Міністерство освіти і науки України

Ніжинський державний університет імені Миколи Гоголя

Навчально-науковий інститут природничо-математичних,

медико-біологічних наук та інформаційних технологій

Кафедра хімії та фармації

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня магістр

«СИНТЕЗ ТА ПОШУК БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ СПОЛУК СЕРЕД ПОХІДНИХ 6-АЛКІЛ-[1,2,4]-ТРИАЗИН-5-ОНІВ»

Студентки IV курсу
Галузь знань: 22 Охорона здоров'я
Спеціальність: 226 Фармація, промислова фармація
Полторацької Дарини Олександрівни
Керівник: д. фарм. н., професор
Демченко Анатолій Михайлович

Підпис наукового керівника: _____
_____

Національна шкала _____
Кількість балів: _____
Оцінка: ECTS _____
Голова комісії

_____ _____

Члени комісії

_____ _____

_____ _____

Ніжин – 2023 рік

ЗМІСТ

РОЗДІЛ І. ТРИАЗИНИ: КЛАСИФІКАЦІЯ, ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)…… 3

1.1. Загальна характеристика та класифікація триазинів……...7

1.2. Методи одержання 1,2,4-триазинів та їх похідних …… …9

1.3. Фізико-хімічні властивості 1,2,4-триазинів та їх похідних ……...11

1.4. Несиметричні 1,2,4-триазини як перспективні БАР та фармацевтичні субстанції ……...19

1.5. Заключення. Постановка задачі……21

РОЗДІЛ ІІ. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ……...23

2.1. Матеріали……23

2.2. Хімічний аналіз……..23

2.3. Біологічні дослідження похідних 1,2,4-триазину……24

2.3.1. Дослідження протиепілептичної активності заміщених 6-(алкіл)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів…… …24

2.3.2. Дослідження противірусної активності похідних R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів 26

РОЗДІЛ ІІІ. СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 6-АЛКІЛ-[1,2,4]-ТРИАЗИН-5-ОНІВ……..…….27

3.1. Синтез заміщених 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів……...27

3.2. Синтез ряду R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-он-3-тіометилкарбонової кислоти……...32

3.3. Біологічна активність похідних 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів……33

3.3.1. Протисудомна активність 6-(алкіл)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів……34

3.3.2. Противірусна активність R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів……36

ВИСНОВКИ……...38

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ…….....39

ДОДАТКИ……..46

ВСТУП

На сьогодні відбувається бурхливий розвиток різних галузей органічної хімії. Особливу роль відіграють сполуки з різними гетеро атомами. Це пояснюється широким спектром різноманіття біологічної дії серед цих гетероциклічних сполук. Шестичленні гетероциклічні сполуки відіграють особливу роль насамперед їх практичним застосування.

Наприклад, широке застосування 1,3,5-триазинів було запропоновано швейцарською фірмою Гейги і перші препарати на їх основі з'явились на ринку у 1955 р. Серед них були такі відомі препарати, як симазин, пропазин, прометрин та аметрин. Вони дуже широко застосовувались у сільському господарстві у всьому світі.

Похідні 1,2,4-триазину війшли в промислову практику з кінця 70-х років. Це відомі бренди: метрибузин (препарат "Зенкор") та метамітрон ("Голтікс").

На сьогодні хімія похідних 1,2,4-триазину набула бурхливого розвитку. Деякі з похідних 1,2,4-триазину використовують як гербіциди, пестициди та ліки. Серед них знайдено сполуки, які виявляють церебропротекторну, антимікробну, протипухлинну, противірусну, фунгіцидну та інші види активності [11,12].

В останні роки, у якості антиепілептичних засобів, значний інтерес викликають похідні різних класів триазинів. Так для похідних 1,2-дигідро-1,2,4-триазин-3(6*H*)-онів характерна виражена протисудомна активність без жодних ознак нейротоксичності або гепатотоксичності. Механізм дії сполук пов'язано з модуляції системи ГАМК [45]. Виявлено значну протисудомну дію похідних 2,4-диаміно-1,3,5-триазину, механізм протисудомної активності реалізувався блокадою нейрональних натрієвих каналів [36]. Синтезовані 5,6-бісарил-1,2,4-триазин-3-тіолзаміщених похідні характеризувались значною протисудомною активність на моделях максимального електрошоку і

пентилентетразол-індукованих судом, яка була пов’язана з каналом взаємодією з ГАМК-рецепторами та натрієвими каналами у ЦНС [33].

Також, починаючі з 2019 р. у світі було оголошено пандемічний стан щодо штаму вірусу SARS-CoV-2, що дуже гостро становить питання пошуки сполук – інгібіторів щодо даного штаму корона-вірусу.

Отже, синтез та дослідження протисудомних та противірусних властивостей похідних 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів представляє не лише науковий, а й практичний клінічний інтерес.

Мета роботи: синтез та дослідження фармакологічних властивостей похідних 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

1. Проаналізувати літературу з методів синтезу несиметричних триазинів та їх біологічних властивостей.
2. Синтезувати та розробити методи синтезу похідних 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів, 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів та ряду R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-он-3-тіометилкарбонової кислоти.
3. Дослідити протисудомну активність похідних 6-(*трет* -бутил)-3-R-4H-[1,2,4] триазин-5-онів та 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів.
4. Методом молекулярного докінгу спрогнозувати противірусну дію похідних R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів по відношенню до вірусу SARS-CoV-2.

Об’єкт дослідження: нові заміщені 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-они.

Предмет дослідження: синтез та дослідження біологічної активності нових заміщених 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів.

Методи дослідження: для виконання поставлених завдань магістерської роботи застосовували синтетичні, спектральні, біологічні та статистичні методи досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Одержані нові заміщені 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів. За допомогою спектральних методів встановлена будова синтезованих сполук. Досліджено їх протисудомну та противірусну активність. Доведено, що синтезовані сполуки можуть мати практичний інтерес для створення перспективних фармацевтичних субстанцій.

Особистий внесок дослідника. Полягає в аналізі літературних джерел, приготуванні зразків, дослідженні одержаних матеріалів, опрацюванні та інтерпретації експериментальних даних, узагальненні результатів, підготовці публікацій (тез доповідей). Ідея розробки належить науковому керівникові д.фарм.н., професору Демченко А.М. Обговорення результатів дослідження, формування структури роботи, формулювання висновків проводились спільно з науковим керівником.

Апробація результатів досліджень. Результати магістерської роботи доповідалися і обговорювалися на IV науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (м. Харків, 19 травня 2022 р.).

Публікації:

1. Пошук сполук, активних по відношенню до вірусу SARS-CoV-2 серед R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів. Є.М.Новодворський, Д.О Полторацька, О. В. Москаленко, А.М. Демченко. Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації. IV науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю (19 травня 2022 р.). – Х. : Вид-во НФаУ, 2022. с. 264-265.

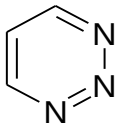
2. Синтез і протисудомна активність похідних 6-алкіл(аралкіл)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів. Є. М. Новодворський, З. С. Суворова, І. В. Комаров, Д. О. Полторацька та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*, 2022. Т.16, № 5. С.310-319.

Структура і обсяг магістерської роботи. Робота викладена на 52 сторінках і включає вступ, 3 розділи, висновки, список використанихджерел та 7 додатків. У першому розділі дана загальна характеристика 1,2,4-триазинів, способи одержання, хімічні властивості, методи синтезу та практичне використання їх похідних. У ІІ розділі представлені методики синтезу нових похідних та дослідження їхніх біологічних властивостей. У розділі ІІІ описано синтез та результати дослідження протисудомних та противірусних властивостей заміщених 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів. Робота налічує 54 використаних літературних джерела.

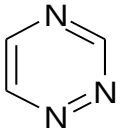
РОЗДІЛ І

ТРИАЗИНИ: КЛАСИФІКАЦІЯ, ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

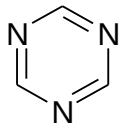
Відомо три типи триазинів серед шостичленних ароматичних гетероциклічних сполук [52]:



1,2,3-триазин - *віц*-триазин (віцінальний триазин)



1,2,4 – триазин – асим-триазин (асиметричний триазин)



1,3,5-триазин сим-триазин (симетричний триазин)

1.1. Загальна характеристика та класифікація триазинів

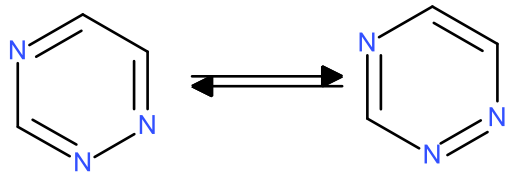
На сьогодні найбільш вивченими є 1,3,5-триазини, перші представники яких були отримані і описані в першій половині XIX століття: так, Фрідріх Велер синтезував ціанурову кислоту (1,3,5-тригідрокси-сим-триазин) піролізом сечовини у 1829 р. [1].

Сполуки ряду 1,3,5-триазинів характеризуються широким спектром корисних властивостей, для використання в практичній діяльності. Вони знайшли своє застосування в медицині, фармакології, мікробіології, сільському господарстві, у фото- і текстильній промисловості.

1,3,5-триазини відомі як гербіциди, фунгіциди і протитуберкульозні препарати, серед гетероциклічних сполук цього класу знайдені стабілізатори змащувальних композицій, олій та полімерних матеріалів, вони використовуються у виробництві барвників, вибухових речовин, меламінформальдегідних термопластичних смол і т.і.

Похідні сим -триазинів використовуються як пестициди, відбілювачі, барвники, дезінфектанти та вибухові речовини, лікарські речовини (мають протимікробну активність, пригнічення росту та розмноження клітин) та у якості конденсаційних реагентів в пептидному синтезі [4].

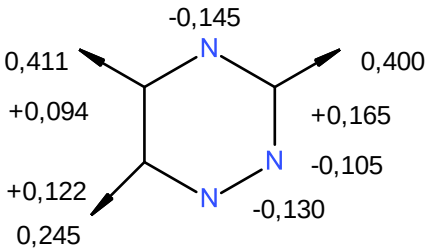
Не заміщений 1,2,4-триазин був синтезований у 1966 р. при конденсації формамідразону з гліоксалем [51].



а б

Найбільш стійкими серед усіх триазинів є похідні симетричних триазинів [32].

Будова не заміщеного 1,2,4-триазину характеризується нерівномірним розподілом електронної густини [47].



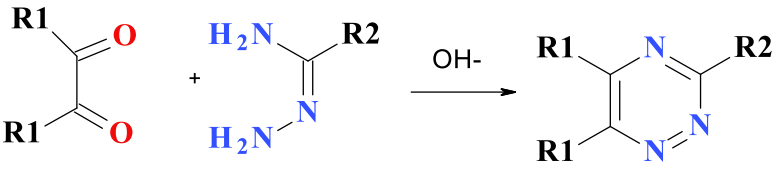
Сам 1,2,4-триазин – дуже нестійка сполука [1]. За нормальних умов 1,2,4-триазин – блідо-жовта олива, з низькою температурою плавлення 16– 17,5 °С та температурою кипіння 156 °С .

Не заміщений 1,2,4-триазин, може давати два типи хлороводневих солей: 1,2,4-триазин · HCl або 1.2.4-триазин · 2HCl, які різняться між собою лише температурами плавлення [21, 22].

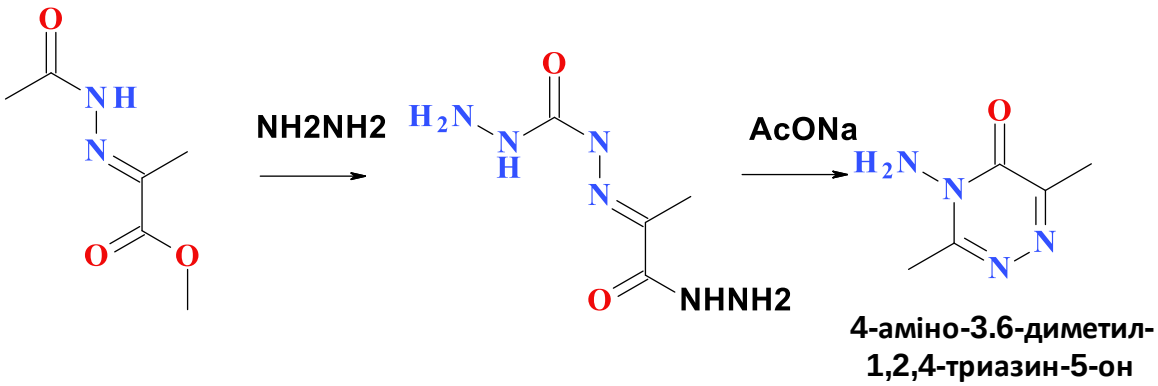
Стабільність похідних 1,2,4-триазину залежить від замісників у триазиновому кільці. [39]

1.2. Методи одержання 1,2,4-триазинів та їх похідних

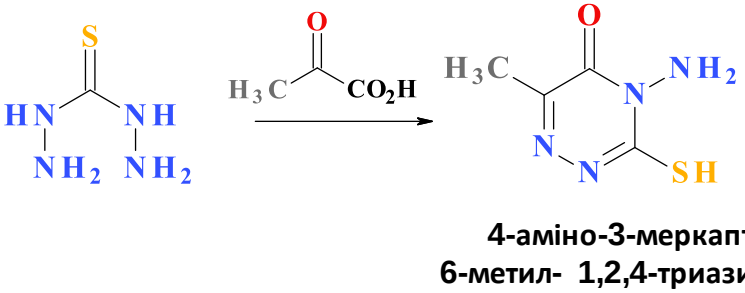
Відомий метод синтезу 1,2,4-триазинів, в основі якого є конденсація 1,2-дикарбонільних сполук з амідразонами.



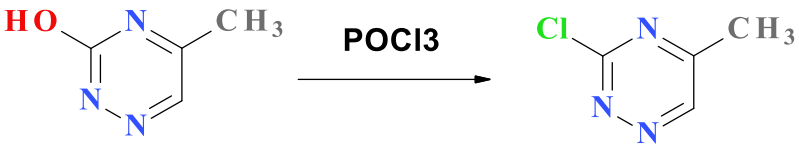
Наприклад, 4-аміно-3,6-диметил-1,2,4-триазин-5-он був одержаний при взаємодії гідразин-гідрату з ацилгідразонами естерів α-кетокислот в присутності ацетату натрію.



4-Аміно-3-меркапто-1,2,4-триазин-5-они отримують взаємодією α-кетокислот з дигідразидом тіокарбонатної кислоти [13].

