

**RĪGAS TEHNISKĀ UNIVERSITĀTE**  
**Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultāte**  
Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūts  
Bioloģiski aktīvo savienojumu ķīmijas tehnoloģijas katedra

**RIGA TECHNICAL UNIVERSITY**  
**Faculty of Material Science and Applied Chemistry**  
Institute of Technology of Organic Chemistry  
Department of Chemical Technology of Biologically Active Compounds

**Inese MIERIŅA**  
Ķīmijas doktora programmas studente  
Student of doctoral studies program “Chemistry”

**DABĪGO ANTIOKSIDANTU MEKLĒJUMI  
UN TO ANALOGU SINTĒZE**

**Promocijas darba kopsavilkums**

**STUDIES OF NATURAL ANTIOXIDANTS  
AND SYNTHESIS OF THEIR ANALOGUES**

**Summary of Doctoral Thesis**

Zinātniskā vadītāja  
Supervisor  
*Dr. chem.*, prof.  
M.JURE

Rīga – 2014

Mieriņa I. Dabīgo antioksidantu meklējumi un to analogu sintēze. Promocijas darba kopsavilkums.- R.: RTU Izdevniecība, 2014. - 56 lpp.

Iespiests saskaņā ar RTU P-01 2014. gada 2.oktobra lēmumu, protokols Nr. 9.



Šis darbs izstrādāts ar Eiropas Sociālā fonda atbalstu projektā «Atbalsts RTU doktora studiju īstenošanai».

This work has been supported by the European Social Fund within the project «Support for the implementation of doctoral studies at Riga Technical University».

ISBN 978-9934-10-621-7

**PROMOCIJAS DARBS**  
**IZVIRZĪTS ĶĪMIJAS DOKTORA GRĀDA IEGŪŠANAI**  
**RĪGAS TEHNISKAJĀ UNIVERSITĀTĒ**

Promocijas darbs ķīmijas doktora grāda iegūšanai tiek publiski aizstāvēts 2014. gada 18. decembrī plkst. 14:00 Rīgas Tehniskās universitātes Materiālzinātnes un lietišķās ķīmijas fakultātē, Paula Valdena ielā 3, 272. auditorijā.

**OFICIĀLIE RECENZENTI**

*Dr. chem.*, profesore Svetlana Čornaja (Rīgas Tehniskā universitāte)

*Dr. habil. chem.*, profesors Gunārs Duburs (Latvijas Organiskās sintēzes institūts)

*Dr. chem.*, asociētā profesore Ida Jākobsone (Latvijas Universitāte)

**APSTIPRINĀJUMS**

Apstiprinu, ka esmu izstrādājusi doto promocijas darbu, kas iesniegts izskatīšanai Rīgas Tehniskajā universitātē ķīmijas doktora grāda iegūšanai. Promocijas darbs nav iesniegts nevienā citā universitātē zinātniskā grāda iegūšanai.

Inese Mieriņa .....  
(paraksts)

Datums .....

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā, satur ievadu, literatūras apskatu, rezultātu izvērtējumu, eksperimentālo daļu, secinājumus, literatūras sarakstu, 28 pielikumus, 30 shēmas un 56 attēlus, kopā 308 lappuses. Literatūras sarakstā ir 466 nosaukumi.

## SATURS / CONTENTS

|  |    |
|--|----|
| PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS .....                                  | 5  |
| Tēmas aktualitāte .....  | 5  |
| Pētījumu mērķis un uzdevumi .....  | 5  |
| Zinātniskā nozīmība un galvenie rezultāti .....                                | 6  |
| Darba struktūra un apjoms .....  | 6  |
| Darba aprobācija un publikācijas .....   | 7  |
| PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI .....                                      | 7  |
| 1. Augu materiālu ekstraktu antioksidantu īpašības .....                       | 7  |
| 2. Avenantramīdu analogu sintēze .....   | 8  |
| 2.1. <i>Kanēļskābju anilīdi</i> .....  | 8  |
| 2.2. <i>Dihidrokanēļskābju anilīdi</i> .....                                   | 10 |
| 2.3. <i>Kanēļskābju anilīdu heterocikliskie analogi</i> .....                  | 11 |
| 3. Sintezēto savienojumu antiradikāļu aktivitāte .....                         | 14 |
| 4. Sintezēto savienojumu antioksidantu aktivitāte .....                        | 19 |
| 5. Antiradikāļu un antioksidantu aktivitātes kvantu ķīmijas aprēķini .....     | 21 |
| SECINĀJUMI .....   | 23 |
| GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS .....   | 26 |
| Introduction .....   | 26 |
| Aims and objectives .....  | 26 |
| Scientific novelty and main results .....                                      | 27 |
| Structure and volume of the thesis .....                                       | 27 |
| Publications and approbation of the thesis .....                               | 28 |
| MAIN RESULTS OF THE THESIS .....   | 33 |
| 1. Antioxidant properties of the extracts of plant materials .....             | 33 |
| 2. Synthesis of the analogues of avenanthramides .....                         | 34 |
| 2.1. <i>Anilides of cinnamic acids</i> .....                                   | 34 |
| 2.2. <i>Anilides of dihydrocinnamic acids</i> .....                            | 36 |
| 2.3. <i>Heterocyclic analogues of anilides of cinnamic acids</i> .....         | 37 |
| 3. Antiradical activity of the synthesized compounds .....                     | 41 |
| 4. Antioxidant activity of the synthesized compounds .....                     | 46 |
| 5. Quantum chemical calculations of antiradical and antioxidant activity ..... | 48 |
| CONCLUSIONS .....  | 50 |
| LITERATŪRA / REFERENCES .....  | 53 |

# PROMOCIJAS DARBA VISPĀRĒJS RAKSTUROJUMS

## Tēmas aktualitāte

Jaunu antioksidantu, tostarp arī dabas antioksidantu, meklējumi pēdējos 5 gados kļuvuši īpaši aktuāli. Tas ir saistīts, pirmkārt, ar pārtikā, kosmētikā un medicīnā, kā arī tehnikā aizvien vairāk izmantojamo polinepiesātināto augu (rapšu, īpaši kaņepju) eļļu zemo oksidatīvo stabilitāti. Tradicionāli oksidatīvās stabilitātes problēmas risina eļļai pievienojot dažādus sintētiskos antioksidantus, tomēr mūsdienās šo savienojumu (piemēram, BHT un BHA) izmantošana pārtikā tiek arvien vairāk ierobežota vai pat aizliegta. Šo iemeslu dēļ visā pasaulē aktuāli ir jaunu dabīgo antioksidantu avotu meklējumi.

Bez tam, dabīgie antioksidanti (kā arī augu materiālu ekstrakti) un to sintētiskie analogi varētu izrādīties noderīgi dažādu oksidatīvā stresa izsauktu saslimšanu (piemēram, Parkinsona vai Alcheimera slimības) aizkavēšanā. Dabas antioksidanti plaši pētīti arī kā potenciāli pretvēža līdzekļi.<sup>1-4</sup> Nesen Nobela prēmijas laureāts J. Vatsons (*J. Watson*) izteicis viedokli, ka vēža šūnu nogalināšanai varētu izmantot anti-antioksidantus (t.i., prooksidantus).<sup>5</sup>

## Pētījumu mērķis un uzdevumi

Promocijas darba mērķis ir noskaidrot augu materiālu pielietojamību augu eļļu un to metilesteru oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai, kā arī izvērtēt struktūras modifikāciju ietekmi uz dabas antioksidantu avenantramīdu – antranilskābes kanēļskābes amīdu – antiradikāļu un antioksidantu aktivitāti.

Promocijas darba mērķa sasniegšanai izvirzīti sekojoši uzdevumi: 1) pagatavot Latvijas augu materiālu (auzu un miežu graudu, griķu un krūmcidoniju sēklu, upeņu sēklu, pumpuru un spiedpalieku, kā arī apiņu rogu) ekstraktus un noskaidrot to ietekmi uz augu eļļu (un to metilesteru) oksidatīvo stabilitāti; 2) sintezēt jaunus avenantramīdu analogus, kas ietver sevī gan nelielas struktūras izmaiņas (aizvietotāju maiņa kanēļskābes un anilīna atlikuma aromātiskajos gredzenos, stirilfragmenta dubultsaites aizstāšana ar vienkāršo saiti utml.), gan heterociklu (benzo[d][1,3]oksazīn-4-onu, hinazolīn-4-onu, hinolīn-2(1*H*)-onu, kumarīnu un 1,3-dioksān-4,6-dionu) konstrukciju modificējot kanēļskābes anilīda skeletu; 3) izpētīt sintezēto savienojumu antiradikāļu īpašības, izmantojot DPPH un GO testus; 4) izpētīt katras savienojumu klases aktīvāko pārstāvju pielietojamību augu eļļu un to metilesteru oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai; 5) izvērtēt struktūras-

antiradikāļu/antioksidantu aktivitātes kopsakarības un noteikt sintezēto antioksidantu darbības mehānismus.

### **Zinātniskā nozīmība un galvenie rezultāti**

Promocijas darba ietvaros krūmcidoniju sēklu ekstraktos konstatēti sēklās līdz šim neidentificēti savienojumi (hlorogēnskābe, sinapīnskābe un ellāgskābe), kā arī noskaidrots, ka krūmcidoniju sēklu eļļa ir vērtīgs  $\alpha$ - tokoferola avots. Pirmo reizi izvērtēta dažādu struktūras modifikāciju ietekme uz kanēļskābes anilīdu antiradikāļu un antioksidantu aktivitāti. Avenantramīdu analogu sintēzei izstrādāta rinda jaunu un optimizētas zināmās metodes. Izmantojot 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila un galvinoxila testus, izvērtēta visu sintezēto savienojumu antiradikāļu aktivitāte. Atrasts, ka vislabākos rezultātus uzrāda tie savienojumi, kas satur vanilīna vai sīringaldehīda fragmentu; antiradikāļu aktivitātes nodrošināšanai būtisks izrādījās arī 2-arilmetil-1,3-dikarbonilfragments. Noteikti sintezēto avenantramīdu analogu reakcijas mehānismi ar brīvo radikāli DPPH; pārbaudīta aktīvāko analogu pārstāvju antioksidantu aktivitāte augu eļļu un to metilesteru oksidatīvās stabilitātes nodrošināšanā. Izmantojot HF-3-21g metodi, veikts sintezēto savienojumu reaģētspējīgāko OH un CH saišu protonu tieksmes un saites disociācijas entalpijas salīdzinājums ar eksperimentāli noteikto antiradikāļu/antioksidantu aktivitāti. Atklāta jauna un efektīva antioksidantu klase – arilmetilmeldrumskābes. Promocijas darba rezultātā sintezēti jauni un iedarbīgi antioksidanti, ko var izmantot gan tehnikā, gan pārtikā un kosmētikā polinepiesātinātās taukskābes saturošo produktu oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai un kas varētu rast pielietojumu arī medicīnā.

### **Darba struktūra un apjoms**

Promocijas darbs ir uzrakstīts latviešu valodā un satur literatūras apskatu, rezultātu izvērtējuma un eksperimentālo daļu, kā arī pielikumus. Literatūras apskatā apkopota informācija par vienu no jaunākajiem un pēdējos gados plašāk pētītajiem antiradikāļu darbības mehānismiem - SPLET (secīga protona atdošana un elektrona pārnese); īsumā raksturoti arī citi zināmie mehānismi. Rezultātu izvērtējuma daļā apkopota informācija par augu materiālu ekstraktu pielietojamību augu eļļu un to metilesteru oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai, izklāstīta mērķsavienojumu sintēze, kā arī raksturota iegūto savienojumu antiradikāļu un antioksidantu aktivitāte un tās saistība ar savienojumu struktūru. Eksperimentālajā daļā doti izstrādāto sintēzes metožu un līdz šim literatūrā neaprašīto

vielu iegūšanas apraksti, kā arī jauno savienojumu spektroskopiskais raksturojums un antiradikāļu/antioksidantu testu metodika.

### **Darba aprobācija un publikācijas**

Promocijas darba rezultāti apkopoti 12 pilna teksta publikācijās (žurnālu rakstos, kā arī pilna teksta konferenču tēzēs), 1 patenta pieteikumā un 33 starptautisku konferenču tēzēs; par promocijas darba tēmu iesniegšanai sagatavoti vēl 4 publikāciju manuskripti (skat. 28. lpp.).

## **PROMOCIJAS DARBA GALVENIE REZULTĀTI**

### **1. Augu materiālu ekstraktu antioksidantu īpašības**

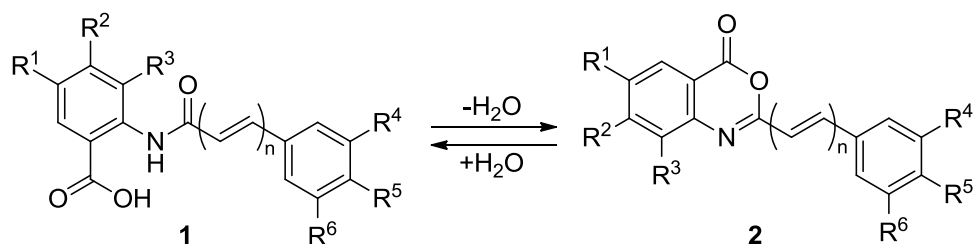
Promocijas darba ietvaros esam izpētījuši dažādu Latvijas augu materiālu (auzu graudu<sup>6,7</sup> un kliju,<sup>8,9</sup> miežu graudu,<sup>10,11</sup> griķu<sup>12</sup> un krūmčidoniju sēklu,<sup>13-17</sup> upeņu sēklu, pumpuru un spiedpalieku,<sup>18-20</sup> kā arī apiņu rogu<sup>21</sup>) ekstraktu izmantošanas iespējas augu eļļu (un to metilesteru) oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai. Caurmērā to izdevās palielināt līdz 1.3-1.5 reizēm; tomēr ekstrakta antioksidatīvā darbība ir ļoti atkarīga no pievienotā piedevas daudzuma (novērojams antioksidantu-prooksidantu efekts). Vislabākos rezultātus ieguvām kā antioksidantu avotu izmantojot auzu graudus – kaņepju un rapšu eļļas ekstraktiem (pagatavoti ekstrahējot, attiecīgi, 5 wt% un 50 wt% auzu graudu ar eļļu) piemita vismaz 3 reizes augstāka oksidatīvā stabilitāte nekā eļļai bez piedevas.<sup>6,7</sup> Arī auzu klijas (kas ir pārtikas rūpniecības atkritumprodukts) ir vērtīgs antioksidantu avots, taču ievērojami mazāk efektīvs kā auzu graudi – 5 wt% auzu kliju piedeva uzlaboja kaņepju eļļas oksidatīvo stabilitāti 1.3-1.5 reizes (atkarībā no ekstrakcijas laika).<sup>8,9</sup> Augu eļļu oksidatīvās stabilitātes uzlabošanai apiņu rogas izrādījās nederīgas.<sup>21</sup> No praktiskās pielietojamības viedokļa sevišķi pievilcīga ir ekstrakcija ar augu eļļu, jo procesā netiek izmantoti organiskie šķīdinātāji un iegūtie ekstrakti ir „gatavi lietošanai”; šādi ekstrakti ir jo īpaši vērtīgi pārtikas un kosmētikas produktu stabilizēšanai.

Tā kā krūmčidoniju sēklas, kas arī ir pārtikas rūpniecības atkritumprodukts, ir maz pētīts augu materiāls, pievērsāmies arī to ekstraktu kompozīcijas noskaidrošanai: 80% etanola ekstraktā un sārma hidrolizātā pirmo reizi konstatējām hlorogēnskābi, bet acetona un 80% etanola ekstraktā, kā arī skābes un sārma hidrolizātā - sinapīnskābi un ellāgskābi.<sup>14</sup> Krūmčidoniju sēklu eļļas antioksidantu īpašības<sup>13</sup> nodrošina arī tokoferola klātbūtne – 100 g eļļas satur 86 mg  $\alpha$ -tokoferola, kas ir vairāk kā miežu eļļā, bet sēklas satur pat līdz 10 reizēm vairāk  $\alpha$ -tokoferola (gandrīz 110 mg/kg sēklu) nekā miežu graudi.<sup>14</sup>

## 2. Avenantramīdu analoģu sintēze

Lai noteiktu konkrētu antioksidantu darbības mehānismus reakcijās ar brīvajiem radikāļiem un noskaidrotu savienojumu struktūras un antiradikāļu/antioksidantu aktivitātes kopsakarības, pievērsāmies maz pētīto auzu antioksidantu avenantramīdu analoģu sintēzei.

Avenantramīdi **1** (1.shēma) un to dehidratētie cikliskie analoģi avenulamīni **2** ir unikāli, auzām (*Avenus sativa* L.) raksturīgi alkaloidi,<sup>22</sup> kas uzrāda plaša spektra bioloģisko aktivitāti, tai skaitā antioksidantu un antiradikāļu īpašības.<sup>23</sup>



**1.shēma.** Avenantramīdu **1** un avenulamīnu **2** savstarpējā konversija.

No medicīnā izmantojamajiem avenantramīdu analoģiem plašāk pazīstams ir *Tranilast* jeb *Rizaben* (**1**,  $R^1-R^4 = H$ ;  $R^5 = R^6 = OMe$ ;  $n = 1$ ),<sup>24</sup> ko lieto kā pretalerģisku līdzekli bronhiālās astmas, rinīta un atopiskā dermatīta ārstēšanai.

Par avenantramīdu struktūras modifikāciju ietekmi uz to antiradikāļu/antioksidantu aktivitāti literatūrā ir maz informācijas. Promocijas darbam nepieciešamos avenantramīdu analoģus ieguvām optimizējot jau zināmās vai izstrādājot jaunas sintēzes metodes.

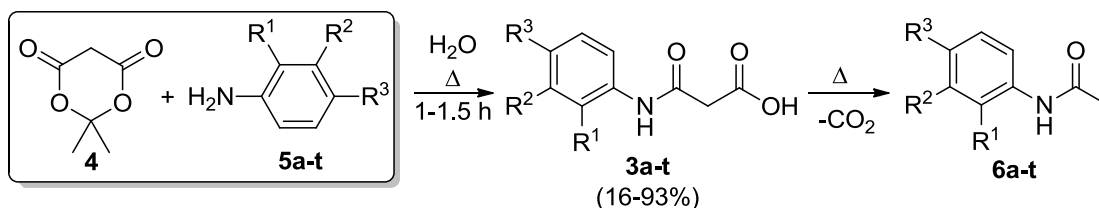
### 2.1. Kanēļskābju anilīdi

Izvērtējot literatūrā piedāvātās metodes, kanēļskābju anilīdu sintēzei izvēlējāmies malonskābes monoanilīdu un aromātisko aldehīdu Knēvenāģela kondensāciju. Malonskābes monoanilīdu **3** sintēzei izmantojām reti lietotu metodi – mel drumskābes (**4**) šķelšanu ar aromātiskajiem amīniem **5**. Veicot reakciju pēc zināmas<sup>25</sup> metodes, proti, toluolā tā viršanas temperatūrā, pretstatā literatūrā rakstītajam, reakcijas produktu maisījumā bieži konstatējām malonskābes monoanilīdu **3** dekarboksilēšanās produktus **6** – elektrondonoras grupas saturošu aromātisko amīnu gadījumā tie bija galvenie produkti (2.shēma).

Pārbaudījām virkni dažādu apstākļu: mainījām šķīdinātājus (toluols, acetonitrils, etilacetāts, 1,4-dioksāns, etanols, ūdens u.c.) un reakcijas temperatūru. Noskaidrojām,<sup>26-28</sup> ka vislabāk pārvērtību realizēt nepolāros šķīdinātājos relatīvi zemās temperatūrās (ap 70°C, lai gan tad reakcijas laiks ievērojami pieaug (līdz pat 9.5 h)), vai arī ūdenī tā viršanas temperatūrā. Pēdējā gadījumā aromātisko amīnu **5** konversija par savienojumiem **3** notika



ar ļoti labiem iznākumiem. Malonskābes monoanilīdu **3** attīrīšanai izmantojama secīga sārma un skābes apstrāde, jo pārkristalizējot notiek to dekarboksilēšanās.

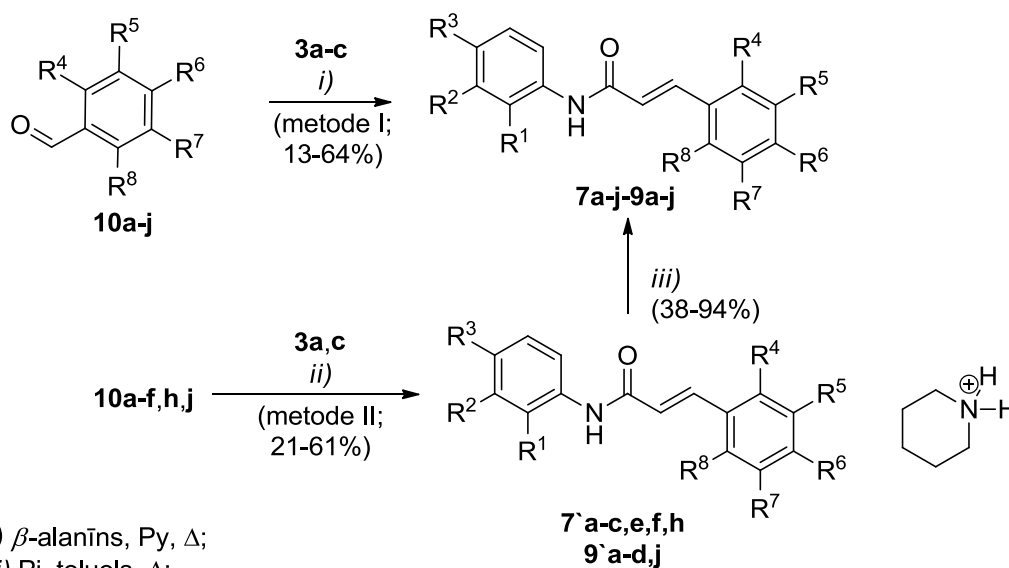


Aizvietotāji savienojumos **3**, **5**, **6**:

**a**  $R^1 = \text{COOH}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **b**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{COOH}$ ; **c**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COOH}$ ; **d**  $R^1 = \text{COOMe}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **e**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COOMe}$ ; **f**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{NO}_2$ ; **g**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{NO}_2$ ; **h**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{Ac}$ ; **i**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{Br}$ ; **j**  $R^1 = R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **k**  $R^1 = \text{OMe}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **l**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{OMe}$ ; **m**  $R^1 = \text{NH}_2$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **n**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{NH}_2$ ; **o**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{NH}_2$ ; **p**  $R^1 = \text{OH}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **q**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{OH}$ ; **r**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{OH}$ ; **s**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{C}_6\text{H}_4\text{-NH}_2(4)$ ; **t**  $R^1 = \text{COOH}$ ;  $R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{OH}$ .

