



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

**Izatinio hidrazonų sintezė, jų charakterizavimas,
antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimas**

Baigiamasis magistro studijų projektas

Indrė Styaitė

Projekto autorė

M. d. dr. Ingrida Tumosienė

Vadovė

Kaunas, 2019



Cheminės technologijos fakultetas

Izatinio hidrazonų sintezė, jų charakterizavimas, antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimas

Baigiamasis magistro studijų projektas

Pramoninė biotechnologija (6211FX010)

Indrė Styraitė

Projekto autorė

M. d. dr. Ingrida Tumosienė

Vadovė

Dr. Nerita Žmuidzinavičienė

Recenzentė

Kaunas, 2019



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Indrė Styraitė

Izatinio hidrazonų sintezė, jų charakterizavimas, antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad mano, Indrės Styraitės, baigiamasis projektas tema „Izatinio hidrazonų sintezė, jų charakterizavimas, antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimas“ yra parašytas visiškai savarankiškai ir visi pateikti duomenys ar tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti sąžiningai. Šiame darbe nei viena dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar internetinių šaltinių, visos kitų šaltinių tiesioginės ir netiesioginės citatos nurodytos literatūros nuorodose. Įstatymų nenumatytų piniginių sumų už šį darbą niekam nesu mokėjęs.

Aš suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo faktui, man bus taikomos nuobaudos, remiantis Kauno technologijos universitete galiojančia tvarka.

(vardą ir pavardę įrašyti ranka)

(parašas)

Styraitė, Indrė. Izatino hidrazonų sintezė, jų charakterizavimas, antioksidacinio ir antibakterinio aktyvumo tyrimas. Magistro studijų baigiamasis projektas / m.d. dr. Ingrida Tumosienė; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): technologijos mokslai, biotechnologija.

Reikšminiai žodžiai: hidrazonai, izatinas, antioksidaciniai junginiai, antibakterinis poveikis.

Kaunas, 2019. 62 p.

Santrauka

Hidrazonai yra organinių junginių klasė, pastaruoju metu vis labiau populiarėjanti medicinos chemijoje dėl plataus biologinių savybių spektro. Dariniai su *N-N* fragmentu pasižymi antimikrobinu, analgetiniu, priešuždegiminiu, anti-tuberkulioziniu aktyvumu, turi priešvėžinių savybių ir netgi veikia prieš žmogaus imunodeficito virusą [1]. Mokslininkus vis labiau domina hidrazonų dariniai su izatinu ir stiprios šių kompleksų biologinės savybės, platus pritaikymas pramonėje ir medicinoje [2].

Šiame darbe vykdyta naujų hidrazono darinių sintezė, prie įvairių hidrazidų prijungiant izatino molekulę. Gautų darinių struktūros patvirtintos protoninio branduolių magnetinio rezonanso, anglies izotopo ¹³C branduolių magnetinio rezonanso ir infraraudonosios spektroskopijos bei masių spektriniais duomenimis.

Taip pat Kauno technologijos universitete, Cheminės technologijos fakulteto biotechnologijos laboratorijose tirtos susintetintų junginių biologinės savybės. Nustatyta, jog gauti dariniai pasižymi antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis.

Pastebėta, kad junginiai, turinys metoksi-, etoksi- bei halogenų (chloro, bromo) funkcines grupes fenilo žiedo para- padėtyje, pasižymi geresniu biologiniu aktyvumu, nei kiti naujai susintetinti hidrazonai.

Styraite, Indre. Synthesis of hydrazone derivatives of isatin, their characterization, antioxidant and antibacterial activity. Master's Final Degree Project / supervisor m.d. dr. Ingrida Tumosiene; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology.

Study field and area (study field group): Technological Sciences, Biotechnology.

Keywords: hydrazones, isatin, antioxidants, antibacterial properties.

Kaunas, 2019. 62 p.

Summary

Hydrazones are a class of organic compounds that have become increasingly popular in medical chemistry due to the wide spectrum of biological properties. Derivatives containing *N-N* moiety possess antimicrobial, analgesic, anti-inflammatory, anti-tuberculosis, anti-cancer properties and even are active against human immunodeficiency virus [1]. Scientists are interested in hydrazone derivatives with isatin and strong biological properties of these complexes, wide application for industrial use and medicine [2].

In this work a series of novel hydrazone derivatives containing isatin moiety were synthesized. The structures of the synthesized products were confirmed by proton nuclear magnetic resonance, carbon-13 nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy and mass spectrometry.

Biological properties of novel compounds were investigated in biotechnology laboratories at KTU faculty of Chemical Technology. The obtained compounds exhibited antioxidant and antibacterial properties.

It was found that derivatives containing methoxy, ethoxy and halogen (chloro, bromo) substituents in para position of phenyl ring, shown better biological activity than other newly synthesized hydrazones.

Turinys

| | |
|---|-----------|
| Santrumpų ir terminų sąrašas | 7 |
| Įvadas..... | 8 |
| 1. Literatūros apžvalga | 9 |
| 1.1. Hidrazonų su izatino fragmentu sintezė ir antibakterinis poveikis | 9 |
| 1.2. Hidrazonų su izatino fragmentu priešvėžinis poveikis ir antioksidacinės savybės | 13 |
| 1.3. Literatūros apžvalgos išvados..... | 20 |
| 2. Medžiagos ir tyrimų metodai | 21 |
| 2.1. Naujų hidrazidų su izatino fragmentu sintezės metodika..... | 21 |
| 2.2. Biologinių savybių tyrimų metodika | 32 |
| 2.2.1. Biologiškai aktyvių junginių 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalo slopinimo bandymas..... | 36 |
| 2.2.2. Biologiškai aktyvių junginių redukcinių savybių nustatymas..... | 36 |
| 2.2.3. Biologiškai aktyvių junginių antioksidacinis aktyvumas pagal geležies redukcijos antioksidantinės galios metodą, naudojant 2,4,6-tripiridil-s-triaziną | 36 |
| 2.2.4. 2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonrūgšties) radikalo slopinimo metodas..... | 37 |
| 2.2.5. Deoksiribozės apsaugos nuo hidrosiradikalų metodas (nespecifinis) | 37 |
| 2.2.6. Biologiškai aktyvių junginių tirpalų antibakterinio aktyvumo nustatymas agaru difuziniu metodu | 38 |
| 3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas..... | 39 |
| 3.1. Naujų hidrazonų su izatino fragmentu sintezė | 39 |
| 3.2. Susintetintų junginių biologinių savybių tyrimų rezultatai | 51 |
| 3.2.1. Biologiškai aktyvių junginių 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalo slopinimo įvertinimas ... | 51 |
| 3.2.2. Biologiškai aktyvių junginių redukcinių savybių įvertinimas..... | 51 |
| 3.2.3. Biologiškai aktyvių junginių antioksidacinio aktyvumo pagal geležies redukcijos antioksidantinės galios metodą, naudojant 2,4,6-tripiridil-s-triaziną, įvertinimas | 52 |
| 3.2.4. 2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonrūgšties) radikalo slopinimo įvertinimas | 53 |
| 3.2.5. Deoksiribozės apsaugos nuo hidrosiradikalų metodas (nespecifinis) | 54 |
| 3.2.6. Biologiškai aktyvių junginių tirpalų antibakterinio aktyvumo nustatymas agaru difuziniu metodu | 54 |
| 4. Rekomendacijų dalis | 56 |
| 4.1. 3-((4-Etoksifenil)amino)- <i>N'</i> -(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (4) gamybos aparatūra ir žaliavos | 56 |
| 4.2. Siūloma 3-((4-etoksifenil)amino)- <i>N'</i> -(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (4) periodinės gamybos schema..... | 57 |
| Išvados | 59 |
| Literatūros sąrašas | 60 |

Santrumpų ir terminų sąrašas

- ^1H BMR – protonų branduolių magnetinis rezonansas;
 ^{13}C BMR – anglies ^{13}C izotopo branduolių magnetinis rezonansas;
ABTS – 2,2-azino-bis-(3-etilbenziazolin-6-sulfonilinės rūgšties) radikalas;
d – dubletas;
DMF – dimetilformamidas;
DMSO – dimetilsulfoksidas;
DPPH – 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalas;
EDTA – etilendiamino-tetraacetatas
EtOH – etanolis;
FRAP – geležies redukcijos antioksidantinė galia;
Hz – hercas;
 IC_{50} – minimali inhibitorinė koncentracija;
IR – infraraudonoji spektroskopija;
LB – mitybinė terpė (angl. Luria Broth);
M – multipletas;
MeOH – metanolis;
m.d. – milijoninės dalys;
mmol – milimolis;
MS – masių spektroskopija;
m/z – masės ir krūvio santykis;
s – singletas;
 T_{lyd} – lydymosi temperatūra (Celsijais);
TPTZ – 2,4,6-tripiridil-s-triazinas;
vir.t. – virimo temperatūra;
 ν – bangos skaičius atvirkštiniais centimetrais (cm^{-1});
 δ – cheminis poslinkis milijoninėmis dalimis.

Įvadas

Hidrazono dariniai labai dažnai naudojami organinėje sintezėje naujų chemiškai aktyvių junginių kūrimui. Preparatų, kurių sudėtyje yra *N-N* fragmentų, biologinio aktyvumo spektras labai platus: jie veikia antibakteriškai, prieuždegimiškai, suriša laisvuosius radikalus [1]. Izatinas dėl savo biologinio aktyvumo labai plačiai naudojamas vaistų chemijoje. Šiam heterocikliniam junginiui būdingas priešgrybelinis, antivirusinis, antibakterinis, antituberkuliozinis aktyvumas [3].

Mokslinėje literatūroje rašoma, jog pagrindinis hidrazono darinių sintezės būdas yra atitinkamų karboksilo arba heterokarboksirūgščių hidrazidų kaitinimas su skirtingais aldehidais arba ketonais įvairiuose organiniuose tirpikliuose, pvz.: etanolyje, metanolyje arba butanolyje [4]. Sintezė gana paprasta, nereikalaujanti brangių medžiagų ir didelių laiko sąnaudų. Susintetintų junginių molekulinę struktūrą galima lengvai patvirtinti šiuolaikiniais junginių identifikavimo metodais.

Šiuo darbu siekiama susintetinti naujus heterociklinius junginius, pasižyminčius geromis antibakterinėmis ir antioksidacinėmis savybėmis.

Darbo tikslas – susintetinti naujus bioaktyvius hidrazono tipo heterociklinius junginius, savo sudėtyje turinčius vieną arba du izatino fragmentus ir ištirti šių darinių biologines savybes.

Darbo tikslui pasiekti buvo suformuluoti šie **uždaviniai**:

1. hidrazidų ir dihidrazidų sąveikoje su izatinu įvykdyti vieną ir du izatino fragmentus turinčių hidrazono junginių sintezę;
2. įrodyti visų naujai susintetintų junginių struktūrą, remiantis spektrų duomenimis;
3. ištirti naujai susintetintų junginių antioksidacinį aktyvumą;
4. atlikti gautų darinių antibakterinio aktyvumo tyrimą;
5. įvertinti susintetintų junginių biologinį aktyvumą, nustatant jų struktūros ir biologinio aktyvumo ryšį.

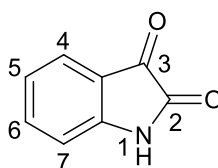
1. Literatūros apžvalga

1.1. Hidrazonų su izatino fragmentu sintezė ir antibakterinis poveikis

Hidrazonai yra molekulės, turinčios labai reaktingą grupę (CO-NH-N=CH) ir dėl to yra laikomi labai tinkamais naujų chemiškai aktyvių junginių, vaistų kūrimui [5]. Pastaruoju metu šie junginiai kelia didelį susidomėjimą medicinos chemijoje dėl plataus biologinių savybių spektro, įskaitant antimikrobinį, analgetinį, priešūždegiminį, anti-tuberkuliozinį aktyvumą [6]. Be to, moksliniais tyrimais nustatyta, kad šie bioaktyvūs dariniai turi priešvėžinių savybių ir netgi veikia prieš žmogaus imunodeficito virusą (ŽIV) [1].

Dažniausiai hidrazono darinių sintezė yra atliekama kaitinant atitinkamus karboksilo arba heterokarboksirūgščių hidrazidus su skirtingais aldehidais arba ketonais įvairiuose organiniuose tirpikliuose, pvz.: etanolyje, metanolyje arba butanolyje [4]. Susintetintų junginių struktūra patvirtinama spektriniais metodais. IR spektruose stebimos trys būdingos smailės. Smailės ties 1550 cm^{-1} nurodo C=N grupės buvimą. Karbonilo grupė (C=O) lemia smailės atsiradimą apie 1650 cm^{-1} , o NH grupė yra apie 3050 cm^{-1} . Hidrazonų ^1H BMR spektruose galima stebėti būdingą singletą ties δ 8–9 m.d. ir dar vieną signalą apie δ 10–13 m.d., jie atitinka =CH ir NH grupes. ^{13}C BMR spektruose =CH grupės signalas paprastai būna ties maždaug δ 145–160 ppm, o diapazone δ 160–170 m.d. galima stebėti karbonilo grupės signalą (C=O) [2].

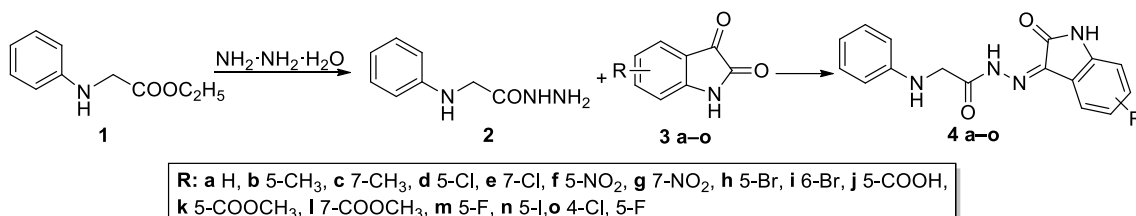
Izatinas (1*H*-indolo-2,3-dionas), oksiduotas indolo darinys pirmą kartą atrastas Erdmanno ir Laurento 1840 m., kaip indigo oksidacijos produktas, naudojant azoto ir chromo rūgštį. Įvairūs izatino dariniai buvo identifikuoti augaluose, grybuose, simbiotinėse bakterijose ir jūrų moliuskuose [7]. Izatinas (žr. 1.1 pav.) yra heterociklinės sistemos junginys, pasižymintis plačiu biologiniu aktyvumu: priešgrybeliniu, antivirusiniu, antibakteriniu, antituberkulioziniu, antimaliariniu, antihelmitiniu ir antiepileptiniu poveikiu. Dėl savo plataus biologinio aktyvumo plačiai naudojamas kaip pagrindas vaistų chemijoje [8]. Dėl keto grupių, esančių 2 ir 3 pozicijose, galimos prijungimo per C=O ryšį ir kondensacijos reakcijos. Taip pat dėl pirminės amino grupės junginiai gali dalyvauti *N*-alilikinimo ir *N*-acilinimo reakcijose. Nustatyta, kad elektronų akceptorinės grupės (nitrilo, nitro, karbonilo) įvedimas į 3, 5, 6, 7 padėtis indolo žiede sustiprina izatino antimikrobines savybes [3].



1.1 pav. Izatino struktūra

Efektyvių ir netoksiškų cheminių medžiagų paieška yra labai svarbi dėl augančio bakterijų atsparumo antibiotikams. Bakterinių infekcijų gydymas yra ypač sudėtingas pacientams, kurių imuninė sistema sutrikusi. Nemažai šiuo metu naudojamų antibakterinių preparatų savo sudėtyje turi *N*-*N* fragmentą. Dėl šios priežasties tikslinga ieškoti naujų antibakterinių medžiagų tarp šių darinių. Mokslininkus vis labiau domina hidrazidų junginiai su izatinu ir stiprios jų biologinės savybės, platus pritaikymas pramonėje ir medicinoje [2].

Mokslinėje literatūroje [9] aprašoma naujų fenilamino–acto rūgšties(2-okso-1,2-dihidroindol-3-iliden)hidrazidų sintezė. Anilinas (0,01 mol) 6 valandas virintas su etilo chloracetatu (0,012 mol) acetone (25 ml) esant bevandeniam kalio karbonatui (0,01 mol), kad būtų gautas etilfenilaminoacetatas **1**. Junginys **1** (0,01 mol) reagavo su hidrazino hidratu (0,02 mol), ištirpintu 25 ml alkoholio ir buvo gautas fenilamino–acto rūgšties hidrazidas **2**. Šis junginys virintas su skirtingais izatinais **3 a–o**, gaunant fenilamino–acto rūgšties (2-okso-1,2-dihidroindol-3-iliden)hidrazidus **4 a–o** (žr. 1.1 schemą).

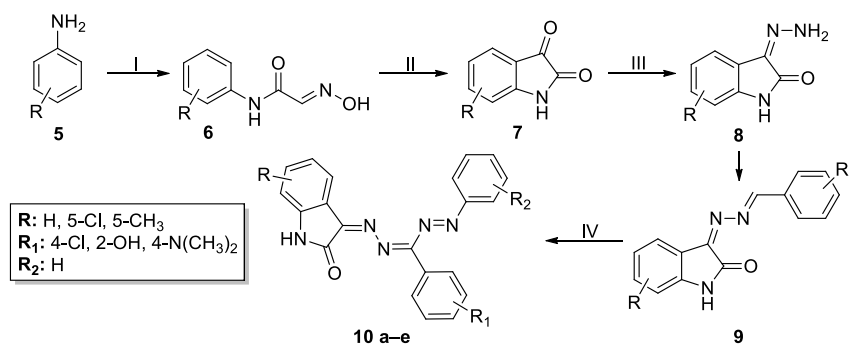


1.1 schema

Vertintas sintetinių junginių antibakterinis aktyvumas prieš *gram*–teigiamas ir *gram*–neigiamas bakterijas bei priešgrybelinis poveikis. Rezultatai buvo lyginami su plataus spektro antibiotiko ampicilino (10 µg/ml) antibakteriniu poveikiu ir klotrimazolo (10 µg/ml) priešgrybeliniu aktyvumu [9].

Tirti junginiai parodė vidutinį antibakterinį aktyvumą. Tarp jų junginiai **4h** ir **4n** buvo santykinai efektyvesni ir aktyvūs prieš visas keturias tirtųjų bakterijų rūšis (*Kl. aeruginosa*, *E. coli*, *B. stercophilus* ir *S. aureus*), inhibavimo zonos 5,44, 1,84, 5,12, 0,96 mm ir 5,68, 3,28, 2,08 bei 1,06 mm atitinkamai. Ištyrus priešgrybelinį poveikį, nustatyta, kad junginiai, turintys 5–I ir 6–Br pakaitus buvo santykinai veiksmingesni prieš dviejų rūšių grybų kamienus (*M. gypseum* ir *A. niger*), vidutinė slopinimo zona siekė 4,3 ir 3 mm [9].

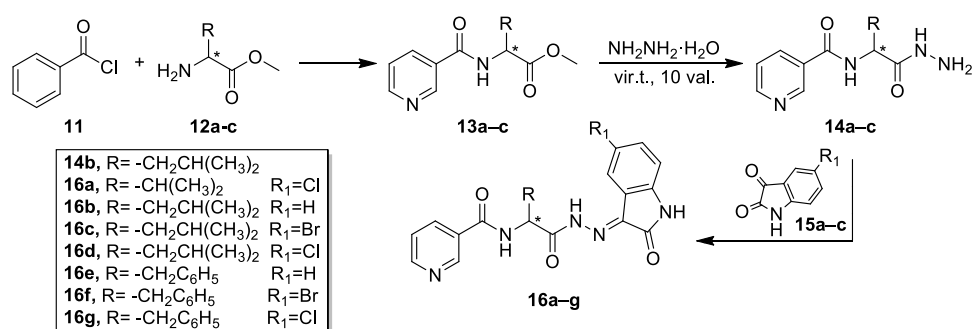
Swarnalatha Katherashala vadovaujama mokslininkų grupė taip pat susintetino naujas izatino Šifo bazes ir tyrė jų antimikrobinį aktyvumą [10]. Nauji junginiai gauti izatino hidrazidui reaguojant su pakeistais aromatiniais aldehidais ir šių Šifo bazių, apdorotų arilo aminu, druskos rūgštimi ir natrio nitritu diazotizacijos reakcija (žr. 1.2 schemą). Sintetinių junginių cheminės struktūros patvirtintos IR, ¹H BMR ir masių spektrometrijos duomenimis.



1.2 schema. I. Na₂SO₄, HONH₂·HCl, C₂H₃Cl₃O₂; II. Konc. H₂(SO₄)₃, 99 % hidrazino hidratas, MeOH; III. Įv. aromatiniai aldehidai, MeOH, 5 lašai acto r.; IV. Anilinas, 10 % NaNO₃, 2N HCl, 10 % NaOH.

Antibakteriniams tyrimams naudoti mikroorganizmai *S.aureus* ir *E.coli*. Priešgrybeliniams tyrimams naudotas mikroorganizmas buvo *C.albicans*. Nustatyta, kad {[4-chlorfenil][(E)-fenildiazenil]metiliden]hidraziniliden}-1,3-dihidro-2*H*-indol-2-onas (**10a**) ir 5-chlor-3-[2-{(4-chlorfenil)[fenildiazenil]metiliden}hidraziniliden]-1,3-dihidro-2*H*-indol-2-onas (**10d**) buvo gana aktyvūs prieš *S.aureus* ir *E.coli* (standartu naudojant norfloksaciną), antibakterinio aktyvumo zonos atitinkamai siekė 23 ir 24 mm bei 22 ir 23 mm. Minėtų junginių priešgrybelinis aktyvumas prieš *C.albicans* buvo didesnis nei **10b**, **10c**, **10e**. Daroma prielaida, kad **10a** ir **10d** tokie aktyvūs dėl chloro grupės savo sudėtyje [10].

Dėl nikotino rūgšties darinių, aminorūgščių, peptidų ir izatino kaip bioaktyvių junginių svarbos Ahmedas M. Naglahas su mokslininkų grupe atliko tyrimą, kurio tikslas yra paruošti naujus antimikrobinus junginius, gebančius įveikti augantį bakterijų prisitaikymą antibakteriniams preparatams. Sintezėje, pasinaudojant aminorūgštimis, kaip tiltu, sujungti du heterocikliniai junginiai (vienas iš jų – izatinas) ir tirtas gautų sintetinių darinių biologinis aktyvumas. Sintezė (žr. 1.3 schemą) vykdyta jungiant nikotinoilchloridą **11** su atitinkamais *L*-aminorūgščių metilesteriais **12a–c**, ko pasekoje gauti atitinkami peptido metilesteriai **13a–c**. **13a–c** esterių reakcijos su 99 % hidrazino hidratu metu gauti hidrazidai **14a–c**. Pastarieji buvo sujungti su izatino dariniais **15a–c** parūgštintoje etanolio terpėje ir apšvitinti 420 vatų mikrobangų spinduliuote (~ 110°C) 5– 10 minučių, kad būtų gautos Šifo bazės **16a–g** [11].



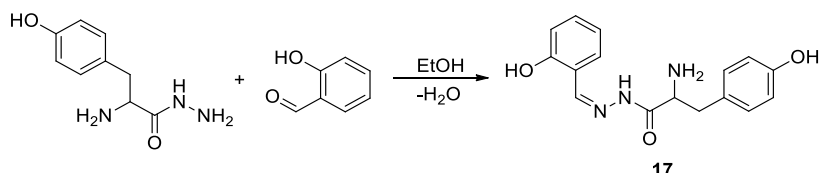
1.3 schema

In vitro susintetintų junginių antimikrobinio aktyvumo tyrimai buvo atlikti prieš *gram*-teigiamas bakterijas (*Bacillus subtilis* ir *Staphylococcus aureus*), *gram*-neigiamas bakterijas (*Escherichia coli*), mieles (*Candida albicans*) ir grybus (*Aspergillus niger*) Dauguma junginių parodė stiprų antimikrobinį aktyvumą, poveikio zonos dydžiai siekė nuo 15 mm (**16g** junginys prieš *S.aureus*) iki 32,13 mm (**16f** junginys prieš *E.coli*). Junginiai **16a**, **16e** ir **16f** parodė stiprų priešgrybelinį poveikį prieš *C. albicans* (inhibitorinės zonos dydžiai atitinkamai siekė 30, 25 ir 25mm). 50 μg/ml koncentracijos **16e** junginys buvo aktyviausias prieš visas tirtų patogenų rūšis [11].