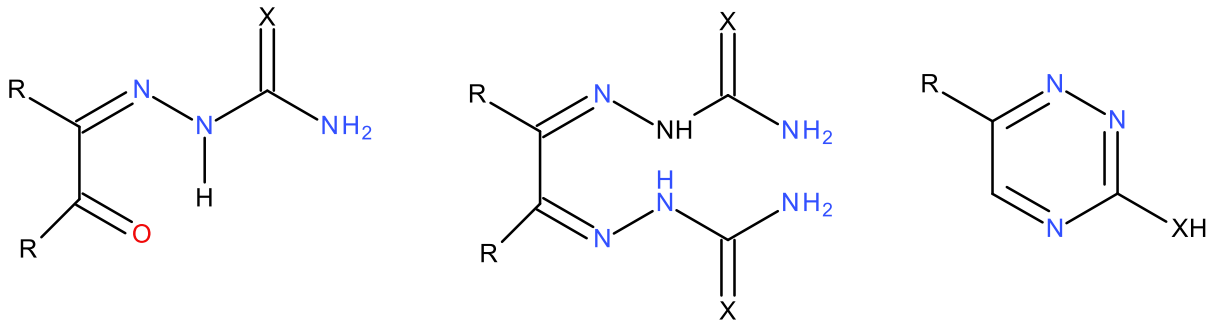


Взаємодія відповідних гідроксипохідних з хлорокисом фосфору призводить до заміни гідроксильної групи на атом хлору.



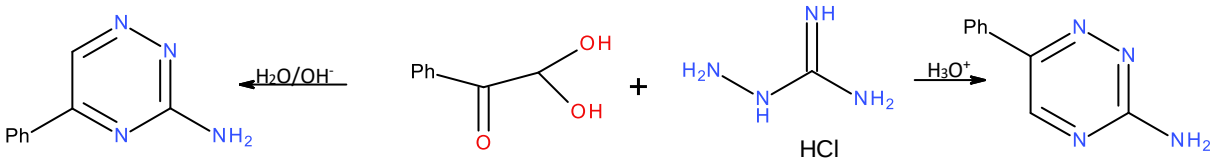
3-гідрокси-5-метил-1,2,4-триазин **3-хлор-5-метил-1,2,4-триазин**

При взаємодії семікарбазиду, тіосемікарбазиду або аміногуанідину з 1,2-дикетонами можуть бути одержані моно- (*а*) та дизаміщенні (*б*) гідразони:



а б в

Далі при обробці лугами монозаміщений гідразон (*а*) легко циклізується в похідні 1,2,4-триазину (1) :

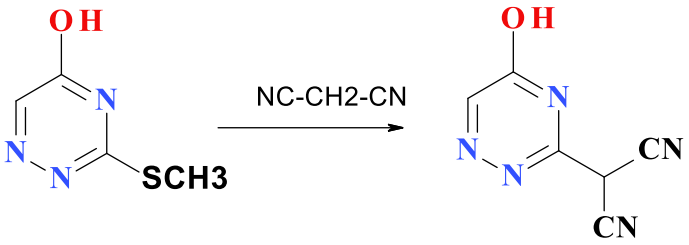


1.3. Фізико-хімічні властивості 1,2,4-триазинів та їх похідних

Не заміщенні 1,2,4-триазин та 1,2,3-триазини відрізняються їх

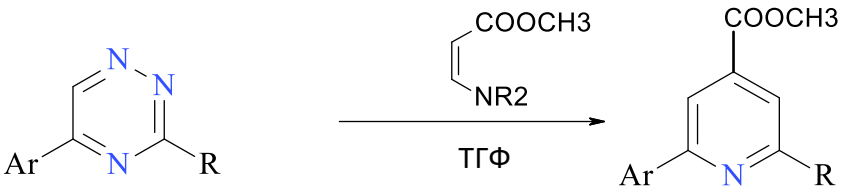
температурами топлення 16-17,5 °С та 69,5-71 °С відповідно.

Показано, що 3-метилтіо-1,2,4-триазини вступають в реакції по активній метиленовій групі.



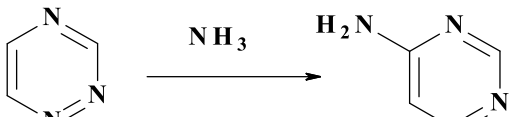
5-гідрокси-3-метилтіо-1,2,4-триазин **2-(5-гідрокси-1,2,4-триазин-3-іл)малонодінітрил**

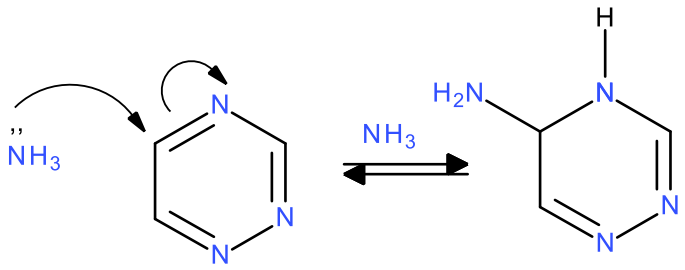
Для 1,2,4-триазинів характерна реакція Дільса-Альдера.



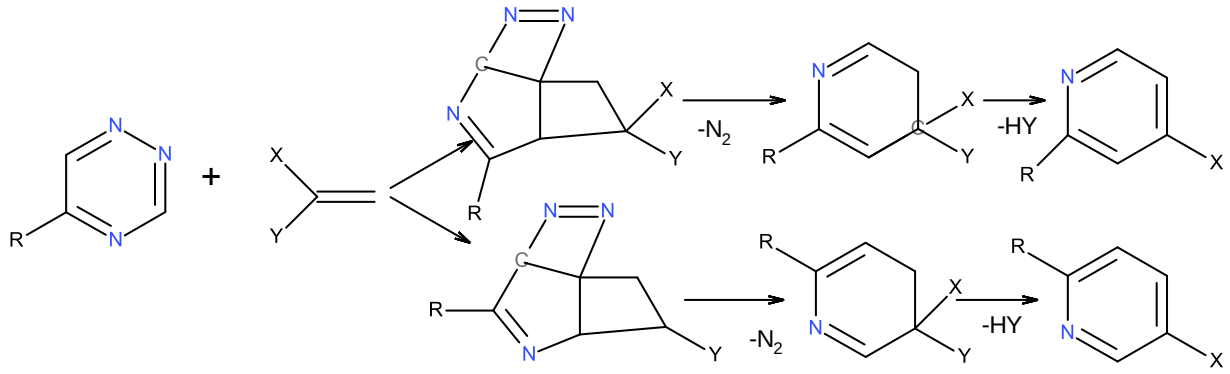
Також для них характерні реакції нуклеофільного заміщення по положенню 5 гетероциклічної системи [35].

.

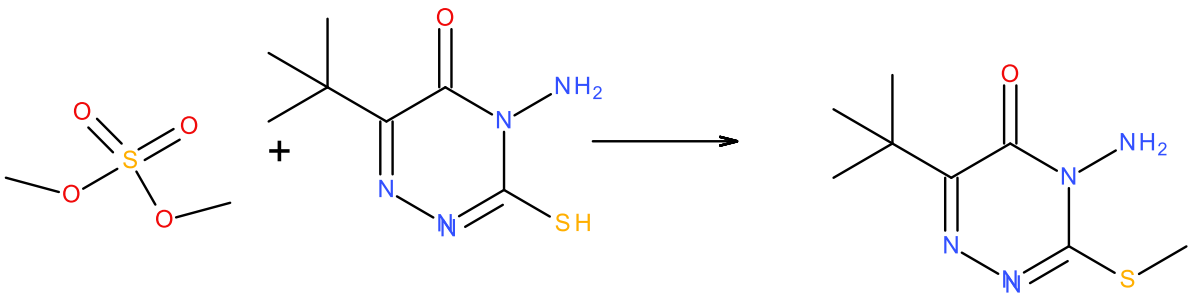




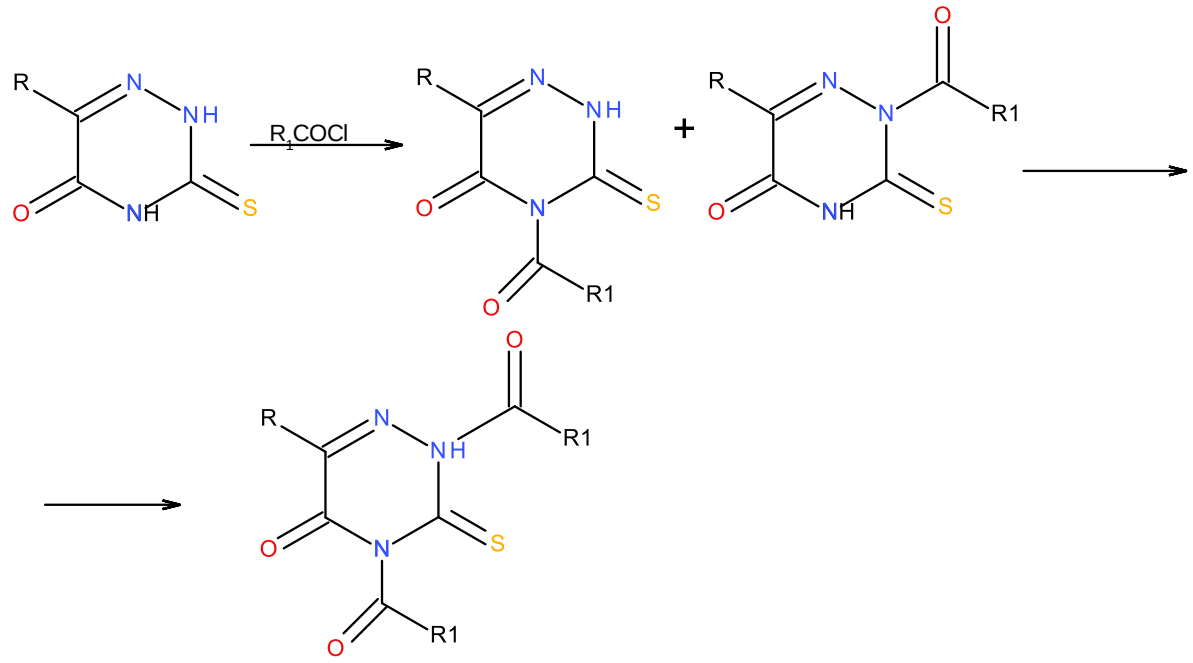
Запропоновано вірогідний механізм реакції Дільса-Альдера з похідними 1,2,4-триазину:



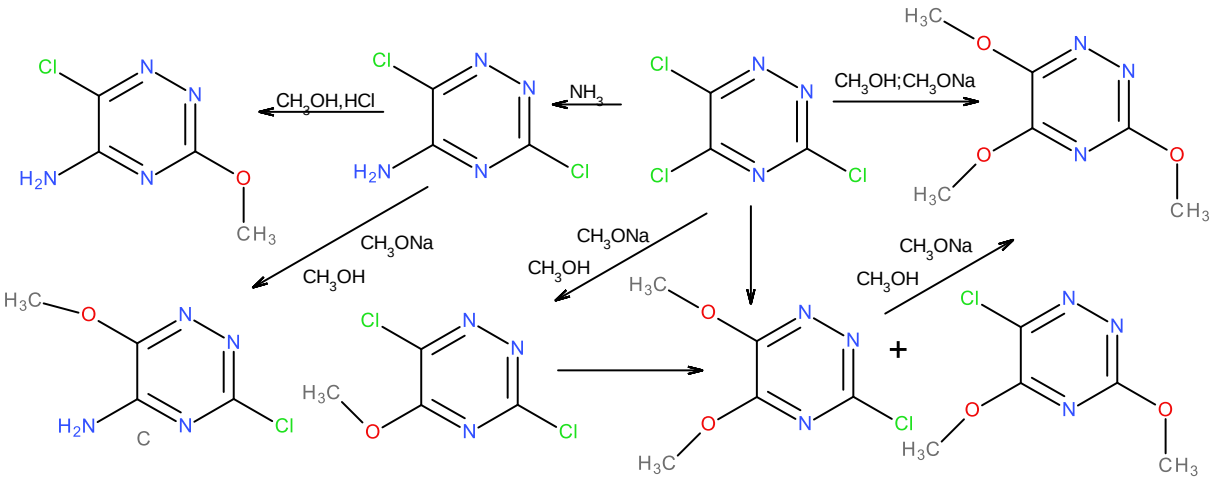
У роботі [41] описано алкілування SH-групи 4-аміно-6-(*трет* -бутил)-3-меркапто-1,2,4-триазин-5(4H)-ону з одержанням діючої речовини Зенкору:



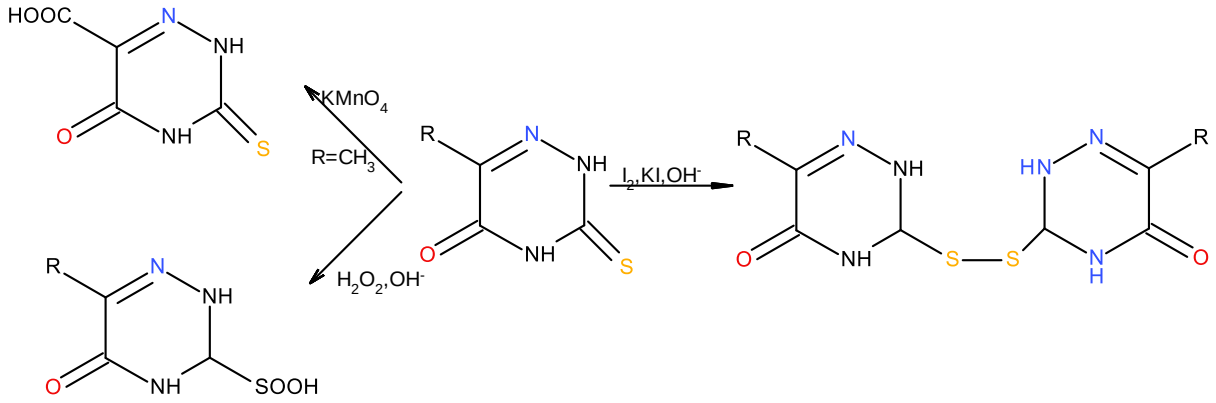
Ацилювання хлорангідридами або ангідридами кислот проводять у піридині або в присутності триетиламіну [46]:



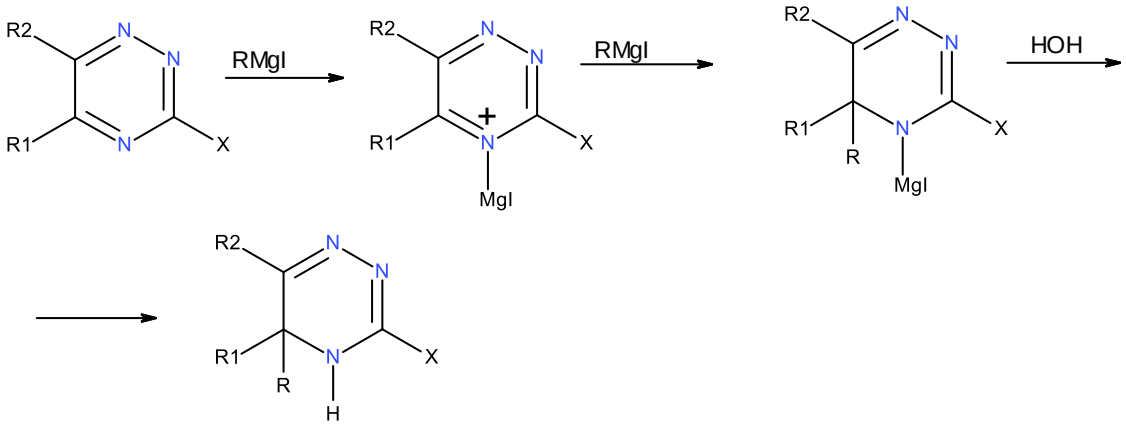
Для похідних 1,2,4-триазинів характерні реакції нуклеофільного заміщення [31]:



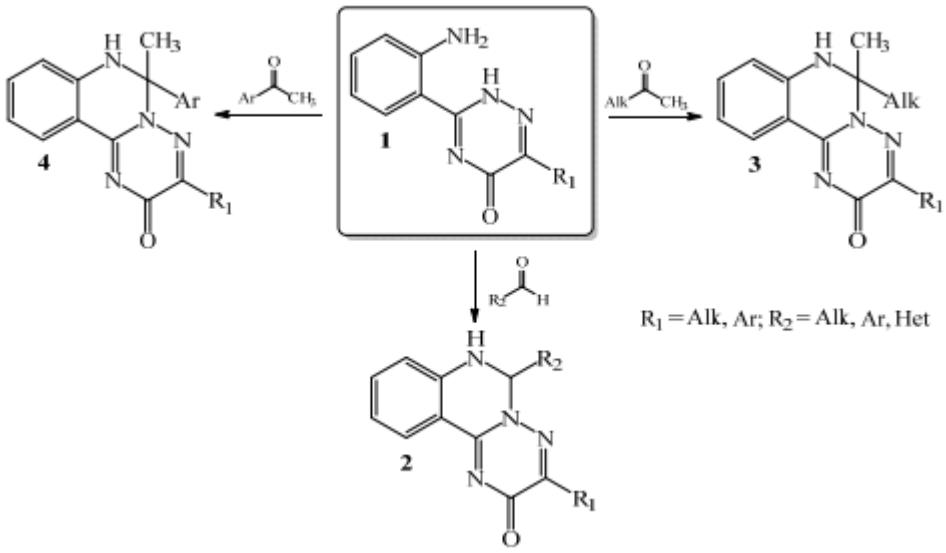
Похідні 1,2,4-триазину при взаємодії з різними окисниками дають відповідні дисульфіди, сульфокислоти або сульфони [16]:



З відновниками були синтезовані різноманітні 4,5-дигідротриазини [17]:



Доведено, що заміщені 3-(2-амінофеніл)-6-R-1,2,4-триазин-5(2 H)-они в реакціях з альдегідами та кетонами проявляють високу активність.