**2.shēma.** Meldrumskābes (**4**) cikla šķelšana ar aromātiskajiem amīniem **5**.

Izmantojot kanēļskābju anilīdu **7-9** sintēzei literatūrā<sup>25</sup> aprakstītos Knēvenāgela reakcijas apstākļus, t.i., vārot izejvielas **3** un **10** piridīnā  $\beta$ -alanīna klātbūtnē (3.shēma, metode I), savienojumus **7-9** izdalījām ar zemiem iznākumiem.



i)  $\beta$ -alanīns, Py,  $\Delta$ ;

ii) Pi, toluols,  $\Delta$ ;

iii) 10% HCl šķīdums, RT

Aizvietotāji  $R^1$ - $R^3$  savienojumos **7-9**:

**7**  $R^1 = \text{COOH}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **8**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{COOH}$ ; **9**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COOH}$

Aizvietotāji  $R^1$ - $R^3$  savienojumos **7'**, **9'**: **7'**  $R^1 = \text{COO}^-$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **9'**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COO}^-$

Aizvietotāji  $R^4$ - $R^8$  savienojumos **7-10**, **7'** un **9'**:

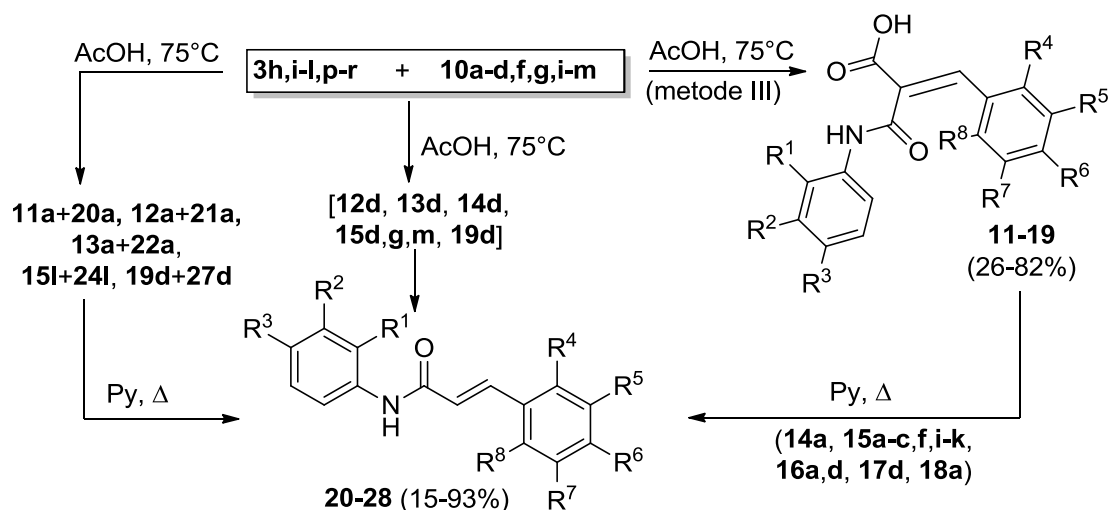
**a**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OMe}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **b**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OH}$ ,  $R^6 = \text{OMe}$ ; **c**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **d**  $R^4 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = R^7 = \text{OMe}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **e**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OAm}$ ; **f**  $R^4 = R^6 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OH}$ ; **g**  $R^4 = R^6 = \text{OMe}$ ,  $R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ; **h**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{NMe}_2$ ; **i**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = R^6 = \text{OMe}$ ; **j**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OMe}$

**3.shēma.** *N*-Cinnamoylaminobenzosulfonāžu **7-9** sintēze.

Kontrolējot vanilīna **10a** un malonskābes monoanilīda **3b** reakcijas norisi ar  $^1\text{H}$  KMR spektru palīdzību, konstatējām, ka notiek izejvielas **3b** dekarboksilēšanās – jau pēc

~15 min tā bija pārvērtusies par savienojumu **6** un reakcijas maisījumā kanēļskābes anilīds **8a** bija tikai ap 20%. Ekvimolāra daudzuma piperidīna lietošana (metode II) vajadzīgo produktu iznākumu neuzlaboja: ar zemu vai vidēju iznākumu izdalījām piperidīnija sāļus **7** un **9**, no kuriem, apstrādājot ar sāļsskābi, ieguvām kanēļskābju anilīdus **7** un **9**.<sup>29-34</sup>

Vēl grūtāk noritēja aromātiskajā gredzenā elektrondonoras grupas saturošo malonskābes monoanilīdu **3** kondensācija ar aromātiskajiem aldehīdiem **10**. Optimizējot procesu konstatējām, ka vislabāk reakciju veikt etiķskābē, sildot 75°C (4.shēma). Parasti šajos apstākļos izdalījām (*E*)-2-arilidēnmalonskābes monoanilīdus **11-19** (dubultsaites ģeometrija pierādīta ar NOESY spektru un rentgenstruktūranalīzes palīdzību), kurus dekarboksilējām vārot piperidīnā (līdz šim līdzīgi savienojumi ir dekarboksilēti tikai karsējot tos kušanas temperatūrā<sup>35</sup>); attiecīgie kanēļskābju anilīdi **20-28** veidojās stereoselektīvi – ieguvām tikai *E*-izomērus.<sup>36,37</sup>



Aizvietotāji R<sup>4</sup>-R<sup>8</sup> aldehīda **10** atlikumā: **k** R<sup>4</sup> = R<sup>6</sup> = R<sup>7</sup> = R<sup>8</sup> = H, R<sup>5</sup> = Br; **l** R<sup>4</sup> = R<sup>5</sup> = R<sup>7</sup> = R<sup>8</sup> = H, R<sup>6</sup> = NO<sub>2</sub>; **m** R<sup>4</sup> = R<sup>6</sup> = R<sup>8</sup> = OMe, R<sup>5</sup> = R<sup>7</sup> = H

Aizvietotāji R<sup>1</sup>-R<sup>3</sup> savienojumos **11-28**: **11, 20** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = Ac; **12, 21** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = Br; **13, 22** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = H; **14, 23** R<sup>1</sup> = OMe, R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = H; **15, 24** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = OMe; **16, 25** R<sup>1</sup> = OH, R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = H; **17, 26** R<sup>1</sup> = R<sup>3</sup> = H, R<sup>2</sup> = OH; **18, 27** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> = OH;

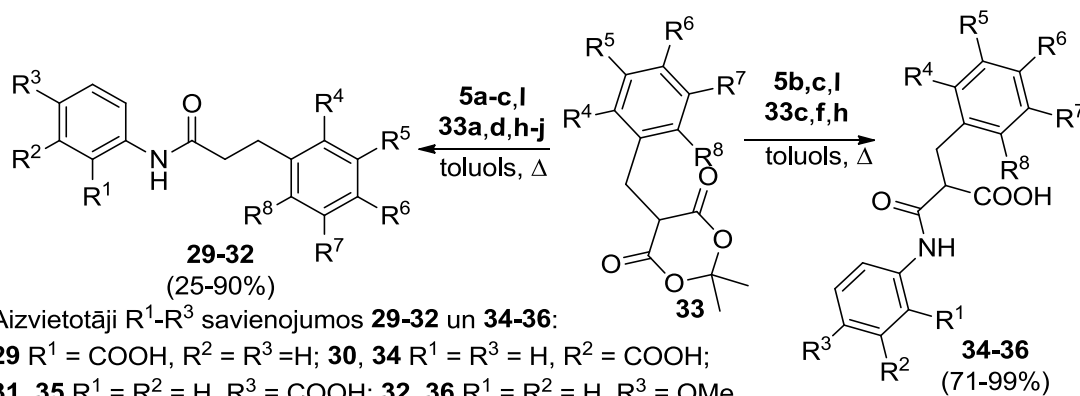
**19, 28** R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = H, R<sup>3</sup> =

**4.shēma.** 2-Arilidēnmalonskābes monoanilīdu **11-19** un kanēļskābes anilīdu **20-28** sintēze.

## 2.2. Dihidrokanēļskābju anilīdi

Struktūras-aktivitātes kopsakarību pētījumiem nepieciešamos dihidrokanēļskābju anilīdus **29-32** ieguvām pēc šo savienojumu rindā neizmantotas sintēzes metodes, šķeļot arilmetilmeldrumskābes **33** ar aromātiskajiem amīniem **5**; sintēzi veicām vārot reaģentus

toluolā. Dažos gadījumos izdalījām arī 2-arilmethylmalonskābju monoanilīdus **34-36** (5.shēma).<sup>29-31,38</sup>



**5.shēma.** Dihidrokanēļskābju anilīdu **29-32** un 2-arilmethylmalonskābju monoanilīdu **34-36** sintēze.

### 2.3. Kanēļskābju anilīdu heterocikliskie analogi

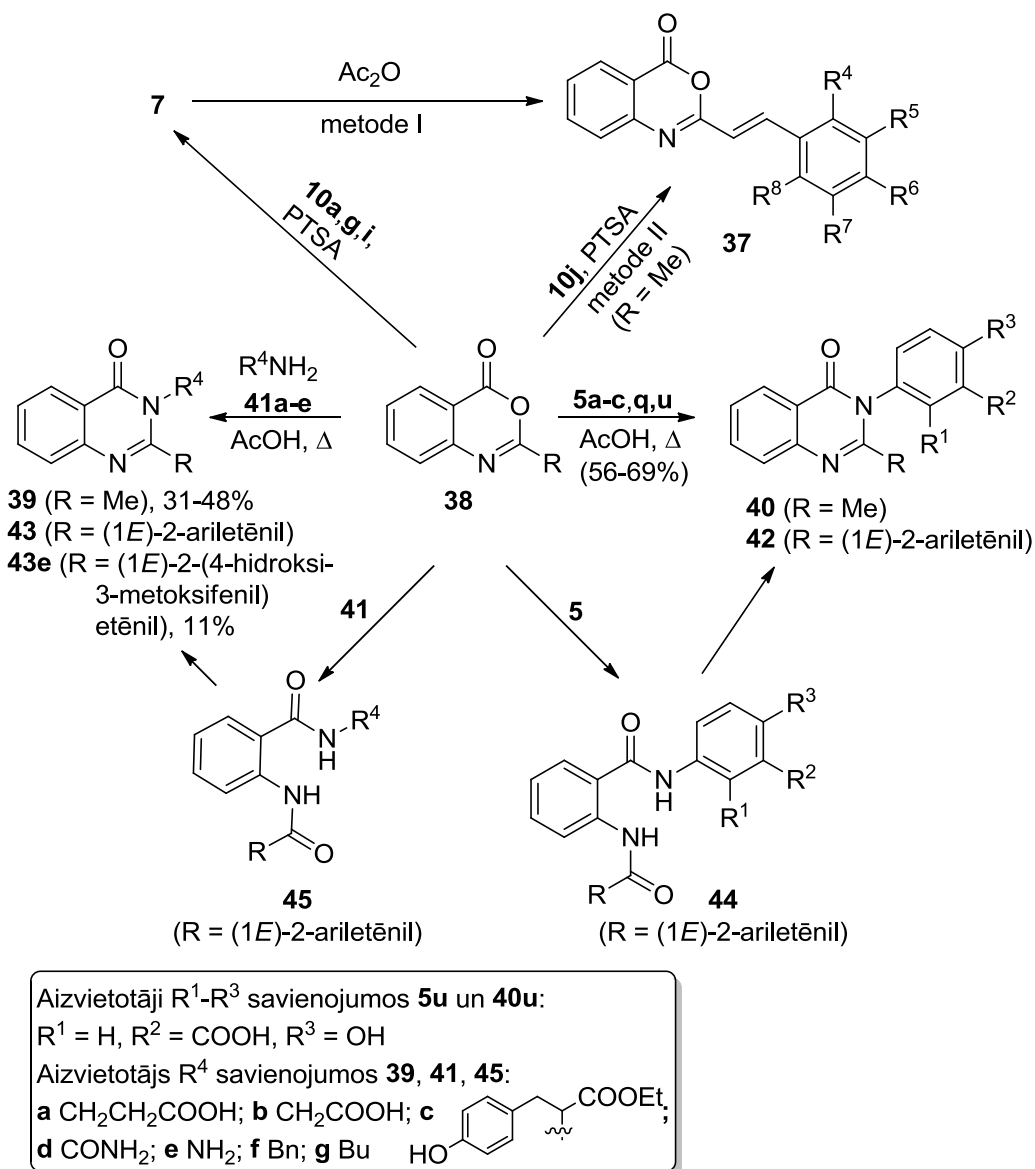
Uz kanēļskābju anilīdu bāzes sintezējām virkni dažādu heterociklu – avenulamīnus, to *aza*-analogus 2-stirilhinazolīn-4(3*H*)-onus, kā arī 4-aril-3,4-dihidrohīnolīn-2(1*H*)-onus, 3-arilmethyl-4-hidroksihīnolīn-2(1*H*)-onus un kumarīna atvasinājumus.

Benzo[1,3][d]oksazīn-4-onus **37** ieguvām kanēļskābju anilīdu **7** ciklizācijā (6.shēma, metode I) vai no 2-methylbenzo[1,3][d]oksazīnona (**38**) un aromātiskā aldehīda **10j** vārot toluolā PTSA klātbūtnē (metode II). 2-Methylhinazolīn-4-onus **39** un **40** sintezējām no benzoksazīnona **38** un amīniem **41** vai **5**. Ja benzoksazīn-4-ons 2.-pozīcijā saturēja stirilgrupu, reakcijā ar aromātiskajiem un alifātiskiem amīniem (attiecīgi, **5** un **41**) ieguvām hinazolīn-4-onu (**42** vai **43**) un diamīdu (**44** vai **45**) maisījumu, vienīgi ar hidrazīna hidrātu selektīvi veidojās hinazolīnons **43e**.<sup>39</sup>

Izstrādājām divstadiju metodes hinazolīn-4-onu **43** un **42** sintēzei no 2-stirilbenzo[d][1,3]oksazīn-4-oniem **38** ( $R = (1E)$ -2-feniletēnil-), kas ietver diamīdu **45** un **44** iegūšanu un sekojošu to ciklizāciju. Ar alifātiskajiem amīniem **41** savienojuma **38** ( $R = (1E)$ -2-feniletēnil-) reakcijas norit viegli vārot piridīnā etanola klātbūtnē (1 ekv.), kā arī glicerīnā 77°C (abos gadījumos savienojuma **45** iznākums ~90%), bet ar aromātiskajiem amīniem **5** reakcijas notiek grūtāk un dod diamīdu **44** un hinazolīnonu **42** maisījumu, it īpaši EDG saturošo arilamīnu gadījumā – visaugstāko savienojuma **44** iznākumu (līdz 67%) ieguvām<sup>40</sup> vārot reaģentus *o*-ksilolā vai toluolā.

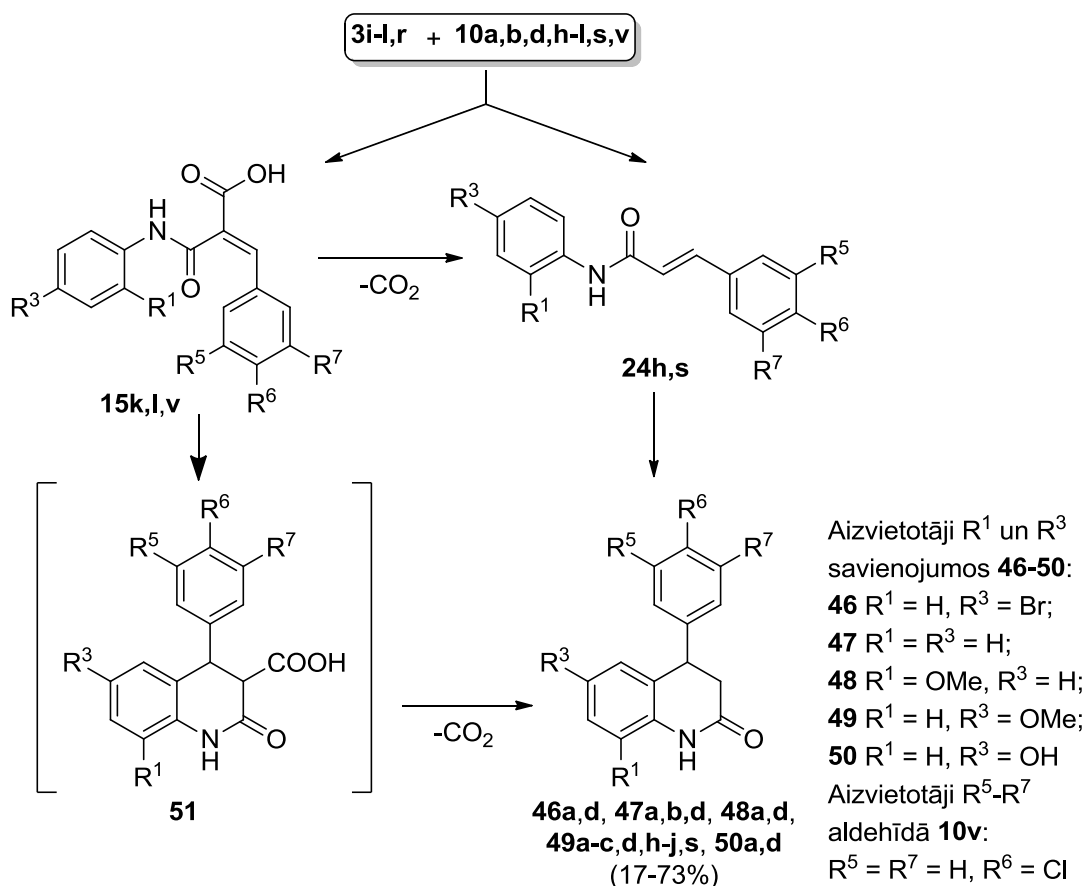
Optimālie apstākļi *N*-benzil- un *N*-fenil-2-(cinnamoilamino)benzamīdu **45** un **44** iekšmolekulārai ciklizācijai ir atšķirīgi: pirmajā gadījumā piemērotāka izrādījās nātrija

metilāta katalizēta reakcija, bet otrajā – joda (kā Luisa skābes) katalizēta sililēšana ar sekojošu deoksisililēšanu.<sup>40</sup>



### 6.shēma. Benzoksazīn-4-onu un hinazolīn-4-onu sintēze.

Kanēļskābju anilīdu iekšmolekulārās ciklizācijas produktu 4-aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1H)-onu **46-50** ieguvei izstrādājām jaunu *one pot* sintēzes metodi – vārot malonskābes monoanilīdus **3** ar aromātiskajiem aldehīdiem **10** trifluoretiķskābē (7.shēma) secīgi realizējām Knēvenāgela kondensāciju, dekarboksilēšanos un Frīdela-Kraftsa tipa iekšmolekulāro ciklizāciju. Noskaidrojām aizvietotāju ietekmi uz reakcijas norisi; EAG saturošo aromātisko aldehīdu **10** gadījumā ieguvām tikai Knēvenāgela kondensācijas produktus **15**.<sup>41-44</sup>



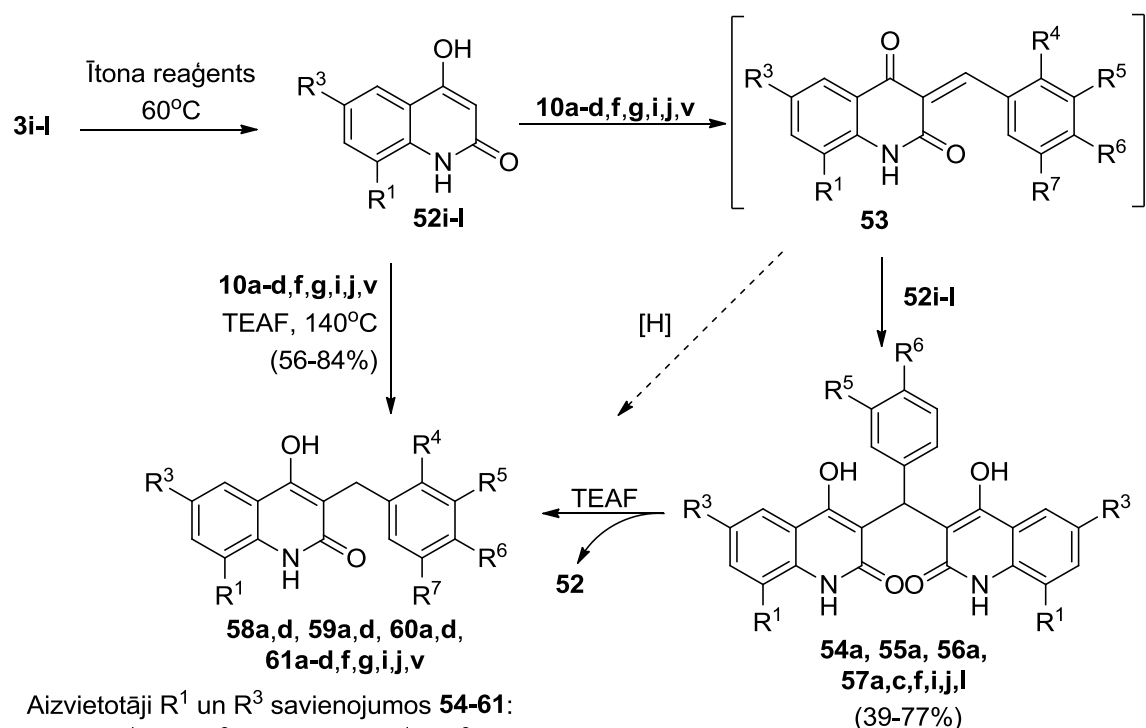
**7.shēma.** 4-Aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1H)-onu **46-50** sintēze.

Salīdzinot ar zināmajām 4-aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1H)-onu sintēzes metodēm, mūsu piedāvātais ceļš ir ekonomiskāks un ļauj izvairīties no aizsarggrupu lietošanas gadījumos, kad jāiegūst vienā vai abos aromātiskajos ciklos hidroksilgrupas saturošus savienojumus.

Tā kā mēģinājumi iegūt no 4-hidroksihinolīn-2(1H)-oniem **52** arilidēnatvasinājumus **53** beidzās nesekmīgi (to vietā izdalījām *bis*-hinolīn-2(1H)-onus **54-57**), 3-arilmetil-4-hidroksihinolīn-2(1H)-onu **58-61** sintēzei izstrādājām jaunu metodi – tandēmu 4-hidroksihinolīn-2(1H)-onu **52** un aromātisko aldehīdu **10** Knēvenāgela kondensāciju un hidroģenēšanu trietilamonija formiātā (8.shēma). Nodemonstrējām reakcijas pielietojamību 3-alkil-, 3-(3-hetarilalil)- un 3-(3-arilalil)-4-hidroksihinolīn-2(1H)-onu, kā arī citu ciklisko 2-arilmetil-1,3-dikarbonilsavienojumu sintēzē. Atklājām, ka arī *bis*-hinolīn-2(1H)-onu **54-57** apstrāde ar trietilamonija formiātu dod hinolīnonus **58-61**.

Antiradikāļu testos izmantotos kumarīna atvasinājumus (1.att.) sintezējām analogiski zināmām metodēm. Kumarīn-3-karbonskābju anilīdus **62** ieguvām no kumarīn-3-karbonskābēm un aromātiskajiem amīniem, kā arī no malonskābes di- vai monoanilīdiem un 2-hidroksibenzaldehīdiem. 4-Hidroksikumarīnu kondensācija ar aromātiskajiem

aldehīdiem piridīnā deva *bis*-kumarīnus (piemēram, **63**), bet trietilamonija formiātā – 3-arilmetil-4-hidroksikumarīnus **64**.

