiosemikarbazido darinių paruošimo būdų yra vandens molekulės eliminavimas naudojant vieną iš dehidratuojančių medžiagų, tokių kaip koncentruota sieros rūgštis, fosforo rūgštis ir metilsulfonrūgštis. Mokslininkai pranešė, kad ciklizacijos reakcija taip pat vyksta naudojant stiprų katalizatorių –  $\text{POCl}_3$ , dalyvaujant dioksanui, virinant su grįžtamoju šaldytuvu 4–5 valandas (*1.11 schema*). Ši reakcija taip pat vyksta tiosemikarbazidui reaguojant su karboksirūgšties dariniu dioksane virinant su grįžtamoju šaldytuvu 5 valandas, kad susidarytų tiadiazolo žiedas [6].



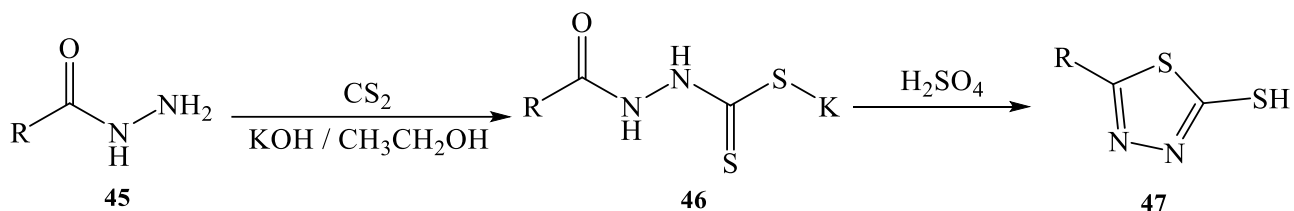
**1.12 schema.** Ciklizacijos reakcija su anglies disulfidu

Kitas sintezės būdas vyksta ciklizuojant tiosemikarbazidą anglies disulfidu, dalyvaujant natrio karbonatui arba kalio karbonatui, virinant su grįžtamuju šaldytuvu (*1.12 schema*). Tiosemikarbazido ciklizacija priklauso nuo reakcijos terpės, kai reakcija vyksta rūgščioje terpėje, susidaro tiadiazolo darinys, bet kai reakcija vyksta bazinėje terpėje, susidaro triazolo darinys [6].



**1.13 schema.** Tiadiazolo darinių gavimo būdai, naudojant bromą arba konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

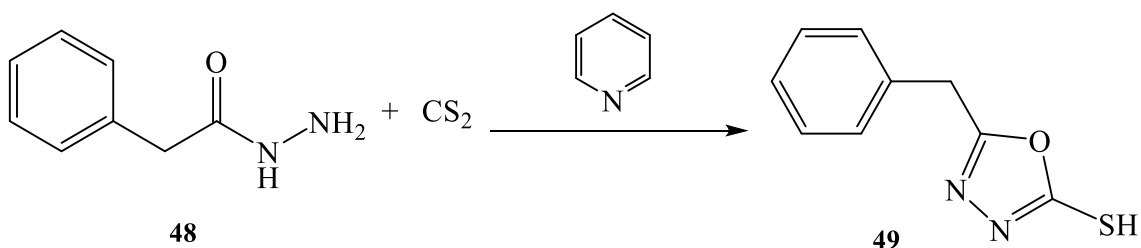
Mokslininkų yra atrasti ir kiti tiadiazolo darinių gavimo būdai, įskaitant reakciją su bromu (80 % išeiga), taip pat kitais būdais, pavyzdžiui, ciklizuojant su sieros rūgštimi (*1.13 schema*) [19].



R = Ar, ArHet, -adamantanas

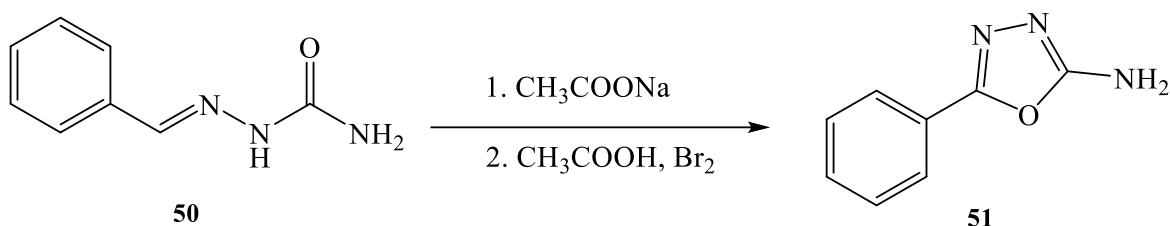
**1.14 schema.** Tiadiazolo sintezė naudojant anglies disulfidą ir sieros rūgštį

Ditiosemikarbazidai sintetinami naudojant anglies disulfidą, kaip sieros šaltinį, kuris reaguoja su hidrazinu, hidrazidais, tiosemikarbazidu, paprastai esant bazinėms sąlygoms. Tame pačiame etape ditiosemikarbazidai visada acilinami, po to vykdo ciklodehidratacija (koncentruota sieros rūgštis buvo dehidratas) (*1.14 schema*). Wei'as su kolegomis ir Kadis aprašė bendrą semikarbazido ir 1,3,4-tiadiazolo sintezės su acilhidrazidu metodu. Kitas 1,3,4-tiadiazolo paruošimo būdas yra pirmiausia gauti semikarbazidą, acilintą chloroacetilchloridu ir po to dehidratuoti. Taip pat išsiaiškinta, kad 1,3,4-oksadiazolo junginiai yra termiškai stabilūs, o jų stabilumas didėja pridėjus alkilo arba fenilo grupes [6].



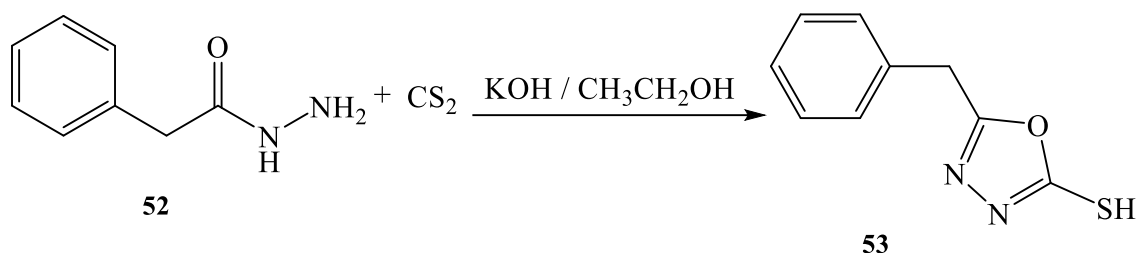
**1.15 schema.** Taidiazolo gavimas, naudojant sausą piridiną

Svarbus 1,3,4-oksadiazol-2-tolio gavimo būdas yra anglies disulfido reakcija su karboksirūgšties hidrazidais bazinėje terpėje (*1.15 schema*). Mokslininkai nusprendė panaudoti fenilhidrazidą su anglies disulfidu sausame piridine, kad gautų 5-fenil-4,3,1-oksadiazol-2-tiolį (**49**) [19].



**1.16 schema.** Ciklizacija su  $\text{Br}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{COONa}$

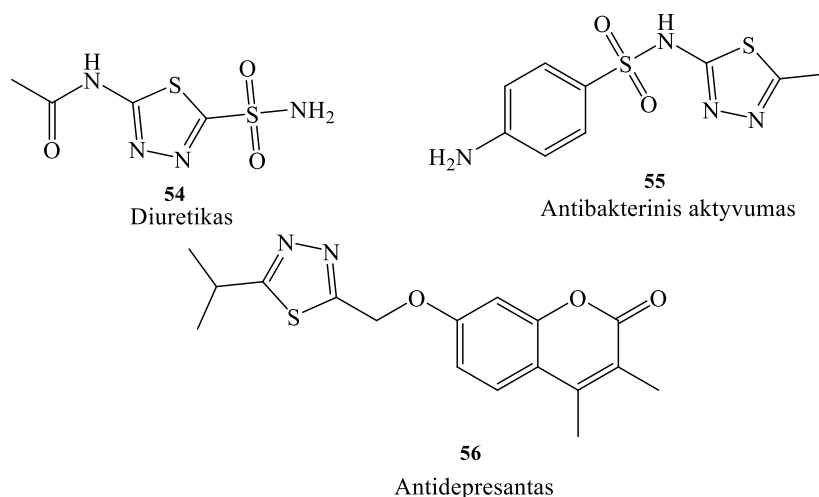
Kitas penkianario ciklo – oksadiazolo sintezės metodas yra ciklizuoti imino semikarbazidą dalyvaujant  $\text{Br}_2/\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (*1.16 schema*) [19].



**1.17 schema.** Tiadiazolo sintezė su anglies disulfidu ir KOH

Tada mokslininkai sukūrė kitą metodą, naudodami kalio hidroksido tirpalą etanolyje vietoj piridino (*1.17 schema*). Šis metodas laikomas vienu geriausių iki šiol.

Taigi, remiantis literatūroje randama statistika, daugiau nei 85% visų biologiškai aktyvių cheminių junginių turi heterociklą. Šis faktas atspindi pagrindinį heterociklą vaidmenį šiuolaikiniame vaistų kūrime [22].



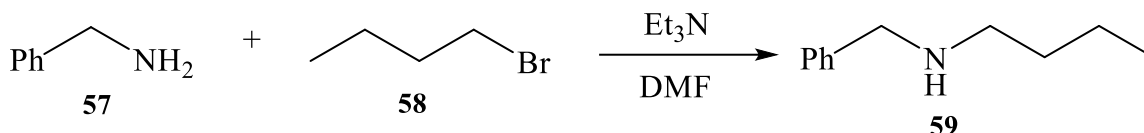
### 1.8 pav. Junginių struktūros ir jų biologinis aktyvumas

Moksliniai tyrimai parodė didelę 1,3,4-tiadiazolo ir jo darinių svarbą, kuriant naujus farmakologinius junginius ir gydant bakterines infekcijas. Tiadiazolai yra labai svarbi heterociklinių junginių klasė, pasižyminti įvairiomis farmakologinėmis savybėmis (1.8 pav.). Terapinis 1,3,4-tiadiazolo potencialas yra komerciniuose vaistuose, taip pat įvairių tyrimų, kurių rezultatai yra svarbūs, tikslas, daugiausia mikrobiologinei veiklai. Galimybė naudoti kaip bioizosterą kitiems heterociklams, pavyzdžiui, oksadiazolui, padidina lipofiliškumą, neprarandant farmakologinių savybių. Taigi, įvairių 1,3,4-tiadiazolo darinių sintetiniai metodai yra labai veiksmingi, leidžiantys sukurti ir paruošti naujas antibakterines medžiagas [23]. Kito mokslinio tyrimo metu buvo susintetinta eilė naujų tiadiazolų, turinčių imidazolo fragmentą. Visi susintetinti junginiai buvo įvertinti dėl jų priešvėžinio aktyvumo prieš kepenų karcinomos ląstelių liniją. Rezultatai atskleidė, kad 1,3,4-tiadiazolo dariniai taip pat turi daug žadantį priešnavikinį prieš daugumą kepenų vėžio ląstelių [24]. Oksadiazolai yra naujai atrasta ne  $\beta$ -laktaminių antibiotikų klasė, nukreipta į ląstelių sienelių biosintezę. Šie antibiotikai pasižymi stipriu baktericidiniu poveikiu prieš sunkiai gydomas gramteigiamas bakterijas. Jie neturi gramneigiamo antibakterinio aktyvumo. Neseniai buvo pranešta apie oksadiazolų struktūros ir aktyvumo ryšį (SAR) prieš *S. aureus*, daugiausia dėmesio skiriant žiedo modifikacijoms [25]. Toksoforinis  $-N=C-O-$  ryšys 1,3,4-oksadiazolo žiede gali būti atsakingas už jų stiprų farmakologinį aktyvumą. Yra įvairių parduodamų vaistų, kurių sudėtyje yra 1,3,4-oksadiazolo žiedo, tokių kaip nitrofurano darinys – Furamizolas, kuris pasižymi stipriu antibakteriniu poveikiu, pavyzdžiui. Raltegraviras kaip antivirusinis vaistas ir Nesapidilis vartojamas antiaritminiam gydymui. FDA patvirtintas priešvėžinis agentas Zibotentan yra 1,3,4-oksadiazolo darinys. Fenilo žiedo pakeitimas skirtingais pakaitais, tokiais kaip *p*-Cl, *p*-NO<sub>2</sub> ir *p*-tBu, dar labiau padidina aktyvumą. Metiltio grupės pavertimas metilsulfonilo grupe taip pat padidina aktyvumą [26]. Atliktame moksliniame tyrime pakeisti 1,3,4-oksadiazolo dariniai turėjo platų biologinio aktyvumo spektrą, pavyzdžiui, priešnavikinį, antibakterinį ir priešgrybelinį, priešuždegiminį ir antioksidacinį [20].

### 1.5 N-alkilinimo reakcijos

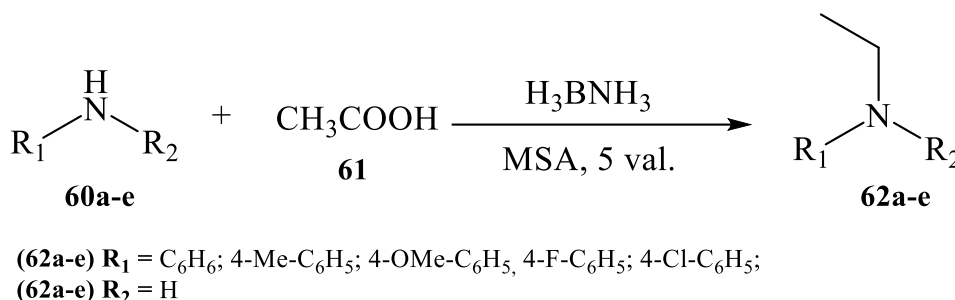
Efektyvus anglies ir azoto jungčių sukūrimas yra pagrindinis žingsnis sintezuojant daugybę junginių, kurie plačiai taikomi gyvosios gamtos moksluose ir chemijos pramonėje. Dėl šių produktų svarbos yra daug galingų metodų, skirtų aminų sintezei. Daugumai sudėtingesnių procedūrų reikalingi katalizatoriai, pagrįsti specifiniais (tauriųjų metalų) kompleksais. Nors šie metodai įrodė savo veiksmingumą daugybe pavyzdžių, jie dažnai gali būti vengiami dėl didelio šalutinių produktų ar

atliekų kiekio [27]. Veiksminga prieiga prie alkilaminų turėtų turėti didelės įtakos farmacijos pramonei, nes toks fragmentas yra daugelyje vaistų. Tiesioginis aminų alkilinimas paprastai buvo pasiektas aminorinant alkilhalogenidus. Pastaruoju metu, atsirado naujų katalizinių transformacijų, pavyzdžiui, tiesioginis arilhalogenidų amininimas, hidroamininimas ir aminų alkilinimas naudojant alkoholius kaip alkilinimo agentą. Pastarieji turi didelį poveikį dėl tvarumo, nes alkoholiai yra lengvai prieinamos pradinės medžiagos iš įvairių pramonės šakų. Pastaraisiais metais mokslininkai parodė, kad transformacijos galimos naudojant gausesnius ir mažiau toksiškus metalus [28].



**1.18 schema.** *N*-alkilinimo reakcija, naudojant benzilamino, butilbromido, trietilamino *N,N*-dimetilformamide

Mokslininkai nustatė, kad optimizuota sintezė, naudojant benzilamino, butilbromido, trietilamino *N,N*-dimetilformamide gali vykti 20–25 °C temperatūroje. Tyrime 1 mol trietilamino buvo sumaišytas su DMF ir kaitinta 8 valandas, nuolat maišant (1.18 schema). Reakcijos eiga buvo stebima plonasluoksne chromatografija. Atsižvelgiant į optimizuotas reakcijos sąlygas, šios strategijos taikymo sritis buvo ištirta naudojant įvairius aminorius ir alkilbromidus. Visų tirtų pirminių aminų *N*-alkilinimas pirminiu halogenidu vyko sklandžiai 62–87 % išeigomis [28].

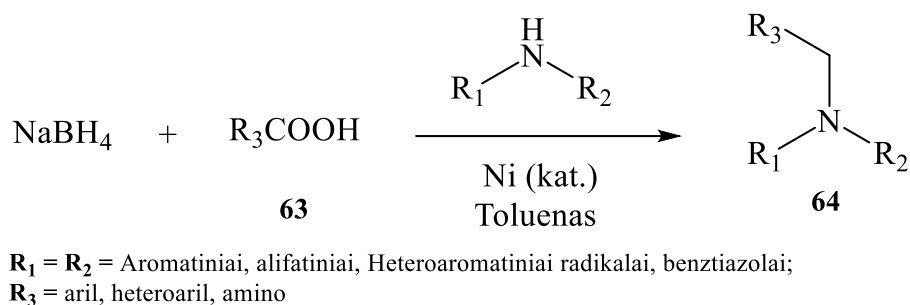


**1.19 schema.** *N*-alkilinimo reakcija su amoniako boranu ir metansulfono rūgštimi

Taip pat sukurta tikslinga aminų redukcinio *N*-alkilinimo su lengvai prieinamomis karboksirūgštimis, kaip alkilinimo reagentais, sintezė. Kaip vandenilio šaltinis buvo naudojamas komerciškai prieinamas ir daug vandenilio turintis amoniako boranas (H<sub>3</sub>B·NH<sub>3</sub>). Ši strategija parodė puikų funkcinių grupių suderinamumą ir sklandžiai buvo gauta daugybė tretinių aminų, įskaitant ir vaistų molekules. Atsižvelgiant į tai, kad amidai gali būti pagrindiniai tarpiniai produktai, buvo ištirta *Lewis* rūgštis BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, kuri, kaip nustatyta, pagreitina amidų susidarymą. Produktas buvo gautas 59 % išeiga. Toliau buvo tiriamos įvairios rūgštys, o MSA (metansulfono rūgštis) davė geriausią rezultatą (1.19 schema). Kai MSA kiekis buvo padvigubintas, norimo produkto išeiga smarkiai padidėjo iki 97 %. Kai reakcijos buvo vykdomos ore arba kambario temperatūroje, išeiga sumažėjo. Galiausiai buvo gautos optimalios reakcijos sąlygos, naudojant CH<sub>3</sub>CN kaip tirpiklį N<sub>2</sub> atmosferoje 60 °C temperatūroje per 5 valandas [28, 29].

*N*-alkilinimas gali būti vykdomas keliuose skirtinguose tirpikliuose, dažniausiai DMF ir THF, ir vyksta esant bazei, tokiai kaip natrio karbonatas arba tretiniai aminai. Temperatūra yra pagrindinis parametras, turintis įtakos reakcijos kinetikai, nors reakcija gali įvykti ir kambario temperatūroje.

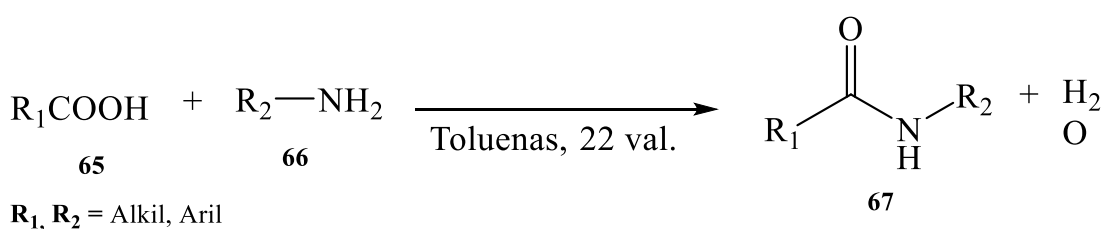
Heteroaromatinių aminių alkilinizimui dažnai reikia naudoti stiprias bazines, tokias kaip natrio bis(trimetilsilil)amidas, ir kriogenines sąlygas. Alkilinimo greitis atitinka eilę: pirminis aminas > antrinis aminas > tretinis aminas, o halogenido darinio reaktyvumas atitinka halogenido pakaitalo elektroneigiamumą. Bromidai ir jodidai yra praktiškiausi fragmentai, o chloridai išlieka gana paplitę dėl plataus komercinio prieinamumo. Nukleofilinis alkilhalogenidų pakeitimas nėra laikomas ekologiška reakcija, nes susidaro šalutinis halogenidų produktas. Didelio masto pramoniniai paprastų aminių gamybos metodai dažniausiai teikia pirmenybę alkoholių aminavimui, nes šalutinis produktas yra vanduo [30].



### 1.20 schema. N-alkilinizimas su natrio borohidridu ir įkapsuliuotu Ni

Kitame mokslininkų tyrime natrio borohidridas ir įkapsuliuotas Ni buvo naudojami kaip katalizatoriai, kad būtų pasiekta puiki kiekybinė išeiga (95–99 %) (1.20 schema). Taip pat buvo sėkmingai įrodytas šio alkilinizimo metodo universalumas naudojant naujus antrinius aminos. Palyginimui, ši metodika yra švelni, ekologiškai efektyvi ir užtikrina didelę 95–99 % išeigą. Į acto rūgštį toluene 0–5 °C temperatūroje dalimis buvo pridėtas natrio borohidridas. Po to į reakcijos mišinį buvo pridėta Ni katalizatorius ir palaipsniui temperatūra buvo padidinta iki 25–30 °C. Į gautą mišinį buvo pridėtas junginys ir temperatūra padidinta iki 80 °C, po to dalimis papildomai pridedama natrio borohidrido [31].

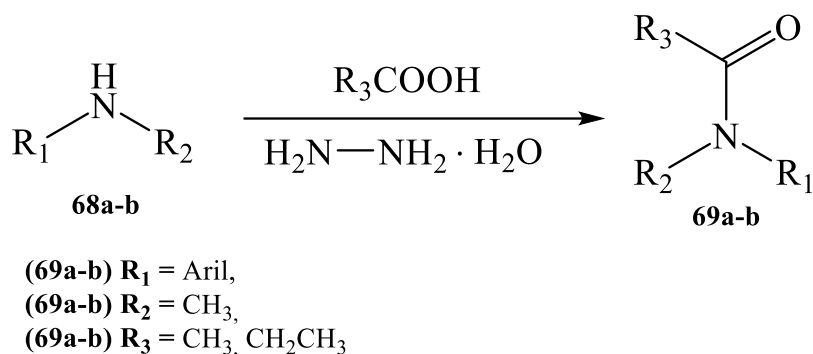
Taip pat, atsižvelgiant į svarbą, buvo sukurta daugybė N-acilinizimo metodikų, skirtų amidų sintezei iš aminių ir karboksilato darinių. Tinkamas acilinizimo agento pasirinkimas amido jungtims formuoti yra labai svarbus, nes daugelis veiksnių turi įtakos pagaminto amido produkto išeigai. Visų pirma, pirminio amino reaktyvumas (pvz., pirminis arba antrinis), esamos funkcinės grupės tipas (pvz., N- ir O-acilinizimo cheminis selektyvumas) gali reikšmingai paveikti naudojamų acilinizimo sąlygų pasirinkimą. Paprasti amidai dažnai gaminami naudojant patikimus metodus, kurie sujungia aminą su įprastu acilinizimo agentu (pvz., rūgšties chloridu, rūgšties anhidridu, metilo esteriu ir kt.), dalyvaujant bazei arba katalizatoriui [32]. Taip pat, simetriniai rūgšties anhidridai yra lengvai paruošiami ir plačiai naudojami kaip N-acilinizimo reagentai aminams, o acto rūgšties anhidridas plačiai naudojamas nekatalizuojamose reakcijose [32].



