

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

(институт)

Химия, химические процессы и технологии

(кафедра)

020100.62 «Химия»

(код и наименование направления подготовки, специальности)

«Медицинская и фармацевтическая химия»

(наименование профиля, специализации)

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему «ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИПОФИЛЬНОСТИ И УСТАНОВЛЕНИЕ
КОРРЕЛЯЦИЙ «СТРУКТУРА – БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ» В РЯДУ
НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРАЗОЛИНОВ»

Студент(ка)

Я.М. Уразаева

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Руководитель

О.Б. Григорьева

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Допустить к защите

Заведующий кафедрой, д.х.н, профессор Г.И. Остапенко

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

(личная подпись)

« _____ » _____ 2016г.

Тольятти 2016 г.

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ

«ТОЛЬЯТТИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ

КАФЕДРА «ХИМИЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ И ПРОЦЕССЫ»

Утверждаю: _____

(подпись)

Зав. Кафедрой Г.И. Остапенко

«___» _____ 20__ г.

ЗАДАНИЕ

на выполнение бакалаврской работы

Студенту Уразаевой Яне Михайловне

1. Тема квалификационной работы

Определение липофильности и установление корреляций «структура – биологическая активность» в ряду некоторых производных пиразолинов

2. Срок сдачи студентом готовой работы: 21 июня 2016 года

3. Исходные данные к работе (литературные источники, программное обеспечение): производные пиразолинов, ЖХ Agilent 1220, спектрофотометр Unico 2800, пакет программ ChemBioDrawUltra 12.0., HyperChem, Molinspiration, ALOGPS 2.1.

4. Содержание текстового документа (перечень подлежащих разработке вопросов)

4.1. Анализ литературных данных по вопросам экспериментальных и расчетных методов определения липофильности соединений, строения и свойств производных пиразолинов

4.2. Синтез исследуемых в работе соединений

4.3. Экспериментальное и теоретическое определение параметров гидрофобности

4.4. Оценка вероятности проявления видов биологической активности исследуемых пиразолинов

4.5. Анализ полученных в работе данных, построение QSAR-корреляций

5. Перечень графического материала (с точным указанием обязательных чертежей): структурные формулы соединений, таблицы с экспериментальными данными, графики зависимостей фактора удерживания от состава элюента, презентация

6. Дата выдачи задания на выполнение выпускной квалификационной работы
5 ноября, 2015 года

Руководитель _____
(подпись, дата)

Задание принял к исполнению

(подпись, дата)

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ТОЛЬЯТТИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ХИМИИ И ИНЖЕНЕРНОЙ ЭКОЛОГИИ
КАФЕДРА «ХИМИЯ, ХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И ТЕХНОЛОГИИ»

УТВЕРЖДАЮ: _____
(подпись)

Зав. Кафедрой Остапенко Г.И.

«___» _____ 20__ г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН
бакалаврской работы

Студента: Уразаевой Яны Михайловны

по теме: Определение липофильности и установление корреляций «структура – биологическая активность» в ряду некоторых производных пиразолинов

Наименование раздела работы	Плановый срок выполнения раздела	Фактический срок выполнения раздела	Отметка о выполнении	Подпись руководителя
Подбор литературных источников и написание раздела «Литературный обзор»	01.04.2016 г.			
Выполнение экспериментальной части работы	02.05.2016 г.			
Написание раздела «Экспериментальная часть»	11.05.2016 г.			
Написание остальных разделов	14.05.2016 г.			
Верстка работы, проверка научным руководителем	15.05.2016 г.			
Проверка ВКР в системе «Антиплагиат.ВУЗ»	17.06.2016 г. 27.06.2016 г.			
Верстка и переплетение пояснительной записки	Первая неделя июня 2016 г.			
Оформление демонстрационного материала и устного доклада	За пять дней до защиты ВКР			

Руководитель выпускной
квалификационной работы

(подпись)

О.Б. Григорьева
(И.О. Фамилия)

Задание принял к исполнению

(подпись)

Я. М. Уразаева
(И.О. Фамилия)

АННОТАЦИЯ

Работа изложена на 63 страницах, содержит 23 рисунка, 17 таблиц, приложение. В работе проанализировано 57 литературных источников.

Объектами настоящего исследования являются производные 3-арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1H-пиразолов. 2-пиразолины представляют интерес как вещества, обладающие широким спектром биологической активности.

В литературном обзоре проанализированы основные экспериментальные методы определения липофильности, основы QSAR-анализа, особенности строения пиразолинов.

В экспериментальной части описаны методики проведенных экспериментальных и расчетных исследований.

Для данных веществ были подобраны наиболее подходящие методики определения липофильности. Найдены расчетные и экспериментальные значения логарифма распределения в среде октанол-вода. Исследованы корреляционные зависимости «структура – биологическая активность».

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр
ВВЕДЕНИЕ.....	8
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.....	10
1.1 Липофильность как основная характеристика биологической активности веществ.....	10
1.1.1 Понятие липофильности (гидрофобности). Способы представления.....	10
1.1.2 Связь липофильности со структурой соединения.....	13
1.1.3 Способы определения липофильности.....	14
1.1.3.1 Экспериментальные способы определения липофильности...	14
1.1.3.2 Расчетные способы определения липофильности.....	15
1.1.4 Корреляция зависимости «структура – липофильность» и «липофильность – биологическая активность».....	17
1.2 Особенности структуры и свойства производных пиразолинов.	19
1.2.1 Особенности геометрического и электронного строения.....	19
1.2.2 Биологическая активность производных пиразолинов.....	23
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	25
2.1 Объекты исследования.....	25
2.2 Реагенты и оборудование.....	27
2.3 Методики экспериментов.....	28
2.3.1 Расчет липофильности.....	28
2.3.2 Расчет физико-химических параметров.....	28
2.3.3 Спектрофотометрический метод.....	28
2.3.4 Хроматографический метод.....	29
2.3.5 Расчет биологической активности.....	31
3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	33
3.1 Теоретический расчет липофильности.....	33
3.2 Расчет физико-химических параметров.....	34

3.3	Спектрофотометрический метод.....	37
3.4	Хроматографический метод.....	38
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	59
	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ИСТОЧНИКОВ.....	60
	ПРИЛОЖЕНИЕ.....	64

ВВЕДЕНИЕ

Объектами исследования в настоящей работе были 3-Арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразолы. Данные соединения впервые синтезированы в Тольяттинском Государственном Университете. Эти соединения представляют интерес в качестве потенциальных биологически-активных веществ. Один из их важных параметров оцениваемых у веществ с потенциальной биологической активностью – липофильность (сродство к жирам). Этот параметр обуславливает фармакокинетику лекарственного вещества и его поведение в организме, проходимость через билипидный слой мембраны биологических клеток. Также этот параметр используется в качестве физико-химического дескриптора при построении QSAR-моделей, связывающих строение соединений с их свойствами и, в том числе, с биологической активностью.

Целью исследования в настоящей работе является оценка возможностей различных методов определения липофильности для некоторых производных пиразолина и дальнейшее определение экспериментальных значений по наиболее подходящей методике для данной группы соединений.

Актуальность настоящего исследования заключается в создании «фундамента» для последующего более детального изучения данных соединений. Испытание различных методик определения липофильности для этих пиразолинов позволяет в последующем сэкономить время и ресурсы на выработку наиболее подходящего метода определения липофильности близких к ним по строению других структур.

Научная новизна обусловлена тем, что липофильность для производных 3-арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразолов рассчитывается и экспериментально определяется впервые.

Для достижения заданных целей необходимо выполнить ряд задач:

1. Изучить методы экспериментального определения и расчета

липофильности.

2. Определить возможности спектрофотометрического метода.
3. Определить возможности хроматографического метода.
4. Установить оптимальный метод и определить экспериментальные значения липофильности для исследуемых веществ.
5. Сопоставить теоретические и экспериментальные результаты.

1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1 Липофильность как основная характеристика биологической активности веществ

1.1.1 Понятие липофильности (гидрофобности). Способы представления

Липофильность – физико-химическое свойство, характеризует способность химического соединения растворяться в жирах, маслах, липидах и неполярных растворителях, например, в толуоле или гексане. Липофильные вещества склонны растворяться друг в друге. Липофильность имеет принципиальное значение при разработке лекарств. Это свойство влияет на фармацевтическое, фармакокинетическое, фармакодинамическое поведение вещества. Согласно ИЮПАК, липофильность отражает сродство молекулы или ее фрагмента с липофильной средой [1]. Для некоторых веществ именно наличие этого свойства является необходимым условием проявления фармакологической активности. Липофильное неполярное вещество растворяется в липидном слое клеточной мембраны, и чем выше липофильность, тем способность проникать через клеточную мембрану у вещества больше. В работе [2] авторы показали, что липофильная форма витамина В1 значительно превосходит его гидрофильную форму в показателях максимальной концентрации в крови и биодоступности (количества лекарственного вещества, достигающего системного кровотока). В зависимости от поставленных задач можно создавать такие производные, которые действовали бы целенаправленно, тем самым оптимизируя и рационализируя процесс синтеза лекарственных веществ.

Липофильность является одним из важных параметров в QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationships) – методе описания зависимости свойства соединения (биологической активности) от его структуры путем построения корреляции между величиной свойства и значениями так

называемых дескрипторов. Набор дескрипторов отражает особенности структуры, от которых может зависеть исследуемое свойство. QSAR успешно применяется для прогнозирования свойств химических соединений[3] и, в том числе, для моделирования новых лекарственных препаратов.

Термины «липофильность» и «гидрофобность» - не одно и то же, их не стоит путать, хотя в литературе они часто используются как взаимозаменяемые [4]. Гидрофобность – есть ассоциация неполярных молекул или их групп в водной среде, возникающая вследствие тенденции воды «выталкивать» неполярные молекулы. Липофильность является продолжением гидрофобного эффекта и включает в себя взаимодействия растворенного вещества и растворителя, которые способствуют распределению растворенного вещества между водой и органическим растворителем. Кроме того, гидрофобность и липофильность не могут рассматриваться как свойства растворенного вещества, но являются проявлением внутренних свойств системы или среды, в которой растворенное вещество находится. Хотя, в основном, гидрофобные вещества являются липофильными, существуют исключения, например, силиконы.

Гидрофобность рассматривают как неотъемлемую часть липофильности. Липофильность – это свойство, которое «кодируется» двумя основными вкладками. Это массовая составляющая, отвечающая за дисперсионные взаимодействия, и полярная, отражающая поведение электростатических взаимодействий и водородных связей. Принято считать, что первый вклад – гидрофобность, а второй – полярность. Липофильность, как равновесное свойство, описывает баланс между вышеупомянутыми характеристиками. Следует отметить, что в зависимости от рассматриваемой системы, оба компонента могут иметь разные или даже противоположные вклады в общее значение липофильности исследуемого вещества.

Липофильность обычно описывается процессами распределения между двумя фазами – неполярной (органическая фаза) и полярной (в основном,

водная). Количественная характеристика липофильности – коэффициент распределения P – определяется как отношение концентраций нейтрального соединения в органическом ($C_{\text{орг}}$) и водном ($C_{\text{водн}}$) растворах в равновесных условиях.

$$P = \frac{C_{\text{орг}}}{C_{\text{водн}}} \quad (1)$$

Как правило, коэффициент распределения выражается в логарифмическом виде ($\log P$). Чаще всего указывается как $\log P$, $\log K$, $\log D$, часто с индексом O или W . $\log P$ обычно используется для обозначения любого коэффициента распределения и $\log K$ – любой константы равновесия. Также используется $\log D$, который выражает вклад всех нейтральных и ионизированных частиц, присутствующих при заданном pH . $\log P$ и $\log D$ связаны уравнениями (2) и (3):

$$\log D_{\text{основание}} = \log P + \log \left[\frac{1}{1 + 10^{pK_a - pH}} \right] \quad (2)$$

$$\log D_{\text{кислота}} = \log P + \log \left[\frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a}} \right] \quad (3)$$

Здесь pK_a – равновесная константа диссоциации[5].

$\log P$ является компонентом правила Липински. Это эмпирическое правило, позволяющее оценить биодоступность химического соединения с определенным набором фармакологических и биологических активностей и его способность быть лекарственным средством. Правило сформулировал Кристофер А. Липински в 1997 году[6].

Правило Липински гласит, что соединение, чтобы быть «подобным» лекарству, должно:

1. иметь менее пяти атомов-доноров водородной связи вследствие

того, что большое количество доноров водородной связи связано с плохой проницаемостью мембраны за счет дополнительной энергии, необходимой для разрушения водородных связей при переходе из водной среды в липидную мембрану;

2. иметь молекулярную массу менее 500, так как высокое значение молекулярной массы связано с плохой растворимостью и плохой проницаемостью через мембраны;

3. липофильность $\log P$ должна быть менее 5. Наблюдалось увеличение нежелательных проявлений токсикологических свойств, связанное с высоким значением $\log P$ [7];

4. иметь суммарно не более 10 атомов азота и кислорода (грубая оценка количества акцепторов водородной связи).

1.1.2 Связь липофильности со структурой соединения

Обычно липофильные группы представляют собой углеводородные или фторуглеродные радикалы. В общем случае, увеличение липофильности можно наблюдать при введении функциональных групп или радикалов в следующей последовательности: карбоксильная > гидроксильная > альдегидная > кетогруппа > аминогруппа > иминогруппа > амидогруппа > имидагруппа (гидрофильные группы) и метил > метилен > этил > пропил > высший алкил > фенил (гидрофобные радикалы). Наличие полярных группировок (-COOH, -OH) увеличивает гидрофильность молекулы[8-10].

Также наблюдается увеличение липофильности при введении галогеновых заместителей (Cl, Br, I), так как в их присутствии увеличиваются дисперсионные силы, которые играют достаточно важную роль для взаимодействий липофильных веществ с окружением и внутри себя.

Липофильные вещества практически не имеют способности к образованию водородных связей. Когда молекула липофильного вещества окружена водой, молекулы воды переходят в «льдоподобные» структуры

большей частью своей молекулярной поверхности. Это термодинамически невыгодное явление способствует выталкиванию маслянистых веществ из воды. Такие вещества имеют большой коэффициент распределения.

Стоит обратить внимание на то, что, как было сказано выше, коэффициент распределения зависит и от природы растворителя. Т.е. в разных растворителях для одного и того же вещества можно получить различные значения $\log P$ [11].

1.1.3 Способы определения липофильности

1.1.3.1 Экспериментальные способы определения липофильности

Экспериментальное определение $\log P$ может происходить методом «shakeflask». Он заключается в растворении вещества в объеме *n*-октанола и воды и последующем измерении концентрации растворенного вещества в каждом из растворителей [12]. Наиболее распространенным методом измерения распределения растворенного вещества между фазами является спектрофотометрический метод. Минусом является то, что этот метод считается весьма трудоемким и дорогостоящим. Кроме того, необходимо полное разделение слоев, так как любая капля октанола в водной фазе может содержать большое количество образца. Измерения должны быть проведены при концентрациях ниже водного предела растворимости.

Ускоренный метод экспериментального определения коэффициента распределения основан на использовании высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). При этом $\log P$ исследуемого вещества находится путем сопоставления его времени удерживания с временами удерживания схожих соединений, значения $\log P$ которых уже известны из литературных источников или баз данных [13]. Несомненным преимуществом данного эксперимента является его скорость: на один образец уходит от 5 до 20 минут. Но работу усложняет необходимость знать химическую структуру

растворенного вещества, коэффициенты распределения для соединений, взятых за стандарт. Кроме того, нужно основательно подойти к выбору веществ-стандартов, так как каждый химический класс имеет свои индивидуальные параметры, на время удерживания могут повлиять такие факторы, как, например, наличие заместителей вещества с известным $\log P$.