Показано [9] на основі реакції (5+1)-циклоконденсації заміщених 6-R 1-3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2 H)-онів з циклічними кетонами отримання раніше невідомих 3'-R1-спіро[(аза/окса/тіа)циклоалкіл-1(3,4),6'-[1,2,4]триазино[2,3-c]хіназолін]-2'(7'H) -онів. Встановлено, що стеричні та електронні фактори циклічних кетонів, не впливають на тривалість реакції. та виходи продуктів. Будова синтезованих сполук доведена спектроскопією ЯМР 1H та 13C, мас-спектрометрією та рентгеноструктурним аналізом. Синтезовані сполуки є перспективними протисудомними агентами.

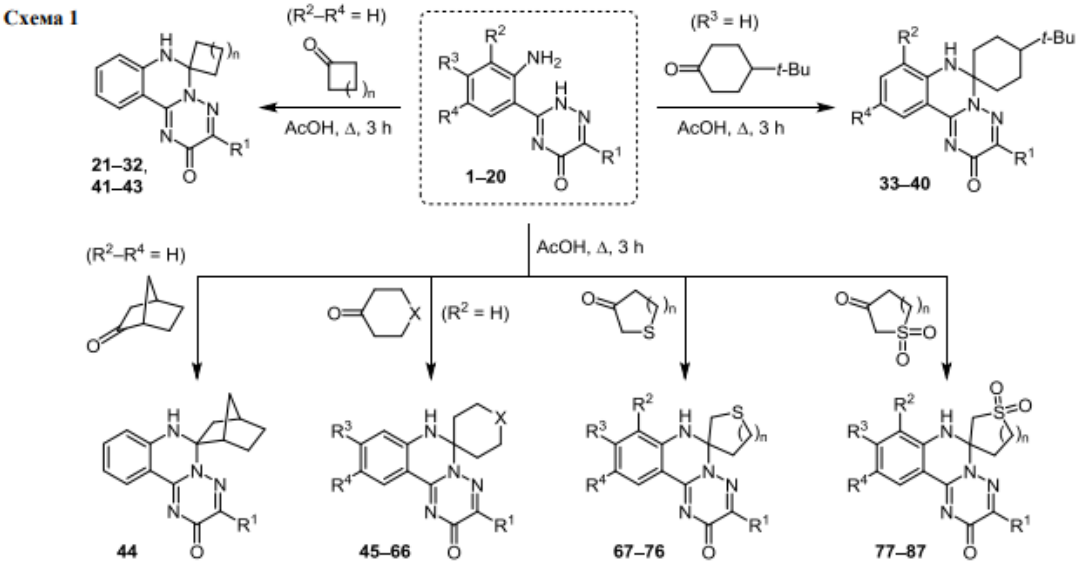


Рис.2.2. Хімічні реакції заміщених 6-R 1 -3-(2-амінофеніл)-1,2,4-триазин-5(2H)-онів.

Встановлено, що реакція анілінів 1–20 із циклічними кетонами при кип'ятінні в оцтовій кислоті протікає гладко і призводить до утворення індивідуальних сполук 21-87 з високими виходами (схема 1). Природа кетонів не впливає на перебіг реакції, а час, необхідний її завершення, за даними ТШГ, варіює в межах 2-3 год. Індивідуальність та будова синтезованих з'єднань були підтверджені з використанням комплексу фізико-хімічних методів: елементного аналізу, спектроскопії ЯМР, мас-спектрометрії та хромато-мас-спектрометрії.

Отримані дані спектрів ЯМР ^{1}H дозволяють виявити низку закономірностей, характерних для спіротриазинохіназолінових систем. Так, у спектрах сполук 21-87 відзначаються синглетні сигнали протону. NH у положенні 7 при 6.10-7.97 м. ч. Важливо, що на значення хімічного зсуву даного сигналу істотно впливає електронний ефект спіроконденсованого фрагмента в положенні 6. Так, ряду незаміщених триазинохіназолінових систем з циклобутановим заступником (сполуки 21-24) сигнали протона NH реєструються за 7.76–7.86 м. ч.

Розширення спіроцикла на одну гомологічну одиницю (сполуки 25–32), як і слід очікувати, призводить до діамагнітного зсуву даного сигналу 0.35-0.38 м. ч. Подальше розширення спіроцикла до циклогексанового фрагмента, а також наявність третбутильного заступника у положенні 4 (сполуки 33- 40) призводять до діамагнітного зсуву сигналу протона на 0.60 м. ч. порівняно зі сполуками 21–24. Подібна картина простежується і у разі сполук 41–43 с циклогептановим фрагментом, сигнали протону NH яких резонують в області 7.37-7.44 м. ч.

Дані спектрів ЯМР ^{1}H сполук 45-66 також вказують на те, що хімічне зсув протона NH залежить і від донорно-акцепторних властивостей фрагмента у положенні 6. Так, у діапазонах сполук 45-51 з спіропірановим циклом сигнал протону NH проявляється при 7.55-7.74 м. ч., в діапазонах сполук 52-63 с спіропіперидиновим циклом - при 7.24-7.59 м. ч., а в спектрах сполук 65, 66 зі спіротіопірановим циклом - при 7.15-7.27 м. ч.

Таким чином, чим вище електронегативність гетероатома, що входить у цикл, тим більший парамагнітний зсув спостерігається для сигналу протону NH. Подібним чином впливає на хімічний зсув протона NH введення спіроконденсованого тіофенового циклу (сполуки 67-72) або зміна положення гетероатома у спіроконденсованому фрагменті (сполуки 73–76). До того ж значний вплив на хімічний зсув протону NH надає метильна група у положенні 8 (сполука 39, 68, 78), зміщуючи сигнал протона NH сильне поле на 0.90-1.17 м. ч. в порівнянні з незаміщеними сполуками.

У спектрах ЯМР 1H сполук 21-87 сигнали Протону спірофрагменту в положенні 6 реєструються, як складний набір мультиплетів в аліфатичній частині спектра. Спектри ЯМР ^{1}H сполук 67-87 також характеризуються особливостями, пов'язаними з наявністю асиметричного атома вуглецю. Так, у спектрах ЯМР ^{1}H цих сполук сигнали метиленової групи в положенні 2 тіофенового або тіопіранового фрагмента реєструються у вигляді двох дублетів при 2.90–3.78 та 3.38–4.26 м. ч. відповідно з КССВ 11.5–15.4 Гц.

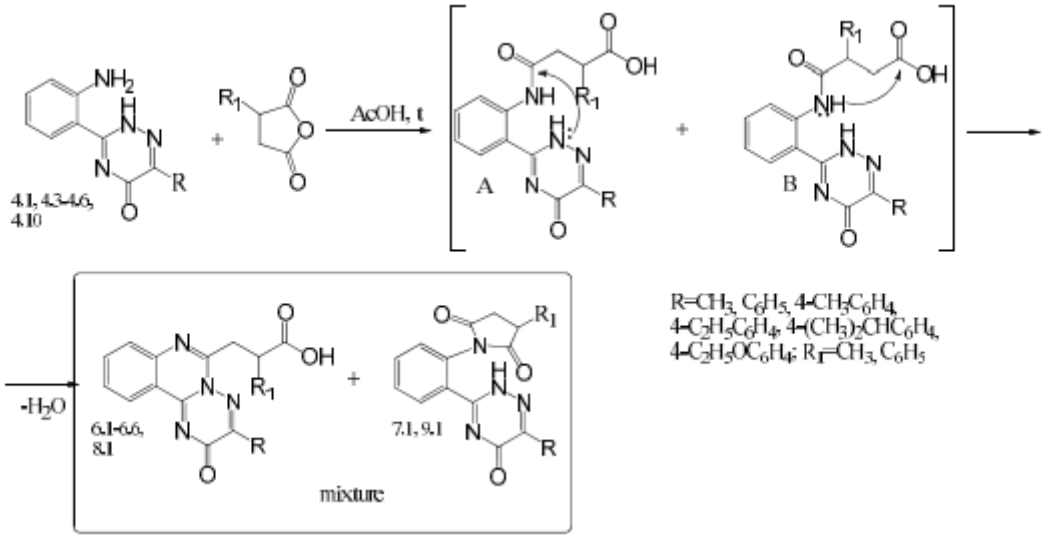
Не заміщений триазино[2,3-c]хіназоліновий фрагмент у спектрах ЯМР 1H сполук 21-38, 41-45, 52-58, 64- 67, 73, 82, 83 утворює субспектр із двох однопротонних дублетів з КССВ 7.2–7.8 Гц (протони H-8, H-11) та двох однопротонних мультиплетів (протони H-9, H-10). У випадку 9-фторзаміщених сполук 46, 47, 60, 61, 69, 70, 74, 75, 79, 84, 85) протон H-8 проявляється як дублет, протони H-10, H-11 – у вигляді мультиплетів внаслідок спін-спінової взаємодії з атомом Флюору.

Крім того, спектри сполук 21–87 характеризуються наявністю субспектрів заступника в положенні 3 з відповідною мультиплетністю та хімічними зрушеннями. У спектрах ЯМР 13C сполук 23, 25, 40, 42, 45, 52, 55, 58, 65, 73 спостерігається характеристичний сигнал sp3 -гібридизованого атома вуглецю в спіропозиції (положення 6') при 75.8-82.3 м. ч. У спектрі ЯМР 13C сполук 44, яке містить конформаційно жорсткий біцикл, спостерігається подвоєння ряду сигналів, що пов'язано з магнітною нееквівалентністю атомів карбону в діастереоізомерах.

Мас-спектрометричне дослідження показало, що в умовах електронного удару (70 еВ) спіросистеми 28, 40 характеризуються низькою інтенсивністю молекулярного іона.5b. Основний первинний розпад іона $[M]^{+\cdot}$ сполуки 28 обумовлений двома паралельними напрямками фрагментації. Перше напрямок фрагментації передбачає відщеплення олефіну від іона $[M]^{+}$ з утворенням фрагментарних іонів $[M\text{-}C_2H_4]$ +(m/z 344 (13%)) та $[M^{-}C_4H_8]$+(m/z 317(10%).

Другий напрямок фрагментації полягає у деградації іона $[M^{]+\cdot}$ по зв'язках C(2)–C(3) та N(4)–N(5) із заснуванням фрагментарного іона з m/z 198 (100%).

У свою чергу молекулярний іон $[M]^{+\cdot}$сполука 40 спочатку викидає стабільний іон $[третC_4H_9]^{+}$ (m/z 57 (100%)), альтернативно утворюється осколковий іон $[M\text{-}C_7H_{14}]^{+}$ (m/z 379/381 (3/2%)), що зазнає фрагментації зв'язків C(2)–C(3) та N(4)–N(5) з утворенням фрагментарного іона з m/z 276/278 (58/55%).



Особливості взаємодії 3-(2-амінофеніл)-6-R-1,2,4-триазин- 5(2*H*)-онів із 2-R-бурштиновим ангідридом

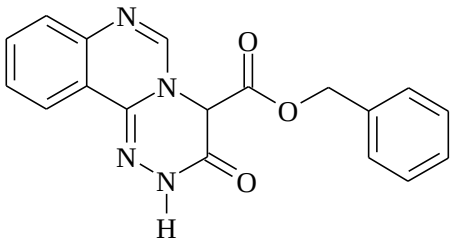
1.4. Несиметричні 1,2,4-триазини як перспективні БАР та фармацевтичні субстанції

Одним з перспективних напрямків вирішення проблем пошуку нових високоефективних засобів захисту рослин та лікарських препаратів, є поглиблення досліджень в області хімії гетероциклічних сполук.

Великий інтерес у дослідників викликає наявність у похідних 1,2,4-триазину фармакологічної і пестицидної активностей. Серед них виявлено фунгіциди, інсектициди, гербіциди, регулятори росту і розвитку рослин, лікарські і ветеринарні препарати, а також запропоноване їхнє використання в якості стабілізаторів-антиоксидантів для широкого класу полімерів [48].

Зокрема, досліджена біологічна активність 1,4,5,6-тетрагідро-1,2,4-триазиндіонів-5,6. Встановлено, що ці речовини володіють активністю проти ряду патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, сприяють стимуляції імунної системи і корекції природного мікробіоценозу кишечника, проявляють гербіцидну активність [40].

Досліджена також антиоксидантна активність 1,2,4-триазинонів і встановлено, що ці речовини проявляють антиоксиданту дію в умовах нітрозуючого стресу *in vitro*, а особливо сполука із залишком бензилового спирту, що володіє значно більшою протективною дією відносно СОД в умовах нітрозуючого стресу *in vitro*, ніж N-ацетилцистеїн.



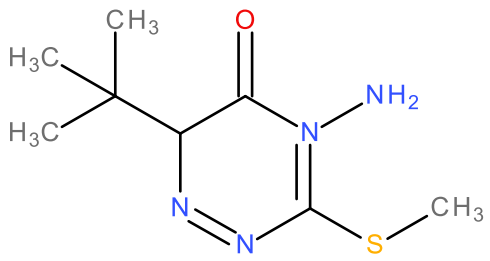
Загальна будова 1,4,5,6-тетрагідро-1,2,4-триазиндіонів-5,6

Серед похідних 1,2,4-триазину знайдені сполуки, що мають високу протипухлинну активність [24], пестицидну [42], фунгіцидну [44], інсектицидну [18], рістрегулюючу [29] активності.