### 1.21 schema. Acilinizimas su karboksirūgštimi

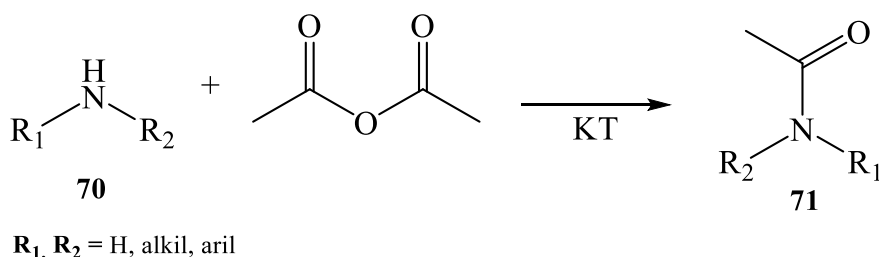


Karboksirūgštys yra potencialiai labai naudingi acilinimo reagentai amido jungtims formuoti, kurie plačiai naudojami kaip pirminiai substratai gaminant įvairius acilinimo agentus. Karboksilato druskos gali reaguoti ir sudaryti amido ryšius aukštoje temperatūroje (140–180 °C), tačiau atšiaurios sąlygos, kurių paprastai reikia, labai apriboja substrato apimtį ir tokio tipo amido jungčių susidarymo išeią. Williamsas ir jo kolegos aprašė paprasčiausias sąlygas tokio tipo reakcijai vykti. 110–150 °C temperatūra yra skirta tiesioginei rūgščių ir aminių kondensacijai, naudojant tolueną (arba ksileną) kaip nepolinį tirpiklį, kad nesusidarytų karboksilato druskos. Jų aprašytos sąlygos leido susintetinti junginius aukštomis išeigomis (1.21 schema) [32].



**1.22 schema.** Acilinimas naudojant hidrazino hidratą ir karboksirūgštį

*N*-acilinimas paprastai atliekamas naudojant acto rūgšties anhidridą, esant bazėms arba naudojant acetilchloridą. Mokslininkai sukūrė patogų ir švelnų metodą antrinių aminių *N*-acilinimui gera išeiga, naudojant hidrazino hidratą, kuris yra labai naudingas reagentas daugelio organinių junginių sintezei ir transformavimui. Acto rūgštis/propiono rūgštis buvo pridėta į amino ir hidrazino hidrato mišinį ir reakcijos mišinys virinamas su grįžtamoju šaldytuvu 3–6 val., reakciją stebint plonasluoksne chromatografija, o vėliau buvo neutralizuota prisotintu NaHCO<sub>3</sub> tirpalu (1.22 schema). Pašalinus tirpiklį sumažintame slėgyje, produktas (69a-b) buvo perkristalizuotas iš tirpiklio [33].



**1.23 schema.** Acilinimo reakcija, naudojant acto rūgšties anhidridą

Literatūroje rašoma, kad amino arba amino alkoholio ir acto rūgšties anhidrido mišinys buvo maišomas kambario temperatūroje atitinkamą laiką (1.23 schema). Pasibaigus reakcijai, reakcijos mišinys ištirpintas eteryje ir 1 val. stovėjo kambario temperatūroje. Per tą laiką susidarė produkto kristalai, kurie buvo nufiltruoti [34].

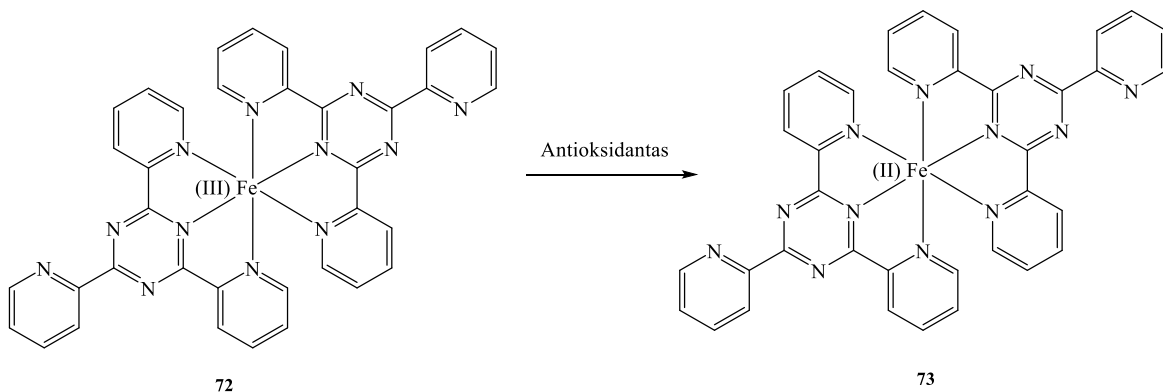
## 1.6 Reikšmė medicininėje chemijoje ir biologinio aktyvumo nustatymas

Medicininė chemija užsiima naujų darinių kūrimu bei esamų junginių savybių tyrimais. Kuriant tikslingas vaistines molekules, labai svarbu atsižvelgti į tam tikrus junginių parametrus. Vandeningas ryšys yra svarbus ne tik farmakologinėms savybėms, bet ir fizikinėms bei cheminėms vaistų molekulių transportinėms savybėms. Lipofiliškumas (pagal ClogP, apskaičiuotą 1-oktanolio ir

vandens pasiskirstymo koeficiento logaritmą) yra pagrindinis molekulinis deskriptorius, turintis įtakos įvairioms vaistų savybėms. Didelis lipofiliškumas dažnai siejamas su prastu medžiagų apykaitos stabilumu ir toksiškumu. Kadangi šiuo metu parduodamų vaistų vidutinis ClogP yra apie 2,7, todėl siekiama negaminti didelių ir labai lipofilinių junginių. Heterocikliniai fragmentai gali sumažinti junginio ClogP, palyginti su jo anglies analogais, todėl heterociklų įtraukimas į molekulę gali būti naudingas [5]. Tirpumas vandenyje yra svarbi vaisto savybė, lemianti jo geriamąjį biologinį prieinamumą. Daugybė aromatinių ir nearomatinių heterociklų pasižymi žymiai geresniu tirpumu vandenyje nei jų anglies analogai, o tai paaiškinama vandenilinio ryšio galimybe [5].

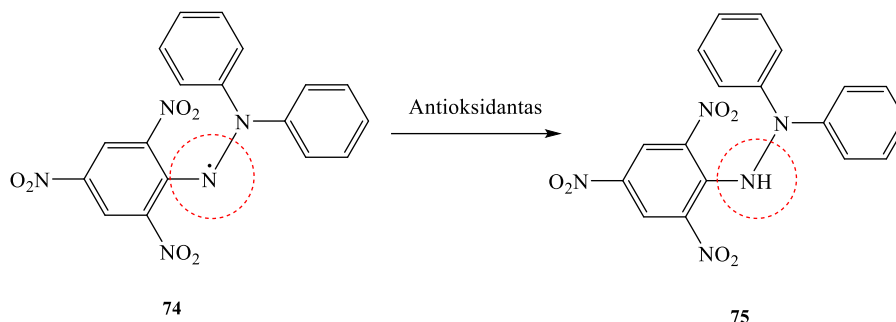
Literatūroje dažniausiai analizuojamas ir tiriamas heterociklinių junginių antibakterinis, antioksidacinis ir priešvėžinis aktyvumas. Per pastaruosius kelis dešimtmečius bakterijų ir grybelių padermių atsparumas vaistams išaugo, todėl įvairios infekcijos tampa rimta grėsmė sveikatos priežiūros įstaigoms visame pasaulyje. Todėl medicinos chemikams naujų antimikrobinių medžiagų paieška yra nesibaigianti ir svarbi užduotis [7]. Keli literatūroje aprašyti hidrazonai turėjo stiprų antivirusinį poveikį prieš skirtingas virusų padermes [36]. Kai buvo atrastos beveik visos svarbios antibiotikų grupės ir išspręstos pagrindinės chemoterapijos problemos, šie junginiai jau gali prarasti savo veiksmingumą dėl padidėjusio mikrobu atsparumo. Dėl šios priežasties naujų antibiotinių junginių atradimas yra labai svarbus. Labiausiai žinomi antibakterinio tyrimo *in vitro* metodai yra disko difuzijos arba agarų skiedimo [37]. 1940 m. sukurtas agarų disko difuzijos tyrimas yra naudojamas daugelyje klinikinės mikrobiologijos laboratorijų atliekant įprastinius jautrumo antimikrobinėms medžiagoms tyrimus. Taikant šią gerai žinomą procedūrą, antimikrobinė medžiaga difunduoja į agarą ir slopina tiriamojo mikroorganizmo dauginimąsi bei augimą, o tada išmatuojami augimo slopinimo zonų skersmenys. Kadangi bakterijų augimo slopinimas nereiškia bakterijų mirties, šiuo metodu negalima atskirti baktericidinio ir bakteriostatinio poveikio. Disko difuzijos tyrimas turi daug pranašumų, palyginti su kitais metodais: paprastumas, maža kaina, galimybė ištirti didžiulį mikroorganizmų ir antimikrobinių medžiagų skaičių ir pateiktų rezultatų interpretavimo paprastumas [37].

Literatūroje sintetinant bioaktyvius junginius, dažnai jiems atliekami antioksidaciniai tyrimai. Junginiai, turintys antioksidacinių savybių, galinčių sulaikyti laisvuosius radikalus, paskatino mokslininkus naudoti juos profilaktinėje ir gydomojoje fitoterapijoje. Antioksidantų vaidmuo yra neutralizuoti biologinėse ląstelėse esančius laisvuosius radikalus, kurie neigiamai veikia gyvus organizmus. Laisvųjų radikalų sukeltas oksidacinis aktyviai dalyvauja labai dažnų ligų, tokių kaip diabetas, aukštas kraujospūdis, aterosklerozė, ūminis inkstų nepakankamumas, Alzheimerio ir Parkinsono liga, fiziologijoje [38, 39].



1.24 schema. FRAP tyrimo metu  $\text{Fe}^{3+}$  kitimas į  $\text{Fe}^{2+}$

Vienas pagrindinių ir dažniausiai taikomų antioksidacinės galios nustatymo metodų yra vadinamas FRAP (*1.24 schema*). Šis tyrimas yra paprastas, greitas ir ekonomiškas, jam nereikia brangios ir sudėtingos įrangos. Tačiau Pulido, Bravo ir Saura-Calixto pranešė, kad šio tyrimo rezultatai kartais gali skirtis, priklausomai nuo antioksidantų ir  $\text{Fe}^{3+}$  reakcijos analizės laiko, kuris mokslininkų tyrimo metu svyravo nuo kelių minučių iki kelių valandų [38, 40].



**1.25 schema.** DPPH radikalo išaktyvinimas antioksidantu

Kitas antioksidacinio aktyvumo nustatymo metodas yra DPPH (*1.25 schema*). Radikalas tirpsta įvairiuose organiniuose tirpikliuose, bet netirpsta vandenyje. Reakcijos metu pasikeičia tirpalo spalva, išmatuota ties 517 nm bangos ilgiu, o spalvos pokytis yra antioksidacinio aktyvumo rodiklis [38].

## 1.7 Pass online programa

*PASS Online* programa prognozuoja daugiau nei 3500 biologinio aktyvumo rūšių, įskaitant farmakologinį poveikį, veikimo mechanizmus, toksinį, sąveiką su metaboliniais fermentais ir transporteriais, įtaką genų ekspresijai ir kt. Norint gauti junginio biologinio aktyvumo profilį, reikalinga tik struktūrinė formulė. Taigi prognozuoti galima net kompiuteriu suprojektuotai, bet dar nesusintetintai virtualiai struktūrai, tai labai palengviną sintezės planavimą ir galimų naujų molekulių sintezę, siekiant pagerinti užsibrėžtą tikslą (farmakologines savybes jau esamų molekulių). Prognozavimas pagrįstas daugiau nei 250 000 biologiškai aktyvių medžiagų struktūros aktyvumo ir ryšių analize. *PASS* algoritmo patikimumas buvo įrodytas specialiuose eksperimentuose su pagrindiniais junginiais iš duomenų bazės, kurią sudarė 18977 junginiai su 124 poveikiais. Junginių rinkinys buvo 50 kartų atsitiktinai padalintas į du vienodus pogrupius. Pirmasis pogrupis buvo naudojamas kaip mokymo rinkinys, antrasis kaip vertinimo pogrupis ir atvirkščiai (100 eksperimentų). 20, 40, 60, 80 % informacijos buvo atsitiktinai neįtraukta iš treniruočių rinkinio. Kiekvienam veiklos tipui buvo apskaičiuotas vidutinis prognozavimo tikslumas (IAP). Buvo įrodyta, kad *PASS* vis dar suteikia pagrįstą prognozių tikslumą [41].

Kadangi *PASS* paslauga medicinos chemikai, farmakologai ir toksikologai naudojami jau keletą metų, yra daug publikacijų, kuriose *PASS* prognozės buvo patvirtintos vėlesne sinteze ir biologiniais tyrimais. Siekiant pateikti tikslesnes naujoms cheminėms klasėms priklausančių junginių prognozes ir išplėsti naujomis biologinėmis veiklomis, *PASS* mokymo rinkinys yra nuolatos tobulinamas ir plečiamas. Cheminio junginio biologinio aktyvumo spektras – tai įvairių rūšių biologinio aktyvumo visuma, atspindinti junginio sąveikos su įvairiais biologiniais subjektais rezultatus. Biologinis aktyvumas apibrėžiamas kokybiškai („taip“ / „nėra“), o tai rodo, kad biologinio aktyvumo spektras atspindi medžiagos savybę, priklausančią tik nuo jos struktūros ir fizikinių-cheminių savybių [41].

## 1.8 Literatūros apžvalgos apibendrinimas

Šiuolaikinėje medicininės chemijos srityje plačiai tyrinėjami įvairūs hidrazidai ir hidrazonai. Jau nuo seniai žinomas heterociklinių junginių galimas įvairus biologinis aktyvumas. Labiausiai šie junginiai pasižymi antibakterinėmis, antioksidacinėmis, priešvėžinėmis ir antivirusinėmis savybėmis. Atliekant hidrazidų kondensaciją su aldehidais ir ketonais, gaunami įvairiai pakeisti hidrazinų dariniai. Tokiu būdu gaunami nauji junginiai, kurie gali būti naudojami kaip antioksidantai arba antibakteriniai agentais prieš atsparumą esamiems vaistams įgavusias bakterijas. Todėl šių junginių paieška niekada nestovi vietoje ir ieškoma vis aktyvesnių kamienų bei prijungti pasiruoštų fragmentų/funkcinių grupių, kad išgauti naujus, kuo aktyvesnius junginius. Siekiant dar labiau praplėsti biologinių junginių sąrašą, vykdoma hidrazidų rūgštinė ciklizacija iki 1,3,4-tiadiazolų ir vykdomos jų *N*-alkilavimo reakcijos su įvairiais acetofenonais. Remiantis literatūros apžvalga, šio darbo metu siekta susintetinti naujus hidrazonus ir 1,3,4-tiadiazolus, parinkti tinkamas sąlygas *N*-alkilavimo reakcijoms bei ištirti gautų junginių biologinį aktyvumą.

## 2. Medžiagos ir tyrimų metodai

### 2.1 Medžiagos ir aparatūra

**Naudoti tirpikliai:** vanduo, acetonas, *N,N*-dimetilformamidas, metanolis, izopropanolis, etanolis, DMSO.

**Naudoti reagentai:** *p*-toluidinas, metilakrilatas, fenilizotiocianatas, konc. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 2-acetilfuranas, acetofenonas, 2-acetiltiofenas, propionfenonas, 3-aminoacetofenonas, 4-nitrobenzaldehydas, 5-nitrotiofen-2-karboksialdehydas, benzaldehydas, salicilbenzaldehydas, 2-hidroksi-1'-naftaldehydas, 2-brom-4'-chloracetofenonas, 4-metoksiacetofenonas, 2-bromacetofenonas.

**Sintezės laboratorijoje naudota aparatūra:** UV lempa 245 nm – stebėti plonasluoksnei chromatogramai, Perkin Elmer Spectrum 100FT-IR – IR analizei (mėginių tabletės su KBr), MEL-TEMP 1001D – lydymosi temperatūrai nustatyti, Bruker Avance III – junginių BMR spektrams gauti (deuteriuotas DMSO tirpiklis, vidinis standartas – tetrametilsilanas).

### 2.2 Eksperimentų aprašymas

**3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (3)** susintetintas pagal žinomą metodiką [42]. Lyd.t. 135–136 °C.

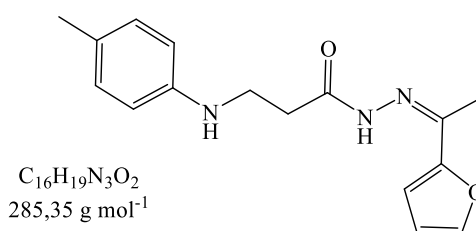
***N*-fenil-2-[3-(*p*-tolilamino)propanoil]hidrazin-1-karbotioamidas** resintezuotas pagal moksliniame straipsnyje pateiktą metodiką [43]. Balta kieta medžiaga; lyd.t. 164–165 °C.

***N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-aminas** resintezuotas pagal moksliniame straipsnyje pateiktą metodiką [43]. Balta kieta medžiaga; lyd.t. 151–152 °C.

Junginių **5a-5e** sintezė vykdyta pagal toliau apibūdintą metodiką:

Junginiui **3** reaguojant su ketonais metanolyje, maišant virimo temperatūroje 24 val., susidarė atitinkami hidrazono dariniai. Reakcijos eiga buvo sekta plonasluoksne chromatograma. Po reakcijos į mišinį buvo įpilta distiliuoto vandens.

#### ***N*'-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (5a)**



0,67 g (3 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,34 g (3,1 mmol, 0,37 ml) 2-acetilfurano ištirpinti 20 ml MeOH. Į mišinį įlašintas katalitinis kiekis acto rūgšties. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliu, perkristalizuotos iš metanolio. Išėiga: 0,28 g (28 %). Lyd. t. 128–130 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>; *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,11 (s, 3H, CH<sub>3Ar</sub>); 2,13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,55 (t, 0,8H, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,83 (t, 1,2H, *J* = 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,27 (kv, 2H, *J* =

7,0 Hz,  $J = 14,2$  Hz,  $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$ ); 5,22 (s, 1H,  $\underline{\text{CONH}}$ ); 6,50–7,70 (m, 7H,  $\text{H}_{\text{Ar}}, \text{Ar}^*$ ); 10,34 (s, 0,6H, NH); 10,39 (s, 0,4H, NH).

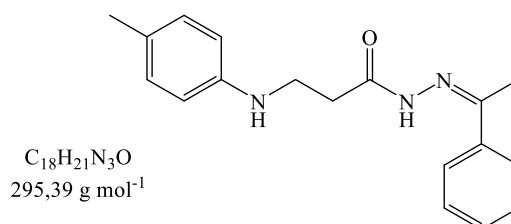
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 13,58 ( $\text{CH}_3$ ); 20,49 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 33,06 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,45 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 111,47; 111,84; 112,41; 112,85; 125,14; 129,91; 140,58; 144,19 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 144,68; 146,62; 152,13 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 168,84; 174,52 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3336,97–3180,73 (NH); 2820,84–2973,98 (CH); 1638,16 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 64,76; H 6,74; N 14,23;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$ , %: C 67,35; H 6,71; N 14,73;

### ***N'*-(1-feniletiliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (5b)**



0,67 g (3 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,37 g (3,1 mmol, 0,32 ml) acetofenono ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš metanolio. Išeiga: 0,72 g (70 %). Lyd. t. 132–134 °C

$^1\text{H}$  BMR (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ , *Z/E* izomerų mišinys, 40/60),  $\delta$  (m.d.): 2,11 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2,21 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,58 (t,  $J = 6,8$  Hz, 0,8H,  $\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$ ); 2,90 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1,2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$ ); 3,29 (kv,  $J = 6,8$  Hz,  $J = 12,4$  Hz, 2H,  $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$ ); 5,21 (s, 1H, NH); 6,49–6,87 (m, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7,36–7,73 (m, 5H,  $\text{H}_{\text{Ar}}^*$ ); 10,40 (s, 0,6H, NH); 10,44 (s, 0,4H, NH).

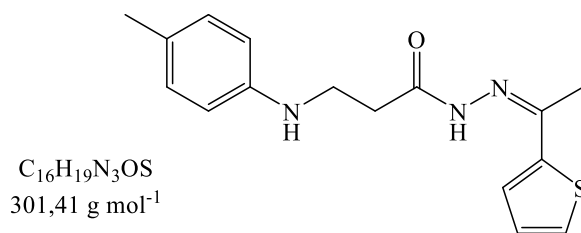
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 14,01 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 20,49 ( $\text{CH}_3$ ); 33,03 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,51 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,84; 113,00; 124,91; 125,13; 126,47; 126,80; 128,85; 129,56; 129,89; 138,54; 146,60 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 146,63; 148,35; 152,26; 168,99 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 174,72 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3352,16–3192,32 (NH); 2731,38–2939,88 (CH); 1681,48 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 75,47; H 7,41; N 14,57;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$ , %: C 73,19; H 7,17; N 14,23;

***N'*-[1-(tiofen-2-il)etilden]- 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (5c)**



0,67 g (3 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,30 g (3,1 mmol, 0,29 ml) 2-acetiltiofeno ištirpinti 20 ml MeOH. Į mišinį įlašintas katalitinis kiekis acto rūgšties. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanolium, perkristalizuotos iš metanolio. Išiga: 0,65 g (62 %). Lyd. t. 114–116 °C.

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>Ar); 2,22 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,54 (t, *J* = 6,8 Hz, 0,8H, CH<sub>2</sub>CO); 2,83 (t, *J* = 7,1 Hz, 1,2H, CH<sub>2</sub>CO); 3,28 (kv, 2H, *J* = 7,3 Hz, *J* = 15,4 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,21 (s, 1H, NH); 6,50 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>); 6,94 (m, 3H, CH<sub>Ar</sub>); 7,44 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>); 10,40 (s, 1H, CONH).

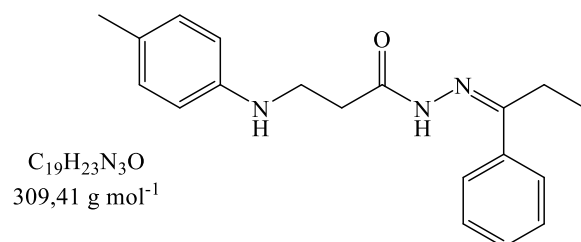
<sup>13</sup>C BMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (m.d.): 14,32; (CH<sub>3</sub>Ar); 20,50 (CH<sub>3</sub>); 33,05 (CH<sub>2</sub>CO); 34,44 (CH<sub>2</sub>NH); 112,82; 124,93; 127,79; 128,50; 129,11; 129,92; 143,82; 144,96 (C<sub>Ar</sub>); 146,62; 149,06; 168,55 (C=N); 174,30 (C=O).

IR (KBr), ν cm<sup>-1</sup>: 3348,65–3103,78 (NH); 2733,52–2940,41 (CH); 1683,88 (C=O).

Nustatyta, %: C 64,38; H 6,53; N 14,15;

Apskaičiuota, C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>OS, %: C 63,76; H 6,35; N 13,94;

***N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (5d)**



0,67 g (3 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,42 g (3,1 mmol, 0,42 ml) propionfenono ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanolium, perkristalizuotos iš metanolio. Išiga: 0,19 g (18 %). Lyd. t. 116–118 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 0,98 (t, 3H, *J* = 7,5 Hz, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2,11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>Ar); 2,59 (t, *J* = 6,8 Hz, 0,8H, CH<sub>2</sub>CO); 2,74 (kv, *J* = 7,6 Hz, *J* = 14,4 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>); 2,91 (t, *J* = 7,2 Hz, 1,2H, CH<sub>2</sub>CO); 3,28 (kv, 2H, *J* = 6,8 Hz, *J* = 13,2 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,23 (s, 1H, NH); 6,47–6,84 (m, 4H, H<sub>Ar</sub>); 7,37–7,71 (m, 5H, H<sub>Ar</sub>); 10,52 (s, 1H, NH).

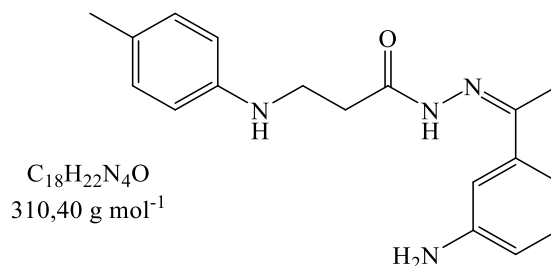
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 11,18 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ); 19,66 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ ); 20,50 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 33,07 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,53 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,83; 113,07; 124,90; 125,25; 126,54; 128,99; 129,54; 129,89; 137,33; 146,62 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 152,62; 156,17 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 169,12; 174,84 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu$   $\text{cm}^{-1}$ : 3388,12–3185,47 (NH); 2732,93–2976,99 (CH); 1652,11 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 73,32; H 7,58; N 13,49;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}$ , %: C 73,76; H 7,49; N 13,58;

***N'*-[1-(3-aminofenil)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (5e)**



0,67 g (3 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,42 g (3,1 mmol) 3-aminoacetofenono ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš metanolio. Išiga: 0,41 g (38 %). Lyd. t. 118–120 °C.