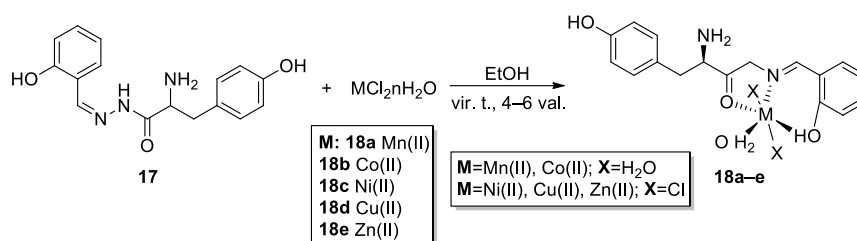
Šifo bazių pereinamųjų metalų kompleksai, gauti iš aminorūgščių hidrazidų, suvaidino svarbų vaidmenį kuriant *bio*-neorganinę chemiją, nes daugelis šių kompleksų, kaip modeliai naudoti biologiškai svarbiems dariniams, pvz. metalo–fermentams [12]. Žinoma, kad šie kompleksai nepakeičiami biologinėje, klinikinėje ir pramoninėje srityse, bei naudojami katalizėje, organinėje sintezėje ir maistų gamyboje [13].

Vienas įdomus Šifo bazių bruožas yra jų sugebėjimas prisijungti neutralia (keto) arba anijonine (imidolio) forma prie metalų jonų, dėl ko susidaro įvairios struktūros. Tai yra viena iš priežasčių, kodėl daugelis Šifo bazių metalų kompleksų yra pripažįstami svarbiais stereocheminiais biomolekulių ir metaloproteinų modeliais [13].

Ph. Pengkiliya Devi su kolegomis susintetino naują junginį – 2-amino-3(4-hidroksifenil)-N-[(2-hidroksifenil)metilen]propanhidrazidą (**17**), ir jo metalų kompleksus (žr. 1.4 ir 1.5 schemas). Siekiant ištirti jų aktyvumą prieš patogenines bakterijas, buvo tiriamos ligando ir kompleksų antibakterinės savybės [14].



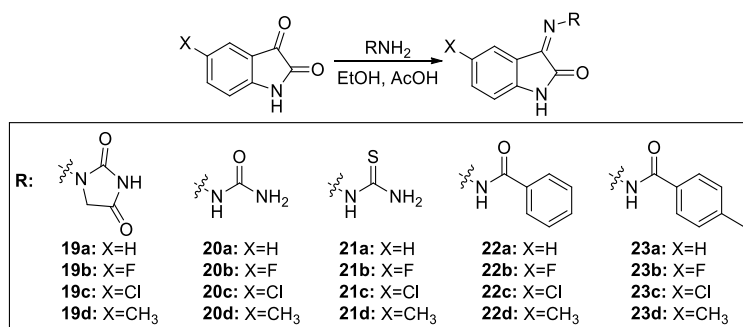
1.4 schema



1.5 schema

Tiek pradinis hidrazidas, tiek ligandas buvo neaktyvūs prieš *Klebsiella pneumonia*, o 800 µg/ml koncentracijos Ni (II) ir Zn (II) kompleksai pasižymėjo geru antibakteriniu aktyvumu prieš šias bakterijas (inhibicijos zonos atitinkamai siekė 11 ir 15 mm), kuris gali būti paaiškintas chelatų teorija. Metalų jonų poliškumo sumažinimas chelatuojant su ligandu padidina kompleksų prasiskverbimą į lipidų membranas ir taip blokuoja bakterijų fermentų susirišimo su metalais vietas [14].

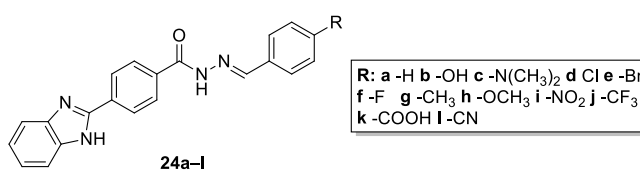
Mokslininkai iš Irano farmacijos mokyklos remdamiesi moksliniais straipsniais apie bioaktyvius izatino darinius, susintetino naujas Šifo bazes 5-pakeistiems izatinams reaguojant su aminais bei hidrazidais (žr. 1.6 schemą). Gautų junginių struktūros buvo patvirtintos spektroskopiniais metodais: BMR, IR ir masių spektrometrija [15].



1.6 schema

Sintetinių darinių antibakterinis aktyvumas buvo vertinamas su *gram*-teigiamų ir *gram*-neigiamų bakterijų padermėmis. Junginiai **20d**, **21b** ir **23c** buvo vieni stipriausių prieš *P. aeruginosa* (minimali inhibitorinė koncentracija = 6,25 µg/ml). Struktūros-aktyvumo santykio analizė parodė, kad (tio)karbamido pagrindą turinčių Šifo bazių įterpimas sintetinant junginius, leidžia gauti medžiagas, pasižyminčias platesniu antibakterinio aktyvumo spektru [15].

Y. Ozkajaus kartu su kitais mokslininkais susintetintų benzimidazolo darinių (žr. 1.2 pav.) *in vitro* tyrimų rezultatai parodė, kad kai kurie iš jų turi gana didelį antimikrobinį poveikį. **24d**, **24f**, **24g** ir **24h** sintetiniai junginiai pasižymėjo du kartus didesniu slopinančiu poveikiu *Salmonella typhimurium* augimui (minimali inhibitorinė koncentracija (MIK) = 6,25 µg/ml) nei chloramfenikolis (MIK = 12,5 µg/ml). Šių junginių aktyvumas prieš kitas *gram*-neigiamas bakterijas, pvz.: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae* ir *Pseudomonas aeruginosa*, buvo vidutinis (MIK = 25–100 µg/ml) [2].



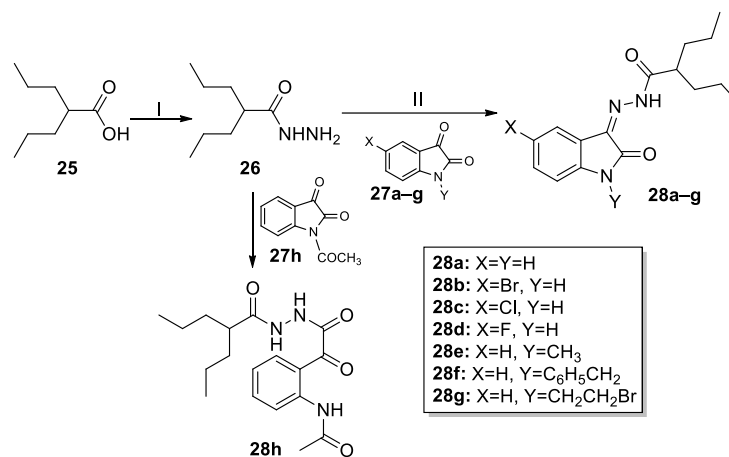
1.2 pav. Naujai susintetinti benzimidazolo junginiai

1.2. Hidrazonų su izatino fragmentu priešvėžinis poveikis ir antioksidacinės savybės

Vėžys yra antra pagrindinė mirties priežastis tiek besivystančiose, tiek išsivysčiusiose šalyse. Pagrindinės šios ligos formos yra plaučių, storosios žarnos, kepenų ir krūties vėžys [16, 17]. Šios ligos gydymas daugelį metų buvo akademinės bendruomenės ir farmacijos pramonės pagrindinis tyrimas. Vienas svarbiausių tikslų kuriant naujus vaistus nuo vėžio yra įveikti vėžio atsparumą vaistams, dėl kurio daugelis šiuo metu naudojamų chemoterapinių medžiagų yra neveiksmingos [18, 19].

N-heterociklai randami vaistų, natūralių produktų, dažų, organinių medžiagų sudėtyje [20]. Per pastaruosius kelerius metus susidomėjimas heteroaromatinių organinių junginių, tokių kaip benzimidazoliai, benzotiazoliai, indolas, akridinas, oksadiazolas, imidazolas, izoksazolas, pirazolas, triazoliai, chinolinai ir chinazolinai, kūrimu vis didėja. Šios *N*-heterociklinės medžiagos slopinančiai veikia skirtingus vėžio navikų tipus, stabdo ląstelių dauginimąsi ir diferenciaciją. Tačiau, nepaisant plataus biologinio aktyvumo spektro, vis dar reikalingi nauji, praktiški ir efektyvūs azoto turinčių heterociklų sintezės metodai, kurie šiandien tampa svarbiu šiuolaikinės organinės sintezės tikslu [21].

Aymanas El-Fahamas su mokslininkų grupe atliko naujų *N'*-(2-oksoindolin-3-ilideno)-2-propilpentano hidrazidų sintezę (žr. 1.7 schemą) ir tyrė jų priešvėžinį aktyvumą. Sintezė vykdėta valproinės rūgšties hidrazido **26** (316 mg, 2 mmol) tirpalą etanolyje (20 ml) sumaišant su etanolio (20 ml) ir ledinės acto rūgšties (2 lašai) tirpale ištirpintais izatino **27a–h** (1 mmol) dariniais. Reakcijos mišinys virintas su grįžtamuju kondensatoriumi 3–4 val. Produktas išsiskyrė atvėsinus, nufiltravus ir perkristalinus iš etanolio ar etilacetato, siekiant gauti *N'*-(2-oksoindolin-3-ilideno)-2-propilpentanohidrazidus **28a–h** [1].

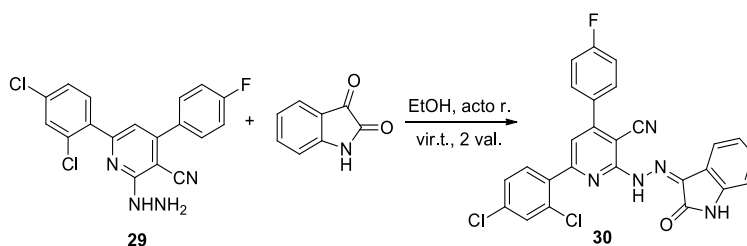


1.7 schema. I. 1) C₂H₅OH/H⁺, vir.t. 12 val. 2) NH₂NH₂/C₂H₅OH, vir.t. 12 val.; II. C₂H₅OH/HOAc, vir.t. 3–4 val.

Šių junginių citotoksiškumas buvo tikrinamas su normaliomis žmogaus embriono inkstų (HEK293) ląstelių linijomis, siekiant įvertinti, ar junginiai yra aktyvūs tik prieš vėžio ląsteles, ar visgi yra toksiški ir įprastoms ląstelėms. Rezultatai parodė, kad junginys **28c** yra toksiškiausias ir trikdo įprastų ląstelių gyvybingumą (HEK293), IC₅₀ 4,77 ± 42,7 μM. Junginiai **27e**, **27f**, **28a** ir **28e** neparodė aktyvumo HEK293 ląstelėse, bet stipriai veikė prieš kepenų vėžio (HepG2) ir leukemijos (*Jurkat*) ląsteles. Tai rodo, kad minėti junginiai yra stiprios ir potencialiai perspektyvios priešvėžinės molekulės [1].

Duomenys parodė, kad vandenilio pakeitimas izatino 1 anglies atomo padėtyje **27a** junginyje į benzilą (**27f**), žymiai padidino aktyvumą prieš pasirinktas dvi ląstelių linijas HepG2 ir *Jurkat*. Valproinės rūgšties fragmento buvimas **28a** darinyje daro šį junginį aktyvesnį prieš *Jurkat* ląsteles *in vitro* [1].

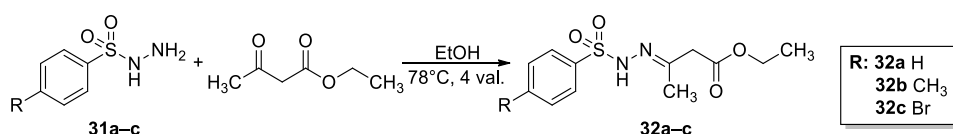
Emano M. Flefelio vadovaujama mokslininkų grupė sintetino ir tyrė naujų, priešvėžiniu aktyvumu pasižymiųjų 1,2-dihidropiridin-3-karbonitrilo ir nikotinnitrilo darinių citotoksiškumą [18]. 2-hidrazin-nikotinnitrilas **29** yra svarbus junginys, palengvinantis įvairių heterociklinių darinių sintezę. Virinant šį junginį su izatinu etanolyje, gautas 6-(2,4-dichlorfenil)-4-(4-fluorofenil)-2-(2-(2-oksoindolin-3-ilideno)hidrazinil)nikotinnitrilas **30** (žr. 1.8 schemą). Šis junginys parodė didelį inhibitorinį aktyvumą prieš įvairias vėžio ląstelių linijas (MCF-7, NCI-H460, SF-268): IC₅₀ vertė vyravo tarp 0,66±0,21 ir 2,34±0,51 μg/ml, ir pasižymėjo silpnu įprastų ląstelių augimo slopinimu (IC₅₀=72,45±2,40 μg/ml).



1.8 schema

Sulfonilhidrazidai naudojami farmakologijoje priešušdegiminių, antidiabetinių bei nuskausminamųjų vaistų gamybai. Sulfonilhidrazidas ir sulfonilo semikarbazido dariniai pasižymi stipriu bakteriostatiniu aktyvumu. Sulfonilhidrazino dariniai, tokie kaip 1,2-bis(metilsulfonil)-1-2(metilamino)karbonilhidrazinas (kloretazinas) taip pat naudojami kaip vėžio chemoterapiniai agentai [22].

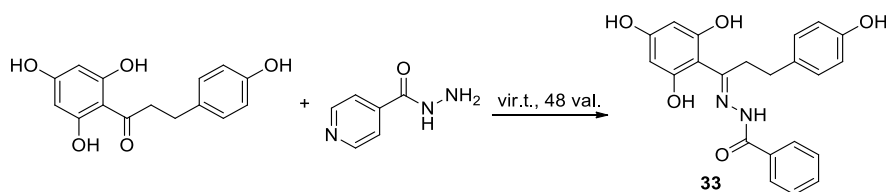
Shahzadas Murtzas su mokslininkų grupe vykdė naujų sulfonilhidrazidų Šifo bazių sintezę (žr. 1.9 schemą) ir biologinių savybių tyrimus [23]. Stechiometriniai etilo acetoacetato ir sulfonilhidrazidų (**31a–c**) kiekiai ištirpinti etanolyje (10 ml). Reagentų mišinys virintas su grįžtamuju kondensatoriumi 4 valandas 78 °C temperatūroje, po to sumažintame slėgyje pašalintas tirpiklis. Gautas baltas, kietos kristalinės būsenos produktas, kurį praplovus distiliuotu vandeniu ir perkristalinus iš etanolio gauti bespalviai sulfonilhidrazido Šifo bazių junginiai (**32a–c**).



1.9 schema

Antioksidacinis junginių aktyvumas tirtas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazido) metodu. Nustatyta, kad **32c** hidrazidas DPPH radikalą slopino net 89 %, o **32b** – 68 % [23].

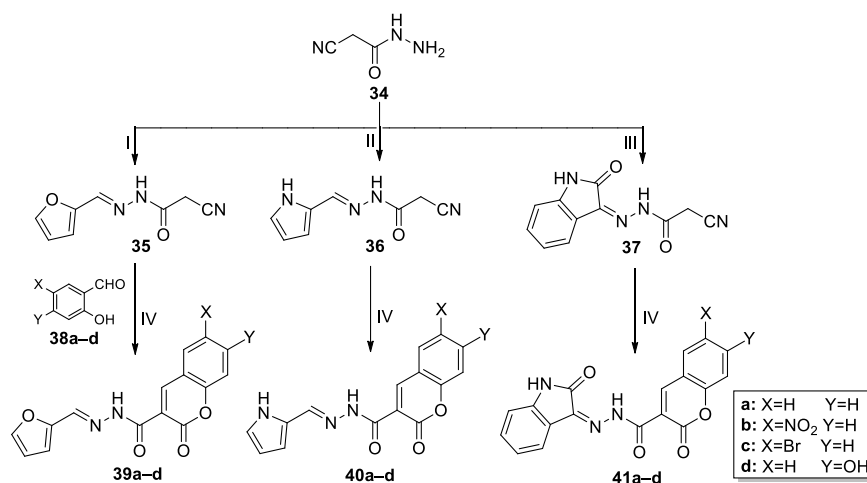
Floretinas, kurio molekulinė formulė – C₁₅H₁₄O₅, yra flavanoidas, turintis naudingų priešvėžinių ir antioksidacinių savybių, ir gaunamas iš įvairių rūšių obuolių. Floretinas gali išblukinti melaniną, taip išbalindamas odą, jo poveikis yra didesnis nei kojinės rūgšties ir arbutino. Be to, floretinas dabar dažnai naudojamas kaip balinimo agentas kosmetikos gaminiuose [24]. Floretino izonikotinilo hidrazonas **33** – tai literatūroje [25] aprašomas Kinijos mokslininkų naujai susintetintas junginys (žr. 1.10 schemą), kurio antioksidacinis aktyvumas didesnis nei floretino.



1.10 schema

Ai-Ren Zuo su mokslininkų grupe vykdė floretino darinių biologinius tyrimus. Atlikus floretino izonikotinilo hidrazono **33** DPPH ir ABTS tyrimus nustatyta, kad 10 μmol/L koncentracijos junginys slopina DPPH radikalą net 76%, o 19 μmol/L koncentracijos floretino izonikotinilo hidrazonas slopino ABTS radikalą net 95 % [25].

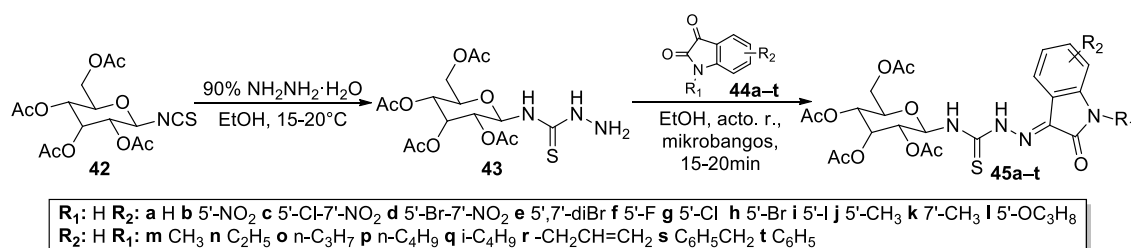
Tamero Nasro vadovaujama mokslininkų grupė susintetino naujus kumarino hidrazonus (žr. 1.11 schemą) ir ištyrė jų priešvėžinį aktyvumą. Sintetiniams junginiams **39–41a–d** gauti 2-hidroksibenzaldehydai **38a–d** etanolyje su kataliziniu kiekiu piperidino Knoevenagelio kondensacijos metu reagavo su 2-cianoacetohidrazonais **35–37**. Gautų junginių **39–41a–d** struktūros patvirtintos remiantis spektrais (IR, ¹H NMR, ¹³C NMR ir MS) ir elementine analize [21].



1.11 schema. I. Furano-2-karbaldehydas, EtOH, acto r., vir.t., 15 min.; II. 1*H*-pirolo-2-karbaldehydas, EtOH, acto r., vir.t., 30 min.; III. Izatinas, EtOH, acto r., vir.t., 30 min.; IV. Atitinkamas junginys 38a–d, EtOH, piperidinas, vir.t. 6 val.

Gauti produktai buvo tirti *in vitro* dėl citotoksinio aktyvumo ir trijų skirtingų navikų augimo slopinimo: Panc–1, Hep–G2 ir CCRF. Palyginimui naudotas priešvėžinis preparatas doksorubicinas. Tirtų junginių citotoksinis aktyvumas buvo išreikštas IC₅₀ μM. Tyrimo rezultatai parodė, kad **39c** ir **41c** sintetiniai junginiai turėjo didžiausią citotoksiškumo laipsnį prieš Panc–1 ląstelių liniją (IC₅₀ reikšmės atitinkamai lygios 2,02 ir 2,15 μM). Jie buvo tris kartus aktyvesni nei doksorubicinas (IC₅₀ = 6,90 μM). Taip pat gauti rezultatai parodė, kad visi naujai susintetinti kumarino hidrazonai slopino visų vėžį sukeliančių ląstelių linijų navikų augimą, nepriklausomai nuo naviko tipo. Todėl galima teigti, kad kumarino hidrazono struktūra yra stiprus farmakoforas, tinkamas kuriant naujus vaistus nuo vėžio. Šio tyrimo metu stipriausi junginiai buvo **39c**, **40c** ir **41c**. Tai galima paaiškinti bromo atomo elektroneigiamu poveikiu kumarino hidrazono pagrindui [21].

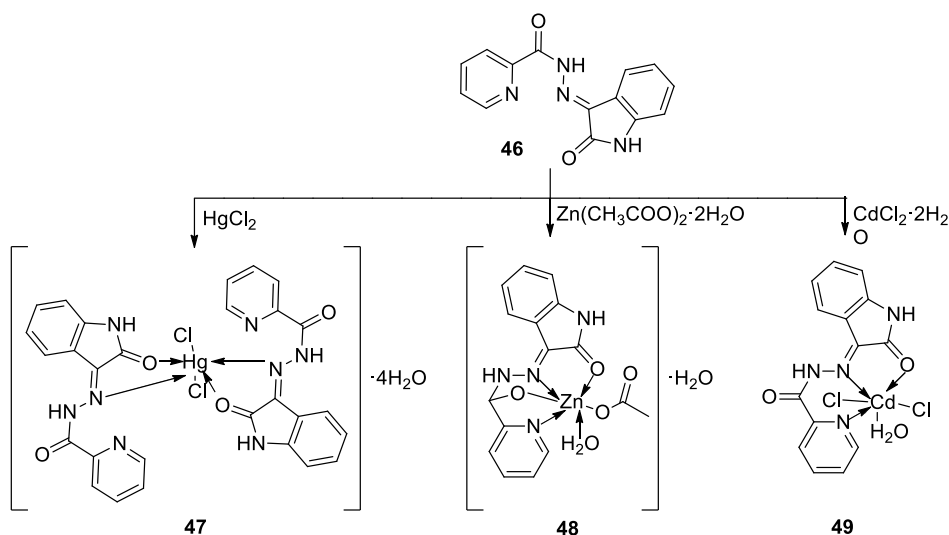
Tiosemikarbazono junginiai, turintys izatino fragmentą, pasižymi plačiu biologiniu poveikiu: antivirusiniu, antibakteriniu, priešvėžiniu. Pavyzdžiui, metisazonas minimas kaip vienas iš pirmųjų kliniškai naudojamų sintetinių antivirusinių medžiagų raupų gydymui [26]. Nguyenas Dinh Thanhas su kolegomis mokslininkais susintetino naujus tiosemikarbazonus (žr. 1.12 schemą), turinčius monosacharidų ir izatino funkcines grupes ir tyrė jų antioksidacinį aktyvumą *in vivo* [27].



1.12 schema

Palyginimui naudotas preparatas – resveratrolis. Nustatyta, kad šie tiosemikarbazonai ir resveratrolis, vartojant 100 mg/kg sausosios medžiagos ekvivalento doze septynias dienas iš eilės CCl₄ apnuodytose žiurkėse, žymiai padidina laisvuosius radikalus surišančių fermentų (superoksido dismutazės (SOD), katalazės ir glutationo peroksidazės) aktyvumą. Tiosemikarbazonai **45c–i** ir **45m–t** sukėlė didžiulį SOD aktyvumo padidėjimą, reikšmės siekė nuo 8,45 vieneto/mg baltymo iki 10,89 vieneto/mg baltymo. **45e** junginys buvo geriausias tiek antibakterinių, tiek antioksidacinių ir priešgrybelinių savybių tyrimuose [27].

Mokslinėje literatūroje [28] teigiama, kad koordinacinių ryšių sudarymas hidrazonų kompleksuose priklauso nuo pakaitų pobūdžio ir imino grupės padėties. Be to, NH grupės deprotonizavimas lemia tautomerinių anijoninių darinių, turinčių naujas koordinacines savybes, susidarymą. Mokslininkai, remdamiesi aukščiau paminėtais teiginiais įrodė, kad pikolino rūgšties hidrazido ir izatino kondensacijos metu galima gauti hidrazonus, kuriuos jungiant su Zn(II), Cd(II) ir Hg(II), gaunami biologiškai aktyvūs kompleksai (žr. 1.13 schemą). Buvo tirtas sintetinių kompleksų DPPH antioksidacinis aktyvumas ir citotoksinis poveikis prieš MCF7 krūtų vėžio ląstelių liniją [29].



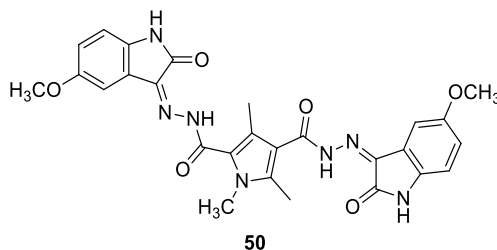
1.13 schema

Atlikus biologinius tyrimus, nustatyta, kad Hg(II) komplekso (**47**) antioksidacinio aktyvumo IC₅₀ reikšmė buvo didžiausia iš visų ir siekė 0,536 mg/ml. Zn(II) ir Cd(II) kompleksų aktyvumas buvo vidutiniškas: IC₅₀ atitinkamai 0,680 ir 0,982 mg/ml [29].