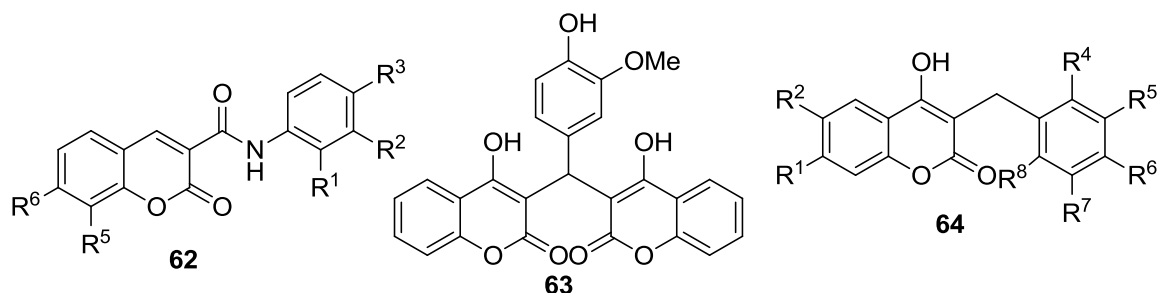


Aizvietotāji R<sup>1</sup> un R<sup>3</sup> savienojumos **54-61**:

**54, 58** R<sup>1</sup> = H; R<sup>3</sup> = Br; **55, 59** R<sup>1</sup> = R<sup>3</sup> = H;

**56, 60** R<sup>1</sup> = OMe; R<sup>3</sup> = H; **57, 61** R<sup>1</sup> = H, R<sup>3</sup> = OMe

**8.shēma.** 3-Arilmetil-4-hidroksihinolīn-2(1*H*)-onu **54-57** sintēze.

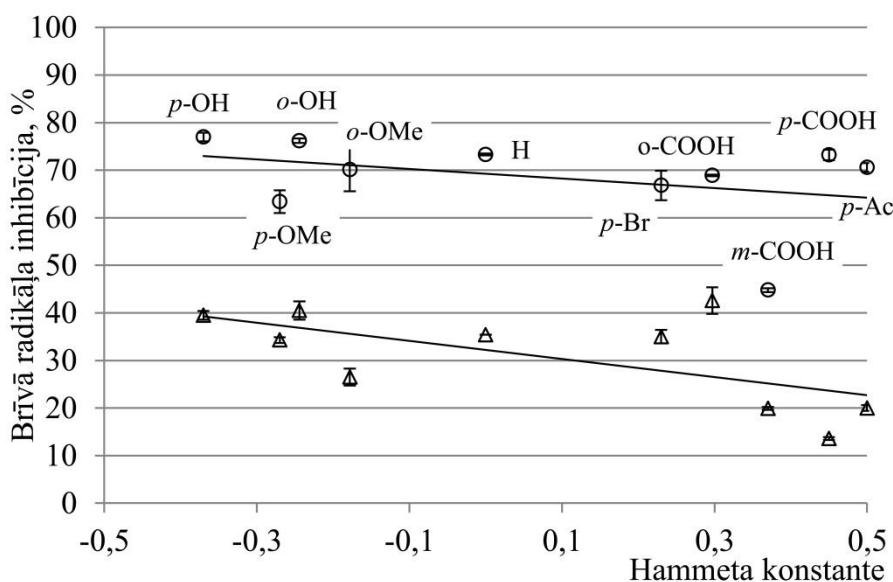


**1.att.** Kumarīna rindas avenantramīdu analogi.

### 3. Sintezēto savienojumu antiradikāļu aktivitāte

Visu sintezēto savienojumu antiradikāļu aktivitāti (AA) pārbaudījām izmantojot 1,1-difenil-2-pikrilhidrazila (DPPH) un galvinoxila (GO) testus.<sup>45</sup> AA noteicām brīdī, kad reakcija bija saniegunsi līdzsvara stāvokli. DPPH gadījumā reakcijas notika ļoti strauji, tāpēc visos gadījumos testa ilgums bija vienāds – 30 min, bet GO reakcijas ātrums ar dažādām savienojumu grupām atšķīrās. Visu savienojumu AA raksturojām ar spēju inhibēt brīvo radikāli (pārbaudāmā savienojuma un radikāļa molu attiecība bija 1:1) un IC<sub>50</sub> – koncentrāciju, kas inhibē 50% no brīvā radikāļa (radikāļa koncentrācija šķīdumā 100 μM).

Analizējot *N*-cinnamoilaminobenzoskābju **7-9** antiradikāļu īpašības, noskaidrojām, ka labu vai izcilu antiradikāļu aktivitāti uzrāda tikai ferulskābes vai sinapīnskābes anilīdi. Ferulskābes anilīdu **7a-9a** DPPH inhibīcija bija 70-73%, bet GO inhibīcija – 13-42%; IC<sub>50</sub> vērtības, attiecīgi, bija 44-80 μM un 128-739 μM. Sinapīnskābes anilīdu **7d-9d** DPPH inhibīcija bija 96-99%, GO inhibīcija – 64-79%; IC<sub>50</sub> vērtības – 21-38 μM un 48-74 μM, attiecīgi. Citas *N*-cinnamoilaminobenzoskābes uzrādīja ļoti zemu spēju inhibēt brīvos radikāļus.<sup>29-31,33,34,46,47</sup> Arī *N*-cinnamoilaminobenzoskābju piperidīnija sāļu **7** un **9** aktivitātes vispārīgās tendences bija līdzīgas,<sup>46</sup> bet šie savienojumi ar DPPH reaģēja vēl ātrāk nekā attiecīgās *N*-cinnamoilaminobenzoskābes (piperidīnija sāls **7a** reakcija ar DPPH līdzsvaru sasniedza dažu sekunžu laikā, bet *N*-cinnamoilaminobenzoskābes **7a** – dažās minūtēs). Visticamāk, tas saistīts ar faktu, ka *N*-cinnamoilaminobenzoskābju **7-9** gadījumā reakcijas maisījumā atrodas mazāk fenolātjonu, kuru klātbūtne ir būtiska, lai savienojumi varētu reaģēt pēc SPLET mehānisma. Arī kanēļskābju anilīdu **20-28** (kas anilīna atlikumā nesaturēja karboksilgrupu) gadījumā labas vai ļoti labas antiradikāļu īpašības uzrādīja tikai ferulskābes vai sinapīnskābes anilīdi. Noskaidrojām, ka lai gan anilīna gredzena aizvietotājiem nav izšķiroša loma savienojumu AA nodrošināšanā, EDG tomēr nedaudz pastiprina kanēļskābju anilīdu antiradikāļu īpašības (2.att.).<sup>35,37</sup>



**2.att.** Sakarības starp ferulskābes anilīdu **7a-9a** un **20a-27a** spēju inhibēt brīvos radikāļus DPPH un GO un anilīna gredzena aizvietotāju Hammeta konstantēm. ○ – DPPH inhibīcija; Δ - GO inhibīcija. Dati ir attēloti kā vidējā vērtība ± standartnovirze.

Aizvietotāja ievadīšana pie kanēļskābju anilīdu akrilskābes fragmenta  $\alpha$ -oglekļa būtiski neietekmēja to antiradikāļu īpašības: 2-arilidēnmalonskābes monoanilīdi **11-19**, kas kanēļskābes atlikumā saturēja gvajakola vai sīringola fragmentu,<sup>35,37</sup> uzrādīja AA, lai gan

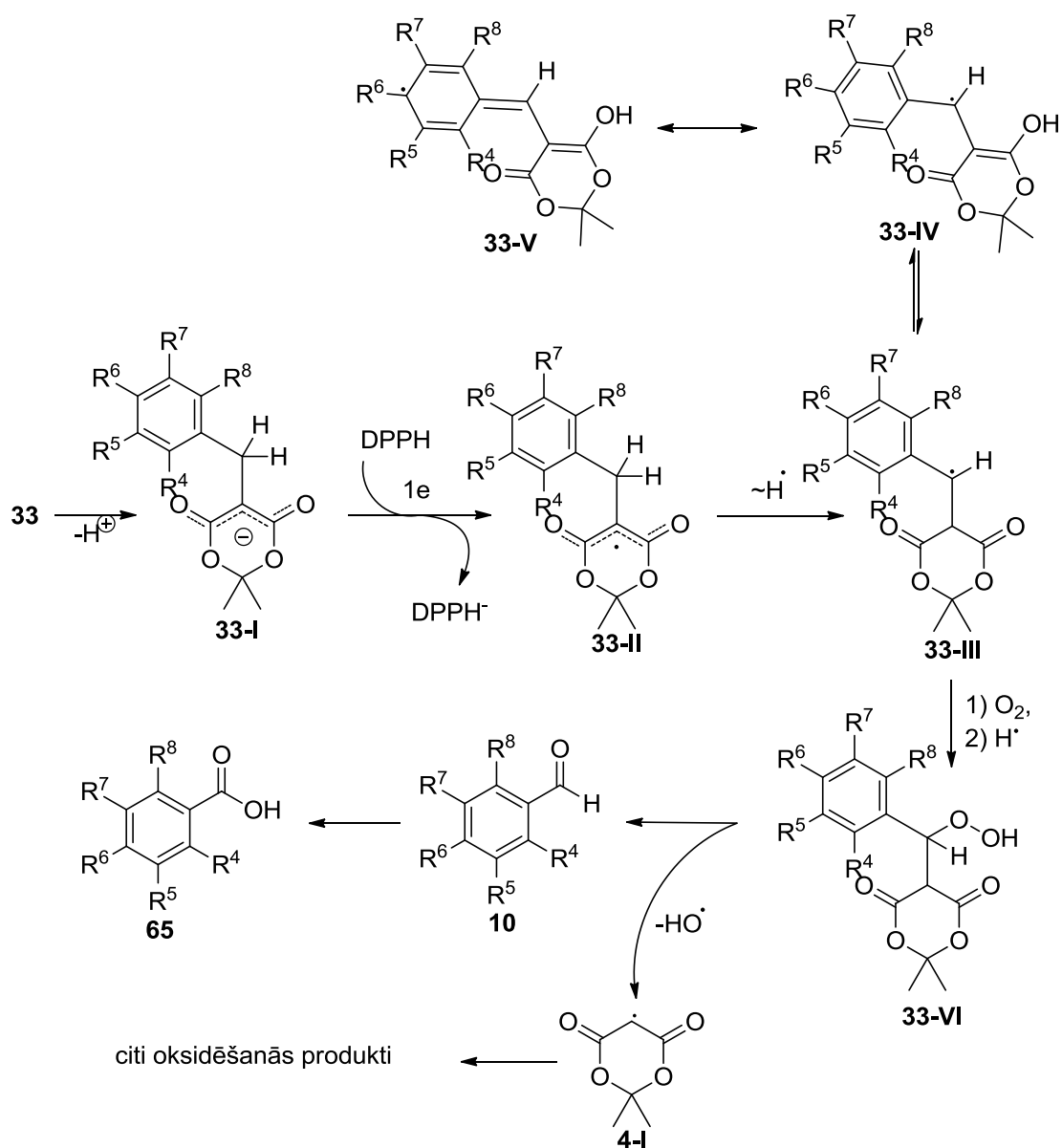
tā bija par ~20% zemāka nekā atbilstošajiem kanēļskābju anilīdiem; 2-arilidēnmalonskābes monoanilīdu **11d-19d**, kas saturēja sīringola fragmentu, IC<sub>50</sub> vērtības bija nedaudz mazākas nekā atbilstošajiem sinapinoilaniļiņiem **20d-28d**. Arī 2-arilidēnmalonskābes dianilīdi uzrāda līdzīgas vispārīgās AA tendences kā atbilstošie kanēļskābju anilīdi – no visiem sintezētajiem savienojumiem vidēja AA (attiecībā uz DPPH) piemita tikai savienojumam, kas kanēļskābes atlikumā saturēja gvajakola fragmentu. 2-Arilidēnmalonskābes monoanilīds **15a** bija mazāk aktīvs nekā dianilīds ar analogiskiem aizvietotajiem anilīna un kanēļskābes atlikumā.

Konstatējām, ka stirilfragmenta dubultsaitei nav izšķiroša nozīme kanēļskābju anilīdu AA nodrošināšanā – dihidroferulskābes un dihidrosinapīnskābes anilīdi **29a-32a** un **29d-32d**, attiecīgi, uzrāda līdzīgu vai pat augstāku AA nekā atbilstošie nepiesātinātie analogi.<sup>29-31,38</sup> Kanēļskābju anilīdu aktivitāti nodrošina izveidotā anjona vai radikāļa konjugācija visas molekulas garumā, kamēr dihidrokanēļskābju gadījumā nozīmīga loma ir benzilpozīcijas klātbūtnei.

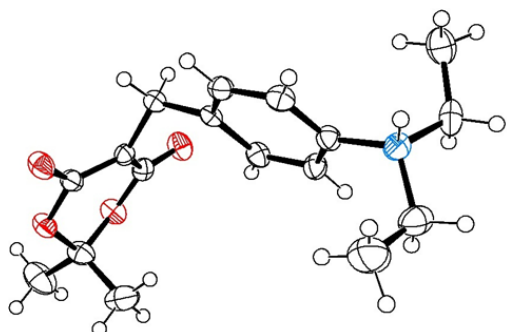
Tā kā daudzi 2-aizvietotie cikliskie 1,3-dikarbonilsavienojumi pazīstami kā antioksidanti, pārbaudījām arī arilmetilmeldrumskābju **33** antiradikāļu aktivitāti.<sup>48-52</sup> Atšķirībā no iepriekš aprakstītajiem savienojumiem, neatkarīgi no aizvietotajiem arilmetilmeldrumskābes **33** uzrādīja ļoti labu, vai pat izcilu reaģētspēju ar DPPH (DPPH inhibīcija 64-82%, GO inhibīcija – 0-82%). Visticamāk, ka savienojumu **33** aktivitāti nodrošina 2 (vai pat 3) reaģētspējīgu struktūras fragmentu – 1,3-dikarbonilfragmenta, benzilpozīcijas un fenola grupas – sinerģija. Visaugstāko aktivitāti uzrādīja arilmetilmeldrumskābes **33a,d,h,s**, kas satur gvajakola vai sīringola fragmentu, vai arī *p*-dialkilaminofenilgrupu. Izvērtējot dažādi aizvietotu meldrumskābju AA, noskaidrojām, ka meldrumskābes atvasinājumi polāros šķīdinātājos darbojas pēc SPLET mehānisma: pateicoties meldrumskābes cikla aciditātei veidojas anjons **33-I** (9.shēma); to apstiprināja fakts, ka diaizvietotās meldrumskābes nereaģē ar DPPH, bet fenil-, alkil-, alilmeldrumskābes un arī pati meldrumskābe reaģē.

SPLET mehānismu un anjona **33-I** veidošanos apstiprināja arī (4-dialkilaminofenil)metilmeldrumskābju **33h,s** paaugstinātā AA, salīdzinot ar citām meldrumskābēm (izņemot tās, kas saturēja gvajakola vai sīringola fragmentu): rentgenstruktūranalīze apliecināja, ka savienojums **33s** eksistē kā cviterjons (3.att.). Radikāļa **33-II** veidošanos apstiprināja izdalītais DPPH un arilmetilmeldrumskābes reakcijas produkts **66** (4.att.).

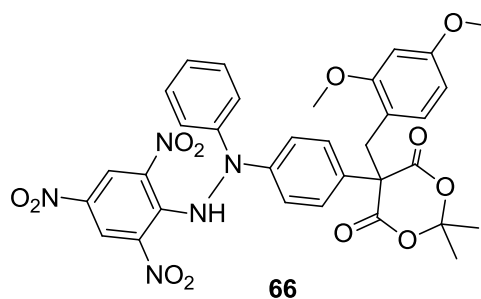




**9.shēma.** Arilmetilmeldrumskābju **33** reakciju mehānismi ar brīvajiem radikāļiem.



**3.att.** Savienojuma **33s** ORTEP diagramma.



**4.att.** DPPH un arilmetilmeldrumskābes **33o** reakcijas produkts **66**.

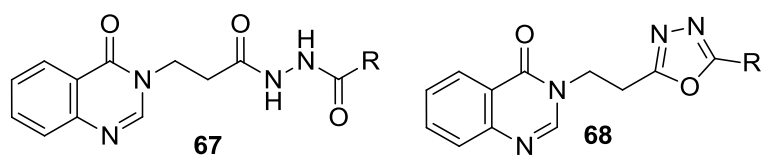
Arilmetilmeldrumskābes **33** izrādījās oksidatīvi nestabilas – gaisa klātbūtnē tās oksidējas veidojot aromātiskos aldehīdus **10** un benzoskābes **65**; iespējamais reakcijas

mehānisms ietver skābekļa pievienošanos pie benzilradikāļa **33-III** un homolītisku C-C saites šķelšanu, veidojot meldrumskābes radikāli **4-I** (9.shēma).

Salīdzinot ar arilmetilmeldrumskābēm, 3-arilmetil-4-hidroksihinolīn-2(1*H*)-onu **58-61** antiradikāļu aktivitāti benzola gredzena aizvietotāji ietekmēja ievērojami stiprāk. Izcilu AA (DPPH inhibīcija ~90%) uzrādīja vanilīna un sīringaldehīda atvasinājumi, bet citos gadījumos tā bija zema vai vidēja (parasti ap 30%).<sup>48</sup> Tādu pašu sakarību novērojām arī 3-arilmetil-4-hidroksikumarīnu **64** rindā;<sup>48</sup> *bis*-kumarīns **63** uzrādīja līdzīgu antiradikāļu aktivitāti (DPPH inhibīcija - 85%) kā 4-hidroksikumarīni, kas saturēja gvajakola fragmentu 3.-pozīcijā.

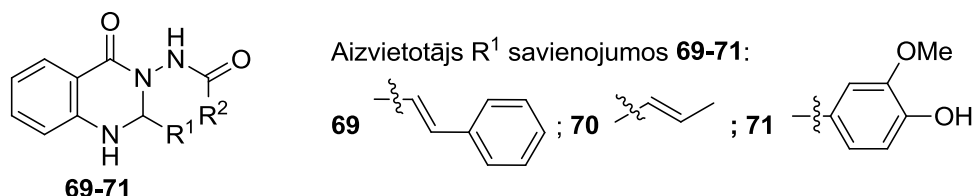
Kumarīn-3-karbonskābju anilīdu **62** AA stipri atkarīga no aizvietotājiem kumarīna aromātiskajā gredzenā – augstu aktivitāti uzrādīja tikai 7,8-dihidroksikumarīn-3-karbonskābes atvasinājumi.<sup>31</sup>

Līdzīgi kā kanēļskābju anilīdu gadījumā, arī benzo[d][1,3]oksazīn-4-onu **37** antiradikāļu īpašības nodrošina stirilgrupas benzola gredzena aizvietotāji: savienojumi, kas nesaturēja brīvas hidroksilgrupas kanēļskābes atlikumā, nebija aktīvi. Stirilgrupas klātbūtne 2.pozīcijā nepieciešama arī hinazolīn-4-onu aktivitātei – 2-metilhinazolīn-4-oni **39** un **40** neuzrādīja AA, bet 3-amino-2-[(1*E*)-2-(4-hidroksi-3-metoksifenil)etēnil]hinazolīn-4-ons (**43e**) ļoti labi inhibēja DPPH.<sup>39</sup> Arī 2-neaizvietotie hinazolīn-4-oni **67** un **68** (5.att.) izrādījās mazaktīvi; zināma loma savienojumu **67** AA nodrošināšanā ir hidrazīda fragmentam – tā aizstāšana ar oksadiazola ciklu (savienojumi **68**) samazināja aktivitāti.<sup>53</sup>



**5.att.** 3-Aizvietotie hinazolīn-4-oni **67** un **68**.

Daļēji hydrogenētie hinazolīn-4-oni **69-71** (6.att.) neizrādīja nekādu aktivitāti; neliela AA piemita vienīgi savienojumiem **71**, kas heterocikla 2.-pozīcijā saturēja vanilīna atlikumu.<sup>54</sup>

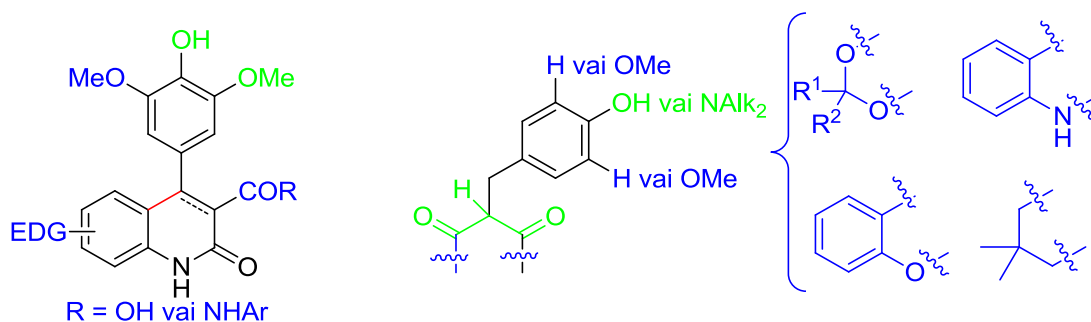


**6.att.** 3-Acilamino-2,3-dihydrohinazolīn-4(1*H*)-oni **69-71**.

Iekšmolekulāra kanēļskābju anilīdu ciklizācija pazemina to AA: 4-aril-3,4-dihidrohinalolīn-2(1*H*)-oniem **46-50** piemita vismaz par 20% zemāka spēja inhibēt brīvos

radikāļus nekā atbilstošajiem to acikliskajiem analogiem; augstu AA uzrādīja tikai sīringaldehīda atvasinājumi **46d-50d**.<sup>41,42,44</sup>

Izvērtējot veikto struktūras modifikāciju ietekmi uz kanēļskābju anilīdu AA, noskaidrojām, ka aktivitātei nepieciešamie elementi ir hidroksilgrupa benzola gredzena 4.-pozīcijā kanēļskābes atlikumā, bet *o*-stāvoklī pret to ir jābūt vismaz vienai metoksigrupai. Stirilfragmenta dubultsaiti var aizstāt ar vienkāršo saiti un pie akrilskābes fragmenta  $\alpha$ -oglekļa esošo ūdeņradi var aizstāt gan ar karboksilgrupu, gan ar arilaminokarbonilgrupu, taču kanēļskābju anilīdu iekšmolekulāra ciklizācija nav vēlama. Aizvietotāji anilīna atlikumā avenantramīdu analogu aktivitāti būtiski neietekmē, tomēr elektrondonoru grupu klātbūtne nedaudz paaugstina savienojumu aktivitāti. Arilmetilmeldrumskābes pieder pie 1,3-dikarbonilsavienojumu tipa antioksidantiem. Šajā gadījumā aizvietotāji benzola gredzenā nav izšķirošie, bet, lai palielinātu aktivitāti, vēlams: 1) vienā molekulā apvienot 1,3-dikarbonilsavienojuma un fenola tipa antioksidanta fragmentus; 2) benzola gredzena 4.-pozīcijā ievadīt dialkilaminogrupu. 1,3-Dioksān-4,6-diona ciklu var aizstāt ar citu ciklisku 1,3-dikarbonilsavienojumu pie nosacījuma, ka arilmetilaizvietotājs pie C2 starp abām karbonilgrupām ir vanilīna vai sīringaldehīda fragments (7.att.).

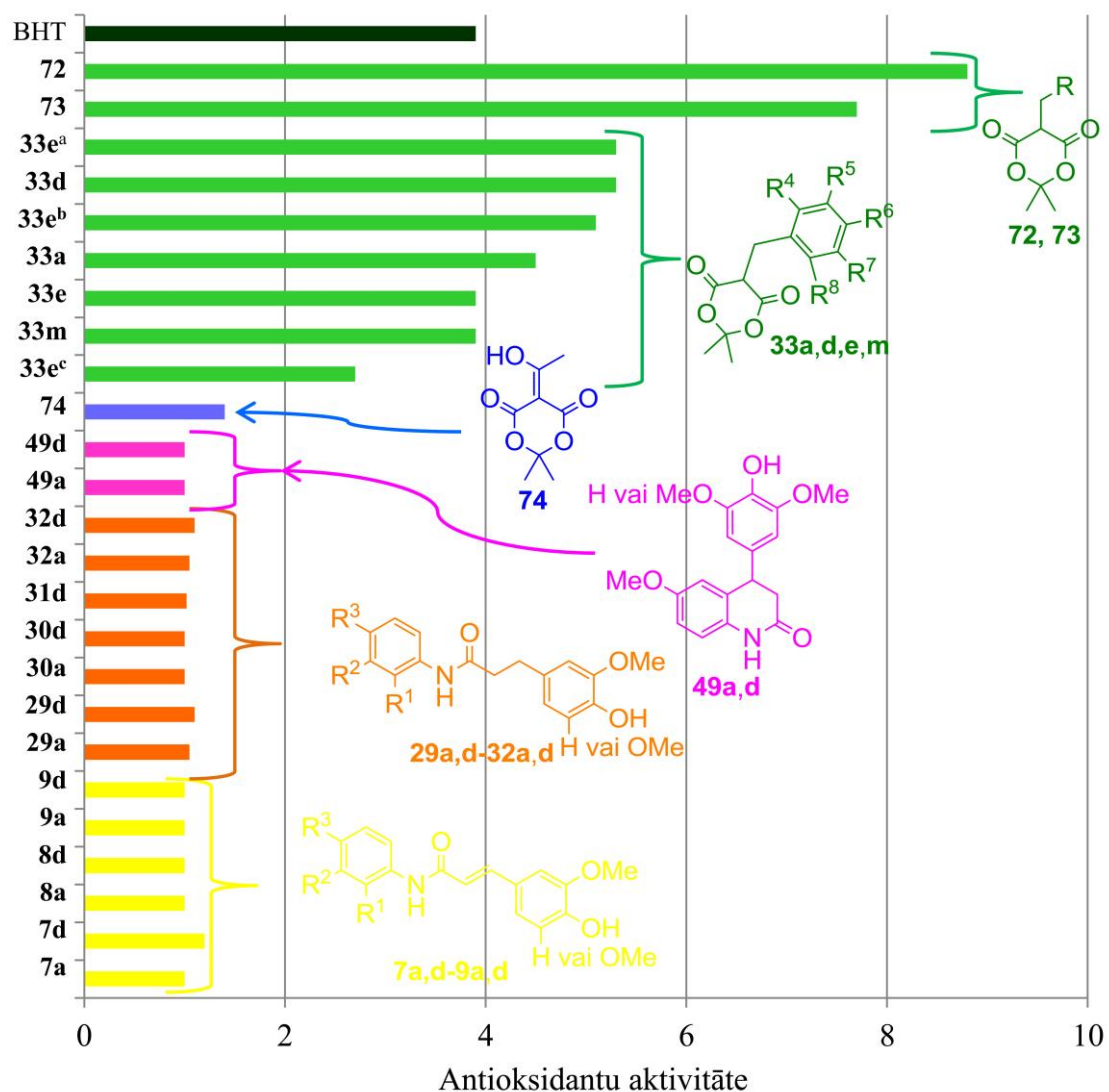


**7.att.** Antiradikāļu aktivitātes nodrošināšanai būtiskie struktūras fragmenti: ar zaļu atzīmēti elementi, kas paaugstina savienojumu AA, ar zilu - elementi, kuru izmaiņšana to ietekmē nedaudz, ar sarkanu - izmaiņas, kas pazemina savienojumu AA.