$^1\text{H}$  BMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , *Z/E* izomerų mišinys, 40/60),  $\delta$  (m.d.): 2,11 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 2,13 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,55 (t,  $J = 6,8$  Hz, 0,8H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2,88 (t, 1,2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 3,28 (t, 2H,  $J = 6,0$  Hz,  $J = 12,4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 5,20 (s, 1H, NH); 6,49–7,16 (m, 8H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{Ar}'$ ); 6,95 (s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 10,28 (s, 0,6H, NH); 10,33 (s, 0,4H, NH).

$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 14,17 ( $\text{CH}_3$ ); 14,67; 20,51 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 33,08 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,53 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,17; 112,88; 114,73; 115,49; 115,79; 124,97; 129,35; 129,93; 139,31; 146,58; 148,75; 149,13 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 153,11; 168,81 ( $\text{C}=\text{N}$ ); 174,61 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3460,84–3223,67 (NH); 2731,87–2968,71 (CH); 1643,55 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 69,86; H 7,32; N 18,11;

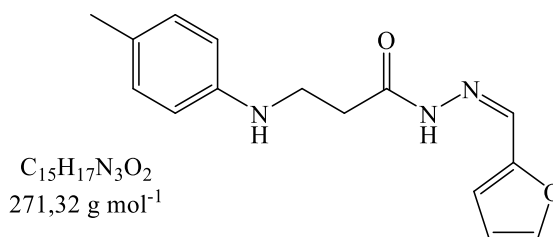
Apskaičiuota,  $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}$ , %: C 69,65; H 7,14; N 18,05;

Junginių **7a-7g** sintezė vykdyta pagal toliau apibūdintą metodiką:

Junginiui **3** reaguojant su aldehidais metanolyje, maišant virimo temperatūroje 24 val., susidarė atitinkami hidrazono dariniai. Reakcijos eiga buvo sekta plonasluoksne chromatograma. Po reakcijos į mišinį buvo įpilta distiliuoto vandens. Iškritę nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuota iš metanolio.



### *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7a)



0,5 g (2,5 mmol) hidrazido (**3**) ir 0,25 g (2,6 mmol, 0,22 ml) 2-furaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Į mišinį įlašintas katalitinis kiekis acto rūgšties. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išėiga: 0,33 g (47 %). Lyd. t. 131–133 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,43 (t, 0,8H, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,80 (t, 1,2H, *J* = 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,27 (t, 2H, *J* = 7,4 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,33 (s, 1H, CH<sub>2</sub>NH); 6,48–6,59 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>, Ar'); 6,80–6,89 (m, 3H, H<sub>Ar</sub>, Ar'); 7,78 (s, 1H, H<sub>Ar'</sub>) 7,87 (s, 0,6H, CH); 8,03 (s, 0,4H, CH); 11,24 (s, 0,6H, NH); 11,35 (s, 0,4H, NH).

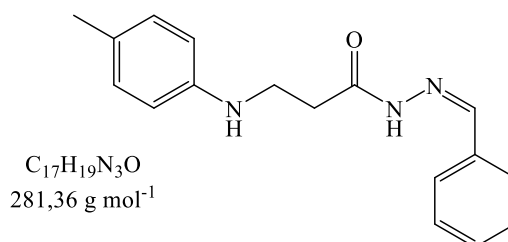
<sup>13</sup>C BMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (m.d.): 20,26 (CH<sub>3</sub>); 32,36 (CH<sub>2</sub>CO); 34,38 (CH<sub>2</sub>NH); 112,30; 112,49; 113,45; 124,40; 129,60; 133,33 (CH); 136,22; 145,00; 146,41; 149,36 (C<sub>Ar</sub>); 149,52; 167,65; 173,21 (C=O).

IR (KBr), ν/cm<sup>-1</sup>: 3340,70–3122,36 (NH); 2953,17–2862,71 (CH); 1665,51 (C=O).

Nustatyta, %: C 67,04; H 6,38; N 13,63;

Apskaičiuota, C<sub>15</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, %: C 66,40; H 6,32; N 15,49;

### *N'*-fenilden-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7b)



0,5 g (2,5 mmol) hidrazido (**3**) ir 0,28 g (2,6 mmol, 0,27 ml) benzaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išėiga: 0,35 g (48 %). Lyd. t. 165–167 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,47 (t, 0,8H, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,88 (t, 1,2H, *J* = 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,29 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,35 (s, 1H, NH); 6,51 (d, 2H, H<sub>Ar</sub>); 6,89 (d, 2H, H<sub>Ar</sub>); 7,41–7,65 (m, 5H, H<sub>Ar'</sub>); 8,00 (s, 0,6H, CH); 8,14 (s, 0,4H, CH); 11,30 (s, 0,6H, NH); 11,42 (s, 0,4H, NH).

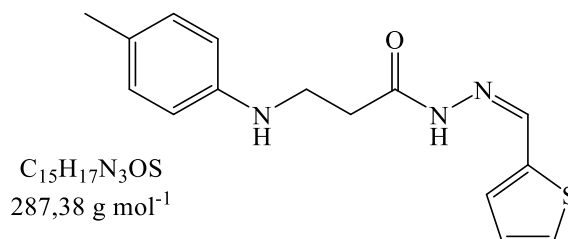
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 20,26 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 32,37 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,38 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,46; 124,41; 126,85; 127,19; 128,98; 129,59; 129,95; 130,16; 134,43 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 134,39; 143,19 ( $\text{CH}=\text{N}$ ); 146,44; 167,74; 173,38 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3334,45–3062,34 (NH); 2857,74–2967,03 (CH); 1665,52 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 72,94; H 7,01; N 14,97;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}$ , %: C 72,57; H 6,81; N 14,94;

***N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7c)**



0,5 g (2,5 mmol) hidrazido (**3**) ir 0,29 g (2,6 mmol, 0,24 ml) tiofen-2-karboksaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Į mišinį įlašintas katalitinis kiekis acto rūgšties. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliu, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išėiga: 0,49 g (66 %). Lyd. t. 187–189 °C

$^1\text{H}$  BMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , *Z/E* izomerų mišinys, 40/60),  $\delta$  (m.d.): 2,13 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,43 (t,  $J = 6,8$  Hz, 0,8H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2,80 (t,  $J = 7,2$  Hz, 1,2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 3,28 (t,  $J = 7,4$  Hz, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 5,32 (s, 1H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 6,51 (d, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 6,89 (t,  $J = 7,6$  Hz, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7,10 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7,37 (d, 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7,60 (t,  $J = 4,4$  Hz; 1H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 8,18 (s, 0,6H, CH); 8,35 (s, 0,4H, CH); 11,27 (s, 0,6H, NH); 11,36 (s, 0,4H, NH).

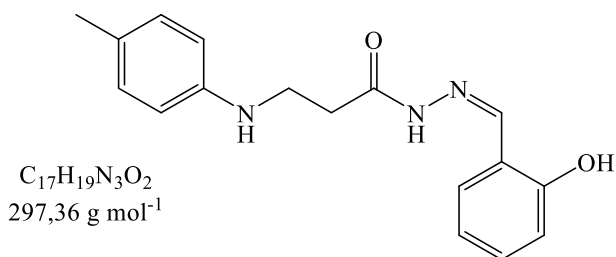
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 20,26 ( $\text{CH}_3$ ); 32,37 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,38 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,45; 124,40 (CH); 128,10; 128,41; 128,89; 129,62; 130,42; 130,90; 138,45; 139,06; 141,50; 146,42 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 167,56; 173,00 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3346,63–3098,82 (NH); 2854,96–2972,21 (CH); 1664,00 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 62,44; H 6,06; N 15,22;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{OS}$ , %: C 62,69; H 5,96; N 14,62;

### ***N'*-(2-hidroksifeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7d)**



0,5 g (2,5 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,32 g (2,6 mmol, 0,28 ml) salicilbenzaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išeiga: 0,47 g (61 %). Lyd. t. 202–204 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,49 (t, 1,2H, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,85 (t, 0,8H, *J* = 7,4 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,31 (t, 2H, *J* = 6,8 Hz, *J* = 12,4 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,35 (s, 1H, NH); 6,49–7,62 (m, 8H, H<sub>Ar</sub>, Ar'); 8,29 (s, 0,4H, CH); 8,34 (s, 0,6H, CH); 10,18 (s, 0,4H, OH); 11,20 (s, 0,6H, NH); 11,29 (s, 0,4H, NH); 11,66 (s, 0,6H, OH).

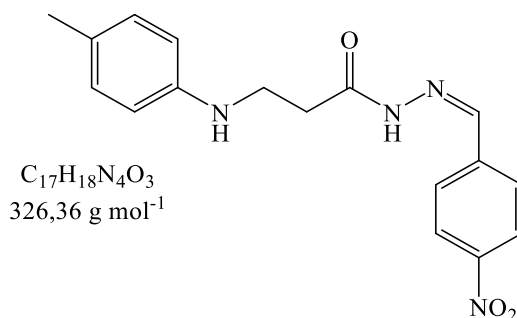
<sup>13</sup>C BMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (m.d.): 20,26 (CH<sub>3</sub>); 32,33 (CH<sub>2</sub>CO); 34,16 (CH<sub>2</sub>NH); 112,53; 116,53; 118,74; 119,55; 120,24; 124,41; 124,54; 126,79; 129,60; 131,49; 141,25; 146,37 (C<sub>Ar</sub>); 146,92 (CH=N); 156,52; 157,47; 167,53; 172,96 (C=O).

IR (KBr), ν/cm<sup>-1</sup>: 3337,65–3070,28 (NH); 2948,60 (OH); 2860,68 (CH); 1663,42 (C=O).

Nustatyta, %: C 68,23; H 6,53; N 14,02;

Apskaičiuota, C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, %: C 68,67; H 6,44; N 14,13;

### ***N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7e)**



0,5 g (2,5 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,39 g (2,6 mmol) 4-nitrobenzaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išeiga: 0,47 g (55 %). Lyd. t. 179–181 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,51 (t, 0,8H, *J* = 6,6 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,91 (t, 1,2H, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,30 (t, 2H, *J* = 7,2 Hz, *J* = 14,4 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,34 (s, 1H, NH); 6,50, 6,88 (2d, 4H, H<sub>Ar</sub>); 7,83–7,92 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>); 8,05 (s, 0,6H, CH); 8,21 (m, 2H, H<sub>Ar</sub>); 8,26 (s, 0,4H, CH); 11,58 (s, 0,6H, NH); 11,71 (s, 0,4H, NH).

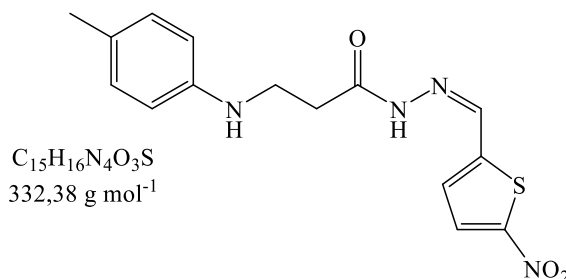
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 20,24 ( $\text{CH}_3\text{Ar}$ ); 32,16 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,42 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,45; 112,53; 124,16; 124,41; 124,54; 127,70; 128,08; 129,59; 140,71 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 143,82 ( $\text{CH}=\text{N}$ ); 146,42; 147,71; 168,20; 173,85 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3339,51–3097,78 (NH); 2865,83 – 2982,30 (CH); 1661,26 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

Nustatyta, %: C 62,97; H 5,73; N 17,34;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_3$ , %: C 62,57; H 5,56; N 17,17;

***N'*–[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7f)**



0,5 g (2,5 mmol) atitinkamo propanhidrazido (**3**) ir 0,41 g (2,6 mmol) 5-nitrotiofen-2-karboksialdehido ištirpinti 20 ml MeOH. Į mišinį įlašintas katalitinis kiekis acto rūgšties. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išeiga: 0,45 g (52 %). Lyd. t. 193–195 °C

$^1\text{H}$  BMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ , *Z/E* izomerų mišinys, 40/60),  $\delta$  (m.d.): 2,13 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 2,47 (t, 0,8H,  $J = 7,0$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 2,83 (t, 1,2H,  $J = 7,2$  Hz,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 3,28 (t, 2H,  $J = 7,4$  Hz,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 5,33 (s, 1H, NH); 6,50–6,89 (2d, 4H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7,42–8,05 (m, 2H,  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 8,13 (s, 0,6H, CH); 8,38 (s, 0,4H, CH); 11,69 (s, 0,6H, NH); 11,77 (s, 0,4H, NH).

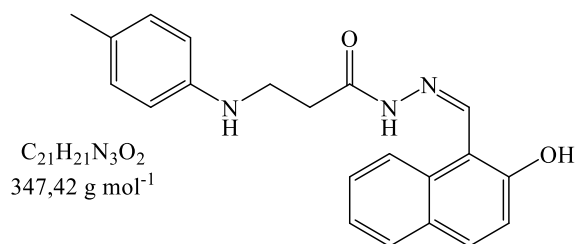
$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 20,24 ( $\text{CH}_3$ ); 32,25 ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 34,43 ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 112,44; 124,46 ( $\text{CH}=\text{N}$ ); 129,01; 129,61; 130,71; 136,43; 139,76; 146,32; 146,84; 150,48 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 150,86; 168,23; 173,56 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3403,44–3179,22 (NH); 2853,23–2966,67 (CH); 1666,57 ( $\text{C}=\text{O}$ ); 1519,79, 1341,35 (NO).

Nustatyta, %: C 55,05; H 4,98; N 17,03;

Apskaičiuota,  $\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ , %: C 54,20; H 4,85; N 16,86;

***N'*-(2-hidroksinaftalen-1-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7g)**



0,5 g (2,5 mmol) hidrazido (**3**) ir 0,45 g (2,6 mmol) 2-hidroksi-1-naftaldehido ištirpinti 20 ml MeOH. Iškritusios nuosėdos nufiltruotos, praplautos metanoliumi, perkristalizuotos iš DMF ir vandens mišinio. Išeiga: 0,46 g (51 %). Lyd. t. 195–197 °C

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, *Z/E* izomerų mišinys, 40/60), δ (m.d.): 2,13 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 2,54 (t, 1,2H, *J* = 6,8 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 2,90 (t, 0,8H, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>CO); 3,35 (t, 2H, *J* = 7,0 Hz, CH<sub>2</sub>NH); 5,39 (s, 1H, NH); 6,53–6,90 (2d, 4H, H<sub>Ar</sub>); 7,20–8,50 (m, 6H, H<sub>Ar</sub>); 8,91 (s, 0,4H, CH); 9,15 (s, 0,6H, CH); 11,14 (s, 0,4H, NH); 11,37 (s, 0,4H, OH); 11,79 (s, 0,6H, NH); 12,66 (s, 0,6H, OH).

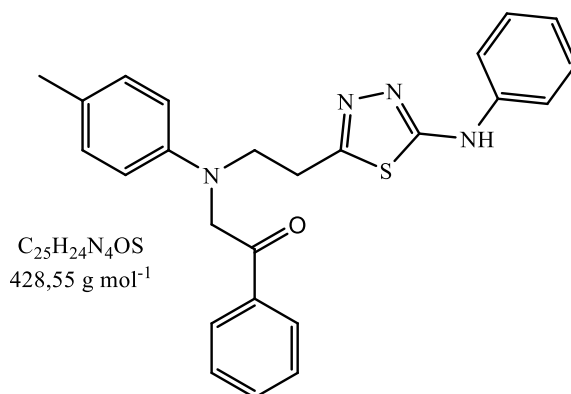
<sup>13</sup>C BMR (101 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>), δ (m.d.): 20,25 (CH<sub>3</sub>); 32,27 (CH<sub>2</sub>CO); 34,18 (CH<sub>2</sub>NH); 108,61; 110,00; 112,54; 118,40; 119,02; 120,90; 123,73; 124,56; 127,91; 129,11; 129,61; 131,69; 132,79 (C<sub>Ar</sub>); 142,71; 145,31 (CH=N); 146,37; 156,93; 157,97; 167,33; 172,47 (C=O).

IR (KBr), ν/cm<sup>-1</sup>: 3382,74–3195,86 (NH); 2912,07, 2857,48 (OH); 1667,43 (C=O).

Nustatyta, %: C 70,78; H 6,14; N 11,94;

Apskaičiuota, C<sub>21</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>, %: C 72,60; H 6,09; N 12,10;

**1-fenil-2-((2-[5-(fenilamino)-1,3,4-tiadiazol-2-il]etil)(*p*-tolilamino)etan-1-onas (**9**)**



0,31 g *N*-fenil-5-(2-(*p*-tolilamino)etil)-1,3,4-tiadiazol-2-amino (**4**) buvo ištirpintas DMF. Į tirpalą įdėta 0,001 mol KOH, 0,001 mol K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ir 2-bromacetofenono (0,0011 mol, 0,219 g) ir reakcijos mišinys maišytas 24 val., 60 °C temperatūroje. Mišinys buvo atvėsintas, įpilta vandens, susidarė kristalai, kurie buvo filtruoti, praplauti ir džiovinti. Perkristalizuota iš DMF ir vandens mišinio. Išeiga 0,05 g (12 %). Lyd. t. 113–115 °C.

<sup>1</sup>H BMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ (m.d.): 2,12 (s, 3H, CH<sub>3</sub>); 3,11 (t, *J* = 6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,33 (t, *J* = 6 Hz, 2H, CH<sub>2</sub>N); 5,42 (s, 2H, NCH<sub>2</sub>CO); 6,50–7,54 (m, 14H, H<sub>Ar</sub>, Ar', Ar''); 10,20 (s, 1H, NH).

$^{13}\text{C}$  BMR (101 MHz, DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (m.d.): 20,50 ( $\text{CH}_3$ ); 29,84 ( $\text{CH}_2$ ); 42,94 ( $\text{CH}_2$ ); 44,70 ( $\text{CH}_2$ ); 113,04; 117,73; 122,34; 129,61; 129,87; 129,99; 130,11; 133,57; 137,45; 141,15; 146,35 ( $\text{C}_{\text{Ar}}$ ,  $\text{Ar}'$ ,  $\text{Ar}''$ ); 158,62; 165,96; 170,64 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

IR (KBr),  $\nu/\text{cm}^{-1}$ : 3253,83 (NH); 1513,65 ( $\text{C}=\text{O}$ ).

### 2.3 Naujų junginių biologinių savybių tyrimai

Biotechnologijos laboratorijoje atliktuose tyrimuose naudota įranga:

- Autoklavas „Certoclav CV–EL“;
- Centrifuga „Universal 320 R“;
- Laminaras „Telstar BV 100“;
- Mėgintuvėlių purtyklė „Biosan BioVortex V1“;
- pH metras „Winlab“;
- Spektrofotometras „Shimadzu UV–1280“;
- Svarstyklės „Shimadzu ATX 8400“;
- Termostatas „Binder BD23“;
- Vandens vonelė „Memmert“.

Biologiniuose tyrimuose naudoti junginiai:

- Natrio chloridas – 10 g/L;
- Triptonas - 10,0 g/L;
- Mielų ekstraktas – 5,0 g/L;
- Mikro agaras – 10 g/L;
- Metanolis;
- DPPH etaloninis tirpalas;
- 0,2 M Natrio fosfatinis buferis (pH = 6,6);
- 1 %  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ ;
- 10 % Trichloracto rūgštis;
- 0,1 %  $\text{FeCl}_3$ ;
- 300 mM acetato buferis (pH = 3,6);
- 40 mmol/L HCl;
- 10 mmol TPTZ, ištirpintas 40 mmol/l HCl;
- 20 mmol/L  $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ;
- 2000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ ;
- 20 mM fosfatinis buferis (pH = 7,4);
- 2 mM ABTS;
- 0,17 mM kalio persulfatas;
- 0,066 M K/Na fosfatinis buferis;
- DMSO.

### 2.3.1 Antibakterinis aktyvumas agaro difuziniu metodu

Antibakteriniams tyrimams buvo sukurti keli metodai, tarp kurių ir agaro difuzinis metodas [44]. Bakterijų augimui buvo paruošta 0,4 L LB terpės (2.1 lentelė). Jos pH buvo 7,2. Tyrimams naudotas antibiotikas ciprofloksacinas (2.2 lentelė). Bakterijos buvo pasėtos į terpę *Petri* lėkštelėse. Po 24 val. buvo stebimas jų augimas.

2.1 lentelė. LB terpės sudėtis ir paruošimas

Terpės komponentas	Koncentracija, g/l	Paimtas kiekis, g
Natrio chloridas	10	4
Triptonas	10	4
Mielių ekstraktas	5	2
Mikro agaras	10	4

2.2 lentelė. Antibiotiko naudojamas ir paruošimas

Antibiotikas	Pradinė koncentracija ir antibiotiko paruošimas	Darbinė koncentracija
Ciprofloksacinas	10 mg/ml DMSO	50 µg/ml

Agaro difuzijos metodo junginys difunduoja per agaro terpę, pasėta tam tikra bakterija. Filto popieriaus diskas yra dedamas ant terpės lėkštelėje paviršiaus. Jei junginiai yra antimikrobiniai, tai aplink diską susidaro slopinimo zona. Slopinimo zonos skersmuo išmatuojamas liniuote milimetrais. Ši zona apie diskelį apibūdina antimikrobinį aktyvumą, kurį galima palyginti su kontrole ir lėkštele su antibiotiku, kuris labai stipriai slopina bakterijas (šiuo atveju – ciprofloksacinas). Tai ekonomiškai ir efektyvus antimikrobinio aktyvumo nustatymo metodas.

Junginiai buvo užpilti DMSO (20 mmol). Bakterijų šviesos sugertis buvo matuota 600 nm bangos ilgyje. Ant LB terpės buvo užpilta 50 µl bakterijų suspensijos ir uždėti popieriniai diskai, ant kurių buvo lašinta po 50 µl junginių. Vienoje *Petri* lėkštelėje buvo lašinta ne junginiai, o antibiotikas – ciprofloksacinas, o kitoje nelašinta niekas, tik pasėtos bakterijos. Tada lėkštelės buvo sudėtos į termostatą ir laikomos 37 °C temperatūroje. Po paros buvo stebimas bakterijų augimas ir antibiotiko, junginių antibakterinis poveikis, kuris buvo palygintas tarpusavyje.

### 2.3.2 Antioksidacinių savybių tyrimas DPPH metodu

Tyrimo antioksidacinis aktyvumas buvo įvertintas matuojant, kiek procentų stabilus DPPH radikalo neutralizuoja junginiai.

Tyrimui atlikti paruoštas 20 mmol junginio tirpalas. Etaloninis DPPH tirpalas paruoštas 0,0024 g DPPH radikalo tirpinant metanolyje 100 ml talpos matavimo kolboje. Palyginamasis tirpalas paruoštas iš 1 ml DMSO, 1 ml DPPH etaloninio tirpalo. Tiriamasis tirpalas paruoštas į mėgintuvėlį įpilant 1 ml paruošto ekstrakto ir 1 ml DPPH etaloninio tirpalo. Mėgintuvėlio turinys buvo sumaišytas ir po 15 minučių laikymo tamsoje išmatuota tirpalo šviesos sugertis. DPPH metode palyginamojo ir tiriamųjų tirpalų šviesos sugertis matuota 515 nm bangos ilgyje [45]. Antioksidacinės augalų ekstraktų savybės apskaičiuotos pagal (2.1 formulę:

$$\left(\frac{A_B - A_A}{A_B}\right) \times 100 \%, \quad (2.1)$$

čia  $A_B$  – palyginamojo tirpalo šviesos sugertis;  $A_A$  – tiriamojo tirpalo šviesos sugertis.

### 2.3.3 Antioksidacinių savybių tyrimas ABTS metodu

ABTS<sup>•+</sup> yra mėlynai žalios spalvos katijonas, kuris praranda spalvą esant antioksidantui, todėl pagal spalvos pokytį spektrofotometriškai galima nustatyti junginių antioksidacinį aktyvumą.

Tyrimui atlikti reikalingas 2 mM ABTS tirpalas buvo paruoštas taip: 2 mM ABTS sumaišyta su 0,17 mM kalio persulfatu, kuris ištirpintas 20 mM fosfatiname buferyje (pH = 7,4) ir laikytas per naktį. Į 0,5 ml junginio tirpalą įpilta 1,7 ml fosfato buferio (20 mM) ir 0,3 ml praskiesto ABTS tirpalo. Tuščias bandinys buvo fosfato buferis (20 mM). ABTS metode šviesos sugertis nustatyta 734 nm bangos ilgyje [46].