In vitro citotoksiškumo tyrimai buvo atlikti naudojant kolorimetrinį tyrimą (MTT), kuris matuoja mitochondrijų dehidrogenazės aktyvumą kaip ląstelių gyvybingumo indikaciją. Taip pat buvo tiriamas plačiai vartojamo vaisto nuo vėžio 5–fluorouracilo poveikis. IC₅₀ vertės buvo apskaičiuotos iš grafiko, sudaryto iš ląstelių gyvybingumo duomenų ir koncentracijos reikšmių. Visi junginiai pasižymėjo plačiu aktyvumo diapazonu, IC₅₀ svyravo nuo 5,6 iki 8,9 μg/ml (5–fluorouracilo IC₅₀ reikšmė – 4,10 μg/ml). Remiantis šiais rezultatais, galima daryti išvadą, kad visi junginiai veikia prieš navikus, nesukeldami didelės žalos normalioms ląstelėms [29].

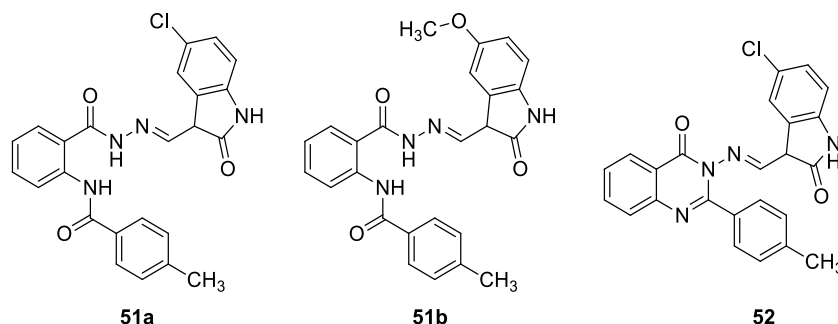
Moksliškai įrodyta, kad dauguma bis-izatinų ir izatino hidrazonų pasižymi antiproliferaciniu poveikiu (kraujagyslių ir miokardo hipertrofijos bei ekstraląstelinio matriksa proliferacijos slopinimu) įvairioms vėžio ląstelių linijoms [30]. Hany S. Ibrahim su mokslininkų grupe sintetino

naujus bis-izatino hidrazonus ir tyrė jų biologinį aktyvumą. Buvo vertinamas junginių citotoksinis poveikis prieš HepG2, MCF-7 ir HCT-116 vėžio ląstelių linijas. **50** junginys (žr. 1.3 pav.) pasireiškė stipriu poveikiu prieš MCF-7 krūtų vėžio ląsteles ($IC_{50} = 1,84 \mu M$) ir HCT-116 storosios žarnos vėžio ląsteles ($IC_{50} = 3,31 \mu M$), kuris viršijo standarto doksorubicino aktyvumą abiejose ląstelių linijose (MCF-7 $IC_{50} = 2,57 \mu M$ ir HCT-116 $IC_{50} = 3,70 \mu M$) [31].



1.3 pav. Naujai susintetino bis-izatino hidrazono **50** struktūra

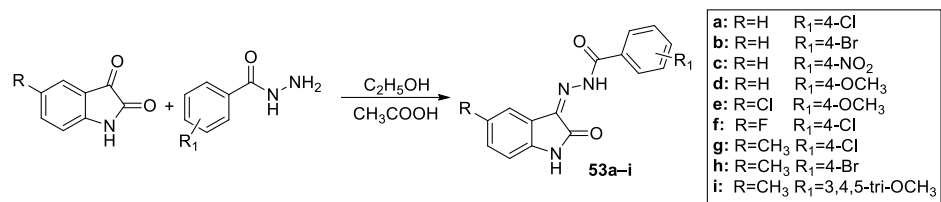
A.M. Alafeefis su mokslininkų grupe susintetino naujus chinazolino-indolo hybridus (žr. 1.4 pav.), atlikdami atitinkamų benzamidų intramolekulinę kondensacijos reakciją. Atlikus sintetinių junginių priešvėžinius tyrimus, nustatyti trys prieš Daoy (nervų sistemos vėžio ląstelės) ląstelių liniją geriausiai veikiantys junginiai: **51a** ($IC_{50} = 1,86 \mu g/ml$), **51b** ($IC_{50} = 4,42 \mu g/ml$) ir **52** ($IC_{50} = 1,46 \mu g/ml$). *P*-tolilo grupės buvimas chinazolino žiede ir metoksi- arba chloro funkcinės grupės, prijungtos prie izatino fragmento (**51a** ir **51b**), sustiprino priešvėžinį junginių aktyvumą, kai tuo tarpu hybridas su tiofeno funkcinė grupe chinazolino žiede (**52**) pasirodė esantis mažiau stiprus [32].



1.4 pav. Priešvėžinėmis savybėmis pasižyminčių chinazolino-indolo hybridų struktūra

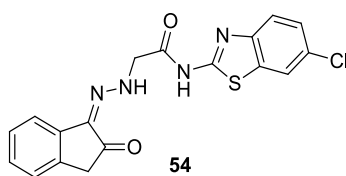
Molekulinė hybridizacija, apimanti dviejų arba daugiau bioaktyvių junginių farmakoforų derinimą, siekiant sukurti vieną molekulinę struktūrą su pagerintomis biologinėmis savybėmis, tapo perspektyvia strategija pastarojo meto tyrimuose. Hybridiniai vaistai nuo vėžio gali įveikti daugumą trūkumų, su kuriais susiduriama naudojant įprastinius vaistus nuo vėžio [33].

Arpitas Katiyaras su kolegomis paruošė naujus izatino hidrazonus (žr. 1.14 schemą) ir įvertino jų citotoksiškumą žmogaus vėžio ląstelėms. Tyrimo duomenys patvirtino, kad elektronų akceptorinės grupės (halogenų arba nitro-) izatino ar fenilo žiede neturėjo didelės įtakos priešvėžinėms junginių savybėms, o tuo tarpu elektronų donorinės grupės (metil- arba metoksi-) padidina citotoksinį poveikį. Junginys **53i**, turintis metil- grupę izatino žiede, ir tris metoksi- grupes fenilo žiede pasireiškė kaip puikus inhibitorius prieš visas tirtas naviko ląstelių linijas ir citotoksiškai veikė leukemijos REH ($IC_{50} = 0,5 \mu M$) ir K562 ($IC_{50} = 2 \mu M$) ląsteles [34].



1.14 schema

Mokslininkų iš Egipto susintetinti benzotiazolo ir pirimido[2,1-b]benzotiazolo dariniai, turintys 3-hidrazinoindolin-2-ono fragmentą, buvo tiriami dėl citotoksinio aktyvumo su 60 skirtingų ląstelių linijų. **54** junginio (žr. 1.5 pav.) inhibitorinis aktyvumas auglių vystymuisi buvo didžiausias. Šio sintetinio junginio augimo slopinimo reikšmės prieš SR (kraujo), NCI-H522 (plaučių) ir MDA-MB-468 (krūties) vėžio ląstelių linijas atitinkamai siekė 26,6, 27,5 ir 38,1 % [35].



1.5 pav. 54 junginio struktūrinė formulė

1.3. Literatūros apžvalgos išvados

Platus heterociklinių junginių aktyvumo spektras leidžia juos taikyti įvairiose srityse: tiek chemijoje, tiek medicinoje. Hidrazonai ir izatino dariniai turi stiprias antibakterines, priešūždegimines, priešgrybelines savybes, kurios dar labiau sustiprėja šias struktūras sujungus į vieną. [8]. Nemažai šiuo metu naudojamų komercinių antibakterinių preparatų savo sudėtyje turi *N*–*N* fragmentą. Per pastaruosius kelerius metus susidomėjimas heteroaromatinių organinių junginių, tokių kaip benzimidazoliai, benzotiazoliai, indolas, akridinas, oksadiazolas, imidazolas, izoksazolas, pirazolas, triazolai, chinolinai ir chinazolinai, kūrimu vis didėja. Šios *N*–heterociklinės medžiagos slopinančiai veikia skirtingus vėžio navikų tipus, stabdo ląstelių dauginimąsi ir diferenciaciją. Tačiau, nepaisant plataus biologinio aktyvumo spektro, vis dar reikalingi nauji, praktiški ir efektyvūs azoto turinčių heterociklų sintezės metodai, kurie šiandien tampa svarbiu šiuolaikinės organinės sintezės tikslu [21].

Naujausių tyrimų duomenys įrodo, kad organiniai heterocikliniai junginiai pasižymi stipriomis biologinėmis savybėmis, tačiau reikalinga sintetinti ir analizuoti naujus hidrazonus su izatino fragmentu, kurie būtų maksimaliai aktyvūs ir nesukeltų didelio šalutinio efekto vartotojams.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Naujų hidrazidų su izatino fragmentu sintezės metodika

Junginių sintezė ir struktūros analizė atlikta naudojant KTU, Cheminės technologijos fakultete, organinės chemijos katedroje esančią aparatūrą.

Reakcijų baigtis ir produktų grynumas buvo tikrinami plonasluoksnės chromatografijos būdu, naudojant Silica Gel 60F–254 plokšteles (E. Merck). Junginiai stebėti UV lempos šviesoje (254 nm). Lydymosi temperatūros (T_{lyd}) nustatytos MEL-TEMP prietaisu. Produktų struktūros patvirtintos IR, ^1H BMR, ^{13}C BMR spektroskopiniais ir masių spektrometriniais duomenimis. Infraraudonieji spektrai (IR) užrašyti Perkin–Elmer Spectrum BX FT–IR spektrometru, mėginiai paruošti su KBr ir supresuoti į tabletes. ^1H , ^{13}C branduolių magnetinio rezonanso (BMR) spektrai užrašyti Bruker Avance III (400 MHz BMR ^1H , 101 MHz BMR ^{13}C) prietaisu, naudojant DMSO- d_6 tirpiklį. Cheminiai poslinkiai išreikšti milijoninėmis dalimis (m.d.). Vidiniu standartu naudotas TMS (0 m.d.). Masių spektrai (MS) užrašyti Bruker maXis UHR-TOF (ESI+ jonizacija) prietaisu.

2.1 lentelė. Sintezės metu naudoti reagentai, jų gamintojai ar platintojai

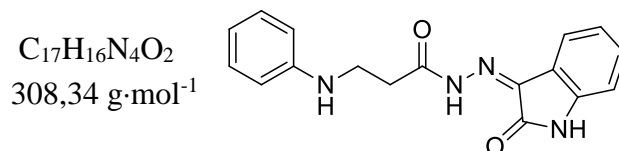
| Medžiagos pavadinimas | Gamintojas/platintojas |
|-----------------------|------------------------|
| Metanolis | UAB „Eurochemicals“ |
| Izatinas | „Sigma Aldrich“ |
| Dimetilformamidas | „PENTA“ |
| Acto rūgštis | UAB „Eurochemicals“ |

Pradiniai junginiai – hidrazidai ir dihidrazidai – buvo susintetinti KTU, organinės chemijos katedroje [36].

Bendrasis propanhidrazidų 1–6 ir 12 sintezės būdas:

Atitinkamų hidrazidų 5 mmol ištirpinti 25 ml metanolio. Į tirpalą pridėta 6 mmol izatino ir įlašinti 5 lašai ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdyta 15–20 min 65 °C temperatūroje. Reakcijos baigtis nustatyta plonasluoksnės chromatografijos būdu. Susidarę kristalai nufiltruoti, perplaunant metanoliumi, gryninti iš DMF ir H₂O mišinio.

N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(fenilamino)propanhidrazidas (1)



Sintetintas iš 3-(fenilamino)propanhidrazido (0,89 g). Išeiga 1,05 g (68,18 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 206–208 °C.

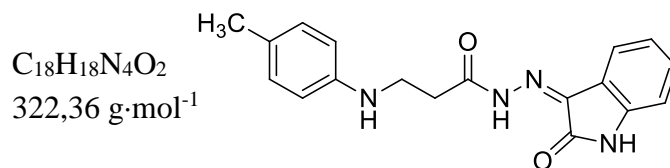
^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 2,63–3,11 (m, 2H, $\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$), 3,37 (t, 2H, $J=6$ Hz, $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 5,69 (s, 1H, $\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 6,35–7,47 (m, 9H, H_{Ar}), 10,78 (s, 1H, $\underline{\text{NHN}}$), 11,12 (s, 1H, $\underline{\text{NHCO}}$).

^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 34,23 ($\underline{\text{CH}_2\text{CO}}$), 38,38 ($\underline{\text{CH}_2\text{NH}}$), 110,56, 112,24, 115,30, 115,90, 121,63, 126,02, 128,98, 132,43, 143,65, 148,49 (C_{Ar}), 164,67, 170,35 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1695, 1728 (C=O), 3258, 3355, 3447 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 309,4301 [$\text{M}+\text{H}$]⁺.

***N'*-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (2)**



Sintetintas iš 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (0,97 g). Išeiga 1,54 g (95,65 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 215–216 °C.

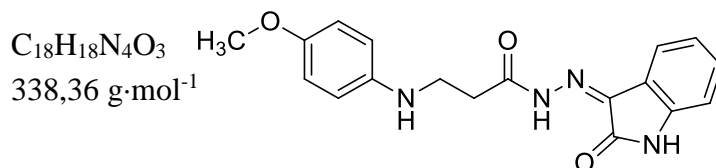
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,15 (s, 3H, CH₃), 2,60-3,08 (m, 1,5H, CH₂CO), 3,35–3,42 (m, 2,5H, CH₂CO+CH₂NH), 5,46 (s, 1H, CH₂NH), 6,47–7,57 (m, 8H, H_{Ar}), 10,77 (s, 0,3H, izatino NH), 11,11 (s, 0,3H, NHCO), 11,23 (s, 0,7H, izatino NH), 12,54, 12,97 (2s, 0,7H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 20,08 (CH₃), 31,16 (CH₂CO), 38,62 (CH₂NH), 110,54, 111,10, 112,29, 115,28, 120,38, 121,62, 122,51, 124,22, 126,00, 129,38, 131,38, 133,92, 142,30, 143,63, 146,19 (C_{Ar}), 162,47, 173,84 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1694, 1728 (C=O), 3132, 3244, 3356 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 323,3922 [M+H]⁺.

3-((4-Metoksifenil) amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (3)



Sintetintas iš 3-((4-metoksifenil)amino)propanhidrazido (1,05 g). Išeiga 1,01 g (59,76 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 203–204 °C.

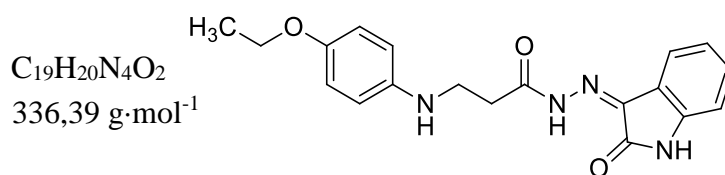
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d. : 2,72–3,13 (m, 2H, CH₂CO), 3,33 (t, 2H, *J*=6,6 Hz, CH₂NH), 3,64 (s, 3H, CH₃O), 5,29 (s, 1H, CH₂NH), 6,34–7,66 (m, 8H, H_{Ar}), 10,78 (s, 1H, NHN), 11,14 (s, 1H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 31,75 (CH₂CO), 40,19 (CH₂NH), 55,30 (CH₃O), 110,56, 113,47, 114,68, 115,29, 121,63, 125,99, 130,16, 132,41, 142,65, 143,64, 150,95 (C_{Ar}), 164,66, 173,40 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1694, 1728 (C=O), 3262, 3342, 3389 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 339,3710 [M+H]⁺.

3-((4-Etoksifenil) amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas
(*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (4)



Sintetintas iš 3-((4-etoksifenil)amino)propanhidrazido (1,12 g). Išeiga 0,97 g (57,74 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 207–209 °C.

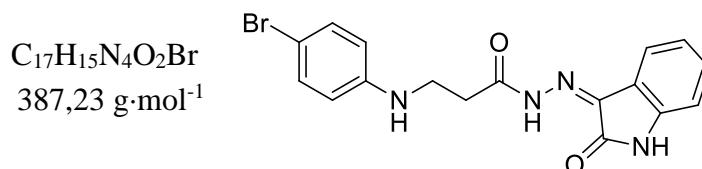
^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 1,26 (t, 3H, $J=6,9$ Hz, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 2,70–3,08 (m, 2H, CH_2CO), 3,35 (t, 2H, $J=8$ Hz, CH_2NH), 3,79–3,94 (m, 2H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 5,26 (s, 1H, CH_2NH), 6,41–7,71 (m, 8H, H_{Ar}), 10,78 (s, 0,7H, izatino NH), 11,14 (s, 0,7H, NHCO), 11,23 (s, 0,3H, izatino NH), 12,54, 12,97 (2s, 0,3H, NHCO).

^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 14,88 ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$), 31,17 (CH_2CO), 40,19 (CH_2NH), 63,31 ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 110,56, 111,11, 113,28, 115,29, 115,46, 121,62, 122,53, 125,98, 129,42, 131,41, 132,43, 142,30, 142,66, 143,64, 150,04 (C_{Ar}), 162,48, 173,93 (C=O).

IR (KBr), ν (cm^{-1}): 1695, 1728 (C=O), 3156, 3267, 3341 (N–H).

HRMS (ESI), m/z : 337,4060 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

3-((4-Bromfenil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (5)



Sintetintas iš 3-((4-bromfenil)amino)propanhidrazido (1,29 g). Išeiga 1,41 g (73,44 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 218–219 °C.

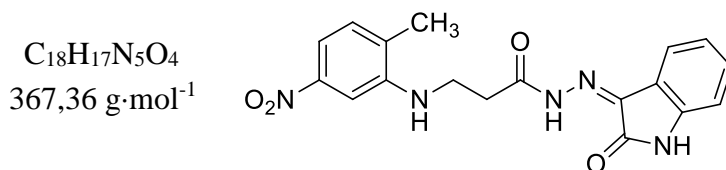
^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 2,70–3,12 (m, 2H, CH_2CO), 3,35 (m, 2H, CH_2NH), 5,97 (s, 1H, CH_2NH), 6,33–7,67 (m, 8H, H_{Ar}), 10,78 (s, 1H, NHN), 11,12 (s, 1H, NHCO).

^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6) δ , m.d.: 32,27 (CH_2CO), 38,41 (CH_2NH), 106,37, 110,56, 114,10, 115,28, 121,63, 126,08, 131,46, 132,42, 143,66, 147,74 (C_{Ar}), 164,64, 175,51 (C=O).

IR (KBr), ν (cm^{-1}): 1695, 1726 (C=O), 3136, 3257, 3356 (N–H).

HRMS (ESI), m/z : 388,2382 [$\text{M}+\text{H}$] $^+$.

3-((2-Metil-5-nitrofenil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (E/Z izomerų mišinys, 70/30) (6)



Sintetintas iš 3-((2-metil-5-nitrofenil)amino)propanhidrazido (1,2 g). Išeiga 1,93 g (94,82 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 204–206 °C.

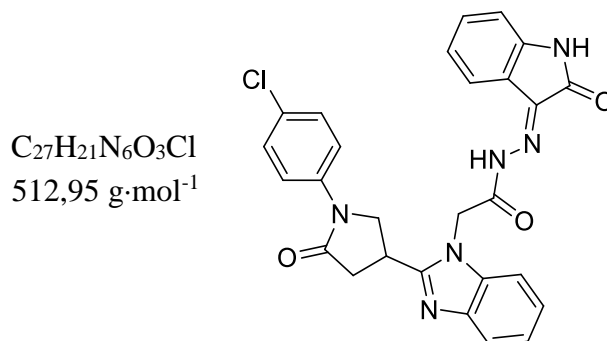
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,16 (s, 3H, CH₃), 2,95–3,21 (m, 2H, CH₂CO), 3,54 (m, 2H, CH₂NH), 5,66 (s, 1H, CH₂NH), 6,88–7,36 (m, 7H, H_{Ar}), 10,77 (s, 0,7H, izatino NH), 11,13 (s, 0,7H, NHCO), 11,23 (s, 0,3H, izatino NH), 12,57, 12,95 (2s, 0,3H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 17,88 (CH₃), 38,49 (CH₂CO), 40,19 (CH₂NH), 102,26, 110,57, 111,11, 115,28, 121,62, 126,08, 130,22, 130,38, 132,46, 142,31 143,67, 147,05, 147,23 (C_{Ar}), 162,96, 165,10 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1699, 1729 (C=O), 3160, 3191, 3419 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 368,4001 [M+H]⁺.

2-(2-(1-(4-Chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)acetohidrazidas (E/Z izomerų mišinys, 70/30) (12)



Sintetintas iš 2-(2-(1-(4-chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)acetohidrazido (1,92 g). Išeiga 1,40 g (54,69 %), oranžiniai kristalai. Lyd. t. 216–217 °C.

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,70–3,09 (m, 2H, COCH₂CH), 3,33 (s, 2H, NCH₂CO), 3,86–3,91 (m, 2H, NCH₂CH), 5,28 (s, 1H, CH), 6,51–7,77 (m, 12H, H_{Ar}), 10,77 (s, 0,7H, izatino NH), 11,14 (s, 0,7H, NHCO), 11,24 (s, 0,3H, izatino NH), 12,55, 12,77 (2s, 0,3H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 14,88 (CH), 39,98 (CH₂CO), 43,14 (NCOCH₂), 63,30 (NCH₂CH), 110,55, 113,41, 115,28, 115,45, 119,87, 120,93, 121,62, 125,98, 128,59, 132,4, 132,45, 136,22, 137,33, 142,61, 143,63 (C_{Ar}), 164,69, 167,61, 170,08 (C=O).

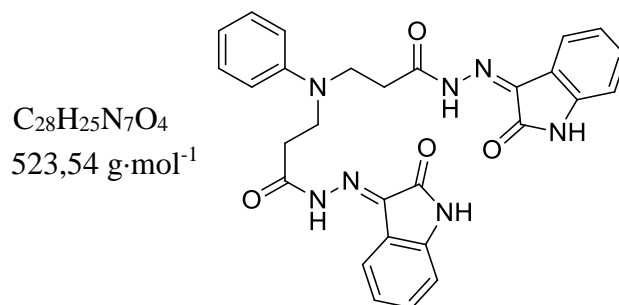
IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1616, 1695, 1727 (C=O), 3269, 3340 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 513,9574 [M+H]⁺.

Bendrasis propanhidrazidų 7-11 ir 13, 14 sintezės būdas:

Atitinkamų hidrazidų 5 mmol ištirpinti 25 ml metanolio, **14** junginio sintezei pradinis hidrazidas tirpintas 10 ml DMSO. Į tirpalus pridėta 12 mmol izatino ir įlašinti 5 lašai ledinės acto rūgšties. Reakcija vykdyta 15 min 65 °C temperatūroje. Reakcijos baigtis nustatyta plonasluoksnės chromatografijos būdu. Susidarę kristalai nufiltruoti, perplaunant metanoliu, gryninti iš DMF ir H₂O mišinio.

3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(fenil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (**7**)



Sintetintas iš 3,3'-(fenilimino)bispropanhidrazido (1,33 g). Išeiga 1,57 g (59,92 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 190–192 °C.

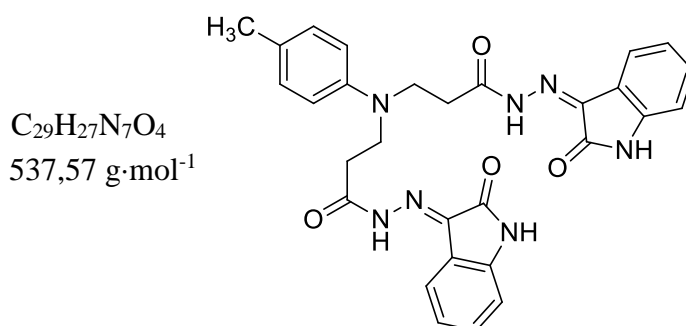
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,32 (t, 1,5H, *J*=6,0 Hz, CH₂CO), 3,28–3,78 (m, 6,5H, CH₂CO+CH₂N), 6,55–7,41 (m, 13H, H_{Ar}), 9,06 (s, 0,6H, izatino NH), 10,76, 10,79 (d, 1,4H, *J*=8,8 Hz, izatino NH), 11,09, 11,21 (2s, 1,4H, NHCO), 12,54, 12,93 (2s, 0,6H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 31,61 (CH₂CO), 46,95 (CH₂N), 110,56, 111,05, 111,94, 115,28, 115,79, 121,66, 122,45, 126,10, 129,29, 132,47, 142,32, 143,67, 146,89 (C_{Ar}), 164,66, 169,99 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1694, 1730 (C=O), 3213, 3305 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 524,5524 [M+H]⁺.

3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(*p*-tolil)amino)-*N*'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (8)



Sintetintas iš 3,3'-[(4-metilfenil)imino]bispropanhidrazido (1,40 g). Išeiga 1,36 g (50,56 %), oranžiniai kristalai. Lyd. t. 180–181 °C.