Широкий спектр активності похідних 1,2,4-триазину, може бути застосований для лікування ряду захворювань:

- ✓ ішемії головного мозку [12];
- ✓ пригнічення больового синдрому [10]
- ✓ запального ушкодження тканин [31];
- ✓ нейродегенеративних розладів [43];
- ✓ вірусних захворювань, в т.ч. й ВІЛ [6];
- ✓ паразитичних протозойних збудників, таких як *E.tenella, E.necatrix, E.acervulira, E.maxima, E.brunetti и E.mivati* [54];
- ✓ в якості анальгетиків [2];
- ✓ мають проліферативну дію, т.т. є простатопротекторами [35];
- ✓ як HCV-агенти [22];
- ✓ в якості протисудомних препаратів [33];
- ✓ виявляють протипухлинну активність [3];
- ✓ застосовуються, як антиоксиданти [50].

Зенкор. За хімічною будовою відноситься до до похідних 1,2,4-триазинів та традиційно використовується в якості грунтових гербіцидів:



4-аміно-6-трет-бутил-3-метилсульфаніл-1,2,4-триазин-5-он

Більшість триазинів - це нелеткі сполуки, погано розчинні у воді, стійкі до дії вологи, кислот і лугів.

Гербіциди групи триазинів малотоксичні для теплокровних тварин і птахів, однак токсичні для гідробіонтів [49]. $ЛК_{50}$ для риб коливається від 3,4 до 118 мг/л. Препарати, зазвичай, не накопичуються в організмі тварин. Смертельний ефект при вдиханні спостерігається від концентрації сим-триазинів 1300 мг/$м^3$ [5].

Клінічна картина гострого отруєння триазинами така: після введення препарату в шлунок, спостерігається в'ялість, адинамія, короткочасне збудження, порушення діурезу, судоми, паралічі. Смерть настає на 1 - 4-й день при явищах послаблення дихання. При отруєннях триазинами відмічене порушення білковоутворювальної і вуглеводної функції печінки, нестійкі зміни в співвідношенні формених елементів крові [34].

В організмі теплокровних, сполуки типу триазинів, здатні заміщувати піримідинові основи і змінювати структуру нуклеїнових кислот. Цим, певно, пояснюється їх здатність викликати цитогенетичні ефекти в дозах 1/10 - 1/50 $ЛД_{50}$. Встановлені конкурентні відносини сим-триазинів з вітаміном B_2 [28].

1.5. Заключення. Постановка задачі

Аналіз інформаційних джерел з методів синтезу та практичного застосування похідних 1,2,4-триазинів свідчить про їх потенційну біологічну активність. Вони можуть бути використані в якості протипухлинних, протимікробних, цитостатичних, антиоксидантних, протисудомних, антипротозойних, противірусних лікарських засобів, лікування нейродегенеративних розладів, запального ушкодження тканин, шизофренії, депресії та хвороби Паркінсона, а також в якості гербіцидів як засоби захисту рослин.

Тому, синтез нових похідних 1,2,4-триазинів, як речовин з потенційними біологічними властивостями має не лише науковий, а й прикладний інтерес. Задачею дослідження є синтез заміщених 6-(алкіл)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів та дослідження їх протиепілептичних та противірусних властивостей.

РОЗДІЛ ІІ
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Матеріали

Досліджувані сполуки синтезовано на кафедрі хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя. Для здійснення хімічного синтезу використано реактиви фірми «Мерк» (Німеччина) та розчинники із класом чистоти «ЧДА»: ДМСО, етанол, ізопропанол.

Дослідження структури синтезованих сполук здійснено ЯМР ^{1}Н-спектроскопією у розчиннику DMSO-d_6.

2.2. Хімічний аналіз

Будова та чистота всіх синтезованих сполук була доведена методами ПМР-спектроскопії та масс-спектрометрії.

Спектри ЯМР ^{1}Н одержано на Bruker VXR-300 (внутрішній еталон – TMS) у DMSO-d_6. Елементний аналіз проведено в Аналітичній лабораторії Інституту біоорганічної та нафтохімії імені В.П. Кухара НАН України. Температури плавлення синтезованих сполук визначено на приладі Electrothermal IA 9200.

Структури, назви сполук та розрахунок елементного аналізу нових похідних 1,3,5-триазину здійснено за допомогою програми ChemAxon Marvin Sketch [20].

2.3. Біологічні дослідження похідних 1,2,4-триазину

Для оцінки біологічної активності синтезованих несиметричних триазинів, були проведені дослідження, щодо протиепілептичної та противірусної активності даних сполук.

2.3.1. Дослідження протиепілептичної активності заміщених 6-(алкіл)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів

Експериментальне дослідження протисудомної активності похідних 6-(*трет*-бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів було проведено на білих нелінійних мишах-самицях, розплодження віварію ДУ ІФТ НАМН України масою 20±2г. Попередньо, досліджувані тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні, отримували їжу та воду *ad libitum*. Усі дослідження проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (г. Страсбург, 1986) [25].

Оскільки при терапії епілепсії важливі протисудомна, м'язорелаксуюча та заспокійлива дії, тому нами при вивченні нових синтезованих похідних [1,2,4]триазин-5-ону була проведена оцінка відповідної активності на моделях «відкритого поля», «коразолових судом» та «дротового тесту» [19, 27, 53].

Препаратами порівняння були обрані субстанції діазепаму та ламотриджину: діазепам (субстанція) фармакопейний стандарт, у дозі $ЕД_{50}$ 2 мг/к та ламотриджин (субстанція) фармакопейний стандарт у дозі 10 мг/кг, що вводилися внутрішньочеревно у вигляді водно-спиртнової емульсії; сполуки **4 а-с** вводились у еквімолярних дозах до $ЕД_{50}$ діазепаму; сполуки **6 а-с** еквімолярних дозах до ЕД50 ламотриджину. Тваринам контрольної групи вводився розчинник в об'ємі 0,2 мл.

Дослідження активності похідних 6-*(трет*-бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів **4 а-с** та 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів **6 а-с** вивчались на моделі «відкритого поля» у порівняльному аспекті з діазепамом. Для цього використовувалась велика прямокутна камера (100 × 100 см) з дерев'яними стінками, заввишки 40 см з невеликими дірочками на перетинах квадратів. Підлогою слугувала дерев'яна підлога, на якій чорною фарбою нанесена решітка, що ділить поле на 64 (8 × 8) рівних квадратів. Піддослідних мишей поміщали в середину камери і спостерігали за їх

поведінкою протягом 3 хв. При цьому реєстрували число фекальних болюсів, грумінгу, заглядання у норки, піднімання на задні лапки, кількість перетнутих квадратів. Квадратом, що перетинається, вважався квадрат на який тварина ступає обома передніми лапами.

Для проведення експерименту піддослідні тварини були розділені на групи по 5 тварин у кожній. Дослідним тваринам вводили референтні, досліджувані сполуки або розчинник. Через 30 хв, тварини поміщались у «відкрите поле» та проводились вимірювання. Відповідну активність досліджуваних сполук визначали за вірогідними змінами показників, що реєструються, відносно контролю.

Інший вид активності - м'язорелаксуючу дію досліджуваних сполук оцінювали на дротяному тесті. Для цього піддослідні тварини були розділені на групи по 5 тварин у кожній, після чого їм вводили досліджувані сполуки, референтні препарати або розчинник. Перед введенням досліджуваних речовин у тварин спочатку вивчали вихідну м'язову активність, для чого мишей підвішували на дріт і спостерігали за тваринами протягом 60 секунд. Реєстрували тривалість перебування тварин на дроті, за допомогою секундоміру. Через 30 хв. після введення досліджуваних речовин, у піддослідних тварин повторно оцінювали м'язорелаксуючу активність.

Висновок про ураження м'язорелаксуючої системи робили за зміною латентного періоду перебування тварин на дроті у порівнянні з вихідним значенням. Про активність сполук судили по достовірним змінам показників, що реєструються, відносно контролю.

Ще одна властивість – протисудомна – синтезованих похідних досліджувався з використанням моделі коразолових судом. При цьому для моделювання судомного стану мишам, шляхом підшкірної ін'єкції вводили пентилентетразол (коразол) у дозі 100 мг/кг.

Лабораторні тварини були розділені на групи по 5 тварин у кожній. Дослідним тваринам внутрішньочеревно вводилися досліджувані речовини, референтні препарати або розчинник. Через 30 хв. після введення

досліджуваних речовин, тваринам підшкірно вводився коразол. Визначення протисудомного ефекту проводили за тривалістю латентного періоду розвитку судом, тривалістю фази тоніко-клонічних судом, інтенсивністю судом та летальністю протягом 15 хв. після введення. Відповідну інтенсивність розвитку судомного приступу оцінювали за 6-бальною шкалою M. C. Gerald [19].

- 0 – відсутність судомної активності;
- 1 – гіперкінезія;
- 2 – тремтіння, посмикування, стереотипні рухи;
- 3 – клонічні судоми передніх лап з підйомом на задні лапи;
- 4 – виражені тоніко-клонічні судоми, падіння тварини набік, наявність фази тонічної екстензії;
- 5 – повторні тоніко-клонічні судоми, втрата положення;
- 6 – повна тонічна екстензія, загибель тварини.

Про активність сполук судили по достовірним змінам показників, що реєструються, відносно контролю.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснювали за методом t-критерію Стьюдента. Достовірними вважали зміни при $P<0,05$ [7].

2.3.2. Дослідження противірусної активності похідних R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів

Методом молекулярного докінгу була спрогнозована противірусна дія по відношенню до вірусу SARS-CoV-2 серед похідних R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів на чотирьох мішенях в рамках міжнародної програми E4C (Exscalate4CoV) та здійснено синтез найбільш перспективних сполук. Комп'ютерний докінг на мішені *3CLpro, PLpro, NSP12* та *NSP13* вірусу SARS-CoV-2 був проведений dr. Candida Manelfi (Computational Chemist - R&D Platforms & Services).

РОЗДІЛ III

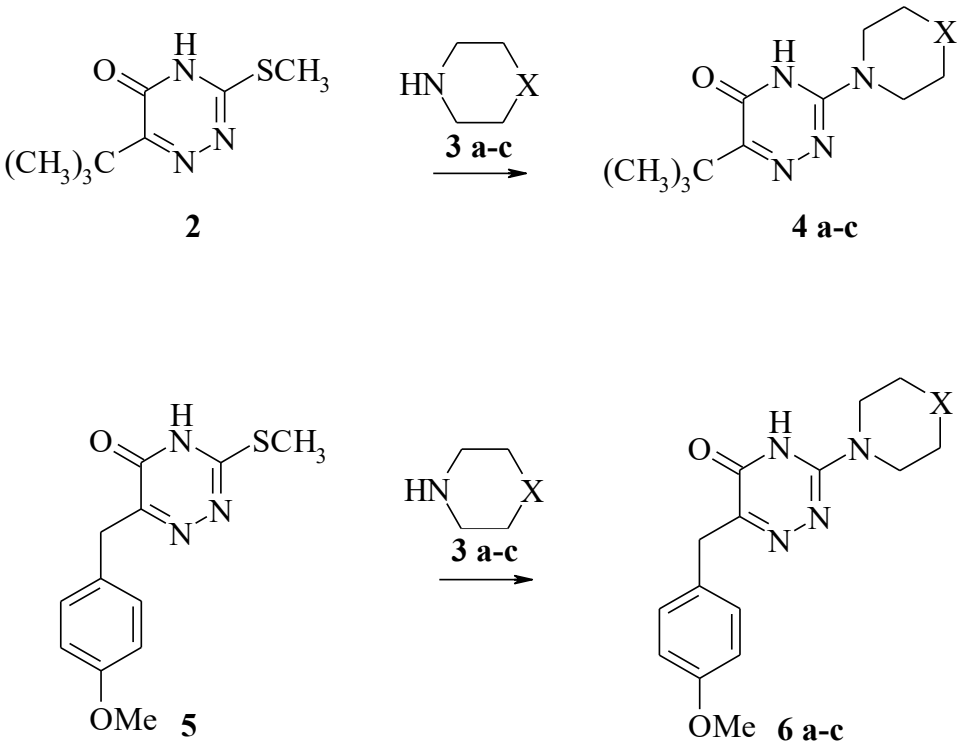
СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ 6-АЛКІЛ-[1,2,4]-ТРИАЗИН-5-ОНІВ

Серед похідних несиметричних 1,2,4-триазинів особливе місце займають його модифікована система: 1,2,4 -триазин -5-он, оскільки введення кето-групи у гетероциклічну систему 1,2,4-триазина, значно збільшує його полярність, суттєво впливає на розчинність у різних системах розчинників та, може значно розширювати спектр біологічної та фармакологічної активності. Останнє ставить актуальне завдання створення на основі даної гетероциклічної системи нових сполук з широким спектром активності.

Як було відмічене раніше, метою даного дослідження був синтез, протисудомної активності нових похідних 6-(алкіл)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів, а саме трьох сполук ряду 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів та трьох сполук ряду 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів.

3.1. Синтез заміщених 6-(алкіл)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів

Досліджувані сполуки - похідні 6-(*трет* -бутил) -3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-они **4 a-c** та 6-(4^1 -метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4] триазин-5-они **6 a-c** були синтезовані мною у Ніжинському державному університеті імені Миколи Гоголя (рис.3.1.1.).



Де 3,4,6 X= **a**) зв'язок, **b**) CH_2, **c**) O

*Рис. 3.1.1. Схема синтезу похідних 6-(трет-бутил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів **4 a-c** та 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-онів **6 a-c***

Спектри ПМР були зареєстровані на спектрометрі Bruker DRX-400, робоча частота 400,13 МГц, внутрішній стандарт ТМС в розчині DMSO-d6. Контроль за чистотою синтезованих сполук здійснювався за допомогою ТХС на пластинках Silufol UV-254 в системі хлороформ - метанол 9:1. Ліпофільність (LogP) синтезованих сполук була розрахована за допомогою програми ACD LogP [15].

6-*трет*-бутил-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-он **2** був напрацьований за методом [10]. 6-(4[1]-Метоксибензил)-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-он **5** був одержаний за методом [37].

Синтез 6-*трет*-бутил-3-піролідин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 4 a). Суміш 1.99 г (0.01 моль) 6-*трет* -бутил-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **2** та 0.78 г (0.011 моль) піролідину **3 a** нагрівали на

олійній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш розтирали з 30 мл. пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.13 г (51%). $T_{пл.}$=263-264 °С. Знайдено, %: N=25.0 $C_{11}H_{18}N_4O$. Вирахувано, %: N=25.2. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.27 (с, 9Н, $C(CH_3)_3$), 1.89 (м, 4Н, CH_2CH_2), 3.34 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 12.1 (с., 1Н, NH). Log P = -0.71±0.65.