#### 4. Sintezēto savienojumu antioksidantu aktivitāte

Pārbaudījām visu sintezēto savienojumu grupu labāko (spriežot pēc AA vērtībām) pārstāvju antioksidantu aktivitāti (AOA), t.i., to spēju inhibēt augu eļļu un to metilesteru (biodīzeļa) oksidēšanās procesus (paraugus uzglabājām paātrinātās oksidēšanās apstākļos un oksidēšanās procesus raksturojām ar peroksīdskaitļa izmaiņām). Monoaizvietoto meldrumskābju **33** un **72**, **73** piedevas ievērojami uzlaboja rapšu eļļas metilesteru (RME) oksidatīvo stabilitāti, nelielu AOA uzrādīja acetilmeldrumskābe (**74**);<sup>49,52</sup> vairums kanēļskābju anilīdu **7-9**,<sup>6,47</sup> to hidrogenēto analogu **29-32**<sup>47</sup> (kas izrādījās tikpat vai

nedaudz aktīvāki kā kanēļskābju anilīdi) un 4-aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1*H*)-onu **49**<sup>41</sup> bija neaktīvi (8.att.).



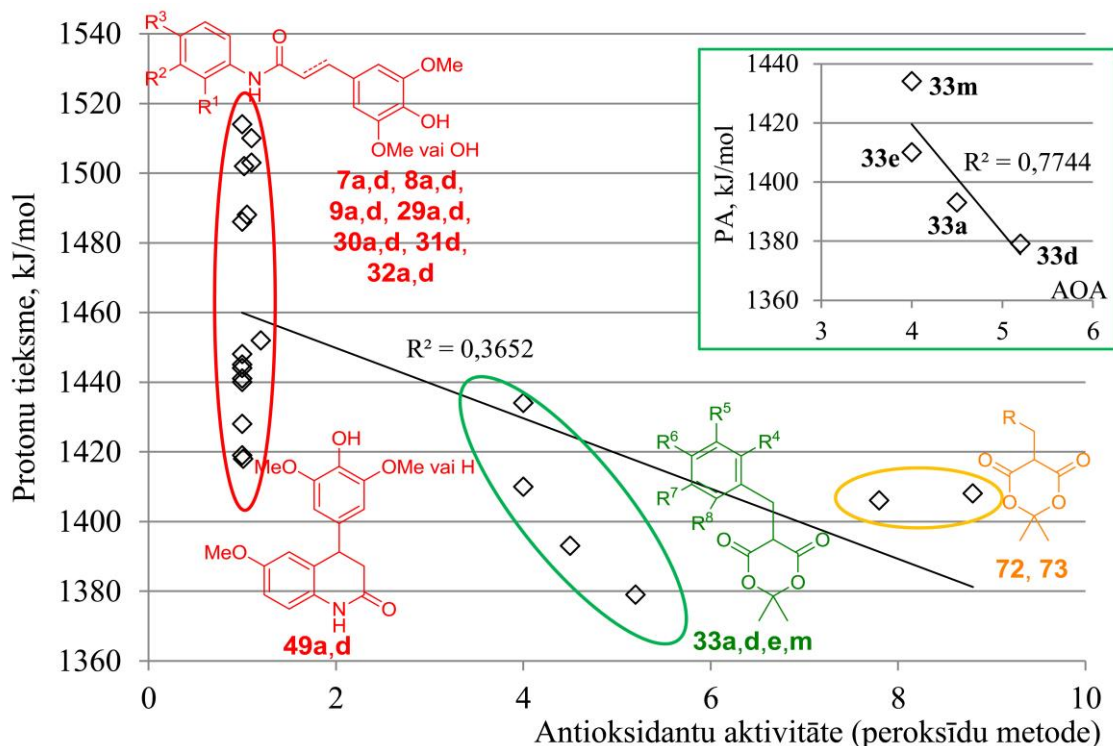
**8.att.** Kanēļskābju anilīdu **7-9**, dihidrokanēļskābju anilīdu **29-32**, 4-aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1*H*)-onu **49** un melndrumskābju atvasinājumu **33** un **72-74** piedevas ietekme uz RME oksidatīvo stabilitāti (peroksīdu metode). Ja nav savādāk norādīts, pievienotais piedevas daudzums bija 90 μmol/100 g RME; <sup>a</sup>225 μmol/100 g; <sup>b</sup>180 μmol/100 g; <sup>c</sup>45 μmol/100 g.

Dažu sintezēto ciklisko 1,3-dikarbonilsavienojumu (**33a,d,e**, **57a**, **64a** un **75** (savienojuma **75** struktūra dota 10.att.)) spēju inhibēt RME oksidēšanās procesus pārbaudījām arī ar Rancimāta metodi. Gandrīz visi paraugi, kas saturēja dikarbonilsavienojumu piedevas (izņemot kumarīna atvasinājumu **64** (RIP < 5.5)), uzrādīja lielāku RIP nekā biodīzelis bez piedevas; vanilīna atvasinājuma **33a** piedeva (90 μmol/100 g) nodrošināja biodīzelim standartā LVS EN 14214 noteikto oksidatīvo stabilitāti. Dažas arilmethylmelndrumskābes **33e,d**, **72** un **73** pievienojām arī polinepiesātinātām augu eļļām – rapšu eļļas oksidatīvā stabilitāte uzlabojās 1.2-1.4 reizes,

bet citu eļļu (krūmcidoniju sēklu, vīnogu kauliņu, linu) oksidatīvā stabilitāte pēc piedevas pievienošanas pazeminājās, kas varētu būt saistīts ar neveiksmīgi izvēlētu pievienotā antioksidanta daudzumu (antioksidantu-prooksidantu efektu).

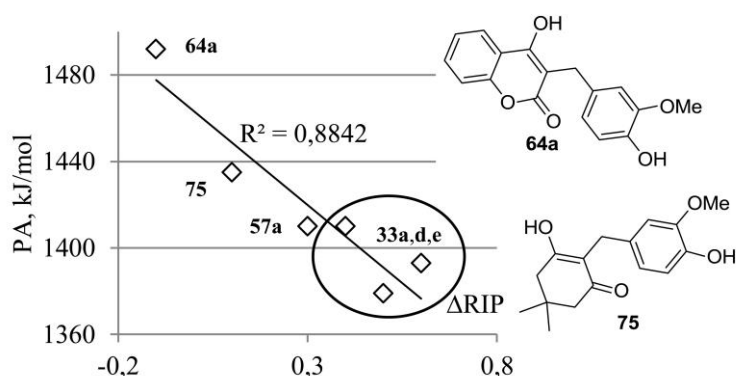
### 5. Antiradikāļu un antioksidantu aktivitātes kvantu ķīmijas aprēķini

Savienojumu struktūras-aktivitātes sakarību noteikšanai, tai skaitā arī antioksidantu meklējumos, mūsdienās plaši izmanto kvantu ķīmijas aprēķinus, tomēr literatūrā iztrūkst teorētiski aprēķināto datu salīdzinājuma ar eksperimentāli noteikto antiradikāļu/antioksidantu aktivitāti. Izmantojot *GausView 5.0.8* programmatūras HT-3-21g metodi, visu sintezēto savienojumu grupu pārstāvjiem aprēķinājām reaģētspējīgāko saišu (1,3-dikarbonilfragmenta C(2)H saites vai benzilpozīcijas CH, fenola tipa OH vai enola tipa 4-OH (4-hidroksihinolīn-2(1*H*)-onos un 4-hidroksikumarīnos), kā arī COOH un NH) protonu tieksmes (PA) un saites disociācijas entalpijas (BDE) vērtības gāzes fāzē. Diemžēl, salīdzinot eksperimentāli iegūtos rezultātus ar teorētiski aprēķinātajiem parametriem, korelāciju starp tiem nenovērojām; konstatējām tikai tendenci, ka protonu tieksmei samazinoties, pieaug AA. Korelācijas nebija arī starp protonu tieksmi un AOA – piemēram, savienojumu **32d**, **33e** un **72**, kuru PA vērtības ir līdzīgas (1410-1420 kJ/mol), AOA bija radikāli atšķirīga: 1, 4 un 8.8, attiecīgi (9.att.).



**9.att.** Sintezēto savienojumu protonu tieksmes (savienojumiem **7-9**, **29-32** un **49** fenola OH saites PA, bet savienojumiem **33**, **72** un **73** C(2)H saites PA) un RME oksidatīvās stabilitātes testos iegūto AOA vērtību salīdzinājums.

Labāku korelāciju starp antioksidantu aktivitāti un protonu tieksmi novērojām arilmetilmeldrumskābju **33** un tām līdzīgu ciklisko 2-arilmetil-1,3-dikarbonilsavienojumu rindā (10.att.).



**10.att.** Savienojumu **33** (C(2)H saites PA) un savienojumu **57a**, **64a** un **75** (enola tipa 4-OH saites PA) protonu tieksmes un RME oksidatīvās stabilitātes testos iegūto  $\Delta$ RIP vērtību salīdzinājums.

Korelāciju neredzējām arī starp saites disociācijas entalpiju un antioksidantu aktivitāti – savienojumi ar vienādu BDE uzrādīja atšķirīgu AOA. Piemēram, 4-hidroksihinolīn-2(1H)-ona **61a** piedeva uzlaboja biodīzeļa oksidatīvo stabilitāti, kamēr 4-arilhinolīn-2(1H)-ona **49a** piedeva to neietekmēja, taču abiem savienojumiem benzilpozīcijas BDE ir 183-188 kJ/mol. Tā kā savienojumu antioksidantu īpašības pārbaudījām izmantojot tikai vienu piedevas koncentrāciju (kas nebija optimizēta), iespējams, ka korelāciju nenovērojām antioksidantu-prooksidantu efekta dēļ.

Iegūtie rezultāti liecina, ka kvantu ķīmijas aprēķinu metodes ir pielietojamas, lai izšķirtos par ticamāko antioksidanta un brīvā radikāļa reakcijas mehānismu (piemēram, SPLET vai HAT (ūdeņraža atoma pārnese)), taču reaģētspējīgāko saišu PA un BDE vērtību aprēķins neļauj objektīvi izvērtēt antioksidanta spēju inhibēt brīvo radikāli, jo īpaši tad, ja savienojuma iedarbība saistīta ar vairāku reaģētspējīgu grupu (piemēram, 1,3-dikarbonilfragmenta, benzilpozīcijas un fenola) klātbūtni molekulā un ir iespējama to sinerģija. Kā redzams, kvantu ķīmijas aprēķini, izmantojot HT-3-21g metodi, nevar aizstāt reālu savienojumu sintēzi un to antiradikāļu un antioksidantu aktivitātes pārbaudi *in vitro*.

## SECINĀJUMI

1. Polinepiesātināto augu eļļu un to metilesteru oksidatīvo stabilitāti var uzlabot (caurmērā līdz 1.3-1.5 reizēm) ar miežu graudu, auzu graudu un kliju, griķu un krūmcidoniju sēklu, kā arī upeņu spiedpalieku, sēklu vai pumpuru ekstraktiem, tomēr ekstraktu iedarbība ir ļoti atkarīga no to koncentrācijas, jo bieži novērojams piedevas antioksidantu/prooksidantu efekts; ekstraktu antioksidatīvās īpašības labāk izpaužas rapšu eļļas un tās esteru gadījumā. Maigākos apstākļos un īsākā laikā augstāku kopējo polifenolu saturu ekstraktos var sasniegt ekstrahējot ar ultraskaņu. Vislabākos rezultātus dod auzu graudu ekstrakcija ar augu eļļām – rapšu un kaņepju eļļas oksidatīvo stabilitāti iespējams paaugstināt vairāk nekā 3 reizes; auzu kliju gadījumā šis skaitlis bija divas reizes mazāks.
2. Noskaidrots, ka krūmcidoniju sēklas, kas ir pārtikas ražošanas atkritumprodukts, izmantojamas, lai iegūtu eļļu ar augstu  $\alpha$ -tokoferola saturu (86 mg/100 g eļļas) – tas ir ap 10 reizēm lielāks (110 mg/kg sēklu) nekā miežu graudos. Pirmo reizi krūmcidoniju sēklās identificētas hlorogēnskābe, sinapīnskābe un ellāgskābe.
3. Optimizētas metodes kanēļskābju anilīdu sintēzei no malonskābes monoanilīdiem un aromātiskajiem aldehīdiem, kā arī mel drumskābes šķelšanai ar arilamīniem.
4. Izstrādāta rinda jaunu sintēzes metožu: 2-arilidēnmalonskābes monoanilīdu dekarboksilēšanai, dihidrokanēļskābju anilīdu sintēzei no arilmetilmel drumskābēm un aromātiskajiem amīniem, 4-aril-3,4-dihidrohinoīn-2(1H)-onu sintēzei no malonskābes monoanilīdiem un aromātiskajiem aldehīdiem, 3-arilmetil-4-hidroksi-hinoīn-2(1H)-onu sintēzei no 4-hidroksihinoīn-2(1H)-oniem un aromātiskajiem aldehīdiem un 3-aril-2-stiril-hinazolīn-4(3H)-onu sintēzei no atbilstošajiem *N*-cinnamoilantranilskābes anilīdiem.
5. Pirmo reizi noskaidrots, ka elektrondonoru grupu ievadīšana kanēļskābju anilīdu anilīna atlikumā nedaudz paaugstina sinapīn- un ferulskābes anilīdu antiradikāļu aktivitāti. Stirilfragmenta aizstāšana ar 2-ariletilgrupu būtiski neietekmē savienojumu antiradikāļu īpašības, tomēr hidroģenētie analogi ir nedaudz aktīvāki; kanēļskābju anilīdu iekšmolekulāra ciklizācija, veidojot 4-aril-3,4-dihidrohinoīn-2(1H)-onus, samazina savienojumu antiradikāļu aktivitāti.
6. Atklāta jauna antioksidantu klase: mel drumskābe un tās mono aizvietotie atvasinājumi uzrāda izcilas antiradikāļu īpašības. Visvairāk izteiktas tās ir 1,3-dioksān-4,6-dioniem, kuri 5.pozīcijā satur benzil-, hetarilmetil-, hetarilalil vai arilalilgrupas. Aromātiskā

gredzena aizvietotāji arilmetilmeldrumskābju antiradikāļu aktivitāti ietekmē minimāli; to nodrošina 1,3-dikarbonilfragmenta C(2)H aciditāte, bet nozīmīga ir arī benzilgrupas CH klātbūtne.

7. Atrasts, ka dažas arilmetilmeldrumskābes gaisa skābekļa klātbūtnē ir oksidatīvi nestabilas. Arilmetilmeldrumskābes augu eļļās un biodīzelī uzrāda antioksidantu aktivitāti.
8. Noskaidrots, ka DPPH reakcija ar kanēļskābju anilīdiem un arilmetilmeldrumskābēm etanolā norit pēc SPLET mehānisma, bet 4-aril-3,4-dihidrohinolīn-2(1*H*)-oni reaģē ar DPPH pēc HAT mehānisma.
9. Konstatēts, ka savienojumu reaģētspējīgāko OH un CH saišu PA un BDE vērtības (aprēķinātas ar HF-3-21g metodi) ir tikai daļēji izmantojamas to antiradikāļu un antioksidantu aktivitātes prognozēšanā. PA un BDE ļauj paredzēt, kura no funkcionālajām grupām pirmā reaģēs pēc SPLET vai HAT mehānisma, tomēr, ja savienojuma struktūra satur vairākas reaģētspējīgas grupas un antioksidantu darbības mehānisms balstās uz to reakciju sinerģiju, korelācijas starp atsevišķu funkcionālo grupu PA vai BDE vērtībām un savienojumu antiradikāļu/antioksidantu aktivitāti nav.
10. Sinapīn- un ferulskābes anilīdi un attiecīgie dihidrokanēļskābju anilīdi, kā arī 2-arilmetil-1,3-dikarbonilsavienojumi, kas aromātiskajā gredzenā satur sīringaldehīda vai vanilīna aizvietotājus, vai arī dialkilaminogrupu, uzrāda salīdzināmu vai pat ievērojami augstāku spēju inhibēt brīvos radikāļus DPPH un GO nekā komerciāli plaši izmantotais antioksidants BHT.



## PATEICĪBAS

Šī darba tapšanā nenovērtējami ir Organiskās ķīmijas tehnoloģijas institūtam un Bioloģiski aktīvo savienojumu ķīmijas tehnoloģijas katedrai piederīgie, kas man ļāva mūsu laboratorijās justies kā mājās. Īpaši vēlos pateikties vadošajām pētniecēm *Dr. chem.* Dainai Zicānei un *Dr. chem.* Zentai Teterei un pētniecei Irisai Rāviņai par sadarbību hinazolīn-4-onu antiradikāļu īpašību pētījumos un pamudinājumu pievērsties (kā vēlāk izrādījās, ļoti nozīmīgai mana promocijas darba daļai) antioksidantu meklējumiem melndrumskābju rindā. Paldies profesoram *Dr. chem.* Mārim Turkam par palīdzību savienojumu struktūras pierādīšanas sarežģītāko problēmu risināšanā, izmantojot 2D KMR metodes, Latvijas Organiskās sintēzes institūta (LOSI) vadošajam pētniekam *Dr. phys.* Anatolijam Mišņovam par savienojumu rentgenstruktūranalīzi, kā arī RTU Lietišķās ķīmijas institūta pētniecei Rūtai Kamparei par Rancimāta analīzēm. Paldies arī pētniekam Viktoram Kumpiņam par palīdzību ar HPLC un LC-MS eksperimentiem. Bez tam gribu pateikties LOSI zinātniskajam asistentam Artim Kinēnam par manis iepazīstināšanu ar kvantu ķīmijas aprēķinu metodēm, kā arī laboratorijas kolēģēm studentēm Agnesei Stikutei, Alinai Bondarevskai, Jūlijai Moskaļukai, Laurai Žumburei, Laurai Vizbulei, Elgai Ivdrei, Ilzei Neiboltei, Vinetai Drinkai, Maženai Zaharovai, Ilzei Verpakovskai, Darjai Kostjuņinai un Sindijai Zēbergai par kopīgajām publikācijām un kopā pavadīto laiku. Liels paldies pētniecēm Maijai Strēlei un mūžībā aizgājušajai Rasmai Seržanei, kas pirms 10 gadiem mani iepazīstināja ar saistošo augu eļļu pasauli. Visīpašākie paldies mana darba zinātniskajai vadītājai profesorei *Dr. chem.* Mārai Jurei par manis kā 3.kursa bakalaura studenta piesaistīšanu savai pētnieku grupai, kas man ļāva iemīlēt ķīmiju un saprast, ka tā ir mana vieta. Paldies par vērtīgajām zinātniskajām diskusijām, bezgalīgo pacietību, atbalstu un ticību maniem spēkiem.

# GENERAL OVERVIEW OF THE THESIS

## Introduction

During the last 5 years the importance of the studies of new, including natural, antioxidants has grown up. First of all this is due to the oxidative instability of polyunsaturated vegetable (rapeseed and, especially, hempseed) oils that are widely used in food, cosmetics, medicine and technique. In order to increase the oxidative stability usually various synthetic antioxidants are added to the vegetable oils, however, nowadays usage of several of these compounds (e. g., BHA or BHT) is strictly limited or even forbidden. Due to this, studies of new sources of natural antioxidants are important all over the world.

Besides that, natural antioxidants (and extracts of plant materials) and their synthetic analogues could be applicable for treatment or prevention of diseases caused by oxidative stress (e. g., Parkinson or Alzheimer diseases). Natural antioxidants have been widely studied as potential anti-cancer agents.<sup>1-4</sup> Nobel prize laureate J. Watson considers that anti-antioxidants (respectively, prooxidants) might be useful for the apoptosis of cancer cells.<sup>5</sup>

## Aims and objectives

The aims of the thesis were to find out the applicability of various plant materials for improvement of the oxidative stability of vegetable oils and their methyl esters and to appraise the impact of the structural modifications on antiradical and antioxidant activity of natural antioxidants avenanthramides – anthranilic acid amides of cinnamic acids.

In order to achieve the aims the following tasks were set: 1) to prepare extracts of Latvian origin plant materials (grains and hulls of oats, grains of barley, seeds of buckwheat and Japanese quince, seeds, buds and pomace of black currant and hop hulls) and to find out their impact on the oxidative stability of vegetable oils (as well as their methyl esters); 2) to synthesize new analogues of avenanthramides both with small modifications (variation of substituents in the moiety of cinnamic acid and aniline, replacement of double bond in the styryl fragment with a single bond etc.) and construction of heterocycles (benzo[d][1,3]oxazin-4-ones, quinazolin-4-ones, quinolin-2(1*H*)-ones, coumarins and 1,3-dioxane-4,6-diones) based on the skeleton of cinnamoyl aniline; 3) to explore antiradical properties of the synthesized compounds by DPPH and GO tests; 4) to establish the applicability of the most active representatives of each class of compounds for improvement of the oxidative stability of vegetable oils and their methyl esters; 5) to

appraise the relationships between structure of synthesized antioxidants and their antiradical/antioxidant activity and to elucidate the mechanisms of their reactions with free radicals.

### **Scientific novelty and main results**

Chlorogenic acid, sinapic acid and ellagic acid were identified in the seeds of Japanese quince for the first time; it was found out that the oil of Japanese quince seeds is a valuable source of  $\alpha$ -tocopherol. The impact of various modifications (both small changes of structure and construction of heterocyclic analogues) on the antiradical and antioxidant activity of cinnamoyl anilines was analyzed for the first time. The new methods were elaborated and known synthetic methods were optimized to synthesize the analogues of avenanthramides. All prepared compounds were tested for their antiradical activity using free radicals 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and galvinoxyl (GO). It has been found out that compounds containing moiety of the vanillin or syringaldehyde possess the highest antiradical activity; the 2-arylmethyl-1,3-dicarbonyl residue has appeared essential for antiradical activity, too. The plausible mechanisms of the reaction of free radical DPPH with synthesized analogues of avenanthramides are discussed. The most active representatives of each group of synthesized compounds were tested as possible antioxidants for improvement of the oxidative stability of vegetable oils and their methyl esters. The proton affinity and bond dissociation enthalpy of the most reactive OH and CH bonds of synthesized compounds were calculated by HF-3-21g method; the values of these parameters are compared with the experimentally detected antiradical/antioxidant activity. The new class of effective antioxidants – arylmethyl Meldrum's acids – has been discovered. New and effective antioxidants, which can be used in technique, food and cosmetics to increase the oxidative stability of products containing polyunsaturated fatty acids, were synthesized within the doctoral thesis. The obtained compounds might be applicable in medicine, too.