Antioksidacinis aktyvumas nustatytas pagal 2.2 formulę:

$$\%, \text{ slopinimas} = \left(\frac{A_B - A_A}{A_B}\right) \times 100 \quad (3.2)$$

čia  $A_B$  – praskiesto ABTS tirpalo šviesos sugertis;  $A_A$  – tiriamojo augalų ekstrakto šviesos sugertis.

### 2.3.4 Antioksidacinių savybių tyrimas FRAP metodu

Šis metodas nustato augalo redukuojančias savybes, kuris paremtas gelsvo Fe<sup>3+</sup>-TPTZ pavirtimu į Fe<sup>2+</sup>-TPTZ (mėlyna spalva) 593 nm bangos ilgyje esant žemam pH. FRAP metodas skiriasi nuo ABTS tuo, kad atliekamas esant neutraliam pH, o vėliau rūgštinėmis (pH = 3,6) sąlygomis.

Tyrimui FRAP reagentas buvo paruoštas iš 50 ml 300 mM acetato buferio, 5 ml TPTZ ir 5 ml 20 mmol/l FeCl<sub>3</sub> x 6H<sub>2</sub>O. Mėginiai (20 μL mėginio ir 80 μL DMSO) sumaišyti su 3 ml FRAP reagentu. Kalibravimo kreivės paruošimui FeSO<sub>4</sub> x 7H<sub>2</sub>O (5, 10, 15, 20, 25, 30 μmol/L) tirpalai sumaišyti su 3 ml FRAP reagentu ir praskiesti iki 10 ml distiliuotu vandeniu. Tuščias kalibravimo kreivės mėginys buvo 3 ml FRAP ir 7 ml H<sub>2</sub>O. Tirpalai matuoti spektrofotometru 593 nm bangos ilgyje [47].

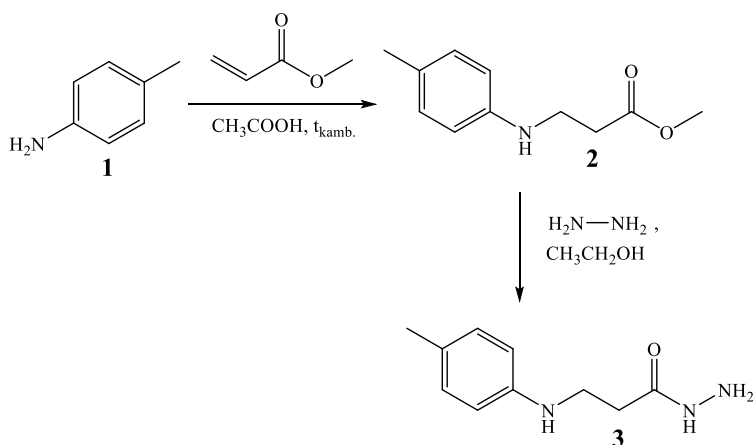
### 2.3.5 Antioksidacinių savybių tyrimas redukciniu metodu

Į 0,5 ml junginių mėginius supilta 1,25 ml 0,2 M fosfatinio buferio bei 1,25 ml 1 % K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Mėginiai sumaišyti ir inkubuoti 50 °C temperatūroje 20 min. Po to į juos pridėta 1,25 ml 10 % trichloracto rūgšties ir mėginiai buvo vėl sumaišyti. Tada 1,25 ml tirpalai sumaišyti su 1,25 ml distiliuoto vandens ir 0,25 ml 0,1 % FeCl<sub>3</sub>. 10 ml FeCl<sub>3</sub> tirpalo gaminimas: 0,01 g FeCl<sub>3</sub> užpilta 10 ml distiliuoto vandens ir sumaišyta. Tuščias mėginys: 1 ml 0,2 M fosfatinio buferio ir 1,0 ml 1% K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Mėginiai išmatuoti 700 nm bangos ilgyje. Didesnė šviesos sugertis parodo didesnes redukcines savybes [48].



### 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

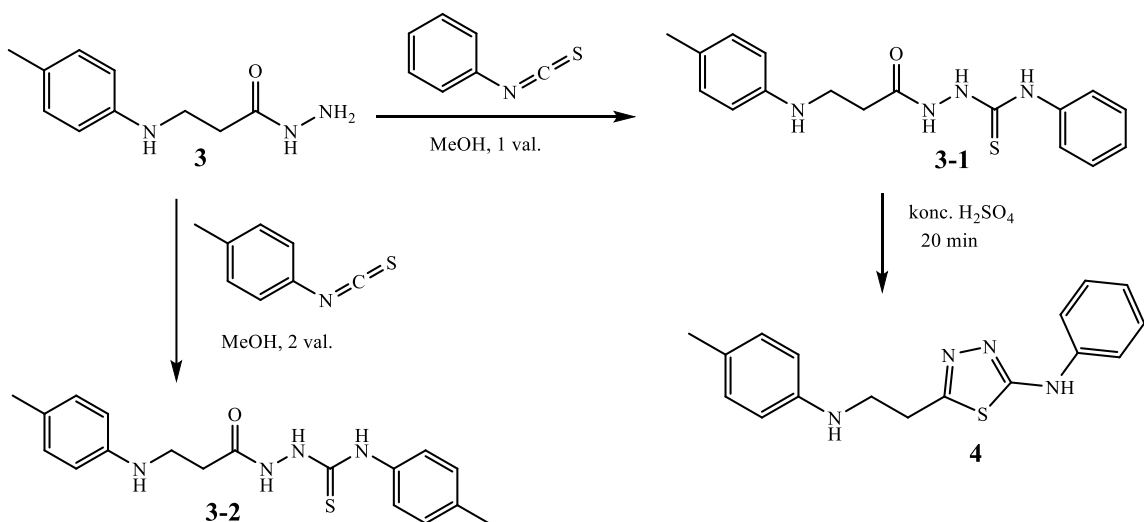
Šiame darbe pradinis junginys buvo pasirinktas 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**3**), kuris buvo sintetintas pagal literatūroje rastą metodiką [42].



**3.1 schema.** 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido sintezė

Pagal ją, reakcija, siekiant gauti 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidą (**3**) susidarė iš dviejų etapų. Pirmame *p*-toluidinas buvo ištirpintas acto rūgštyje maišant magnetine maišykle kambario temperatūroje. Jam ištirpus buvo pridėta metilakrilato, kad būtų gautas atitinkamas esteris. Antrame etape, į šį esterį buvo pridėta hidrazinhidrato ir etanolio vėl viską maišant magnetine maišykle iki kol susidarė 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**3**) (*3.1 schema*). Struktūra buvo patvirtinta BMR tyrimais. Spektre buvo matomi junginiui specifiniai signalai.  $^1\text{H}$  BMR spektre buvo matomi du papildomi signalai 5,10 m. d. ir 9,10 m. d. ( $\text{NH}_2$  ir  $\text{NH}$  grupių). Taip pat matomi fragmentai:  $\text{CH}_3$  grupė ties 2,11 m. d.,  $\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$  ties 2,27 m. d.,  $\text{NH}\underline{\text{CH}_2}$  ties 3,18 m. d. Šių grupių signalai, matomi spektre, įrodė, kad reakcija įvyko ir iš atitinkamo esterio buvo gautas hidrazidas, kuris buvo pasirinktas kaip pradinis junginys naujų junginių sintezei.

3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidą veikiant tioizocianatais metanolyje, galima gauti semikarbazidus, kuriuos veikiant koncentruota sieros rūgštimi – 1,3,4-tiadiazolus [43].

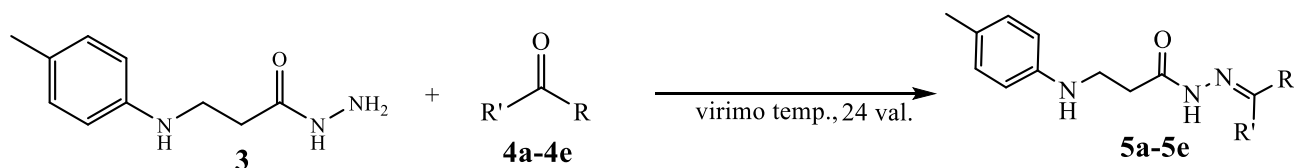


**3.2 schema.** Semikarbazidų ir *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino sintezės

3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas buvo naudotas semikarbazidų (**3-1** ir **3-2**) sintezei (3.2 schema). **3** junginį ištirpinus metanolyje ir įlašinus 4-metilfenilizotiocianato, 60 °C temperatūroje, po dviejų valandų susidarė balti kristalai – *N*-(*p*-tolil)-2-[3-(*p*-tolilamino)propanoil]hidrazin-1-karbotioamidas (**3-2**), kurie buvo nufiltruoti, praplauti metanoliu ir išdžiovinti. *N*-fenil-2-[3-(*p*-tolilamino)propanoil]hidrazin-1-karbotioamidas (**3-1**) buvo gautas **3** junginį ištirpinus metanolyje ir iš lėto lašinant fenilizotiocianatą ir mišinį maišant 60 °C temperatūroje. Po valandos susidarė baltos nuosėdos, kurios buvo nufiltruotos, praplautos metanoliu, padaryta plonasluoksnė chromatograma, kuri parodė, kad susidarė naujas junginys, o pradinio junginio mišinyje nebebuvo. *N*-fenil-2-[3-(*p*-tolilamino)propanoil]hidrazin-1-karbotioamidas (**3-1**) buvo nufiltruotas šiltas, kristalai išdžiovinti. Šis junginys toliau buvo naudojamas *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino (**4**) sintezei su koncentruota sieros rūgštimi. Reakcija vyko greitai (20 min) ir buvo stabdoma įpilant vandens, tada susidarė baltos nuosėdos, kurios buvo filtruotos, plautos distiliuotu vandeniu ir džiovintos, o **4** junginys susidarė didele išeiga (99 %). *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-aminas (**4**) buvo naudojamas tolimesniuose *N*-alkilinimo tyrimuose ir naujų skirtingai pakeistų tiadiazolo junginių sintezėje. Jo struktūra buvo patvirtinta BMR tyrimais. <sup>1</sup>H BMR spektre, lyginant su **3** junginio, aromatinėje dalyje buvo galima matyti multiplėtą, kuris rodė 9H signalus, kurie priklauso dvejų aromatinių žiedų protonams **4** junginio struktūroje.

### 3.1 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacija su aromatiniais ketonais

Hidrazidus kondensuojant su ketonais, yra gaunami skirtingai pakeisti hidrazonai. Kadangi **5a–5e** junginiai buvo tirpūs metanolyje, todėl buvo perkristalizuoti iš šio tirpiklio.



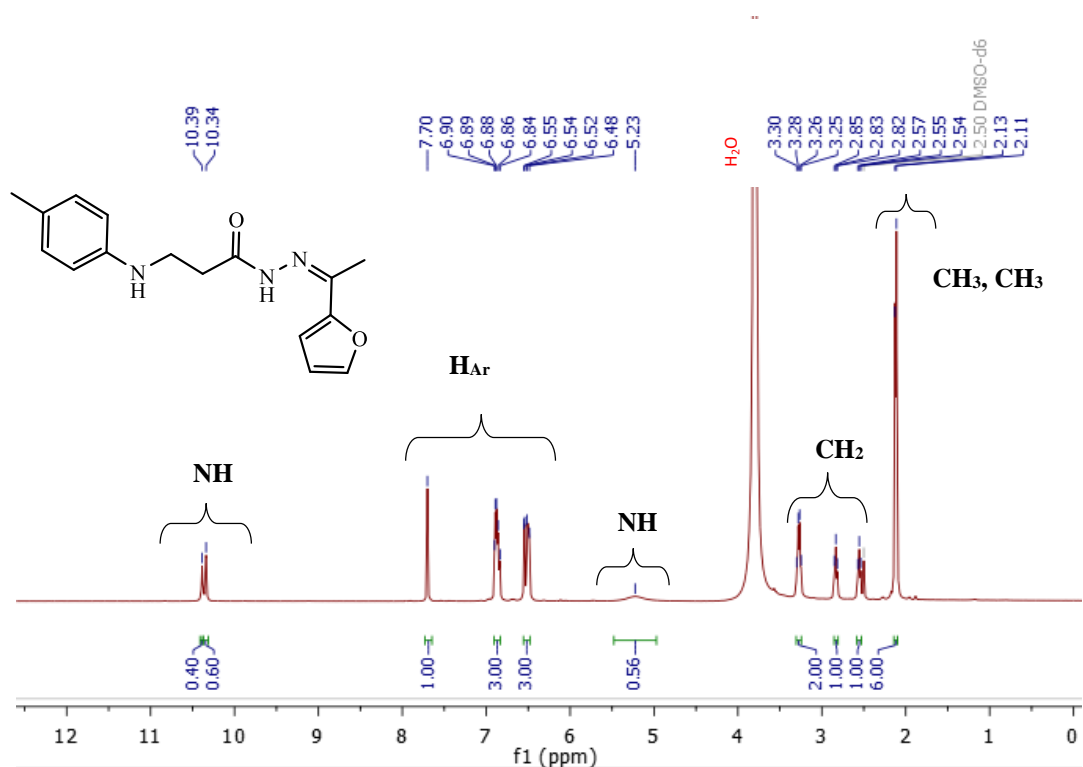
**5b,d,e:** CH<sub>3</sub>OH

**5a,c:** CH<sub>3</sub>OH, CH<sub>3</sub>COOH (kat.)

Junginio nr.	5a	5b	5c	5d	5e
R	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-CH <sub>3</sub>	-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	-CH <sub>3</sub>
R'					
Išeiga	28 %	70 %	62 %	18 %	38 %

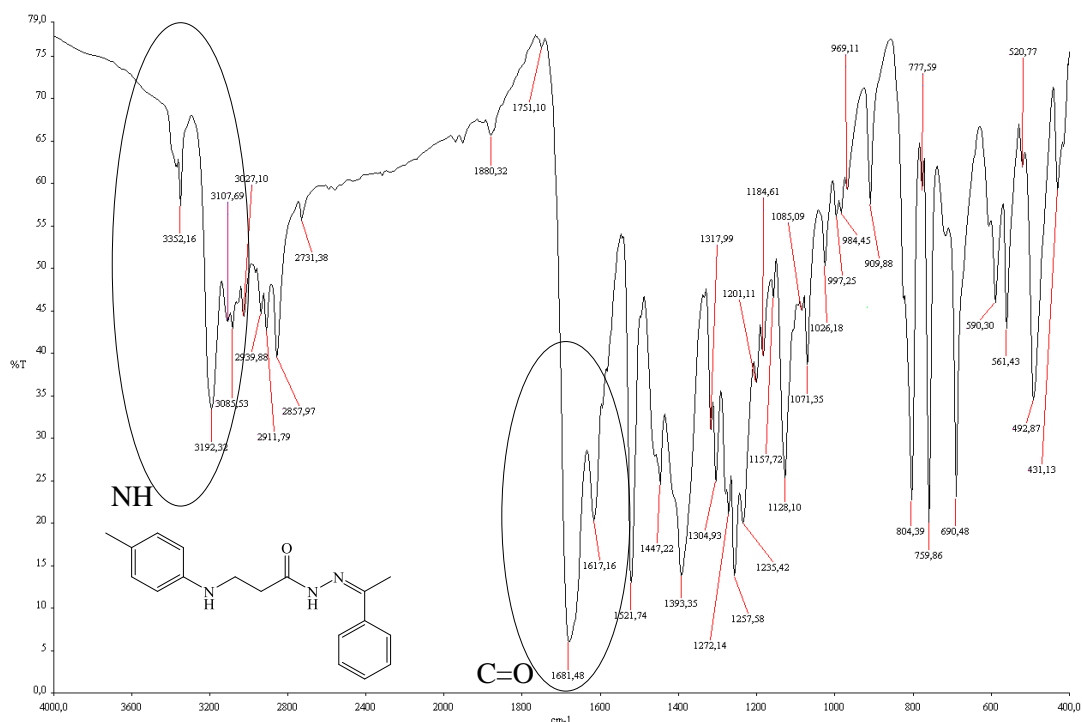
### 3.3 schema. *N*'-[1-(furan-2-il)etilidien]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido sintezė

Buvo vykdomos kondensacijos reakcijos su 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidu (**3**) ir įvairiais ketonais metanolyje, mišinio virimo temperatūroje (3.3 schema). Gautų hidrazonų struktūros buvo patvirtintos <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H BMR, IR ir mikroanalizės tyrimais.



**3.1 pav.** *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido <sup>1</sup>H BMR spektras

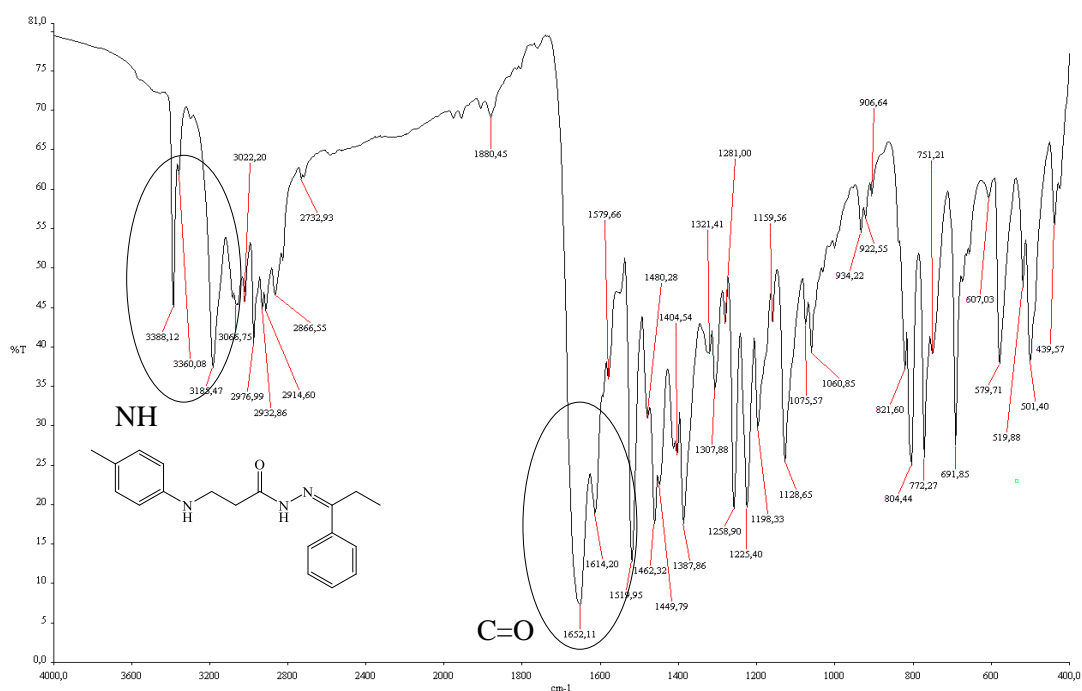
Lyginant su pradinio junginio spektru, *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**5a**) struktūra buvo atpažinta iš <sup>1</sup>H BMR spektre atsiradusio multipletu ties 6,50–7,70 m. d., kuris priklauso dviejų aromatinių sistemų protono signalams (3.1 pav.) bei atsiradusių smailių <sup>13</sup>C BMR spektre (111,47–129,91 m. d.). Taip pat spektre matomas ne tik CH<sub>3</sub> signalas ties 2,11 m. d., bet ir dar vienas – ties 2,13 m. d. Pagal <sup>1</sup>H BMR spektrą galima matyti, kad susidarė *Z* ir *E* izomerų mišinys (40/60), nes NH grupės vandenilis rodo du singletus. Taip pat IR spektre buvo matoma C=O smailė 1638,16 cm<sup>-1</sup>.



**3.2 pav.** *N'*-(1-feniletilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**5b**) FT-IR spektro fragmentas

*N'*-(1-feniletilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidą (**5b**) pavyko identifikuoti taip pat iš BMR, IR spektrų, mikroanalizės.  $^1\text{H}$  BMR spektre matyti naujai atsiradęs multipletas silpnesnių laukų pusėje (7,36–7,73 m. d.), kuris priklauso naujai atsiradusios aromatinės sistemos protonams, taip pat 2,21 m. d. atsirado dar vienas singletas, kuris priklauso naujai atsiradusiai  $\text{CH}_3$  grupei.  $^{13}\text{C}$  BMR spektre matyti papildomos smailės 112,84–138,54 m. d. Todėl buvo galima atpažinti, kad susidarė hidrazonas. Taip pat matyti, kad junginys yra *Z* ir *E* izomerų mišinys, kuriame vyrauja *E* izomeras (santykis 40/60), nes NH vandenilis parodė du singletus ties 10,40 m. d. ir 10,44 m. d. IR spektre buvo matoma stipri absorbcijos smailė  $1681,48\text{ cm}^{-1}$  bei NH grupių smailės:  $3085,53\text{--}3352,16\text{ cm}^{-1}$  (3.2 pav.).

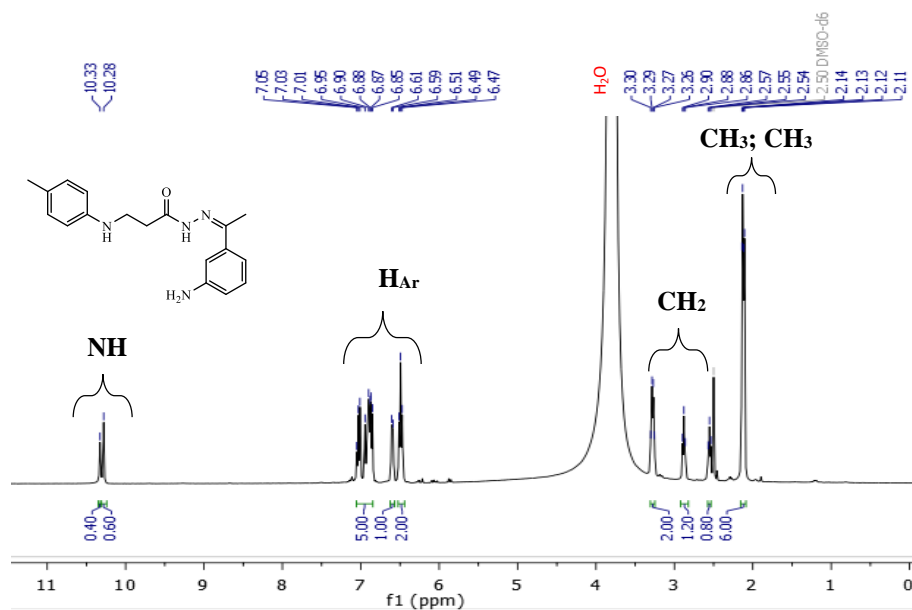
*N'*-[1-(tiofen-2-il)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5c**) buvo gautas iš pradinio junginio (**3**) ir 2-acetiltiofeno pagal anksčiau aprašytą metodiką, o jo struktūra buvo patvirtinta atlikus BMR tyrimus.  $^1\text{H}$  BMR spektre matyti multipletas 6,94 m. d., kuris įrodo tiofeno prisijungimą prie hidrazido susidarant atitinkamam hidrazonui. Taip pat papildomas smailes galima pastebėti  $^{13}\text{C}$  BMR spektre (112,82–129,92 m. d.), kurie priklauso aromatiniams C atomams. Taip pat metilo grupės prie aromatinio žiedo C atomas matomas ties 14,32 m. d., o naujai atsiradęs metilo C signalas ties 20,50 m. d., pagal kurias galima identifikuoti, kad susidarė norimas hidrazonas. Taip pat matomi anglies signalai ties 33,05 m. d. ( $\text{CH}_2\text{CO}$ ) ir 34,44 m. d. ( $\text{CH}_2\text{NH}$ ). Iš  $^1\text{H}$  BMR buvo nustatyta, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys (santykis 40/60), nes spektre matomi du tripletai, kurie priklauso  $\text{CH}_2\text{CO}$  vandenilio signalams ties 2,54 m. d. (0,8H) ir 2,83 m. d. (1,2H). IR spektre  $3348,65\text{--}3103,78\text{ cm}^{-1}$  smailės priklauso amino grupėms, o  $1683,88\text{ cm}^{-1}$  – C=O grupei.