Синтез 6-*трет*-бутил-3-піперидин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 4 b). Суміш 1.99 г (0.01 моль) 6-трет-бутил-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **2** та 0.94 г (0.011 моль) піперидину **3 b** нагрівали на олійній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш, що утворилася, розтирали з 30 мл. пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.30 г (55%). $T_{пл.}$=287-288 °С. Знайдено, %: N=23.6 $C_{12}H_{20}N_4O$. Вирахувано, %: N=23.7. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.27 (с, 9Н, $C(CH_3)_3$), 1.45-1.51 (м, 6Н, $CH_2CH_2CH_2$), 3.51 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 12.2 (с., 1Н, NH). Log P = -0.14±0.65.

Синтез 6-*трет*-бутил-3-морфолін-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 4 c). Суміш 1.99 г (0.01 моль) 6-трет-бутил-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **2** та 0.96 г (0.011 моль) морфоліну **3 c** нагрівали на олійній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш, що утворилася, розтирали з 30 мл пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.82 г (59%). $T_{пл.}$=268-269 °С. Знайдено, %: N=23.3 $C_{11}H_{18}N_4O_2$. Вирахувано, %: N=23.5. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.30 (с, 9Н, $C(CH_3)_3$), 3.52 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 3.66 (м, 4Н, CH_2OCH_2), 12.4 (с., 1Н, NH). Log P = -1.69±0.66.

Синтез 6-(4^1-метоксифеніл)-3-піролідин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 6 a). Суміш 2.63 г (0.01 моль) 6-(4^1-метоксибензил)-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **5** та 0.78 г (0.011 моль) піролідину **3**

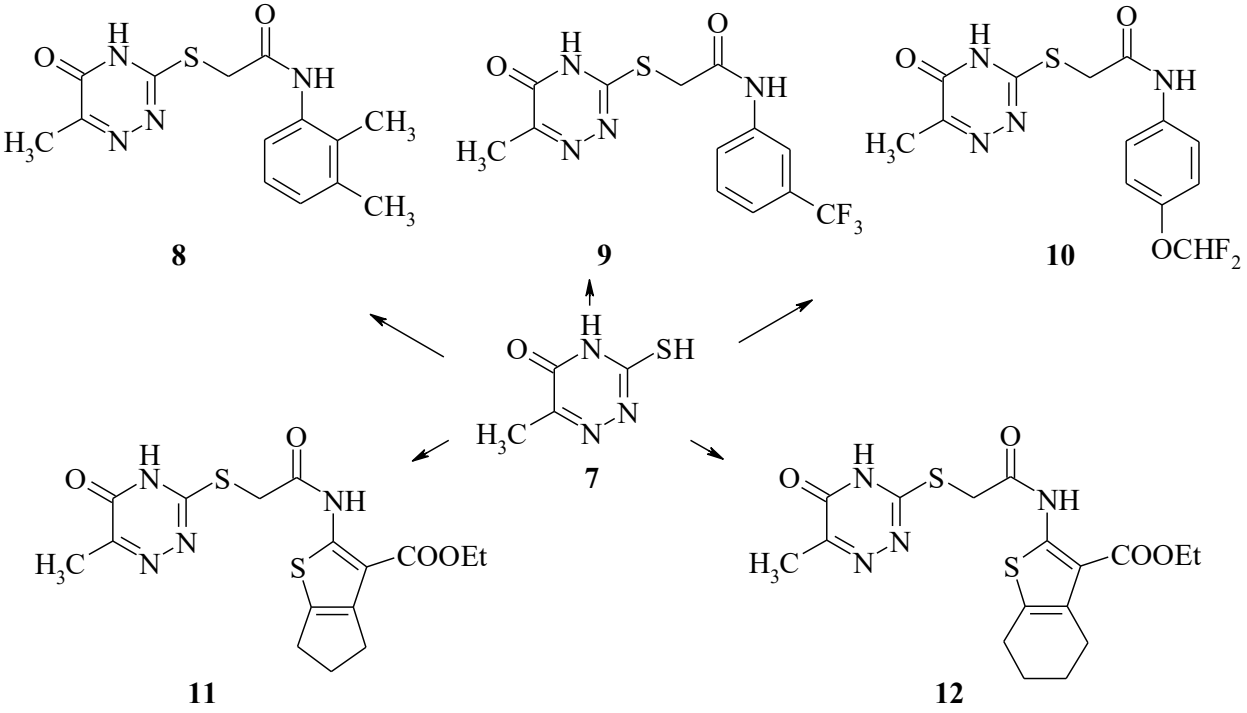
a нагрівали на олійній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш розтирали з 30 мл. пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.52 г (53%). $T_{пл.}$=253-254 ºС. Знайдено, %: N=19.5 $C_{15}H_{18}N_4O_2$. Вирахувано, %: N=19.6. Спектр (Додаток В) ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.86 (м, 4Н, CH_2CH_2), 3.32 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 3.69 (с, 5Н, CH_2+OCH_3), 6.82 та 7.14 (д-д, 4Н, C_6H_4), 12.1 (с., 1Н, NH). Log P = -0.24±0.66.

Синтез 6-(4[1]-метоксифеніл)-3-піперидин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 6 b). Суміш 2.63 г (0.01 моль) 6-(4[1]-метоксибензил)-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **5** та 0.94 г (0.011 моль) піперидину **3 b** нагрівали на олійній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш розтирали з 30 мл. пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.71 г (57%). $T_{пл.}$=248-249 ºС. Знайдено, %: N=18.8 $C_{16}H_{20}N_4O_2$. Вирахувано, %: N=18.6. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.47-1.58 (м, 6Н, $CH_2CH_2CH_2$), 3.49 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 3.70 (с, 5Н, CH_2+OCH_3), 6.82 та 7.15 (д-д, 4Н, C_6H_4), 12.2 (с, 1Н, NH). Log P = 0.32±0.66.

Синтез 6-(4[1]-метоксифеніл)-3-морфолін-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 6 c). Суміш 2.63 г (0.01 моль) 6-(4[1]-метоксибензил)-3-метилсульфаніл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **5** та 0.96 г (0.011 моль) морфоліну **3 c** нагрівали на масляній бані протягом двох годин. Після охолодження, тверду суміш розтирали з 30 мл пропанолу-2. Відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.84 г (61%). $T_{пл.}$=251-252 ºС. Знайдено, %: N=18.4 $C_{15}H_{18}N_4O_2$. Вирахувано, %: N=18.5. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 3.48 (м, 4Н, CH_2NCH_2), 3.62 (м, 4Н, CH_2OCH_2), 3.70 (с, 3Н, OCH_3), 3.72 (с, 2Н, CH_2), 6.83 та 7.15 (д-д, 4Н, C_6H_4), 12.4 (с, 1Н, NH). Log P = -1.22±0.67.

3.2. Синтез ряду R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-он-3-тіометилкарбонової кислоти

Нові похідні R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-он-3-тіометилкарбонової кислоти (сполуки **8-12)** були синтезовані за наступною схемою:



Синтез N-(2,3-діметилфеніл)-2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфаніл)-ацетаміду (сполука 8). Суміш 1.43 г (0.01 моль) 3-меркапто-6-метил-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **7** та 1.95 г (0.01 моль) 2-хлоро-N-(2,3-діметилфеніл)-ацетаміду, 2.78 г. (0.02 моль) поташу нагрівали при перемішуванні на олійній бані протягом трьох годин. Після охолодження, реакційну суміш виливали в 250 мл. холодної води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 1.98 г (61%). $T_{пл.}$=163-165 °C. Знайдено, %: N=18.3 $C_{14}H_{16}N_4O_2S$. Вирахувано, %: N=18.4. Спектр ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 2.11 (с, 3Н, CH_3), 2.22 (с, 3Н, CH_3), 2.28 (с, 3Н, CH_3), 4.13 (с, 2Н, CH_2), 7.07 - 7.39 (м, 3Н, C_6H_3), 9.69 (с, 1Н, NH) 13.7 (с, 1Н, NH).

Синтез 2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-N-(3-трифлуорометилфеніл)-ацетаміду (сполука 9). Суміш 1.43 г (0.01 моль) 3-меркапто-6-метил-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **7** та 2.38 г (0.01 моль) 2-хлоро-N-(3-трифлуорометилфеніл)-ацетаміду, 2.78 г (0.02 моль) поташу нагрівали при перемішуванні на олійній бані протягом трьох годин. Після охолодження, реакційну суміш виливали в 250 мл холодної води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 2.51 г (73%). $T_{пл.}$=177-178 °С. Знайдено, %: N=16.39 $C_{13}H_{11}F_3N_4O_2S$. Вирахувано, %: N=16.26 Спектр(Додаток Г) ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 2.11 (с, 3Н, CH_3), 4.16 (с, 2Н, CH_2), 7.40 - 8.07 (м, 3Н, C_6H_3), 10.7 (с, 1Н, NH) 13.8 (с, 1Н, NH).

Синтез N-(4-діфлуорометоксіфеніл)-2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміду (сполука 10). Суміш 1.43 г (0.01 моль) 3-меркапто-6-метил-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **7** та 2.36 г (0.01 моль) 2-хлоро-N-(4-діфлуорометоксіфеніл)-ацетаміду, 2.78 г (0.02 моль) поташу нагрівали при перемішуванні на олійній бані протягом трьох годин. Після охолодження, реакційну суміш виливали в 250 мл холодної води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 2.29 г (67%). $T_{пл.}$=161-162 °С. Знайдено, %: N=16.36 $C_{13}H_{12}F_2N_4O_3S$. Вирахувано, %: N=16.29 Спектр (Додаток Д) ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 2.11 (с, 3Н, CH_3), 4.13 (с, 2Н, CH_2), 7.14 (т, 1Н, $OCHF_2$ J=74.5Гц), 7.13 та 7.60 (д-д,4Н, C_6H_4, J=8.9Гц), 10.4 (с, 1Н, NH) 13.8 (с, 1Н, NH).

Синтез етилового естеру 2-[2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміно]-5,6-дігідро-*4H*-циклопента[b]тіофен-3-карбонової кислоти (сполука 11). Суміш 1.43 г (0.01 моль) 3-меркапто-6-метил-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону **7** та 2.88 г (0.01 моль) етилового естеру 2-(хлороацетиламіно)-5,6-дігідро-4Н-циклопента[b]тіофен-3-карбонової кислоти, 2.78 г (0.02 моль) поташу нагрівали при перемішуванні на олійній

бані протягом трьох годин. Після охолодження, реакційну суміш виливали в 250 мл холодної води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 2.17 г (55%). $T_{пл.}$=168-169 °С. Знайдено, %: N=14.33 $C_{16}H_{18}N_4O_4S_2$. Вирахувано, %: N=14.20. Спектр (Додаток Є) ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.28 (т,3Н,CH_3), 2.10 (с,3Н,CH_3), 2.31 (м,2Н,CH_2), 2.81 (м,4Н,$(CH_2)_2$) 4.21 (с,2Н,CH_2), 4.23 (кв,2Н,CH_2), 11.3(с,1Н, NH), 14.0 (с,1Н,NH)

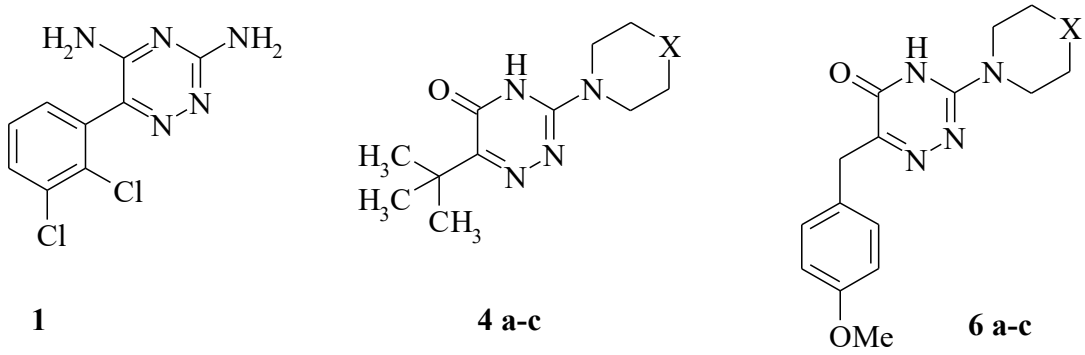
Синтез етилового естеру 2-[2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміно]-5,6,7,8-тетрагідробензо[b]тіофен-3-карбонової кислоти (сполука 12). Суміш 1.43 г (0.01 моль) 3-меркапто-6-метил-*4Н*-[1,2,4]триазин-5-ону **7** та 3.02 г (0.01 моль) етилового естеру 2-(хлорацетиламіно)-5,6-дігідро-4Н-циклопента[b]тіофен-3-карбонової кислоти, 2.78 г (0.02 моль) поташу нагрівали при перемішуванні на олійній бані протягом трьох годин. Після охолодження, реакційну суміш виливали в 250 мл холодної води з льодом. Осад, що утворився, відфільтровували та кристалізували з етанолу. Вихід – 2.37 г (58%). $T_{пл.}$=159-161 °С. Знайдено, %: N=13.71 $C_{17}H_{20}N_4O_4S_2$. Вирахувано, %: N=13.88. Спектр(Додаток Е) ПМР (ДМСО-d6, ТМС): 1.29 (т,3Н,CH_3), 1.71 (м,4Н,$(CH_2)_2$), 2.10 (с,3Н,CH_3), 2.59-2.69 (м, 4Н, $(CH_2)_2$) 4.20 (с,2Н,CH_2), 4.25 (кв, 2Н,CH_2), 11.5 (с,1Н, NH), 13.9(NH)

3.3. Біологічна активність похідних 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів

Для оцінки біологічної активності синтезованих похідних 6-алкіл-[1,2,4]-триазин-5-онів, були проведені дослідження щодо протисудомної та противірусної активності даних сполук.

3.3.1. Протисудомна активність 6-(алкіл)-3-R-*4Н*-[1,2,4]триазин-5-онів

Протиепілептичну активність трьох сполук ряду 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів та трьох сполук ряду 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів порівнювали зі стандартною речовиною – ламотриджином. Останній, як відомо, стабілізує пресинаптичні мембрани нейронів та їх натрієві канали, а також блокує вивільнення нейромедіаторів (рис. 3.1).



1 **4 a-c** **6 a-c**

Рис.3.1. Структурні формули ламотриджину **1** та похідних 6-*(трет* -бутил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-ону **(4 a-c)** та 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4] триазин-5-они **(6 a-c)**.

Відомо, що при терапії епілепсії важливі протисудомна, м'язорелаксуюча та заспокійлива дії, тому, при вивченні нових синтезованих похідних [1,2,4]триазин-5-ону, була проведена оцінка відповідної активності на моделях «відкритого поля», «коразолових судом» та «дротового тесту» [19, 27, 53].

Отримані експериментальні результати наведено в таблицях (Додаток А,Б).

Так, доведено, що на моделі коразолових судом у мишей (табл. 1, Додаток А) похідні 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів 4 a-c виявили помірну протисудомну дію, в цілому поступаючись за активністю ламотриджину. При цьому сполуки 4 a-c переважають препарат порівняння за впливом на гіперкінезію, але поступаються (крім 4 a) відносно тремору та стереотипних рухів, а також клонічних судом (крім 4 b).