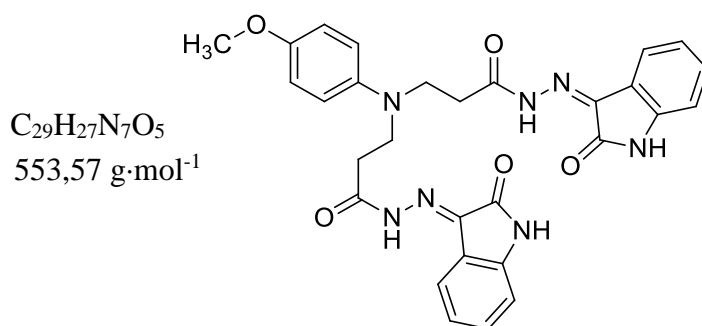
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,17 (s, 3H, CH₃), 2,30 (t, 1,2H, *J*=7,0 Hz, CH₂CO), 2,70–3,08 (m, 2,8H, CH₂CO), 3,47–3,75 (m, 4H, CH₂N), 6,50–8,19 (m, 12H, H_{Ar}), 9,05 (s, 0,6H, izatino NH), 10,76, 10,78 (d, 1,4H, *J*=8,8 Hz, izatino NH), 11,09, 11,21 (2s, 1,4H, NHCO), 12,52, 12,92 (2s, 0,6H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 19,92 (CH₃), 31,66 (CH₂CO), 47,18 (CH₂N), 110,56, 112,39, 115,29, 121,63, 126,12, 129,75, 129,86, 132,43, 142,33, 143,68, 144,74, 144,83 (C_{Ar}), 162,45, 164,66 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1689, 1728 (C=O), 3176, 3212 (N–H).

HRMS (ESI), *m/z*: 538,5778 [M+H]⁺.

3-((4-Metoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (9)



Sintetintas iš 3,3'-[(4-metoksifenil)imino]bispropanhidrazido (1,48 g). Išeiga 1,88 g (67,87 %), oranžiniai kristalai. Lyd. t. 172–173 °C.

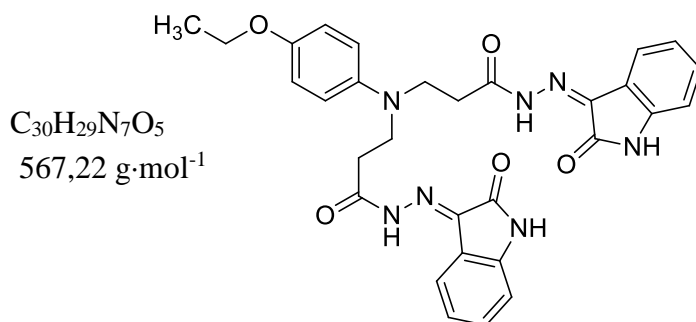
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,73–3,66 (m, 11H, CH₂CO+CH₂N+CH₃O), 6,53–7,63 (m, 12H, H_{Ar}), 9,04, 9,78 (2s, 0,6H, izatino NH), 10,77 (s, 1,4H, izatino NH), 11,06, 11,20 (2s, 1,4H, NHCO), 12,51, 12,93 (2s, 0,6H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 39,98, 40,19 (CH₂CO) 46,97, 47,75 (CH₂N), 55,27, 55,30 (CH₃O), 110,54, 111,06, 114,86, 114,95, 115,28, 121,62, 126,10, 132,43, 141,39, 142,30, 143,66, 150,69, 151,17 C_{Ar}), 162,44, 164,56, 170,13, 172,94 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1692, 1723 (C=O), 3225, 3429 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 554,6011 [M+H]⁺.

3-((4-Etoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (10)



Sintetintas iš 3,3'-[(4-etoksifenil)imino]bispropanhidrazido (1,7 g). Išeiga 0,27 g (43,55 %), oranžiniai kristalai. Lyd. t. 178–180 °C.

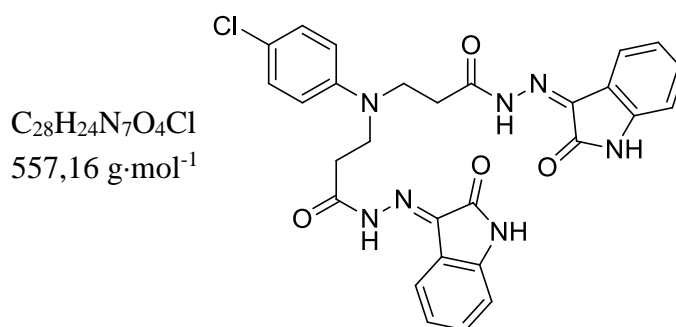
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 1,28 (t, 3H, *J*=6,0 Hz, CH₃CH₂O), 2,28 (t, 1H, *J*=6,0 Hz, CH₂CO), 2,66–3,09 (m, 3H, CH₂CO), 3,46–3,58 (m, 1H, CH₂N), 3,63 (t, 3H, *J*=6,0 Hz, CH₂N), 3,90 (kv, 2H, *J*=10 Hz, CH₃CH₂O), 6,49-8,23 (m, 12H, H_{Ar}), 9,03 (s, 0,6H, izatino NH), 10,77 (2s, 1,4H, izatino NH), 11,08 (s, 1,4H, NHCO), 12,51, 12,93 (2s, 0,6H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 14,89 (CH₃CH₂O), 31,66 (CH₂CO), 46,95, 47,72 (CH₂N), 63,28 (CH₃CH₂O), 110,54, 111,07, 114,51, 115,30, 115,59, 121,63, 126,13, 132,45, 141,36, 141,50, 142,31, 143,66 (C_{Ar}), 164,66, 170,15 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1693, 1726 (C=O), 3240, 3452 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 568,2271 [M+H]⁺.

3-((4-Chlorfenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (11)



Sintetintas iš 3,3'-[(4-chlorfenil)imino]bispropanhidrazido (1,58 g). Išeiga 1,09 g (35,97 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 193–195 °C.

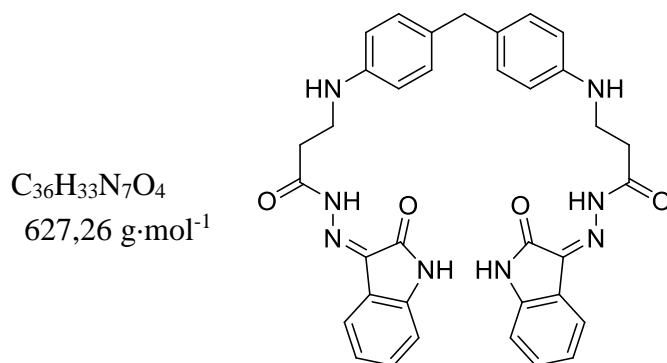
¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,30 (t, 2H, *J*=8,0 Hz, CH₂CO), 3,34–3,70 (m, 6H, CH₂CO+CH₂N), 6,74–7,46 (m, 12H, H_{Ar}), 9,05 (s, 0,6H, izatino NH), 10,77, 10,80 (d, 1,4H, *J*=6 Hz, izatino NH), 11,10, 11,21 (2s, 1,4H, NHCO), 12,53, 12,87 (2s, 0,6H, NH)

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 31,51, 43,18 (CH₂CO), 46,76, 47,51 (CH₂N), 110,57, 113,47, 113,67, 115,26, 121,66, 126,12, 128,89, 128,94, 129,01, 132,49, 143,68, 145,77 (C_{Ar}), 166,62, 169,84 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1689, 1726 (C=O), 3224, 3411 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 558,2011 [M+H]⁺.

**3,3'-((metilenebis(4,1-fenilen))bis(azanedil))bis(*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas
(*E/Z* izomerų mišinys, 80/20) (13)**



Sintetintas iš 3,3'-((metilenebis(4,1-fenilen))bis(azanidil))di(propanhidrazido) (0,85 g). Išeiga 0,38 g (42,06 %), oranžiniai kristalai. Lyd. t. 166–167 °C.

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,89–3,09 (m, 2H, CH₂CO), 3,35 (m, 6H, CH₂CO+CH₂NH), 3,62 (s, 2H, CH₂), 5,53 (s, 2H, CH₂NH), 6,45–6,61 (m, 5H, H_{Ar}), 6,82–7,04 (m, 9H, H_{Ar}), 7,35 (t, 2H, *J*=10,0 Hz, H_{Ar}), 10,77 (s, 1,6H, izatino NH), 11,11 (s, 1,6H, NHCO), 11,23 (s, 0,4H, izatino NH), 12,54, 12,96 (2s, 0,4H, NHCO).

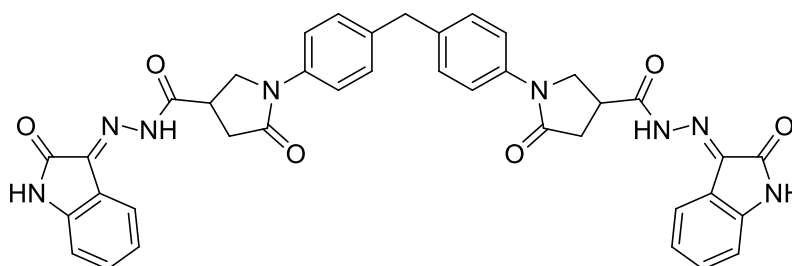
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 23,22 (CH₂CO), 39,98 (CH₂), 50,97 (CH₂NH), 110,54, 111,11, 112,20, 112,37, 115,28, 121,62, 124,69, 126,01, 129,13, 132,42, 142,30, 143,63, 146,45 (C_{Ar}), 162,48, 168,56 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1692, 1730 (C=O), 3160, 3225, 3352 (N–H).

HRMS (ESI), *m/z*: 628,3100 [M+H]⁺.

1,1'-(Metilenbis(4,1-fenilen))bis(5-okso-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)pirolidin-3-karbohidrazidas) (*E/Z* izomerų mišinys, 70/30) (14)

$C_{39}H_{32}N_8O_6$
708,24 g·mol⁻¹



Sintetintas iš 1,1'-(metilenbis(4,1-fenilen))bis(5-oksopirolidin-3-karbohidrazido) (2,25 g). Išeiga 1,9 g (54,22 %), geltoni kristalai. Lyd. t. 190–192 °C.

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 2,61–2,96 (m, 4H, NCOCH₂), 3,34 (m, 1H, CH), 3,44 (m, 1H, CH), 3,67 (s, 2H, CH₂), 3,89–4,16 (m, 6H, NHN+NCH₂CH), 6,65–7,84 (m, 16H, H_{Ar}), 10,19, 10,82, 11,03 (3s, 0,3H, NHCO), 11,26 (s, 0,7H, NHCO), 12,59 (s, 0,7H, NHCO), 13,07 (s, 0,3H, NHCO).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆) δ, m.d.: 32,34, 34,94 (NCOCH₂), 34,94, 34,96 (CH), 39,83, 40,43 (CH₂), 49,75, 52,15 (NCH₂CH), 111,13, 112,19, 117,82, 119,65, 120,85, 122,57, 122,75, 124,68, 128,84, 131,65, 137,22, 138,36, 142,49, 150,71 (C_{Ar}), 159,37, 162,47, 171,30, 173,10 (C=O).

IR (KBr), ν (cm⁻¹): 1665, 1694, 1734 (C=O), 3398, 3451 (N–H).

HRMS (ESI), m/z: 709,2578 [M+H]⁺.

2.2. Biologinių savybių tyrimų metodika

Tyrimai atlikti Kauno technologijos universiteto, Cheminės technologijos fakulteto biotechnologijos laboratorijose.

Tyrimams atlikti buvo naudoti šie įrenginiai: autoklavas „Certoclav“, centrifuga „Universal 320R“, laminaras „Teostar BV-100“, pH-metras „Winlab“, spektrofotometras „Shimadzu UV-1280“, termostatas „Binder“.

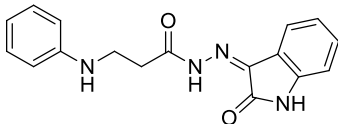
Biologinio aktyvumo tyrimuose naudotos medžiagos pateiktos 2.2 lentelėje.

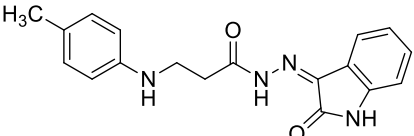
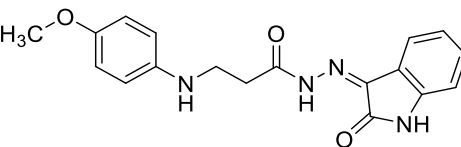
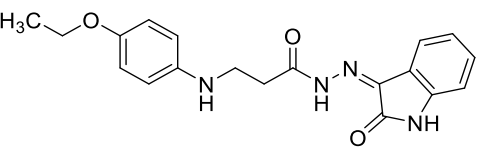
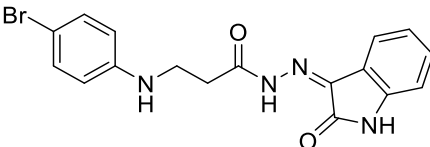
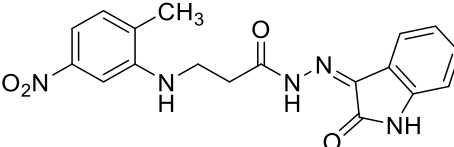
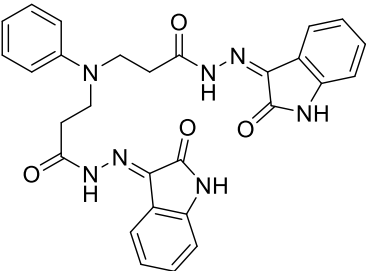
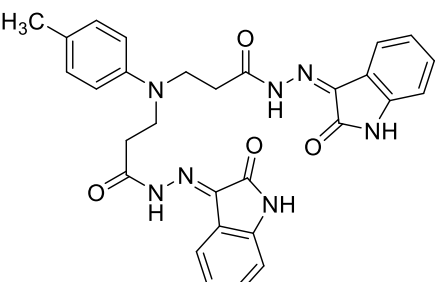
2.2 lentelė. Biologinio aktyvumo tyrimuose naudoti reagentai, jų gamintojai ar platintojai.

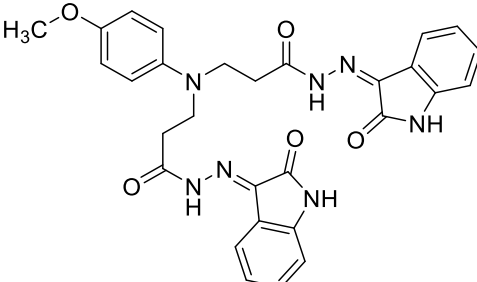
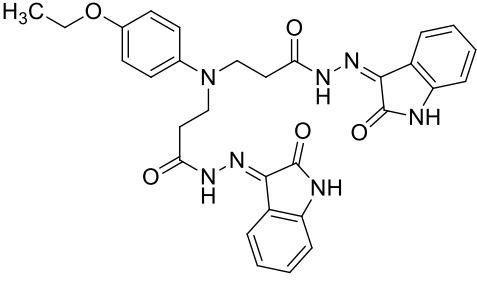
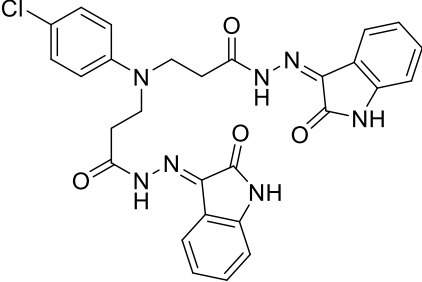
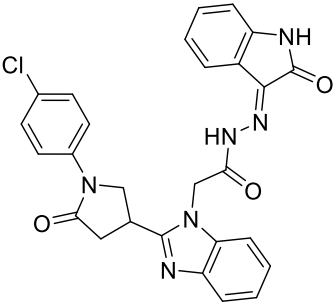
| Medžiagos pavadinimas | Gamintojas/platintojas |
|---------------------------------------|--------------------------|
| DPPH reagentas | „Sigma Aldrich“ |
| Etanolis | AB „MV Group Production“ |
| Dimetilsulfoksidas | UAB „Eurochemicals“ |
| Kalio ferocianidas | „Alfa Aesan“ |
| Trichloracto rūgštis | „Sigma Aldrich“ |
| Geležies (III) chloridas | „Sigma Aldrich“ |
| Natrio hidrofosfatas | „Roth“ |
| 2,4,6-Tri(2-piridil)-s-triazinas | „Sigma Aldrich“ |
| Trichloracto rūgštis | UAB „Eurochemicals“ |
| Natrio acetatas | „AppliChem“ |
| Geležies (III) chlorido heksahidratas | „Sigma Aldrich“ |
| Geležies (II) sulfato heptahidratas | „Reachem“ |
| ABTS reagentas | „Sigma Aldrich“ |
| Kalio persulfatas | „Sigma Aldrich“ |
| Natrio chloridas | UAB „Eurochemicals“ |
| Triptonas | „Liofilmchem“ |
| Mielių ekstraktas | „Roth“ |
| Mikroagaras | „Merck“ |
| Druskos rūgštis | UAB „Eurochemicals“ |
| L-(+)-askorbo rūgštis | „AppliChem“ |

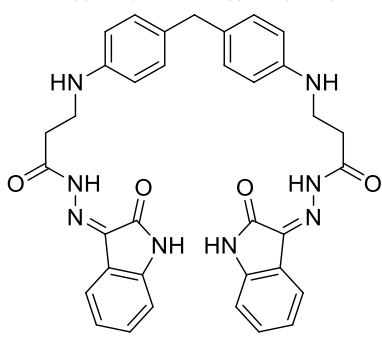
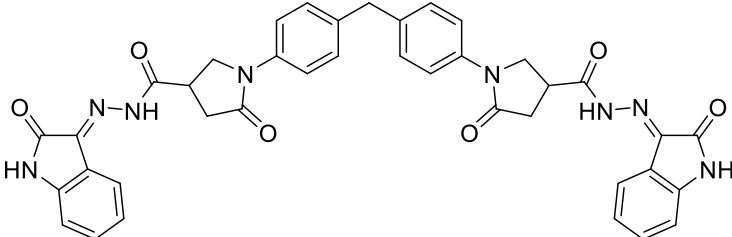
Šiame darbe nagrinėjami junginiai pateikti 2.3 lentelėje.

2.3 lentelė. Darbe analizuojamų junginių struktūros

| Junginys | Cheminis pavadinimas ir formulė |
|----------|--|
| 1 | <i>N'</i> -(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(fenilamino)propanhidrazidas  |

| | |
|---|---|
| 2 | <p><i>N'</i>-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(<i>p</i>-tolilamino)propanhidrazidas</p>  |
| 3 | <p>3-((4-Metoksifenil)amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 4 | <p>3-((4-Etoksifenil)amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 5 | <p>3-((4-Bromfenil)amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 6 | <p>3-((2-Metil-5-nitrofenil)amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 7 | <p>3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(fenil)amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 8 | <p>3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(<i>p</i>-tolil) amino)-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |

| | |
|----|---|
| 9 | <p>3-((4-Metoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 10 | <p>3-((4-Etoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 11 | <p>3-((4-Chlorfenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 12 | <p>2-(2-(1-(4-Chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)acetohidrazidas</p>  |

| | |
|----|---|
| 13 | <p>3,3'-((metilenebis(4,1-fenilen))bis(azanedil))bis(<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas</p>  |
| 14 | <p>1,1'-(Metilenebis(4,1-fenilen))bis(5-okso-<i>N'</i>-(2-oksoindolin-3-iliden)pirolidin-3-karbohidrazidas)</p>  |

2.2.1. Biologiškai aktyvių junginių 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalo slopinimo bandymas

Reagentai:

2,2-difenil-1-pikrihidrazilas (DPPH, 1mM) ruošiamas etanolyje;
Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO.

Darbo eiga [36]:

DPPH (1 mM) tirpalas paruoštas etanolyje ir 0,5 ml tirpalo įpilta į 0,5 ml tiriamųjų junginių 1–14 tirpalus (1 mg/ml). Mišiniai sumaišyti ir palikti stovėti 20 min.

Palyginamasis tirpalas ruoštas taip: 0,5 ml DPPH sumaišant su 0,5 ml DMSO. Po 20 min. ruoštas skiedimas 1:15 – palyginamajam tirpalui su etanoliu ir tiriamiesiems tirpalams su DMSO.

Absorbcija matuota esant 517 nm. DPPH slopinimas apskaičiuotas pagal formulę:

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

Čia: A_B – palyginamojo tirpalo šviesos sugerties dydis.

A_A – tiriamojo tirpalo šviesos sugerties dydis.

2.2.2. Biologiškai aktyvių junginių redukcinių savybių nustatymas

Reagentai:

Natrio fosfatinis buferis 0,2 M (pH=6,6);
1% $K_3[Fe(CN)_6]$;
10% trichloracto rūgštis;
0,1% $FeCl_3$;
Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO.

Darbo eiga [37]:

Paruošti naujai susintetintų junginių 1-14 tirpalai (1 mg/ml). Į 0,5 ml mėginius supilta 1,25 ml 0,2 M redukcinio natrio fosfatinio buferio ir 1,25 ml $K_3[Fe(CN)_6]$. Sumaišyta ir inkubuota 50 °C temperatūroje 20 min., po to pridėta 1,25 ml 10% trichloracto rūgšties ir sumaišyta. Centrifuguota 10 min.

Tirpalo (2,5 ml) sumaišyta su 2,5 ml distiliuotu vandeniu ir 0,5 ml 0,1% $FeCl_3$. Mėginiai išmatuoti esant 700 nm bangos ilgiui.

2.2.3. Biologiškai aktyvių junginių antioksidacinis aktyvumas pagal geležies redukcijos antioksidantinės galios metodą, naudojant 2,4,6-tripiridil-s-triaziną

Reagentai:

300 mM acetato buferis (pH=3,6);
10 mmol TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazinas) ištirpintas 40 mmol/L HCl;
 $FeCl_3 \times 6H_2O$ 20 mmol/L;

Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO.

Darbo eiga [38]:

Šis metodas nustato junginių redukuojančias savybes ir yra paremtas Fe^{3+} -TPTZ pavirtimu į Fe^{2+} -TPTZ (mėlyna spalva) esant 593 nm.

Geležies redukcijos antioksidantinės galios (FRAP) reagentas paruoštas su 25 ml 300 mM acetato buferio, 2,5 ml 10 mmol TPTZ ir 2,5 ml $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ (20 mmol/L). 100 μl tiriamųjų mėginių 1–14 sumaišyti su 3 ml FRAP reagentu. Reakcijos mišinys matuotas spektrofotometru 593 nm bangoje. Kalibravimo kreivė paruošta $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ (5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60 $\mu\text{mol/L}$). Reikšmė apskaičiuota pagal kalibravimo kreivę $\mu\text{mol/L}$.

2.2.4. 2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonrūgštis) radikalo slopinimo metodas

Reagentai:

2,2-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonrūgštis) (ABTS) 100 μM ;

Fosfatinis buferis 20 mM;

Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO.

Darbo eiga [39]:

Į mėgintuvėlius įpilta po 0,5 ml tiriamųjų junginių 1–14 tirpalų (1 mg/ml), 1,7 ml 20 mM fosfatinio buferio ir 0,3 ml 100 μM ABTS. Tirpalai sumaišyti ir matuota 734 nm bangos šviesos sugertis.

2.2.5. Deoksiribozės apsaugos nuo hidroksiradikalų metodas (nespecifinis)

Reagentai:

Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO ir praskiesti distiliuotu vandeniu iki 5 $\mu\text{g/ml}$;

100 mmol/L deoksiribozė;

Natrio fosfato buferis (pH 7,4);

10 mmol/L FeCl_3 ;

1 mmol/L H_2O_2 ;

10 mmol/L EDTA;

15 mmol/L NaCl;

1 mmol/L Askorbo rūgštis;

1 % Tiobabitūrinė rūgštis;

2,8 % Trichloracto rūgštis.

Darbo eiga [40]:

Biologiškai aktyviųjų junginių 1–14 (200 μl) įpilama į 10 μl 100 mmol/L deoksiribozės (ištirpinama 24 mmol/L natrio fosfato buferyje (pH 7,4)), 10 μl 10 mmol/L Fe^{3+} , 10 μl 1 mmol/L H_2O_2 , 10 μl 10 mmol/L EDTA (ištirpinama 24 mmol/L natrio fosfato buferyje (pH 7,4), turinčiame 15 mmol/L NaCl) tirpalus, 100 μl 1 mmol askorbo rūgštis ir inkubuojama 1 val. 37 °C gaunant hidroksiradikalus. Hidroksiradikalai suardo deoksiribozę į fragmentus, kurie esant 1 ml 1 % tiobabitūrinei rūgščiai (ištirpinama 0,05 mol/L NaOH) ir 1,5 ml 2,8 % trichloracto rūgščiai 100 °C 15 min. sudaro chromoforą (malonaldehidą), kuris išmatuojamas esant 532 nm. Kai biologiškai

aktyviame junginyje yra antioksidantų, jie sudaro hidroksiradikalus ir sumažina deoksiribozės fragmentaciją.

Hidroksiradikalų slopinimas % apskaičiuojamas:

$$X = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A_0 – kontrolės absorbcija;

A_1 – biologiškai aktyvaus junginio absorbcija.