### **Structure and volume of the thesis**

The thesis is written in Latvian and consists of literature review, discussion section and experimental part, as well as appendixes. The literature review focuses on one of the latest and widely studied antiradical mechanisms during the last years – SPLET (sequential proton loss and electron transfer) mechanism. The discussion section presents results on applicability of plant material extracts for improvement of the oxidative stability of

vegetable oils and their methyl esters, description of the synthesis of the target compounds, analysis of antiradical and antioxidant activity of the synthesized substances and appraisal of their structure-activity relationships. Experimental part describes new synthetic methods, as well as both synthetic procedures and spectroscopic characterization of new compounds and methodology of the tests of antiradical/antioxidant activity.

### **Publications and approbation of the thesis**

Results of the thesis are discussed in 12 full text publications (articles in journals and conference proceedings), 1 application of patent and 33 theses of international conferences; besides that 4 original research articles are in preparation.

#### **Applications of patents / Patentu pieteikumi**

1. **Mierīņa I.**, Jure M., Zēberga S., Zicāne D., Tetere Z., Rāviņa I. 5-Monoaizvietotu 2-mono- vai 2,2-diaizvietotu 1,3-dioksān-4,6-dionu kā antiradikāļu aģentu un antioksidantu pielietojums. Pieteikuma numurs Latvijas Republikas Patentu valdē P-14-52 (27.06.2014).

#### **Articles in scientific journals and conference proceedings / Raksti zinātniskajos žurnālos un pilna teksta konferenču tēzes**

1. **Миериня И.**, Стикуте А., Юре М. Синтез и антирадикальные свойства 4-арил-3,4-дигидрохинолин-2(1H)-онов - аза-аналогов неофлавоноидов. *Химия Гетероциклических Соединений*, **2014**, (8), 1232-1242.
2. Zeberga S., Strele M., Vojevodova A., **Mierina I.**, Jure M. Oat hulls and sea buckthorn pomace – a potential source of antioxidants for hempseed oil. In: *9th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for Consumer Well-Being" (FoodBalt 2014): Conference Proceedings*, Jelgava, Latvia, 8-9<sup>th</sup> May, 2014, 81-85.
3. Zicane D., Tetere Z., **Mierina I.**, Turks M., Ravina I., Leonciks A. Synthesis of quinazolinone - 1,3,4-oxadiazole conjugates and studies of their antibacterial and antioxidant activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **2014**, 6(4), 1153-1158.
4. **Mierina I.** 5-Alkyl and 5,5-dialkyl Meldrum's acids. *Synlett*, **2014**, 25, 155-156.
5. **Mierīņa I.**, Seržane R., Strēle M., Moskaļuka J., Ivdre E., Jure M. Studies of the oil and meal of Japanese quince seeds. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, **2013**, 67(4/5), 405-410.
6. **Миериня И.**, Тетере З., Зицане Д., Равиня И., Туркс М., Юре М. Синтез и антиоксидантная активность новых аналогов Quin-C1. *Химия Гетероциклических*

- Соединений*, **2012**, 11, 1948-1955. [*Chemistry of Heterocyclic Compounds*, **2013**, 48(12), 1824-1831].
7. **Mierina I.**, Jure M. Anilides of hydrocinnamic acid as potential antioxidants. In: *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference*, Lithuania, Kaunas, 25<sup>th</sup> April, 2012, 65-69.
  8. **Mierina I.**, Stikute A., Jure M. Synthesis of malonic acid monoanilides. In: *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference*, Lithuania, Kaunas, 25<sup>th</sup> April, 2012, 61-64.
  9. **Mierina I.**, Serzane R., Strele M., Moskaluka J., Seglina D., Jure M. Extracts of Japanese quince seeds - potential source of antioxidants. In: *6th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for Food Science and Production": Conference Proceedings*; Latvia, Jelgava, 5-6<sup>th</sup> May, 2011, 98-103.
  10. **Mierina I.**, Bondarevska A., Jure M. Upeņu ekstraktu ietekme uz augu eļļu oksidatīvo stabilitāti. *RTU zinātniskie raksti. 1. sēr., Materiālzinātne un lietišķā ķīmija*, **2011**, 23, 43-48.
  11. **Mierina I.**, Jure M. Antioksidantu aktivitātes noteikšanas metodes. *Latvijas Ķīmijas Žurnāls*, **2010**, 3/4, 221-234.
  12. **Mierina I.**, Bondarevska A., Seglina D., Jure M. The impact of black currant extracts on oxidative stability of vegetable oils. In: *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference*, Lithuania, Kaunas, 21<sup>st</sup> April, 2010, 18-22.
  13. **Mierina I.**, Stikute A., Jure M. On the synthesis of malonic acid monoanilides (manuscript in preparation).
  14. **Mierina I.**, Stikute A., Mišņovs A., Jure M. A convenient synthesis of analogues of avenanthramides and their antiradical activity (manuscript in preparation).
  15. **Mierina I.**, Zaharova M., Jure M., Neibolte I. The role of carboxylic acid position on the antiradical activity of synthetic analogues of oat antioxidants (manuscript in preparation).
  16. **Mierina I.**, Jure M., Zicane D., Tetere Z., Ravina I. 5-Benzyl Meldrum`s acids – novel antiradical agents (manuscript in preparation).

#### **Theses of international conferences / Konferenču tēzes**

1. **Mierina I.**, Stikute A., Verpakovska I., Jure M. Antiradical properties of cyclic 2-arylmethyl-1,3-diones. In: *Riga Technical University 55<sup>th</sup> International Scientific Conference*, Riga, Latvia, 14-17<sup>th</sup> October, 2014 (in print).

2. **Mierina I.**, Jure M., Zeberga S., Mishnev A., Zicane D., Tetere Z., Ravina I. Arylmethyl derivatives of Meldrum's acid – a new class of antioxidants. In: *12<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Montpellier, France, 14-17<sup>th</sup> September, 2014, 486.
3. Zeberga S., Strele M., Vojevodova A., **Mierina I.**, Jure M. Oat hulls and sea buckthorn pomace – a potential source of antioxidants for hempseed oil. In: *9<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for Consumer Well-Being" (FoodBalt 2014)*, Jelgava, Latvia, 8-9<sup>th</sup> May, 2014, 40.
4. Stikute A., **Mierina I.**, Jure M. Cyclization of manonilides of arylidene malonic acid. In: *18<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*, Marseille, France, 7-12<sup>th</sup> July, 2013, 593.
5. Stikute A., **Mierina I.**, Jure M. Smooth decarboxylation of arylidene *N*-arylmalonamic acid. In: *18<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*, Marseille, France, 7-12<sup>th</sup> July, 2013, 465.
6. Stikute A., **Mierina I.**, Jure M. Synthesis of quinolin-2-ones and cinnamamides from derivatives of malonanilic acid. In: *8<sup>th</sup> Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*, Riga, Latvia, 13-14<sup>th</sup> May, 2013, 100.
7. Stikute A., **Mierina I.**, Jure M. A convenient route to 4-aryl-3,4-dihydro-1*H*-quinolin-2-ones. In: *XV<sup>th</sup> Conference on Heterocycles in Bio-organic Chemistry*, Riga, Latvia, 27-30<sup>th</sup> May, 2013, 102.
8. **Mierina I.**, Jure M. The impact of cinnamoyl and hydrocinnamoyl anilines on the oxidative stability of rapeseed oil methyl esters. In: *10<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Poland, Cracow, 23-26<sup>th</sup> September, 2012, 283.
9. Serzane R., Strele M., **Mierina I.**, Jure M. Stabilization of hempseed oil with natural antioxidants. In: *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference Dedicated to the 150<sup>th</sup> Anniversary and the 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 76.
10. Ivdre E., **Mierina I.**, Jure M. Phenolic antioxidants of barley grains and oil. In: *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference Dedicated to the 150<sup>th</sup> Anniversary and the 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 75.
11. **Mierina I.**, Stikute A., Jure M. Condensation of malonanilic acids with aromatic aldehydes. In: *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference Dedicated to the 150<sup>th</sup> Anniversary and the 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 70.

12. **Mierina I.**, Jure M., Zicane D., Tetere Z., Ravina I. Derivatives of 5-benzyl Meldrum's acid – novel antioxidants. In: *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference Dedicated to the 150<sup>th</sup> Anniversary and the 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 74.
13. **Mierina I.**, Drinka V., Jure M. Coumarin derivatives as potential antiradical agents. In: *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference Dedicated to the 150<sup>th</sup> Anniversary and the 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 79.
14. Zicane D., Ravina I., Tetere Z., Turks M., **Mierina I.**, Jure M. Synthesis and antioxidative activity of some 4-oxo-1,2-dihydroquinazolines. In: *XXV<sup>th</sup> European Colloquium on Heterocyclic Chemistry*, United Kingdom, Reading, 13<sup>rd</sup>-17<sup>th</sup> July, 2012, PO-45.
15. **Mierina I.**, Jure M., Strele M., Serzane R. Antioxidants of oat extracts and their analogues. In: *17<sup>th</sup> International conference "EcoBalt 2012"*, Latvia, Riga, 18-19<sup>th</sup> October, 2012, 56.
16. **Mierina I.**, Serzane R., Strele M., Moskaluka J., Ivdre E., Jure M. Studies of the oil and meal of Japanese quince seeds. In: *International Conference "Nutrition and Health"*, Latvia, Riga, 4-6<sup>th</sup> September, 2012, 49.
17. **Mierina I.**, Stikute A., Drinka V., Jure M. Anilides of 3-aryl- propenoic and propionic acids as antiradical agents. In: *13<sup>th</sup> Belgian Organic Synthesis Symposium*. Belgium, Leuven, 15-20<sup>th</sup> July, 2012, 234.
18. **Mierina I.**, Stikute A., Jure M. Synthesis and decarboxylation of malonanilic acids In: *International Conference on Organic Synthesis Balticum Organicum Syntheticum. Program and Abstracts*, Estonia, Talinn, 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup> July, 2012, 180.
19. **Mierina I.**, Jure M. A convenient synthesis of *N*-aryl-3-arylpropanamides. In: *International conference on organic synthesis Balticum Organicum Syntheticum. Program and Abstracts*, Estonia, Talinn, 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup> July, 2012, 134.
20. **Mierina I.**, Zumbure L., Jure M. Antiradical activity of hop (*Humulus Lupulus* L.) cone exstracts. In: *Abstracts of the 52<sup>nd</sup> International Scientific Conference of Riga Technical University*, Latvia, Riga, 13-15<sup>th</sup> October, 2011, 48.
21. **Mierina I.**, Jure M. Application of Meldrum's acid for synthesis of amides of substituted cinnamic and hydrocinnamic acids. In: *Abstracts of the 52<sup>nd</sup> International*

- Scientific Conference of Riga Technical University, Latvia, Riga, 13-15<sup>th</sup> October, 2011, 47.*
22. Vizbule L., Seržane R., **Mieriņa I.**, Jure M. Rapšu eļļas oksidatīvās stabilitātes uzlabošana ar griķu sēklu ekstraktiem. No: *Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress un Letonikas IV kongress: sekcija "Tehniskās zinātnes": tēžu krājums*, Latvija, Rīga, 24.-27. oktobris, 2011, 100.
  23. **Mieriņa I.**, Seržane R., Strēle M., Jure M. Krūmcidoniju sēklu detoksifikācijas iespēju pētījumi. No: *Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress un Letonikas IV kongress: sekcija "Tehniskās zinātnes": tēžu krājums*, Latvija, Rīga, 24.-27. oktobris, 2011, 102.
  24. Ivdre E., Strēle M., **Mieriņa I.**, Jure M. Augu eļļu oksidatīvās stabilitātes uzlabošana ar miežu graudu ekstraktiem. No: *Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress un Letonikas IV kongress: sekcija "Tehniskās zinātnes": tēžu krājums*, Latvija, Rīga, 24.-27. oktobris, 2011, 101.
  25. **Mieriņa I.**, Stikute A., Jure M. Cyclization of 2-styryl-4*H*-3,1-benzoxazin-4-ones. In: *7<sup>th</sup> Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*, Riga, Latvia, 12<sup>nd</sup>-13<sup>rd</sup> September, 2011. [*Latvijas Ķīmijas žurnāls*, **2012**, 1, 67].
  26. Jure M., **Mierina I.** 2-Styryl 4*H*-3,1-benzoxazin-4-ones and quinazolin-4(3*H*)-ones - potential antioxidants. In: *23<sup>rd</sup> International Congress of Heterocyclic Chemistry*, United Kingdom, Glasgow, 31<sup>st</sup> July - 4<sup>th</sup> August, 2011, 209.
  27. **Mierina I.**, Neibolte I., Jure M. Synthetic analogues of oat antioxidants. In: *17<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry: Book of Abstracts*, Greece, Crete, 10<sup>th</sup>-15<sup>th</sup> July, 2011, P1.217.
  28. **Mierina I.**, Serzane R., Strele M., Moskaluka J., Seglina D., Jure M. Extracts of Japanese quince seeds - potential source of antioxidants. In: *6<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for Food Science and Production": Abstract Book*, Latvia, Jelgava, 5-6<sup>th</sup> May, 2011, 75.
  29. **Mierina I.**, Neibolte I., Jure M. Cinnamoyl anthranilates and their structure analogues as potential antioxidants. In: *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference Chemistry and Chemical Technology*, Lithuania, Kaunas, 27<sup>th</sup> April, 2011, 28.
  30. **Mierina I.**, Bondarevska A., Seglina D., Jure M. Oxidative stability of FAME extracts of black currant. In: *8<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Germany, Munich, 21<sup>st</sup>-24<sup>th</sup> November, 2010, LAMI-019.



31. Jure M., Serzane R., Strele M., **Mierina I.** Improvement of the oxidative stability of vegetable oils with lipophilic oat extracts. In: *8<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress "Oils, Fats and Lipids. Health & Nutrition, Chemistry & Energy"*, Germany, Munich, 21<sup>st</sup>-24<sup>th</sup> November, 2010, LAMI-014.
32. **Mierina I.**, Jure M. Synthetic analogues of avenanthramides. In: *SISOC VIII: 8<sup>th</sup> Spanish-Italian Symposium on Organic Chemistry*, Italy, Padova, 3<sup>rd</sup>-6<sup>th</sup> July, 2010, P1.
33. **Mierina I.**, Serzane R., Jure M. Seeds of Japanese quince - a potential source of natural antioxidants. In: *7<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Austria, Graz, 18<sup>th</sup>-21<sup>st</sup> October, 2009, 281.

## MAIN RESULTS OF THE THESIS

### 1. Antioxidant properties of the extracts of plant materials

We have studied the applicability of various extracts of Latvian origin plant materials (grains<sup>6,7</sup> and hulls<sup>8,9</sup> of oats, grains of barley,<sup>10,11</sup> seeds of buckwheat<sup>12</sup> and Japanese quince,<sup>13-17</sup> seeds, buds and pomace of black currant<sup>18-20</sup> and hop hulls<sup>21</sup>) for improvement of the oxidative stability of vegetable oils (and their methyl esters). We managed to increase the oxidative stability in average 1.3-1.5 times; nevertheless the antioxidant activity of the extracts strongly depended on the amount of the additive (antioxidant-prooxidant effect was observed). The highest oxidative stability was observed in case of oat grain extracts obtained with hempseed and rapeseed oil (correspondingly, by extraction of 5 and 50 wt% grain material with oil) – these samples were up to 3 times more stable than oil without an additive.<sup>6,7</sup> Oat hulls (a waste product of food industry) is a valuable source of antioxidants, too, but the effect of its additive is remarkably lower than in case of oat grains: the sample prepared by extraction of 5 wt% of oat hulls with hempseed oil was 1.3-1.5 times (depending on duration of extraction) more oxidatively stable than oil.<sup>8,9</sup> Hop hulls were not usable for improvement of the oxidative stability of vegetable oils.<sup>21</sup> From the practical point of view, particularly attractive is extraction with vegetable oils, because organic solvents are avoided and the extracts are ready-to-use; such extracts are particularly valuable for stabilization of the products in food and cosmetics industry.

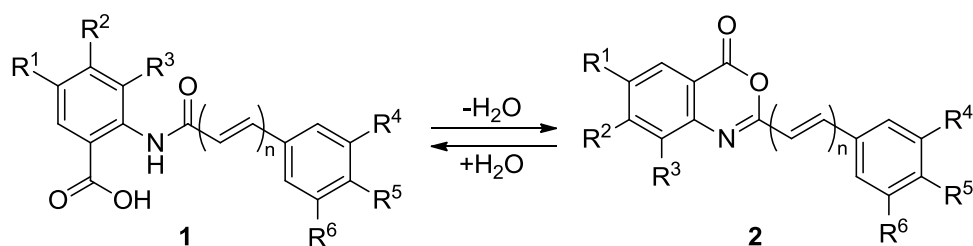
Japanese quince seeds (a waste product of food industry) is poorly explored plant material; therefore we clarified the composition of several seed extracts: for the first time we found out chlorogenic acid in both 80% ethanol extract and alkali hydrolyzate, and sinapic and ellagic acids in acetone and 80% ethanol extracts, as well as in acid and alkali

hydrolyzates.<sup>14</sup> Antioxidant properties of Japanese quince seed oil<sup>13</sup> are provided by tocopherols, too: 100 g of the oil contains 86 mg of  $\alpha$ -tocopherol (even more than the barley oil), but the content of  $\alpha$ -tocopherol in Japanese quince seeds is up to 10 times higher (nearly 110 mg/kg seeds) in comparison to barley grains.<sup>14</sup>

## 2. Synthesis of the analogues of avenanthramides

In order to propose plausible mechanisms for the reactions between antioxidants and free radicals and to find out the relationships between structure and antiradical/antioxidant activity, we have focused on the synthesis of analogues of little known oat antioxidants – avenanthramides.

Both avenanthramides **1** and their cyclic dehydrated analogues avenulamines **2** (Scheme 1) are unique alkaloids characteristic for oats (*Avenus sativa* L.),<sup>22</sup> which possess wide range of biological activity, including antiradical and antioxidant properties.<sup>23</sup>



**Scheme 1.** Interconversion of avenanthramides **1** and avenulamines **2**.

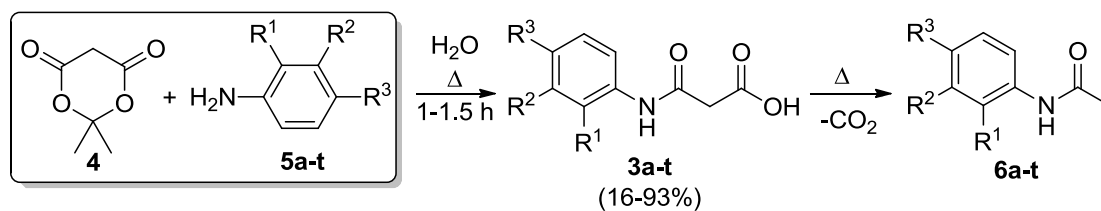
The analogue of avenanthramides, known as *Tranilast* or *Rizaben* (**1**,  $R^1$ - $R^4$  = H;  $R^5$  =  $R^6$  = OMe;  $n$  = 1),<sup>24</sup> is used in medicine for treatment of bronchial asthma, rhinitis and atopic dermatitis.

The impact of the structure modifications of avenanthramides on their antiradical/antioxidant properties has been little studied. The analogues of avenanthramides necessary for the elaboration of doctoral thesis were synthesized applying optimized known methods or newly developed methodologies.

### 2.1. Anilides of cinnamic acids

On the basis of the literature analysis, we decided to synthesize the cinnamoyl anilines by Knoevenagel condensation of aromatic aldehydes with malonic acid monoanilides. Monoanilides of malonic acid **3** we obtained by rather rarely used method – cleavage of Meldrum's acid (**4**) with aromatic amines **5**. When the reactions were carried out according to the known method,<sup>25</sup> namely, in toluene under reflux, opposite to the literature data, most often we obtained a mixture of malonic acid monoanilide **3** and its decarboxylation

product **6** – the last was the main product in case of aromatic amines containing electron donating groups (Scheme 2).



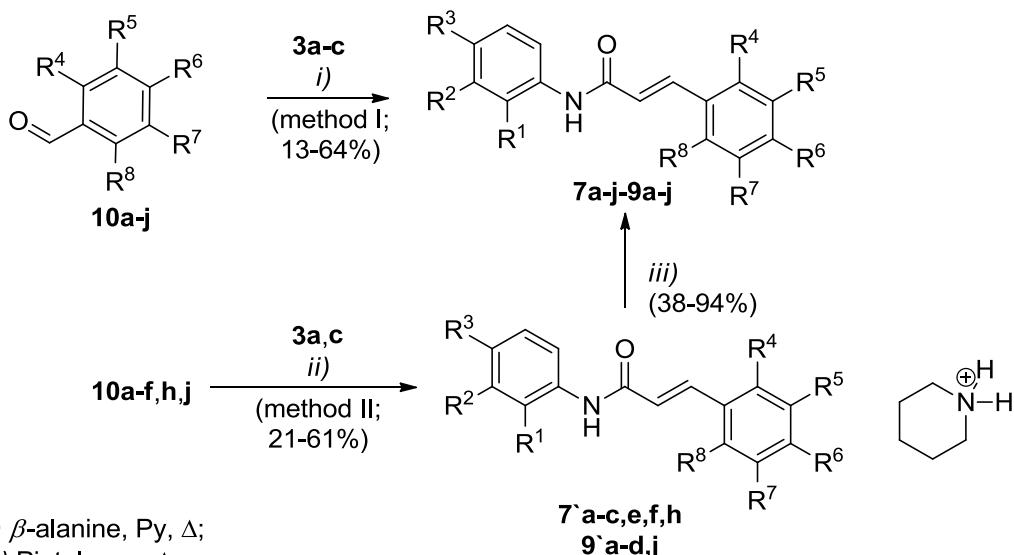
Substituents in the compounds **3**, **5**, **6**:

**a**  $\text{R}^1 = \text{COOH}$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **b**  $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$ ,  $\text{R}^2 = \text{COOH}$ ; **c**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{COOH}$ ; **d**  $\text{R}^1 = \text{COOMe}$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **e**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{COOMe}$ ; **f**  $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$ ,  $\text{R}^2 = \text{NO}_2$ ; **g**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{NO}_2$ ; **h**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{Ac}$ ; **i**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{Br}$ ; **j**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **k**  $\text{R}^1 = \text{OMe}$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **l**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{OMe}$ ; **m**  $\text{R}^1 = \text{NH}_2$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **n**  $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$ ,  $\text{R}^2 = \text{NH}_2$ ; **o**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{NH}_2$ ; **p**  $\text{R}^1 = \text{OH}$ ,  $\text{R}^2 = \text{R}^3 = \text{H}$ ; **q**  $\text{R}^1 = \text{R}^3 = \text{H}$ ,  $\text{R}^2 = \text{OH}$ ; **r**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{OH}$ ; **s**  $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{C}_6\text{H}_4\text{-NH}_2(4)$ ; **t**  $\text{R}^1 = \text{COOH}$ ;  $\text{R}^2 = \text{H}$ ,  $\text{R}^3 = \text{OH}$ .

**Scheme 2.** Cleavage of Meldrum's acid (**4**) with aromatic amines **5**.

Different conditions - various solvents (toluene, acetonitrile, ethyl acetate, 1,4-dioxane, ethanol, water, etc.) and reaction temperature - were tested to carry out reaction. We have found out<sup>26-28</sup> that optimal conditions for cleavage of Meldrum's acid with aromatic amines is heating of reagents in nonpolar solvents at relatively low temperature (about 70°C, but then the reaction time increases remarkably (up to 9.5 h)) or refluxing in water. In the last case the conversion of aromatic amines **5** to compounds **3** proceeded with very good yields. It was found out that appropriate method for purification of malonic acid monoanilides is sequential treatment with base and acid, because crystallization leads to decarboxylation of compounds **3**.