В тесті «Відкрите поле» результати досліджень показали, що похідні 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів 4 а-с виявили седативну дію, за якою вони не поступались або переважали препарат порівняння ламотриджин (табл. 2, Додаток Б).

Введення цих сполук призводило до вірогідного зменшення горизонтальної активності, грумінгу, кількості фекальних болюсів. Проте не виявлено достовірного впливу цих сполук на дослідницьку поведінку та вертикальний компонент рухової активності досліджуваних тварин.

Відмічаємо, що піддослідні тварини частіше перетинали площу відкритого поля «навхрест», що може вказувати на їхню меншу тривожність. Як і референтний препарат порівняння, сполуки 4 а-с не чинили достовірного впливу на час зависання мишей на дроті, що свідчить про відсутність у них м'язово-релаксуючої активності.

Отже, синтезовані нові похідні 6-(*трет* -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин5-ону 4 а-с характеризуються помірною протисудомною, седативною дією, а також відсутністю м'язово-релаксуючої активності.

Заміщені сполуки ряду 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону 6 а-с відрізняються від сполук попереднього ряду.

Наявністю пара-метоксибензильної групи в базовій структурі, виявили протисудомну дію в коразоловому тесті (табл. 1). Вони характеризуються активністю при клонічних судомах, виражених клонічних судомах і повторних клонічних судомах (6 а) зокрема. Відмічаємо, що активність щодо гіперкінезії, тремору та стереотипних рухів, а також клонічних судом (помірно слабкі напади) виявляє сполука 6 b.

Також доведено, що сполука 6 с з введеним у третє положення морфолінового кільця за особливостями протисудомної дії, зокрема впливом на окремі прояви судомних нападів, близька до референтної речовини - ламотриджину [27, 53].

Дані сполуки мають подібний до ламотриджину вплив на поведінку мишей у тесті «Відкрите поле», зокрема помірно зменшують певні показники

рухової та дослідницької активності, що вказує на їхній седативний ефект. Як і ламотриджин, сполуки 6 a-c не проявляли достовірної дії на показник м'язорелаксуючої активності.

Таким чином, нові синтезовані сполуки ряду 6-(*трет* -бутил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-ону 4 a-c та 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-ону 6 a-c характеризуються протисудомною активністю на моделі коразолових судом у мишей, а їхня протисудомна та поведінкова активність (у тесті «Відкрите поле»), залежить від модифікації замісників, як у третьому, так і в шостому положеннях гетероциклічного 1,2,4-триазинового кільця.

Відомо, що в багатьох протиепілептичних препаратах (барбітурати, похідні бензодіазепіну, карбоксаміду, жирних кислот) протисудомна дія пов'язана з модуляцією ГАМК-ергічної системи мозку. Відсутність м'язово-релаксуючого ефекту в дротовому тесті та структурна близькість нових сполук до ламотриджину [6-(2,3-дихлорфеніл)-1,2,4-триазин-3,5-діамін] вказує на ймовірну відсутність ГАМК-ергічного компоненту їхньої специфічної активності.

Найбільш виражену анксіолітичну активність на моделі коразолових судом виявили похідні 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-ону. Найперспективнішою серед них є сполука 6 b (6-(4[1]-метоксифеніл)-3-піперидин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-он, яка за активністю близька до ламотриджину та характеризується помірною седативною дією.

3.3.2. Противірусна активність R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів

Методом молекулярного докінгу, була спрогнозована противірусна дія по відношенню до вірусу SARS-CoV-2 серед похідних R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-онів на чотирьох мішенях в рамках міжнародної програми E4C (Exscalate4CoV).

Розрахунки показали, що енергії зв'язку сполук **2-6** найміцніші для мішені *3CLpro* – 3-хімотрипсин-подібної цистеїнової протеази і є важливим

для його життєвого циклу. Так, для мішені 3CLpro енергія зв'язку сполуки **2** становить 5.52 ккал/моль, для сполуки **3** – 5.58 ккал/моль, для сполуки **4** – 5.43 ккал/моль, для сполуки **5** – 5.62 ккал/моль, для сполуки **6** – 5.72 ккал/моль.

Усе це може служити підставою для створення препаратів прямої противірусної дії для лікування хвороби Ковід-19.

ВИСНОВКИ

1. Узагальнено літературу з методів синтезу похідних 1,2,4-триазинів та їх практичного використання. Серед них можна виділити сполуки з

анальгезуючою, протизапальною, жарознижуючою, антибактеріальною активністю. Похідні 1,2,4-триазинів ефективні проти вірусу ВІЛ, показали високу протипухлинну активність та можуть буть використані як засоби захисту рослин в якості фунгіцидів та гербіцидів.

2. Синтезовано нові похідні 6-(трет -бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів, 6-(4^1-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів та ряду R-амідів 6-метил-[1,2,4]-триазин-5-он-3-тіометилкарбонової кислоти, визначено їхні фізико-хімічні властивості, а також встановлено будову з використанням спектральних методів аналізу.
3. Показано, що протисудомна активність похідних 6-(трет -бутил)-3-R-4H-[1,2,4] триазин-5-ону та 6-(41-метоксибензил)-3-R-4H-[1,2,4]триазин-5-ону на моделі пентилентетразолових (коразолових) судом залежить від модифікації замісників як в третьому, так і в шостому положеннях гетероциклічного 1,2,4-триазинового кільця. . Сполукою-лідером є 6-(41-метоксифеніл)-3-піперидин-1-їл-4H-[1,2,4] триазин-5-он), що пригнічує гіперкінезію, тремор і стереотипні рухи, клонічні судоми та повторні клоніко-тонічні судоми.
4. Комп'ютерний прогноз противірусної активності показав, що енергії зв'язку сполук **2-6** найміцніші для мішені *3CLpro* – 3-хімотрипсин-подібної цистеїнової протеази. Таким чином: досліджувані сполуки можуть служити підставою для створення препаратів прямої противірусної дії для лікування хвороби Ковид-19.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Берест Г. Г. 6-Тіо-6,7-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-2-они: синтез, функціоналізація, фізико-хімічні та біологічні властивості:

автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / Г. Г. Берест. Львів, 2012. 25 с.

2. Воскобойнік О. Ю., Скорина Д. Ю., Коваленко С.І. Спрямований пошук аналгетичних засобів серед 2-(8-R_1-9-R_2-10-R_3-3-R_4-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6- іл)карбонових кислот та їх похідних. *Проблеми синтезу біологічно активних речовин та створення на їх основі лікарських субстанцій:* матеріали української науково-практичної конференції, присвяченої 100-річчю від дня народження д. х. н., проф. Петюніна П. О. (Харків, 24-25 квітня 2014 р.). Харків:НФАУ, 2014. С. 25.

3. Синтез, фізико-хімічні властивості та протираковаактивність амідів (3-оксо-3,4-дигідро-2*H*-[1,2,4]триазино[4,3-*c*]хіназолін-4-іл)оцтової кислоти / Кривошей О. В., Коваленко С. І. // Медична хімія. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 109-117.

4. Трибель С. О. Методики випробування і застосування пестицидів. Київ: Світ, 2001. 448 с.

5. Державний реєстр пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні згідно вимог постанови Кабінету Міністрів України від 21.11.2007 № 1328 :https:// https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/n0001556-00#Text (дата звернення 20.05.2023).

6. Похідні 1,2,4-триазин-6-ону, що інгібують ВІЛ. URL: https://patentimages.storage.googleapis.com/72/92/fb/bd039167b54cc6/RU2401833C2.pdf (дата звернення 08.06.2023).

7. Прилуцький Ю.І., Ільченко О.В., Цимбалюк О.В., Костерін С.О. Статистичні методи в біології: навч. підручнік. Київ:Наукова думка, 2017. 211 с.

8. Половкович С. В. Синтез та властивості нових фізіологічно-активних сполук на основі 2,4,6,-трихлоро-1,3,5-триазину. дис. канд. хім. наук : 02.00.03. Львів 2011. 20 с.

9. Скорина Д.Ю. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості (3-R-2-оксо-2Н-[1,2,4]триазино[2,3-С]хіназолін-6-іл)карбонових кислот та їх похідних: автореф. дис. канд. фарм. наук. Запоріжжя: ЗМУ, 2015.

10. Скорина Д.Ю. 3-R-2-оксо-2*H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)карбонові кислоти – перспективні анальгетики / Д. Ю. Скорина, О. Ю. Воскобойнік *// Актуальні питання фармацевтичної науки і практики*. 2011. – Вип. XXIV, № 2. С. 177-178.

11. Солі (3-R-8-R1-9-R2-10-R3-11-R4-2-оксо-*2H*-[1,2,4]триазино[2,3-*c*]хіназолін-6-іл)алкілкарбонових кислот, що підвищують фізичну витривалість організму : пат. на корисну модель 81634 Україна, МПК (2013.01) A61K 31/00. № u 2012 14626 ; заявл. 20.12.12 ; опубл. 10.07.13, Бюл. № 13.

12. Фармакологія та лікарська токсикологія / Степанюк Г.І. та ін. Київ: Авіцена 2011. 307-308 с.

13. Янченко В.О., Смольський О.С.,Демченко А.М. Основи хімії гетероциклічних сполук: навч. посібник. – Чернігів: ЧНПУ імені Т.Г. Шевченка, 2010. 224 с.

14. Abd El-Moneim M., Hasanen J. A., El-Deen I. M., Abd El-Fattah W. Synthesis of fused 1,2,4-triazines as potential antimicrobial and antitumor agents. *Res. Chem.Intermed*. 2015. № 6. P. 3543-3561.

15. ACD/Structure Elucidator, version 2018.1, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com, 2019.

16. Adly O. M., Emara A.A. Spectroscopic and biological studies of new binuclear metal complexes of a tridentate ONS hydrazone ligand derived from 4-amino-6- methyl-3-thioxo-3,4-dihydro-1,2,4-triazin-5(2*H*)-one and 4,6-

diacetylresorcinol. Spectrochimica Acta Part A. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2014. №11. P. 91-101.

17. Aly A.S., El-Gazzar A.B., Hussein H.A. The synthesis of some new derivatives derived from 1,2,3,4-tetrahydrocyclohepteno[4,5]thieno-[2,3-d]pyrimidine. *Phosph., Sulfur, and Silicon and Relat. Elem*. 2007. № 1. P. 35-56.

18. Badawy M., Nasr H., Rabea E. Toxicity and biochemical changes in the honey bee Apis mellifera exposed to four insecticides under laboratory conditions. *Apidologie*. 2015. № 2. P. 177-193.

19. Calcaterra NE, Barrow JC. Classics in chemical neuroscience: diazepam (valium). *ACS Chem Neurosci*. 2014 Apr 16;5(4):253-60.

20. ChemAxon MarvinSketch. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : http://www.chemaxon.com. – Назва з екрану (12.05.2023)

21. Dalloul H. M., Al-Shorafa A.Z. On reactions of triazinones: Synthesis of new 5-arylidene-4,5-dihydro-1,2,4-triazin-6-ones. *Organic Communication*. 2009. № 1. P.20-27.

22. Draffan A. G., Frey B., Fraser B.H., Pool B., Gannon C. Derivatives of imidazotriazine and pyrrolotriazine C-nucleosides as potential new anti-HCV agents. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2014. № 21. P. 4984-4988.

23. Dugar S., Hollinger F. P., Kuila B., Arora R., Sen S., Mahajan D. Synthesis and evaluation of pyrrolotriazine based molecules as PI3 kinase inhibitors. *Bioorganic& Medicinal Chemistry Letters*. 2015. № 16. P. 3142-3146.

24. El-Sayed W. A., Nassar I. F., Abdel-Rahman A. A Synthesis and antitumor activity of new 1,2,4-triazine and [1,2,4]triazolo[4,3-*b*][1,2,4]triazine derivatives and theirthioglycoside and acyclic C-nucleoside analogs. *J. Heterocyclic Chem*. 2014. № 1.P. 135–143.

25. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS No. 123). Strasbourg

18/03/1986. [Електронний ресурс. доступ до файлу: https://rm.coe.int/168007a67b].

26. Features of interaction between 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazin-5(2*H*)-ones and cyclic anhydrides of non-symmetric dicarboxylic / Voskoboynik O. Yu., Skorina D. Yu., Shishkina S. V. [et al.] // *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. – 2015. – Т. 13, вип. 1 (49). – P. 25-31.

27. Gerald M.C., Riffee W.H. Acute and chronic effects of d- and 1-amphetamine on seizure susceptibility in mice / Gerald M.C., Riffee W.H. - *Eur. J. Pharmacol*. — 1973. — Vol. 21, N 3. — P. 323–330.

28. Gouda M. A. Synthesis and antioxidant evaluation of some new pyridopyrazolotriazine derivatives. *J. Heterocyclic Chem*., 2014. № 1. P. 1-10.

29. Hamama W. S., Gouda M. A., Badr M. H., Zoorob H. H. Synthesis, antioxidant, and antitumor evaluation of certain new N-substituted-2-amino-1,3,4-thiadiazoles.*Med. Chem. Res*. 2013. № 8. P. 3556-3565.

30. Huang P., Lee K. Synthesis and antibacterial evaluation of 6-azapyrimidines with α-methylene-c-(4-substituted phenyl)-c-butyrolactone pharmacophores. *Med. Chem. Res*. 2011. № 20. P. 1081–1090.

31. Hynes J., Alaric Jr., Dyckman J., Lin S., Wrobleski S.T., Kathleen H.W., Gillooly M. Design, Synthesis, and anti-inflammatory properties of orally active 4- (phenylamino)-pyrrolo[2,1-f][1,2,4]triazine p38r mitogen-activated protein kinase inhibitors. *J. Med. Chem*. 2008. № 51. P. 4–16.

32. Interaction of 3-(2-aminophenyl)-6-R-1,2,4-triazin-5-ones with acylating reagents – an efficient method for preparation of 6-substituted 3-R-2H-[1,2,4]triazino[2,3-c]quinazolin-2-ones / Alexey Yu. Voskoboynik, Dmitriy Yu. Scorina, Tetiana Yu. Sergeieva [et al.] // J. Het. Chem. – 2014. (DOI10.1002/jhet.2120).

33. Irannejad, H., Nadri, H., Naderi, N. Anticonvulsant activity of 1,2,4-triazine derivatives with pyridyl side chain: synthesis, biological, and computational study. Med Chem Res 2015;24, 2505–2513.

34. Jacobsen C. S., Keur P., Iversen B. V., Rosenberg P., Barlebo H. C., Torp S. Variation of MCPA, metribuzine, methyltriazine-amine and glyphosate degradation, sorption, mineralization and leaching in different soil horizons. Environmental Pollution. 2008. V. 156, № 3. P. 794–802.

35. Krauth F., Dahse H., Ruttinger H., Frohberg P. Synthesis and characterization of novel 1,2,4-triazine derivatives with antiproliferative activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2010. № 18. P.1816–1821.

36. Ma X., Poon T.-Y., Wong P. T. H., Chui W.-K. Synthesis and in vitro evaluation of 2,4-diamino-1,3,5-triazine derivatives as neuronal voltage-gated sodium channel blockers Bioorg Med Chem Lett. 2009 Oct 1;19(19):5644-7.

37. Maurice Girard. Semicarbazone et thiosemicarbazone de l'acide para-methoxyphenylpyruvique. Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Académie des Sciences, 1938, vol. 206, p. 1303.