1.1.3.2 Расчетные способы определения липофильности

Значение $\log P$ рассчитывается как практически, так и теоретически с применением специальных программ, например, ACD/LogP и Instant JChem [14,15]. Авторы работы [16] показывают, что расчет $\log P$ с применением таких программ является приемлемым, несмотря на некоторые расхождения с известными литературными данными. А в работе [17] авторы указывают совпадение расчетных и уже известных данных на 83%. Это несоответствие может возникать из-за разности условий проведения экспериментов, но, в целом, такому методу определения липофильности можно доверять. Также теоретически можно рассчитать липофильность полуэмпирическими методами с помощью программы Gaussian, например, методом AM1, как в исследовании [18].

При теоретическом расчете коэффициента распределения используют подходы, рассматривающие атомные вклады [19-22], вклады фрагментов, а также используют готовые базы данных [23].

В таблице 1 приведены некоторые распространенные методы определения липофильности, их преимущества, недостатки и области применения.

Для каждого метода существуют свои ограничения. Поэтому необходимо четко определять цели исследования, а также учитывать внутренние технологические ресурсы (оборудование) и возможности лаборатории, т.е. наличие определенных реагентов, времени и других ресурсов. При этом учитывается природа и строение исследуемых веществ.

Таблица 1 - Некоторые методы определения logP (Kow)

Метод	Преимущества	Недостатки	Непригоден, если
«shake-flask»	Наиболее надежный	Трудоемкий, требует много времени	logP>6; испытуемое вещество диссоциирует (т.к. Kow зависит от концентрации)
Метод медленного перемешивания	Позволяет избежать образования эмульсии, надежный	Время и количество используемого продукта, трудоемкость	Испытуемое вещество диссоциирует (т.к. Kow зависит от концентрации)
Классический ВЭЖХ подход	Быстрый и дешевый способ, не требует количественной оценки	Разные механизмы удерживания веществ, плохая воспроизводимость, диапазон pH от 2 до 7,5	Очень низкие значения Kow
Патенциометрический	Быстрый	Дорогостоящее оборудование	Используются нерастворимые вещества
Сравнение с другими веществами	Быстрый и дешевый	Результаты зависят от наличия базы данных	
Теоретический расчет (фрагментарный подход)	Широкий диапазон веществ, надежный для нейтральных соединений, подходит при Kow> 5	Не подходит для цвиттер-ионных, таутомерных соединений, заряженных частиц	Фрагменты отсутствуют в базе данных

Каждый из представленных методов имеет свои достоинства и недостатки, выделить наиболее универсальный из них достаточно сложно. Выбор метода, в первую очередь, зависит от поставленных целей, наличия

оборудования и природы исследуемых веществ.

1.1.4 Корреляция зависимости «структура – липофильность» и «липофильность – биологическая активность»

Вопросами соотношения между структурой вещества и его свойствами занимается QSAR-анализ. QSAR (Quantitative structure–activity relationship) – это математический аппарат, который дает возможность проводить корреляции между структурами химических соединений и их биологической активностью. Задачей QSAR является определение и количественная характеристика структурных параметров либо физико-химических свойств молекул с целью установления каждого из них на биологическую активность. Если данное влияние существует, то предоставляется возможность составлять уравнения, позволяющие рассчитать активность новых соединений заранее и избавиться от необходимости синтезировать новые, впоследствии не представляющие интереса. Метод QSAR сформировался в 60-е года прошлого века. Свой вклад внесли К. Ганч, Ч. Овертон, Г. Фюнер и другие. Еще в конце 19 века возникло предположение о существовании математической зависимости между строением вещества и его биологической активностью. Мысль была высказана Александром Крум-Брауном в 1869 г., когда он изучал токсическое действие алкалоидов и их производных. Его исследование показало, что введение метильной группы к атому азота вызывает большое влияние, точнее, уменьшение, токсичности этих веществ. С тех пор неоднократно стали предприниматься попытки найти количественные выражения связи биологической активности от химической структуры. В 1890-ых Овертон получил линейные зависимости между активностью и липофильностью, используя для измерения липофильности коэффициент распределения между оливковым маслом и водой. Много позже, в 1940-х гг., русский ученый Н.В. Лазарев проанализировал коэффициент распределения оливковое масло – вода для

тысячи органических веществ, построил корреляции с использованием логарифмической шкалы. Это позволило ему наблюдать линейные зависимости логарифмов распределения от логарифмов концентраций анализируемых структур, вызывающих определенный токсический эффект.

На примере единственного соединения подобные зависимости вывести невозможно, поэтому, чтобы обнаружить зависимость, нужно проанализировать строение и свойства серии соединений. Изменения структуры, даже незначительные, имеют большое влияние на свойства вещества. Каждое конкретное вещество с индивидуальным строением имеет индивидуальный набор характеристик. Из-за этого закономерность «структура – свойство» выражается лишь для ограниченного круга объектов. Очевидно, что для построения и оценки корреляции «структура – свойство» необходимо исследование серии схожих по строению соединений с варьируемыми свойствами.

Создание новых лекарств часто предполагает использование QSAR для идентификации химических структур, которые могли бы иметь хорошее тормозящее действие на конкретные цели и имеют низкую токсичность (неспецифическая активность).

Разработка моделей QSAR начинается со сбора сведений об интересующих свойствах с учетом качества данных. Необходимо исключить некачественные данные, так как они будут снижать качество модели.

После этого, представление собранных молекул осуществляется путем использования молекулярных дескрипторов, которые дают важную информацию о молекуле. Есть много вариантов молекулярных дескрипторов, но не все из них «полезны» для выполнения конкретной задачи моделирования. То есть неинформативные или лишние для определенного исследования дескрипторы должны быть удалены. Для построения модели используются методы математической статистики и машинного обучения.

Когда происходит прогнозирование свойств на качественном уровне, говорят о классификационной задаче, а при прогнозировании числовых

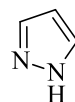
значений – о регрессионной задаче.

Липофильность – физико-химический дескриптор, является общепризнанным параметром, характеризующим отношение «структура – свойства». Так же этот параметр является одним из самых информативных в медицинской химии [24-26]. Он отвечает за фармакокинетическое поведение лекарственного средства в организме (проникновение через ГЭБ, стенки желудочно-кишечного тракта, связывание с ферментами). На липофильность оказывают существенное влияние внутримолекулярные взаимодействия, которые в свою очередь зависимы от структурных факторов [27].

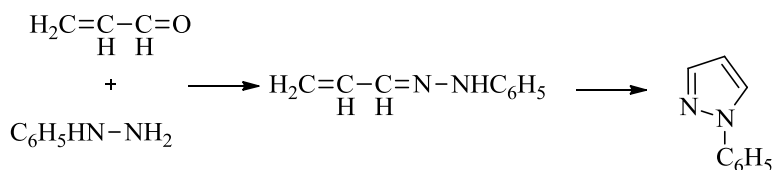
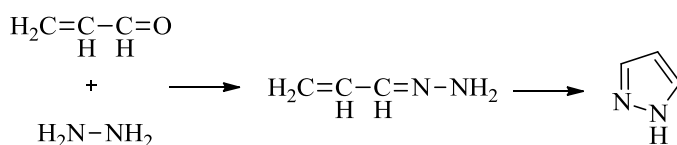
1.2 Особенности структуры и свойства производных пиразолинов

1.2.1 Особенности геометрического и электронного строения

Пиразол представляет собой π -избыточный ароматический гетероцикл, содержащий два атома азота в пятичленном 1,2-дiazольном кольце. Пиразолы проявляют ароматический характер и свойства, напоминающие пиррол и пиридин.



пиразол

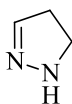


Пиразолины (дигидропиразолы) – гидрированные производные

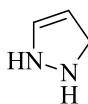
пиразолов. Они получают восстановлением последних, в частности N-фенил пиразолов, натрием в спирте. Дальнейшее восстановление приводит к образованию пиразолидинов.

Также пиразолины можно синтезировать при нагревании гидразонов α,β -ненасыщенных альдегидов и кетонов с уксусной кислотой или из реакционноспособных олефинов и алифатических диазосоединений [28].

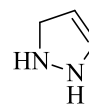
Пиразолины значительно отличаются своими свойствами от пиразола вследствие значительно меньшей стабильности. Существует три изомера пиразолина, находящиеся между собой в равновесии:



2-пиразолин



3-пиразолин



4-пиразолин

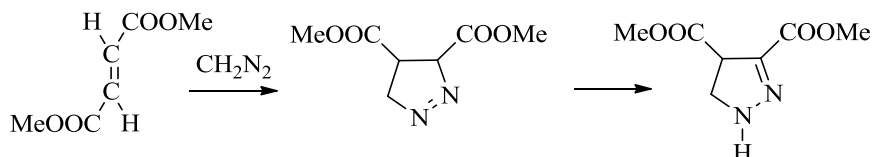
Пиразолины – это слабые основания. В общем случае, они растворяются в концентрированных кислотах с образованием неустойчивых солей, которые диссоциируют при добавлении воды. Они довольно неустойчивы и легко поддаются окислению. Многие из пиразолинов чувствительны к кислороду и дымят на воздухе (иногда воспламеняются). Имея изолированную двойную связь, пиразолины проявляют свойства аминов и алкенов.

Из них наиболее изученные соединения принадлежат группе производных 2-пиразолина (4,5-дигидро-1Н-пиразол). 2-пиразолин можно рассматривать, как циклический представитель гидразина. Из рентгеноструктурного анализа следует, что пятичленное кольцо дигидропиразола имеет конформацию «конверт» [29]. Атом C_5 отклоняется от почти плоской системы четырех других атомов гетероциклического кольца. 2-пиразолин играет важнейшую роль в развитии теории гетероциклических соединений, также широко распространен в качестве синтона в органическом синтезе [30]. 2-пиразолин не растворим в воде, но

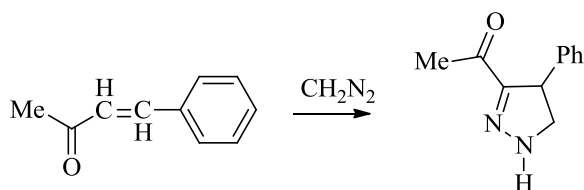
растворим в пропиленгликоле, вследствие своего гидрофобного характера.

Синтез 2-пиразолинов может проходить многими путями:

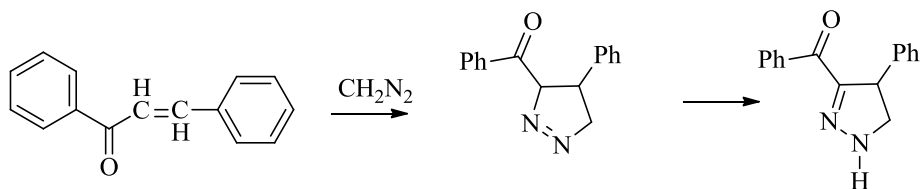
1. Сложные эфиры α,β -ненасыщенных карбоновых кислот реагируют с диазометаном с образованием 2-пиразолинов. Механизм этой реакции был рассмотрен Пехманном [31]:



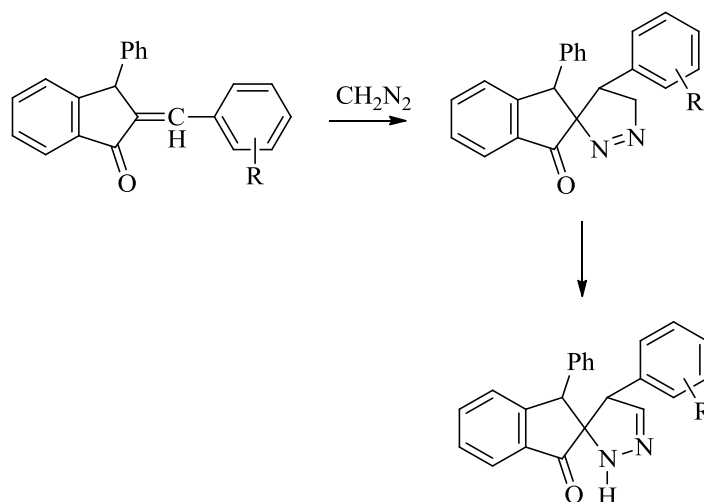
2. Реакция бензилиденацетона с диазометаном путем 1,3-диполярного присоединения [32]. Впервые этот метод был опубликован в 1906 г (Аззарелло), позже эта реакция была подтверждена еще несколькими учеными [33,34]:



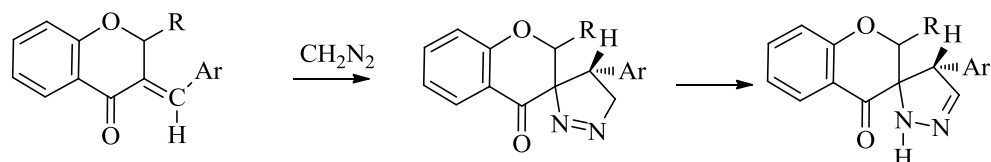
3. 1,3-диполярное присоединение халконов и диазометана впервые было исследовано Смитом и Пингсом [35]:



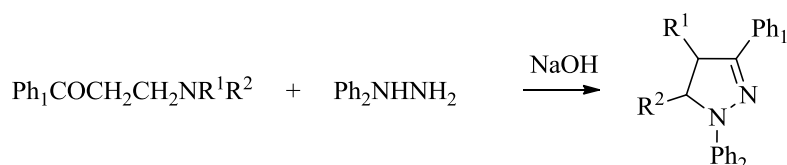
4. Реакцию 2-арилиден-3-фенил-1-инданонов с диазометаном (Мустафа и Хилми) [36] можно рассматривать как первый пример формирования пиразолинов циклоприсоединением экзоциклических α,β -ненасыщенных кетонов и диазометана:



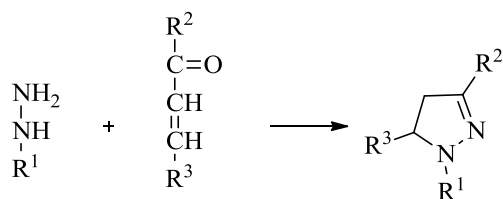
5. В работах[37,38] изучалась реакция 3-арилиденфлаванонов с диазометаном с образованием пиразолинов:



6. Реакция основания Манниха с фенилгидразином и водно-спиртовым раствором гидроксида натрия при температуре кипения [39]:



7. Реакция халконов с гидразинами, пожалуй, одна из самых популярных. Наиболее часто встречается реакция гидразинов и халконов в растворе уксусной кислоты, при этом достигается достаточно высокий выход 2-пиразолинов [39-41]:



Анализ литературы по теме показал, что материала, посвященного пиразолинам достаточно мало и основные работы [42-45] к настоящему времени уже устарели.

1.2.2 Биологическая активность производных пиразолинов

Пиразолины и их производные с различными функциональными группами, имеют большое значение в медицине и являются объектами большого количества современных исследований. Часто эти вещества используются в качестве противоопухолевых, антибактериальных, противогрибковых, противовирусных и других средств и входят в состав различных лекарственных препаратов [46-48]. Известны соединения, служащие также отбеливателями [49], флуоресцентными составляющими в органических светоизлучающих диодах [50-52].