Cinnamoyl anilines **7-9** were obtained by Knoevenagel condensation analogously to the known method<sup>25</sup>, i.e., the starting compounds **3** and **10** were refluxed in pyridine in the presence of  $\beta$ -alanine (Scheme 3, method I); compounds **7-9** were isolated in low yields. It was found out that under these conditions undesired decarboxylation of compound **3b** took place: when the reaction of monoanilide **3b** with vanillin **10a** was carried out (monitored with <sup>1</sup>H NMR), starting compound **3b** was converted to compound **4** even within 15 min and cinnamoyl aniline **8a** formed only about 20% of the mixture of products. Similarly, usage of equimolar amount of piperidine (method II) did not increase the yield of necessary product: piperidinium salts **7'** and **9'** were isolated with low or medium yield; these salts were converted to corresponding cinnamoyl anilines **7** and **9** by treatment with hydrochloric acid.<sup>29-34</sup>



i)  $\beta$ -alanine, Py,  $\Delta$ ;

ii) Pi, toluene,  $\Delta$ ;

iii) 10% HCl solution, RT

Substituents  $R^1$ - $R^3$  in compounds **7-9**:

**7**  $R^1 = \text{COOH}$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **8**  $R^1 = R^3 = \text{H}$ ,  $R^2 = \text{COOH}$ ; **9**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COOH}$

Substituents  $R^1$ - $R^3$  in compounds **7',9'**:

**7'**  $R^1 = \text{COO}^-$ ,  $R^2 = R^3 = \text{H}$ ; **9'**  $R^1 = R^2 = \text{H}$ ,  $R^3 = \text{COO}^-$

Substituents  $R^4$ - $R^8$  in compounds **7-10**, **7'** and **9'**:

**a**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OMe}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **b**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OH}$ ,  $R^6 = \text{OMe}$ ; **c**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **d**  $R^4 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = R^7 = \text{OMe}$ ,  $R^6 = \text{OH}$ ; **e**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OAm}$ ; **f**  $R^4 = R^6 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = \text{OH}$ ; **g**  $R^4 = R^6 = \text{OMe}$ ,  $R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ; **h**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{NMe}_2$ ; **i**  $R^4 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^5 = R^6 = \text{OMe}$ ; **j**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = \text{H}$ ,  $R^6 = \text{OMe}$

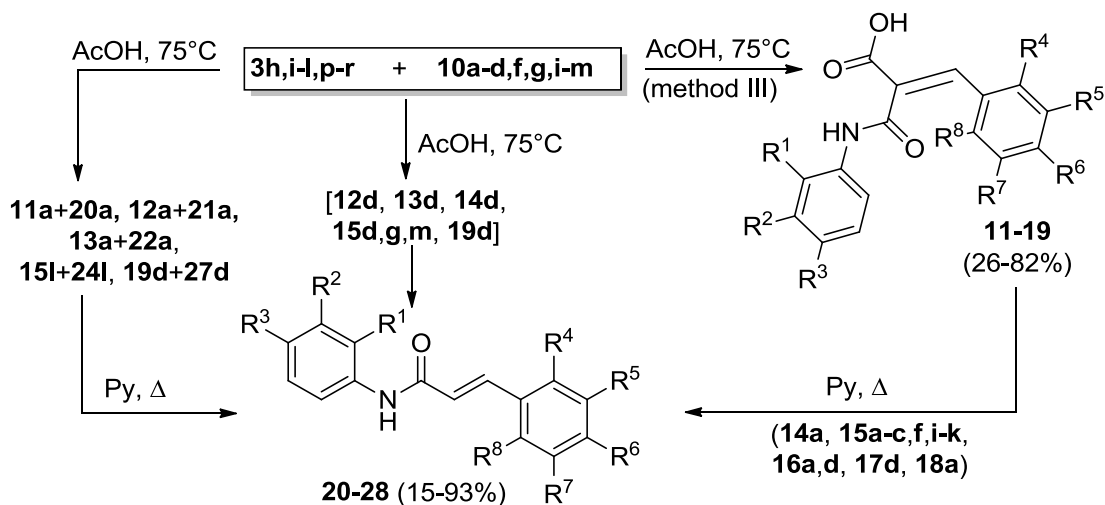
### Scheme 3. Synthesis of *N*-cinnamoylaminobenzoic acids **7-9**.

The condensation of aromatic aldehydes **10** with malonic acid monoanilides **3** containing electron donating groups in aniline ring was even more complicated. The optimization of the process clarified optimal conditions for this reaction: heating in acetic acid at 75°C (Scheme 4). Under these circumstances we usually isolated (*E*)-2-arylidene malonic acid monoanilides **11-19** (the geometry of the double bond was approved by NOESY spectra and X-ray analysis); the compounds **11-19** were further decarboxylated by reflux in pyridine (till now such compounds have been decarboxylated only by melting<sup>35</sup>). The corresponding cinnamoyl anilines **20-28** formed stereoselectively – only *E*-isomers were obtained.<sup>36,37</sup>

## 2.2. Anilides of dihydrocinnamic acids

Dihydrocinnamoyl anilines **29-32** essential for structure-activity relationship studies were obtained according to the method, which has not been used previously for synthesis of compounds of this range – arylmethyl Meldrum's acids **33** were cleaved with aromatic

amines **5**. The reaction was carried out in toluene under reflux. In some cases we isolated 2-arylmethyl malonic acid monoanilides **34-36**, too (Scheme 5).<sup>29-31,38</sup>



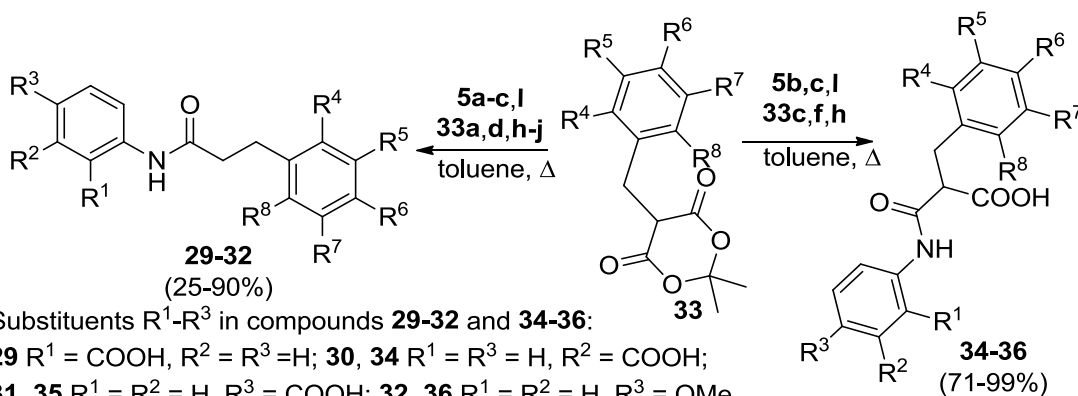
Substituents  $R^4$ - $R^8$  in the moiety of aromatic aldehyde **10**: **k**  $R^4 = R^6 = R^7 = R^8 = H$ ,  $R^5 = Br$ ; **l**  $R^4 = R^5 = R^7 = R^8 = H$ ,  $R^6 = NO_2$ ; **m**  $R^4 = R^6 = R^8 = OMe$ ,  $R^5 = R^7 = H$

Substituents  $R^1$ - $R^3$  in compounds **11-28** :

**11**, **20**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = Ac$ ; **12**, **21**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = Br$ ; **13**, **22**  $R^1 = R^2 = R^3 = H$ ; **14**, **23**  $R^1 = OMe$ ,  $R^2 = R^3 = H$ ; **15**, **24**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OMe$ ; **16**, **25**  $R^1 = OH$ ,  $R^2 = R^3 = H$ ; **17**, **26**  $R^1 = R^3 = H$ ,  $R^2 = OH$ ; **18**, **27**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OH$ ;

**19**, **28**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 =$

**Scheme 4.** Synthesis of 2-arylidene malonic acid monoanilides **11-19** and cinnamoyl anilines **20-28**.



Substituents  $R^1$ - $R^3$  in compounds **29-32** and **34-36**:

**29**  $R^1 = COOH$ ,  $R^2 = R^3 = H$ ; **30**, **34**  $R^1 = R^3 = H$ ,  $R^2 = COOH$ ;  
**31**, **35**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = COOH$ ; **32**, **36**  $R^1 = R^2 = H$ ,  $R^3 = OMe$

Substituents  $R^4$ - $R^8$  correspond to substituents of aromatic aldehydes **10**.

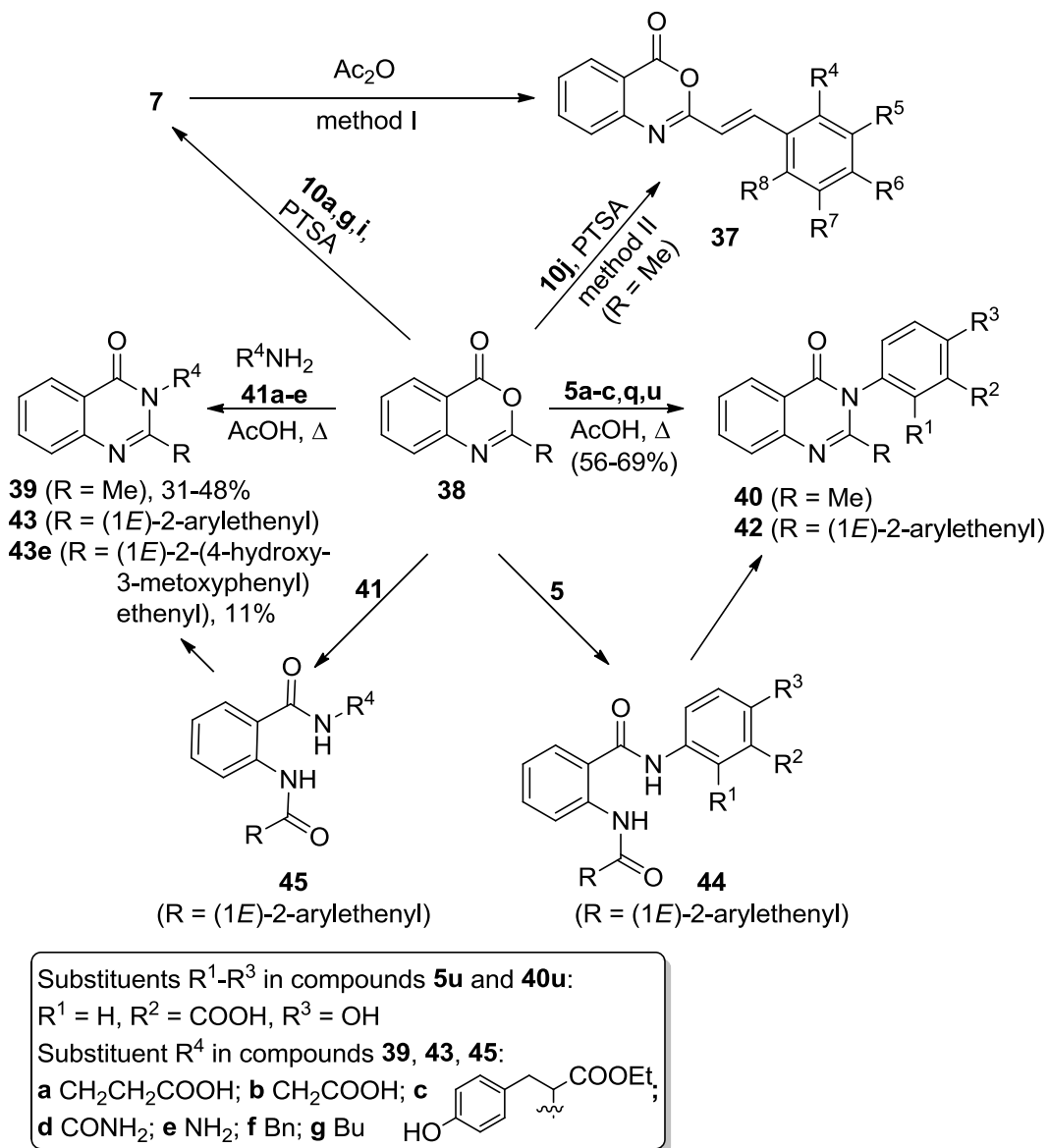
**Scheme 5.** Synthesis of dihydrocinnamoyl anilines **29-32** and 2-arylmethyl malonic acid monoanilides **34-36**.

### 2.3. Heterocyclic analogues of anilides of cinnamic acids

Various heterocycles – aenulamines and their *aza*-analogues 2-styrylquinazolin-4(3*H*)-ones, as well as 4-aryl-3,4-dihydroquinazolin-2(1*H*)-ones, 3-arylmethyl-4-

hydroxyquinazolin-2(1*H*)-ones and coumarin derivatives – were constructed on the skeleton of cinnamoyl anilines.

Benzo[1,3][d]oxazin-4-ones **37** were obtained by cyclization of cinnamoyl anilines **7** (Scheme 6, method I) or from 2-methylbenzo[1,3][d]oxazin-4-one (**38**) and aromatic aldehyde **10j** by refluxing in toluene in the presence of PTSA (method II).



**Scheme 6.** Synthesis of benzoxazin-4-ones and quinazolin-4-ones.

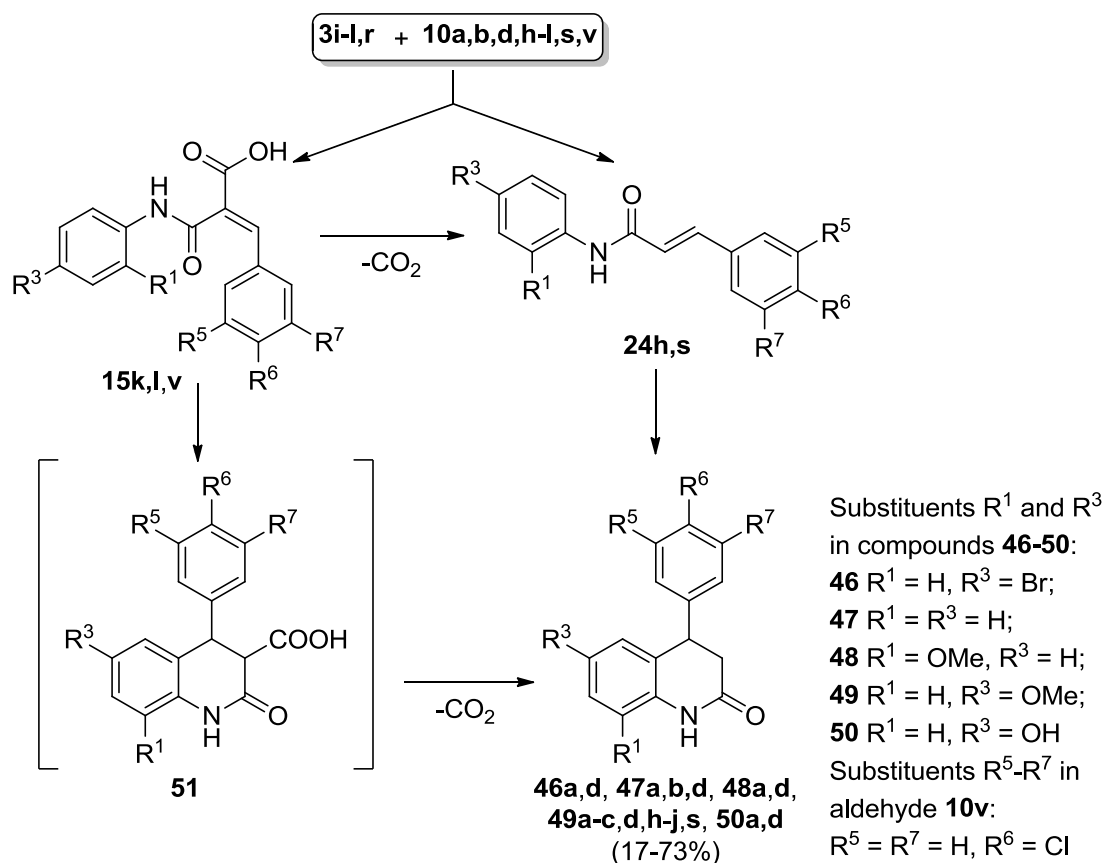
2-Methylquinazolin-4-ones **39** and **40** were synthesized from benzoxazinone **38** and amines **41** or **5**. When styryl group containing benzoxazinone **38** reacted with the amine **41** or **5**, we obtained mixture of quinazolin-4-one (**43** or **42**) and corresponding diamide (**45** or **44**); when this reaction was carried out with hydrazine hydrate, quinazolinone **43e** formed selectively.<sup>39</sup>

We have elaborated a two-step method for the synthesis of quinazolin-4-ones **42** and **43** from 2-styrylbenzo[d][1,3]oxazin-4-one **38** (R = (1*E*)-2-phenylethenyl); the method involves preparation of diamides **44** and **45** and sequential cyclization. The reaction of benzoxazinone **38** and aliphatic amines **41** proceeded under relatively mild conditions – both by reflux in pyridine in the presence of ethanol (1 eq.) and by heating in glycerol at 77°C (the yield of diamide **45** was ~90% in both cases). The reaction with aromatic amines **5** (especially when the amine contained electron donating groups) was more complicated: usually we obtained a mixture of diamide **44** and quinazolinone **42** – the highest yield (67%) of diamide **44** was achieved when the reagents were refluxed in *o*-xylene or toluene.<sup>40</sup>

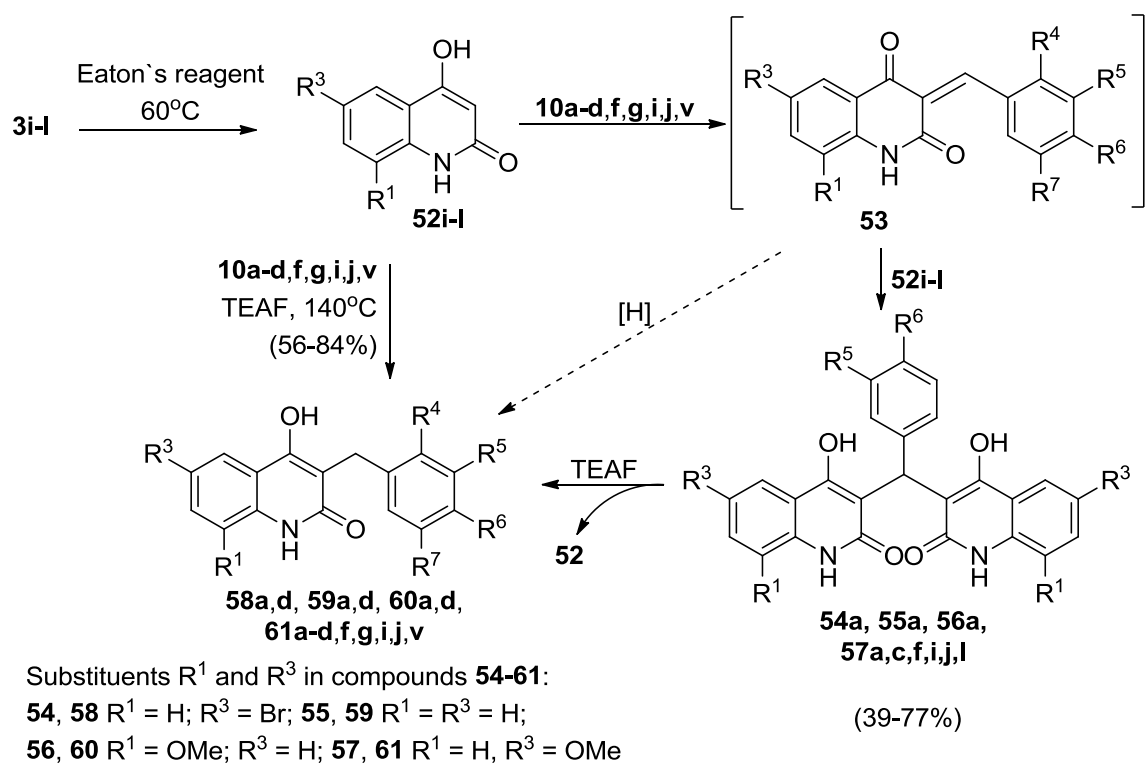
Optimal conditions for intramolecular cyclization of *N*-benzyl and *N*-phenyl-2-(cinnamoylamino)benzamides **45** and **44** were different: in the first case the most suitable was sodium methylate catalyzed reaction, but in the second – iodine (as Lewis acid) catalyzed silylation and deoxysilylation.<sup>40</sup>

We elaborated a new one-pot method for the synthesis of 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones **46-50** – intramolecular cyclization products of cinnamoyl anilines. Sequential Knoevenagel condensation, decarboxylation and Friedel-Crafts type intramolecular cyclization was realized by refluxing of malonic acid monoanilides **3** and aromatic aldehydes **10** in trifluoroacetic acid. We have studied the impact of the substituents on the composition of products; Knoevenagel condensation products **15** were obtained when the reaction was carried out with aldehydes **10** containing electron withdrawing groups (Scheme 7).<sup>41-44</sup> Our method contrary to other known methods is more economical and allows avoiding of usage of protecting groups, when the compounds contain hydroxyl groups in one or both aromatic rings.

Our attempts to convert 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones **52** to arylidene derivatives **53** (the next intended step was hydrogenation of these compounds) were unsuccessful – only *bis*-quinolin-2(1*H*)-ones **54-57** were isolated; therefore we have elaborated a new method for the synthesis of 3-arylmethyl-4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones **58-61** – tandem Knoevenagel condensation of 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones **52** with aromatic aldehydes **10** and successive hydrogenation in triethylammonium formate (Scheme 8). The reaction turned out applicable for the synthesis for 3-alkyl, 3-(3-hetarylallyl) and 3-(3-arylallyl)-4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones, as well as other cyclic 2-arylmethyl-1,3-diketones. We have found out that treatment of *bis*-quinolin-2(1*H*)-ones **54-57** with triethylammonium formate provides quinolinones **58-61**, too.



**Scheme 7.** Synthesis of 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones **46-50**.

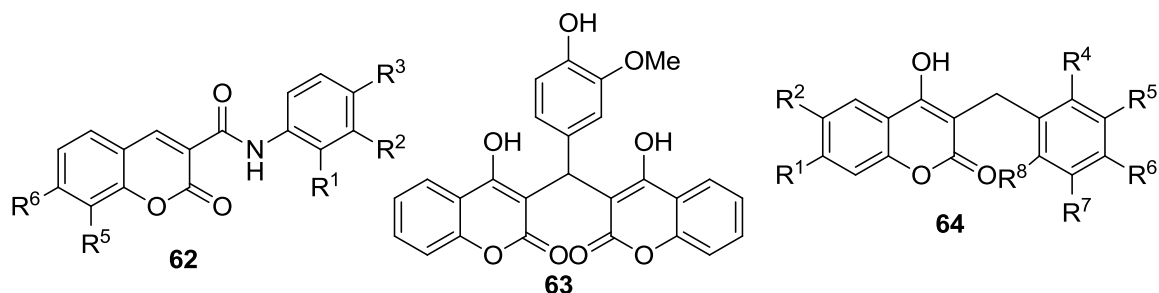


**Scheme 8.** Synthesis of 3-arylmethyl-4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones **58-61**.

Analogously to the known methods were obtained coumarin derivatives (Fig. 1) necessary for the evaluation of structure-antiradical activity relationships. Anilides of



coumarin-3-carboxylic acids **62** were synthesized from coumarin-3-carboxylic acids and aromatic amines, as well as from mono- or dianilides of malonic acid and 2-hydroxybenzaldehydes. *bis*-Coumarins (e. g., compound **63**) were obtained, when condensation of 4-hydroxycoumarin with aromatic aldehydes was carried out in pyridine; 3-arylmethyl-4-hydroxycoumarins **64** were isolated, when the process was realized in triethylammonium formate.



