

С. Ю. Суйков, М. Ю. Кальницький, О. І. Луцик,  
Л. А. Плющакова, А. В. Бондаренко, С. Л. Богза,  
академік НАН України А. Ф. Попов

## Похідні [1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазин-6-іл-гідразинів — новий тренувальний ряд для прогнозних моделей розподілу октанол — вода

*The set of [1,2,4]triazolo[4,3-*b*]pyridazin-6-yl-hydrazin derivatives has been synthesized. We have analyzed their spectral <sup>1</sup>H NMR and molecular modelling data. Octanol/water partition coefficients  $P_{ow}$  have been measured by the “shake flask” method. The results were compared with values  $P_{ow}$  predicted by a number of empirical models. It is shown that this set can serve as an effective “teaching” and validative tool for predictive models.*

Гетероциклічне ядро [1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазину стабільно привертає значну увагу своїм фармакологічним потенціалом [1]. Для його похідних показано гіпотензивну, фунгіцидну, анксиолітичну, протизапальну активність. Для насичених сполук цього ряду отримано дані щодо помірного рівня цитотоксичної активності [2]. Але ефективно планування синтезу у цьому ряду ускладнене тим, що фізико-хімічні параметри сполук у ньому, зокрема коефіцієнти розподілу октанол — вода ( $P_{ow}$ ), майже не досліджено [3]. Як наслідок наявним прогнозним моделям “невідомий” образ фрагмента [1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазину.

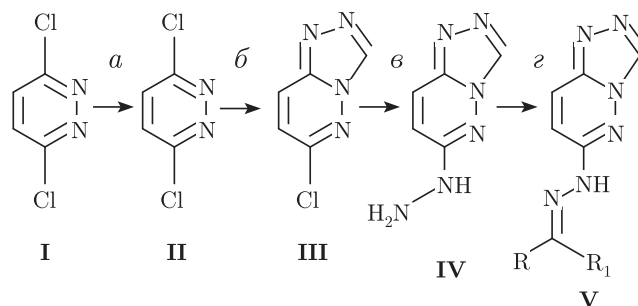


Схема синтезу N-(1-*R*-іліден)-*N'*-[1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазин-6-іл-гідразинів. **V**: 1 — *R* = Me,  $R_1$  = 3-(MeO)Ph; 2 — *R* = Me,  $R_1$  = 2-(MeO)Ph; 3 — *R* = Me,  $R_1$  = 3,4-(MeO)<sub>2</sub>Ph; 4 — *R* = Me,  $R_1$  = Furil-2; 5 — *R* = Me,  $R_1$  = 2-(OH)Ph; 6 — *R* = Me,  $R_1$  = 3-(OH)Ph; 7 — *R* = Me,  $R_1$  = 4-(OH)Ph; 8 — *R* = Me,  $R_1$  =  $\alpha$ -Pyridyl; 9 — *R* = Me,  $R_1$  =  $\gamma$ -Pyridyl; 10 — *R* = Me,  $R_1$  = 4-(F)Ph; 11 — *R* = Me,  $R_1$  = 4-(CH<sub>3</sub>)Ph; 12 — *R* = Et,  $R_1$  = Ph; 13 — *R* = H,  $R_1$  = 3,4,5-(MeO)<sub>3</sub>-Ph.

Роботу присвячено дослідженню похідних цього гетероциклу, зокрема придатних як блоки для подальшого синтезу. Структуру досліджуваних сполук визначено за схемою синтезу аналогічною статті [4]. Вихідний дихлорид **I** використано від Sigma-Aldrich. Синтез проводили за загальною методикою (нумерація стадій відповідає наведеній схемі): *a* — суміш 27,5 мл (0,19 моль) дихлориду **I**, 22,2 мл (0,37 моль) гідразингідрату у 35 мл метанолу кип'ятили 1 год. Після цього розчинник повністю видаляли у вакуумі, залишок двічі перекристалізували з 50 мл води; *б* — до 19,6 г (0,14 моль) сполуки **II** додавали 20,3 мл (0,43 моль)