2-пиразолины обладают широким спектром потенциальных фармакологических активностей и присутствуют в составе ряда фармакологически активных веществ, таких как феназон (обезболивающее и жаропонижающее), азолид (противовоспалительное) и др. Особый интерес ориентирован на пиразолиновые структуры. Открытие такого класса препаратов обеспечивает выдающуюся историю для современного развития лекарственных веществ и препаратов, а также указывает на непредсказуемость проявления фармакологической активности от структурных модификаций молекулы-прототипа лекарственного средства. Изменение структуры несет за собой появление разнообразия для синтеза новых биологически активных соединений с высокой эффективностью и низкой токсичностью. Было установлено, что производные пиразолина обладают потенциальными жаропонижающими, транквилизирующими, противовоспалительными, противомикробными свойствами, также рассматриваются в качестве мышечных релаксантов, аналептиков, противоэпилептических средств, антидепрессантов. Обнаружено, что их

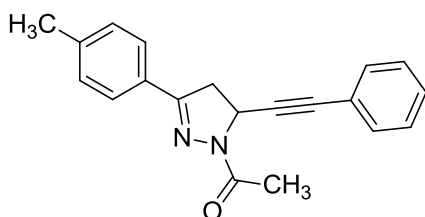
производные также проявляют цитотоксическую активность, ингибиторную активность агрегации тромбоцитов, активность по отношению к гербецидным и каннабиноидным CB_1 -рецепторам. Пиразолины также являются красителями [53].

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Объекты исследования

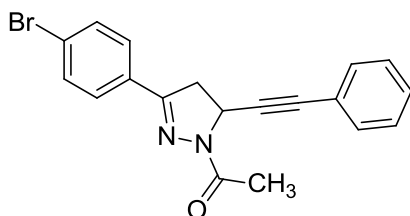
Объектами исследования являются 5 производных 2-пиразолинов. Каждому соединению был присвоен номер.

1. 1-Ацил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



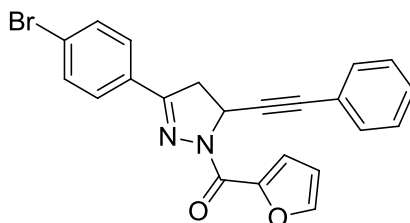
M=302.14г/моль

2. 1-Ацил-3-(4-бромфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



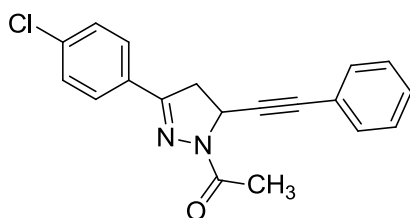
M=366.04г/моль

3. 3-(4-Бромфенил)-5-(2-фенилэтинил)-1-(2-фууроил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



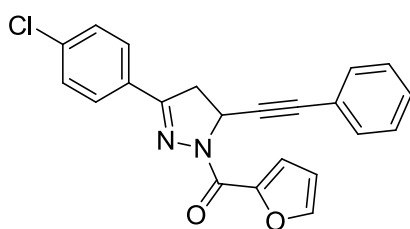
M=418.03г/моль

4. 1-Ацил-3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



$M=322.09\text{г/моль}$

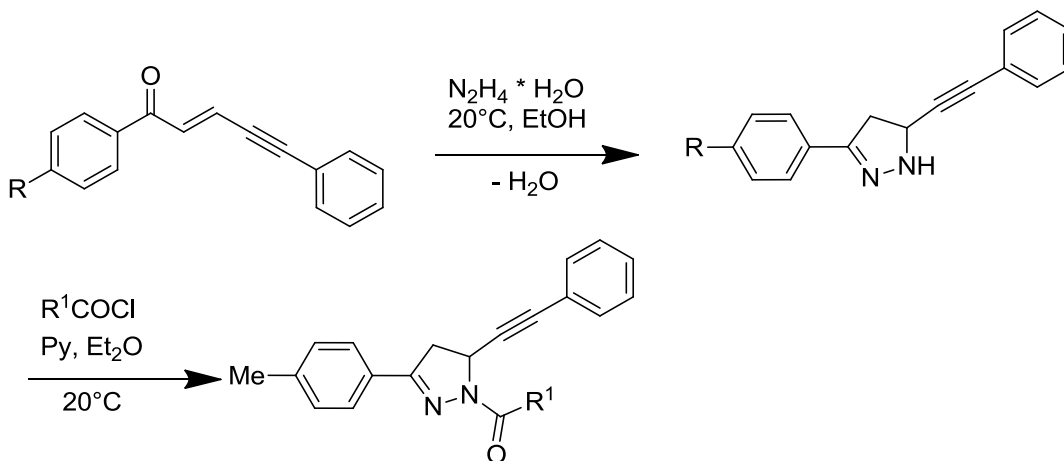
5. 3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-1-(2-фуриил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



$M=374.08\text{г/моль}$

Синтез исследуемых соединений производился по общей методике, описанной в работе [54].

Его можно осуществить по следующей схеме:



Где $R = \text{CH}_3, \text{Cl}, \text{Br}$; $R^1 = \text{CH}_3, 2\text{-фурил}$

Раствор 12 ммоль винилацетиленкетона в 40 мл 95% $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ нагрели до 60°C , добавили 2 эквивалента 100% $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и оставили при комнатной температуре на 10ч. Осадок, выпавший после реакции, отфильтровали, промыли $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и высушили на воздухе. К раствору полученного (0,41

ммоль) пиразолина и (0,46 ммоль) пиридина в 40 мл этилового эфира $(C_2H_5)_2O$ при перемешивании добавили раствор 0,41 ммоль соответствующего хлорангидрида в 15 мл $(C_2H_5)_2O$, перемешивали в течение 1ч.

После реакции промыли водой и просушили над $MgSO_4$, осушитель отфильтровали, фильтрат упарили в вакууме и выпавшие кристаллы отфильтровали и высушили на воздухе.

2.2 Реагенты и оборудование

1. Прибор для ВЭЖХ марки LC Agilent Technologies 1220
2. Шприц для ВЭЖХ марки Agilent 1220
3. Колонка хроматографическая ZORBAX Eclipse Plus C18
4. Однолучевой сканирующий спектрофотометр ЮНИКО 2800
5. Кварцевые кюветы
6. Растворы пиразолинов 1-5 в ацетонитриле, х.ч.
7. 2-бутанон, х.ч
8. Анилин, х.ч
9. Ацетанилид, х.ч
10. Ацетофенон, х.ч
11. Хлорбензол, х.ч
12. Бромбензол, х.ч
13. Н-октанол, х.ч.
14. Дистиллированная вода
15. Метанол, х.ч.
16. Ацетон
17. Винацетиленкетон
18. Гидразин
19. Диэтиловый эфир

2.3 Методики экспериментов

2.3.1 Расчет липофильности

Расчет липофильности проводился с применением таких программ и Интернет-ресурсов, как:

1. ChemBioDrawUltra 12.0.
2. HyperChem
3. Molinspiration <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties>
4. ALOGPS 2.1 (<http://www.vcclab.org/lab/alogps/start.html>)

2.3.2 Расчет физико-химических параметров

Вычисление физико-химических параметров проводилось с применением программных пакетов и Интернет-ресурсов, указанных в п.2.3.1.

2.3.3 Спектрофотометрический метод

В рамках данного исследования в качестве органической фазы использовались октанол, бензол и толуол. Для приготовления растворов в колбу поместили около 0,0001г вещества в 10 мл органической фазы. Получившийся раствор налили в кювету и сняли УФ спектр в диапазоне от 400 до 200 нм с низкой скоростью сканирования и шагом в 1 нм. Раствором сравнения является чистый октанол.

Для исследования была определена длина волны, при которой поглощение D максимально. После этого в раствор исследуемого вещества в органической фазе добавили объем воды, равный объему раствора, перенесли в делительную воронку. После аккуратного встряхивания оставили на некоторое время для того, чтобы вещество перешло из фазы растворителя в

воду, а водная и органическая фаза расслоились. Верхний (октанольный) слой перенесли в сухой стакан и высушили дополнительно сульфатом натрия. Затем еще раз при уже отмеченной длине волны замерили поглощение D.

Расчет липофильности провели по формуле:

$$P = \lg(D_{\text{конечн.}}) / (D_{\text{исх.}} - D_{\text{конечн.}}),$$

где $D_{\text{конечн.}}$ – значение оптической плотности октанольного раствора после встряхивания водой. $D_{\text{исх.}}$ – оптическая плотность исходного раствора до встряхивания с водой.

Аналогичные опыты были проведены также с толуолом и бензолом в качестве органической фазы.

2.3.4 Хроматографический метод

В рамках данной работы были выбраны в качестве эталонных вещества с известными значениями $\log P$ (справочные данные)[55]. Эти соединения позволяют построить модель, охватывающую достаточно широкий спектр значений $\log P_{o/w}$.

Для этих веществ были определены времена удерживания в различных условиях, приведенных ниже. Времена удерживания измеряли с использованием прибора ВЭЖХ марки Agilent 1220 с хроматографической колонкой ZORBAX Eclipse Plus C18.

Условия проведения анализа 1:

1. Неподвижная фаза: силикагель с привитыми группами C_{18}
2. Подвижная фаза: смесь ацетонитрил– вода в соотношении 6:4 соответственно.
3. Несорбируемое вещество: нитрит натрия ($NaNO_2$)
4. Расход элюента: 0.600 мл
5. Длина волны: 220 - 300 нм

6. Объем пробы: 1 мл

Условия проведения анализа 2:

1. Неподвижная фаза: силикагель с привитыми группами C_{18}
2. Подвижная фаза: смесь ацетонитрил - октанол – вода в соотношении 5:1:4 соответственно.
3. Несорбируемое вещество: нитрит натрия ($NaNO_2$)
4. Расход элюента: 0.600 мл
5. Длина волны: 220 - 300 нм
6. Объем пробы: 1 мл

Условия проведения анализа 3:

1. Неподвижная фаза: силикагель с привитыми группами C_{18}
2. Подвижная фаза: смесь метанол – вода в соотношении 8:2.
3. Несорбируемое вещество: нитрит натрия ($NaNO_2$)
4. Расход элюента: 1.00 мл
5. Длина волны: 220 - 300 нм
6. Объем пробы: 1 мл

Условия проведения анализа 4:

1. Неподвижная фаза: силикагель с привитыми группами C_{18}
2. Подвижная фаза: смесь метанол – вода в соотношении 7,5:2,5.
3. Несорбируемое вещество: нитрит натрия ($NaNO_2$)
4. Расход элюента: 1.00 мл
5. Длина волны: 220 - 300 нм
6. Объем пробы: 1 мл

Условия проведения анализа 5:

1. Неподвижная фаза: силикагель с привитыми группами C_{18}
2. Подвижная фаза: смесь метанол – вода в соотношении 7:3.

3. Несорбируемое вещество: нитрит натрия (NaNO_2)
4. Расход элюента: 1.00 мл
5. Длина волны: 220 - 300 нм
6. Объем пробы: 1 мл

При условиях 3-5 (подвижная фаза – смесь метанол-вода в разных соотношениях) были вычислены факторы удерживания и экстраполированы на 0% содержание метанола для того, чтобы вывести уравнение, по которому можно прогнозировать значения $\log P$.

Факторы удерживания для каждого вещества рассчитаны по формуле:

$$k = (t_R - t_M)/t_M,$$

где t_R – время удерживания в колонке анализируемого вещества;

t_M – время удерживания в колонке несорбируемого вещества (в качестве которого в данном исследовании был использован нитрит натрия NaNO_2)

Далее, в тех же самых условиях были проанализированы исследуемые пиразолины 1-5, для них также найдены времена и факторы удерживания. Данные, полученные в условиях 3, 4 и 5, также были экстраполированы на содержание метанола в смеси подвижной фазы, равное 0% (об.).

$\log P_{o/w}$ определяется уравнением:

$$\log P_{o/w} = a \log k_0 + b$$

2.3.5 Расчет биологической активности

Расчет биологической активности проводился с помощью Интернет-ресурса PASSOnline [56]. PASS – это программный продукт, разработанный с целью оценки биологической активности органической молекулы на основе ее химической структуры. Программа может быть использована для

прогнозирования активности виртуальных молекул до их непосредственного синтеза и биологических испытаний. PASS может предсказать более 4000 видов биологической активности: фармакологических эффектов, механизмов действия, взаимодействия с ферментами и т.д.

3 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

3.1 Теоретический расчет липофильности

Программы ChemBioDrawUltra 12.0. и HyperChem позволяют создавать неограниченное количество разнообразных структур, проводить их анализ: узнать молекулярную массу, провести элементный анализ и т.д.

Интернет-ресурсы Molinspiration и ALOGPS 2.1. предоставляют бесплатную возможность рассчитывать свойства и предсказывать биологическую активность соединений.

Операции с помощью разных программ позволяют определить более подходящий метод вычисления $\log P_{o/w}$ для исследуемых пиразолинов, то есть более близкий к экспериментальным результатам.

В таблице 2 приведены значения $\log P_{o/w}$, рассчитанные с применением различных ресурсов, описанных в разделе 2.3.1.

Таблица 2 - Теоретические значения $\log P_{o/w}$

№ соединения	ChemBioDrawUltra 12.0.	HyperChem	Molinspiration	ALOGPS 2.1
1	3.60	3.90	3.60	3.44
2	3.94	4.23	3.96	3.68
3	4.45	3.64	4.89	4.37
4	3.67	3.95	3.83	3.66
5	4.18	3.37	4.76	4.27

Наглядно видно, что значения логарифма коэффициента распределения, вычисленные в вышеуказанных программах и ресурсах, схожи между собой. Однако существуют и различия, так значения липофильности пиразолина под номером 5, полученные в HyperChem и в Molinspiration значительно отличаются. С другой стороны, значения липофильности для всех пиразолинов, вычисленные с помощью ChemBioDraw Ultra 12.0. и Molinspiration, различаются между собой не так

существенно. Очевидно, что теоретических данных недостаточно из-за различия абсолютных значений. Эти данные нуждаются в экспериментальном подтверждении. Тем не менее, тенденция изменения липофильности каждого из пиразолинов сохраняется на протяжении всей выборки веществ.

3.2 Расчет физико-химических параметров

Теоретические данные, рассчитанные с применением различных программ, собраны в таблицах 5-9.

Таблица 5 –Физико-химические параметры соединения 1

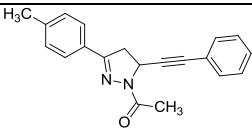
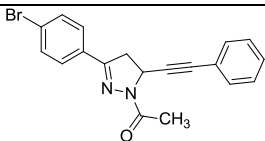
Структура	
Молекулярная масса	302.14г/моль
Температура кипения	723.37K
Температура плавления	667.76K
Молекулярная рефракция	92.31см ³ /моль
TPSA	32.67
Объем	288.53 Å ³
Поляризуемость	35.27Å ³
Дипольный момент	3.296 Д

Таблица 6 - Физико-химические параметры соединения 2

Структура	
Молекулярная масса	366.04г/моль
Температура кипения	742.47K

Продолжение таблицы 6

Температура плавления	716.29К
Молекулярная рефракция	94.89см ³ /моль
TPSA	32.67
Объем	289.86 А ³
Поляризуемость	36.06А ³
Дипольный момент	1.969Д

Таблица 7 - Физико-химические параметры соединения 3

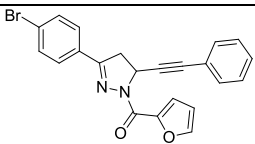
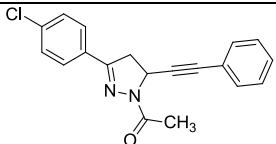
Структура	
Молекулярная масса	418.03г/моль
Температура кипения	803.49К
Температура плавления	805.5К
Молекулярная рефракция	107.48см ³ /моль
TPSA	45.81
Объем	326.27 А ³
Поляризуемость	41.04А ³
Дипольный момент	5.105Д

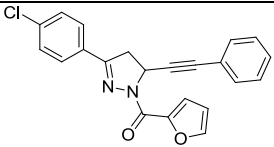
Таблица 8 -Физико-химические параметры соединения 4

Структура	
Молекулярная масса	322.09г/моль

Продолжение таблицы 8

Температура кипения	730.47K
Температура плавления	686.41K
Молекулярная рефракция	92.07см ³ /моль
TPSA	32.67
Объем	285.51 Å ³
Поляризуемость	35.36Å ³
Дипольный момент	2.208 Д

Таблица 9 - Физико-химические параметры соединения 5

Структура	
Молекулярная масса	374.08г/моль
Температура кипения	791.48K
Температура плавления	775.97K
Молекулярная рефракция	104.67см ³ /моль
TPSA	45.81
Объем	321.92 Å ³
Поляризуемость	40.34Å ³
Дипольный момент	4.914 Д

TPSA – это площадь молекулярной полярной поверхности, то есть площадь полярных атомов, показатель, связанный с пассивным транспортом молекулы через мембраны, и который можно использовать для прогноза транспорта лекарственных веществ через гемато-энцефалический барьер или при кишечной абсорбции [57].