**3.3 pav.** *N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**5d**) FT-IR spektras

*N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5d**) buvo gautas sintetinant hidrazidą su aromatinium ketonu – propionfenonu. Susidariusio junginio struktūrą buvo galima nustatyti ir palyginti su pradinio junginio BMR metodu.  $^1\text{H}$  BMR spektre stipresnių laukų pusėje matyti naujas tripletas ties 0,98 m. d., kuris atitinka  $-\text{CCH}_2\text{CH}_3$  metilo grupės protonus. Taip pat  $-\text{CCH}_2\text{CH}_3$  ( $\text{CH}_2$  grupės) protoninius signalus galima pastebėti tame pačiame spektre kaip kvartetą ties 2,74 m. d.. Aromatinėje dalyje spektre naujai pastebėti protoniniai signalai (multipletas 7,37–7,71 m. d.), kurie priklauso naujo aromatinio žiedo aromatiniams protonams. Šio junginio spektre pastebėta, kad NH protoninis signalas šiek tiek pasislinkęs silpnesnių laukų pusėje (10,52 m. d.) lyginant su pradinio junginio signalu. Vandeniliniame spektre matyti, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys santykiu 40/60, nes matomi  $\text{CH}_2\text{CO}$  du tripletai ties 2,59 m. d. (0,8H) ir 2,91 m. d. (1,2H). IR spektre matyti ryški absorbcijos smailė  $1652,11\text{ cm}^{-1}$ , kuri priklauso  $\text{C}=\text{O}$  grupei (3.3 pav.) bei amino grupių smailės  $3185,47\text{--}3388,12\text{ cm}^{-1}$ .

Hidrazidą (**3**) kondensuojant su 3-aminoacetofenonu, susidarė *N'*-[1-(3-aminofenil)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5e**). Struktūra buvo patvirtinta BMR, IR, mikroanalizės tyrimais.

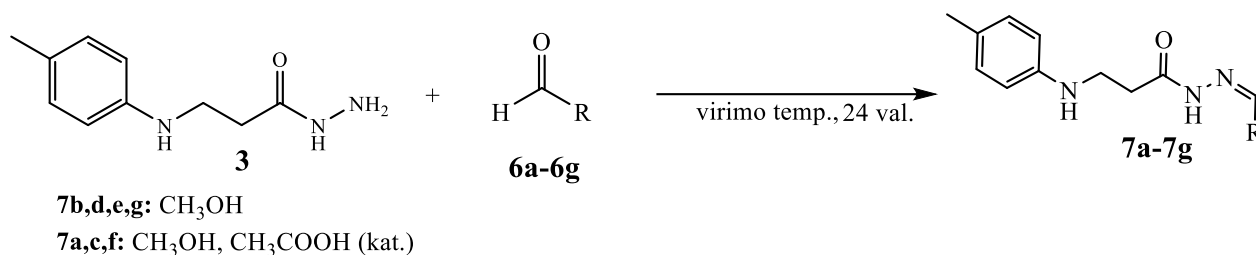


**3.4 pav.** *N'*-[1-(3-aminofenil)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido <sup>1</sup>H BMR spektras

Naujai atsiradęs CH<sub>3</sub> protoninis signalas atsirado ties 2,13 m. d. (3.4 pav.). Taip pat aromatinėje dalyje matomi naujai atsiradusio aromatinio žiedo papildomi keturi protonai (6,49–7,16 m. d.), o aromatinės amino grupės signalas buvo matomas kaip singletas ties 6,95 m. d.. Iš spektro matyti, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys, santykiu 40/60, nes CH<sub>2</sub>CO protonai rodė du tripletus ties 2,55 m. d. (0,8H) ir 2,88 m. d. (1,2H). <sup>13</sup>C BMR spektre aromatinėje dalyje be pradinio junginio aromatinio žiedo anglies signalų matyti dar papildomai šeši nauji anglies signalai (112,17–139,31 m. d.), taip pat C=N grupės anglies signalas ties 168,81 m. d.. Taip pat matomas papildomas anglies signalas naujai atsiradusios CH<sub>3</sub> (14,17 m. d.) grupės anglies atomo, kas įrodo susidariusio **5e** junginio struktūrą. IR spektre keturios absorbcijos smailės, kurios priklauso amino grupėms struktūroje: 3460,84 cm<sup>-1</sup>, 3410,81 – 3223,67 cm<sup>-1</sup>. C=O grupės absorbcijos smailė yra ties 1643,55 cm<sup>-1</sup>.

### 3.2 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacija su aromatiniais aldehidais

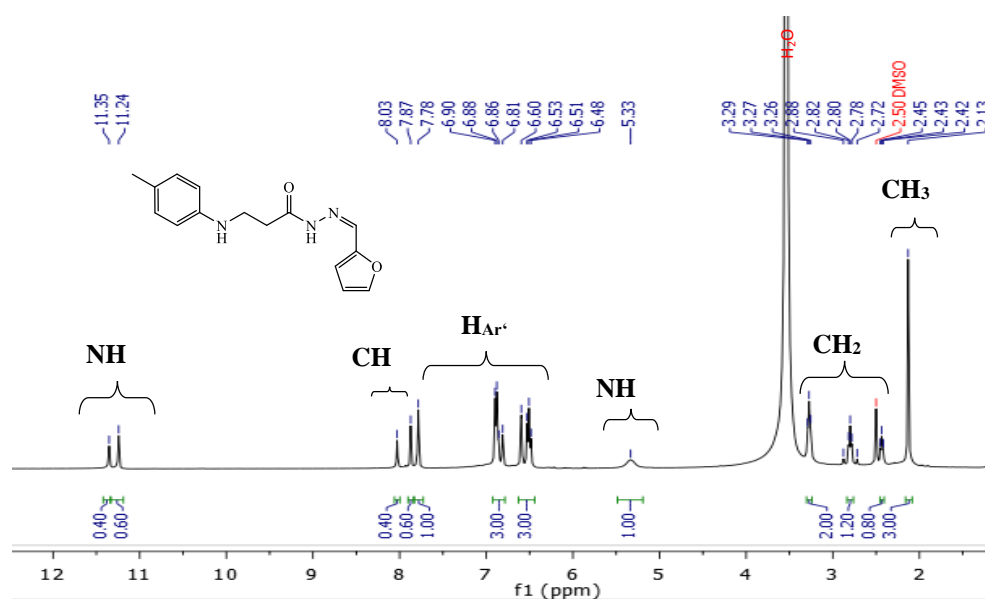
Hidrazidui (**3**) reaguojant su aldehidais buvo taip pat gauti hidrazonai (**7a–7g**). Kadangi šie junginiai buvo netirpūs metanolyje, izopropanolyje, acetone, o tirpo DMF, todėl perkristalizuoti buvo iš DMF ir vandens mišinio.



Junginio nr.	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g
R							
Išeiga	47 %	48 %	66 %	61 %	55 %	52 %	51 %

#### 3.4 schema. *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido ir *N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido sintezė

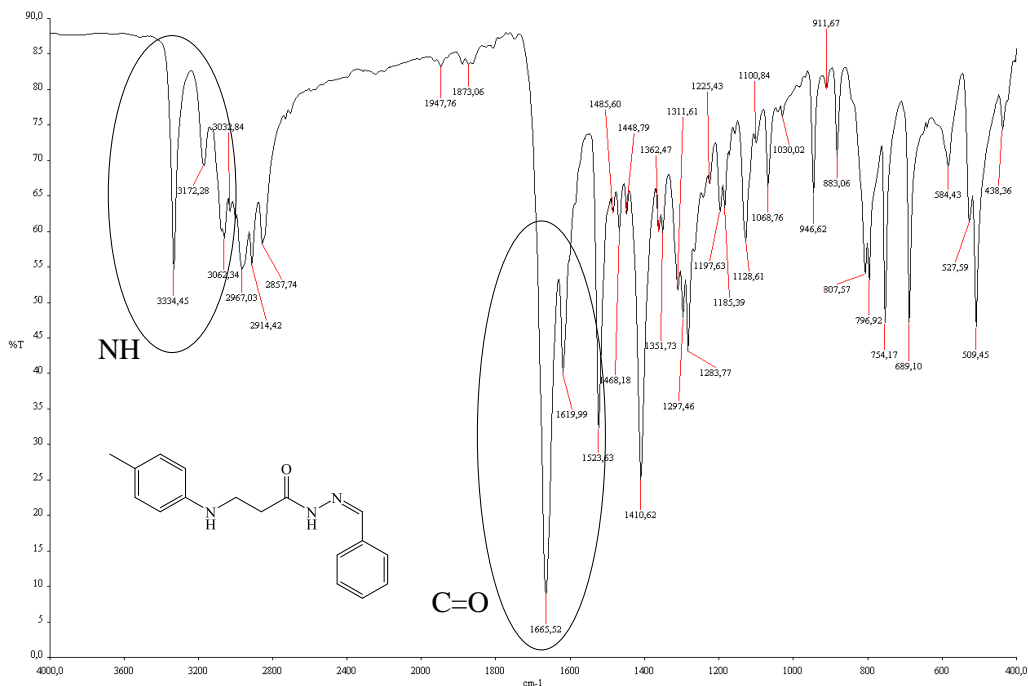
*N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7a**) buvo gautas pradinį junginį **3** veikiant 2-furaldehidu metanolyje, įlašinant katalitinį kiekį acto rūgšties (3.4 schema). Gauta 47 % išeiga reakcijai vykus 24 val. Reakcijos eiga buvo stebima plonasluoksne chromatograma, o jai įvykus, buvo įpilta vandens. Reakciją atliekant trumpiau, gautų kristalų kiekis buvo mažesnis. Nustatyta lydymosi temperatūra intervale 131–133 °C. Junginio struktūra patvirtinta <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H BMR, IR ir mikroanalizės metodais.



#### 3.5 pav. *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido <sup>1</sup>H BMR spektro fragmentas

Lyginant su pradinio junginio protoniniu spektru, papildomai buvo rasti ir identifikuoti nauji signalai. Du singletai ties 7,87 m. d. ir 8,03 m. d. buvo priskirti CH grupės protonui hidrazono struktūroje. Du

singletai ties 11,24 m. d. ir 11,35 m. d., kurie priklauso NH grupės protonui (3.5 pav.). Šie atvejai rodo, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys santykiu 40/60. Taip pat **7a** junginio struktūra pasitvirtino dėl protoninių signalų aromatinėje srityje, joje atsirado trys nauji signalai intervale 6,48–7,78 m. d., jie priklauso heterociklinio fragmento trims protonams. <sup>13</sup>C BMR spektre taip pat buvo rasta pokyčių. Nauji signalai aromatinėje dalyje, kurie priklauso heterociklo anglies atomams **7a** junginyje: 112,30 m. d., 113,45 m. d., 145,00 m. d. ir 149,36 m. d. Gauti mikroanalizės rezultatai buvo labai artimi apskaičiuotiems, todėl tai dar kartą įrodė **7a** junginio struktūrą. Atlikus IR analizę, junginio struktūrai buvo priskirta C=O grupė (1665,51 cm<sup>-1</sup>) ir amino grupių smailės (3340,70–3122,36 cm<sup>-1</sup>).



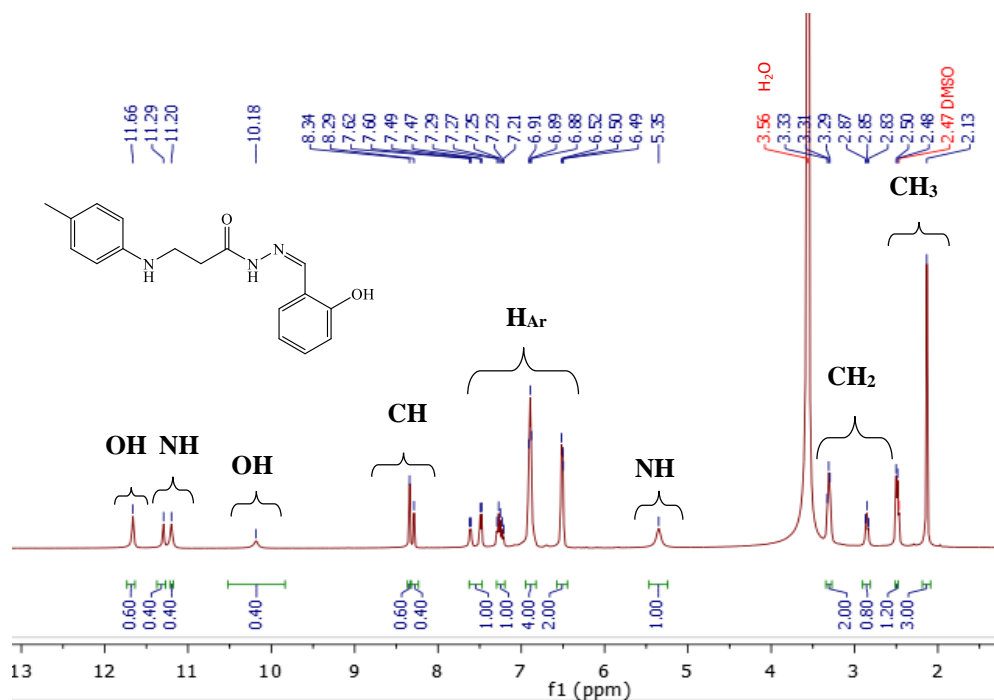
3.6 pav. *N'*-feniliden-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7b**) FT-IR spektras

*N'*-feniliden-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidui (**7b**) gauti, reakcija buvo vykdyta su benzaldehidu metanolyje mišinio virimo temperatūroje maišant magnetine maišykle. Reakcijos pabaigą aptikus plonasluoksne chromatograma, ji buvo sustabdyta ir į mišinį įpilta vandens. Iškritusios nuosėdos buvo filtruotos, praplautos ir perkristalizuotos. Struktūra buvo patvirtinta analitiniais tyrimais – BMR (<sup>1</sup>H ir <sup>13</sup>C). Gauti spektrai buvo lyginami su pradinio junginio – hidrazido spektru. Protoniniame spektre buvo matyti naujai atsiradusi CH grupei priklausanti smailė ties 8,00–8,14 m. d. Taip pat matyti, kad aromatinėje srityje atsirado naujų signalų, kuriuos galima priskirti naujam aromatiniam žiedui hidrazono struktūroje – multipletas ties 7,41–7,65 m. d. Protoniniame spektre buvo galima matyti po du CH ir NH signalus, iš kurių santykio buvo nuspręsta, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys (40/60). <sup>13</sup>C BMR analizė dar kartą patvirtino gauto naujo junginio struktūrą dėl naujai atsiradusių signalų aromatinėje srityje, kuriuos galima priskirti naujam žiedui hidrazone, ir susiformavusios CH=N jungties ties 143,19 m. d. IR analizė parodė ryškia sugerties juostą 1665,52 cm<sup>-1</sup> (C=O) ir tris amino grupėms priklausančias sugerties juostas: 3334,45–3062,34 cm<sup>-1</sup> (3.6 pav.).

*N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7c**) buvo gautas pradinį junginį veikiant tiofen-2-karboksialdehidu, pridėdant katalitinį kiekį acto rūgšties. Susidarė balti kristalai 66 % išeiga, kurių lydymosi temperatūra nustatyta intervale 187–189 °C. Junginio struktūra patvirtinta <sup>13</sup>C, <sup>1</sup>H BMR, IR ir mikroanalizės tyrimais. <sup>1</sup>H BMR spektre buvo pastebėti nauji singletai 8,18 m. d. ir 8,35 m. d., kurie priklauso CH grupės hidrazone protonui, taip pat 11,27 m. d. ir 11,36 m. d., kurie

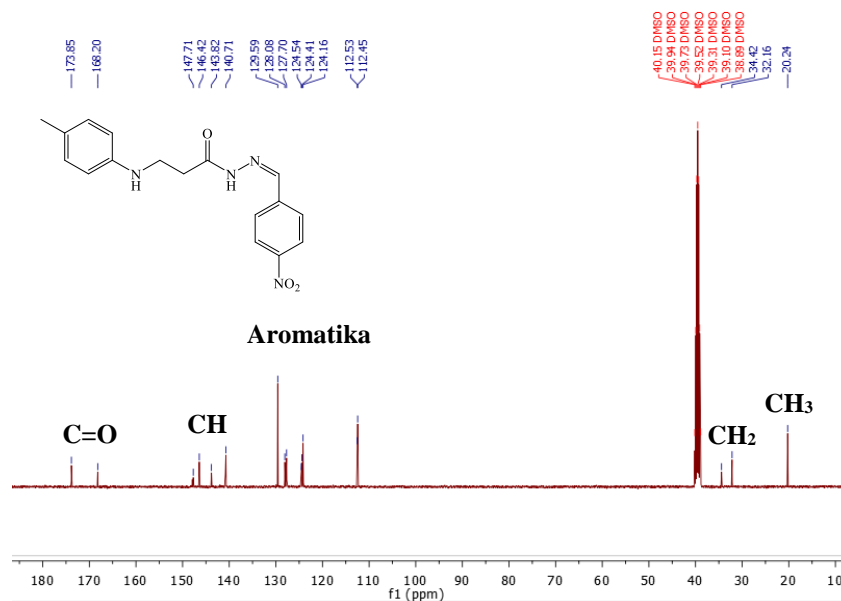


priklauso NH grupės protonui. Iš šio spektro buvo nustatyta, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys santykiu 40/60. Taip pat junginio struktūra patvirtino signalai aromatinėje dalyje – trys protonai intervale 7,10–7,60 m. d., kurie priklauso heterociklinio žiedo protonams. <sup>13</sup>C BMR spektre buvo pastebėti nauji signalai 124,40 m. d., 128,10 m. d., 128,41 m. d., 130,42 m. d., 146,42 m. d., kurie priklauso atitinkamai CH grupės ir heterociklinio žiedo anglies atomams, o 173,00 m. d. – C=O grupei. Atlikus IR analizę, pastebėta ryški sugerties juosta ties 1664,00 cm<sup>-1</sup>, kuri priklauso C=O grupei. Mikroanalizės rezultatai buvo labai artimi apskaičiuotiems, todėl šiuo tyrimu dar kartą buvo patvirtina junginio **7c** struktūra.



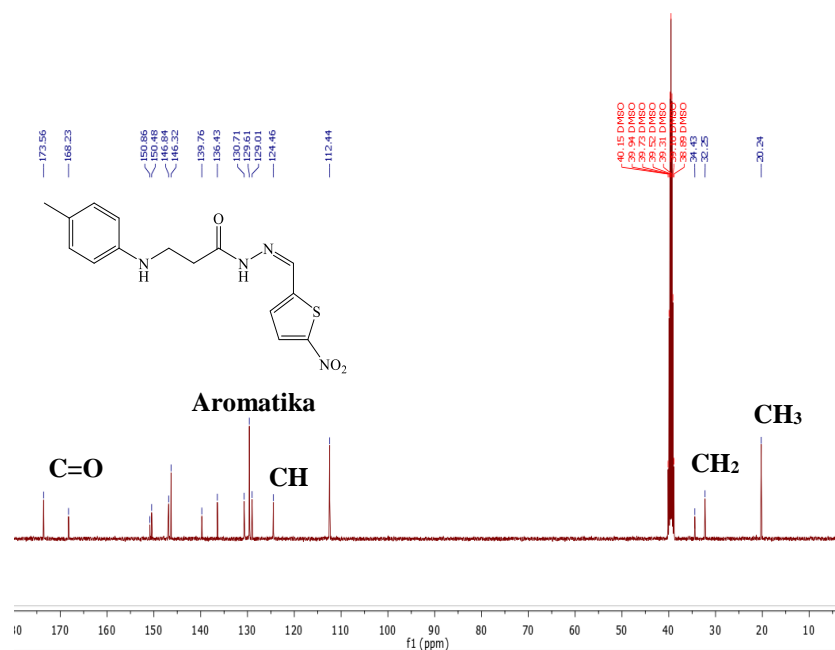
**3.7 pav.** *N'*-(2-hidroksifenilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido <sup>1</sup>H BMR spektro fragmentas

*N'*-(2-hidroksifenilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7d**) buvo susintetintas iš 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**3**) ir salicilbenzaldehido metanolyje mišinio virimo temperatūroje 61 % išeiga. Kristalai buvo nufiltruoti, praplauti ir perkristalizuoti iš DMF ir vandens mišinio, kad išgauti gryną junginį ir naudoti jį tolimesniuose tyrimuose. Gauti kristalai buvo išdžiovinti, o struktūra patvirtinta BMR tyrimais. <sup>1</sup>H BMR spektre matyti nauji signalai 10,18 m. d. ir 11,66 m. d., kurie priskirti OH grupės vandeniliui, taip pat 11,20 m. d. ir 11,29 m. d. – NH grupės protono signalai (3.7 pav.). Iš dviejų signalų galima spręsti apie susidariusius *Z/E* izomeras 40/60. Lyginant su pradinio junginio spektru, šiame papildomi signalai atsirado aromatinėje srityje, kurie priklauso naujo aromatinio žiedo protonams. Taip pat šiame spektre buvo matyti nauji signalai (8,29 m. d. ir 8,34 m. d.), kurie priklauso CH grupės protonui (izomerams). <sup>13</sup>C BMR spektre pastebėta nauji signalai aromatinėje srityje ir CH=N angliai priskirtas naujas signalas 146,92 m. d. IR spektre 3337,65–3070,28 cm<sup>-1</sup> priklauso amino grupėms, 2948,60 cm<sup>-1</sup> – hidroksi grupei, o 1663,42 cm<sup>-1</sup> – C=O.



**3.8 pav.** *N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (7e) <sup>13</sup>C BMR spektro fragmentas

*N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (7e) gautas iš hidrazido ir 4-nitrobenzaldehido, maišant magnetinėje maišyklėje metanolyje. Kristalai nufiltruoti, perkristalinti, išdžiovinti ir gauti 56% išeiga. Struktūra buvo patvirtinta BMR tyrimais. Protoniniame spektre buvo galima iškart pamatyti naujus signalus aromatinėje srityje – naujame junginyje atsiradusios dar vienos ciklinės sistemos protonų (7,83–7,92 m. d. ir 8,21 m. d.). Signalai matyti keturių protonų dėl *para* padėtyje esančios nitro grupės. Naujas singletas 8,05 m. d. priklauso CH grupės protonui. Iš NH grupės protono dviejų singletų (11,58 m. d. ir 11,71 m. d.) galima spręsti, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys 40/60 santykiu. <sup>13</sup>C BMR spektre taip pat padidėjo signalų aromatinėje srityje, dėl atsiradusio dar vieno žiedo struktūroje. Lyginant su pradiniu junginiu, spektre matyti naujas signalas, kuris priklauso CH=N grupės anglies atomui (143,82 m. d.) (3.8 pav.). IR spektre matyti intensyvi absorbcijos smailė 1661,26 cm<sup>-1</sup> C=O grupės, amino grupių: 3339,51–3097,78 cm<sup>-1</sup>.