38. Montagnat O., Ban K., Duffy S., Khakham Y., Avery V., Hughes A. 3-Alkylthio1,2,4-triazine dimers with potent antimalarial activity. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. 2010. № 20. P.6024-6029

39. Owen W. J., Sullenberger M. T., Loso M. R., Meyer K. G., Slanec T. J. Synthesis and antifungal activity of 3-aryl-1,2,4-triazin-6-one derivatives. Pest Manag Sci.2015. № 71. P. 83–90.

40. Pandey K., Singh A. Antimicrobial studies of some novel quinazolinones fused with [1,2,4]-triazole, [1,2,4]-triazine and [1,2,4,5]-tetrazine rings. Eur. J Med. Chem. 2009. № 3. P. 1188–1197.

41. Patent; Suzhou Chenghe Pharmaceutical & Chemical Co., Ltd.; Wang, Liming; Xia, Qiujing; Chen, Jie; (6 pag.); CN103333129; (2016); (B) Chinese.

42. Paul M. P., White Jr. M., Potter T. L., Lima I. M. Sugarcane and pinewood biochar effects on activity and aerobic soil dissipation of metribuzin and pendimethalin. Original Research Article Industrial Crops and Products. 2015. № 15. P. 737-744.

43. Preti D., Baraldi P. G., Moorman A. R., Borea P. A. History and Perspectives of A2A Adenosine Receptor Antagonists as Potential Therapeutic Agents. MedicinalResearch Reviews. 2015. № 4. P. 790-848.

44. Refat M. S., El-Deen I. M., El-Garib M. S., Abd El-Fattah W. Spectroscopic and anticancer studies on new synthesized copper(II) and manganese(II) complexes with 1,2,4-triazines thiosemicarbazide. Russian Journal of General Chemistry. 2015. № 3. P. 692-707.

45. Sahu M., N. Siddiqui, Naim M. J., Alam O, Yar M. S. , Sharma V., Wakode S. Design, Synthesis, and Docking Study of Pyrimidine-Triazine Hybrids for GABA Estimation in Animal Epilepsy Models Arch Pharm (Weinheim). 2017 Sep;350(9).

46. Singh K., Pandey O., Sengupta S. Synthesis, spectral characterization and biological activity of zinc(II) complexes with 3-substituted phenyl-4-amino-5-hyd- razino-1,2,4-triazine Schiff bases. Spectrochim Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.2012. № 1. P. 1–6.

47. Singh K., Raparia S., Surain P. Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) Complexes of 4-(4- cyanobenzylideneamino)-3-mercapto-5-oxo-1,2,4-triazine: synthesis, characteriza- tion and biological studies. Med. Chem. Res. 2014. № 12. P. 101-113.

48. Shi B., Lewis W., Campbell I. B., Moody C. J. A concise route to pyridines from hydrazides by metal carbene N-H insertion, 1,2,4-triazine formation, and Diels-Alder reaction. Org. Lett. 2009. № 16. P. 3686-368.

49. Skurlatov Yu. I., Zaitseva N. I., Shtamm E. V., Baikova I. S., Semenyak L. V. New-generation pesticides as a factor of chemical hazard to aquatic ecosystems. Russian Journal of Physical Chemistry B. 2015. № 3. P. 490-497.

50. Synthesis of 2-(3,4-dihydro-3-oxo-2*H*-[1,2,4]triazino[4,3-*c*]quinazolin- 4-yl)acetic acid derivatives as potential antioxidants in nitrosative stress model /S. I. Kovalenko, I. F. Belenichev, V. V. Galitsa [et al.] // Pharmacia. – 2010. – Vol.58, № 2. – P. 145-157.

51. Sztanke K., Pasternak K., Rzymowska J., Sztanke M., Kandefer-Szerszen M. Synthesis, structure elucidation and identification of antitumoural properties of novel fused 1,2,4-triazine aryl derivatives. European Journal of Medicinal Chemistry. 2008. № 43. P. 1085-1094.

52. Triazine [Електронний ресурс]. – Режим доступу : https://wiki2.org/en/Triazine.– Назва з екрану (08.06.2023)].

53. Vogel Gerhard H. Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays Second Completely Revised, Updated, and Enlarged Edition. SpringerVerlag Berlin Heidelberg 2002. – p. 1026.

54. Upadhyay K., Manvar A., Loddo R., Colla P.L., Virsodiya V., Chaniyara J.T., Shah A. Syntheses and in vitro biological screening of 1-aryl-10H-[1,2,4]triazolo[3',4': 3,4][1,2,4]triazino[5,6-b]indoles. Med. Chem. Res. 2013. № 22. P. 3675-3686.

ДОДАТОК А

Таблиця 1

Поведінкова та м'язово-релаксуюча активність похідних 6-(*трет*-бутил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів 4 а-с та 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів 6 а-с у білих нелінійних мишей (M±m) , n=5

Сполука	Стат.	Відкрите поле	Дротовий тест

	показники	К-ть пересічених квадратів, n		Дослідницька активність, n		Вертикальна активність, n		Грумінг, с		Фекальні болюси, n		Час висіння на дроті, с	
		Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Контр.	Дослід	Вихід	30 хв
Діазепам	M	89,8	33,8	6,4	2	8,2	0,8	59,18	0,8	0,2	0	49,6	23,0
	±m	2,47	7,8	1,1	0,35	0,44	0,44	18,81	0,44	0,11	0	5,81	3,04
	%		**-62,3***		**-68,7***		**-90,24***		**-98,64***		**-100***		-58,2*
4 b	M	192,6	126,2	0,8	1,4	8,2	10	15,4	4,6	1	0,2	60	60
	±m	29,00	7,60	0,32	0,41	0,89	1,03	5,58	2,57	0,35	0,11	0	0
	%		**-34,47***		**75**		**21,95**		**-70,12***		**-80***		**0**
4 a	M	192,6	139,6	0,8	1	8,2	10,4	15,4	23	1	0	51,4	55,8
	±m	29,00	12,14	0,32	0,25	0,89	0,99	5,58	8,82	0,35	0	4,80	2,34
	%		**-27,5***		**25**		**26,82**		**49,35***		**-100**		**8,56**
4 c	M	192,6	106,6	0,8	0,6	8,2	7,2	15,4	25,6	1	0,2	50	60
	±m	29,00	11,38	0,32	0,22	0,89	0,85	5,58	14,31	0,35	0,11	5,59	0
	%		**-44,65***		**-25**		**-12,19**		**66,23***		**-80***		**20**
Ламториджин	M	143,2	123	4,2	2	11,6	6,6	6,2	3,6	0,8	0	60	60
	±m	6,03	5,44	0,64	0,17	1,56	0,57	1,12	1,34	0,27	0	0	0
	%		**-14,10**		**-52,38***		**-43,1***		**-41,93**		**-100**		**0**
6 b	M	173,6	91,2	4,2	0,8	11,6	6,2	6,2	7	0,8	0,2	60	60
	±m	15,26	5,87	0,64	0,20	1,56	1,25	1,12	2,73	0,27	0,11	0	0
	%		**-47,46***		**-80,95***		**-46,55***		**12,90**		**-75**		**0**
6 c	M	143,2	89,6	4,2	0,4	11,6	11,6	6,2	8,4	0,8	0,6	56,6	60
	±m	6,03	13,49	0,64	0,13	1,56	2,75	1,12	2,88	0,27	0,13	0,07	0
	%		**-37,43***		**-90,47***		**0**		**35,48**		**-25**		**6,01**
6 a	M	143,2	131,2	4,2	2,4	11,6	10,2	6,2	10,2	0,8	0,2	60	50,2
	±m	6,03	15,84	0,64	0,41	1,56	0,99	1,12361	5,7	0,27	0,11	0	0,21
	%		**-8,37**		**-42,85***		**-12,0**		**64,51***		**-75**		**-16,33**

Примітка: * - P<0,05 у порівнянні з контролем

ДОДАТОК Б

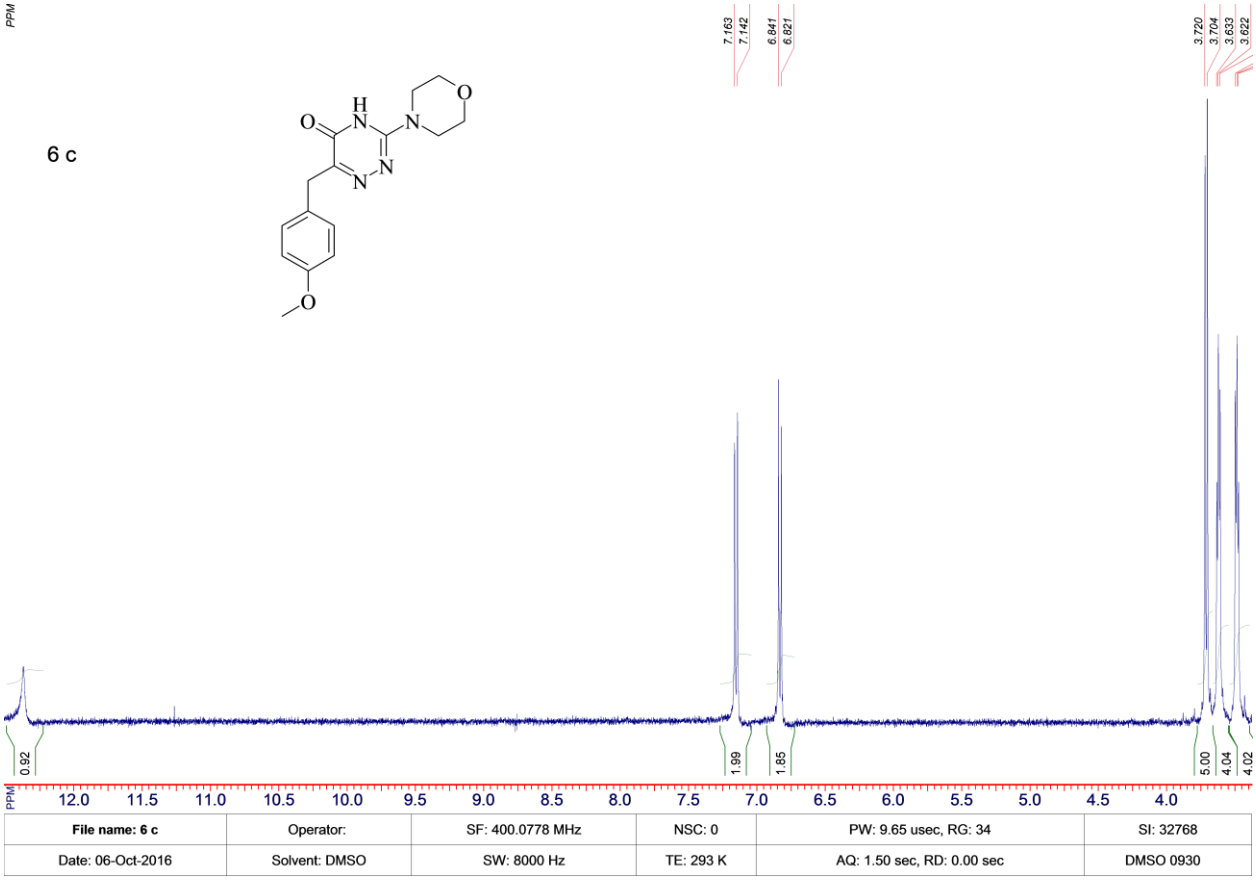
Таблиця 2

Протисудомна активність похідних 6-(4[1]-метоксибензил)-3-R-*4H*-[1,2,4]триазин-5-онів у білих нелінійних мишей в тесті коразолових судом, n=5

Сполука	Показн	Гіперкінезія		Тремор, стеор. рухи		Клонічні судоми		Вираз. тоніко-клоніч. судом.		Повтор клоніч. тоніч суд	
Диазепам	M	0,40	0,40	2,00	0,80	2,30	0	2,67	0,8	0,56	0
	m	0,05	0,13	0	0,27	0,14	0	0,22	0,44	0,18	0
	%	-	**0**	-	**-60***	-	**-100***	-	**-70***	-	**-100,0**
4 b	M	0,83	0,40	1,60	1,20	2,40	0	2,400	0,8	-	-
	m	0,08	0,042	0,17	0,084	0,013	0	0,43	0,35	-	-
	%		**-52***		**-25***		**-100**		**-66,7**	-	-
4 a	M	0,83	0,40	1,60	0,40	2,40	3	2,4	1,6	-	-
	m	0,08	0,04	0,17	0,072	0,013	0	0,00017	0,00017	-	-
	%		**-52***		**-75***		**25**		**-33,3**	-	-
4c	M	0,83	0,40	1,60	1,20	2,40	3	2,40	0	-	-
	m	0,08	0,10	0,17	0,21	0,01	0	0,43	0	-	-
	%		**-52***		**-25**		**25**		**-100**	-	-
Ламотриджин	M	1,83	**0,6**	2,2	**1**	3,2	**0**	1,4	**0**	0,8	**0**
	m	0,23	0,17	0,16	0,2	0,004	0	0,22	0	0,16	0
	%		**-67,2***		**-54,5***		**-100***		**-100***		**-100***
6 b	M	1,83	0,40	2,20	1,00	3,20	1,20	1,40	1,20	0,80	0,20
	m	0,23	0,11	0,16	0,14	0,004	0,32	0,22	0,089	0,16	0,09
	%	-	**-78,2***	-	**-54,5***	-	**-62,5***	-	**-14,2**	-	**-75,0**
6 c	M	1,83	1,40	2,20	1,20	3,20	1,20	1,40	0,60	0,80	0
	m	0,23	0,11	0,16	0,089	0,004	0,08	0,22	0,11	0,16	0
	%	-	**-23,6**	-	**-45,4***	-	**-62,5***	-	**-57,1***	-	**-100,0**
6 a	M	1,83	1,40	2,20	2,40	3,20	1,00	1,40	0	0,80	0
	m	0,23	0,22	0,16	0,22	0,004	0,14	0,22	0	0,16	0
	%	-	**-23,6**	-	**9,1**	-	**-68,7***	-	**-100,0***	-	**-100,0**

