



Міністерство охорони здоров'я України  
Запорізький державний медико-фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова  
робота на правах рукопису

**ХІЛЬКОВЕЦЬ АНАСТАСІЯ ВАЛЕРІВНА**

УДК: 615.31:547.792'367.057:615.272.4.015.11

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ЦІЛЕСПРЯМОВАНИЙ СИНТЕЗ СПОЛУК З ГІПОЛІЦЕМИЧНОЮ  
АКТИВНІСТЮ В РЯДІ ПОХІДНИХ 5-(ТІОФЕН-3-ІЛМЕТИЛ)-4-R-1,2,4-  
ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ**

226 – Фармація, промислова фармація

22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_ А.В. Хільковець

Наукові керівники: **Парченко Володимир Володимирович**, доктор фармацевтичних наук, професор; **Білай Іван Михайлович**, доктор медичних наук, професор

Запоріжжя – 2024

## АНОТАЦІЯ

*Хільковець А.В.* Цілеспрямований синтез сполук з гіполіпідемічною активністю в ряді похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіолу. – кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація» (22 Охорона здоров'я). – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2024.

Дисертаційна робота присвячена пошуку нової біоактивної сполуки, яка проявлятиме антиоксидантну та гіполіпідемічну активність у ряді похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіолу, визначенню гострої токсичності, встановленню певних закономірностей та подальшим рекомендаціям сполуки, в якості перспективного кандидату для створення потенційного лікарського засобу.

Протягом останніх років у всьому світі триває постійне збільшення випадків серцево-судинних захворювань та зростання смертності від них. Відомо, що головними причинами інфаркту міокарда та інсульту є атеросклероз коронарних судин і мозкових артерій. Порушення обміну ліпідів, або гіперліпідемія, відіграють ключову роль в патогенезі атеросклерозу, викликаючи патологічне підвищення рівня ліпідів у плазмі крові. Останнім часом також приділяється велика увага ролі вільних радикалів в розвитку атеросклерозу, і неоднозначна залишається роль антиоксидантної системи. Таким чином, актуальним є пошук нових сполук, які знижуватимуть рівень атерогенних ліпопротеїнів – ЛПДНЩ та ЛПНЩ, а також підвищуватимуть рівень ЛПВЩ.

Аналіз наукової літератури свідчить про значні перспективи використання гетероциклічних систем для розробки можливих лікарських засобів. Система 1,2,4-триазолу виявилася однією з найбільш привабливих не

лише у синтетичному виробництві, але й як складова багатьох біологічно активних речовин. Підвищена увага до похідних 1,2,4-триазолу має обґрунтоване пояснення: по-перше, ці сполуки виявляють високу реакційність, і по-друге, їхня низька токсичність та велика фармакологічна активність створюють сприятливі умови для перспективного пошуку потенційних біологічно активних речовин.

В ході нашого експериментального дослідження було синтезовано дві вихідні сполуки - 5-(тіофен-3-ілметил)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіол та 5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол. В якості напівпродукту було використано відповідні N-R<sub>1</sub>-2-(тіофен-3-іл)ацетилгідразинокарботіаміди. Замикання циклу проходить у лужному середовищі, а виділення зазначених тіолів проводили додаванням етанової кислоти. Подальші синтетичні перетворення проводили за рахунок приєднання різних фармакофорних фрагментів за атомом сульфуру.

Отримання 3-алкілтіо-5-тіофен-4R-1,2,4-триазолів та тіоетанонів проводили в лужному середовищі при додаванні до вихідних сполук еквівалентної кількості галогеналканів, дигаленалкану та 2-бром-1-арилетанонів. Наступним кроком був синтез кислот, а саме - 2-((5-тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанова кислота та 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанова кислота, які отримано в лужно-спиртовому середовищі з додаванням 2-хлоретанової кислоти. За двома методиками отримано відповідні естери: перший спосіб – алкілуванням вихідних тіолів ізопропіловим естером 2-хлоретанової кислоти, за присутності калію гідроксиду та другій спосіб – дія відповідного аліфітичного спирту (ізопропанол) в присутності концентрованої сульфатної кислоти на отримані раніше ацетатні кислоти. Слід відзначити, що естери отримані за двома методиками не дають депресії температури плавлення.