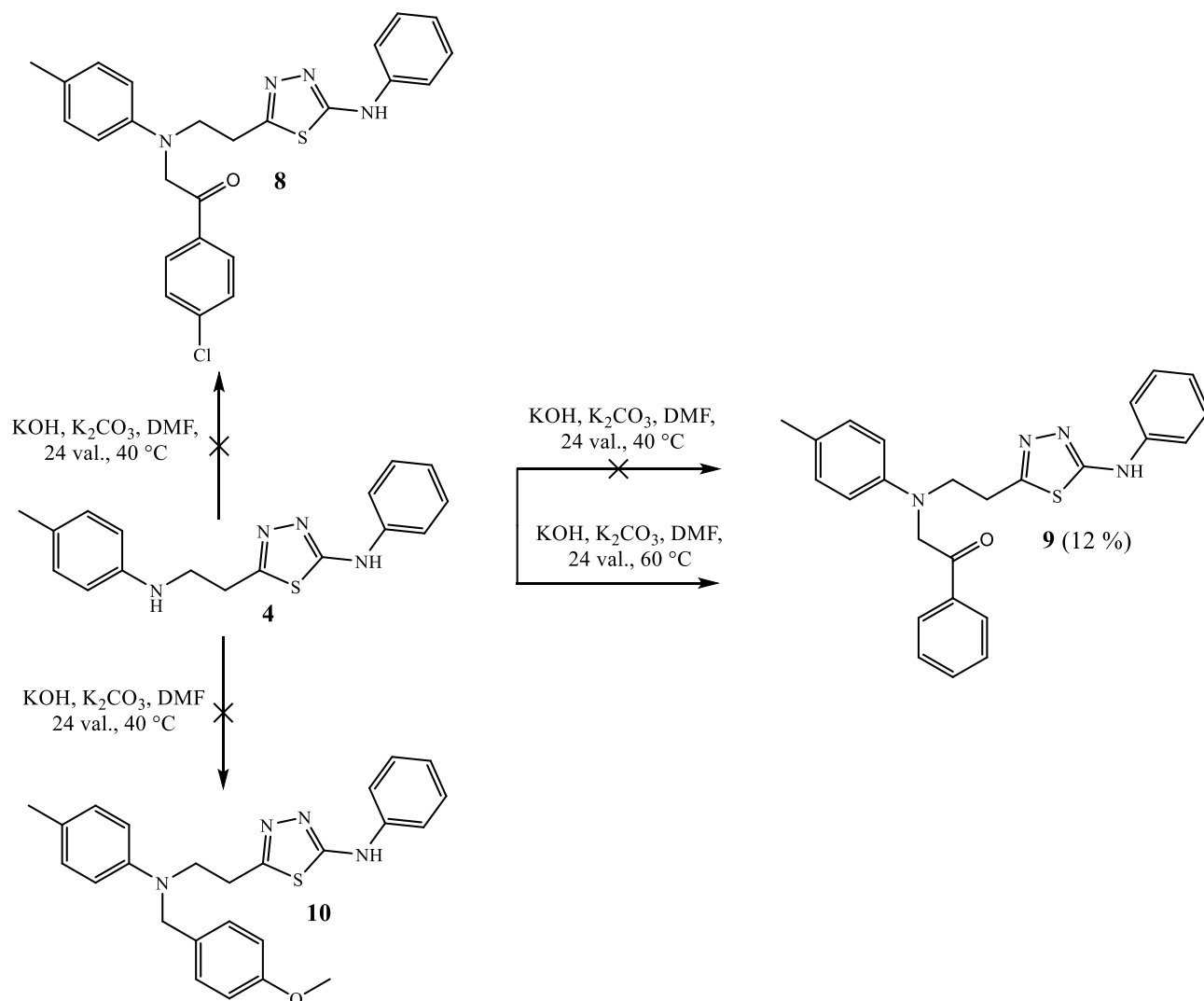
**3.9 pav.** Susidarė *N'*-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7f**)  $^{13}\text{C}$  BMR spektro fragmentas

Buvo vykdyta 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**3**) kondensacija su 5-nitrotiofen-2-karboksialdehidu metanolyje mišinio virimo temperatūroje, pridedant katalitinį kiekį acto rūgšties. Susidarė *N'*-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7f**) kristalai, kurie buvo nufiltruoti, perkristalizuoti ir išdžiovinti. Junginio struktūra buvo patvirtinta analitiniais tyrimais. Protoniniame spektre aromatinėje dalyje buvo matyti nauji signalai, kurie priklauso penkianario žiedo protonams.  $^1\text{H}$  BMR spektre, multipletas matomas 7,42–8,05 m. d. – tai naujai atsiradusios aromatinės sistemos protonų signalai. Taip pat matomi du singletai 8,13 m. d. ir 8,38 m. d., kurie buvo priskirti CH grupės protonui, taip pat 11,69 m. d. ir 11,77 m. d., matomi du singletai, kurie priklauso NH grupės protonui. Matomi du singletai dėl susidariusių *Z* ir *E* izomerų. Iš spektro matyti, kad jie susidarė 40/60 santykiu.  $^{13}\text{C}$  BMR spektre matyti nauji signalai aromatinėje srityje – tai penkianario žiedo keturi anglies signalai. Taip pat matyti CH=N anglies atomo signalas ties 124,46 m. d. ir C=O – ties 168,23 m. d. (3.9 pav.). IR spektre intensyvi absorbcijos juosta ties 1666,57  $\text{cm}^{-1}$  ir amino grupių juostos: 3403,44–3179,22  $\text{cm}^{-1}$ .

*N'*-[(2-hidroksinaftalen-1-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7g**) buvo gautas kondensuojant hidrazidą (**3**) su 2-hidroksi-1-naftaldehidu metanolyje. Kristalai gauti į mišinį įpylus vandens, nufiltravus ir perkristalizavus iš DMF ir vandens mišinio. Junginys susintetintas 52 % išeiga. Struktūra buvo patvirtinta BMR tyrimais.  $^1\text{H}$  BMR spektre buvo rasti nauji signalai aromatinėje srityje bei silpnesnių laukų pusėje. Naujas protono signalas atsirado 8,91 m. d. ir 9,15 m. d. – tai CH grupės singletai, taip pat NH protono du singletai (11,14 m. d. ir 11,79 m. d.) ir OH grupės protono du signalai 11,37 m. d. ir 12,66 m. d. kurių santykis parodo, kad susidarė *Z/E* izomerų mišinys 40/60 santykiu.  $^{13}\text{C}$  BMR spektre atsirado nauji signalai aromatinėje srityje (108,61–132,79 m. d. intervale), lyginant su pradiniu junginiu, ir CH=N anglies signalas silpnesnių laukų pusėje – 145,31 m. d. IR spektre rasta intensyvi absorbcijos juosta 1667,43  $\text{cm}^{-1}$ , kuri priklauso C=O grupei ir amino grupių juostos: 3382,74–3195,86  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.3 *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino *N*-alkilnimas halogenalkanais

*N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino *N*-alkilnimo reakcijos vykdytos naudojant įvairius acetofenonus.



**3.5 schema.** 1-fenil-2-[[2-(5-(fenilamino)-1,3,4-tiadiazol-2-il)etil](*p*-tolilamino)etan-1-ono sintezė ir nepavykusios reakcijos

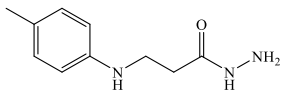
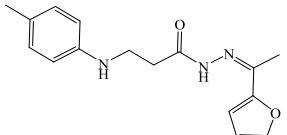
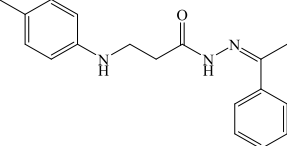
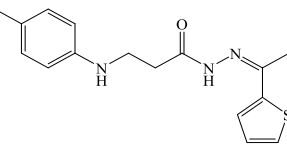
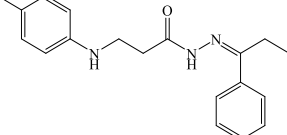
1-(4-chlorfenil)-2-[[2-[[5-(fenilamino)-1,3,4-tiadiazol-2-il]etil](*p*-tolilamino)etan-1-ono (**8**) sintezė buvo vykdyta *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-aminą (**4**) ištirpinant DMF ir pridėdant KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> bei reagentą – 2-brom-4'-chloracetofenoną (3.5 *schema*). Reakcija buvo maišyta 24 val., 40 °C temperatūroje. Tačiau junginys nesudarė, nes į reakcijos mišinį įpylus vandens ir sustabdžius reakciją, chromatografiškai buvo rasta tik pradinė medžiaga. Reakcija buvo kartojama tokiomis pačiomis sąlygomis tik naudojant kitą reagentą – 4-metoksiacetofenoną, norint gauti 5-[2-[[4-metoksibenzil](*p*-tolilamino)etil]-*N*-fenil-1,3,4-tiadiazol-2-aminą (**10**), tačiau reakcija taip pat nevyko. Toliau buvo bandomos keletas sąlygų su reagentu – 2-bromacetofenonu. Iš pradžių, buvo bandyta atlikti tomis pačiomis sąlygomis, kaip ir ankstesnės reakcijos, tačiau rezultatas buvo neigiamas. *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-aminą (**4**) ištirpinus DMF, pridėjus KOH, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ir 2-bromacetofenono, maišant 24 val., didesnėje nei 40 °C temperatūroje (60 °C) buvo gautas norimas junginys – **9**. Junginys susidarė, tačiau labai nedidelis kiekis – tik 0,05 g (12 %). Kadangi gautas produktas sunkiai arba visai netirpo kituose tirpikliuose, junginys buvo perkristalintas

iš DMF ir vandens mišinio. Struktūra buvo įrodyta analitiniais tyrimais. Lyginant su pradiniu junginiu, <sup>1</sup>H BMR spektre, aromatinėje srityje, atsirado nauji penki aromatiniai protonai, kurie priklauso naujai prijungtam aromatiniam žiedui. Taip pat, ties 5,42 m.d. atsirado singletas, kuris rodo naujai atsiradusius du protonus, kurie priklauso naujai CH<sub>2</sub> grupei. Iš šių pokyčių protoniniame spektre jau buvo galima įsitikinti, kad gavome norimą junginį, tačiau papildomai atlikome ir kitus analitinius tyrimus: <sup>13</sup>C BMR analizę, IR spektroskopiją. <sup>13</sup>C BMR spektre pamatėme naujus signalus aromatinėje srityje dėl naujai prijungto aromatinio žiedo bei alifatinėje – dėl papildomos CH<sub>2</sub> grupės struktūroje. Kiti analitiniai tyrimai dar kartą patvirtino gauto junginio struktūrą.

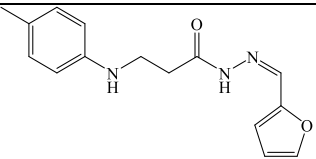
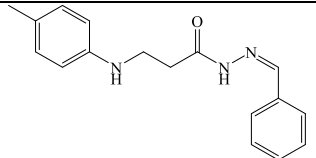
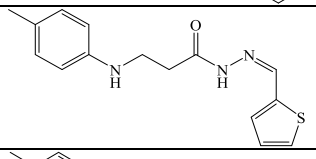
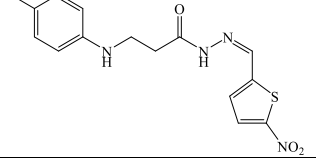
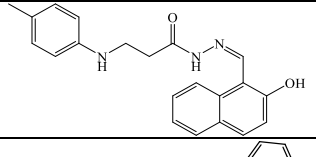
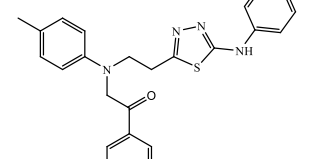
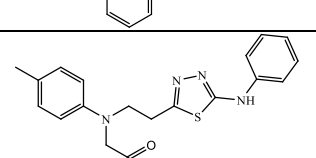
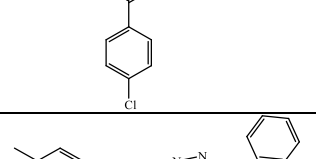
### 3.4 Pass online rezultatai naujai sintetintiems junginiams

PASS (angl. *Prediction of Activity Spectra for Substances*) yra programinės įrangos produktas, sukurtas kaip priemonė įvertinti bendrą biologinį organinių vaistų tipo molekulių potencialą. PASS leidžia vienu metu prognozuoti daugelio rūšių biologinį aktyvumą, pagrįstą organinių junginių struktūra. Taigi, PASS buvo naudojamas virtualių molekulių biologinio aktyvumo profiliams įvertinti prieš jų cheminę sintezę ir biologinius tyrimus. *Pa* (tikimybė "būti aktyviam") įvertina tikimybę, kad tiriamas junginys priklauso aktyvių junginių poklasiui (panašus į molekulių struktūras, kurios yra tipiškiausios PASS treniruočių "aktyvių medžiagų" pogrupyje rinkinys). *Pi* (tikimybė „būti neaktyviam“) įvertina tikimybę, kad tiriamas junginys priklauso neaktyvių junginių poklasiui (panašus į molekulių struktūras, kurios yra būdingiausios PASS treniruočių „neaktyvių“ pogrupyje rinkinys). IEP (angl. *Invariant Error of Prediction*) yra vidutinė prognozės paklaida, gauta per visą PASS mokymo rinkinį kryžminio patvirtinimo procedūroje [41].

3.1 lentelė. Pass online programos rezultatai tiriamiems junginiams

Junginys	Biologinis aktyvumas							
	Antimikobakterinis		Antiparazitinis		Priešuždegiminis		Antibakterinis	
	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
	0,657	0,007	0,569	0,010	-	-	0,289	0,064
	0,795	0,004	0,517	0,014	0,576	0,037	0,364	0,039
	0,566	0,012	0,492	0,017	-	-	0,214	0,105
	0,328	0,065	0,517	0,014	0,458	0,070	0,201	0,116
	0,389	0,042	0,432	0,025	-	-	-	-

### 3.1 lentelės tęsinys

Junginys	Biologinis aktyvumas							
	Antimikobakterinis		Antiparazitinis		Priešuždegiminis		Antibakterinis	
	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>	<i>Pa</i>	<i>Pi</i>
	0,817	0,002	0,528	0,013	-	-	0,401	0,030
	0,719	0,005	0,394	0,032	-	-	0,327	0,050
	0,602	0,010	0,526	0,013	0,229	0,229	0,339	0,046
	0,874	0,003	0,697	0,005	-	-	0,498	0,017
	0,727	0,005	0,349	0,043	-	-	0,320	0,053
	0,373	0,047	-	-	-	-	-	-
	0,291	0,086	-	-	-	-	-	-
	0,374	0,047	-	-	-	-	-	-

Visų naujai gautų junginių tikėtinas didžiausias aktyvumas yra antimikobakterinis (3.1 lentelė). Analizės metu pastebėta, kad jis didėja molekuleje esant heterociklą, amino, nitro ir hidroksi grupių, tačiau mažėja molekulei esant hidrofobiškesnei. Panaši tendencija pastebėta ir struktūros antiparazitiniame aktyvume. Nors tikimybė gauti tokį aktyvumą mažesnė nei antimikobakterinio aktyvumo atveju, bet lyginant su kitais biologiniais poveikiais, šis buvo pakankamai didelis. Rečiausiai šiose struktūrose galime rasti priešuždegiminį aktyvumą. Šio tyrimo metu pastebėta, kad

tikimybė turėti priešūždegiminių savybių pasireiškia struktūrose, turinčiose hidroksi, amino grupes bei heterociklinius fragmentus. Vis dėlto, didžiausia tikimybė pasižymėjo heterociklinį fragmentą turinčios struktūros. Dar vienas biologinis poveikis, kuris buvo labai svarbus planuojant sintezės struktūras – antibakterinis. Juo pasižymėti gali daugelis sintetintų struktūrų, išskyrus labiausiai hidrofobines. Tikimybės padidėjimas siekiant gauti aktyvius junginius didėjo priklausomai nuo funkcinų grupių junginių struktūroje (nitro, hidroksi). Lyginant hidrazono darinius su pakeistais tiadiazolais, matyti, kad pastarieji tokiu dideliu biologiniu aktyvumu nepasižymi. Šių struktūrų pavyko surasti tik antimikobakterinio aktyvumo rezultatus, tačiau jie mažesni nei daugelio hidrazonų. Lyginant pakeistuosius tiadiazolus, struktūroje esantis chloras nepadidino biologinio aktyvumo, kiti du junginiai pasižymėjo beveik identišku antimikobakteriniu poveikiu.

Remiantis šiuo tyrimu *Pass Online* programoje, buvo nustatytos struktūros, kurios buvo susintetintos. Renkantis junginius buvo atsižvelgta į struktūras įtraukiant įvairias funkcinę grupes ir aromatinę struktūras, kad pamatyti priklausomybę tarp struktūros ir biologinio aktyvumo. Tolimesniais biologiniais tyrimais buvo bandyta palyginti teorines tendencijas su gautomis eksperimentinėmis.

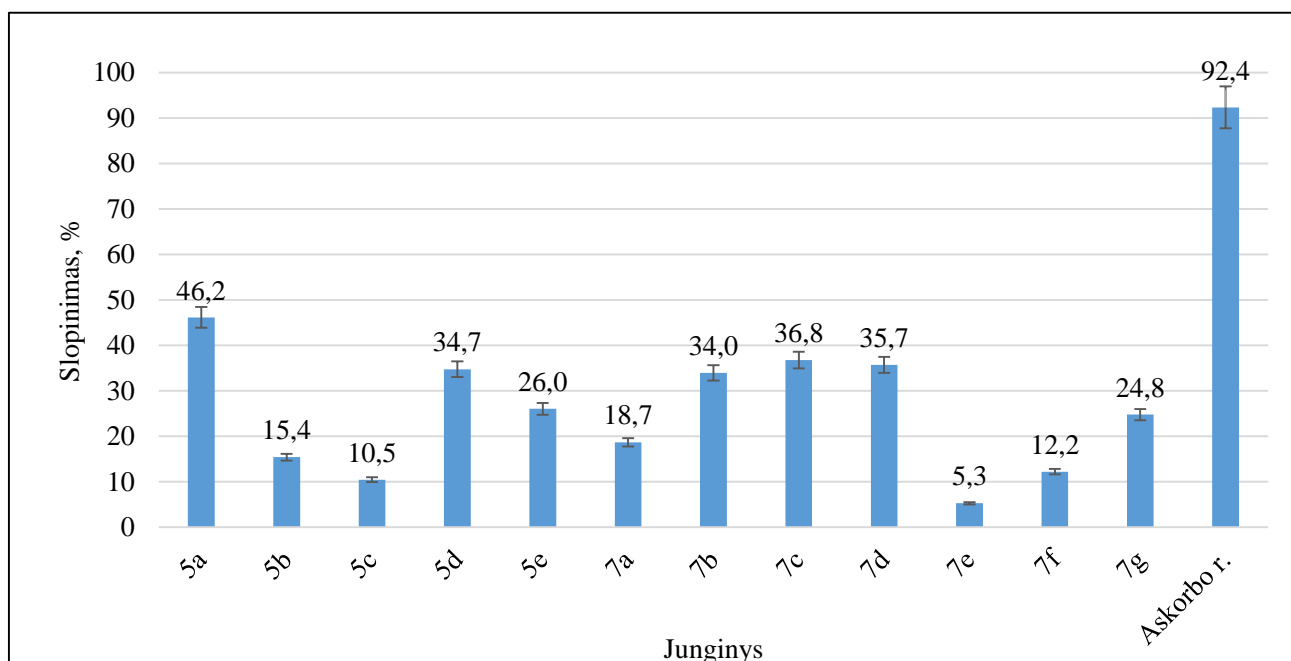
Atsižvelgus į sintetinti ruošiamų junginių su fenilo radikalų struktūrą, galime pastebėti, kad etilo grandinėlis prijungimas vietoje metilo grupės gana žymiai sumažina tikimybę biologiniam aktyvumui. Kalbant apie antibakterinį poveikį, etilo grupės įvedimas į struktūrą visiškai panaikina tikimybę tokį biologinį aktyvumą pasiekti. Struktūroje su fenilo ir metilo radikalų pridėjus amino grupę aromatinėje sistemoje, biologinis poveikis sustiprėtų, taip pat toks junginys pasižymėtų ir priešūždegiminėmis savybėmis. Lyginant hidrazonus su fenilo pakaitu ir prijungus į struktūrą nitro grupę aromatinėje sistemoje (4 padėtyje), matyti, kad šios grupės įvedimas padidina biologinio aktyvumo tikimybę. Pagal atliktą analizę galima numatyti, kad struktūros, kurios savo struktūroje turi heterociklinių fragmentų ir/ar amino, hidroksi, nitro grupių, turės didelį potencialą medicininėje chemijoje, nes pasižymės stipriu biologiniu poveikiu.

### **3.5 Naujai sintetintų junginių biologinių tyrimų rezultatai**

Norint nustatyti gautų junginių biologinį aktyvumą ir galimą terapinį poveikį, Kauno technologijų universiteto Cheminės technologijos fakulteto biotechnologijos laboratorijoje buvo atliekami antibakteriniai ir antioksidaciniai tyrimai. Biologinis poveikis prieš *E. Coli*, *X. Campestris* ir *R. Radiobacter* bakterijas buvo atliktas agar difuziniu metodu, o antioksidaciniai – keturiais metodais: DPPH, ABTS, FRAP ir redukciniu. Siekiant palyginti junginių aktyvumą su jau esamu antioksidantu buvo pasirinkta askorbo rūgštis. Askorbo rūgštis (vitaminas C) yra neįprastas antioksidantas, nes duoda vieną redukcinių ekvivalentą, o jos suformuotas radikalas pirmiausia reaguoja su radikalais, o ne su neradikalinais junginiais. Todėl jis laikomas vienu stipriausių antioksidantų [49]. Antibakteriniams tyrimams palyginimui buvo pasirinktas antibiotikas – ciprofloksacinas. Tai yra sintetinis chinolonų grupės antimikrobinis vaistas, kuris veikia DNR girazę ir neigiamai veikia DNR sintezę bakterijose. Šis antibiotikas veikia gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas [50]. Pagrindiniai skirtumai, kurie priklauso šioms bakterijų rūšims, yra peptidoglikano sluoksnio storis ir lipidinės membranos buvimas arba nebuvimas. Gramteigiamos bakterijos turi storą peptidoglikano sluoksnį, tačiau neturi išorinės lipidinės membranos, o gramneigiamos – turi ploną peptidoglikano sluoksnį bei išorinę membraną [51].

### 3.5.1 Antioksidacinių savybių tyrimas DPPH metodu

Tyrime naudojamas laisvasis radikalas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas (DPPH), kuris plačiai naudojamas vertinant medžiagų antioksidacines savybes [52]. Metodas turi akivaizdžių pranašumų, tokių kaip maža kaina, eksperimentų atlikimo paprastumas, atkuriamumas, pritaikomumas kambario temperatūroje, taip pat automatizavimo galimybės. Neutralizacijos DPPH testas pagrįstas elektronų donoryste iš antioksidantų, siekiant neutralizuoti DPPH radikalą [38].



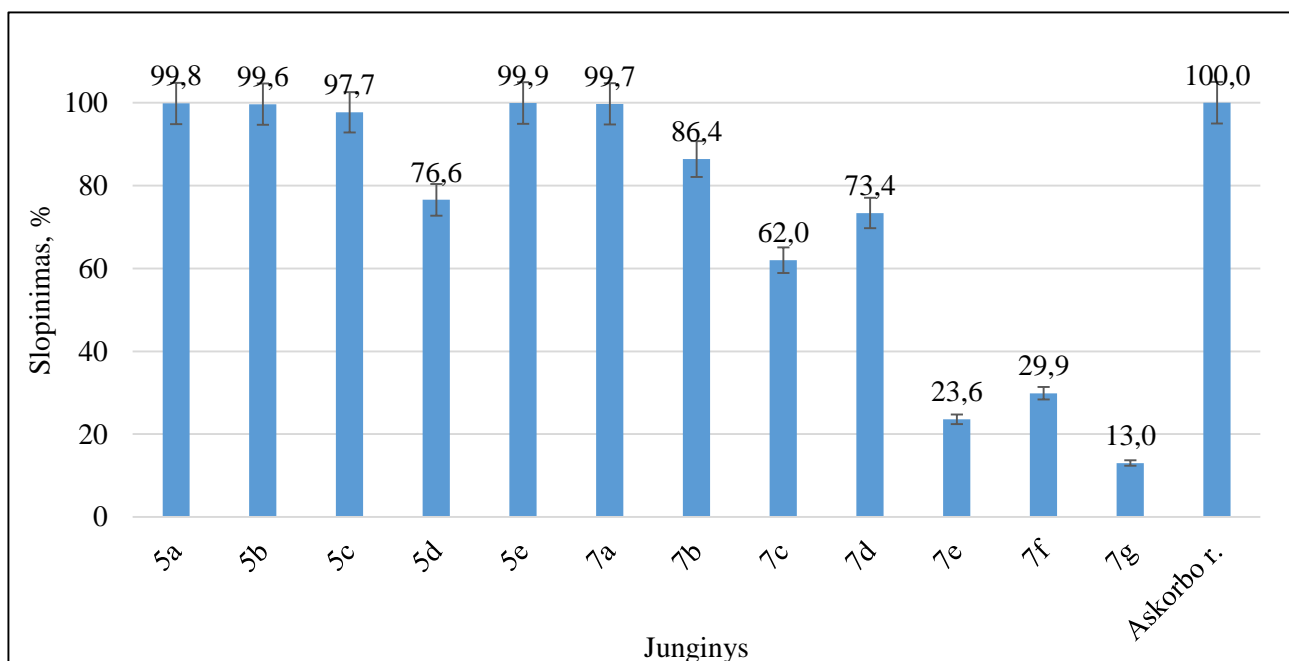
3.10 pav. DPPH tyrimo rezultatai ir nustatytas antioksidacinis aktyvumas

Iš naujai susintetintų junginių, didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu (atliekant DPPH tyrimą) pasižymėjo  $N'$ -[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5a**), galimai dėl savo struktūroje esančio heterociklinio fragmento (3.10 pav.). Šis junginys slopino laisvąjį DPPH radikalą 46,2 %. Tačiau šis junginys pasižymėjo dvigubai mažesniu antioksidaciniu aktyvumu nei pasirinktas jau žinomas antioksidantas – vitaminas C, kurio slopinimas buvo 92,4 %.  $N'$ -(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5d**),  $N'$ -fenilden-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7b**),  $N'$ -(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7c**),  $N'$ -(2-hidroksifenilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7d**) pasižymėjo vidutiniu aktyvumu – atitinkamai 34,7 %, 34 %, 36,8 % ir 35,7 %. O mažiausią radikalų slopinimą parodė  $N'$ -(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7e**) – tik 5,3 %. Šiuo atveju nitro grupės atsiradimas junginio struktūroje nedidino antioksidacinio aktyvumo. Apibendrinant galima teigti, kad visi junginiai pasižymi antioksidacinėmis savybėmis, tačiau mažesnėmis nei vitaminas C. Antioksidacinis aktyvumas didėja, kai molekulių struktūroje yra heterociklinis fragmentas (**5a**, **7c** junginiai).