2.2.6. Biologiškai aktyvių junginių tirpalų antibakterinio aktyvumo nustatymas agaro difuziniu metodu

Reagentai:

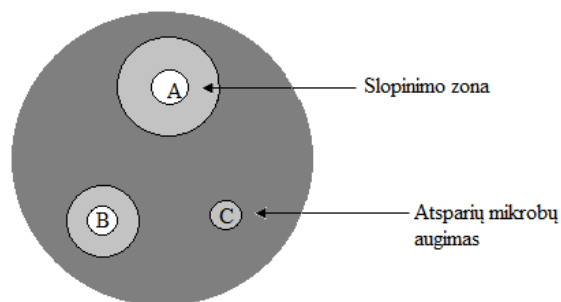
Tiriamieji junginiai 1–14 (1 mg/ml) ištirpinti DMSO;

X. campestris, *E.coli*, *R. radiobacter* ir *B. Subtilis* bakterijų suspensijos.

Darbo eiga [41]:

Ant LB terpės Petri lėkštelėse užpilta *Xanthomonas campestris*, *Escherichia coli*, *Rhizobium radiobacter* ir *Bacillus subtilis* bakterijų suspensijos 50 μ l. Suspensija išskirstyta sterilia kilpele. Ant lėkštelės uždėti 5 nedideli (0,6 cm) filtro popieriaus diskai, ant kurių užlašinta 25 μ l naujai susintetintų junginių 1–14 tirpalų.

Lėkštelės padėtos į 37 °C temperatūros termostatą parai. Po 24 val. stebėtas bakterijų augimas ir tiriamųjų junginių antibakterinis poveikis.



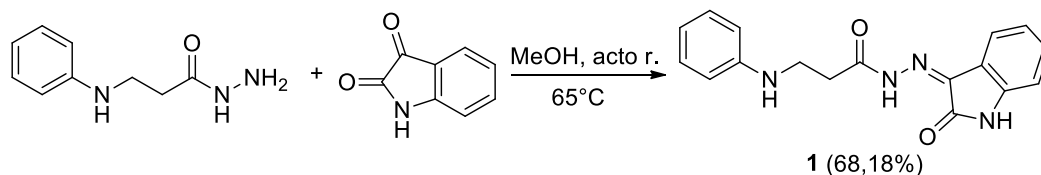
2.1 pav. Biologiškai aktyvių junginių tirpalų antibakterinio aktyvumo nustatymas agaro difuziniu metodu

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

3.1. Naujų hidrazonų su izatino fragmentu sintezė

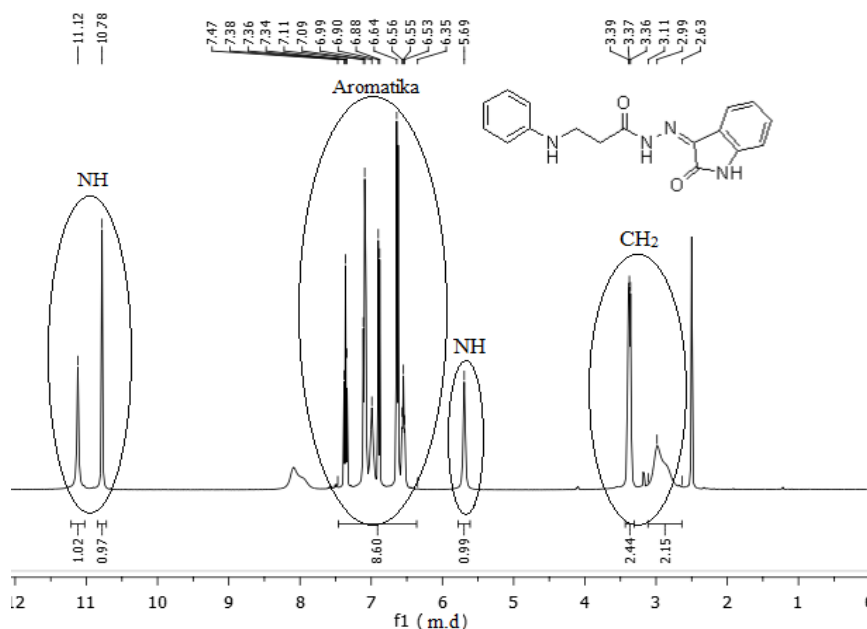
Hidrazonų dariniai yra organinių junginių klasė, kuriai būdingas *N-N* kovalentinis ryšys [4]. Izatino prijungimas prie hidrazidų, leidžia gauti naujus junginius, pasižyminčius plačiu biologinio aktyvumo spektru. Dėl izatino keto grupių, esančių 2 ir 3 pozicijose, galimos prijungimo per CO ryšį ir kondensacijos reakcijos. Taip pat dėl pirminės amino grupės junginiai gali dalyvauti *N*-alikinimo ir *N*-acilinimo reakcijose [3]. Tokių darinių sintezė yra gana nesudėtinga, nereikalaujanti brangių medžiagų ir didelių laiko sąnaudų.

N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(fenilamino)propanhidrazidas (**1**) sintetintas iš 3-(fenilamino)propanhidrazido. Jis tirpintas 25 ml metanolio, vėliau pridėta 6 mmol izatino, įlašinti 5 lašai ledinės acto rūgšties. Kaitinant mišinį metanolio virimo temperatūroje, po 15–20 min gautas produktas (žr. 3.1 schemą).



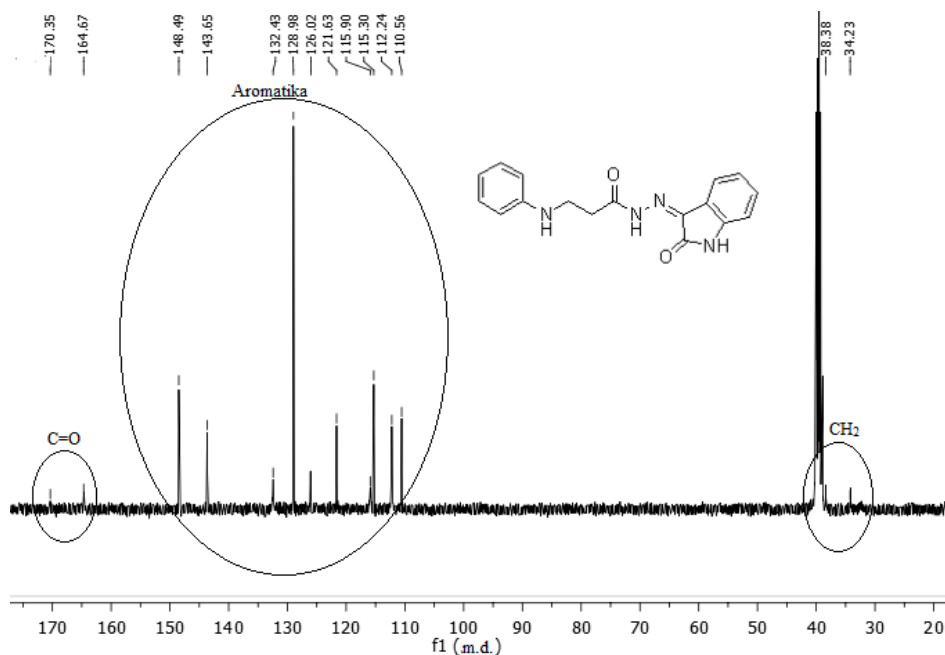
3.1 schema. **1** junginio sintezė

Junginio **1** ^1H BMR spektre ties 2,63–3,11 ir 3,37 m.d stebimos CH_2 grupei būdingos smailės. Smailės, žyminčios amino grupių buvimą molekulėje, yra ties 5,69, 10,78 ir 11,12 m.d (žr. 3.1 pav.). Fenilo žiedų protonų smailės išsidėsčiusios intervale 6,35–7,47 m.d.



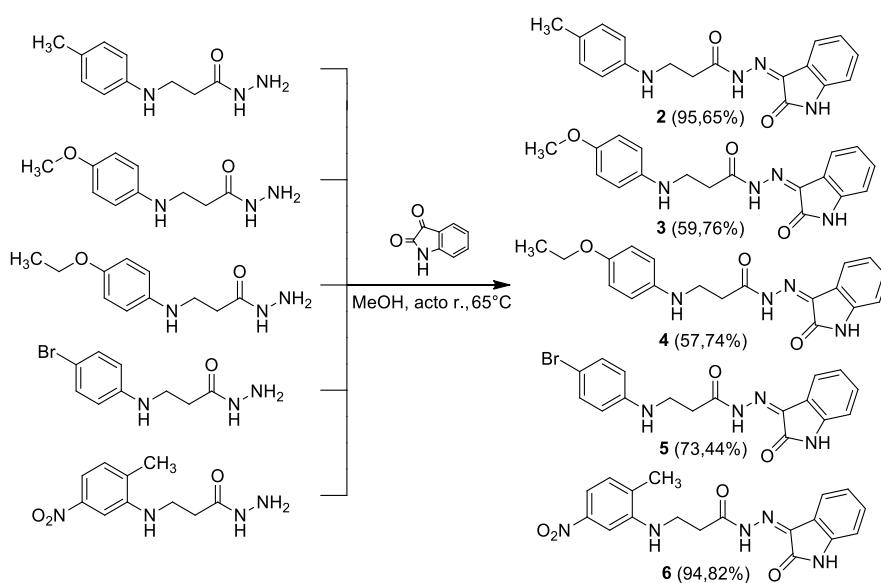
3.1 pav. **1** junginio ^1H BMR spektras

N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(fenilamino)propanhidrazido (**1**) anglies ^{13}C izotopo BMR spektre aiškiai matomi CH_2 signalai ties 34,23 ir 38,38 m.d. Aromatikos smailės išsidėsčiusios intervale 110,56–148,49 m.d., o CO grupių buvimą įrodo smailės ties 164,67 ir 170,35 m.d. (žr. 3.2 pav.).



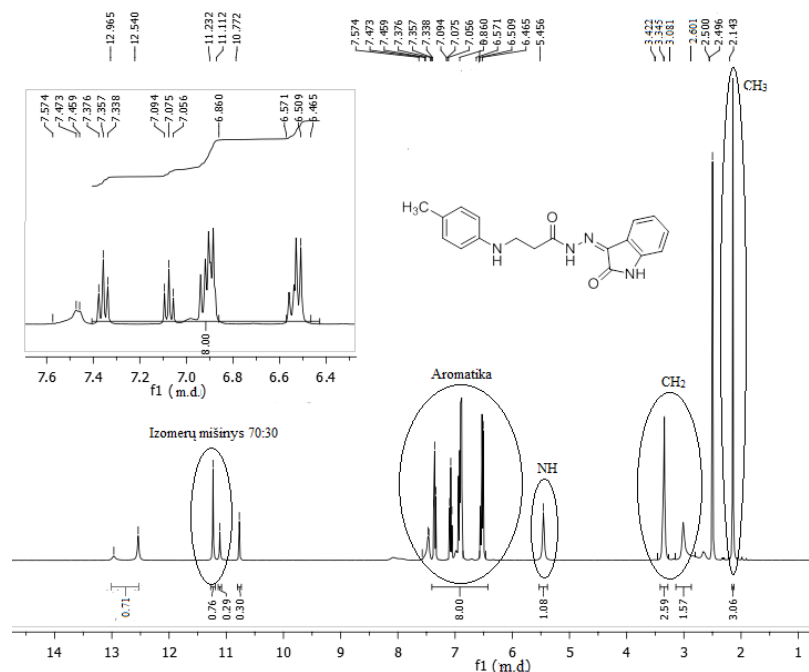
3.2 pav. **1** junginio ^{13}C BMR spektras

Analogiškai **1** junginiui vykdyta hidrazonų **2–6** sintezė (žr. 3.2 schemą). Kaip pradinės medžiagos atitinkamai naudoti: 3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas, 3-((4-metoksifenil)amino)propanhidrazidas, 3-((4-etoksifenil)amino)propanhidrazidas, 3-((4-bromfenil)amino)propanhidrazidas ir 3-((2-metil-5-nitrofenil)amino)propanhidrazidas. Reakcijų baigtys nustatytos plonasluoksnės chromatografijos metodu. Gauti kristalai gryninti iš DMF ir H_2O mišinio. Reakcijų produktai gauti geromis išieigomis (nuo 58 iki 96 %).



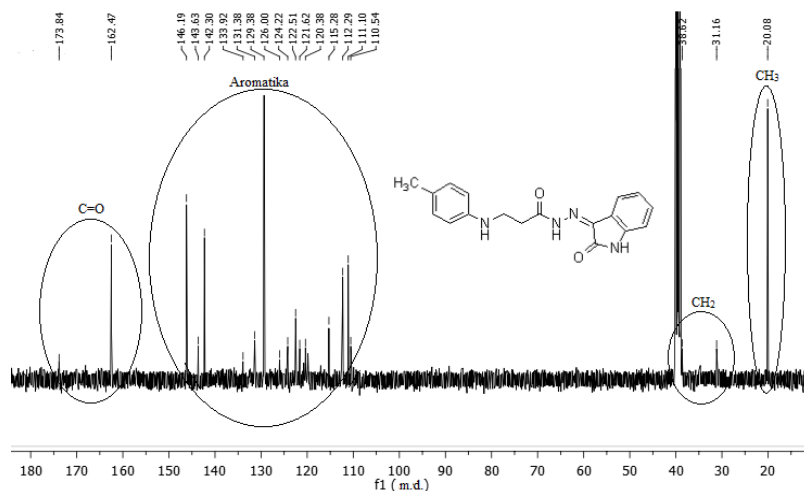
3.2 schema. Naujų junginių **2–6** sintezė

N'-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**2**) protoniniame spektre ties 2,14 m.d. matyti ryškus CH₃ grupės singletas, CH₂ grupės atitinkantys multiplėtai yra ties 2,60–3,08 ir 3,35–3,42 m.d. Aromatikos signalai matomi intervale 6,47–7,57 m.d. Iš amino grupės protonų signalų galima spręsti, kad šis produktas gautas *E/Z* izomerų mišinio pavidalu. Intervale 10,78–12,97 m.d. matomos pasikartojančios izatino NH ir NHCO smailės, kurių intensyvumo santykis 70:30 (žr. 3.3 pav.).



3.3 pav. 2 junginio ¹H BMR spektras

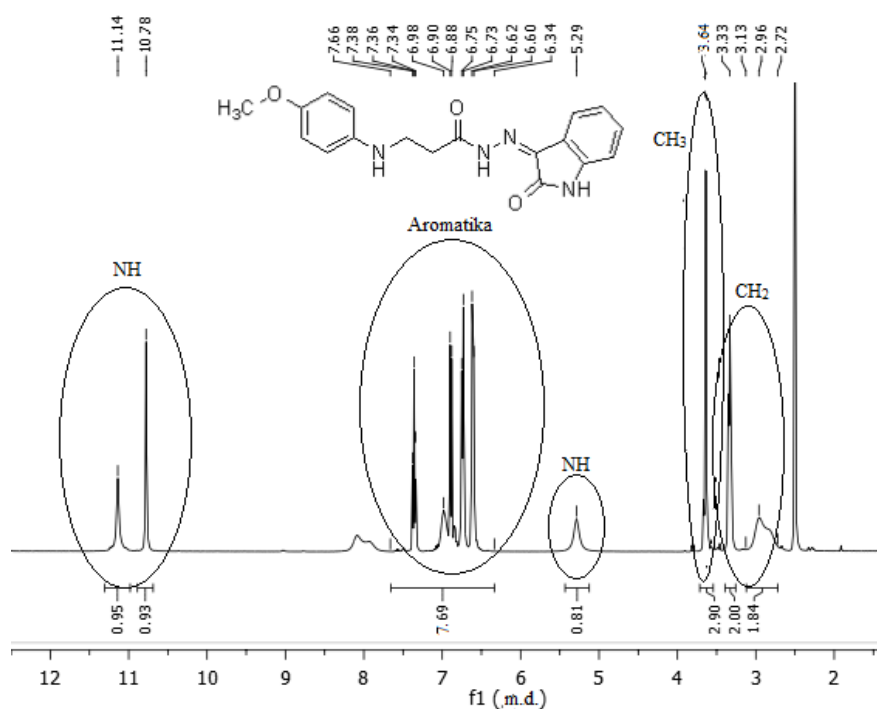
2 naujai susintetinto junginio ¹³C BMR spektre (žr. 3.4 pav.) aiškiai matomos visos anglies atomų turinčios funkcinės grupės. Metilo grupės smailė yra ties 20,08 m.d., CH₂ signalai matomi šalia DMSO tirpiklio smailės – 31,16 ir 38,62 m.d. Aromatika išsidėsčiusi tarp 110,54 ir 146,19 m.d. Karbonilo grupės smailės aptinkamos ties 162,47 ir 173,84 m.d.



3.4 pav. 2 junginio ¹³C BMR spektras

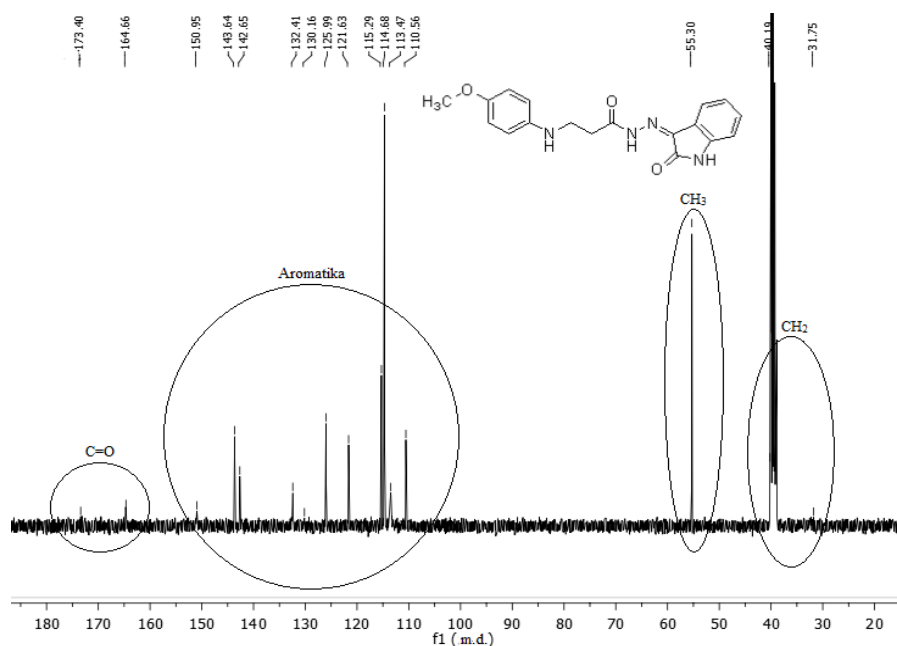
3 junginio protoninis spektras labai panašus į aukščiau aprašytų hidrazonų. Vienintelis skirtumas – metoksigrupės signalo vieta. Kadangi CH₃ grupė jungiasi su deguonies atomu, ji tampa deekranuota ir pasislenka į silpnėsių laukų pusę – signalas matomas ties 3,64 m.d (žr. 3.5 pav.). 3-((4-Bromfenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**5**) ¹H BMR spektras labai artimas **3** junginio: 2,70–3,12 ir 3,35 m.d. žymi CH₂ buvimo vietas, 6,33–7,67 m.d. – aromatikos, o 5,97, 10,78 ir 11,12 m.d. singletai atitinka NH grupių protonų signalus.

Deekranavimo efektas pastebimas ir **4** hidrazono ¹H BMR spektre. Šiuo atveju į silpnėsių laukų pusę pasislinkęs CH₃CH₂O signalas – smailė matoma intervale 3,79–3,94 m.d. CH₃ tripletas yra ties 1,26 m.d., fenilo žiedų signalai išsisklaidę nuo 6,41 iki 7,71 m.d. Šis hidrazonas kaip ir **1** gautas izomerų mišinyje santykiu 70:30. Tai aiškiai matoma iš pasiskirsčiusių NH signalų: 10,78, 11,14, 11,23, 12,54, 12,97 m.d. Labai panašus NH smailių pasiskirstymas matomas ir ((2-metil-5-nitrofenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**6**) protonų spektre. Taipogi, intervalas 6,88–7,36 m.d. atitinka tik 7 aromatikos vandenilius, nes šio junginio fenilo žiede prijungti du pakaitalai – CH₃ ir NO₂.



3.5 pav. **3** junginio ¹H BMR spektras

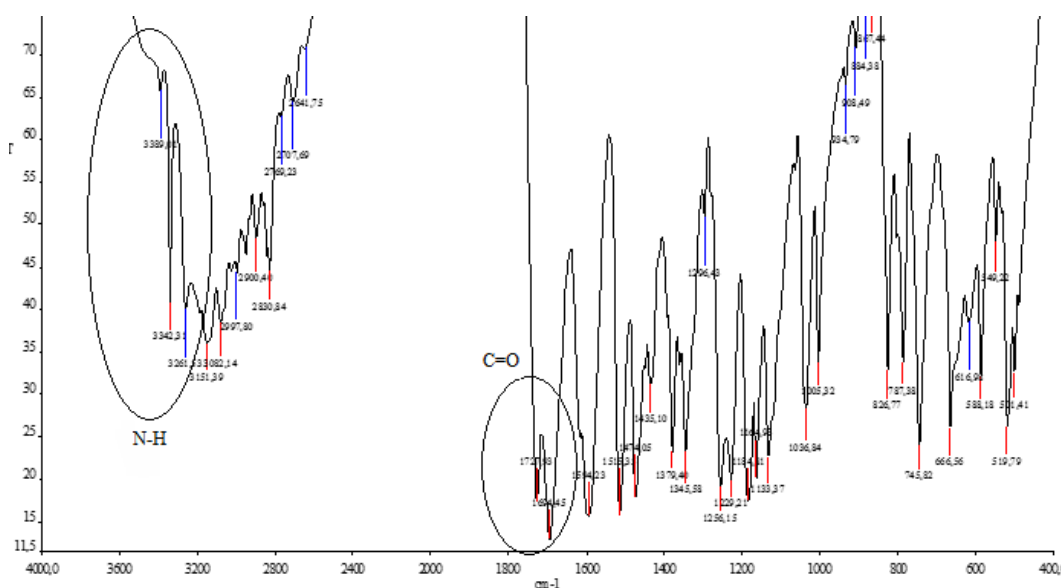
Naujai susintetinto hidrazono **3** angliniame spektre (žr. 3.6 pav.) matomas deekranuotas metoksigrupės signalas – ties 55,30 m.d. Vienas CH₂ signalas persidengia su tirpiklio smaile, tačiau kitas matomas aiškiai ir yra 31,75 m.d. vietoje. Fenilo žiedų protonų signalai matosi nuo 110,56 iki 150,95 m.d., o CO grupės – 164,66 ir 173,40 m.d.



3.6 pav. 3 junginio ^{13}C BMR spektras

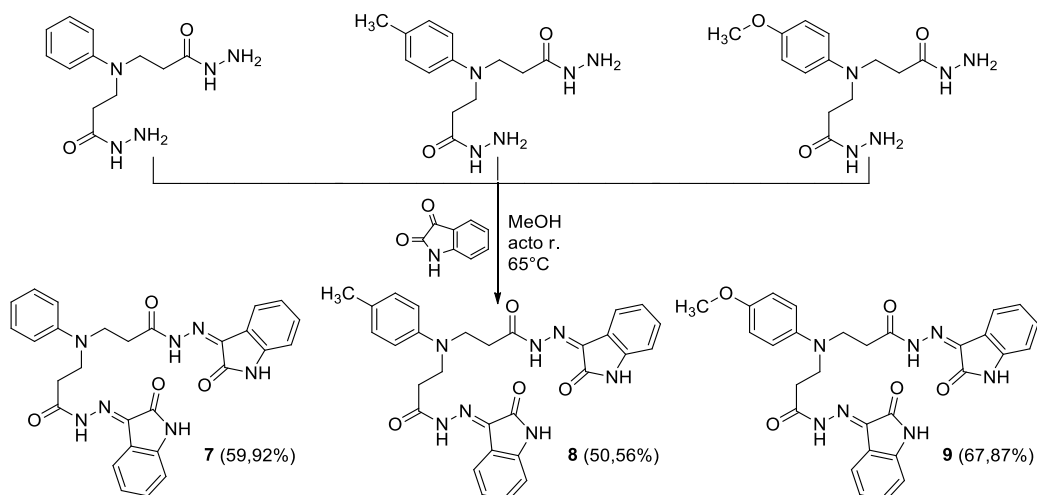
Hidrazonų 4–6 angliniai spektrai panašūs į aukščiau aprašytą. 4 junginys atpažįstamas iš $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ signalo ties 14,88 m.d. ir deekranuotos $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}$ smailės ties 63,31 m.d. 3-((4-Bromfenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (5) ^{13}C BMR spektre CH_2CO ir CH_2NH signalai matomi ties 32,27 ir 38,41 m.d., aromatikos anglies atomų smailės nuo 106,37 iki 147,74 m.d., o karbonilo grupės – 164,64 ir 175,51 m.d. 6 junginio angliniame spektre metilo grupės smailė stebima ties 17,88 m.d., fenilo žiedų anglies atomų signalai pasiskirstę nuo 102,26 iki 147,23 m.d., o dvi CO smailės yra ties 162,96 ir 165,10 m.d.