Этот параметр также учитывается при изучении биологически активных веществ.

3.3 Спектрофотометрический метод

Спектрофотометрия – физико-химический метод исследования веществ, основанный на изучении спектров поглощения в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектров.

Этот метод также применяется для экспериментального определения логарифма коэффициента распределения в системе «органический растворитель-вода». Он основан на определении оптической плотности (D) раствора исследуемого вещества в другом органическом веществе, используемом в качестве органической фазы. Для этого применяют чаще всего октанол, иногда – толуол, бензол, гептан, изооктан или другое вещество. Отношение концентраций вещества в органической фазе к концентрации в воде будет равняться отношению значений $D_{орг.}/D_{водн.}$, а липофильность (P) будет равна $lg D_{орг.}/D_{водн.} = C_{орг.}/C_{водн.}$.

Спектрофотометрический метод, достаточно трудоемкий, он не подходит для веществ, которые диссоциируют в воде, либо имеют высокую липофильность (Таблица 1). Эти факторы усложняют проведение эксперимента.

В рамках данной работы был проведен опыт методом «shake-flask» с различными растворителями, встречающимися в литературе [12]. В ходе опыта замерялось значение оптической плотности D пиразолина в растворителе (бензол, толуол, октанол) при максимальной длине волны λ . Для раствора пиразолина под номером 5 в бензоле значение $D_1=1.366$ при $\lambda_{max}=319\text{нм}$. После смешивания с водой значение D_2 при этой же длине волны стало равным 1.471. Оптическая плотность после опыта с водой должна быть меньше, чем исходное значение. Это происходит вследствие того, что часть пиразолина переходит из органической фазы в водную. Экспериментальный результат противоречит данному условию, и значение D_2 не имеет физического смысла. В толуоле и октаноле вещества ведут себя аналогичным образом. Можно сделать вывод о том, что спектрофотометрический метод

для данной группы исследуемых соединений не подходит.

3.4 Хроматографический метод

Хроматографический метод заключается в измерении времени удерживания каждого из стандартных веществ и времени удерживания исследуемых пиразолинов. По результатам анализа определяются величины факторов удерживания.

Результаты хроматографического анализа веществ-стандартов и исследуемых пиразолинов занесены в таблицы 10 (для веществ, взятых за стандарты) и 11 (для испытуемых пиразолинов).

$\log k_0$ – логарифм фактора удерживания при отсутствии метанола в элюенте (или при 100%-ом содержании воды), для каждого соединения находится при помощи экстраполяции значений $\log k$ на $x=0$. Примеры экстраполяции показаны на рисунках 1-6.

Эти значения определяются для выведения общего уравнения зависимости фактора удерживания и липофильности соединений.

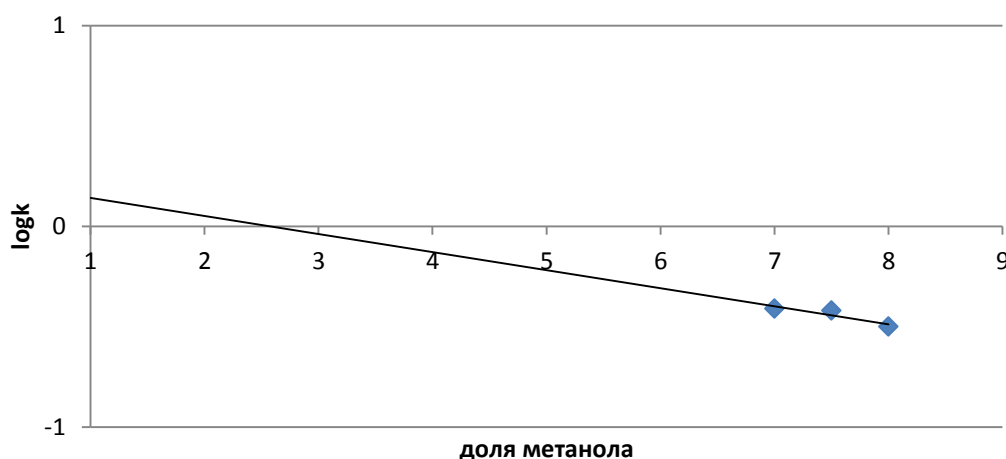


Рисунок 1 – Зависимость фактора удерживания 2-бутанона от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 1 $\log k_0=0.13$

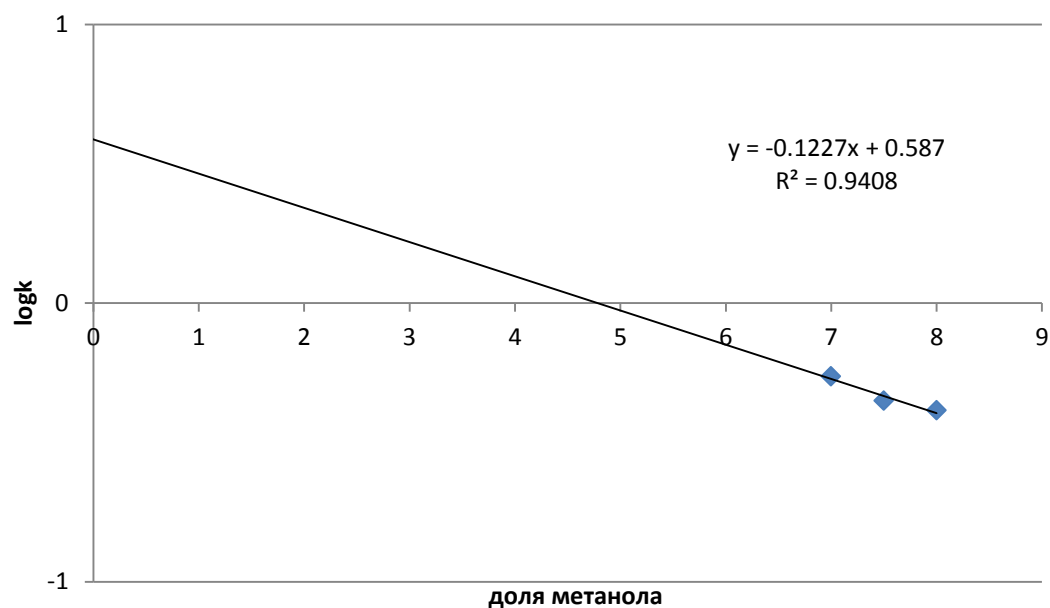


Рисунок 2 – Зависимость фактора удерживания анилина от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 2 $\log k_0 = 0.6$

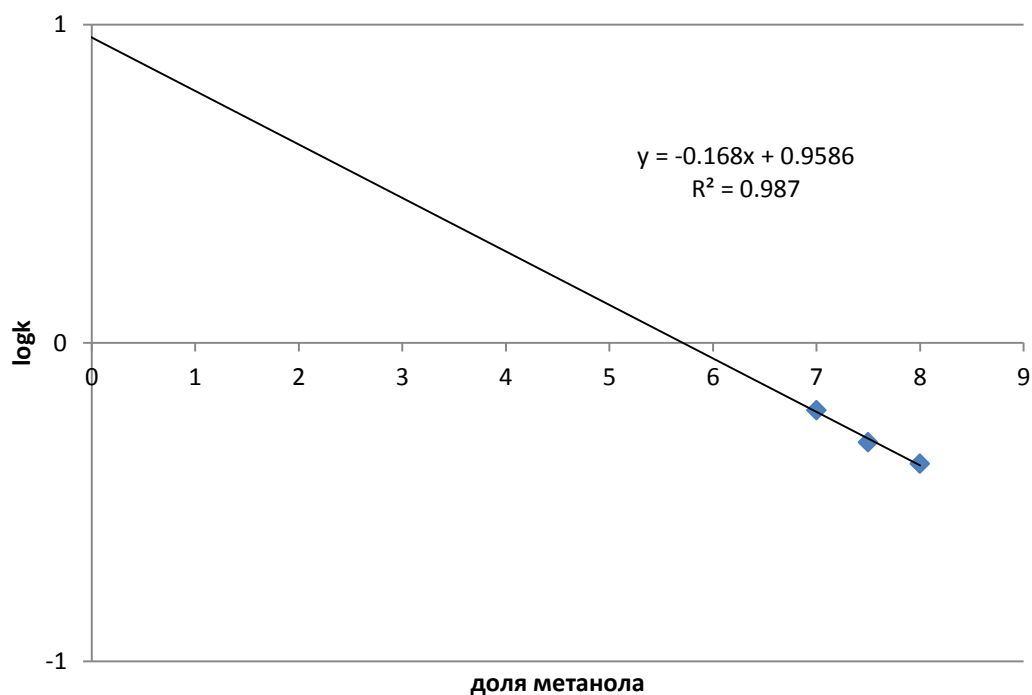


Рисунок 3 – Зависимость фактора удерживания ацетанилида от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 3 $\log k_0 = 0.98$

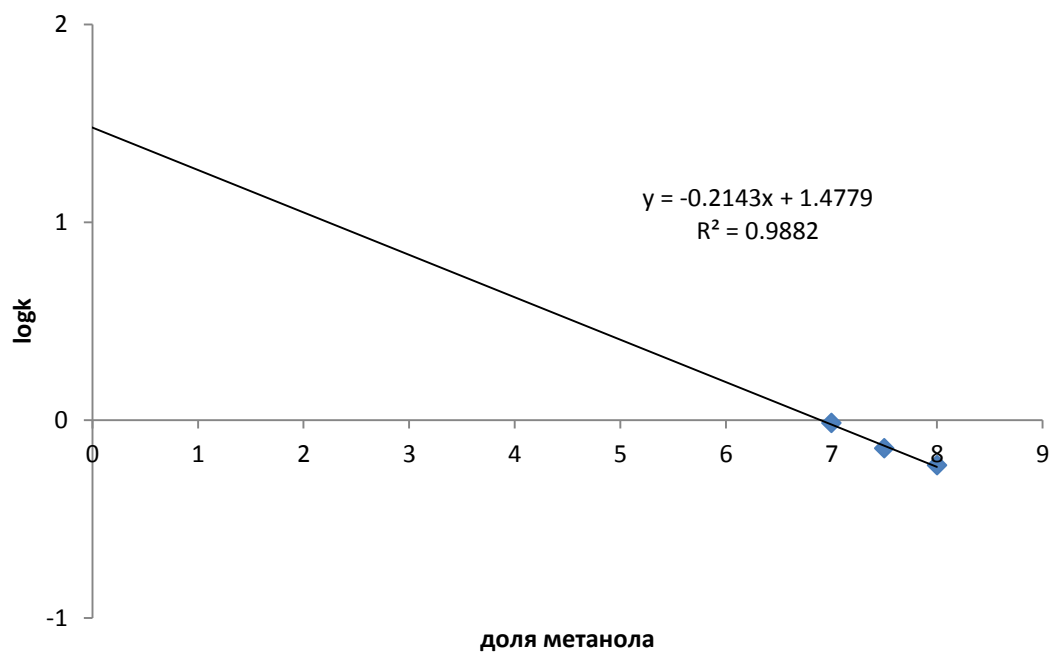


Рисунок 4 – Зависимость фактора удерживания ацетофенона от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 4 $\log k_0 = 1.49$

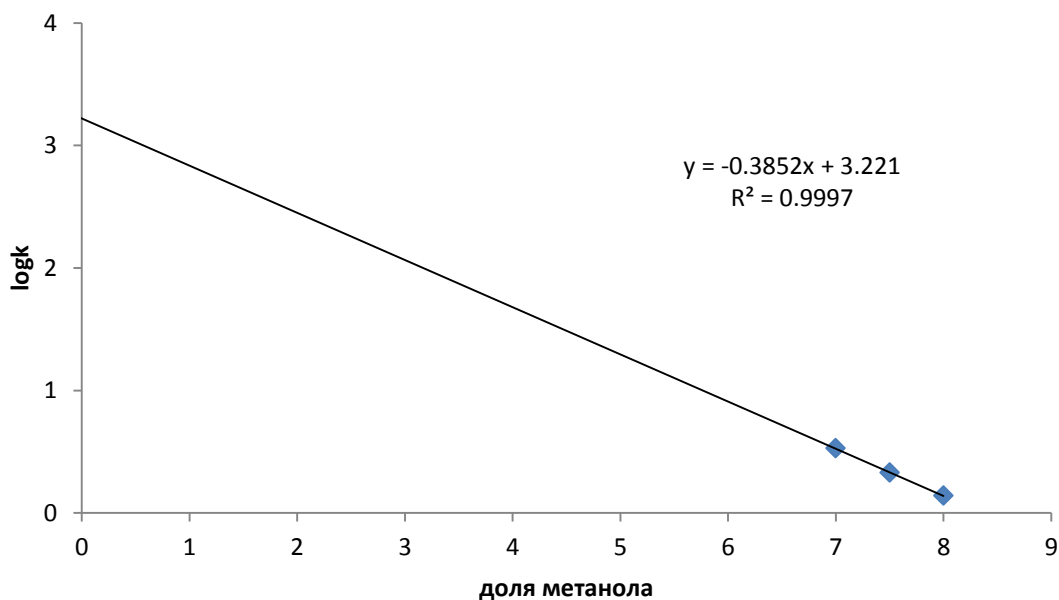


Рисунок 5 – Зависимость фактора удерживания хлорбензола от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 5 $\log k_0 = 3.2$

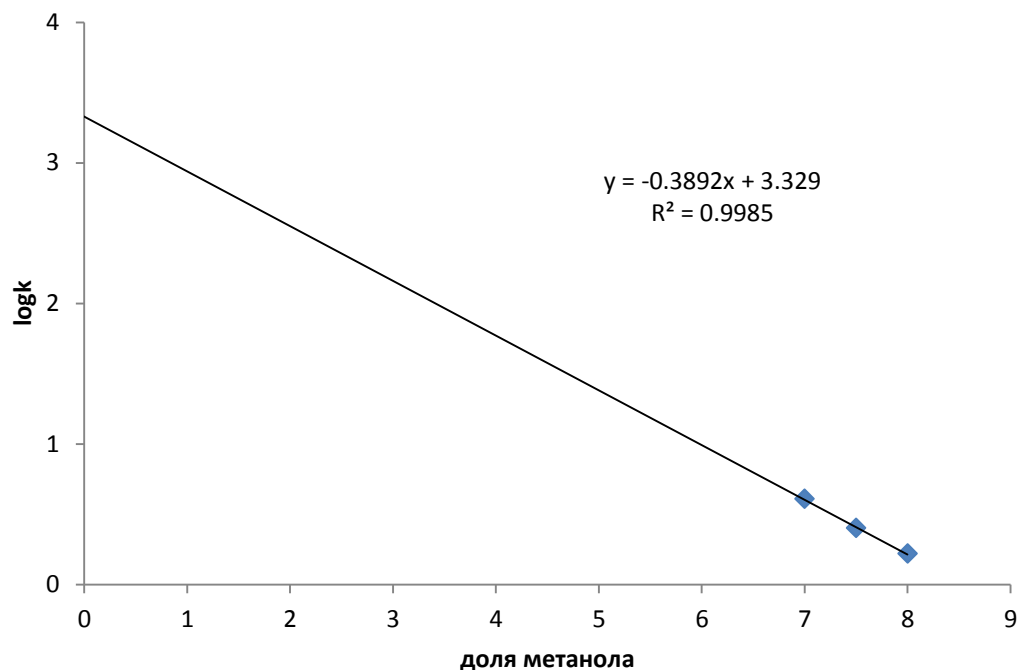


Рисунок 6 – Зависимость фактора удерживания бромбензола от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 6 $\log k_0 = 3.3$

Значения $\log k_0$, найденные по графическим зависимостям, для удобства занесены в таблицу 10.