### 3.5.2 Antioksidacinių savybių tyrimas ABTS metodu

ABTS tyrimas yra dar vienas spektrofotometrinis metodas, kurio metu naudojamas oksiduotas ABTS radikalo katijonas (ABTS<sup>•+</sup>), kuris reaguoja su antioksidantais, kad sumažintų ABTS radikalą ir prarastų mėlsvai žalią spalvą [53].

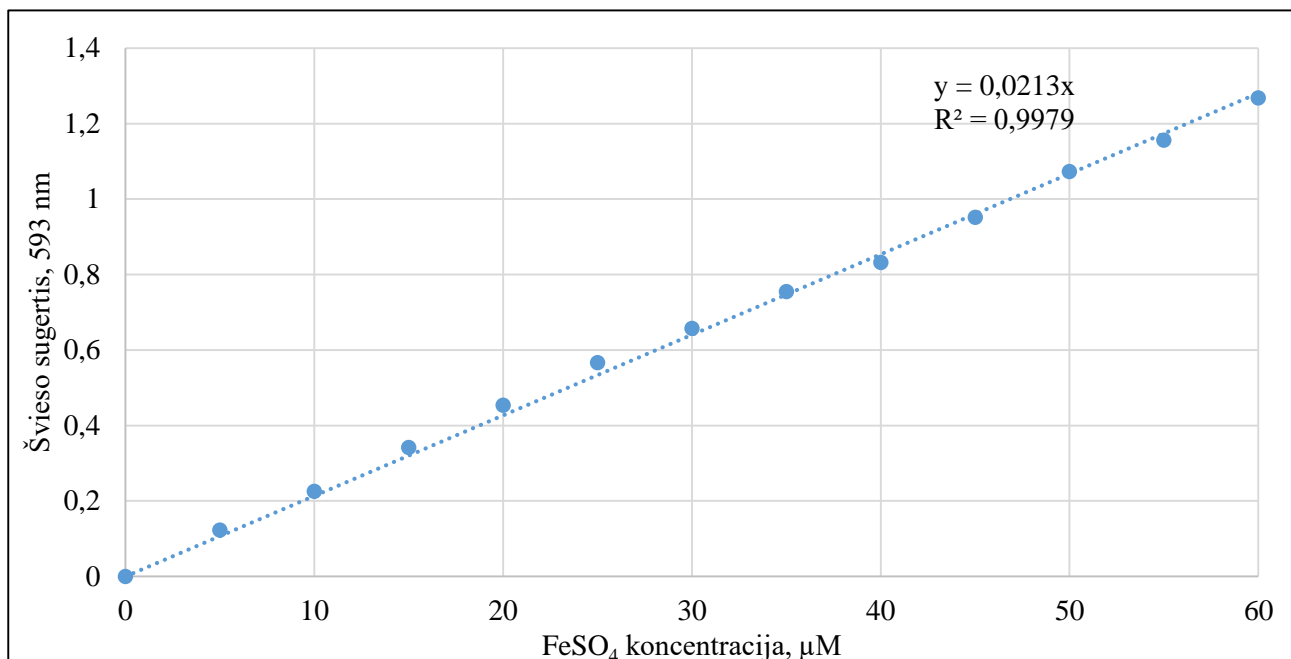


3.11 pav. ABTS tyrimo rezultatai tiriamiems junginiams

Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo *N'*-[1-(3-aminofenil)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5e**), kuris buvo labai artimas vitamino C rezultatui, atitinkamai ABTS radikalo slopinimas 99,9 % ir 100 % (3.11 pav.). Toks rezultatas galimai pasiektas, nes junginio struktūroje yra papildoma amino grupė. Didesnė dalis junginių pasižymėjo labai geru šių radikalų slopinimu, kuris buvo >90 %. Tačiau *N'*-((2-hidroksinaftalen-1-il)metilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7g**) šiame tyrime parodė mažiausią aktyvumą, vos 13 %. Silpnesnis slopinimas buvo pastebėtas ir *N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7e**) bei *N'*-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7f**), atitinkamai 23,6 % ir 29,9 %. Todėl galima manyti, kad nitro grupės atsiradimas struktūroje nedidino antioksidacinio aktyvumo. Šių junginių aktyvumas daugiau nei tris kartus mažesnis už vitamino C. Apibendrinant galima teigti, kad taikant ABTS radikalo slopinimo metodą, visi naujai sintetinti junginiai buvo aktyvūs. Antioksidacinis aktyvumas didėja, kai struktūroje yra amino (**5e** junginys) grupės, heterocikliniai fragmentai (**5a**, **5c**, **7a** junginiai).

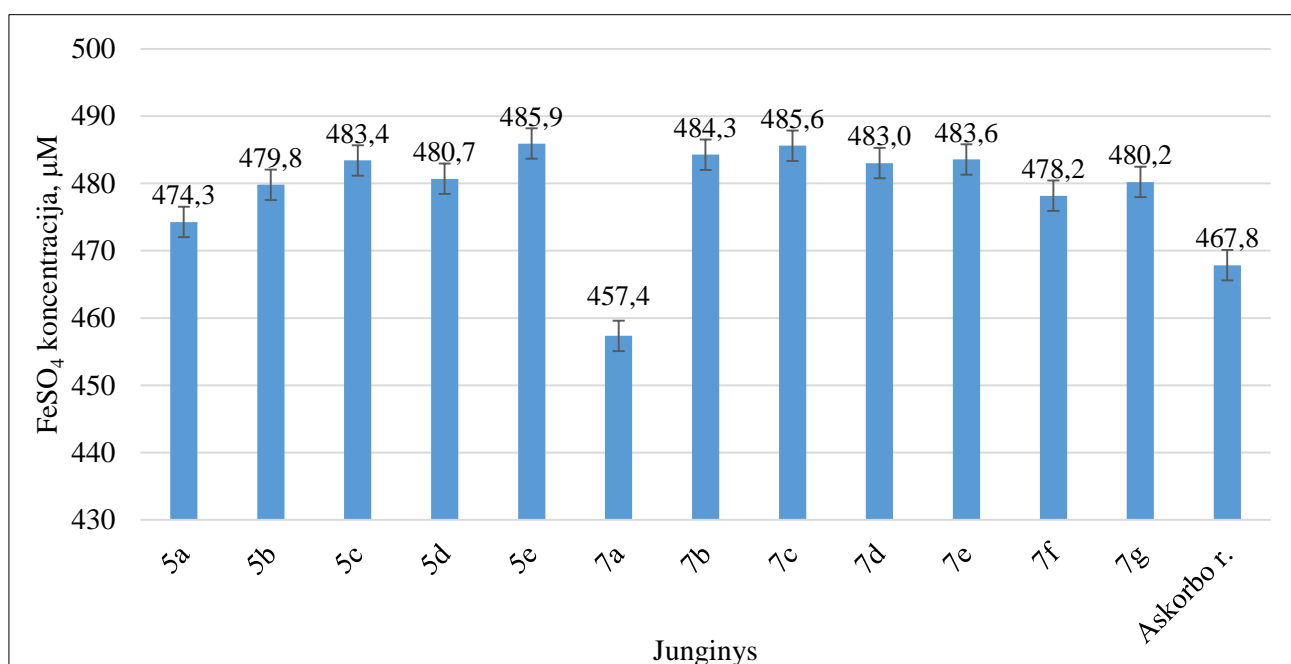
### 3.5.3 Antioksidacinių savybių tyrimas FRAP metodu

Vienas iš metodų, naudojamų nustatant Fe<sup>3+</sup> gebėjimą redukuoti į Fe<sup>2+</sup>, yra geležies redukcinė antioksidacinė galia (FRAP), kolorimetrinis metodas, kuris naudoja antioksidantų gebėjimą redukuoti bespalvį {Fe<sup>3+</sup>-[2,4,6-Tris(2-pirydyli)-*s*-triazinas]<sub>2</sub>}<sup>3+</sup> kompleksą iki intensyviai mėlynos spalvos komplekso [Fe<sup>2+</sup>-(TPTZ)<sub>2</sub>]<sup>2+</sup>. Tokie spalvų pokyčiai spektrofotometriškai matuojami esant 593 nm [54]. Šio metodo trūkumas yra Prūsijos mėlynos spalvos polinkis sudaryti suspensiją. Todėl Fe<sup>3+</sup> (FeCl<sub>3</sub>) pridėjimo laikas yra labai svarbus ir gali sukelti rezultatų interpretavimo klaidų [40]. Tyrimo metu buvo sudaryta FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O kalibravimo kreivė:



3.12 pav. FeSO<sub>4</sub>x7H<sub>2</sub>O kalibravimo kreivė

Pagal spektrofotometriškai gautą junginių sugertį iš kalibravimo kreivės buvo išvesta lygtis ( $y = 0,0213x$ ) ir buvo nustatyta redukavusių Fe<sup>2+</sup> jonų koncentracija (µmol) (3.12 pav.). Koncentracija, pasiekta atliekant tyrimą su skirtingais junginiais, pateikta (3.13 pav.). Didesnė koncentracija reiškia didesnę redukcinę galią ir didesnę biologinį (antioksidacinį) aktyvumą.



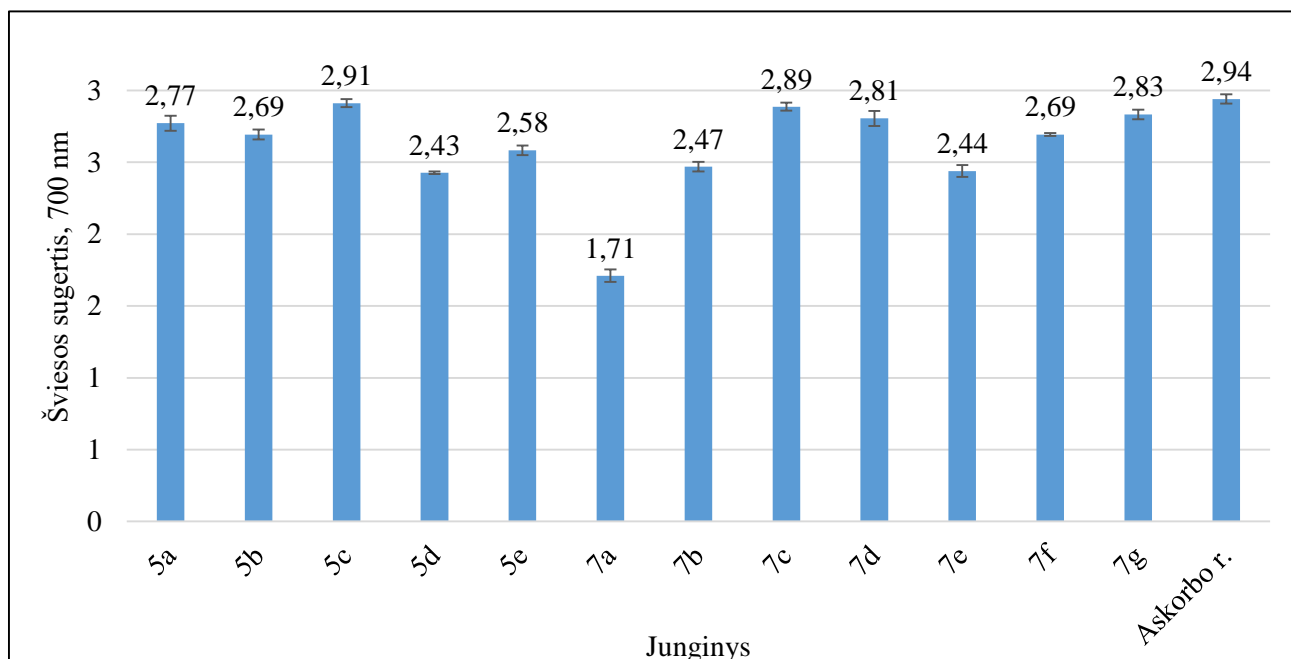
3.13 pav. FRAP tyrimo rezultatai naujai sintetintiems junginiams

FRAP tyrimas parodė, kad visi sintetinti junginiai turi didelį redukcinį potencialą, nes tik *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7a**) parodė mažesnę aktyvumą už vitaminą C, atitinkamai 457,4 µM ir 467,8 µM (3.13 pav.). Visi kiti junginiai buvo aktyvesni, o didžiausias antioksidacines savybes parodė *N'*-[1-(3-aminofenil)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5e**) ir *N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7c**), kurių FeSO<sub>4</sub> koncentracija siekė

atitinkamai 485,9  $\mu\text{M}$  ir 485,6  $\mu\text{M}$ . Galimai taip yra dėl jų struktūroje esančios amino grupės arba heterociklinio fragmento. Tačiau visi kiti junginiai pasižymėjo labai artimomis, šiems junginiams, savybėmis, todėl galima teigti, kad jie yra biologiškai aktyvūs, kaip antioksidantai. **7a** junginys buvo aktyviausias dėl struktūroje esančio heterociklinio fragmento, kuris antioksidacinį aktyvumą padidina. Antioksidacinis aktyvumas didėjo, kai struktūroje buvo amino grupė (**5e** junginys), tiofeno žiedas (**7c** junginys).

### 3.5.4 Antioksidacinių savybių tyrimas redukciniu metodu

Reducinių savybių tyrimo metu matuojama junginių redukcinė galia spektrofotometriškai 700 nm bangos ilgyje. Šiame tyrime didesnė šviesos sugertis reiškia didesnę antioksidantinę aktyvumą.

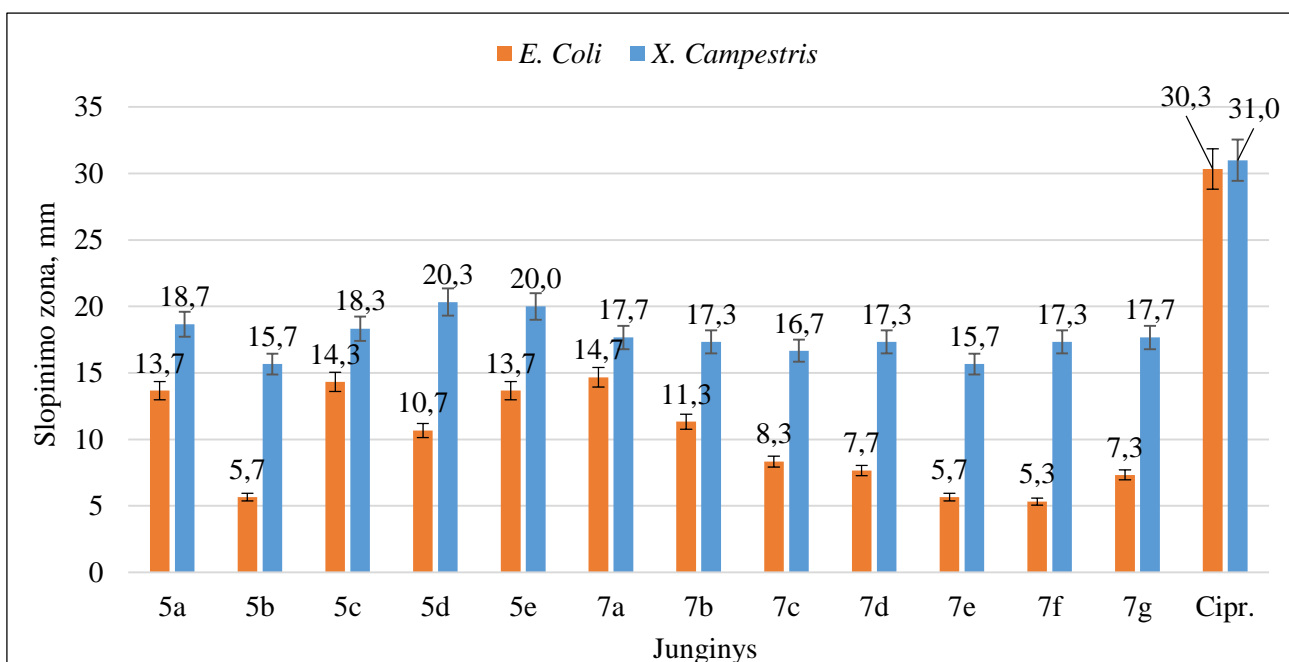


3.14 pav. Reducinių savybių nustatymo rezultatai

Visi junginiai pasižymėjo labai geromis redukcinėmis savybėmis (3.14 pav.). Daugelis junginių buvo labai artimi žinomam antioksidantui – vitaminui C. Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo *N'*-[1-(tiofen-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5c**) ir *N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7c**), šviesos sugertis atitinkamai 2,91 ir 2,89. Tai galėjo lemti heterociklinis fragmentas junginių struktūrose. Mažiausiomis redukcinėmis savybėmis pasižymi *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7a**), šviesos sugertis – 1,71. Likusių junginių šviesos sugertis buvo pakankamai aukšta lyginant su kitais junginiais (>2,43). Todėl, galima teigti, kad visi susintetinti junginiai pasižymi gana stipriomis redukcinėmis savybėmis. Reducinis savybės stiprėjo, kai struktūroje buvo tiofeno fragmentas (**5c** ir **7c** junginiai).

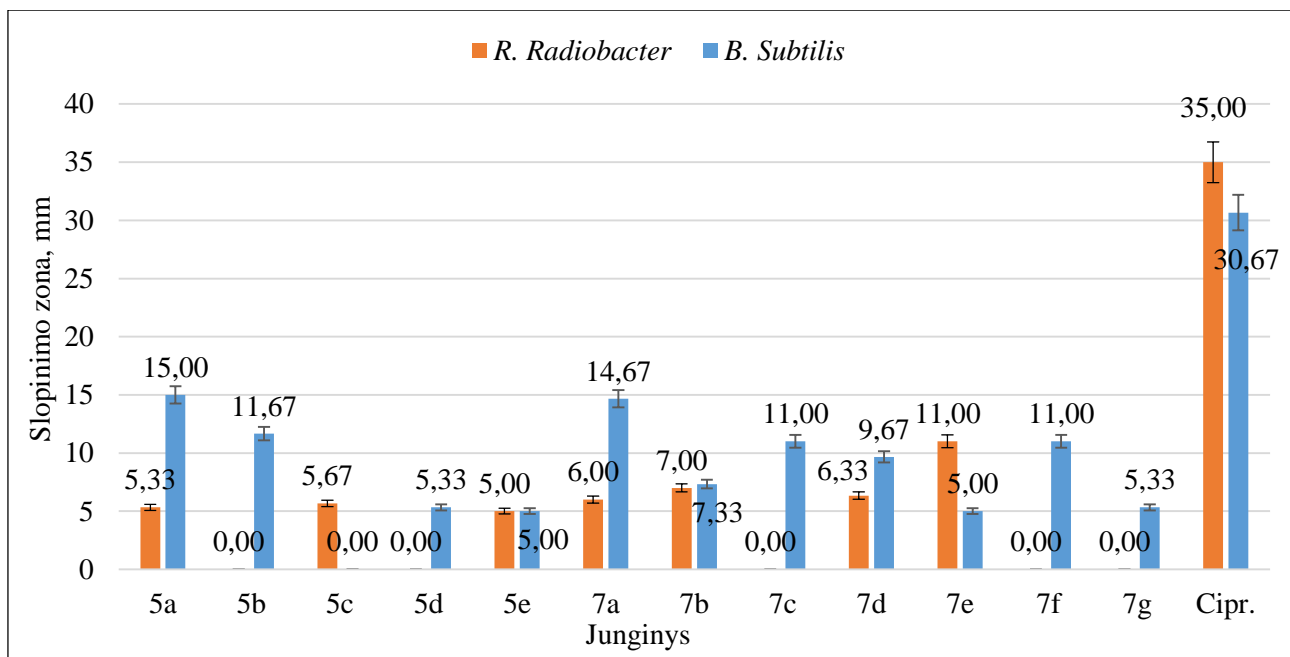
### 3.5.5 Antibakterinių savybių tyrimas agarų disko difuzijos metodu

Antibakterinis aktyvumas buvo išmatuotas milimetrais prieš gramneigiamų bakterijų padermes: *E. coli*, *X. campestris* ir *R. radiobacter*. Didesnė slopinimo zona reiškia stipresnes antibakterines savybes.



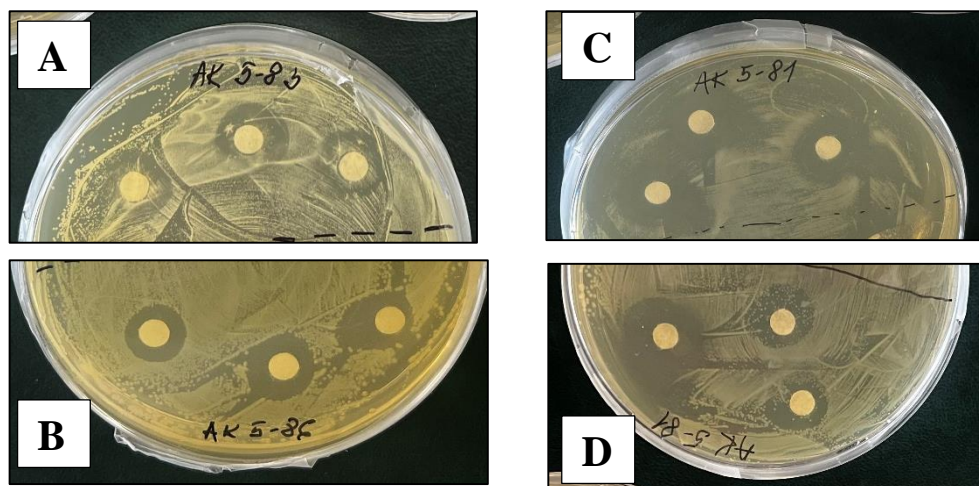
**3.15 pav.** Antibakterinio aktyvumo rezultatai prieš *E. coli* ir *X. campestris*

Didžiausiu antibakteriniu aktyvumu prieš gramneigiamą bakteriją – *E. coli* pasižymėjo  $N'$ -(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7a**), slopinimo zona 14,7 mm, galimai dėl heterociklinio fragmento struktūroje (3.15 pav.). Tačiau tai buvo dvigubai mažesnis aktyvumas negu naudoto antibiotiko Ciprofloksacino (30,3 mm).  $N'$ -[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5a**),  $N'$ -[1-(tiofen-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5c**) ir  $N'$ -[1-(3-aminofenil)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5e**) slopino *E. coli* bakteriją taip pat gana gerai, atitinkamai 13,7 mm, 14,3 mm ir 13,7 mm. Mažiausiu antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo  $N'$ -[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7f**),  $N'$ -(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7e**) ir  $N'$ -(1-feniletilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5b**), kurių slopinimo zona buvo atitinkamai 5,3 mm, 5,7 mm ir 5,7 mm. Tačiau galima teigti, kad visi junginiai pasižymėjo antibakterinėmis savybėmis prieš *E. coli* bakteriją. Susintetinti junginiai labiausiai slopino gramneigiamą bakteriją – *X. campestris*. Antibiotikas ciprofloksacinas pasiekė 31 mm slopinimo zoną. Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo  $N'$ -(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5d**) ir  $N'$ -[1-(3-aminofenil)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5e**), kurių slopinimo zonos buvo atitinkamai 20,3 mm ir 20 mm. Visi junginiai pasižymėjo gana aukštu antibakteriniu aktyvumu, tačiau  $N'$ -(1-feniletilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5b**) ir  $N'$ -(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7e**) tarp jų mažiausiai slopino *X. campestris* bakteriją. Jų slopinimo zonos buvo po 15,7 mm. Apibendrinant galima teigti, kad visi junginiai palyginti stipriai slopino šią gramneigiamą bakteriją ir galėtų būtų potencialūs antibakteriniai agentai. Didesniu antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo junginiai su papildoma amino grupe (**5e** junginys) arba heterocikliniu fragmentu (**7a**, **5a**, **5c** junginiai).