IR spektroskopijos rezultatai patvirtino hidrazonuose esant N–H ir C=O funkcines grupes. 1–6 junginių spektruose apie 1700 cm^{-1} randama po du C=O grupės nurodančius signalus, o trys amino grupės smailės matomos virš 3100 cm^{-1} (žr. 3.7 pav.).

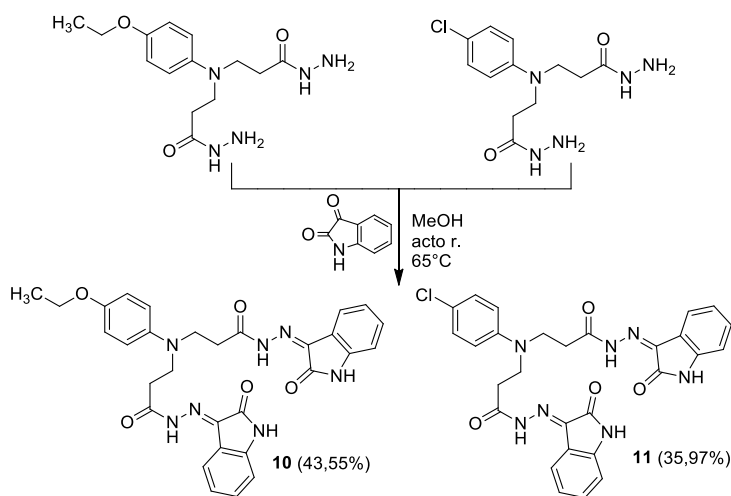


3.7 pav. 3 junginio FT–IR spektras

Nauji izatino dihidrazonai **7–11** sintetinti tirpinant pradinus hidrazidus 25 ml metanolio. Pradiniai junginiai atitinkamai buvo: 3,3'-(fenilimino)bispropanhidrazidas, 3,3'-[(4-metilfenil)imino]bispropanhidrazidas, 3,3'-[(4-metoksifenil)imino]bispropanhidrazidas, 3,3'-[(4-etoksifenil)imino]bispropanhidrazidas ir 3,3'-[(4-chlorfenil)imino]bispropanhidrazidas. Vėliau pridėtas dvigubai didesnis izatino kiekis nei monohidrazonų sintezei – 12 mmol ir įlašinti 6 lašai ledinės acto rūgšties. Po 15–20 minučių virinimo gauti produktai. Jie filtruoti ir gryninti iš DMF ir H₂O mišinio (žr. 3.3 ir 3.4 schemas).



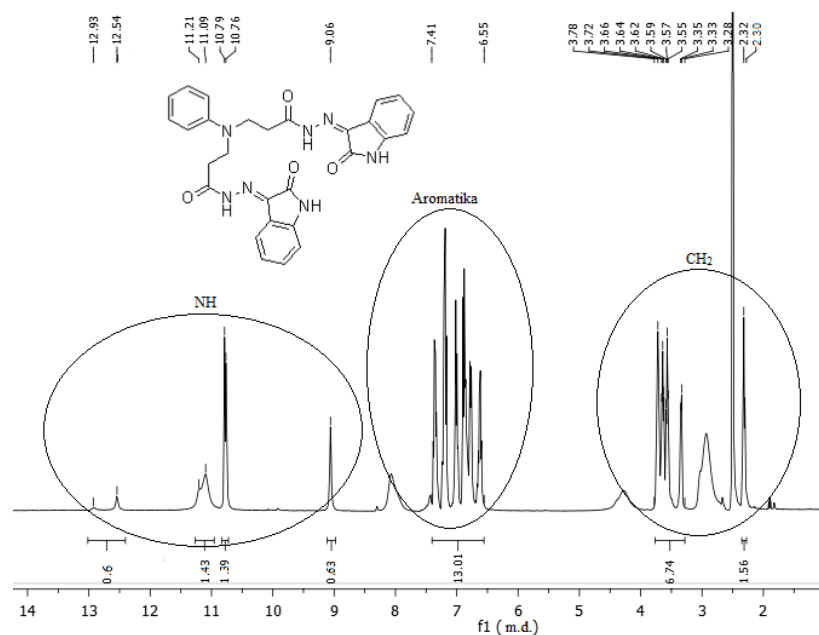
3.3 schema. Naujų junginių **7–9** sintezė



3.4 schema. Naujų junginių **10, 11** sintezė

3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(fenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**7**) ¹H BMR spektre matomi CH₂ grupės protonų signalai: tripletas ties 2,32 m.d. ir multipletas 3,28–3,78 m.d. intervale (žr. 3.8 pav.). Aromatikos vandenilių signalai išsisklaidę tarp 6,55 ir 7,41 m.d. Skirtingai nuo monohidrazonų, dabar aromatikos signalų yra 13. Iš NH signalų pasiskirstymo galima teigti, kad junginys gautas izomerų mišinyje: santykis šiuo atveju 1,4:0,6 (70/30).

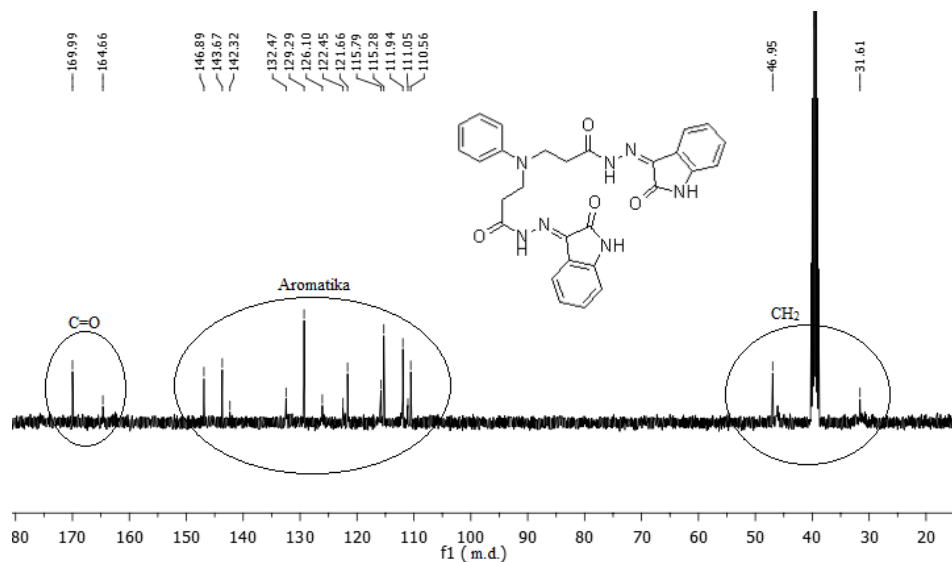
8 hidrazono protoninis BMR spektras labai panašus, tik ties 2,17 m.d. atsiranda CH₃ grupės singletas, o aromatikos vandenilių yra 12 ir jie išsidėstę 6,50–8,19 m.d. intervale.



3.8 pav. 7 junginio ^1H BMR spektras

7 junginio ^{13}C BMR spektre aiškiai matomi metileno grupių signalai: 31,61 ir 46,95 m.d. Fenilo žiedų anglies atomų signalai randami nuo 110,56 iki 146,89 m.d. Karbonilo grupių buvimą įrodo smailės ties 164,66 ir 169,99 m.d (žr. 3.9 pav.).

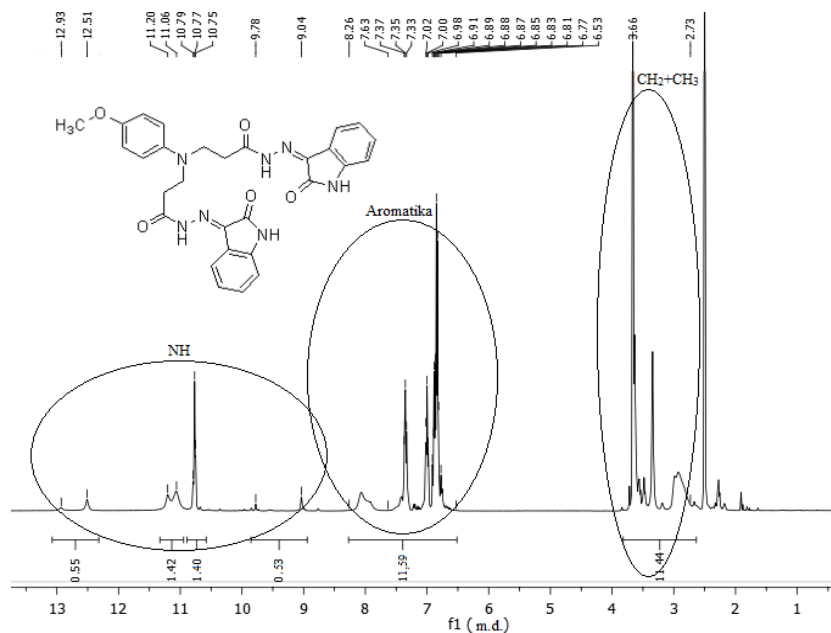
3-((3-Okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(*p*-tolil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**8**) anglies ^{13}C izotopo BMR spektre ties 19,92 m.d. pastebimas CH_3 signalas, o likusios smailių reikšmės artimos jau aprašyto 7 junginio spektro reikšmėms.



3.9 pav. 7 junginio ^{13}C BMR spektras

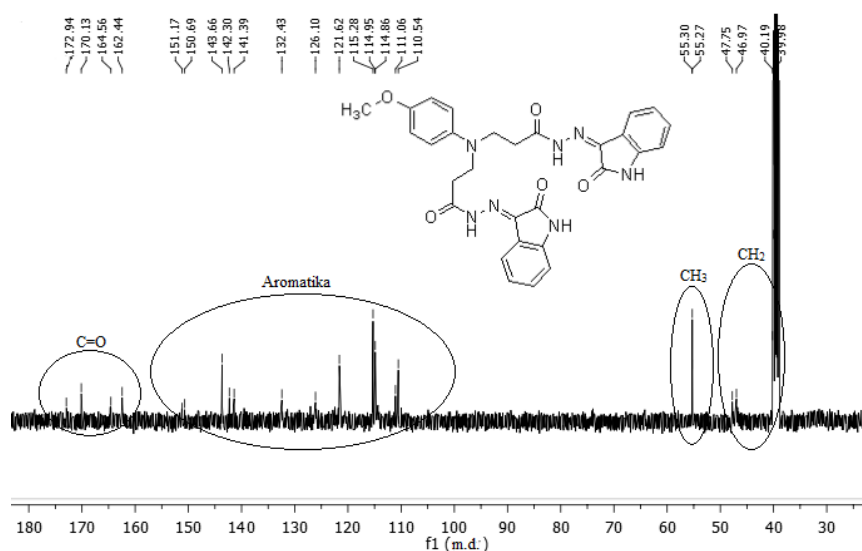
3-((4-Metoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**9**) metoksigrupės signalas pasislinkęs į silpnėsių laukų pusę dėl deguonies atomo sukkelto deekranavimo efekto. Dėl to CH_2 ir CH_3 grupių protonų signalai persidengia ir atskirų smailių išskirti nepavyksta. Aromatika matoma intervale 6,53–7,63 m.d., o

NH grupių smailių išsiskaidymas leidžia spręsti, kad produktas gautas izomerų mišinyje (žr. 3.10 pav.).



3.10 pav. 9 junginio ^1H BMR spektras

Anglies ^{13}C izotopo BMR spektre aiškiai matomi izomerų signalai. CH_2CO smailės šiek tiek slepiasi po tirpiklio signalu, tačiau išskiriami signalai 39,98 ir 40,19 m.d. CH_2N grupę atitinka smailės 46,97 ir 47,75 m.d. CH_3 izomerų signalai yra ties 55,27 ir 55,30 m.d. Aromatinių žiedų anglies atomus žyminės smailės matomos intervale 110,54–151,17 m.d., o CO ryšį žymi signalai 162,44, 164,56, 170,13 ir 172,94 m.d (žr. 3.11 pav.).



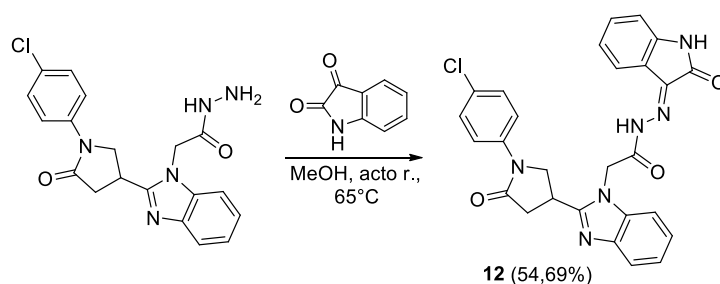
3.11 pav. 9 junginio ^{13}C BMR spektras

3-((4-Etoksifenil)(3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)amino)- N' -(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**10**) struktūra patvirtinama ^1H BMR spektre matomu metilo grupės tripletu ties 1,28 m.d., metileno signalais ties 2,28, 2,66–3,09 ir 3,48 m.d., aromatikos protonų smailėmis, išsidėsčiusiomis 6,49–8,23 m.d. ir NH protonų singletais intervale 9,03–12,93 m.d.

11 hidrazono protoniniame BMR spektre CH₂ signalai matomi ties 2,30 ir 3,34–3,70 m.d., 12 aromatinio žiedo protonų pasiskirstę tarp 6,74 ir 7,46 m.d., o amino funkcinės grupės protonų signalai stebimi tarp 9,05 ir 12,87 m.d.

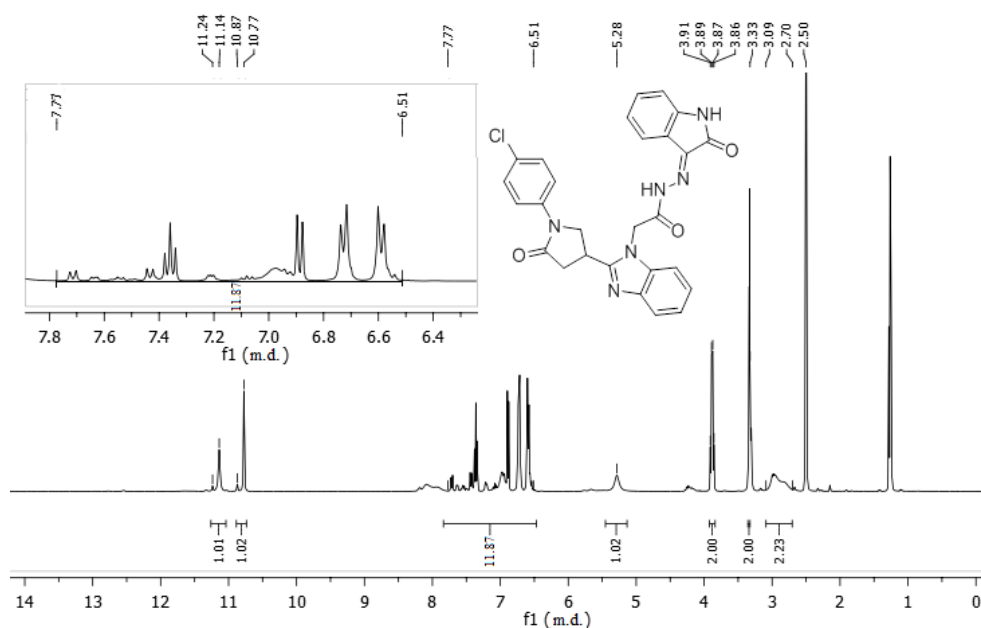
Šių dviejų hidrazonų ¹³C BMR spektrai taip pat artimi. **10** junginį galima atskirti iš CH₃CH₂O signalo ties 14,89 m.d. ir CH₃CH₂O smailės, matomos 63,28 m.d. CH₂ alifatiniai signalai spektruose randami nuo 43,18 iki 47,72 m.d., aromatiniai nuo 110,54 iki 145,77 m.d., o karboksigrupių smailės stebimos 164,66–170,15 m.d.

2-(2-(1-(4-Chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden) acetohidrazido (**12**) sintezei kaip pradinis junginys naudotas 2-(2-(1-(4-chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)acetohidrazidas (žr. 3.5 schemą). Ištirpinus jį metanolyje, į mišinį pridėta 6 mmol izatino, įlašinti 5 lašai katalizatoriaus – ledinės acto rūgšties. Mišinys kaitintas su grįžtamuju šaldytuvu. Sintzei pasibaigus produktas filtruotas, grynintas ir išdžiovintas.



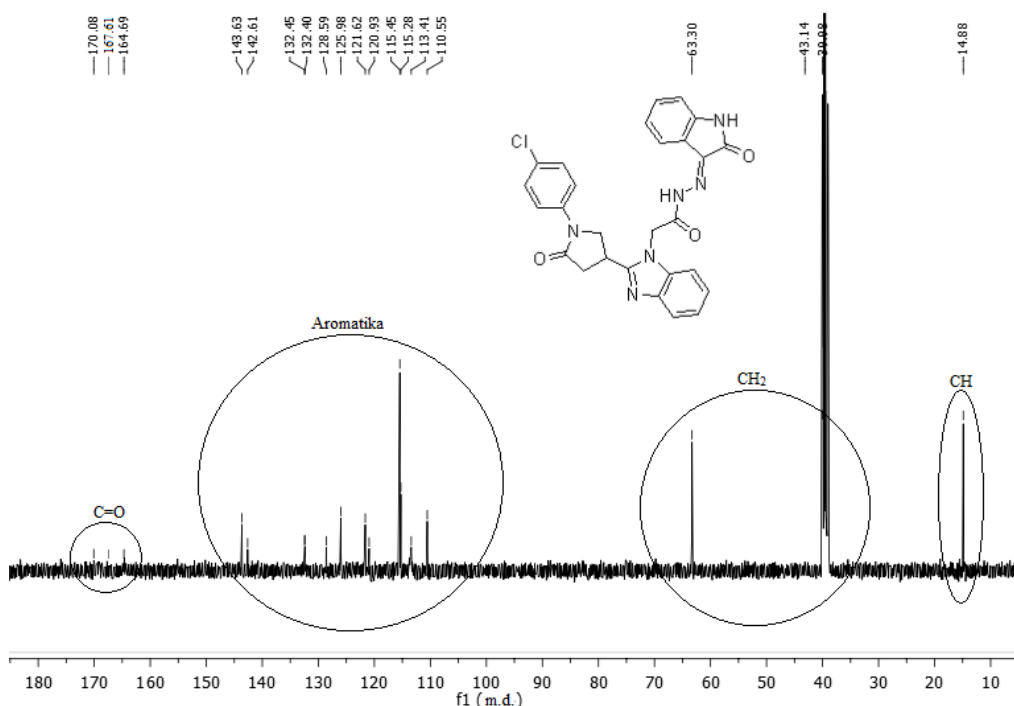
3.5 schema. 12 junginio sintezė

Protoniniame BMR spektre (žr. 3.12 pav.) matomi metileno grupių signalai ties 2,70–3,09, 3,33 ir 3,86–3,91 m.d. CH singletas yra ties 5,28 m.d., fenilo žiedų protonų smailės pasiskirsčiusios intervale 6,51–7,77 m.d., o NH protonų singletai matomi ties 10,77, 10,87, 11,14 ir 11,24 m.d.



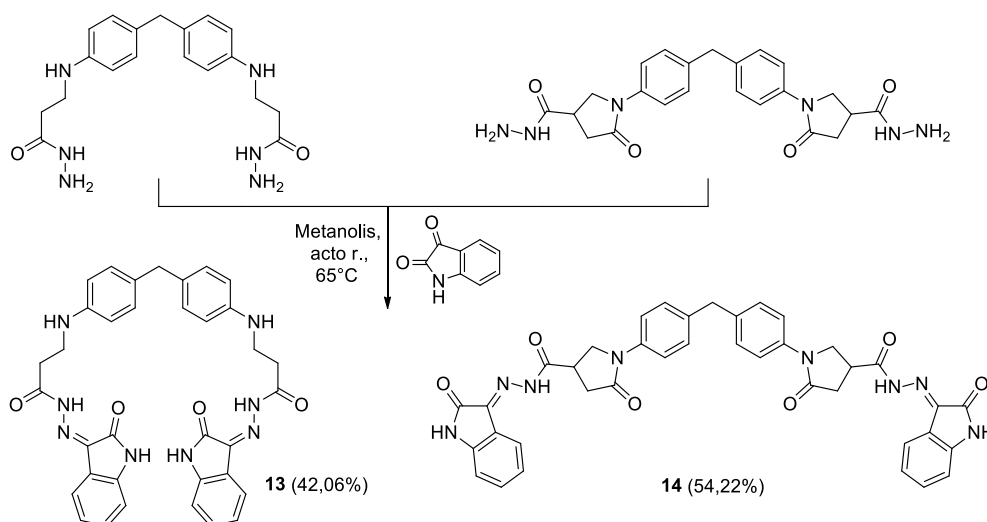
3.12 pav. 12 junginio ¹H BMR spektras

^{13}C BMR spektro duomenimis CH grupė yra ties 14,88 m.d, trys CH_2 anglies atomų signalai randami 39,98, 43,14 ir 63,30 m.d. Aromatinių žiedų anglinius atomus žymi smailės nuo 110,55 iki 143,63 m.d., o karbonilo grupės – 164,69, 167,61 ir 170,08 m.d (žr. 3.13 pav.).



3.13 pav. 12 junginio ^{13}C BMR spektras

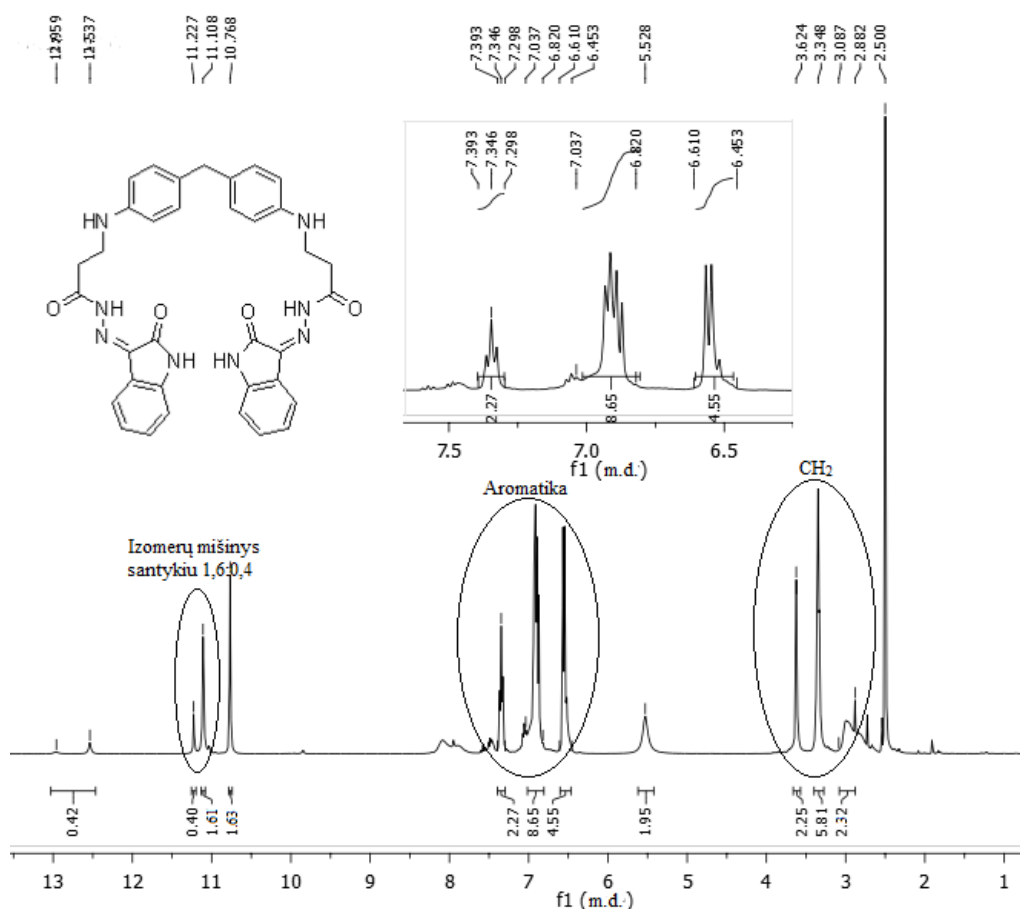
Naujai susintetinti junginiai **13**, **14** gauti atitinkamai iš 3,3'-((metilenebis(4,1-fenilen))bis(azanidil))di(propanhidrazido) ir 1,1'-(metilenebis(4,1-fenilen))bis(5-oksopirolidin-3-karbohidrazido). Pradinės medžiagos ištirpintos metanolyje, įdėta 12 mmol izatino ir įlašinta acto rūgšties. Pavirinus tirpalus 15–20 minučių gauti tiksliniai produktai, kurie filtruoti ir gryninti iš DMF ir H_2O mišinio (žr. 3.6 schemą).