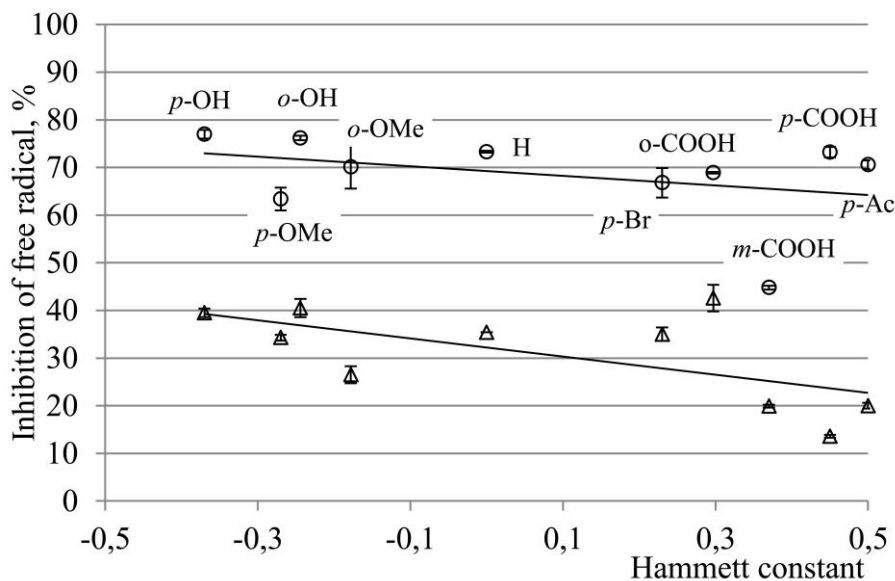
**Fig. 1.** Coumarin type analogues of avenanthramides.

### 3. Antiradical activity of the synthesized compounds

Antiradical activity (AA) of all the synthesized compounds was evaluated by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and galvinoxyl (GO) tests.<sup>45</sup> AA was detected, when the reaction reached equilibrium. The reaction with DPPH always was very fast, therefore the duration of test was 30 min in all cases; but the rate of the reaction with GO varied considerably depending from the class of the compounds. AA was expressed as inhibition of free radical (the molar ratio of the tested compound and free radical was 1:1) and  $IC_{50}$  – concentration, which is necessary to inhibit 50% of the free radical (the initial concentration of free radical in solution was 100  $\mu$ M).

We observed that only anilides of ferulic or sinapic acid demonstrated good or excellent antiradical activity among all *N*-cinnamoylaminobenzoic acids **7-9**. Feruloyl anilines **7a-9a** inhibited 70-73% of DPPH, but inhibition of GO was 13-42%;  $IC_{50}$  value was 44-80  $\mu$ M and 128-739  $\mu$ M, respectively. Sinapinoyl anilides **7d-9d** inhibited 96-99% of DPPH, but inhibition of GO was 64-79%;  $IC_{50}$  value was 21-38  $\mu$ M and 48-74  $\mu$ M, respectively. Other compounds **7-9** weakly inhibited free radicals.<sup>6,29-31,33,34,46,47</sup> General trends of AA were similar both for the piperidinium salts of *N*-cinnamoylaminobenzoic acids **7'** and **9'** and corresponding benzoic acids **7** and **9**;<sup>46</sup> the reaction of salts **7'** and **9'** with DPPH was even faster than with corresponding *N*-cinnamoylbenzoic acids (e. g., the reaction of DPPH with piperidinium salt **7'a** reached equilibrium in few seconds, but with *N*-cinnamoylaminobenzoic acid **7a** – in few minutes). It may be due to the fact, that less

phenolate ions (presence of which is essential for SPLET mechanism) are available in the reaction mixture in case of *N*-cinnamoylaminobenzoic acids **7-9**. Similarly, from those cinnamoyl anilines **20-28**, which did not contain carboxylic group in the aniline moiety, only anilides of ferulic or sinapic acid demonstrated good or very good antiradical properties. We found out that the substituents in the aniline moiety are not crucial for AA, but nevertheless electron donating groups slightly increased AA of cinnamoyl anilines (Fig. 2).<sup>35,37</sup>



**Fig. 2.** Correlation between inhibition of free radicals (DPPH and GO) and Hammett constants of the aromatic ring substituents in the aniline moiety of feruloyl anilines **7a-9a** and **20a-27a**. ○ – Inhibition of DPPH; △ - inhibition of GO. Data presented as a mean ± standard deviation.

Introduction of the substituent at the  $\alpha$ -carbon of acrylic fragment of cinnamoyl aniline did not have remarkable impact on the antiradical activity: monoanilides of 2-arylidene malonic acids **11-19** containing guaiacol or syringol moiety demonstrated AA, but it was about 20% lower than that of the corresponding anilides of cinnamic acids; IC<sub>50</sub> values of monoanilides of 2-arylidene malonic acids **11d-19d** containing syringol moiety were slightly smaller than that of corresponding sinapinoyl anilines **20d-28d**.<sup>35,37</sup> General trends of AA were similar in case of dianilides of 2-arylidene malonic acids and corresponding cinnamoyl anilines – only compound containing guaiacol fragment in cinnamic acid moiety demonstrated medium AA (according to DPPH test). It was observed that monoanilide of 2-arylidene malonic acid **15a** had lower antiradical activity than dianilide containing analogous substituents both in aniline and cinnamic acid moiety.

It was found out that the double bond of styryl moiety in cinnamoyl anilines is not crucial for the antiradical activity – anilides of dihydroferulic and dihydrosinapic acid **29a-**

**32a** and **29d-32d**, respectively, demonstrated similar or even higher AA than corresponding unsaturated analogues.<sup>29-31,38</sup> The effective conjugation of the formed anion or radical through the molecule ensured the activity of cinnamoyl anilines, while the presence of benzylic position was important in case of dihydrocinnamoyl anilines.

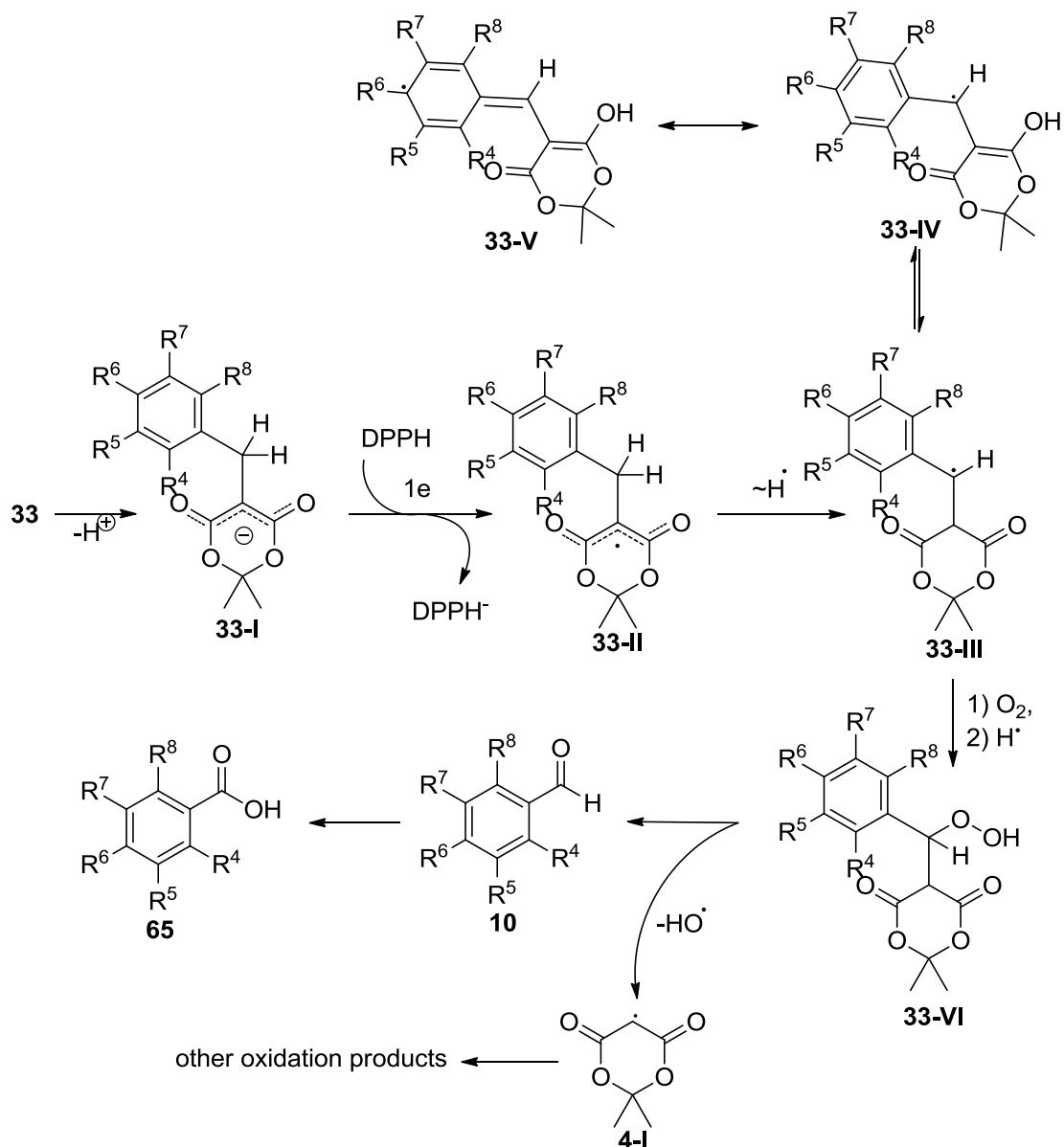
Taking into account that many of 2-substituted cyclic 1,3-dicarbonyl compounds are known as antioxidants, we tested antiradical activity of arylmethyl Meldrum's acids **33**, too.<sup>48-52</sup> Unlike from above mentioned compounds, arylmethyl Meldrum's acids **33** demonstrated very good or even excellent reactivity with DPPH independently from the aromatic ring substituents (inhibition of DPPH was 64-82%; inhibition of GO – 0-82%). Most likely, antiradical activity of compounds **33** was ensured by synergy of 2 (or even 3) reactive fragments – 1,3-dicarbonyl moiety, benzylic position and phenol group. Arylmethyl Meldrum's acids **33a,d,h,s** containing moiety of guaiacol or syringol, as well as *p*-dialkylaminophenyl group possessed the highest activity. The assessment of AA of variously substituted Meldrum's acid allowed to clear up that derivatives of Meldrum's acid acted according to SPLET mechanism in polar solvents: due to the C-H acidity of cycle of Meldrum's acid, anion **33-I** can be formed (Scheme 9); it was approved by the fact that disubstituted Meldrum's acids were inactive against DPPH, whereas phenyl, alkyl and allyl Meldrum's acids, as well as unsubstituted Meldrum's acid reacted with DPPH.

SPLET mechanism and formation of anion **33-I** was confirmed also by increased AA of (4-dialkylaminophenyl)methyl Meldrum's acids **33h,s** in comparison to other substituted Meldrum's acids (except those containing fragment of guaiacol or syringol): X-ray analysis confirmed that compound **33s** has zwitterion structure (Fig. 3). Formation of the radical **33-II** was approved by the isolation of product **66** obtained in reaction of DPPH with arylmethyl Meldrum's acid **33o** (Fig. 4).

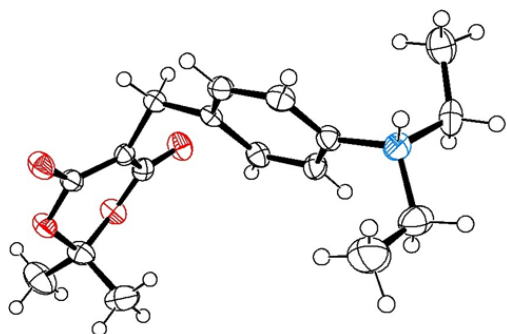
Arylmethyl Meldrum's acids **33** appeared oxidatively instable – they oxidize to aromatic aldehydes **10** and benzoic acids **65** in the presence of air. The plausible mechanism of the reaction includes addition of oxygen to benzyl radical **33-III** and homolytic cleavage of C-C bond forming radical of Meldrum's acid **4-I** (Scheme 9).

The substituents in the aromatic ring of 3-arylmethylquinolin-2(1*H*)-ones **58-61** influenced antiradical activity considerably in comparison to arylmethyl Meldrum's acids. Derivatives of vanillin and syringaldehyde demonstrated excellent AA (inhibition of DPPH was ~90%), but it was low or medium in case of other compounds (usually inhibition of DPPH was about 30%).<sup>48</sup> Analogous relationship was observed in case of 4-hydroxycoumarins **64**; *bis*-coumarin **63** demonstrated similar antiradical activity

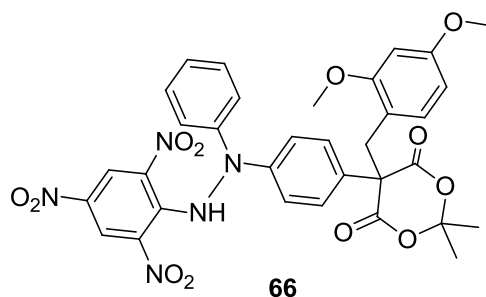
(inhibition of DPPH was 85%) as corresponding 4-hydroxycoumarins **64** containing guaiacol fragment at the third position.



**Scheme 9.** Plausible mechanisms of the reactions of arylmethyl Meldrum's acids **33** with free radicals.



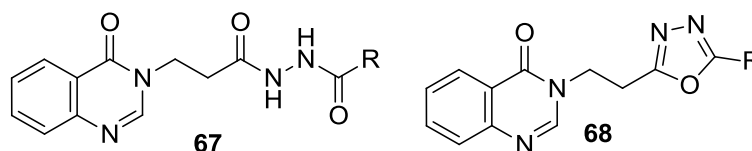
**Fig. 3.** ORTEP diagram of compound **33s**.



**Fig. 4.** Product of DPPH reaction with arylmethyl Meldrum's acid **33o**

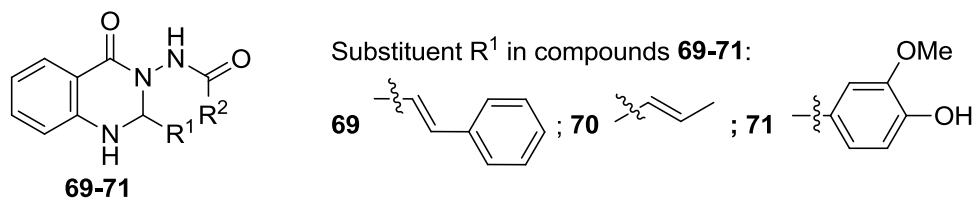
AA of the anilides of coumarin-3-carboxylic acids **62** strongly depended on the substituents in the aromatic ring of the coumarin moiety – only derivatives of 7,8-dihydrocoumarin-3-carboxylic acid possessed high activity.<sup>31</sup>

The antiradical activity of benzo[d][1,3]-oxazin-4-ones **37**, similarly as in case of cinnamoyl anilines, was provided by substituents in the benzene ring of styryl group: absence of free hydroxyl groups in cinnamic acid moiety led to inactivity. The presence of styryl group in the 2<sup>nd</sup> position was essential for the activity of quinazolin-4-ones, too: 2-methylquinazolin-4-ones **39** and **40** were inactive, but 3-amino-2-[(1*E*)-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)ethenyl]quinazolin-4-one (**43e**) demonstrated good inhibition of DPPH.<sup>39</sup> 2-Unsubstituted quinazolin-4-ones **67** and **68** (Fig. 5) exhibited only small activity; AA of compounds **67** to a certain extent was ensured by hydrazide fragment – its substitution with oxadiazole ring (see compounds **68**) reduced the activity.<sup>53</sup>



**Fig. 5.** 3-Substituted quinazolinones **67** and **68**.

Partially hydrogenated quinazolin-4-ones **69-71** (Fig. 6) did not possess any antiradical activity; only compounds **71** containing vanillin moiety at 2<sup>nd</sup> position of the heterocycle demonstrated negligible AA.<sup>54</sup>

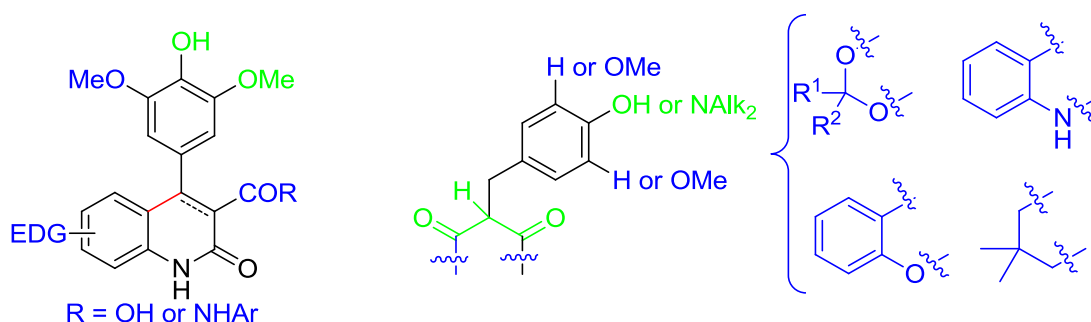


**Fig. 6.** 3-Acylamino-2,3-dihydroquinazolin-4(1*H*)-ones **69-71**.

Intramolecular cyclization of cinnamoyl anilines reduced antiradical activity: 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones **46-50** demonstrated at least for 20% lower inhibition of free radicals in comparison to the corresponding acyclic analogues; only derivatives of syringic aldehyde **46d-50d** showed high AA.<sup>41,42,44</sup>

The evaluation of the influence of structural modifications on antiradical activity allowed to establish structural elements essential for AA of the cinnamoyl anilines. Hydroxyl group in the 4<sup>th</sup> position of the benzene ring of cinnamic acid moiety with at least one methoxy group in *o*-position anent to hydroxyl group is crucial. The double bond of the styryl group can be replaced with a single bond and hydrogen at  $\alpha$ -carbon atom of the acrylic acid part can be displaced both with carboxyl group and arylaminocarbonyl

group, but intramolecular cyclization of cinnamoyl anilines is undesirable. Substituents in the aniline moiety of the analogues of avenanthramides have negligible impact on the antiradical activity; nevertheless presence of electron donating groups slightly increases AA. Arylmethyl Meldrum's acids can be considered as 1,3-dicarbonyl type antioxidants. Substituents in the benzene ring are not crucial for antiradical activity of these compounds. In order to increase their AA, it is preferable: 1) to combine 1,3-dicarbonyl moiety and phenol type antioxidant fragment in one compound or 2) to introduce dialkylamino group in 4<sup>th</sup> position of benzene ring. 1,3-Dioxane-4,6-dione cycle can be replaced by other cyclic 1,3-dicarbonyl moiety, if the arylmethyl substituent at C2 (between both carbonyl groups) contains moiety of vanillin or syringaldehyde (Fig. 7).



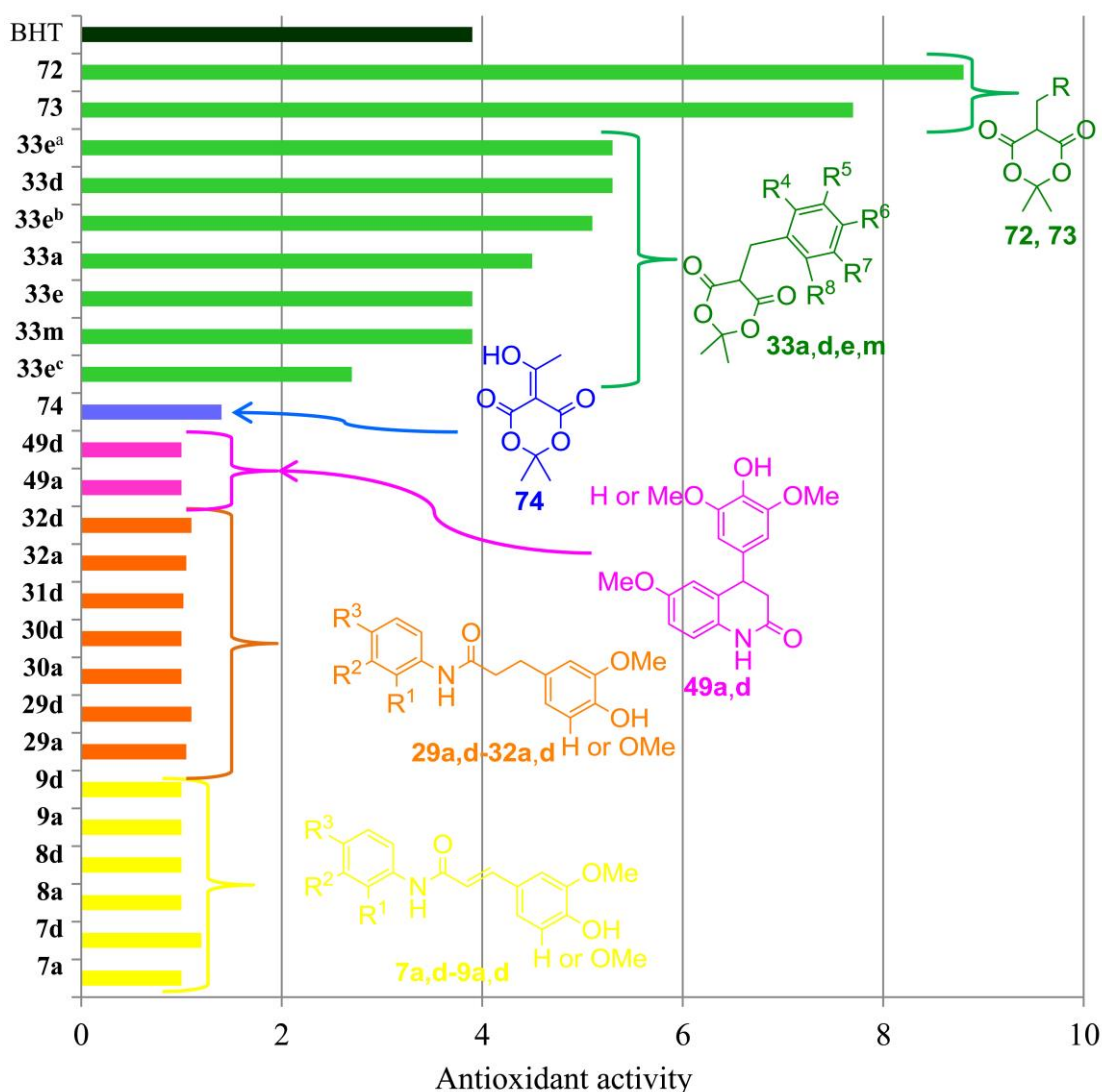
**Fig. 7.** Structural elements crucial for antiradical activity: in green color – functional groups increasing AA, in blue – fragments possessing weak impact on AA, in red – modification leading to decrease of AA.

#### 4. Antioxidant activity of the synthesized compounds

The antioxidant activity (AOA) of the most active (according to AA values) representatives of each class of compounds was tested. AOA was expressed as inhibition of oxidation processes of vegetable oils and their methyl esters (biodiesel); the samples were kept at accelerated oxidation conditions and oxidation processes were monitored with peroxide values. Additive of monosubstituted Meldrum's acids **33** and **72**, **73** remarkably increased the oxidative stability of rapeseed oil methyl esters (RME); acetyl Meldrum's acid (**74**) showed small AOA.<sup>49,52</sup> The most of the cinnamoyl anilines **7-9**,<sup>6,47</sup> their hydrogenated analogues **29-32**<sup>47</sup> (their activity was similar or slightly higher in comparison to cinnamoyl anilines) and 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones **49**<sup>41</sup> were mainly inactive (Fig. 8).

The impact of few of the synthesized cyclic 1,3-dicarbonyl compounds (**33a,d,e**, **57a**, **64a** and **75** (see Fig. 10 for structure **75**)) on the oxidative stability of RME was tested also by Rancimat method. Almost all samples containing the additive of dicarbonyl compound (except derivative of coumarin **64** (RIP < 5.5)) demonstrated higher RIP values than

biodiesel without an additive; the additive of the derivative of vanillin **33a** (90  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ) fulfilled the requirement set for the oxidative stability of biodiesel by standard LVS EN 14214. Few arylmethyl Meldrum's acids **33e,d**, **72** and **73** were added to polyunsaturated vegetable oils: oxidative stability of rapeseed oil increased 1.2-1.4 times. The oxidative stability of other oils (obtained from seeds of Japanese quince, grapes and flax) even decreased, if synthesized compounds were added; might be it was due to unfortunately chosen amount of the additive (antioxidant-prooxidant effect).