85% мурашиної кислоти. Реакційну масу нагрівали з перемішуванням на водяній бані протягом 1 год. Охолоджували, додавали 50 мл води, відфільтровували осад, промивали його водою та сушили на повітрі. На відміну від [1], використання мурашиної кислоти дозволяє отримувати продукт достатньої чистоти і далі у синтезі використовувати без додаткового очищення. Така методика дає навіть більші виходи, ніж використання *O*-алкілованих оксимів [14];  $\epsilon$  — до розчину 17,6 г (0,11 моль) сполуки **III** у 70 мл метанолу додавали 20,5 мл (0,34 моль) 80% гідразингідрату, при цьому суміш розігрівалася з одночасним випадінням продукту **IV**. Суміш нагрівали на водяній бані ще 1 год, охолоджували, відфільтровували осад, промивали метанолом та сушили на повітрі. Аналогічну процедуру, за виключенням розчину, було використано для отримання 6-гідразо-[1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазину [5];  $z$  — гідразони отримували за загальною методикою [6] — суміш гідразину **IV** і відповідного кетону або альдегіду (у співвідношенні 1 : 1,05) у метанолі кип'ятили 5 год, охолоджували, осад відфільтровували, промивали метанолом та сушили на повітрі. Елементний склад отриманих сполук відповідає розрахованому у межах прийнятних помилок: **III** — Вихід 84%; брутто-формула  $C_5H_3ClN_4$ ;  $t_T$  203–204 °C. **IV** — 85%;  $C_5H_6N_6$ ; 222–223 °C. **V.1** — 85%;  $C_{14}H_{14}N_6O$ ; 216–218 °C. **V.2** — 80%;  $C_{14}H_{14}N_6O$ ; 236–238 °C. **V.3** — 89%;  $C_{15}H_{16}N_6O_2$ ; 232–233 °C. **V.4** — 88%;  $C_{11}H_{10}N_6O$ ; 251–252 °C. **V.5** — 86%;  $C_{13}H_{12}N_6O$ ; 285–287 °C. **V.6** — 91%;  $C_{13}H_{12}N_6O$ ; 191–193 °C. **V.7** — 90%;  $C_{13}H_{12}N_6O$ ; 273,5–275 °C. **V.8** — 93%;  $C_{12}H_{11}N_7$ ; 241–243 °C. **V.9** — 90%;  $C_{12}H_{11}N_7$ ; 273–274 °C. **V.10** — 95%;  $C_{13}H_{11}FN_6$ ; 260,5–261,5 °C. **V.11** — 88%;  $C_{14}H_{14}N_6$ ; 214,5–216,5 °C. **V.12** — 79%;  $C_{14}H_{14}N_6$ ; 186–188 °C. **V.13** — 90%;  $C_{15}H_{16}N_6O_3$ ; 250–252 °C (нумерація сполук відповідає схемі).

Спектри ЯМР  $^1H$  отримано на спектрометрі GEMINI-200 (Varian), розчинник ДМСО- $d_6$ , температура кімнатна. Спектри знаходяться у злагоді з очікуваною структурою сполук (табл. 1). Константа спин-спінової взаємодії між протонами 7 та 8 для сполук ряду **V** становить 10 Гц, для **III** — 9,4, для **IV** — 9,0.

