

ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ, БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВИХ S-ПОХІДНИХ 4-АЛКІЛ-5-(((3-(ПІРИДИН-2-ІЛ)-1H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ІЛ)ТІО)МЕТИЛ)-4H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ

Карпун Євген Олександрович

Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, Україна
ekarpun@yahoo.com

Сьогодні фармацевтичний ринок є одним із найшвидше зростаючих сфер у світі. Тому сучасний стан фармацевтичної галузі в Україні потребує від вітчизняних вчених впровадження ефективних лікарських препаратів. З огляду на можливість модифікації та зручності введення різних замісників дуже перспективним являється 1,2,4-триазол - п'ятичленний азотовмісний гетероцикл [1]. Завдяки своїй структурі похідні 1,2,4-триазолу використовуються у медичній хімії, сільському господарстві, ветеринарії [2]. Зокрема, серед представників цієї системи впроваджені в клінічну та ветеринарну практику такі препарати як: «Флуконазол», «Авестим», «Трифузол-Нео», «Траконазол», «Тіотриазолін», «Фортіс Комбі».

Ми вважаємо, що перспективним напрямом є створення різних класів сполук, які об'єднують два фрагменти 1,2,4-триазолу у своїй структурі з цілю пошуку нових біоактивних молекул з розширеним спектром біологічної активності. Подвоєння реакційних центрів обумовлює позитивний вплив на проявлення біологічної активності, що є перспективним напрямом обраного дослідження [3].

Метою нашої роботи був цілеспрямований синтез нових S-похідних на основі 4-алкіл-5-(((3-(піридин-2-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів, дослідження фізико-хімічних показників за допомогою сучасних комплексних методів аналізу, проведення біологічного скринінгу *in vitro* та *in vivo* для виявлення фармакологічного потенціалу, визначення залежності між структурою-біологічною дією.

Треба відмітити, що схожі за будовою біс-1,2,4-триазол-3-тіони були предметом дослідження вітчизняних вчених [4]. Відмінність полягає у наявності різного фармакофора у п'ятому положенні першого 1,2,4-триазолового циклу та відсутності алкільного замісника у четвертому N положенні другого 1,2,4-триазолового циклу.

Синтез вихідної речовини базується на зальновідомих методах [5], а саме на циклоконденсації тіосемикарбазиду в лужному середовищі. S-похідні 4-алкіл-5-(((3-(піридин-2-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів були отримані шляхом алкілування за атомом Сульфуру з застосуванням еквімолярної кількості лугу, що додають одночасно з додаванням відповідного реагенту (рис. 1). В якості алкілюючих агентів виступали ізопропіл 2-хлорацетат, бромалкани, 2-хлорацетамід, 2-хлоретанол, фенацилброміди, хлоретанова кислота, 1-бром-2-пропанон, 2-хлоретанон. Утворені сполуки представляли собою жовті, помаранчеві, коричневі кристали, які добре розчинні у диметилформаміді, диметилсульфоксиді, воді, малорозчинні у спиртах, та практично нерозчинні у неполярних розчинниках. Отриманні сполуки кристалізували з суміші вода-метанол у співвідношенні 1:1.

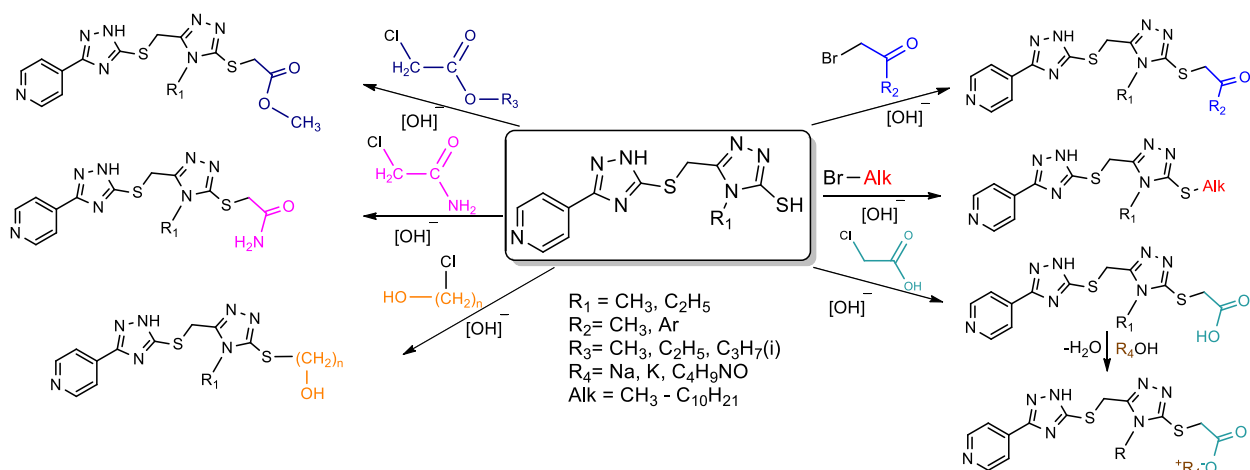


Рисунок 1. - Схема синтезу досліджуваних S-похідних біс-1,2,4-триазолів.

Було експериментально доведено, що введення функціональних замісників у біс-1,2,4-триазол-3-тіону за атомом Сульфуру призводить до зміщення розчинності у бік більш полярних речовин. У свою чергу S-похідні з одним 1,2,4-триазольним фрагментом майже не розчинні у воді, та погано розчиняються у високополярних розчинниках.