Таблица 10 - Результаты анализа для «стандартов»

Соединение	$\log P_{o/w}$	$\log k_8$	$\log k_{7.5}$	$\log k_7$	$\log k_0$	$\log P_{o/w}(\text{эксп})$
2-Бутанон	0.3	-0.5	-0.42	-0.41	0.13	0.416
Анилин	0.9	-0.3857	-0.351	-0.263	0.60	0.79
Ацетанилид	1.0	-0.3798	-0.3125	-0.2118	0.98	1.1
Ацетофенон	1.7	-0.2298	-0.1429	-0.0155	1.49	1.5
Хлорбензол	2.8	0.1411	0.3277	0.5263	3.2	2.89
Бромбензол	3.0	0.2198	0.40115	0.609	3.3	2.98

На рисунке 7 показана корреляция между логарифмом фактора удерживания веществ и логарифмом распределения при 0% содержании метанола в подвижной фазе ($\log k_0$).

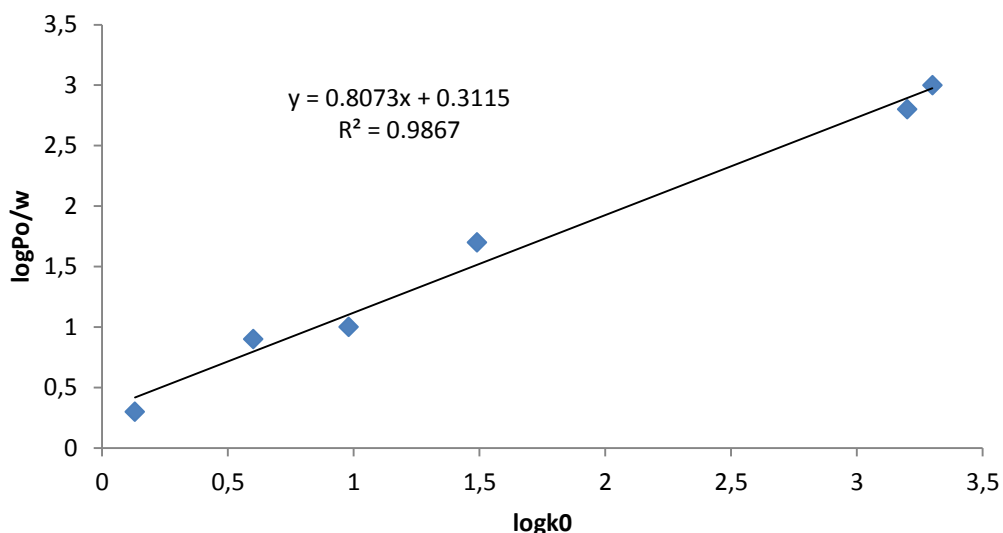


Рисунок 7 - Зависимость коэффициента распределения от фактора удерживания

Из этого графика выводится уравнение, связывающее $\log k_0$ и $\log P_{o/w}$.

Результирующее уравнение:

$$y = 0.8073x + 0.3115$$

при $R^2 = 0.9867$, где R – коэффициент корреляции.

Таким образом, $\log P_{o/w} = 0.8073 \log k_0 + 0.3115$

Аналогично график, связывающий значение фактора удерживания каждого из исследуемых пиразолинов с долей метанола в подвижной фазе, экстраполирован на 0% содержание метанола (Рисунки 8-12).

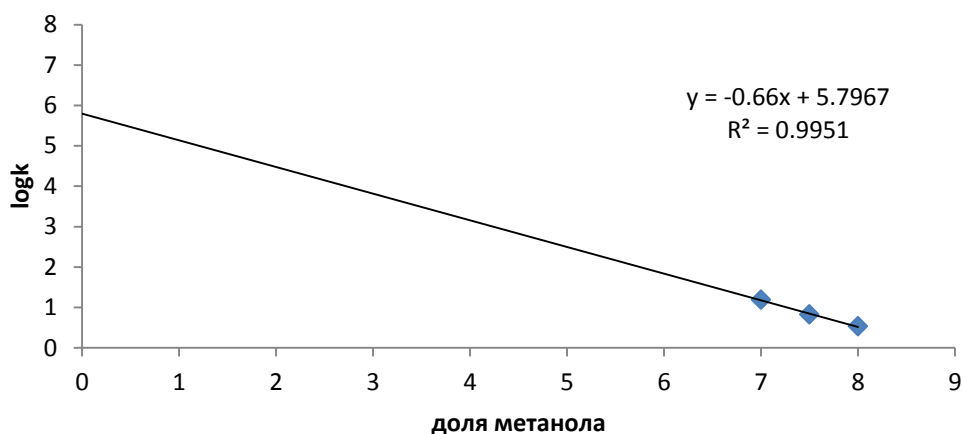


Рисунок 8 - Зависимость фактора удерживания соединения 1 от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 8 $\log k_0 = 5.8$

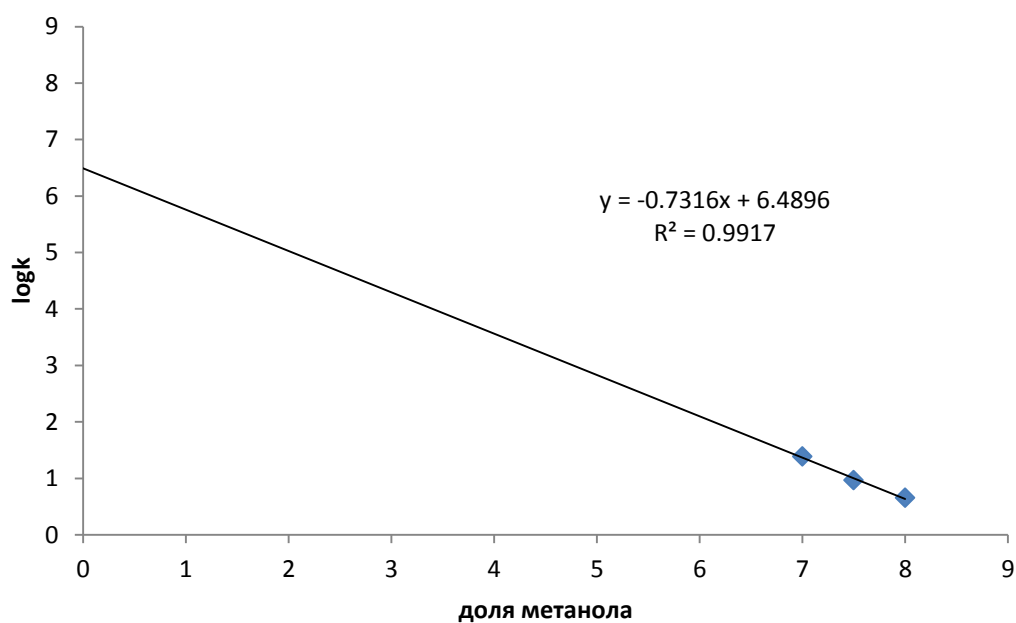


Рисунок 9 - Зависимость фактора удерживания соединения 2 от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 9 $\log k_0 = 6.5$

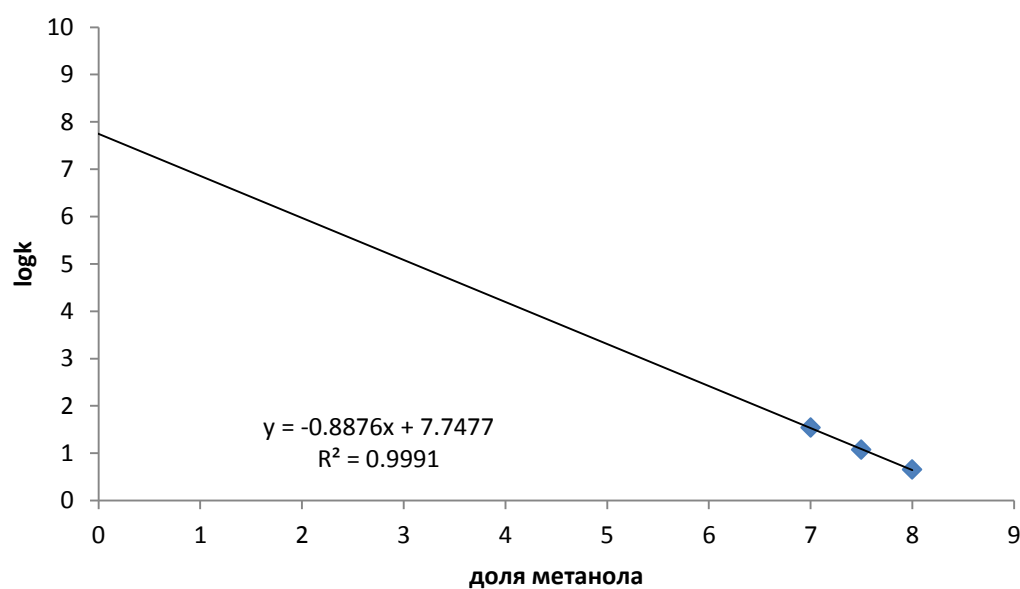


Рисунок 10 - Зависимость фактора удерживания соединения 3 от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 10 $\log k_0 = 7.8$

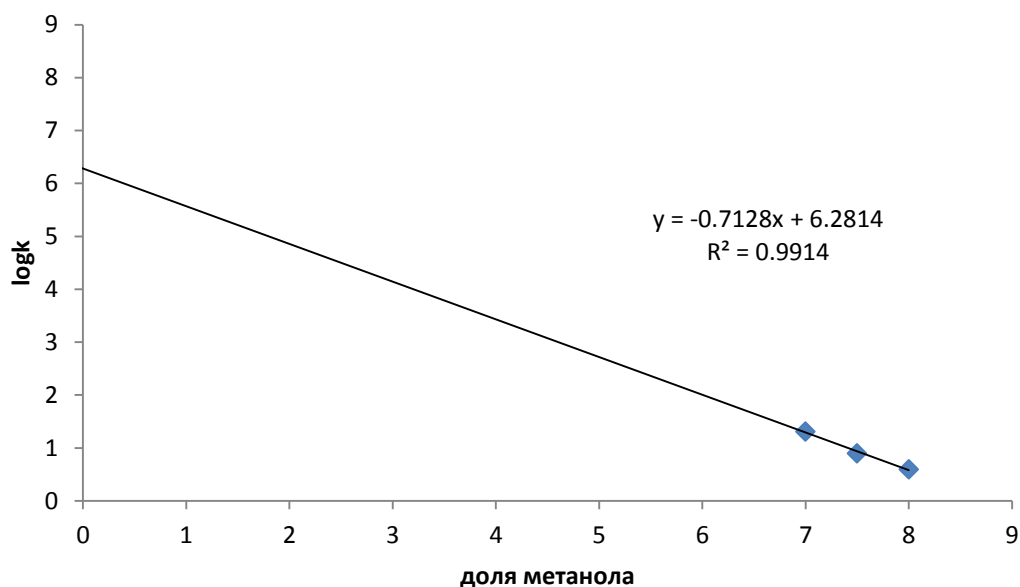


Рисунок 11 - Зависимость фактора удерживания соединения 4 от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 11 $\log k_0 = 6.3$

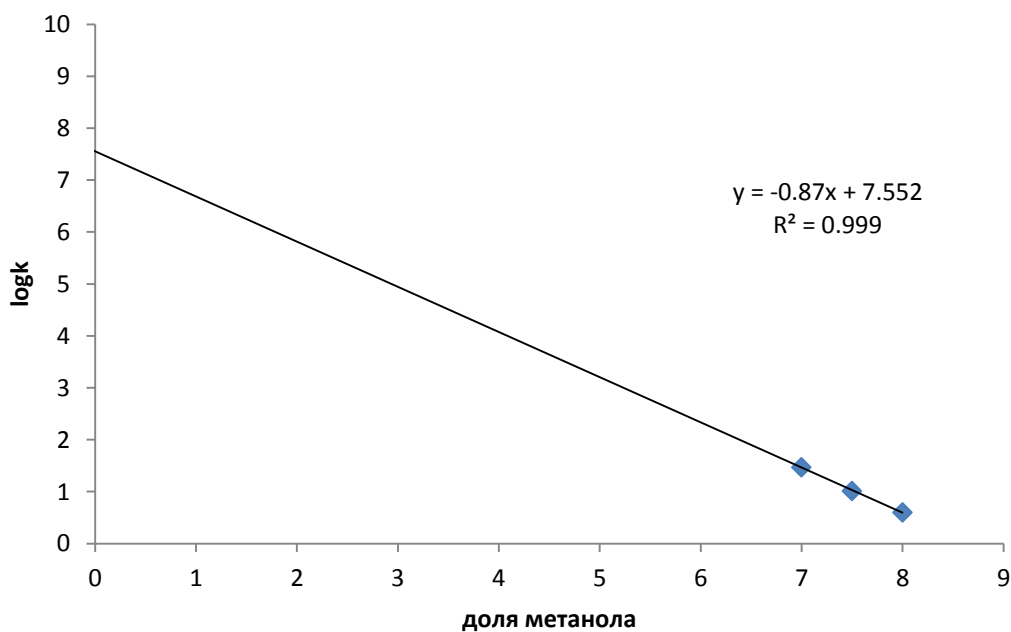


Рисунок 12 - Зависимость фактора удерживания соединения 5 от доли метанола в составе подвижной фазы

Из рисунка 12 $\log k_0 = 7.6$

Значения $\log k_0$, найденные из графиков, внесены в таблицу 11. Эти значения были использованы в качестве переменных в ранее выведенном

уравнении $\log P_{o/w} = 0.8073 \log k_0 + 0.3115$ (таблица 11).

Таблица 11 - Результаты анализа пиразолинов

Соединение	$\log P_{o/w(\text{эксп})}$	$\log k_8$	$\log k_{7,5}$	$\log k_7$	$\log k_0$
1	4.99	0.53	0.82	1.19	5.8
2	5.56	0.6564	0.9643	1.388	6.5
3	6.61	0.6545	1.0754	1.5421	7.8
4	5.4	0.5982	0.8971	1.311	6.3
5	6.44	0.6	1.01114	1.47	7.6

Таким образом, определены значения липофильности для пяти схожих по строению веществ теоретическим (при помощи компьютерных программ и Интернет-ресурсов) и экспериментальным путями (хроматографическим методом).

Для того чтобы сопоставить значения, полученные теоретическим и экспериментальным методами, они собраны в обобщающую таблицу 12.

Таблица 12 - Теоретические и экспериментальные значения $\log P_{o/w}$

№	ChemBio DrawUltra 12.0.	HyperChem	Molinspiration	ALOGPS 2.1	$\log P_{o/w(\text{эксп})}$
1	3.60	3.90	3.60	3.44	4.99
2	3.94	4.23	3.96	3.68	5.56
3	4.45	3.64	4.89	4.37	6.61
4	3.67	3.95	3.83	3.66	5.4
5	4.18	3.37	4.76	4.27	6.44

Проанализировав таблицу 12, можно прийти к выводу о том, что, по крайней мере, для исследуемой группы веществ, полностью доверять теоретическим расчетам невозможно. Значения, полученные расчетными методами, следует подкреплять экспериментальными результатами. Стоит отметить также, что расчетные значения между собой схожи. Хроматографический метод, тем не менее, можно назвать надежным, так как

для веществ – «стандартов» с известными величинами $\log P_{o/w}$ экспериментальные и исходные данные схожи.