Для вимірювання коефіцієнтів розподілу використовували адаптований метод “струшування” [7] з УФ спектрофотометричним аналізом фаз (термостатована кювета,  $(25 \pm 0,5)$  °C, СФ-46). У всіх випадках використовували взаємонасичені при  $(25 \pm 1)$  °C октанол та воду. Струшування проводили протягом 2–3 год (достатність цього часу для урівноваження системи було показано у [7]), розділення фаз проводили у повітряному термостаті  $(25 \pm 1)$  °C 24 год. Для гарантованого видалення мікрокраплин октанолу з водної фази використовували центрифугування (3000 об/хв) протягом 1–2 хв. Коефіцієнт розподілу отримували як тангенс кута нахилу ізотерми розподілу, зазвичай з 7–10 окремих вимірювань. Вірогідність результатів оцінювали за рядом добре досліджених сполук [3]: анілін, папаверин, *p*-дихлорбензол [8] і карбазол. Легко бачити (табл. 1), що в усьому синтезованому ряді спостерігається мала чутливість сигналів протонів гетероциклічного ядра до замісників у 1-*R*-етиліденовому фрагменті. Лише для сполуки **5** наявні сильнополярні зміщення сигналів протонів гетероциклічного ядра, що у поєднанні зі значно зміщеним у слабке поле вузьким синглетом (*O*)–*H* протона, ймовірно, свідчить про наявність внутрішньомолекулярного водневого зв'язку (ВВЗ) з участю гідроксильної групи. Наявність цього ефекту лише для *орто*-замісника свідчить на користь структури з малим розміром циклу (тобто з *NH* компонентою гідразонової системи), але дещо неочікуваними є помітні зміщення сигналів протонів гетероциклічного ядра. Спектральні дані вказують на малий взаємний вплив гетероциклічного ядра [1,2,4]триазоло[4,3-*b*]піридазину та замісників *N*-етиліденового фрагмента.

Моделювання геометрії молекул напівемпіричним методом у базисі AM1 (MOPAC6) показало, що три основні блоки — гетероциклічне ядро, гідразоновий та фенільний фрагмен-

ти — знаходяться у різних площинах і не мають геометричних умов для спряження, тобто для ефективної електронної взаємодії фрагментів. За винятком трьох оксозаміщених (№№ 5, 6 та 7), у вивченому ряді немає сполук із групами, здатними до помітної специфічної сольватації. Таким чином, ряд у цілому видається *a priori* цілком прийнятним об'єктом для перевірки наявних емпіричних моделей прогнозу  $P_{ow}$  [13].

Усі досліджені сполуки мають ліпофільну природу ( $P_{ow} > 1$ ). Найбільш гідрофільною виявилася сполука з 3-пірольним замісником, найменш — з п-фтор-, п-метилфеніл та незаміщеним фенілом. Більше у 2 рази значення  $P_{ow}$  у сполуки 5 (тобто суттєво більша ліпофільність через “зайнятість” гідроксилу) за результат для ізомерних сполук № 6 та № 7 підтверджує зроблений на підставі спектроскопічної інформації висновок про наявність ВВЗ.

Для синтезованих сполук було виконано прогноз коефіцієнтів розподілу октанол/вода за допомогою програм, доступних через WEB-інтерфейс [www.vcslab.org](http://www.vcslab.org) [9, 10]. Значне розсіювання відносно лінії  $P_{ow\text{exp}} = P_{ow\text{calc}}$  (рис. 1) демонструє, що жодна з випробуваних моделей не здатна відтворити реальний хід залежності коефіцієнтів розподілу від структури сполук. Видно, що прогнозні значення не забезпечують адекватну передачу експерименту (рис. 1, фрагмент VoxPlot за [12]), при цьому розмах експериментальних даних (1,1 логарифмічної одиниці) помітно перевищує декларовану для відповідних моделей точність (0,2–0,4 од.). Наведений на рис. 1 VoxPlot (інтервал  $\pm 0,4 \text{Log } P_{ow}$ ) демонструє, що серед випробуваних моделей лише ALogP (1), ALOGPs (2), COSMOFrag (3), KOWWIN (5), mi-

Таблиця 1. Характеристики ЯМР-<sup>1</sup>H спектрів та  $P_{ow}$  отриманих сполук