Структура синтезованих біс-похідних 1,2,4-триазолу підтверджена комплексом фізичних та інструментальних методів аналізу, таких як елементний аналіз, ІЧ-спектроскопія, ЯМР-спектроскопія ^1H , ^{13}C , хромато-мас-спектрометричний аналіз. Індивідуальність сполук вивчали за допомогою ГХ/МС. Спектри ^1H ЯМР сполук має характерний синглетний сигнал метиленового лінкеру у слабкому полі в ділянці 4,20-4,91 м.ч. Ароматичний гетероцикл піридину дає сигнали у вигляді дуплетів або мультиплетів в області 7.60 – 8,74 м.ч. зі зниженою константою спин-спінової взаємодії при атомах Карбону, яка свідчить про акцепторний вплив 1,2,4-триазольного кільця. Селективність реакції була доведена за допомогою аналізу ЯМР ^{13}C . У спектрах синтезованих сполук присутні інтенсивні сигнали атомів вуглецю 1,2,4-триазольного кільця [155,69 ppm], піридину [147,59 ppm, 117,34 ppm] і метиленових груп [37,56-38,12 ppm]. ІЧ-спектр для S-похідних 4-алкіл-5-(((3-(піридин-2-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів характеризується наявністю широкої смуги поглинання в області 3400-2775 cm^{-1} та 1600-1560 cm^{-1} для карбоксильної групи та зв'язків CN або C-C в межах 1633-1600 cm^{-1} . Для ідентифікації був використаний метод хромато-мас-спектрометрії, іонізація проводилась методом електронного удару з енергією 70 еВ. Таким чином, молекули були фрагментовані, і це дозволило зробити висновки про наявність тих чи інших замісників та фрагментів. Нами було запропоновано модель поступової фрагментації вихідної сполуки 4-метил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу. Шлях іонізації починався з молекулярного піку радикал-катиону та закінчувався подальшим скороченням структурного скелету до фрагментарного іону 1,2,4-триазолу. Аналізуючи поведінку сполук в умовах ГХ/МС аналізу можна зробити висновки щодо енергії зв'язків у молекулі.

Результатами проведеного мікробіологічного скринінгу показали, що усі синтезовані сполуки проявляли виражену або помірну антибактеріальну та

противогрибкову дію. Сполука 4-(5-(((4-метил-5-(пентилтіо)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1H-1,2,4-триазол-3-іл)піридин проявляє найбільш виражену протимікробну дію проти штаму *Staphylococcus Aureus Aureus* (МІК – 15,6 мкг/мл) серед усіх синтезованих алкіл S-похідних біс-1,2,4-триазолів. Також ця сполука бактерицидно діє на кріогенні штами мікроорганізмів: *Proteus vulgaris*, *Listeria innocua*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni* та бактеристично проти *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*. На основі отриманих даних було оформлено патент на винахід, що належить до фармації та мікробіології. Проводяться дослідження впливу концентрації даної сполуки на культивування дисоціативних форм *M. bovis*.

Мінімальна бактерицидна концентрація для ізопропіл 2-(((4-метил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату склала 15,6 мкг/мл до штамів *Enterococcus faecalis*, *Salmonella pullorum*, *Salmonella Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*.

Фармакологічний скринінг на антигіпоксичну активність встановив, що 1-((4-етил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропан-2-он є сполукою, яка перевищувала ефективність антигіпоксичної дії препарату порівняння - мексидолу на 1,0% та контролю на 19,6%.

Щодо структурно-функціонального взаємозв'язку синтезованих сполук, то можна сказати, що зміна метильного радикалу на етильний у четвертому положенні другого 1,2,4-триазолового циклу призводить до підвищення бактерицидної дії. Отримані результати досліджень, підкреслюють доцільність пошуку біоактивних речовин саме серед ряду S-похідних біс-1,2,4-триазолу.

Література

1. Boraei, A. T. A., El Ashry, E. S. H., & Duerkop, A. (2016). Regioselectivity of the alkylation of S-substituted 1,2,4-triazoles with dihaloalkanes. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13065-016-0165-0>
2. Vashchuk, Y., Shcherbyna, R., Parchenko, V., Bushueva, I., Gutyj, B., Fotina, H., Fotina, T., Stronskyi, Y. (2020). HISTOLOGICAL STUDY OF A CORRECTIVE INFLUENCE OF A COMPOUND POTASSIUM 2-(((4-AMINO-5-(MORPHOLINOMETHYL)-4H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL)THIO)ACETATE (PKR-173) ON THE STATE OF CHICKEN'S LIVER UNDER INFECTION BY PSEUDOMONAS AERUGINOSA. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44 (1), 1-17. DOI: 10.33483/jfpau.567757
3. Singh, R.; Pujar, G.V.; Purohit, M.N.; Chandrashekar, V.M. Synthesis, in vitro cytotoxicity, and antibacterial studies of new asymmetric bis-1,2,4-triazoles. *Medicinal Chemistry Research*, 2012, 22(5), pp. 2163-2173. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-012-0209-5>
4. Синтез, перетворення та біологічна активність у ряду похідних 1,2,4-триазолу: дис... канд. фармац. наук: 15.00.02 / Чепель Петро Володимирович ; Запорізький держ. медичний ун-т. - Запоріжжя, 2003.
5. Tumula, N., Jatangi, N., Palakodety, R. K., Balasubramanian, S., & Nakka, M. (2017). I2-Catalyzed Oxidative N–S Bond Formation: Metal-Free Regiospecific Synthesis of N-Fused and 3,4-Disubstituted 5-Imino-1,2,4-thiadiazoles. *The Journal of Organic Chemistry*, 82(10), 5310–5316. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.7b00646>