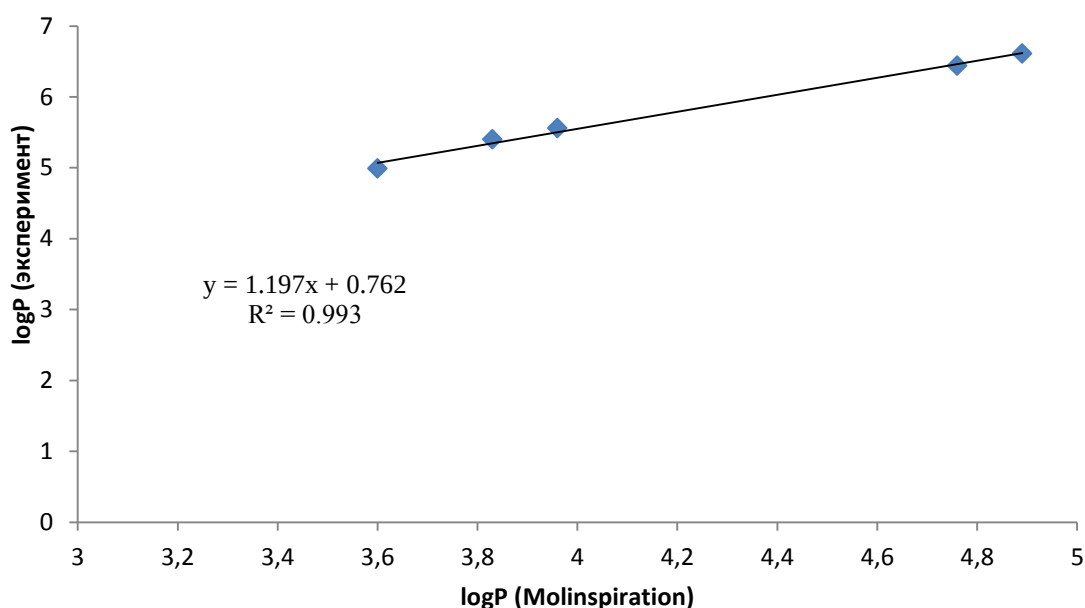


Рисунок 13 – Сравнение результатов теоретического и экспериментального определения липофильности

Рисунок 13 доказывает применимость метода, так как экспериментальные и теоретические данные сопоставимы между собой, несмотря на то, что абсолютные значения отличаются.

Таким образом, уравнение $\log P_{o/w} = 0.8073 \log k_0 + 0.3115$ может быть использовано для определения $\log P_{o/w}$ для других веществ с подобной структурой при указанных условиях.

Для того чтобы понять, какой физико-химический параметр вносит наибольший вклад в липофильность, стоит прокоррелировать некоторые теоретически рассчитанные параметры (таблицы 5-9) с экспериментальными значениями логарифма коэффициента распределения.

Для удобства физико-химические свойства, рассчитанные теоретическим путем, каждого из исследуемых пиразолинов (объем молекулы, дипольный момент, поляризуемость и TPSA) представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Некоторые физико-химические свойства исследуемых пиразолинов

Соединение/свойство	1	2	3	4	5
TPSA	32.67	32.67	45.81	32.67	45.81
Объем	288.53	289.86	326.27	285.51	321.92
Поляризуемость	35.27Å ³	36.06Å ³	41.04Å ³	35.36Å ³	40.34Å ³
Дипольный момент	3.296 Д	1.969Д	5.105Д	2.208 Д	4.914 Д

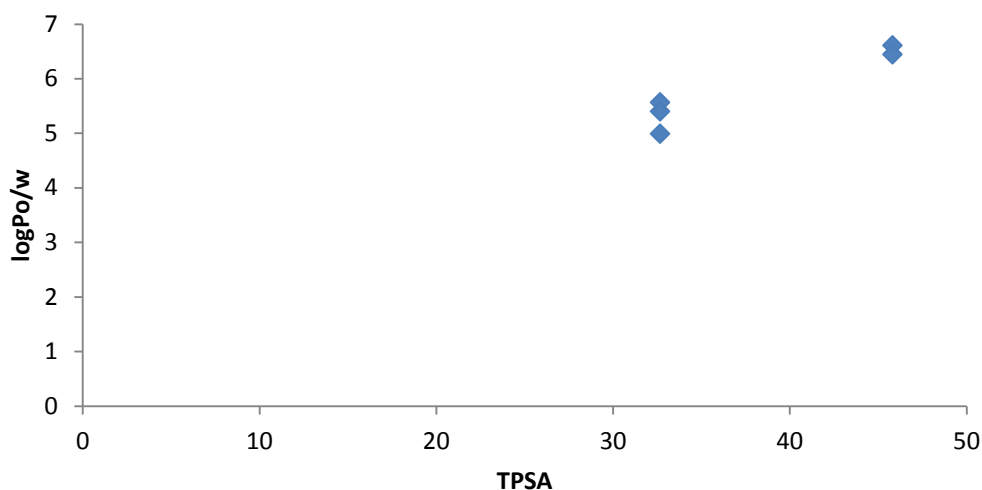
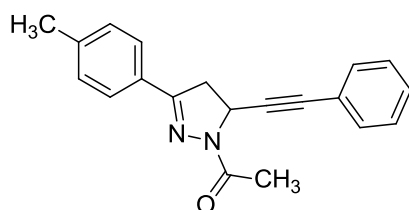


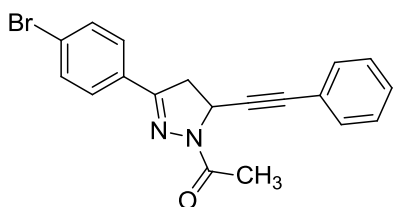
Рисунок 14 - Зависимость $\log P_{o/w}$ от TPSA

Из графика 14 следует, что вещества с близкими значениями $\log P_{o/w}$ имеют одинаковые значения площади полярной поверхности, что связано со строением самих молекул. Так, имеющие одинаковые величины TPSA соединения 1,2,4 имеют общий ацильный заместитель при атоме азота в положении 1:

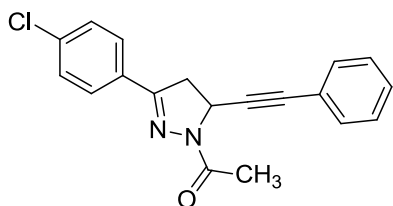
Соединение 1. 1-Ацил-3-(4-метилфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



Соединение 2. 1-Ацил-3-(4-бромфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



Соединение 4. 1-Ацил-3-(4-хлорфенил)-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразол



Соединения 3 и 5, в свою очередь, имеют общий заместитель фурил.

В общем случае, молекулы с большей молекулярной площадью полярной поверхности имеют и большую липофильность.

Та же закономерность обнаруживается и при соотношении объема молекулы с липофильностью (Рисунок 15).

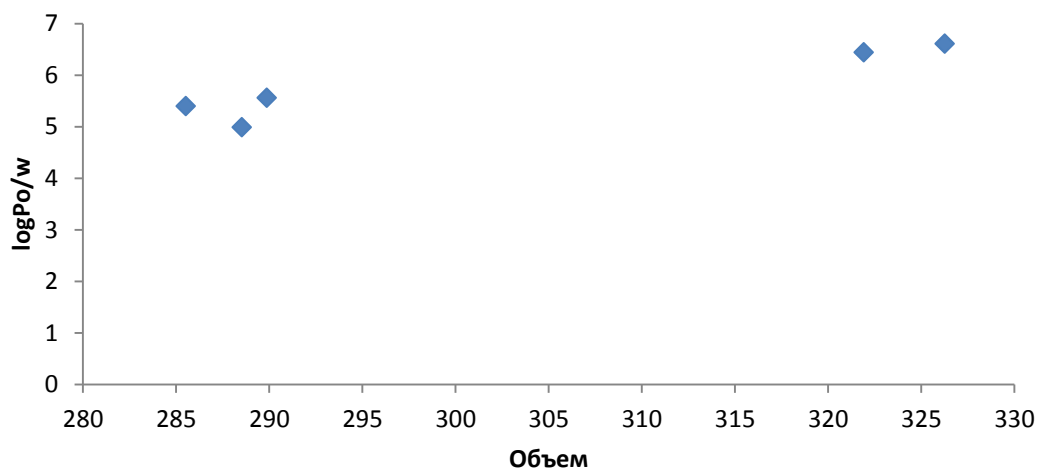


Рисунок 15 - Зависимость $\log P_{o/w}$ от объема молекулы

В данном ряду, судя по рисунку 15, присутствует тенденция увеличения липофильности с увеличением объема молекулы, с одной стороны, но сложно вывести какую-либо зависимость из-за достаточно

маленькой выборки веществ.

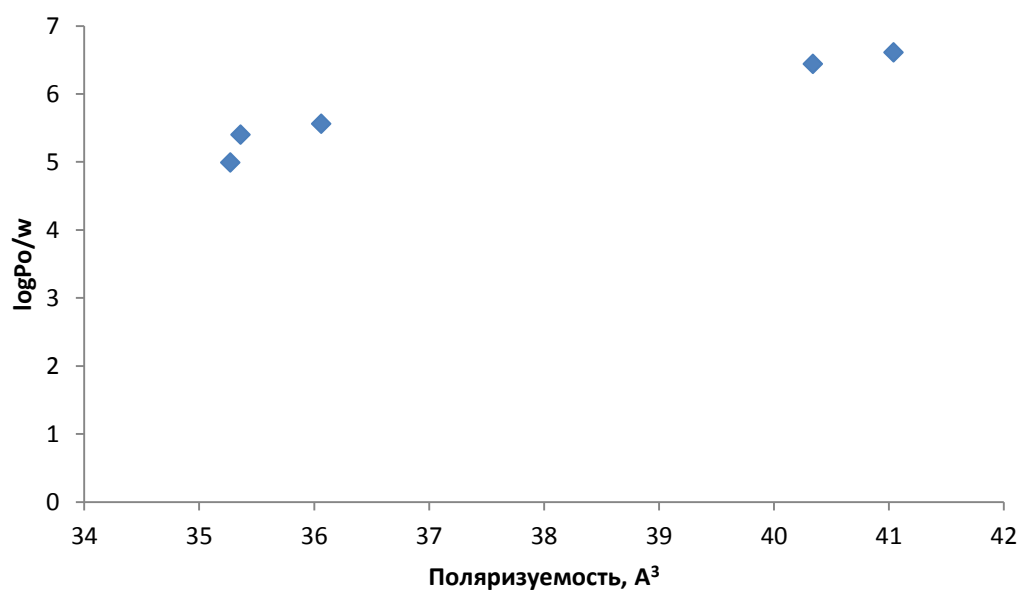


Рисунок 16 - Зависимость $\log P_{o/w}$ от поляризуемости

Из графического изображения видно, что поляризуемость молекулы влияет на значение липофильности. Большей поляризуемости соответствует большая липофильность.

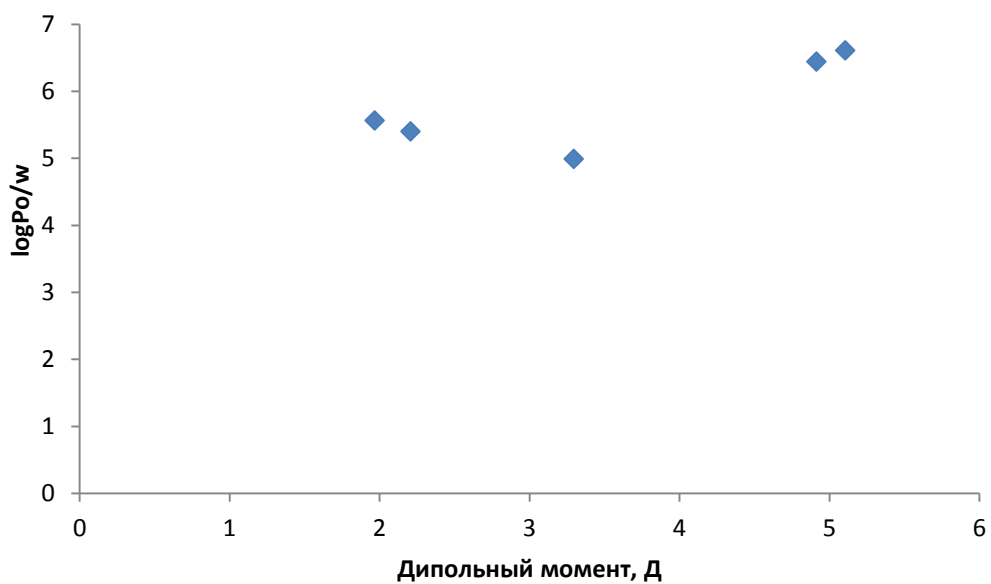
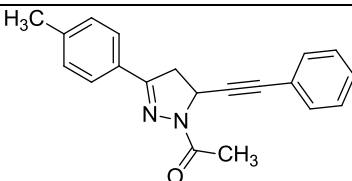
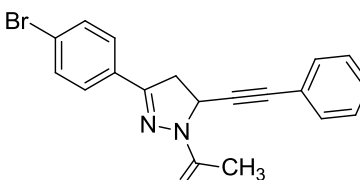
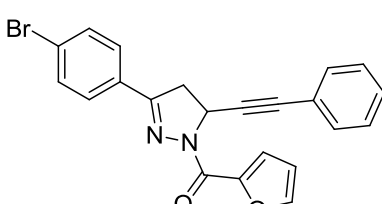
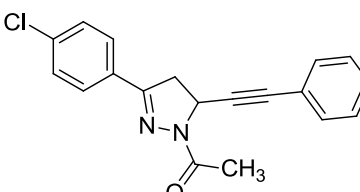


Рисунок 17 - Зависимость $\log P_{o/w}$ от дипольного момента

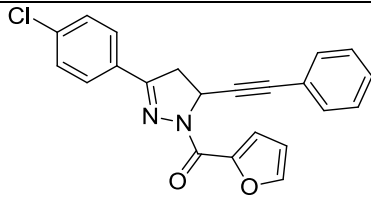
Наибольшие значения дипольного момента и липофильности проявляют соединения 3 и 5, содержащие в составе фурановый фрагмент и галоген. С другой стороны, соединение 4 имеет меньшую липофильность, но большую поляризуемость по сравнению с соединением 2.

Для того чтобы оценить вклад различных заместителей в изменение значения липофильности и влияние на биологическую активность (Таблицы 1-10 приложения), эти параметры были сведены в таблицу 14.

Таблица 14 - Соотношение структуры, липофильности и антиишемического церебрального эффекта исследуемых пиразолинов

№	Структура	logP _{o/w}	Проявление антиишемического церебрального эффекта
1		4.99	0.886
2		5.56	0.856
3		6.61	0.938
4		5.4	0.892

Продолжение таблицы 14

5		6.44	0.960
---	---	------	-------

Наибольшую липофильность проявляют соединения, содержащие фурановый фрагмент, при этом атом брома в составе соединения увеличивает липофильность (по сравнению с хлором). Более того, эти соединения проявляют наибольший биологический эффект по сравнению с остальными. Причем, соединение 3, содержащее в составе бром проявляет единственный токсикологический эффект, вероятность проявления которого практически равна вероятности не проявления (приложение 3.2).

Дальнейшее изучение этого вопроса может позволить дать точную оценку возможности соединения 3 быть потенциальным лекарственным средством.