Номер сполуки	Хімічні зсуви протонів, м. ч.					$P_{ow}$
	3	7; 8	NH	Me(R)	Інші	
<b>III</b>	9,58	8,44; 7,45	—	—	—	
<b>IV</b>	8,40	7,90; 6,80	9,00	—	4,2NH <sub>2</sub> (2H)	
<b>V.1</b>	9,09	8,07; 7,60	10,45	2,33	7,20–7,40 m. (2H), 6,80–7,00 m. (1H), 3,83 OCH <sub>3</sub> (3H)	93 ± 7
<b>V.2</b>	9,00	8,00; 7,52	10,60	2,27	7,40–6,80 m Ph (4H) 3,86 OCH <sub>3</sub> (3H)	87 ± 1
<b>V.3</b>	9,11	8,11; 7,63	10,56	2,45	3,83(6H), s, 2 – OCH <sub>3</sub> , 7,39 (1H), d, J=7,8, Ph, 7,52 (1H), s, Ph, 8,26 (1H), d, J=7,8, Ph	20 ± 1
<b>V.4</b>	9,03	8,03; 7,57	10,44	2,27	6,40–6,45 m. (1H), 6,6–6,8 m. (1H), 7,5–7,6 m. (1H) Fur	11 ± 1
<b>V.5</b>	8,99	7,99; 7,18	10,56	2,43	12,73 s (1H) OH, 7,55 d J=9,5, 7,3–7,1 m. (1H), 5,7–5,9 m. (2H)	78 ± 7
<b>V.6</b>	9,15	8,15; 7,55	10,40	2,3	9,30 broad s (1H) OH, 7,3–7,1 m. (3H), 6,7–6,8 m. (1H)	29 ± 1
<b>V.7</b>	9,10	8,10; 7,55	10,20	2,27	9,55 broad s (1H) OH, 7,6 d (2H) 6,8 d (2H)	28 ± 1
<b>V.8</b>	9,13	8,10; 7,62	10,60	2,42	8,60–8,20 m. (1H), 8,0–8,2 m. (1H), 7,6–7,8 m. (1H), 7,4–7,2 m. (1H)	14 ± 1
<b>V.9</b>	9,19	8,08; 7,60	10,26	2,50	8,8–8,7 m. (2H), 7,95–7,85 m. (2H)	8,5 ± 0,5
<b>V.10</b>	9,18	8,12; 7,20	9,92	2,29	7,25–7,15 m. (2H), 7,95–7,85 m. (2H)	104 ± 2
<b>V.11</b>	9,26	8,10; 7,61	10,16	2,38	2,44(3H), s, CH <sub>3</sub> , 7,23 (2H), d, J = 8, Ph, 7,65 (2H), d, J = 8, Ph	158 ± 6
<b>V.12</b>	9,12	8,11; 7,62	10,10	—	1,18(3H), t, CH <sub>3</sub> , 2,38(2H), q, CH <sub>2</sub> , 7,30–7,45 (3H), m, Ph, 7,70–7,85 (2H), m, Ph	142 ± 2
<b>V.13</b>	9,00	8,03; 7,58	11,47	—	s, 7,97 (1H)=C–H, 6,92 s (2H), 3,88 s 2 · OCH <sub>3</sub> (6H), 3,74 s OCH <sub>3</sub> (3H)	34 ± 1