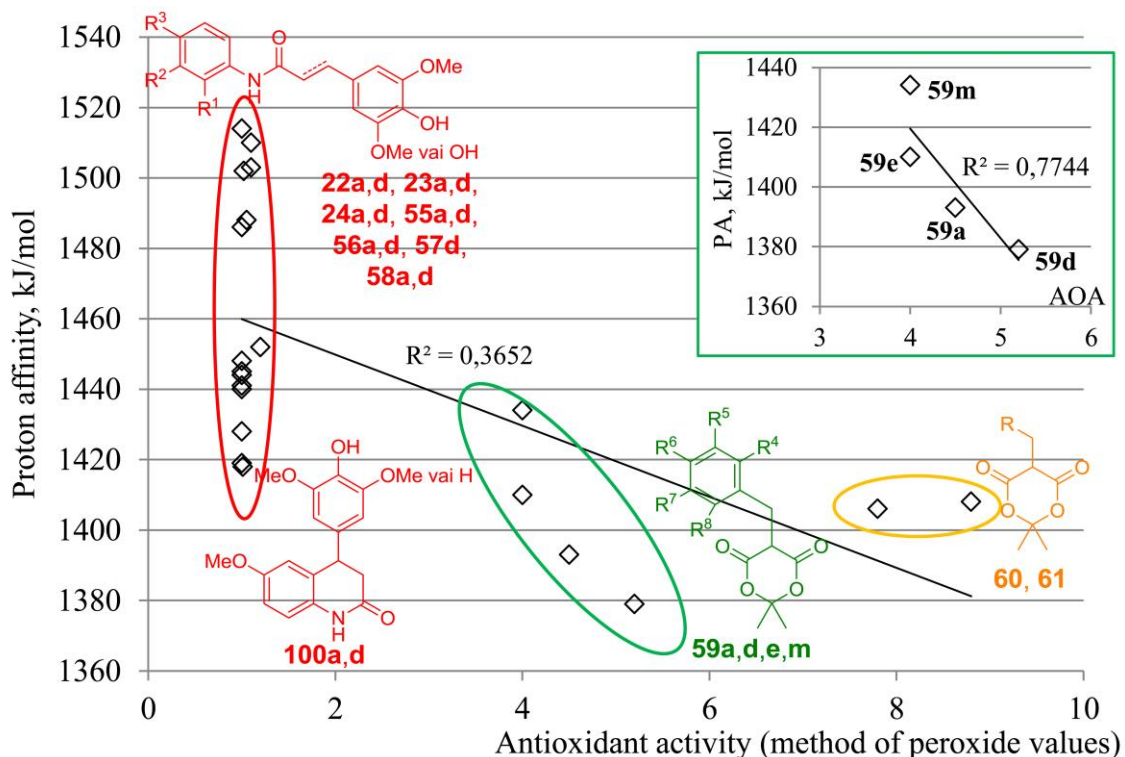


**Fig. 8.** The impact of the additive of cinnamoyl anilines **7-9**, dihydrocinnamoyl anilines **29-32**, 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones **49** and derivatives of Meldrum's acid **33** and **72-74** on the oxidative stability of RME (method of peroxide values).

The amount of additive was 90  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$  RME, if not otherwise mentioned; <sup>a</sup>225  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ; <sup>b</sup>180  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ ; <sup>c</sup>45  $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ .

## 5. Quantum chemical calculations of antiradical and antioxidant activity

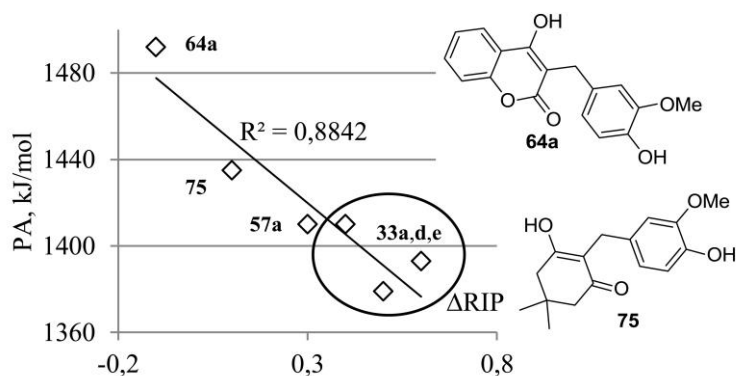
Nowadays, quantum chemical calculations are widely used to predict structure-activity relationships, including studies of antioxidants; nevertheless, data about correlation of theoretical calculations with experimentally detected antiradical/antioxidant activity are missing in the literature. Both proton affinity (PA) and bond dissociation enthalpy (BDE) values in gas phase were calculated for representatives of all classes of synthesized compounds: above mentioned values were calculated by HT-3-21g method using GausView 5.0.8 program for the bonds which appeared crucial for antiradical activity: C(2)H bond of the moiety of 1,3-dicarbonyl compound, CH bond of benzylic position, phenol type OH bond and enol type 4-OH bond (for 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones and 4-hydroxycoumarins), as well as for COOH and NH bonds. Unfortunately, comparison of experimental results and theoretically calculated parameters did not show correlation between them; only slight trend was found out: compounds with higher AA had lower proton affinity. The correlation was not observed between proton affinity and AOA, too: e. g., proton affinity of compounds **32d**, **33e** and **72** was similar (1410-1420 kJ/mol), but their AOA was completely different - 1, 4 and 8.8, respectively (Fig. 9).



**Fig. 9.** Correlation between proton affinity (PA of phenol type OH bond for the compounds **7-9**, **29-32** and **49**, PA of C(2)H bond for the compounds **33**, **72** and **73**) and AOA (determined by oxidative stability tests of RME).



Better correlation between proton affinity and antioxidant activity was observed in range of arylmethyl Meldrum's acids **33** and similar to them cyclic 2-arylmethyl-1,3-dicarbonyl compounds (Fig. 10).



**Fig. 10.** Correlation between proton affinity of compounds **33** (PA of C(2)H bond) and compounds **57a**, **64a** and **75** (PA of enol type 4-OH bond) and  $\Delta$ RIP value determined by oxidative stability tests of RME.

Correlation was not found between bond dissociation enthalpy and antioxidant activity, too - compounds with similar BDE demonstrated different AOA. For example, additive of 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-one **61a** increased oxidative stability of biodiesel, while 4-arylquinolin-2(1*H*)-one **49a** did not affect the stability; nevertheless, BDE values of the benzylic position for both compounds were similar: 183-188 kJ/mol. Perhaps, the correlation was not observed due to the antioxidant-prooxidant effect, which could be present as the concentration used to determine antioxidant activity of the compounds was not optimized.

It turns out from our results that quantum chemical methods are suitable to predict the mechanism of reaction between antioxidant and free radical (e. g., SPLET or HAT (hydrogen atom transfer) mechanism). Nevertheless, the calculation of PA and BDE only for the most reactive bonds is insufficient for objective prediction of antioxidant ability to inhibit free radical, especially, when compound contains several reactive groups (e. g., 1,3-dicarbonyl moiety, benzylic position and phenol) and the synergy of these groups can happen. It was cleared up that quantum chemical calculations by HT-3-21g method cannot replace the experimental *in vitro* determination of antiradical and antioxidant activity of synthesized compounds.

## CONCLUSIONS

1. Oxidative stability of polyunsaturated vegetable oils and their methyl esters can be increased (in average up to 1.3-1.5 times) with extracts of grains of barley, grains and hulls of oats, seeds of buckwheat and Japanese quince, as well as pomace, buds and seeds of black currant. Nevertheless the impact of the extracts strongly depends on the concentration of the antioxidant in extract, as antioxidant/prooxidant effect was often observed. The extracts demonstrated better antioxidant activity in case of rapeseed oil and its methyl esters. Application of ultrasound for extraction allows to increase total amount of polyphenols at mild conditions and in shorter time. The highest oxidative stability was reached using oat grains – oxidative stability of extracts obtained with rapeseed and hempseed oils rose more than 3 times in comparison with pure oils; it was twice less in case of oat hulls.
2. It was found out, that seeds of Japanese quince – a by-product from food industry – are applicable to produce oil with high level of  $\alpha$ -tocopherol (86 mg/100 g of oil); it is about 10 times higher (110 mg/kg of seeds) in comparison to barley grains. For the first time chlorogenic acid, sinapic acid and ellagic acid were identified in the seeds of Japanese quince.
3. The methods of the synthesis of cinnamoyl anilines by condensation of monoanilides of malonic acid with aromatic aldehydes, as well as cleavage of Meldrum`s acid with aryl amines were optimized.
4. A range of new synthetic methods was elaborated: decarboxylation of monoanilides of 2-arylidene malonic acids, synthesis of dihydrocinnamoyl anilines from arylmethyl derivatives of Meldrum`s acid and arylamines, 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones from monoanilides of malonic acid and aromatic aldehydes, 3-arylmethyl-4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones from 4-hydroxyquinolin-2(1*H*)-ones and aromatic aldehydes, as well as 3-aryl-2-styryl-quinazolin-4(3*H*)-ones from corresponding anilides of *N*-cinnamoylantranilic acid.
5. It was found out for the first time that the presence of electron donating groups in the aniline moiety of both sinapinic and ferulic acid anilides increased the antiradical activity. Substitution of styryl fragment with 2-arylethyl group did not affect antiradical properties remarkably; nevertheless the hydrogenated analogues were slightly more active. Intramolecular cyclization of cinnamoyl anilines leading to formation of 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones reduced antiradical activity.

6. A new class of antioxidants is discovered: Meldrum`s acid and its monosubstituted derivatives demonstrate excellent antiradical properties. 1,3-Dioxane-4,6-diones containing benzyl, hetarylmethyl, hetarylallyl or arylallyl group at 5<sup>th</sup> position possessed the highest activity. Substituents in the aromatic ring had insignificant effect on the antiradical activity of arylmethyl Meldrum`s acids. The acidity of 1,3-dicarbonyl moiety C(2) was important for antiradical activity; the presence of benzyl group was significant, too.
7. It was found out that several arylmethyl Meldrum`s acids were oxidatively unstable in the presence of air. They demonstrated antioxidant activity in vegetable oils and their methyl esters.
8. It was explored, that the reaction between DPPH and cinnamoyl anilines or arymethyl Meldrum`s acids proceeded *via* SPLET mechanism in ethanol, but 4-aryl-3,4-dihydroquinolin-2(1*H*)-ones reacted with DPPH according to HAT mechanism.
9. It was established, that PA and BDE values of the most reactive OH and CH bonds (calculated by HF-3-21g method) only partially can be applied for prediction of antiradical and antioxidant activity of compounds. It is possible to foresee the most active functional group in the structure, which reacts according to SPLET or HAT mechanism. Nevertheless, correlation was not found between antiradical/antioxidant activity and PA or BDE values, when the compound contained several reactive groups and the mechanism of antioxidant action was based on the synergy of these groups.
10. Sinapinic and ferulic acid anilides and corresponding anilides of dihydrocinnamic acid, as well as 2-arylmethyl-1,3-dicarbonyl compounds, containing syringaldehyde or vanillin substituents in aromatic ring, or dialkylaminophenyl group, exhibited similar or even remarkably higher inhibition of free radicals DPPH and GO than commercially widely used antioxidant BHT.

## ACKNOWLEDGEMENT

This work could not be done without the support of colleagues and friends from Institute of Technology of Organic Synthesis and Department of Chemical Technology of Biologically Active Compounds, who allowed me to feel at home in our labs. First of all, I would like to thank leading researchers *Dr. chem.* Daina Zicāne and *Dr. chem.* Zenta Tetere and researcher Iriša Rāviņa for collaboration within the studies of antiradical activity of quinazolin-4-ones and encouragement to focus on search of antioxidants within range of derivatives of Meldrum's acid (it lately appeared very valuable part of my thesis). I would like to thank professor *Dr. chem.* Māris Turks for assistance in solving of the most challenging structures of synthesized compounds with 2D NMR methods, leading researcher *Dr. phys.* Anatolijs Mišņovs (Latvian Institute of Organic Synthesis (LIOS)) for X-ray diffraction analysis, as well as researcher Rūta Kampare (RTU, Institute of Applied Chemistry) for Rancimat analysis. I thank researcher Viktors Kumpiņš for assistance with HPLC and LC-MS analysis. Besides that, I would like to thank research assistant Artis Kinēns (LIOS) for introducing me with quantum chemical calculation methods and our laboratory colleagues, students Agnese Stikute, Alina Bondarevska, Jūlija Moskaļuka, Laura Žumbure, Laura Vizbule, Elga Ivdre, Ilze Neibolte, Vineta Drinka, Mažena Zaharova, Ilze Verpakovska, Darja Kostjuņina and Sindija Zēberga for common publications and time spent together. Special thanks to researchers Maija Strēle and passed away Rasma Seržane, who 10 years ago introduced me with the amazing world of vegetable oils. The most special thanks I would like to devote to my supervisor professor *Dr. chem.* Māra Jure, who involved me in research activities during my 3<sup>rd</sup> year of studies – so, I fell for chemistry and found my place. I thank for valuable scientific discussions, unlimited patience, support and belief to my aptitude.

## LITERATŪRA / REFERENCES

1. Lamson, D. M.; Brignall, M. S. *Altern. Med. Rev.* **2000**, 5, 196.
2. Eberhardt, M. V.; Lee, C. Y.; Liu, R. H. *Nature* **2000**, 405, 903.
3. Leveen, H. H.; Leveen, R. F.; Leveen, E. G. U. S. Patent 4840939, 1989.
4. Pan, M. H.; Chen, W.-J. In *Functional Food and Health (ACS Symposium Series)*. **2008**, 335.
5. Watson, J. *Open Biol.* **2013**, <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.120144>.
6. Mierina, I.; Jure, M.; Strele, M.; Serzane, R. In *17<sup>th</sup> International conference "EcoBalt 2012"*, Riga, Latvia, Oct 18-19<sup>th</sup>, 2012; 56.
7. Jure, M.; Serzane, R.; Strele, M.; Mierina, I. In *8<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress "Oils, Fats and Lipids. Health & Nutrition, Chemistry & Energy"*, Munich, Germany, Nov 21<sup>st</sup>-24<sup>th</sup>, 2010; LAMI-014.
8. Zeberga, S.; Strele, M.; Vojevodova, A.; Mierina, I.; Jure, M. In: *9th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for Consumer Well-Being" (FoodBalt 2014): Conference Proceedings*, Jelgava, Latvia, May 8-9<sup>th</sup>, 2014; 81.
9. Zeberga, S.; Strele, M.; Vojevodova, A.; Mierina, I.; Jure, M. In: *9th Baltic Conference on Food Science and Technology "Food for Consumer Well-Being" (FoodBalt 2014)*, Jelgava, Latvia, May 8-9<sup>th</sup>, 2014, 40.
10. Ivdre, E.; Strēle, M.; Mieriņa, I.; Jure, M. *Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress un Letonikas IV kongress: sekcija "Tehniskās zinātnes": tēžu krājums*, Rīga, Latvija, 24.-27. okt., 2011; 101.
11. Ivdre, E.; Mierina, I.; Jure, M. In *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference dedicated to the 150<sup>th</sup> anniversary and The 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Riga, Latvia, Oct 14<sup>th</sup>, 2012; 75.
12. Vizbule, L.; Seržane, R.; Mieriņa, I.; Jure, M. *Apvienotais pasaules latviešu zinātnieku III kongress un Letonikas IV kongress: sekcija "Tehniskās zinātnes": tēžu krājums*, Rīga, Latvija, 24.-27. okt., 2011; 100.
13. Mierina, I.; Serzane, R.; Jure, M. In *Lipids, Fats and Oils. From Knowledge to Application: 7<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Graz, Austria, Oct 18<sup>th</sup>-21<sup>st</sup>, 2009; 281.
14. Mieriņa, I.; Seržane, R.; Strēle, M.; Moskaļuka, J.; Ivdre, E.; Jure, M. *Proc. Latv. Acad. Sci., Sect. B* **2013**, 67, 405.

15. Mieriņa, I.; Seržane, R.; Strēle, M.; Moskaļuka, J.; Segliņa, D.; Jure, M. In *6th Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for Food Science and Production": Conference Proceedings*, Jelgava, Latvia, May 5-6<sup>th</sup>, 2011; 98.
16. Mierina, I.; Serzane, R.; Strele, M.; Moskaluka, J.; Ivdre, E.; Jure, M. In *International Conference "NUTRITION AND HEALTH"*, Riga, Latvia, Sept 4-6<sup>th</sup>, 2012; 49.
17. Mierina, I.; Serzane, R.; Strele, M.; Moskaluka, J.; Seglina, D.; Jure, M. In *6<sup>th</sup> Baltic Conference on Food Science and Technology "Innovations for Food Science and Production": Abstract Book*, Jelgava, Latvia, May 5-6<sup>th</sup>, 2011; 75.
18. Mierina, I.; Bondarevska, A.; Seglina, D.; Jure, M. In *Organic Chemistry, Proceedings of Scientific Conference*, Kaunas, Lithuania, April 21<sup>st</sup>, 2010; 18.
19. Mieriņa, I.; Bondarevska, A.; Jure, M. *RTU zinātniskie raksti. 1. sēr., Materiālzinātne un lietišķā ķīmija* **2011**, 23, 43.
20. Mierina, I.; Bondarevska, A.; Seglina, D.; Jure, M. In *8<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress "Oils, Fats and Lipids. Health & Nutrition, Chemistry & Energy"*, Munich, Germany, Nov 21<sup>st</sup>-24<sup>th</sup>, 2010; LAMI-019.
21. Mierina, I.; Zumbure, L.; Jure, M. In *Abstracts of the 52<sup>nd</sup> International Scientific Conference of Riga Technical University*, Riga, Latvia, Oct 13-15<sup>th</sup>, 2011; 48.
22. Collins, F. W. *J. Agric. Food Chem.* **1989**, 37, 60.
23. Peterson, D. M. *J. Cereal Sci.* **2001**, 33, 115.
24. Nishigaki, T. *Virchows Arch. B* **1998**, 55, 311.
25. Kamat, S. P.; Parab, S. J. *Ind. J. Chem.* **2007**, 46B, 2074.
26. Mierina, I.; Stikute, A.; Jure, M. In *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference*, Kaunas, Lithuania, April 25<sup>th</sup>, 2012; 61.
27. Mierina, I.; Stikute, A.; Jure, M. In *International Conference on Organic Synthesis Balticum Organicum Syntheticum. Program and Abstracts*, Talinn, Estonia, July 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup>, 2012; 180.
28. Mierina, I.; Stikute, A.; Jure M. (manuskripts sagatavots iesniegšanai).
29. Mierina, I.; Jure, M. In *Abstracts of the 52<sup>nd</sup> International Scientific Conference of Riga Technical University*, Riga, Latvia, Oct 13-15<sup>th</sup>, 2011; 47.
30. Mierina, I.; Jure, M. In *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference*, Kaunas, Lithuania, April 25<sup>th</sup>, 2012; 65.
31. Mierina, I.; Stikute, A.; Drinka, V.; Jure, M. In *13<sup>th</sup> Belgian Organic Synthesis Symposium. Programme & Book of Abstracts*, Leuven, Belgium, July 15-20<sup>th</sup>, 2012; 234.

32. Mierina, I.; Zaharova, M.; Jure, M.; Neibolte I. (manuskripts sagatavots iesniegšanai).
33. Mierina, I.; Neibolte, I.; Jure, M. In *17<sup>th</sup> European Symposium on Organic Chemistry: Book of Abstracts*, Greece, Crete, 10<sup>th</sup>-15<sup>th</sup> July, 2011, P1.217.
34. Mierina, I.; Neibolte, I.; Jure, M. In *Organic Chemistry: Proceedings of Scientific Conference Chemistry and Chemical Technology*, Lithuania, Kaunas, 27<sup>th</sup> April, 2011, 28.
35. Pandya, K. C.; Pandya, R. B. *Proc. – Indian Acad. Sc., Sect. A* **1943**, 17, 1.
36. Stikute, A.; Mierina, I.; Jure M. In *18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*, Marseille, France, July 7-12<sup>th</sup>, 2013; 465.
37. Mierina, I.; Stikute, A.; Mišņovs, A.; Jure, M. (manuskripts sagatavots iesniegšanai).
38. Mierina, I.; Jure, M. In *International conference on organic synthesis Balticum Organicum Syntheticum. Program and Abstracts*, Talinn, Estonia, July 1<sup>st</sup>-4<sup>th</sup>, 2012; 134.
39. Jure, M.; Mierina, I. In *23<sup>rd</sup> International Congress of Heterocyclic Chemistry: Programme & Abstract Book*, United Kingdom, Glasgow, 31<sup>st</sup> July - 4<sup>th</sup> August, 2011, 209.
40. Mieriņa, I.; Stikute, A.; Jure, M. In *7<sup>h</sup> Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*, Riga, Latvia, 12<sup>nd</sup>-13<sup>rd</sup> September, 2011. [*Latvijas Ķīmijas žurnāls*, **2012**, 1, 67]
41. Миериня, И.; Стикуте, А.; Юре, М. *XFC*, **2014**, 1232.
42. Stikute, A.; Mierina, I.; Jure, M. In *18th European Symposium on Organic Chemistry (ESOC 2013)*, Marseille, France, 7-12<sup>th</sup> July, 2013, 593.
43. Stikute, A.; Mieriņa, I.; Jure, M. In *8<sup>th</sup> Paul Walden Symposium on Organic Chemistry*, Riga, Latvia, 13-14<sup>th</sup> May, 2013, 100.
44. Stikute, A.; Mierina, I.; Jure, M. In *XVth Conference on Heterocycles in Bio-organic Chemistry*, Riga, Latvia, 27-30<sup>th</sup> May, 2013, 102.
45. Mieriņa, I.; Jure, M. *Latvijas ķīmijas žurnāls* **2010**, 3/4, 221.
46. Mierina, I.; Zaharova, M.; Jure, M.; Neibolte I. (manuskripts sagatavots iesniegšanai).
47. Mierina, I.; Jure, M. In *10th Euro Fed Lipid Congress*, Poland, Cracow, 23-26<sup>th</sup> September, 2012, 283.
48. Mierina, I.; Stikute, A.; Verpakovska, I.; Jure, M. In: *Riga Technical University 55<sup>th</sup> International Scientific Conference*, Riga, Latvia, 14-17<sup>th</sup> October, 2014 (in print).
49. Mieriņa, I.; Jure, M.; Zēberga, S.; Zicāne, D.; Tetere, Z.; Rāviņa, I. LV Patent Appl. P-14-52, Juny 27, 2014.

50. Mierina, I.; Jure, M.; Zicane, D.; Tetere, Z.; Ravina, I. In *Riga Technical University 53<sup>rd</sup> International Scientific Conference dedicated to the 150<sup>th</sup> anniversary and The 1<sup>st</sup> Congress of World Engineers and Riga Polytechnical Institute / RTU Alumni*, Latvia, Riga, 14<sup>th</sup> October, 2012, 74.
51. Mierina, I.; Jure, M.; Zicane, D.; Tetere, Z.; Ravina, I. (manuskripts sagatavots iesniegšanai).
52. Mierina, I.; Jure, M.; Zeberga, S.; Mishnev, A.; Zicane, D.; Tetere, Z.; Ravina, I. In: *12<sup>th</sup> Euro Fed Lipid Congress*, Montpellier, France, 14-17<sup>th</sup> September, 2014, 486.
53. Zicane, D.; Tetere, Z.; Mierina, I.; Turks, M.; Ravina, I.; Leonciks, A. *J. Chem. Pharm. Res.* **2014**, *6*, 1153.
54. Mierina, I.; Tetere, Z.; Zicane, D.; Ravina, I.; Turks, M.; Jure, M. *Chem. Heterocycl. Compd.* **2013**, *48*, 1824.