3.6 schema. 13 ir 14 junginių sintezė

3,3'-((Metilenebis(4,1-fenilen))bis(azanedil))bis(*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido) (**13**) protoniniame spektre (žr. 3.14 pav.) matomos CH₂ grupių smailės: du multipletai, intervale 2,89–3,09 m.d. ir ties 3,35 m.d., bei singletas ties 3,62 m.d. Aromatikos protonų signalus galima išskirti į du multipletus ir tripletą, atitinkamai ties 6,45–6,61, 6,82–7,04 ir 7,35 m.d. NH signalų išsidėstymas leidžia spręsti apie gautą izomerų mišinį santykiu 80:20.

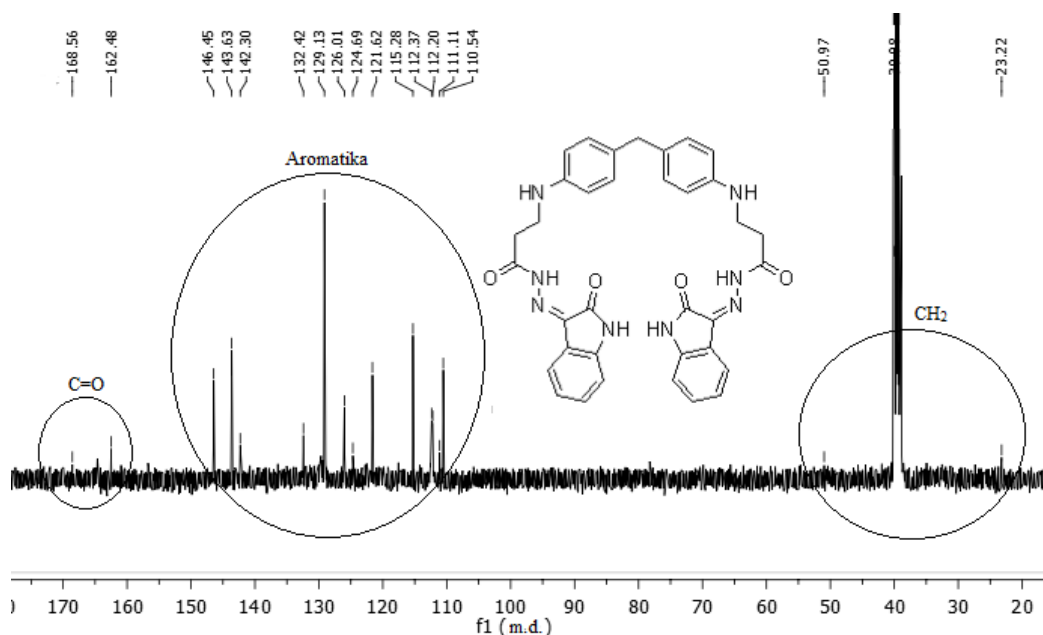
1,1'-((Metilenebis(4,1-fenilen))bis(5-okso-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)pirolidin-3-karbohidrazido) (**14**) ¹H BMR spektre metileno grupių signalai randami ties 2,61–2,96, 3,67 ir 3,89–4,16 m.d. Pastarasis signalas persidengia su NH grupės smaile. CH multipletai yra ties 3,34 ir 3,44 m.d. Fenilo žiedų protonų signalai pasiskirstę 6,65–7,84 m.d., o aminogrupių singletai išsidėstę tarp 10,19 ir 13,07 m.d.



3.14 pav. **13** junginio ¹H BMR spektras

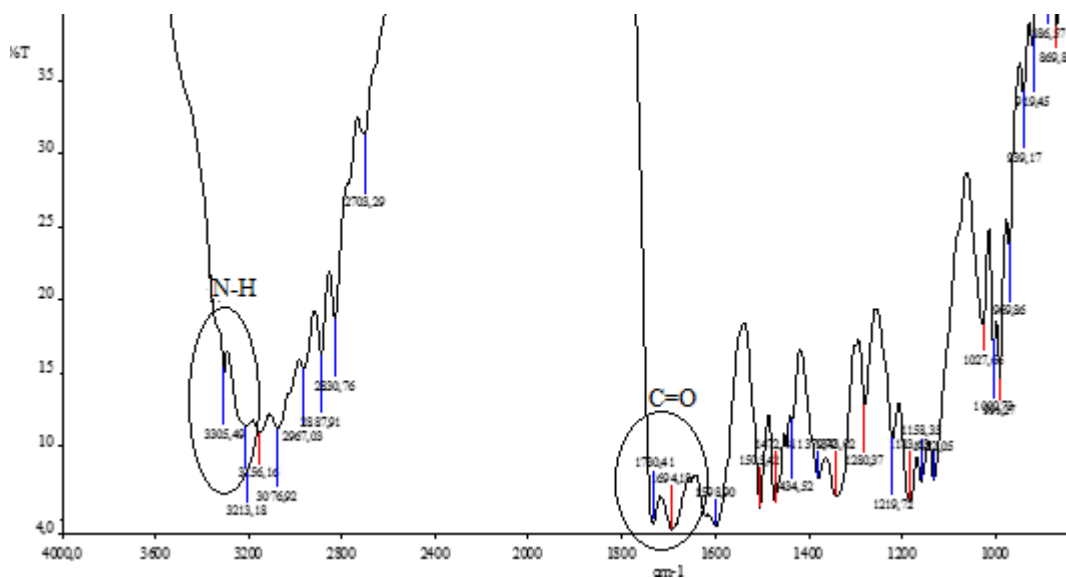
13 junginio ¹³C BMR spektre CH₂ grupės atpažįstamos iš smailių ties 23,22, 39,98 ir 50,97 m.d. Aromatinių žiedų anglies atomus žymintys signalai išsidėstę nuo 110,54 iki 146,45 m.d., o CO smailės pastebimos 162,48 ir 168,56 m.d (žr. 3.15 pav.).

1,1'-((Metilenebis(4,1-fenilen))bis(5-okso-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)pirolidin-3-karbohidrazido) (**14**) angliniame spektre išskiriamos šešios CH₂ anglies atomų smailės ties 32,34, 34,94, 39,83, 40,43, 49,75, 52,15 m.d., o tarp jų įsiterpę CH signalai, matomi ties 34,94 ir 34,96 m.d. Aromatikos anglies atomų smailės yra nuo 111,13 iki 150,71 m.d., o karbonilo grupių signalai matomi 159,37, 162,47, 171,30 ir 173,10 m.d.



3.15 pav. 13 junginio ^{13}C BMR spektras

Susintetintų junginių 7–14 IR spektruose matomos C=O ir N–H funkcinių grupių smailės. 7–11 hidrazonų spektruose smailių yra po dvi kiekvienai grupei: apie 1700 cm^{-1} karboksigrupių signalai, o virš 3100 cm^{-1} – N–H signalai. 2-(2-(1-(4-Chlorfenil)-5-oksopirolidin-3-il)-1H-benzoimidazol-1-il)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)acetohidrazido (12) spektre galima išskirti šias smailes: 1616, 1695, 1727 (C=O) ir 3269, 3340 (N–H). 13 junginio IR spektre atsiranda trys amino grupės signalai: $3160, 3225, 3352\text{ cm}^{-1}$, o 14 hidrazono – trys C=O smailes: $1665, 1694, 1734\text{ cm}^{-1}$.



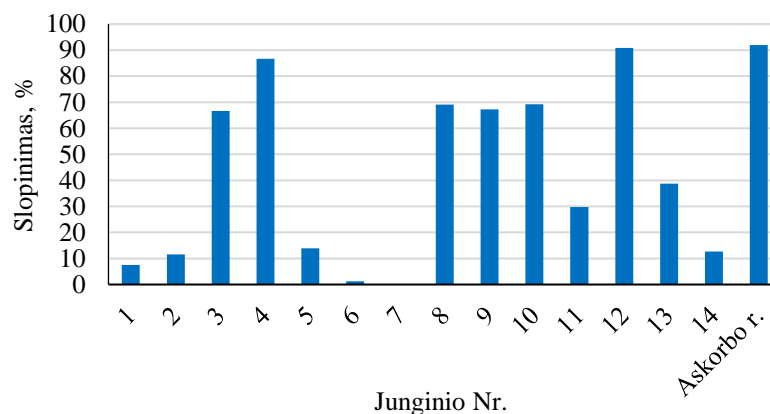
3.16 pav. 7 junginio IR spektras

3.2. Susintetintų junginių biologinių savybių tyrimų rezultatai

3.2.1. Biologiškai aktyvių junginių 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalo slopinimo įvertinimas

DPPH – tai stabilus radikalas, kurio surišimo galia vertinama tik organinėje terpėje. DPPH laisvųjų radikalų surišimo metodas, pagrįstas vandenilio atomo atidavimu radikalui, violetinė tirpalo spalva pasikeičia į geltoną.

Antioksidanto redukcinė (DPPH radikalų surišimo) galia gali būti įvertinta stebint tirpalo absorbcijos mažėjimą, kai bangos ilgis 512–528 nm [42].

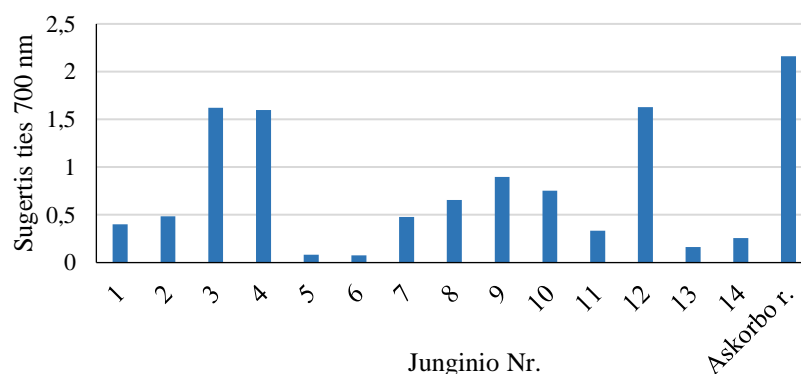


3.17 pav. Biologiškai aktyvių junginių DPPH radikalo slopinimo (%) duomenų diagrama

Geriausiu DPPH radikalo slopinimu iš naujai susintetintų junginių pasižymėjo 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**4**) ir 2-(2-(1-(4-chlorfenil)-5-okspiroolidin-3-il)-1*H*-benzoimidazol-1-il)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)acetohidrazidas (**12**) – slopinimo intensyvumas atitinkamai 86,67 ir 90,91 %. Galime pastebėti, kad monohidrazonuose ilgėjant pakaitui prie fenilo žiedo para– padėtyje (**1–4** junginiai), DPPH radikalo slopinimo aktyvumas ženkliai didėja.

3.2.2. Biologiškai aktyvių junginių redukcinių savybių įvertinimas

Šiame metode redukcinės junginių savybės apsprendžiamos šviesos sugertimi – didesnė šviesos sugertis reiškia geresnes redukcines savybes.

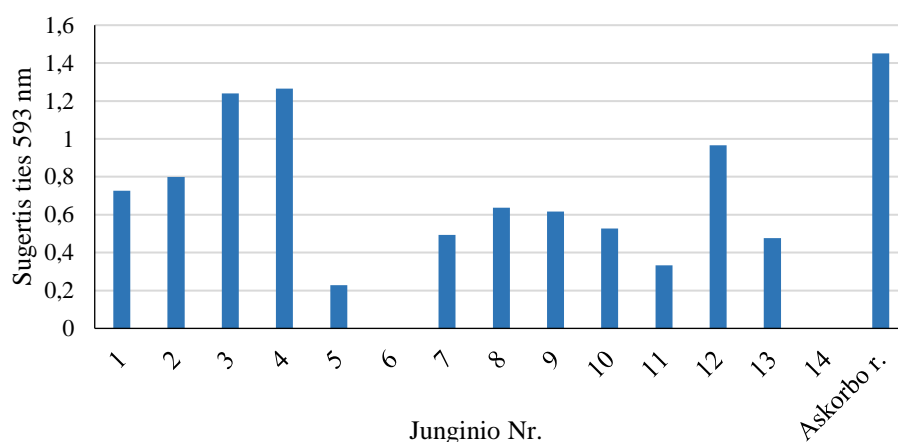


3.18 pav. Naujai susintetintų junginių redukcinių savybių nustatymo diagrama

Geriausiomis redukcinėmis savybėmis pasižymėjo 3-((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**3**), 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**4**) ir 2-(2-(1-(4-chlorfenil)-5-okspiroolidin-3-il)-1*H*-benzimidazol-1-il)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)acetohidrazidas (**12**): šviesos sugertys atitinkamai siekė 1,62, 1,59 ir 1,63. **4** ir **12** junginiai taip pat buvo aktyviausi DPPH radikalo slopinimo bandyme.

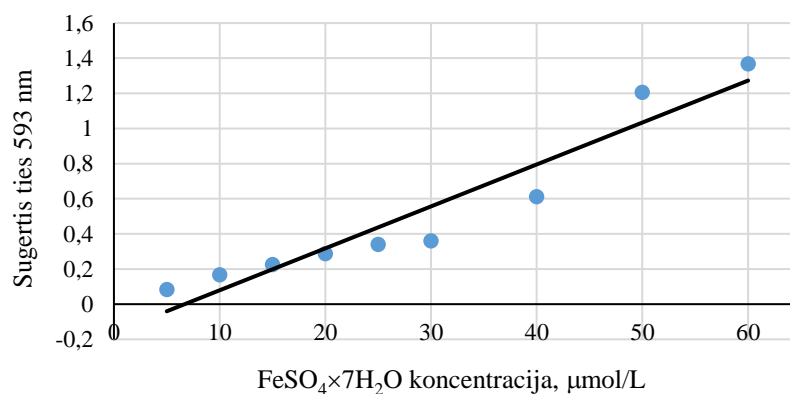
3.2.3. Biologiškai aktyvių junginių antioksidacinio aktyvumo pagal geležies redukcijos antioksidantinės galios metodą, naudojant 2,4,6-tripiridil-s-triaziną, įvertinimas

Geležies (III) kompleksas sąveikaudamas su antioksidantu virsta mėlynos spalvos geležies (II) kompleksu. Redukcinis aktyvumas nustatomas spektrofotometro pagalba matuojant tiriamųjų tirpalų absorbcijas esant 593 nm bangos ilgiui (3.19 pav.) [43].



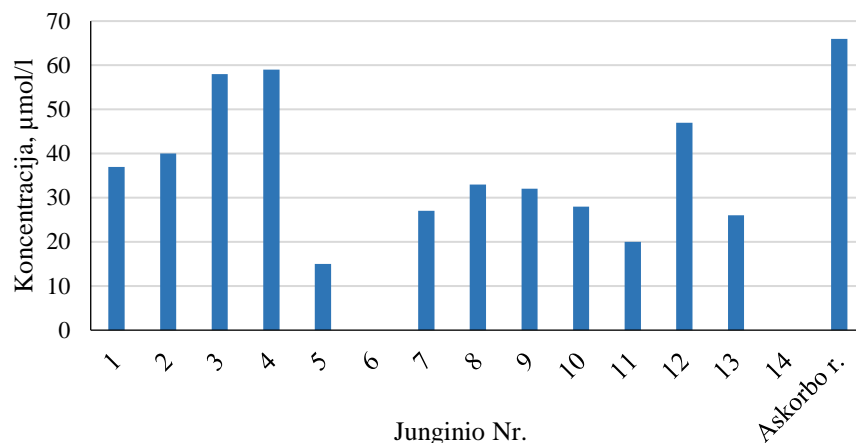
3.19 pav. Tiriamųjų junginių, sumaišytų su FRAP reagentu, 593 nm bangos sugertys

Sudaryta kalibracinė $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ kreivė (žr. 3.20 pav.).



3.20 pav. Kalibracinė kreivė FRAP metodui

Naudojantis kalibracine kreive ir junginių šviesos sugerties duomenimis, apskaičiuotos tiriamųjų junginių koncentracijos $\mu\text{mol/l}$ ir nustatytas jų antioksidacinis aktyvumas (žr. 3.21 pav.).

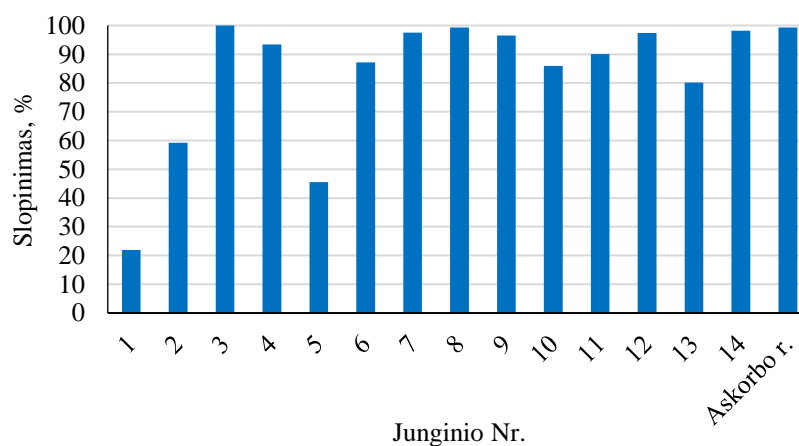


3.21 pav. Junginių koncentracijos $\mu\text{mol/l}$, prie kurių pasireiškė jų antioksidacinis aktyvumas

Didžiausiu antioksidaciniu aktyvumu iš naujai susintetintų junginių –3- ((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**3**) ir 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**4**) (koncentracijos atitinkamai 58 ir 59 $\mu\text{mol/l}$). Vėl galima stebėti antioksidacinio aktyvumo didėjimą, ilgėjant pakaitui prie fenilo žiedo monohidrazonuose (**1–4** junginiai). Toks pat dėsningumas atitinkamuose dihidrazonuose nepastebimas (**7–10** junginiai).

3.2.4. 2,2-Azino-bis(3-etilbenziazolin-6-sulfonrūgšties) radikalo slopinimo įvertinimas

Atliekant tyrimus šiuo metodu, matuojama tiriamųjų mėginių šviesos sugertis ties 734 nm. Išmatavus sugertis, buvo apskaičiuotas ABTS radikalo slopinimas, %. Tyrimo rezultatai pavaizduoti 3.22 pav.



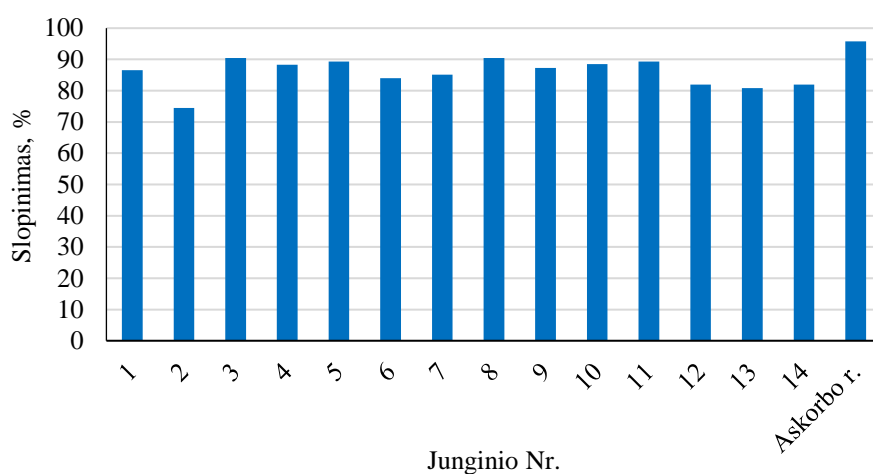
3.22 pav. Tiriamųjų junginių ABTS radikalo slopinimo rezultatai

Visi tiriamieji junginiai bent minimaliai slopino ATBS radikalą. Geriausiu slopinimu pasižymėjo 3-((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**3**) (100 %). Tuo tarpu 3-((3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(*p*-tolil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazdas (**8**) slopino ABTS radikalą tiek pat, kiek askorbo rūgštis. (99,35 %).

3.2.5. Deoksiribozės apsaugos nuo hidroksiradikalų metodas (nespecifinis)

Ištirta, kad polifenoliniai junginiai tiesiogiai reaguoja su laisvaisiais radikalais ir mažina peroksido kiekį biologinėse sistemose. Dėl gebėjimo surišti laisvuosius radikalus natūralūs antioksidantai užkerta kelia daugeliui ligų. Šios savybės yra susijusios su įvairiomis natūralių polifenolinių junginių struktūrinėmis charakteristikomis. Aromatinis žiedas flavanoidų molekulėje geba tiek atiduoti tiek prisijungti elektronus iš laisvųjų radikalų. Teigiama, kad antioksidantų gebėjimas sujungti laisvuosius radikalus yra susijęs su hidroksi– arba metoksigrupėmis, ypač orto– ir para– padėtyse [44]

Išmatuotos tirpalų sugertys 532 nm bangos ilgyje ir apskaičiuotas hidroksiradikalų slopinimas. Rezultatai matomi 3.23 paveiksle.



3.23 pav. Tiriamųjų junginių hidroksiradikalų slopinimo rezultatai

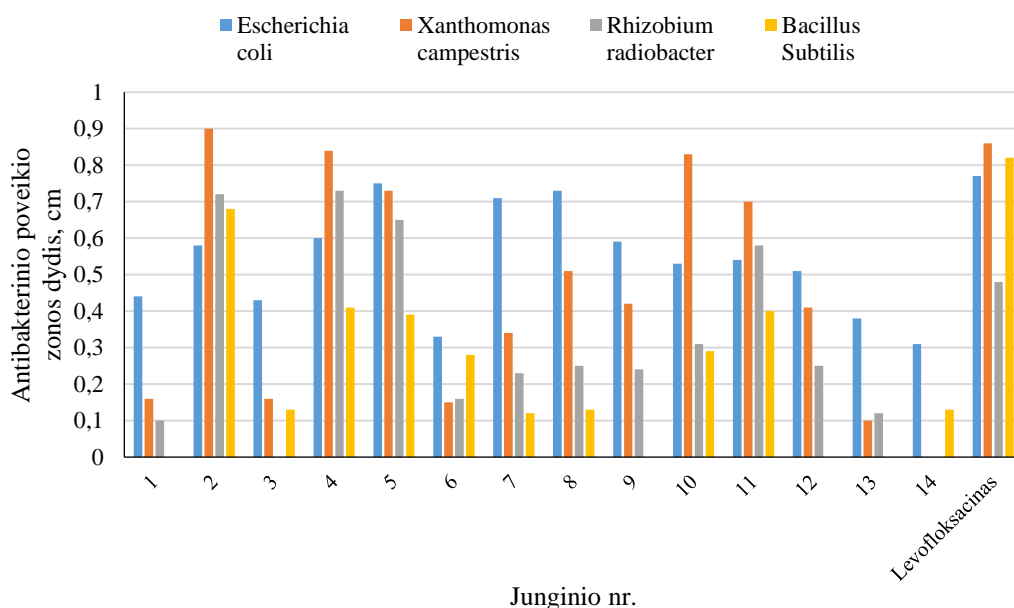
Visi naujai susintetinti hidrazonai labai gerai slopino hidroksiradikalus. Didžiausiu aktyvumu pasižymėjo 3-((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**3**) ir 3-((3-okso-3-(2-(2-oksoindolin-3-iliden)hidrazinil)propil)(*p*-tolil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**8**), jų hidroksiradikalų slopinimo procentai siekė 90,43 %. Būtent **3** hidrazonas fenilo žiedo para– padėtyje turi metoksigrupę, kuri, kaip jau minėta anksčiau, didina antioksidantų savybes surišti laisvuosius radikalus.

3.2.6. Biologiškai aktyvių junginių tirpalų antibakterinio aktyvumo nustatymas agaru difuziniu metodu

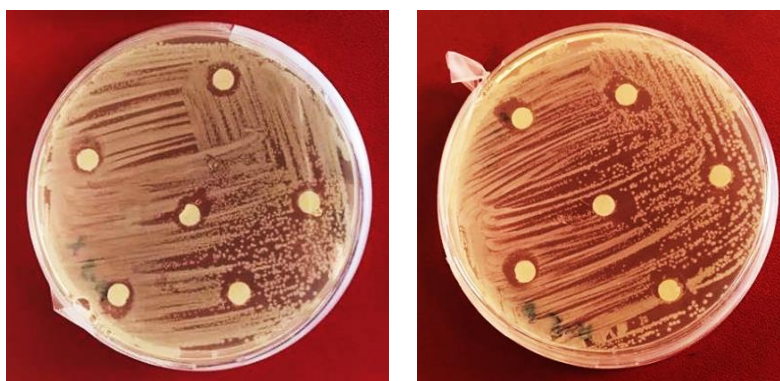
Stebėtas bakterijų augimas aplink sudrėkintus sintetinių junginių tirpalais ir antibiotiku levofloksacinu filtro popieriaus diskelius. Išmatuotas antibakterinio poveikio zonos dydis centimetrais. Pradinė tiriamųjų tirpalų koncentracija buvo 500 µg/ml, o levofloksacino – 12,5 µg/ml (žr. 3.24 pav.).