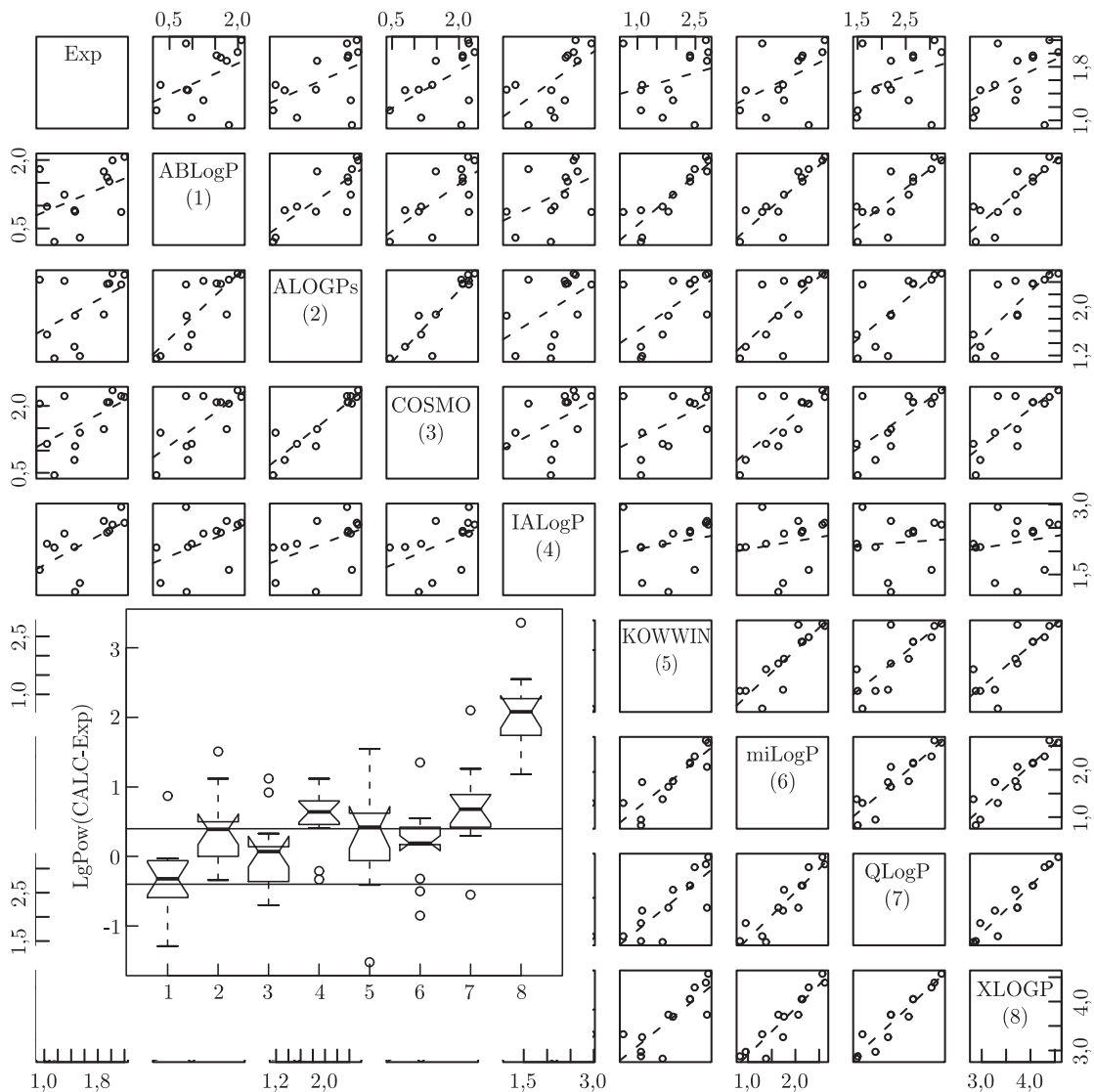


Рис. 1. Матриця зв'язку експериментальних та прогнозних значень  $P_{ow}$

LogP (6) на наявному наборі даних здатні забезпечити для медіани відхилень значення статистично не більше 0,4 (причому лише у COSMOFrag медіана дорівнює 0), тобто прогнозувати поведінку набору сполук у цілому. Для всіх моделей повний інтервал відхилень від експерименту більше за логарифмічну одиницю.

На прикладі miLogP можна бачити, що 50% помилок (2 та 3 квартилі) вкладаються в інтервал 0,4 логарифмічні одиниці (за [11] — 0,25), але найбільш вірогідну помилку на рівні 1,0 дають дві сполуки і одна — більше 1,0, тобто помилки на рівні 0,4 виявляються більш вірогідними, ніж очікувалося, більші — менш вірогідними).