При внимательном изучении вышеуказанных графических зависимостей между каким-либо свойством (физико-химическим или фармакологическим) становится понятно, что ряд исследуемых пиразолинов можно разделить на две группы структурных аналогов: соединения, содержащие в составе галоген (бром или хлор) у бензольного кольца, и соединение с алкильным заместителем (метил) у бензольного кольца.

Интерес представляют и корреляции «липофильность – биологическая активность» и «физико-химические свойства – липофильность».

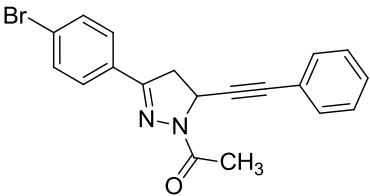
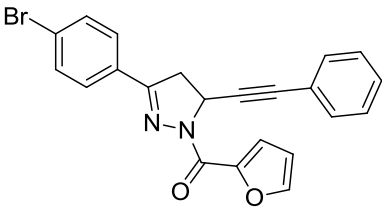
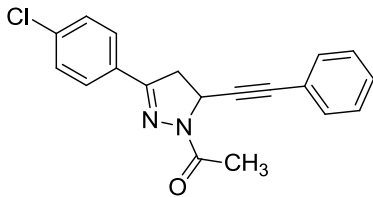
Все изучаемые пиразолины проявляют, согласно результатам PASSonline, противоишемическую (антиишемическую) церебральную активность.

Целесообразно первую группу, включающую в себя соединения 2-5, рассмотреть подробнее и попытаться выделить какие-либо корреляции

между строением, свойством и величиной проявляемого эффекта. Наличие в их составе галогенов обуславливает схожесть их свойств, высокую липофильность и другие показатели, и на их примере можно проанализировать влияние физико-химических параметров на биологический эффект.

Свойства соединений 2-5 приведены в таблицах 15 и 16. На рисунках 18-20 представлены корреляции их физико-химических свойств с липофильностью и проявлением антиишемического эффекта.

Таблица 15 - Соотношение структуры, липофильности и антиишемического церебрального эффекта некоторых исследуемых пиразолинов

№	Структура	logP _{o/w}	Проявление антиишемического церебрального эффекта
2		5.56	0.856
3		6.61	0.938
4		5.4	0.892

Продолжение таблицы 15

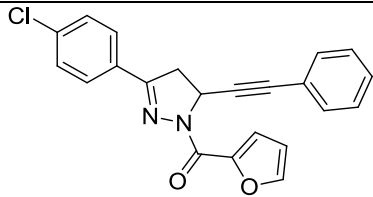
5		6.44	0.960
---	---	------	-------

Таблица 16 - Некоторые физико-химические свойства исследуемых пиразолинов 2, 3, 4 и 5

Соединение/свойство	2	3	4	5
TPSA	32.67	45.81	32.67	45.81
Объем	289.86	326.27	285.51	321.92
Поляризуемость	36.06Å ³	41.04Å ³	35.36Å ³	40.34Å ³
Дипольный момент	1.969Д	5.105Д	2.208 Д	4.914 Д

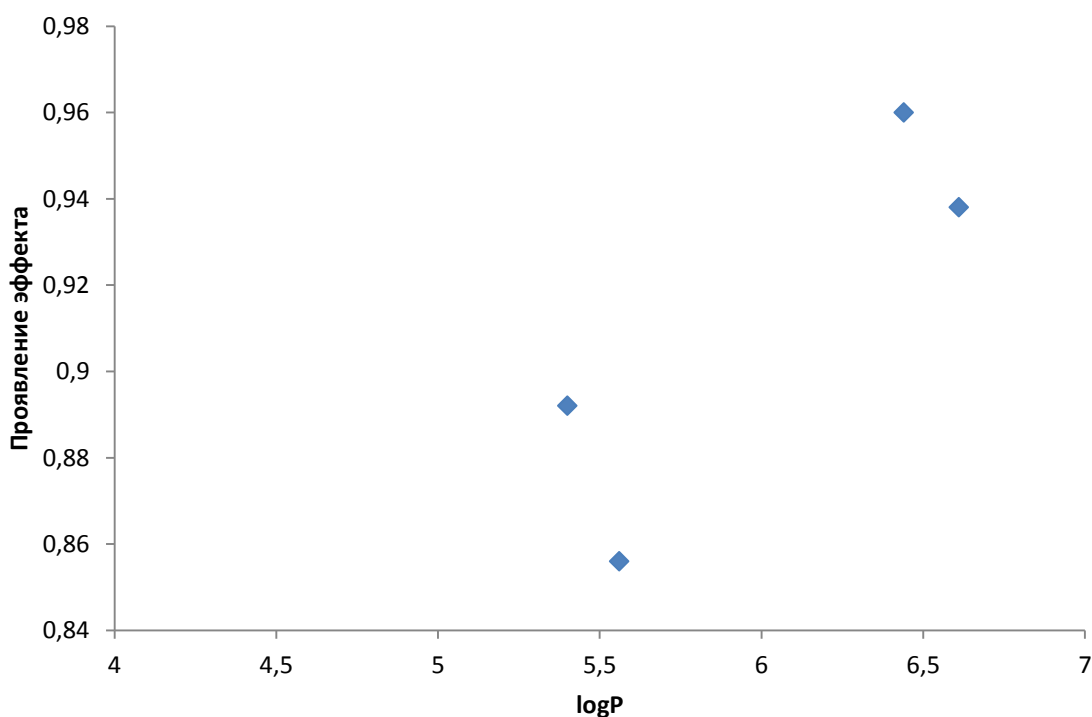


Рисунок 18 – Зависимость вероятности проявления антиишемического церебрального эффекта от липофильности

Наблюдается тенденция роста вероятности проявления биологического эффекта (Рисунок 18). Но трудно говорить о какой-либо зависимости, так как выборка соединений достаточно мала. Кроме того, соединение под номером

3, имеющее наибольшую липофильность (6.61) проявляет не максимальный эффект (0.938), а вероятность проявления биологической активности соединения 4 с наименьшей липофильностью (5.4) не минимальна.

Рисунок 19 отражает зависимость вероятности проявления антиишемического церебрального эффекта от объема молекул.

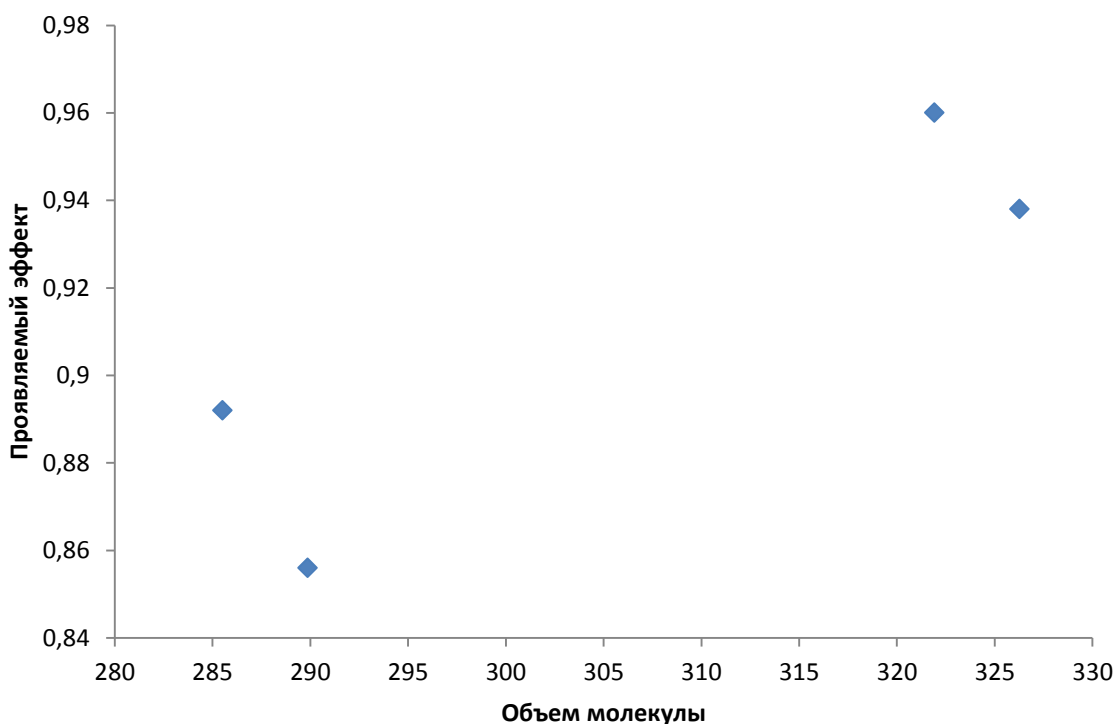


Рисунок 19– Зависимость вероятности проявления антиишемического церебрального эффекта от объема молекулы

Наблюдается общая тенденция увеличения проявления антиишемического церебрального эффекта с увеличением объема молекулы, но прямой зависимости в данном ряду не проявляется.

В ряду, который включает соединения 2 и 4, имеющие общий ацильный заместитель у атома азота, наблюдается уменьшение вероятности проявления данного эффекта с увеличением объема молекулы. То есть вклад атома хлора в биологическую активность больше, чем атома брома, зато атом наличие атома брома обуславливает больший объем молекулы.

Аналогичная ситуация в случае соединений 3 и 5. Соединение 3

содержит в своем составе атом брома, который вносит вклад в общий объем молекулы, соединение 5 проявляет больший эффект за счет атома хлора.

Рисунок 20 показывает зависимость вероятности проявления данного эффекта от поляризуемости молекул.

Рисунок 21 характеризует зависимость вероятности проявления этого эффекта от дипольного момента.

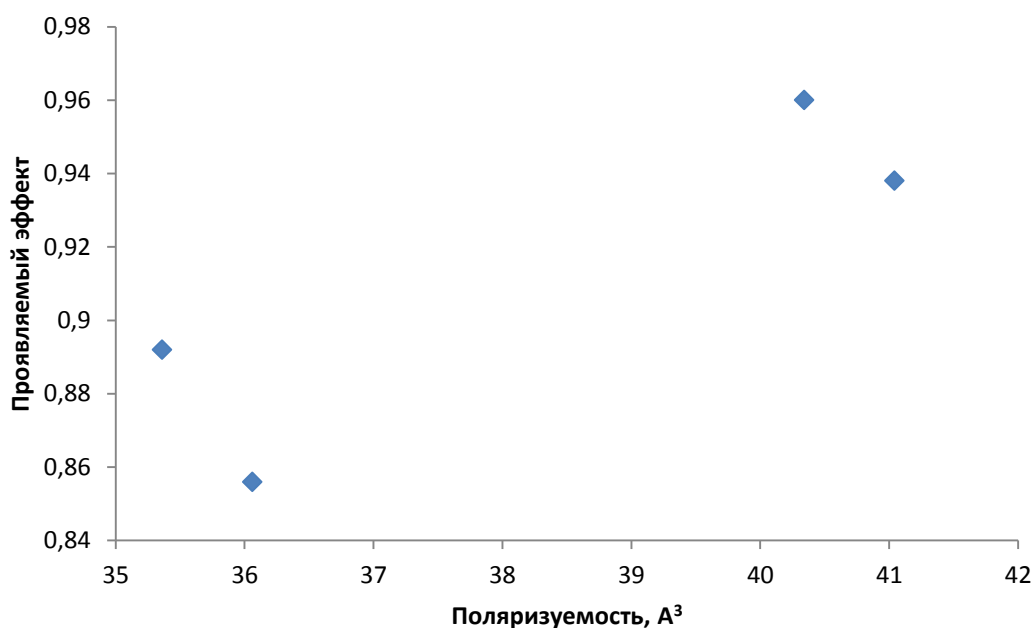


Рисунок 20 - Зависимость вероятности проявления антиишемического церебрального эффекта от поляризуемости молекулы

Рисунок 20 характеризуется аналогично рисунку 18. Это доказывает, то, что вклад в поляризуемость вносят атомы брома и хлора у бензольного кольца. При этом соединения с атомом брома – 2 и 3 – проявляют меньший эффект. Наблюдается общая тенденция увеличения проявления антиишемического церебрального эффекта с увеличением поляризуемости молекулы.

В ряду, который включает соединения 2 и 4, имеющие общий ацильный заместитель у атома азота, наблюдается уменьшение вероятности проявления данного эффекта с увеличением поляризуемости молекулы.

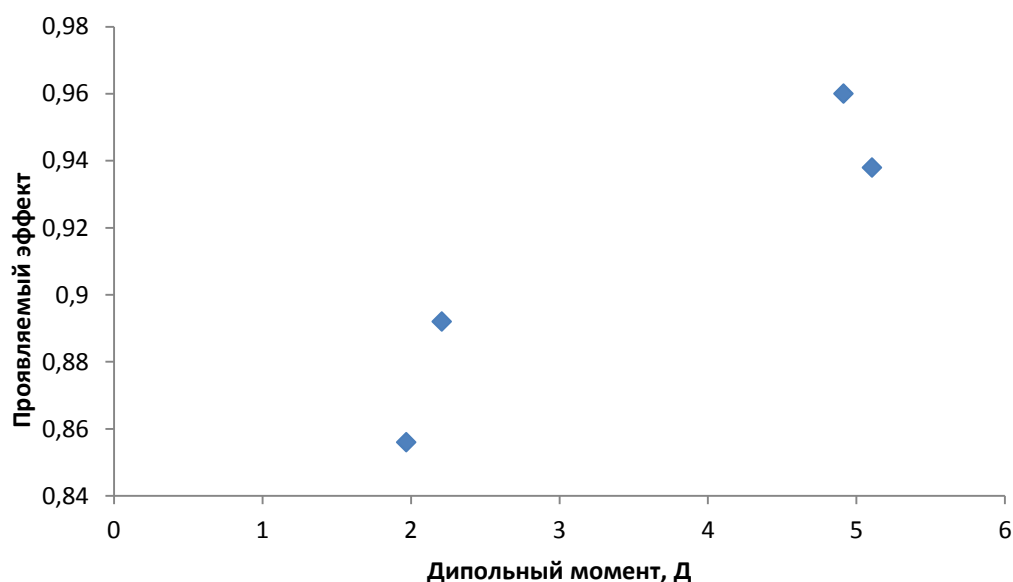


Рисунок 21 - Зависимость вероятности проявления антиишемического церебрального эффекта от дипольного момента молекулы

В этом случае наблюдается особый вклад заместителей у атома азота. Формируются группы: соединения 2 и 4, соединения 3 и 5. Но зависимости проявления этого эффекта от дипольного момента нет.

Более плотно физико-химические параметры связаны с липофильностью. В таблице 17 собраны рассчитанные значения параметров и сопоставлены с липофильностью.

Таблица 17 – Сопоставление физико-химических свойств пиразолинов 2,3,4,5 с липофильностью

Соединение/свойство	2	3	4	5
TPSA	32.67	45.81	32.67	45.81
Объем	289.86	326.27	285.51	321.92
Поляризуемость	36.06А ³	41.04А ³	35.36А ³	40.34А ³
Дипольный момент	1.969Д	5.105Д	2.208 Д	4.914 Д
Липофильность	5.56	6.61	5.4	6.44

Наименьшее значение липофильности имеет соединение с наименьшими значениями объема и поляризуемости, это соединение 4. Наибольшую липофильность имеет соединение 3, это же соединение имеет

наибольшую поляризуемость, объем и дипольный момент.