Prieš visas tirtas bakterijų rūšis antibakteriniu aktyvumu pasižymėjo didžioji dalis susintetintų junginių. Aktyviausiai hidrazonai veikė prieš *X. campestris* bakterijas. *N'*-(2-Oksoindolin-3-iliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazido (**2**) antibakterinio poveikio zonos dydis siekė 0,9 cm, o 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**4**) – 0,84 cm (3.25 pav.). Prieš vienintelę tirtą gram–teigiamų bakterijų rūšį *B. subtilis* geriausiai veikė taip pat *N'*-(2-oksoindolin-

3-iliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas (**2**) – 0,68 cm ir 3-((4-etoksifenil) amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**4**) – 0,41 cm. Galima pastebėti dėšningumą tarp kai kurių mono- ir atitinkamų dihidrazonų poveikio *R. radiobacter*: monohidrazonai **2**, **4** ir **5** veikė aktyviau nei panašūs dihidrazonai **8**, **10** ir **11**. *E. coli* bakterijų augimą labiausiai slopino 3-((4-bromfenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**5**) – antibakterinio poveikio zonos dydis 0,75 cm (žr. 3.26 pav.). Gerą junginių antibakterinį aktyvumą galima sieti su metilo (**2** junginys), etoksi- (**4** ir **10** junginys) bei halogenų, bromo ir chloro (**5** ir **11** junginiai) funkcinių grupių buvimu junginių struktūrose.



3.24 pav. Tiriamųjų 500 µg/ml koncentracijos junginių antibakterinio aktyvumo rezultatai



3.25 ir 3.26 pav. 3-((4-Etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**4**) antibakterinis poveikis *X. campestris* bakterijoms ir 3-((4-bromfenil) amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**5**) poveikis *E. coli*

Vėliau nuspręsta iširti mažesnės koncentracijos hidrazonų antibakterines savybes. Nustatyta, kad 250 µg/ml ir 300 µg/ml koncentracijų junginiai nebeslopina bakterijų augimo.

4. Rekomendacijų dalis

Susintetinti, tirti ir šiame darbe aprašyti heterocikliniai junginiai, turintys izatino fragmentą, pasižymi redukcinėmis, antibakterinėmis, antioksidacinėmis savybėmis, todėl gali būti naudojami medicinoje, kuriant naujus antibakterinius ir priešuždegiminius vaistus [15]. Norint pagaminti pramoninius šių junginių kiekius, reikia sukurti tinkamą gamybos metodiką. Geriausiomis biologinėmis savybėmis iš tirtų junginių išsiskyrė 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**4**), tad nuspręsta 4.1 ir 4.2 skyreliuose pateikti šio junginio sintezės aparatūrinę schemą ir rekomendacijas.

4.1. 3-((4-Etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**4**) gamybos aparatūra ir žaliavos

3-((4-Etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**4**) sintezei naudojami reagentai:

1. 3-((4-etoksifenil)amino)propanhidrazidas – pradinė organinė medžiaga, susintetinta pagal ankstesnius KTU Organinės chemijos katedros mokslinės grupės atliktus tyrimus.
2. izatinas – reagentas sintezės reakcijai iš „Sigma–Aldrich“.
3. metanolis (CH₃OH) – tirpiklis kondensacijos reakcijoje iš UAB „Eurochemicals“.
4. acto rūgštis (CH₃COOH) – naudojama kaip reakcijos katalizatorius iš UAB „Eurochemicals“.
5. dimetilformamidas (DMF) – naudojamas praplauti susidariusio produkto (**4**) kristalams iš „PENTA“.

4.1 lentelė. Gamybos linijos aparatūra

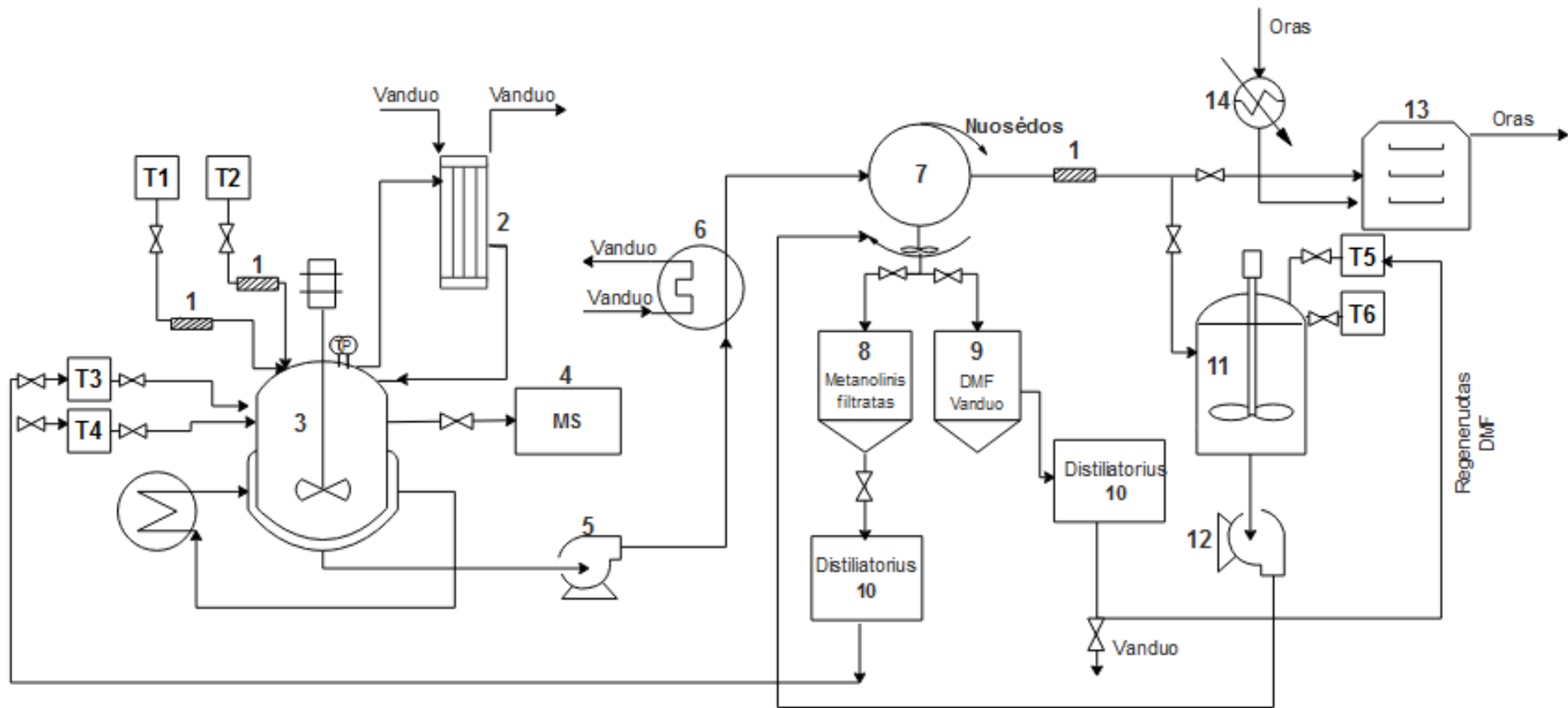
| Įrenginio Nr. | Įrenginys | Įrenginio Nr. | Įrenginys |
|---------------|--------------------------|---------------|-----------------------------|
| T1–T6 | Rezervuarai | 7 | Būgninis vakuuminis filtras |
| 1 | Sraigtinis transporteris | 8, 9 | Talpos |
| 2 | Kondensatorius | 10 | Distiliatorius |
| 3 | Reaktorius | 11 | Maišytuvas |
| 4 | Masių spektrometras | 13 | Konvekcinė džiovyklė |
| 5, 12 | Išcentriniai siurbliai | 14 | Šildytuvas |
| 6 | Aušintuvas | | |

3-((4-Etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (**4**) periodinės gamybos rodikliai:

- temperatūra: 65 °C
- reakcijos trukmė: 15–20 min.

4.2. Siūloma 3-((4-etoksifenil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido (4) periodinės gamybos schema

Sintezei reikalingos birios medžiagos – 3-((4-etoksifenil)amino)propanhidrazidas 11,2 kg, 1 ekv. (rezervuaras **T1**) ir izatinas 8,8 kg, 1,2 ekv. (rezervuaras **T2**) – sraigtiniais transporteriais **1** tiekiamos į 1000 L talpos reaktorių **3**. Iš rezervuaro **T3** tiekama 100 L metanolio, o iš **T4** –100 ml acto rūgšties. Mišinys reaktoriuje maišomas propelerine maišykle, kaitinamas metanolio virimo temperatūroje (65 °C), atmosferiniame slėgyje 15–20 minučių. Temperatūros fiksavimui naudojamas temperatūros matuoklis, slėgio matavimui – manometras. Reakcijos metu susidarę metanolio garai kondensuojami vandeniu vėsiamame kondensatoriuje **2** ir grįžta atgal į reaktorių. Po 15 minučių, nedidelis kiekis reaktoriuje esančios suspensijos patenka į masių spektrometrą **4**, kuriame nustatoma tiksli gauto junginio molekulinė masė. Patvirtinus, jog gautas tikslinis junginys – 3-((4-etoksifenil)amino)-N'-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas (**5**) – atsidarius sklendei reakcijos mišinys siurbliu **5** transportuojamas į aušintuvą **6**, kuriame atvėsinama iki kambario temperatūros (~20 °C). Atvėsintas reakcijos mišinys tiekiamas į būgninį vakuuminį filtrą **7**, kur atskiriamos nuosėdos kartu su produkto kristalais. Metanolinis filtratas atsidarius sklendei išleidžiamas į talpą **8**, iš jos – į distiliatorių **10**. Pirmiausia nudistiliuojamas metanolis, kuris grąžinamas į rezervuarą **T3** tolesniam naudojimui, o likusi acto rūgštis grąžinama į **T4**. Tuo tarpu gautos sausos nuosėdos nugramdomos peiliu ir iš filtro **7** sraigtiniu transporteriu **1** parkeliamos tiesiai į 500 L talpos maišytuvą **11**. Maišytuve **11** nuosėdos praplaunamos iš rezervuaro **T5** tiekiamu DMF bei iš rezervuaro **T6** tiekiamu vandeniu. Praplovus nuosėdas, suspensija išcentrinu siurbliu **12** vėl grąžinama filtruoti į būgninį vakuuminį filtrą **7**. Nufiltruotas DMF ir vandens mišinys atsidarius sklendei teka į **9** talpą. Iš jos – į distiliatorių **10**. Atskirtas vanduo išleidžiamas į vandens valymo įrenginius, o regeneruotas DMF grąžinamas į rezervuarą **T5** vėlesniam naudojimui. Iš būgninio vakuuminio filtro **7** atskirtos produkto nuosėdos peilio pagalba patenka ant sraigtinio transporterio **1**, iš kurio perkeliamos į konvekcinę džiovyklę **13** ir džiovinamos šildytuve **14** pakaitintu oru (40–50 °C).



Išvados

1. Susintetinta 14 naujų, vieną ir du izatino fragmentus turinčių hidrazono tipo junginių.
2. Išanalizavus gautų junginių spektrus, nustatyta, kad hidrazonai dimetilsulfoksido tirpaluose egzistuoja *E/Z* izomerų mišinių pavidalu.
3. Geriausiomis antioksidacinėmis savybėmis pasižymėjo 3-((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas ir 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas. Pastarasis junginys slopino 2,2-difenil-1-pikrihidrazilo radikalą net 90,91 %. Abu junginiai parodė aukščiausius rezultatus redukcinių savybių ir antioksidacinio aktyvumo pagal geležies redukcijos antioksidantinės galios metodą nustatymo tyrimuose. 3-((4-metoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazido 2,2-azino-bis-(3-etilbenziazolin-6-sulfonilinės rūgšties) radikalo slopinimas siekė 100 %.
4. Antibakterinio aktyvumo tyrimuose išsiskyrė *N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)-3-(*p*-tolilamino)propanhidrazidas ir 3-((4-etoksifenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas. Šie naujai susintetinti 500 µg/ml koncentracijos junginiai labiausiai slopino *X. campestris* ir *B. subtilis* bakterijų augimą. *E. coli* bakterijų augimą stipriausiai inhibavo 3-((4-bromfenil)amino)-*N'*-(2-oksoindolin-3-iliden)propanhidrazidas.
5. Išanalizavus naujai susintetintų junginių biologinių savybių rezultatus galima teigti, kad ilgėjant pakaitui prie fenilo žiedo monohidrazonuose, stebimas jų aktyvumo didėjimas. Visgi to paties dėsningumo nematoma dihidrazonuose. Taip pat monohidrazonai daugumoje bandymų buvo gerokai aktyvesni nei atitinkami dihidrazonai. Gerą junginių biologinį aktyvumą galima sieti su metilo, etoksi– bei bromo funkcinių grupių buvimu junginių struktūrose.

Literatūros sąrašas

1. EL-FAHAM, A., et. al. Synthesis, Characterization, and Anti-Cancer Activity of some New *N'*-(2-Oxindolin-3-Ylidene)-2-Propylpentane Hydrazide-Hydrazones Derivatives. *Molecules*, 2015, 20 (8), 14638-14655. ISSN 1420-3049.
2. POPIOŁEK, Ł. Hydrazide-hydrazones as Potential Antimicrobial Agents: Overview of the Literature since 2010. *Medicinal Chemistry Research*, 2017, 26, 287-301. ISSN 1554-8120.
3. TAUTKEVIČIENĖ, G. Izatino Struktūrą Turinčių Junginių Sintezė, Analizė Ir Jų Metabolitų Pokyčio Veikiant *S. Aureus* Tyrimas. *Magistro Baigiamasis Darbas*, Lietuvos Sveikatos Mokslų Univesitetas, Farmacijos Fakultetas, Vaistų Chemijos Katedra, 2016.
4. BALA, S., et al. Hydrazones as Promising Lead with Diversity in Bioactivity-Therapeutic Potential in Present Scenario. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* [interaktyvus], 2013, 18 (1), 65-74 [žiūrėta 2019-01-23]. Prieiga per researchgate.
5. ROLLAS, S. and Ş. KÜÇÜKGÜZEL. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Molecules*, 2007, 12, 1910-1939, doi: 10.3390/12081910.
6. GOVINDASAMI, T., PANDEY, A. and N. PALANIVELU. Synthesis, Characterization and Antibacterial Activity of Biologically Important Vanillin Related Hydrazone Derivatives. *International Journal of Organic Chemistry*, 2011, 1, 71-77, doi: 10.4236/ijoc.2011.13012.
7. VINE, K.L., MATESIC, L. and J.M. LOCKE DS. Recent Highlights in the Development of Isatin Based Anticancer Agents. *Advances in Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, 2013, 2, 254-312, doi: 10.2174/9781608054961113020008.
8. SOUZA, R. and A. CHATTREE. Design, Synthesis and Biological Activities of Isatin Derivatives. *Chemical Science Transactions*, 2015, 4 (1), 208-212, doi: 10.7598/cst2015.928.
9. SAMMAIAH, G. and SARANGAPANI, M. Synthesis and Biological Activity of Phenyl Amino Acetic Acid (2-Oxo-1,2-Dihydroindol-3-Ylidene)Hydrazides. *Asian Journal of Chemistry* [interaktyvus], 2008, 20 (1), 75-80 [žiūrėta 2019-02-20]. Prieiga per researchgate.
10. KATHERASHALA, S., BOLLAM, B., GARREPALLI, S. and S. BETHI. Synthesis and Evaluation of Novel Isatin Derivatives for Antimicrobial Activity. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2014, 7 (2), 182-184. ISSN 0974-2441.
11. NAGLAH, A.M., et. al. Microwave-Assisted Synthesis and Antimicrobial Activity of some Novel Isatin Schiff Bases Linked to Nicotinic Acid Via Certain Amino Acid Bridge. *Journal of Chemistry*, 2015, ID364841, doi: 10.1155/2015/364841.
12. SHARGI, H. and M.A. NASSER. Schiff- Base Metal (II) Complexes as New Catalysts in the Efficient, Mild and Regioselective Conversion of 1,2-Epoxyethanes to 2-Hydroxyethyl Thiocyanates with Ammonium Thiocyanate. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2003, 76, 137-142, doi: 10.1246/bcsj.76.137.
13. ABU-DIEF, A.M. and I.M.A. MOHAMED. A Review on Versatile Applications of Transition Metal Complexes Incorporating Schiff Bases. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2015, 4, 119-133. ISSN 2314-8535.
14. DEVI, P.P., CHIPEMA, F.A.S., SIINGH, C.B. and R. K. LONIBALA. Complexation of 2-Amino-3-(4-Hydroxyphenyl)-*N'*-[(2-Hydroxyphenyl) Methylene] Propane Hydrazide with Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Ions: Structural Characterization, DFT, DNA Binding and Antimicrobial Studies. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1176, 7-18, doi: 10.1016/j.molstruc.2018.08.070.

15. TEHRANI, K., et al. Synthesis and Antibacterial Activity of Schiff Bases of 5-Substituted Isatins. *Chinese Chemical Letters*, 2016, 27 (2), 221-225, doi: 10.1016/j.ccllet.2015.10.027.
16. ALI, A., et al. The Impact of a Breast Cancer Diagnosis in Young Women on their Relationship with their Mothers. *Breast*, 2014, 23, 50-55, doi: 10.1016/j.breast.2013.10.004.
17. LAM, S.W., JIMENEZ, C.R. and E. BOVEN. Breast Cancer Classification by Proteomic Technologies: Current State of Knowledge. *Cancer*, 2014, 40, 129-138, doi: 10.1016/j.ctrv.2013.06.006.
18. FLEFEL, E.M., ABBAS, S., ABDEL MAGEID, R.E. and W. A. ZAGHARY. Synthesis and Cytotoxic Effect of some Novel 1,2-Dihydropyridin-3-Carbonitrile and Nicotinonitrile Derivatives. *Molecules*, 2016, 21 (1), doi: 10.3390/molecules21010030.
19. TAHER, A.T., GEORGEY, H.H. and H.I. EL-SUBBAGH. Novel 1,3,4-Heterodiazole Analogues: Synthesis and in Vitro Antitumor Activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2012, 47, 445-451, doi: 10.1016/j.ejmech.2011.11.013.
20. YANG, D., et al. Copper-Catalyzed Domino Synthesis of Nitrogen Heterocycle-Fused Benzoimidazole and 1,2,4- Benzothiadiazine 1,1-Dioxide Derivatives. *ACS Combinatorial Science*, 2015, 17, 113-119, doi: 10.1021/co500125n.
21. AKHTAR, J., et al. Structure-Activity Relationship (SAR) Study and Design Strategies of Nitrogen-Containing Heterocyclic Moieties for their Anticancer Activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 125, 143-189, doi: 10.1016/j.ejmech.2016.09.023.
22. GHOMI, J.S. An Efficient Synthesis of Sulfonylhydrazides and Sulfonylsemicarbazides by Utilizing Alumina as a Catalys. *Journal of Chinese Chemical Society Taipei*, 2007, 54 (6), doi: 10.1002/jccs.200700220.
23. MURTAZA, S., et al. Synthesis, Biological Investigation, Calf Thymus DNA Binding and Docking Studies of the Sulfonyl Hydrazides and their Derivatives. *Journal of Molecular Structure*, 2016, 1107, 99-108, doi: 10.1016/j.molstruc.2015.11.046.
24. JUGDÉ, H., NGUY, D., MOLLER, I. and J.M. COONEY. Isolation and Characterization of a Novel Glycosyltransferase that Converts Phloretin to Phlorizin, a Potent Antioxidant in Apple. *FEBS*, 2008, 75, 3804-3814, doi: 10.1111/j.1742-4658.2008.06526.x.
25. ZUO, A., et al. Hepatoprotective Effects and Antioxidant, Antityrosinase Activities of Phloretin and Phloretin Isonicotinyl Hydrazone. *Journal of the Chinese Medical Association*, 2014, 77 (6), 290-301, doi: 10.1016/j.jcma.2014.01.007.
26. BAL-DEMIRCI, T., et al. Synthesis and Antioxidant Activities of Transition Metal Complexes Based 3-Hydroxysalicylaldehyde-S-Methylthiosemicarbazone. *Spectrochimica Acta, Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 138, 866-872, doi: 10.1016/j.saa.2014.10.088.
27. MARTELLI, G. and D. GIACOMINI. Antibacterial and Antioxidant Activities for Natural and Synthetic Dual-Active Compounds. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2018, 158, 91-105, doi: 10.1016/j.ejmech.2018.09.009.
28. SINGH, V.P., et al. Synthesis, Spectral and Single Crystal X-Ray Diffraction Studies on Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Complexes with *O*-Amino Acetophenone Benzoyl Hydrazone. *Polyhedron*, 2013, 56, 71-81.
29. EL-GAMMAL, O.A., RAKHA, T.H., METWALLY, H.M. and G.M. ABU EL-REASH. Synthesis, Characterization, DFT and Biological Studies of Isatinpicolinohydrazone and its Zn(II), Cd(II) and Hg(II) Complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, 127, 144-156, doi: 10.1016/j.saa.2014.02.008.

30. JAUTELAT, R., et al. From the Insoluble Dye Indirubin Towards Highly Active, Soluble CDK2-Inhibitors. *ChemBioChem*, 2005, 6, 531-540, doi: 10.1002/cbic.200400108.
31. IBRAHIM, H.S., et al. Bis-Isatin Hydrazones with Novel Linkers: Synthesis and Biological Evaluation as Cytotoxic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2016, 108, 415-422, doi: 10.1016/j.ejmech.2015.11.047.
32. KERRU, N., et al. Recent Advances (2015–2016) in Anticancer Hybrids. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2017, 142, 179-212, doi: 10.1016/j.ejmech.2017.07.033.
33. VIEGAS JUNIOR, C. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. *Current Medicinal Chemistry*, 2007, 14 (17), 1829-1852, doi: 10.2174/092986707781058805.
34. KATIYAR, A., et al. Synthesis and Evaluation of the Biological Activity of *N'*-[2-Oxo-1,2-Dihydro-3*H*-Indol-3-Ylidene] Benzohydrazides as Potential Anticancer Hybrids. *RCS Advances*, 2015, 5, 45492-45501, doi: 10.1039/C5RA01528F.
35. GABR, M.T., EL-GOHARY, N.S., EL-BENDARY, E.R. and EL-KERDAWY, M.M. Synthesis and *in Vitro* Antitumor Activity of New Series of Benzothiazole and Pyrimido[2,1-*B*]Benzothiazole Derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 85, 576-592, doi: 10.1016/j.ejmech.2014.07.097.
36. a) TUMOSIENĖ, I., et al. Synthesis of 1-(5-Chloro-2-Hydroxyphenyl)-5-Oxopyrrolidine-3-Carboxylic Acid Derivatives and their Antioxidant Activity. *Molecules*, 2019, 24, 971.
b) Tumosienė, I., et al. Synthesis of azole derivatives from 3-phenylaminopropanohydrazide and evaluation of their antimicrobial efficacy. *Heterocycles*. 2009, 78, 1, 59-70. ISSN 0385-5414. c) Tumosienė, I.; Jakienė, E.; Beresnevičius, Z. J.; Mikulskienė, G. *N*-Fenil- ir *N*-(4-metilfenil)-*N*-karboksietil-β-alaninų dihidrazidų sintezė ir savybės. *Cheminė technologija*. 2006, 3(41), 58-64.
37. OYAIZU, M. Studies on Products of Browning Reactions: Antioxidant Activities of Products of Browning Reaction Prepared from Glucosamine. *The Journal of Nutrition.*, 1986, 44, 307-315. ISSN 0021-5147
38. DEJIAN, H., BOXIN, O. and R. R. PRIOR. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53, 1841-1856, doi: 10.1021/jf030723c.
39. VENKATACHALAM, H., YOGENDRA, N. and B. S. JAYASHREE. Evaluation of the Antioxidant Activity of Novel Synthetic Chalcones and Flavonols.. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 2012, 3 (3), 216-219.
40. PARAMAGURU, R., et al. Evaluation of Antioxidant and DNA Nicking Potential Along with HPTLC Fingerprint Analysis of Different Parts of *Pterospermum Acerifolium* (L.) Willd. *Free Radicals and Antioxidants*, 2013, 3, 100-106.
41. HEATHLEY, N.G. A Method for the Assay of Penicilin. *Biochemistry Journal*, 1944, 38, 61–65.
42. KARADAG, A., OZCELIK, B. and S. SANER. Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analysis Methods*, 2009, 2, 41-60.
43. GRINIŪTĖ, G. Paprastųjų Raudonėlių (*Origanum Vulgare* L.) Arbatų Antioksidacinio Aktyvumo Tyrimas. *Magistro Baigiamasis Darbas*, Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, Farmacijos fakultetas, 2014.
44. STANKEVIČIUS, M. Kapiliarinės Elektroferezės Apjungimas Su Reakcijos Detektoriumi Analičių Antioksidacinio Aktyvumo Tiesioginiam Nustatymui. *Magistro Baigiamasis Darbas*, Vytauto Didžiojo universitetas, Biochemijos ir biotechnologijos katedra, 2009.