Цікавою є помітна кореляція прогнозних значень, отриманих за допомогою QLogP (загальномолекулярний підхід), XLOGP (модель атомних інкрементів), miLogP (фрагментальний підхід з урахуванням ВВЗ) і дещо менша — між ABLogP (комбінований фрагментальний підхід), KOWWIN (атомно-фрагментний підхід) та XLOGP. Корельованість

результатів різних моделей очікувана при порівнянні у гомологічних рядах, але є дещо несподіваною на наявному наборі сполук.

Таким чином, на дослідженому ряді сполук досить різномірні прогнози схеми дають корельовані прогнози  $P_{ow}$ , які не передають реальну залежність коефіцієнта розподілу від структури. Через малу різницю в ефективності як загальномолекулярних, так і фрагментних та атомних моделей, досліджений набір є корисним для “навчання” та тестування прогнозних схем різної структури.

*Автори висловлюють подяку Virtual Computational Chemistry Laboratory та Molinspiration Cheminformatics за надану можливість використання on-line розрахункових сервісів.*

1. Shaban M. A. E., Nasr A. Z., Taha M. A. M. Synthesis of condensed 1,2,4-triazolo-heterocycles // J. Islam. Acad. Sci. – 1990. – **3**, No 4. – P. 255.
2. Rakib E. M., Abouricha S., Hannioui A. et al. Synthesis and in vitro cytotoxicity studies of novel triazolo[4,3-b]pyridazinones // J. Iran. Chem. Soc. – 2006. – **3**, No 3. – P. 272–276.
3. Sangster J. LOGKOW, Sangster Research Laboratories <http://logkow.cisti.nrc.ca/logkow>.
4. Pat. GB 711756. Roche Products Ltd., Novel heterocyclic compounds and process for the manufacture thereof опубл. 07.07.1954. – МПК<sup>8</sup> C 07 D 487/04; C 07 D 487/00 Заяв. 04.09.1952. – 22274/52 Пріор. Швейцарія 06.09.1951. – X711756–5 с.
5. Cucek K., Vercek B. Synthesis of novel [1,2,4]triazolo[4,3-b]pyridazines // ARKIVOC. – 2001. – **5**. – P. 79.
6. Cordes E. H., Jencks W. P. On the mechanism of Schiff base formation and hydrolysis // J. Amer. Chem. Soc. – 1962. – **84**, No 5. – P. 832–837.
7. Бондаренко А. В., Суйков С. Ю., Богза С. Л., Луцик А. И. Розподіл 5-амінопіразолів та 5-аміноізооксазолів у системі n-октанол-вода // Укр. хім. журн. – 2003. – **69**. – С. 31.
8. Partition coefficient (n-octanol/water). High performance liquid chromatography (HPLC) Method OECD Guideline 117. OECD Guidelines for testing of chemicals. – 2004. – 11 p.
9. Tetko I. V., Gasteiger J., Todeschini R. et al. Virtual computational chemistry laboratory – design and description // J. Comput. Aid. Mol. Des. – 2005. – **19**. – P. 453–463.
10. VCCLAB, Virtual Computat. Chem. Lab., <http://www.vcclab.org>.2005.
11. Molinspiration Property Calculation Service, <http://www.molinspiration.com>.
12. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. R Development Core Team. (2005) ISBNo 3–900051. – 07–0, URL <http://www.R-project.org>.
13. Stouch T. R., Kenyon J. R., Johnson S. R. et al. Yi Li In silico ADME/Tox: why models fail // J. Comput. Aid. Mol. Des. – 2003. – **17**, No 2–4. – P. 83–92.
14. Kolenc I., Kocevar M., Polanc S. Application of oximes for the transfer of a C–H fragment // Acta Chim. Slov. – 1999. – **46**, No 2. – P. 281–288.

*Інститут фізико-органічної хімії і вуглехімії  
ім. Л. М. Литвиненка, Донецьк*

*Надійшло до редакції 08.02.2007*