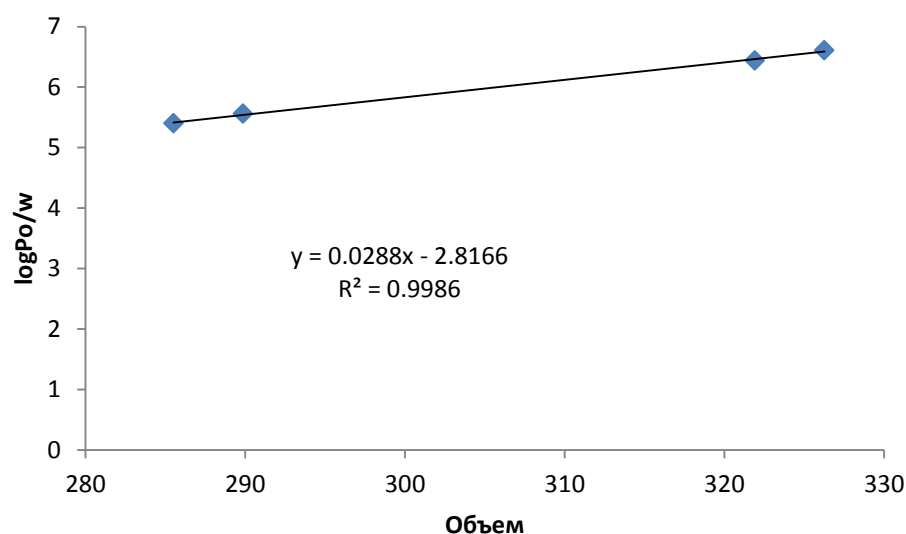


Рисунок 22 – Зависимость липофильности от объема молекулы

Рисунок 22 показывает, что зависимость липофильности от объема линейна (коэффициент корреляции при этом равен 0,9986), и ее можно описать уравнением:

$y = 0.0288x - 2.8166$ или $\log P_{o/w} = 0.0288V - 2.8166$, где V – объем молекулы.

Для определения достоверности данного уравнения необходимы более глубокие исследования с большим количеством испытуемых соединений.

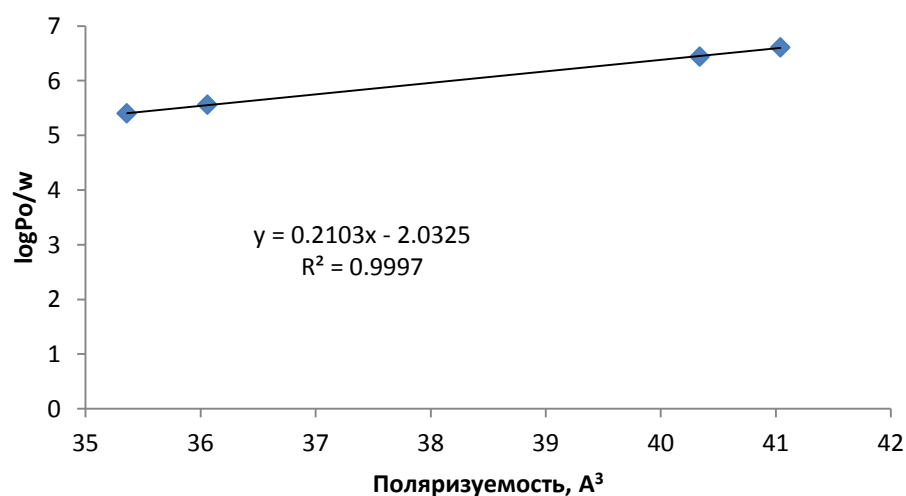


Рисунок 23 – Зависимость липофильности от поляризуемости молекулы

Также как и в предыдущем случае, рисунок 21 показывает, что зависимость липофильности от поляризуемости линейна (коэффициент корреляции равен 0,9997), и ее можно описать уравнением:

$y = 0.2103x - 2.0325$ или $\log P_{o/w} = 0.2103\alpha - 2.0325$, где α – поляризуемость.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе настоящего исследования были выполнены поставленные задачи и достигнуты поставленные цели.

1. Проанализирована литература по теме, указаны актуальные в настоящее время способы определения липофильности органических соединений.

2. В ходе исследования установлено, что для определения логарифма распределения в среде октанол-вода для исследуемых 3-арил-5-(2-фенилэтинил)-4,5-дигидро-1Н-пиразолов наиболее подходящим методом является метод ОФ-ВЭЖХ с применением смеси метанола и воды в качестве подвижной фазы. Значения, полученные расчетным путем с помощью специализированных программ и ресурсов, сопоставимы с экспериментальными значениями, однако в этом случае экспериментальные абсолютные значения больше, чем рассчитанные. Спектрофотометрический метод определения липофильности не подходит для данных соединений.

3. Выведено уравнение, связывающее факторы удерживания веществ и их липофильность: $\log P_{o/w} = 0.8073 \log k_0 + 0.3115$.

4. Прокоррелированы некоторые физико-химические параметры с биологической активностью. Обнаружено, что проявление биологического эффекта не зависит от какого-то определенного параметра, в том числе от липофильности, но зависит от совокупности параметров. Липофильность, в свою очередь, линейно зависит от поляризуемости молекулы и ее объема.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ И ИСТОЧНИКОВ

1. IUPAC Compendium of Chemical Terminology, 849. 2014.
2. Таширова О.А., Раменская Г.В. Изучение фармакокинетических свойств липофильных и гидрофильных производных тиамин // Бюллетень медицинских Интернет-конференций. 2012. - С. 964-964.
3. Экспериментальные методы в адсорбции и молекулярной хроматографии / Ю. С. Никитин, А. Г. Безус, В. П. Древинг и др. — Изд-во МГУ Москва, 1990. — С. 318.
4. Jó źwiak K., SzumiłoH., SoczewińskiE.// WiadomościChemiczne (Polish). 2001. –N55. – P. 1047.
5. Poole S.K., PooleC.F.//J. Chromatogr. B. 2003. – N797. –P. 3–19.
6. Lipinski A., Lombardo F. //Advanced Drug Delivery Reviews.2001. – N46. –P. 3–26.
7. J. D. Hughes, et al.//Bioorg. Med. Chem. Lett. 2008. – N18. – P. 4872–4875.
8. Коноваленко С.П., Исаев П.П. Прогнозирование гидрофобных свойств биофармацевтических препаратов // Известия ЮФУ. Технические науки. - 2010. - N9(110). - С. 131-135.
9. Ягольник Е.А., Махмутов Б.Б. Липофильность и антиоксидантные свойства комплексов флавоноидов с металлами переменной валентности // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, 2013.N12-3.
10. Коркодинова Л. М., Андрюков К. В., Вейхман Г. А., Ендальцева О. С., Визгунова О. Л. Константы липофильности п–арилзамещенных производных антраниловой кислоты в изучении связи структура – противовоспалительная активность // Современные проблемы науки и образования, 2013.
11. Koehler M.G., Grigoras S., DunnW.J.// Quant. Struct.-Act. Relat..1988.–N7. – P.150-159.

12. Andrés A, Rosés M. et al. // Eur. J. Pharm. Sciences. 2015. – N76. – P.181-191.
13. Valko K. // J. Chromatogr. A. 2004. – N1037. – P. 299–310.
14. <http://www.acdlabs.com/>
15. <https://www.chemaxon.com/>
16. Кириллов В.Ю., Еркасов Р.Ш. Определение коэффициентов распределения α -аминофосфонатов методами компьютерной химии // Материалы II Международной научно-практической конференции «Европейская наука XXI века – 2009» - Прага, Чехия, 2009. – С.45-50.
17. А.М. Колбин, Т.С. Соломинова, Л.А. Тюрина и др. // Башкирский химический журнал. 2007. - Т. 14. - N3. - С. 76-78.
18. Андрюков К.В., Коркодинова Л.М., Данилов Ю.Л., Вахрин М.И. Оценка полуэмпирических методов расчёта структуры n – арилзамещенных производных антраниловой кислоты для прогнозирования коэффициента распределения октанол – вода // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – N3.
19. Ghose A. K., Crippen G. M. // J. Computational Chem.. 1986.–N7(4). – P.565–577.
20. Cheng T., Zhao Y., Li X., Lin F., Xu Y., Zhang X., Li Y., Wang R., Lai L. // J. Chem. Information and Modeling. 2007. –N47(6). –P. 2140–2148.
21. Moriguchi I., Hirono S., Liu Q., Nakagome I., Matsushita Y. // Chem. Pharm. Bull. 1992. –N40(1). –P.127–130.
22. Ghose A.K., Viswanadhan V.N., Wendoloski, J.J. // J. Phys. Chem. A. 1998. –N102(21). –P. 3762–3772.
23. Liao Q., Yao J., Yuan S. // Molecular Diversity. 2006. –N10(3). – P. 301–309.
24. Helmer F., Kiehs K., Hansch C. // Biochemistry. 1968. –N7. – P. 2858.
25. Hansch C. and Leo A. J. // Med. Chem. 1977.–N20(2). – P. 304 –306.

26. Rekker R.F., The Hydrophobic Fragmental Constant. – Amsterdam:Elsevier Sci. Ltd, 1977. – 390pp.
27. Testa, B., Carrupt, P.A. et al. Lipophilicity in Drug Action and Toxicology. –Weinheim: VCH Publishers, 1996. - 49–71 pp.
28. Неницеску К.Д. Органическая химия. - Т.2. - М.: ИИЛ, 1963. с 675.
29. Li J.T., Zhang X.H., Lin Z.P.// B. J.Org.Chem.. 2007. - N3. – P.1860-5397.
30. Sobhia HR, Yaminib Y, Esrafil A, Adiba M. //J. Pharm.Biomed.Anal.. 2008. - N45. – P. 316-320.
31. PechmannH.V.//Chem. Ges.. 1890. -N27.
32. AzzarelloJ.. //Gazz. Chim. Ital..1906. -N36. – P. 50.
33. Smith L.I., Howard K.L.. // J. Am. Chem. Soc.. 1943. -N65. –P. 165.
34. Raju G.V.S. and Rao K.S.. //Curr. Sci.. 1989. – 58. – P. 1030.
35. Smith L.I. and Pings W.B.. // J. Org. Chem..1937. – N2. – P. 23.
36. Mustafa A. and Hilmy M.K.. // J. Chem. Soc..1951.
37. Pijewska L., Kamecki, J., Perka, W.. // Polish J. Chem. 1985. -N59. – P.285.
38. Pijewska, L., Kamecki, J., Perka, W.. // Pharmazie. 1993.-N48. – P.254.
39. SammourA.E.A.. // Tetrahedron. 1967. - N20. – P.1067.
40. Raiford L. C.,EntriKin J. B.. // J. Am. Chem. Soc..1933. - N55. – P.1125.
41. Auwers K. V., Voss H.. //Ber. Dtsch. Chem. Ges.. 1909. -N42. – P.4411.
42. Auwers K. V.,Lammerhirt, E.. //Ber. Dtsch. Chem. Ges.. 1921. -N54. – P.1000.
43. Ed. Katritzky A.R., Rees C.W. Comprehensive Heterocyclic Chemistry. Vol. 5. Elsevier Sci. Ltd., 1987. - P.169-303.
44. Knorr L., Laubman H. // Chem. Der. 1888. -N21. - P.1205-1212.

45. Curtius Th. // J. Prakt. Chem. 1894. – N50. - P.531-554.
46. Кост А.Н., Ершов В.В. // Успехи химии. 1958. - Т.27.1, N4. - C.431-458.
47. Korgaokar S. S., Patil, P. H. et al. // Indian J. Pharm. Sci. 1996. -N58. - P.222-225.
48. Palaska E., Aytimir M., UzbayI.T.. // Eur. J. Med. Chem. - 2001. - N36. – P.539-543.
49. Rajendra P. Y., Lakshmana R. A., Prasoon L. et al. //Bioorg. Med. Chem. Lett. - 2005. - N15. – P.5030-5034.
50. Ozdemir Z., Kandilici H.B., Gumusel B. et al. // Eur. J. Med. Chem. - 2007. - N42. – P.373-379.
51. Красовицкий, Б. М. Моно-и бифлуорофоры. -Харьков: Институт монокристаллов: Фолио, 2002. - 448 с.
52. Fang, Q., Yamamoto, T.. // J. Polymer Sci.: Part A: Polymer Chem. - 2004. – N42. – P. 2668-2697.
53. Fang Q., Jiang B., Xu B.. // Macromol. Rapid Commun. - 2004. – N25. – P. 1856-1859.
54. И. С. Один и др. // Химия гетероциклических соединений. - 2013. - N11. - С. 1818-1820.
55. OECD Guideline for Testing of Chemicals. Partition Coefficient (n-Octanol/Water), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Method. – Paris :OECD, 1989.
56. <http://www.pharmaexpert.ru/passonline/index.php>
57. Ertl P., Rohde B., Selzer P. // J. Med. Chem. 2000.- N43. – P.3714-3717.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Таблица 1 - Биологическая активность соединения 1 (данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.886	0.006	Антиишемический, церебральный
0.809	0.017	Антиэкземный
0.757	0.009	Противодискинетическое
0.572	0.063	Ингибитор глутамилэндопептидазыII
0.521	0.050	Ингибитор слипания тромбоцитов
0.465	0.026	Антагонист белка теплового шока 27

Таблица 2 - Биологическая активность соединения 1 (токсикологические эффекты, данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.503	0.195	Судороги
0.421	0.131	Внутреннее кровотечение
0.379	0.141	Псевдопорфирия
0.356	0.129	Фиброз
0.339	0.197	Отказ органов
0.351	0.216	Обесцвечивание ногтей

Таблица 3 - Биологическая активность соединения 2 (данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.856	0.009	Антиишемический, церебральный
0.711	0.042	Противоэкземный
0.527	0.056	Противодискинетический
0.473	0.042	Противоконвульсивный
0.140	0.88	Стимулятор гуанилатциклазы 1

Таблица 4 - Биологическая активность соединения 2 (токсикологические эффекты, данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.345	0.180	Внутреннее кровотечение

Продолжение таблицы 4

0.345	0.229	Синдром Свита
0.288	0.202	Психомоторное расстройство
0.274	0.257	Отказ органов

Таблица 5 - Биологическая активность соединения 3 (данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.938	0.004	Антиишемический, церебральный
0.544	0.113	Антиишемический
0.502	0.107	Ингибитор фосфатазы
0.421	0.049	Антагонист белка теплового шока 27
0,145	0,078	Стимулятор гуанилатциклазы 1

Таблица 6 - Биологическая активность соединения 3 (токсикологические эффекты, данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.215	0.206	Ортостатическая гипотензия

Таблица 7 - Биологическая активность соединения 4 (данные PASSonline).

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.892	0.005	Антиишемический, церебральный
0.756	0.009	Противодискинетический
0.711	0.042	Противоэземный
0.517	0.032	Противоконвультивный
0.285	0.060	Антиишемический
0.370	0.098	Антагонист белка теплового шока 27
0.075	0.016	Ингибитор дигидрооротатдегидрогеназы
0.170	0.039	Стимулятор гуанилатциклазы 1

Таблица 8 - Биологическая активность соединения 4 (токсикологические эффекты, данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.672	0.061	Синдром Свита
0.635	0.043	Внутреннее кровотечение
0.605	0.059	Отказ органов
0.636	0.135	Судороги

Таблица 9 - Биологическая активность соединения 5 (данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.960	0.004	Антиишемический, церебральный
0.451	0.016	Антиишемический
0.544	0.113	Противоэземный
0.169	0.039	Стимулятор гуанилатциклазы 1

Таблица 10 - Биологическая активность соединения 5 (токсикологические эффекты, данные PASSonline)

Вероятность проявления	Вероятность не проявления	Возможный биологический эффект
0.517	0.057	Ортостатическая гипотензия
0.522	0.119	Синдром Свита
0.384	0.153	Внутреннее кровотечение
0.319	0.213	Отказ органов
0.272	0.267	Гипотония