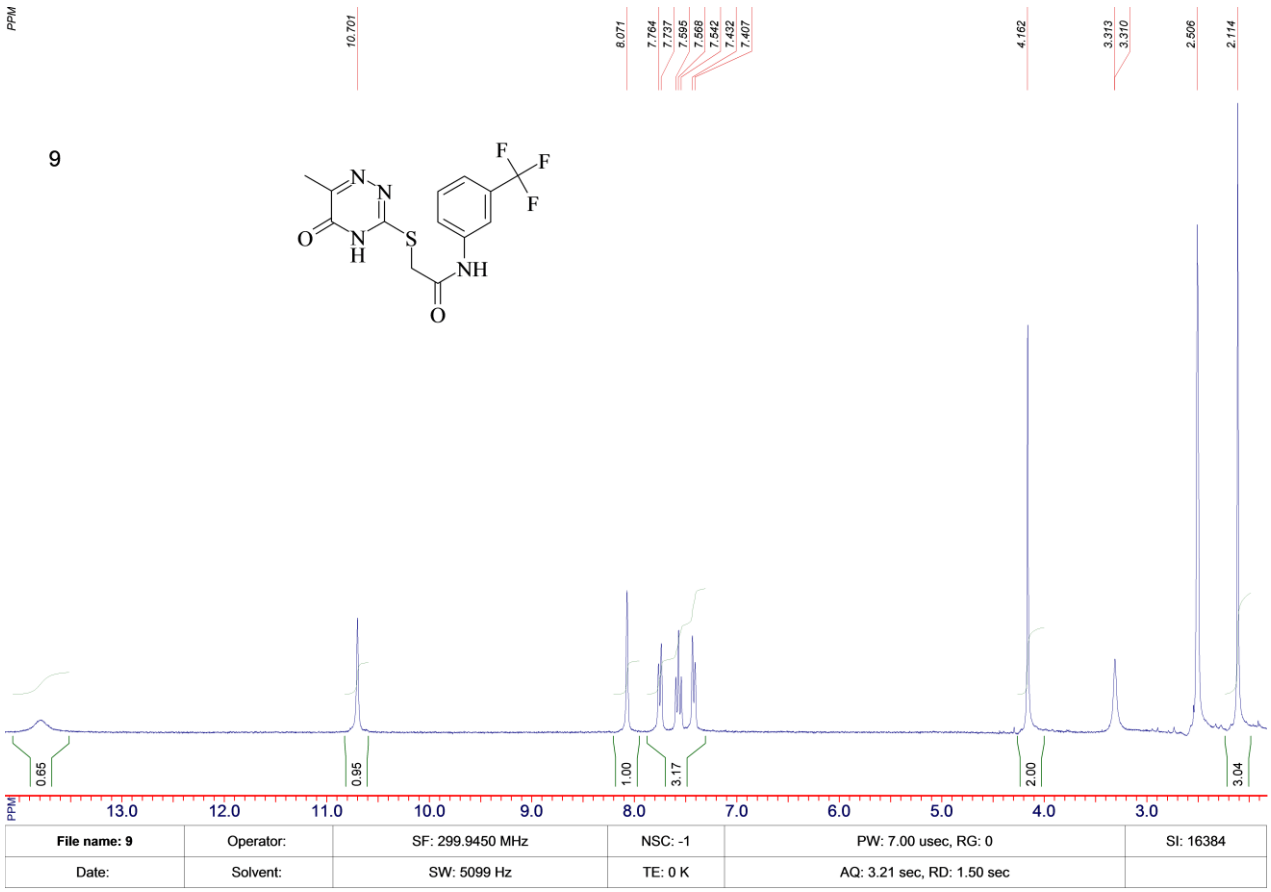
Примітка: * - P≤0.05 у порівнянні з контролем.

ДОДАТОК В
Спекрт 6-(4[1]-метоксифеніл)-3-пірролідин-1-їл-*4H*-[1,2,4]триазин-5-ону (сполука 6 а).



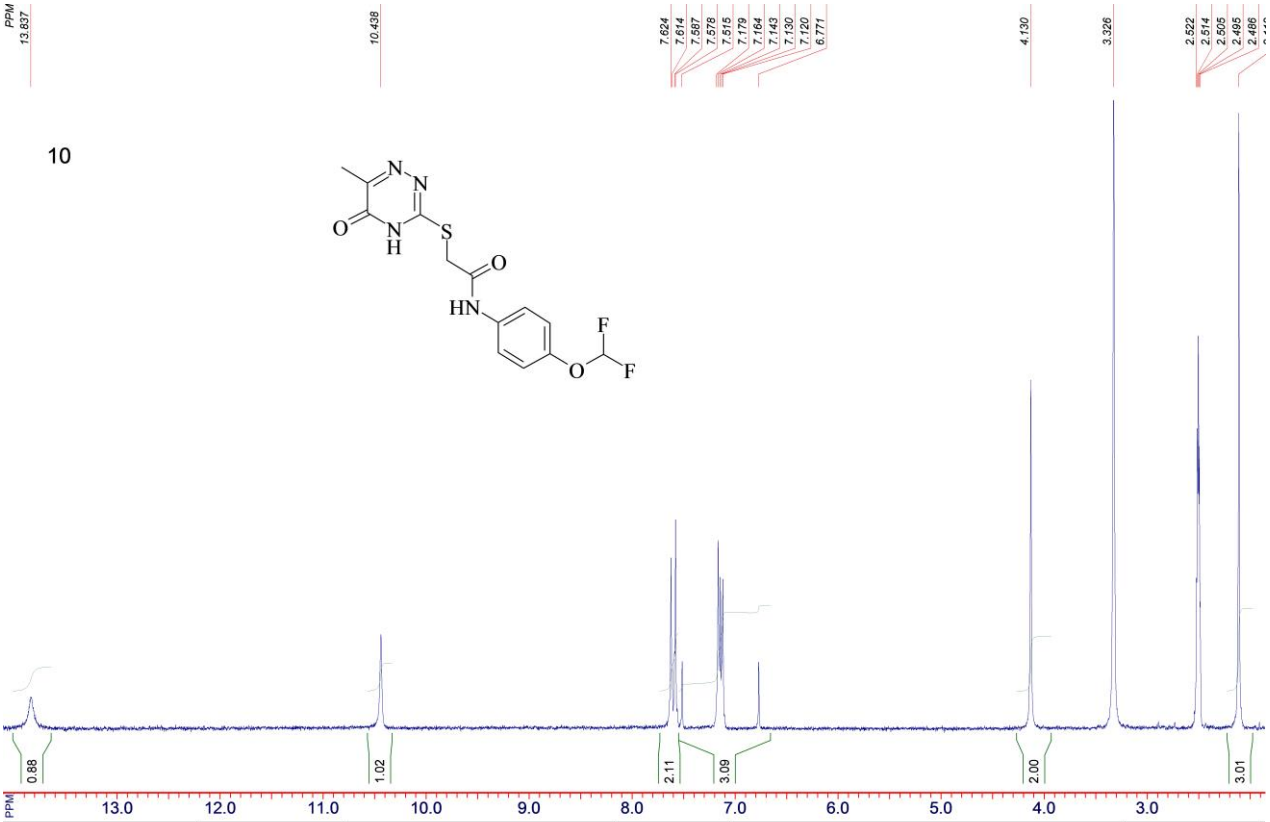
File name: 6 c	Operator:	SF: 400.0778 MHz	NSC: 0	PW: 9.65 usec, RG: 34	SI: 32768
Date: 06-Oct-2016	Solvent: DMSO	SW: 8000 Hz	TE: 293 K	AQ: 1.50 sec, RD: 0.00 sec	DMSO 0930

ДОДАТОК Г
Спекрт 2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)- N-(3-трифлуорометилфеніл)-ацетаміду (сполука 9)



File name: 9	Operator:	SF: 299.9450 MHz	NSC: -1	PW: 7.00 usec, RG: 0	SI: 16384
Date:	Solvent:	SW: 5099 Hz	TE: 0 K	AQ: 3.21 sec, RD: 1.50 sec	

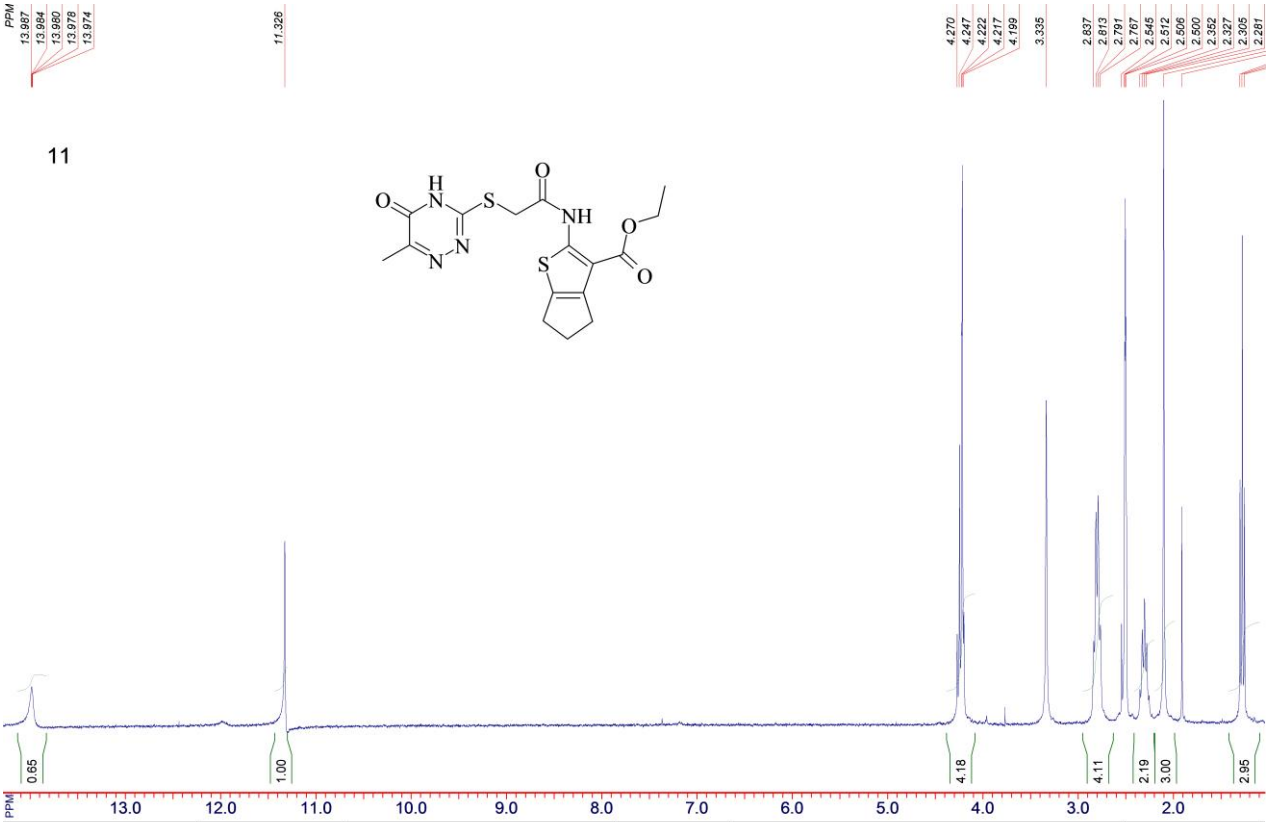
ДОДАТОК Д
Спекрт N-(4-діфлуорометоксіфеніл)-2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміду (сполука 10)



File name: 10	Operator:	SF: 199.9750 MHz	NSC: -1	PW: 9.00 usec, RG: 0	SI: 16384
Date:	Solvent:	SW: 3300 Hz	TE: 0 K	AQ: 4.96 sec, RD: 1.50 sec	

ДОДАТОК Є

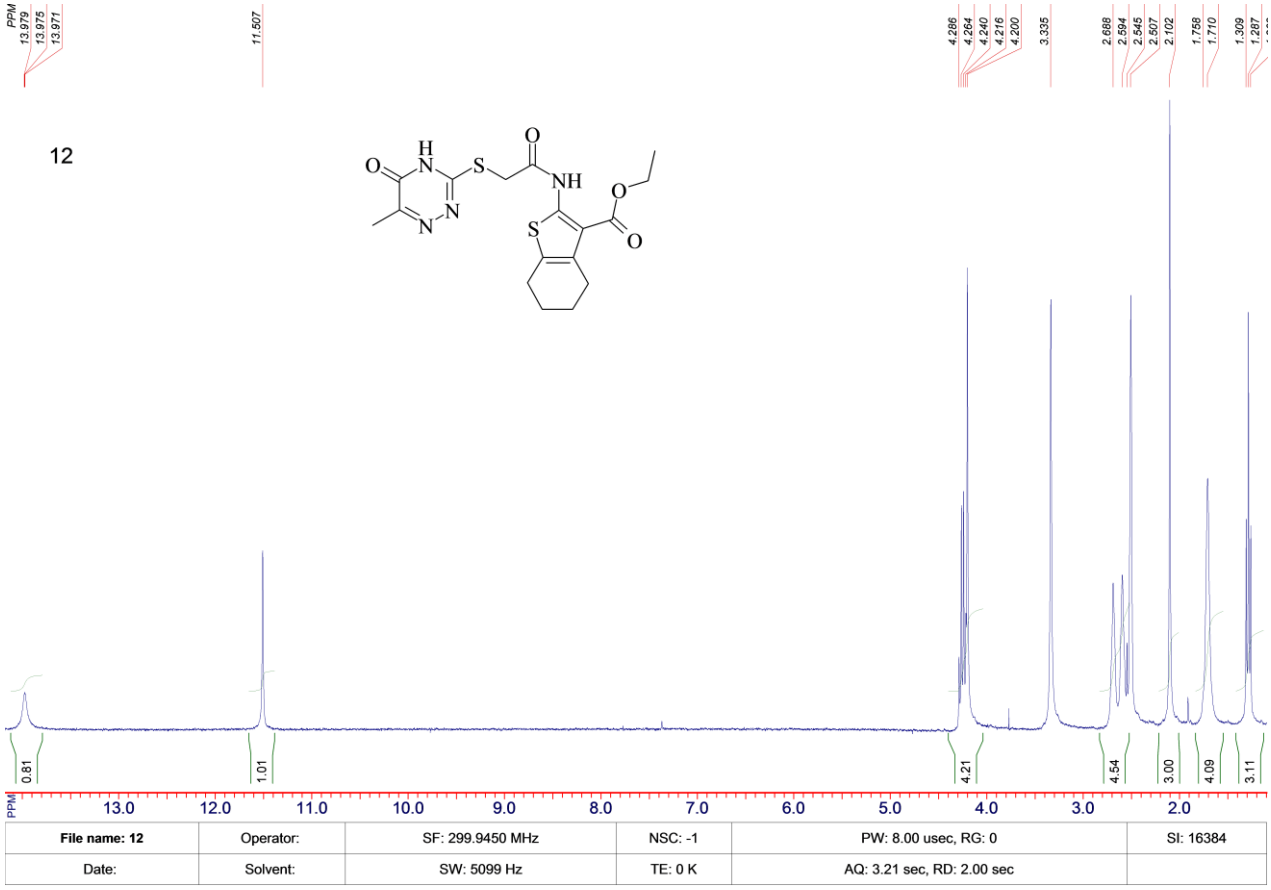
Спектр етилового естеру 2-[2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміно]-5,6-дігідро-*4H*-циклопента[b]тіофен-3-карбонової кислоти (сполука 11).



File name: 11	Operator:	SF: 299.9450 MHz	NSC: -1	PW: 8.00 usec, RG: 0	SI: 16384
Date:	Solvent:	SW: 5099 Hz	TE: 0 K	AQ: 3.21 sec, RD: 2.00 sec	

ДОДАТОК Е

Спектр етилового естеру 2-[2-(6-метил-5-оксо-4,5-дігідро-[1,2,4]триазин-3-їлсульфанил)-ацетаміно]-5,6,7,8-тетрагідробензо[b]тіофен-3-карбонової кислоти (сполука 12).



File name: 12	Operator:	SF: 299.9450 MHz	NSC: -1	PW: 8.00 usec, RG: 0	SI: 16384
Date:	Solvent:	SW: 5099 Hz	TE: 0 K	AQ: 3.21 sec, RD: 2.00 sec	