**3.16 pav.** Antibakterinio aktyvumo nustatymo rezultatai prieš *R. radiobacter* ir *B. subtilis*

Toliau buvo tirtos dar dvi bakterijų padermės: gramneigiama bakterija *R. radiobacter* ir gramteigiama – *B. subtilis*. Šis tyrimas parodė, kad *N'*-[1-(tiofen-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5c**) *B. subtilis* bakterijos neslopino, tačiau kiti junginiai pasižymėjo antibakteriniu aktyvumu prieš ją (3.16 pav.). Didžiausias buvo pastebėtas *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**5a**) ir *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**7a**), slopinimo zona siekė atitinkamai 15 mm ir 14,67 mm. antibiotikas ciprofloksacinas gramteigiamą bakteriją slopino beveik mažiausiai iš kitų atliktų tyrimų su kitomis bakterijomis, tačiau vis tiek slopinimo zona buvo didžiausia ir siekė vidutiniškai 30,67 mm. Iš atliktų tyrimų matyti, kad gramteigiama bakterija – *R. radiobacter* buvo mažiausiai slopinama iš visų atliktų tyrimų. Šios bakterijos neslopino *N'*-(1-feniletilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5b**), *N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**5d**), *N'*-(tiofen-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7c**), *N'*-[(5-nitrotiofen-2-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7f**) ir *N'*-[(2-hidroksinaftalen-1-il)metilen]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7g**). Tačiau didžiausiu antibakteriniu aktyvumu šiuo atveju pasižymėjo *N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**7e**), kurio slopinimo zona siekė 11 mm. *R. radiobacter* bakteriją stipriai slopino antibiotikas ciprofloksacinas (slopinimo zona 35 mm). Taigi, didesniu antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo junginiai su nitro grupe (**7e** junginys) arba heterocikliniu fragmentu (**7a**, **5a** junginiai).



**3.17 pav.** Antibakterinio tyrimo disko difuziniu metodu rezultatai: A – **5c** junginys prieš *R. radiobacter*; B – **5e** junginys prieš *E. coli*; C – **5a** junginys prieš *X. campestris*; D – **5a** junginys prieš *B. subtilis*

3.17 pav. pavaizduota antibakterinių tyrimų rezultatai prieš keturias bakterijų padermes ir antibakterinis tirtų junginių aktyvumas. Taigi, visi junginiai pasižymėjo antibakteriniu aktyvumu prieš gramteigiamas bakterijas *E. coli* ir *X. campestris*, tačiau prieš *R. radiobacter* aktyvumu nepasižymėjo penki junginiai, o gramteigiamos bakterijos *B. subtilis* neslopino tik vienas. Junginiai didžiausią antibakterinį pajėgumą parodė prieš *X. campestris*, o mažiausią – prieš *R. radiobacter*. Nei vienas junginys neprilygo antibiotiko ciprofloksacino bakterijų slopinimo galiai, tačiau galima teigti kad susintetinti junginiai turi antibakterinio aktyvumo potencialą.

## Rekomendacijos

Šiame darbe susintetinti ir biologiškai tirti hidrazonai pasižymi antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis todėl tolimesniuose tyrimuose gali būti tęsiami tyrimai su jais, kaip antibakteriniais agentais bei antioksidantais. Taip pat gali būti toliau vykdomi sintezės procesai, į struktūrą prijungiant įvairesnius pakaitus su daugiau amino, hidroksi, heterociklinių fragmentų, kad išplėsti hidrazonų įvairovę dėl jų didelio biologinio potencialo. Taip pat atliktas kondensacijos reakcijas optimizuoti bandant išgauti kuo didesnę išeią per trumpesnę reakcijos laiką (keisti temperatūrą, tirpiklį). Kituose tyrimuose toliau tęsti šiame darbe susintetintų junginių biologinio aktyvumo paiešką, nustatyti ar šie hidrazonai pasižymi priešvėžiniu ir antivirusiniu poveikiais.

Tolimesniuose tyrimuose atlikti išsamesnę *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino *N*-alkilinimo reakcijų sąlygų paiešką bei gauti didesnius kiekius produktų bei ištirti jų biologinį aktyvumą. Į struktūras prijungti daugiau biologiškai aktyvių pakaitų: amino, hidroksi, heterociklinių ir kt. Optimizuoti *N*-alkilinimo reakcijas, keičiant reakcijos laiką, temperatūrą, tirpiklį ir reagentų kiekį, kad gauti kuo didesnę išeią. Taip pat, visų reakcijų metu stengtis kuo labiau įgyvendinti žaliosios chemijos principus ir jais vadovautis.

## Išvados

1. 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacijos reakcijos su aldehidais metanolyje mišinio virimo temperatūroje yra tinkamos, siekiant gauti hidrazono darinius. Acto rūgštis yra tinkamas katalizatorius, siekiant pagreitinti reakciją (kai vykdoma su heterociklinį fragmentą turinčiais reagentais). Gautų junginių struktūrą galima patvirtinti  $^{13}\text{C}$  BMR,  $^1\text{H}$  BMR, IR ir mikroanalizės tyrimais.
2. 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido kondensacijos reakcijos su ketonais metanolyje mišinio virimo temperatūroje yra tinkamos sąlygos gauti skirtingai pakeistus hidrazonus. Acto rūgštis taip pat yra tinkamas katalizatorius, siekiant pagreitinti reakciją (su heterociklinį fragmentą turinčiais reagentais). Gautų junginių struktūrą galima patvirtinti  $^{13}\text{C}$  BMR,  $^1\text{H}$  BMR, IR ir mikroanalizės tyrimais.
3. *N*-fenil-5-[2-(*p*-tolilamino)etil]-1,3,4-tiadiazol-2-amino *N*-alkilimo, su fenacilhalogenidais DMF, 60 °C temperatūroje, kaip bazę naudojant KOH ir  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , reakcija yra tinkama gauti 5-{2-[(4-metoksibenzil)(*p*-tolil)amino]etil}-*N*-fenil-1,3,4-tiadiazol-2-aminą. Junginiui atpažinti yra tinkami  $^{13}\text{C}$  BMR,  $^1\text{H}$  BMR, IR tyrimai.
4. Tyrimo metu nustatyta, kad didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu pasižymėjo *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *N'*-[1-(tiofen-2-il)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas ir *N'*-[1-(3-aminofenil)etilden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas. Didžiausią antibakterinį aktyvumą prieš gramneigiamas bakterijas *E. coli* parodė *N'*-(furan-2-ilmetilen)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *X. campestris* – *N'*-(1-fenilpropilden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, *R. radiobacter* – *N'*-(4-nitrofeniliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, o prieš gramteigiamą *B. subtilis* – *N'*-[1-(furan-2-il)etiliden]-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas.



## Literatūros sąrašas

1. SAPIJANSKAITE-BANEVIČ, Birutė, et al. Synthesis and Antibacterial Activity of New Azole, Diazole and Triazole Derivatives Based on p-Aminobenzoic Acid. *Molecules* [interaktyvus]. 2021, 26 (9), 2597 [žiūrėta 2022-10-24] Prieiga per doi: 10.3390/molecules26092597.
2. PITUCHA, Monika, Renata NOWAK. Antioxidant Evaluation of Some Semicarbazide, 1,2,4-Triazolone and Pyrazolone Derivatives. *Letters in Drug Design & Discovery* [interaktyvus]. 2011, 8 (10), 1004-1008 [žiūrėta 2022-10-24]. ISSN 1875-628X. Prieiga per doi: 10.2174/157018011797655188.
3. PHAM, Van Hiem, et al. Synthesis and Bioactivity of Hydrazone-Hydrazones with the 1-Adamantyl-Carbonyl Moiety. *Molecules* [interaktyvus]. 2019, 24 (21), 4000 [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.3390/molecules24214000.
4. T. E. o. Encyclopaedia. *Encyclopedia Britannica*. Britannica, 2020.
5. A. GOMTSYAN. Heterocycles in drugs and drug discovery. *Chemistry of Heterocyclic Compounds* [interaktyvus]. 2012, 48, 7-10 [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s10593-012-0960-z>.
6. HU, Yang, et al. 1,3,4-Thiadiazole: synthesis, reactions, and applications in medicinal, agricultural, and materials chemistry. *Chemical reviews* [interaktyvus]. 2014, 114 (10), 5572 [žiūrėta 2022-10-24]. Prieiga per doi: 10.1021/cr400131u.
7. MALI, Suraj, et al. Review of the importance of Hydrazone and its Derivatives in Organic synthesis. *Synthetic Chemistry Techniques* [interaktyvus]. 2021 [žiūrėta 2022-10-30]. Prieiga per doi: 10.3390/ASEC2021-11157.
8. KOOPAEI, Mansur Nassiri, et al. SYNTHESIS AND ANALGESIC ACTIVITY OF NEW PHENOXYBENZYLIDENE AROYLHYDRAZINE DERIVATIVES. *Journal of Pharmaceutical & Health Sciences* [interaktyvus]. 2013, 2 (1) [žiūrėta 2022-10-30]. ISSN 2228-6780. Prieiga per doi: 10.1345/aph.1K089.
9. WU, Bao-Xing, et al. Synthesis, photochemical isomerization and photophysical properties of hydrazone-hydrazone derivatives. *New Journal of Chemistry* [interaktyvus]. 2021, 45 (3), 1651-1657 [žiūrėta 2022-10-30]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1039/D0NJ05172A>.
10. ROLLAS, Sevim, S. Guniz KUCUKGUZEL. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules* [interaktyvus]. 2007, 12 (8), 1910-1939 [žiūrėta 2022-10-31]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3390/12081910>.
11. LACERDA, Renata B, et al. Novel Potent Imidazo[1,2-a]pyridine-N-Glyciny-Hydrazone Inhibitors of TNF- $\alpha$  Production: In Vitro and In Vivo Studies. *Plos One* [interaktyvus]. 2014, 9 (3) [žiūrėta 2022-10-31]. Prieiga per doi: 10.1371/journal.pone.0091660.
12. DAHAEN, W., V. A. BAKULEV. 1,2,3,4-Thiatriazoles. *Comprehensive Heterocyclic Chemistry III*. Elsevier, 2008, pp. 441-484. ISBN 978-0-08-044992-0.

13. TUMOSIENĖ, Ingrida, et al. Antioxidant and Anticancer Activity of Novel Derivatives of 3-[(4-Methoxyphenyl)amino]propanehydrazide. *Molecules* [interaktyvus]. 2020, 25 (13) [žiūrėta 2022-12-11]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25132980>.
14. NARANG, A., et al. A review on biological activities and chemical synthesis of hydrazide derivatives. *Curr Med Chem* [interaktyvus]. 2012, 19 (4), 569-612 [žiūrėta 2022-12-11]. Prieiga per doi: [10.2174/092986712798918789](https://doi.org/10.2174/092986712798918789).
15. MUTHUKKUMAR, M., et al. Synthesis, characterization and computational studies of semicarbazide derivative. *Journal of Molecular Liquids* [interaktyvus]. 2018, 272, 481-495 [žiūrėta 2022-12-11]. Prieiga per doi: [10.1016/j.molliq.2018.09.123](https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.09.123).
16. HARIRI, Elham, et al. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Hydroxy Semicarbazone Derivatives. *Iran J Pharm Res* [interaktyvus]. 2016, 15, 29-35 [žiūrėta 2022-12-11]. ISSN . Prieiga per: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5242349/>.
17. PITUCHA, Monika, et al. Synthesis, Experimental and Theoretical Study on the Structure of Some Semicarbazides with Potential Antibacterial Activity. *Zeitschrift für Naturforschung B* [interaktyvus]. 2011, 66, 505-511 [žiūrėta 2022-12-11]. ISSN 1865-7117. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1515/znb-2011-0511>.
18. METWALLY, Mohamed A., et al. Thiosemicarbazides: Synthesis and reactions. *Journal of Sulfur Chemistry* [interaktyvus]. 2011, 32 (5), 489-519 [žiūrėta 2022-12-11]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1080/17415993.2011.601869>.
19. ALJAMALI, Nagham Mahmood, et al. 1,2-Diazole Derivatives and Their Applications: A Review. *International Journal of Chemical and Molecular Engineering* [interaktyvus]. 2021, 7 (2) [žiūrėta 2022-12-11]. Prieiga per doi: [10.37628/IJCME](https://doi.org/10.37628/IJCME).
20. TUMOSIENĖ, I., I. Jonuškienė et al. Synthesis and biological activity of 1,3,4-oxa(thia)diazole, 1,2,4-triazole-5-(thio)one and S-substituted derivatives of 3-((2-carboxyethyl)phenylamino)propanoic acid. *Research on Chemical Intermediates* [interaktyvus]. 2016, 42, 4459-447 [žiūrėta 2022-12-22]. Prieiga per doi: <https://doi.org/10.1007/s11164-015-2290-0>.
21. TROTSKO, Nazar, et al. Cyclization of thiosemicarbazide derivatives of 5-arylidene-2,4-dioxothiazolidine-3-acetic acids to 1,3,4-thiadiazoles and their pharmacological properties. *Acta Pol Pharm* [interaktyvus]. 2007, 64 (3) [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 0001-6837. Prieiga per: <https://www.semanticscholar.org/paper/Cyclization-of-thiosemicarbazide-derivatives-of-to-Trotsko-Dobosz/062e07772ff8b0afa9050d3bdc679dd0f09520f6>.
22. J. JAMPILEK. Heterocycles in Medicinal Chemistry. *Molecules* [interaktyvus]. 2019, 24 (21), 3839 [žiūrėta 2022-12-22]. Prieiga per doi: [10.3390/molecules24213839](https://doi.org/10.3390/molecules24213839).
23. BARBOSA, G. A. D, et al. Synthesis of 1,3,4-Thiadiazole Derivatives and Microbiological Activities: A Review. *RVq* [interaktyvus]. 2019, 11 (3), 806-848 [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 1984-6835. Prieiga per doi: [10.21577/1984-6835.20190058](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190058).
24. GOMHA, Sobhi Mohamed, et al. Synthesis and SAR Study of the Novel Thiadiazole-Imidazole Derivatives as a New Anticancer Agents. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*

- [interaktyvus]. 2016, 64 (9) [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 1347-5223. Prieiga per doi: 10.1248/CPB.C16-00344
25. BOUDREAU, Marc A., et al. Structure–Activity Relationship for the Oxadiazole Class of Antibacterials. *ACS Med Chem Letters* [interaktyvus]. 2020, 11 (3), 322-326 [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 19485875. Prieiga per doi: 10.1021/ACSMEDCHEMLETT.9B00379/SUPPL\_FILE/ML9B00379\_SI\_001.PDF.
  26. SIWACH, Ankit, Prabhakar Kumar VERMA. Therapeutic potential of oxadiazole or furadiazole containing compounds. *BMC Chemistry* [interaktyvus]. 2020, 14 [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 2661801X. Prieiga per doi: 10.1186/S13065-020-00721-2/TABLES/25.
  27. ELANGO VAN, Saravanakumar, et al. Efficient and selective N-alkylation of amines with alcohols catalysed by manganese pincer complexes. *Nature Communications* [interaktyvus]. 2016, 7 [žiūrėta 2022-12-22]. ISSN 2041-1723. Prieiga per doi: 10.1038/ncomms12641.
  28. EMAYAVARAMBAN, Balakumar, et al. Cp\*Co(III)-Catalyzed N-Alkylation of Amines with Secondary. *The Royal Society of Chemistry* [interaktyvus]. 2013, 1 (3) [žiūrėta 2022-12-22]. Prieiga per doi: 10.1039/x0xx00000x.
  29. WEI, Yahui, et al. Reductive N-alkylation of primary and secondary amines using carboxylic acids and borazane under mild conditions. *Organic Chemistry Frontiers* [interaktyvus]. 2018, 5 (24), 3510-3514 [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 2052-4129. Prieiga per doi: 10.1039/C8QO00942B.
  30. SURRY, David S., et al. Dialkylbiaryl phosphines in Pd-catalyzed amination: a user's guide. *Chemical Science* [interaktyvus]. 2011, 2 (1), 27-50 [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 2041-6539. Prieiga per doi: 10.1039/C0SC00331J.
  31. QUADRI, Syed Aziz Imam, et al. Efficient synthesis of tertiary amine by direct N-alkylation of secondary amine with carboxylic acid using Ni (0) enat catalyst. *An International Journal for Rapid Communication of Synthetic Organic Chemistry* [interaktyvus]. 2018, 48, 267-277 [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 15322432. Prieiga per doi: 10.1080/00397911.2017.1396613.
  32. TAYLOR, J. E., S. D. BULL. N-Acylation Reactions of Amines. *Comprehensive Organic Synthesis II*. Elsevier, 2014, pp. 427-478. ISBN 9780080977430.
  33. MAHANTESHA B., et al. New, Efficient, Selective, and One-Pot Method for Acylation of Amines. *Synthetic Communications* [interaktyvus]. 2008, 38 (17), 2929-2940 [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 00397911. Prieiga per doi: 10.1080/00397910801997538.
  34. OUARNA, Souad, et al. An eco-friendly and highly efficient route for N-acylation under catalyst-free conditions. *Oriental Journal of Chemistry* [interaktyvus]. 2015, 31 (2) [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 22315039. Prieiga per doi: 10.13005/OJC/310235.
  35. MALI, Suraj N., et al. Mini-Review of the Importance of Hydrazides and Their Derivatives—Synthesis and Biological Activity. *Engineering proceedings* [interaktyvus]. 2021, 11 (21) [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 2673-4591. Prieiga per doi: 10.3390/ASEC2021-11157.

36. COSTA, Rafael Fernandes, et al. Heterocyclic Compounds: Pharmacology of Pyrazole Analogs From Rational Structural Considerations. *Front. Pharmacol.* [interaktyvus]. 2021, 12 [žiūrėta 2023-01-15]. ISSN 16639812. Prieiga per doi: 10.3389/FPHAR.2021.666725/BIBTEX.
37. BALOUIRI, Mounyr, et al. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal.* [interaktyvus]. 2016, 6 (2), 71-79 [žiūrėta 2023-01-29]. ISSN 20951779. Prieiga per doi: 10.1016/J.JPHA.2015.11.005.
38. MUNTEANU, Irina Georgiana, Constantin APETREI. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review. *Int J Mol Sci.* [interaktyvus]. 2021, 22 (7) [žiūrėta 2023-01-29]. ISSN 14220067. Prieiga per doi: 10.3390/IJMS22073380.
39. K. A. WOJTUNIK-KULESZA. Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes. *Molecules* [interaktyvus]. 2020, 25 (22) [žiūrėta 2023-01-29]. ISSN 1420-3049. Prieiga per doi: 10.3390/MOLECULES25225267.
40. DUREJA, AnamikaGupta, Kunal DHIMAN. Free radical scavenging potential and total phenolic and flavonoid content of *Ziziphus mauritiana* and *Ziziphus nummularia* fruit extracts. *International Journal of Green Pharmacy* [interaktyvus]. 2012, 6 (3) [žiūrėta 2023-01-29]. ISSN 19984103. Prieiga per doi: 10.4103/0973-8258.104929.
41. Pass Online. Way2Drug. Prieiga per internetą: <http://www.way2drug.com/passonline/>.
42. TUMOSIENE, Ingrida, et al. The synthesis of S-substituted derivatives of 3-[2-[(4-methylphenyl)amino]ethyl]-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole-5-thiones and their antioxidative activity. *Monatsh Chem* [interaktyvus]. 2014, 327-319 [žiūrėta 2023-02-08]. ISSN 00269247. Prieiga per doi: 10.1007/S00706-013-1096-2.
43. TUMOSIENĖ, Ingrida, et al. The synthesis of azole derivatives from 3-[(4-methylphenyl)amino]propanehydrazide and its N'-phenylcarbamoyl derivatives, and their antibacterial activity. *Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly* [interaktyvus]. 2012, 143, 1441-1450 [žiūrėta 2023-02-08]. ISSN 00269247. Prieiga per doi: 10.1007/S00706-012-0799-0/METRICS.
44. CHRISTENSON, John C. et al. Laboratory Diagnosis of Infection Due to Bacteria, Fungi, Parasites, and Rickettsiae. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier, 2018, pp. 1422-1434 [žiūrėta 2023-02-08]. ISBN 9780323401814.
45. SANTOS, Clementina M M, Artur M S SILVA. The Antioxidant Activity of Prenylflavonoids. *Molecules* [interaktyvus] 2020, 25 (3) [žiūrėta 2023-02-08]. ISSN 1420-3049. Prieiga per doi: 10.3390/MOLECULES25030696.
46. EREL, Sura Baykan, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of *Artemisia L.* species from western Anatolia. *Turkish Journal of Biology* [interaktyvus]. 2012, 36 (1), 75-84 [žiūrėta 2023-02-09]. ISSN 1300-0152. Prieiga per doi: 10.3906/biy-0912-27.
47. KHERZI, Jila, et al. Phenolic Content and Ferric Reducing Antioxidant Power of *Artemisia Fragrans* Willd. and *Artemisia Vulgaris* L. Herbs. *Pharmaceutical Chemistry Journal* [interaktyvus]. 2017, 51 (3) [žiūrėta 2023-03-17]. ISSN 15739031. Prieiga per doi: 10.1007/S11094-017-1556-9.

48. PANDEY, Bishnu Prasad, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil and methanol extract of *Artemisia vulgaris* and *Gaultheria fragrantissima* collected from Nepal. *Asian Pac J Trop Med* [interaktyvus]. 2017, 10 (10), 952-959 [žiūrėta 2023-03-17]. ISSN 2352-4146. Prieiga per doi: 10.1016/J.APJTM.2017.09.005.
49. NJUS, David, et al. Ascorbic acid: The chemistry underlying its antioxidant properties. *Free Radic Biol Med.* [interaktyvus]. 2020, 159, 37-43 [žiūrėta 2023-03-17]. ISSN 1873-4596. Prieiga per doi: 10.1016/J.FREERADBIOMED.2020.07.013.
50. B. W. CUE. Green chemistry approaches to drugs that treat epidemic and pandemic diseases. *Contemporary Chemical Approaches for Green and Sustainable Drugs.* Elsevier, 2022, pp. 307-331.
51. REUBSAET, L. L., M. B. EKKELENKAMP. Pathogen-directed antibiotic therapy. *Management of Periprosthetic Joint Infections (PJIs).* WOODHEAD PUBLISHING, 2017, pp. 231-255. ISBN 9780081002421.
52. BALIYAN, Siddartha, et al. Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules* [interaktyvus]. 2022, 27 (4) [žiūrėta 2023-03-17]. ISSN 14203049. Prieiga per doi: 10.3390/MOLECULES27041326.
53. CANO, Antonio, et al. ABTS/TAC Methodology: Main Milestones and Recent Applications. *Processes* [interaktyvus]. 2023, 11 (1), 185 [žiūrėta 2023-03-18]. ISSN 2227-9717. Prieiga per doi: 10.3390/PR11010185.
54. K. A. WOJTUNIK-KULESZA. Approach to Optimization of FRAP Methodology for Studies Based on Selected Monoterpenes. *Molecules* [interaktyvus]. 2020, 25 (22) [žiūrėta 2023-03-18]. ISSN 14203049. Prieiga per doi: 10.3390/MOLECULES25225267

### Publikacijų sąrašas

1. Pranešimas tarptautinėje mokslinėje konferencijoje „The COINS 2022“ – SUBSTITUTED 1,3,4-OXADIAZOLE AND 1,3,4-THIADIAZOLE DERIVATIVES AS ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL AGENTS.
2. Pranešimas studentų mokslinėje konferencijoje 2023: „Naujoji mokslininkų karta“ – 1,3,4-TIADIAZOLO FRAGMENTĄ TURINČIŲ 3-(*p*-TOLILAMINO)PROPANO RŪGŠTIES DARINIŲ STRUKTŪROS MODIFIKAVIMAS.