Солі 2-((5-тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот синтезовано в результаті взаємодії неорганічних основ та морфоліну з

відповідними кислотами у водному середовищі. При використанні двох класичних методик отримано ряд амідів. Перший метод базується на алкілюванні вихідних тіолів 2-хлорацетамідом в присутності калій гідроксиду, а другий метод шляхом амонолізу ізопропілових естерів відповідних етанових кислот надлишком амінів.

Будову отриманих 5-(тіофен-3-ілметил)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу і 5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолу, а також їх S-похідних було підтверджено з використанням різних фізико-хімічних методів (1Н ЯМР-, ІЧ-, хромато-мас-спектроскопія, елементний аналіз).

Було проведено первинний фармакологічний скринінг антиоксидантної активності *in silico* різних класів похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу, що включав в себе молекулярний докінг, молекулярні динамічні симуляції, а також ММ-PBSA розрахунки. За результатами було встановлено найбільш ефективні структури, що здатні зв'язуватись з відповідними біомішенями, які є відповідальними за антиоксидантний баланс. Надалі, антиоксидантну активність було вивчено з використанням трьох моделей *in vitro*: неферментного ініціювання вільнорадикального окиснення ліпопротеїнів яєчного жовтка, інгібування супероксидрадикалу та інгібування окисної модифікації білків. Було встановлено певні закономірності «будова-дія». Враховуючи результати трьох моделей, було обрано сполуку лідер натій 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат, індекс ефективності якого перевищував показники препаратів порівняння.

На наступному етапі визначили специфічну активність, а саме гостру токсичність, гіполіпідемічну активність та плейотропні ефекти для сполуки лідера. Фармакологічні дослідження проводились в навчально-науковому медико-лабораторному центрі з віварієм (керівник д. фарм. н., професор Щербіна Р.О.) Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Вивчення гострої токсичності було проведено *in vivo*, згідно рекомендаціям Стефанова О.В. з подальшим розрахунком параметрів гострої токсичності по методу Кербера в модифікації Лойта А.О і Савченкова М.Ф. В експерименті використовували нелінійних щурів (36 осіб), яких було поділено на шість груп (інтакт, рівні доз – 200 мг/кг, 500 мг/кг, 700 мг/кг, 1500 мг/кг та 3000 мг/кг), експеримент тривав 14 діб. За результати встановлено, що сполука лідер при внутрішньочеревинному введенні відноситься до V класу токсичності, LD<sub>50</sub> дорівнює 1125 мг/кг.

Дослідження гіполіпідемічної активності проводили по методу Yousufzai&Siddiqi на 20 білих нелінійних щурах, яких було поділено на 4 групи (інтактна, контрольна патологія, контрольна патологія + аторвастатин, контрольна патологія + сполука лідер). Моделювання патології відтворювали введенням атерогенної суміші: холестерол 40 мг/кг та олійний розчин 0,125 % ергокальциферолу 350000 ОД/кг). За результатами встановлено, що досліджувана сполука володіє гіпохолестеринемічною та гіпотригліцеридемічною дією, а також підвищує рівень ХСЛПВЩ та перевищує показники референс препарату аторвастатин. За допомогою фізико-хімічних та біохімічних методів аналізу вивчено плеiotропні ефекти сполуки лідера з використанням мітохондріальної та цитозольної фракції гомогену серця щурів. Було визначено наступні показники: eNOS, Д-дімер, МВ-КФК, СРБ, відкриття МП, НАД-МДГ, СДГ, ГПО та нітротирозин. За результатами встановлено, що сполука натрій 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат проявляє гемостатичну, антиоксидантну, ендотеліальну активність, активує гліколіз та інтенсифікацію ЦТК.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше синтезовано неописані в літературі похідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. Досліджено процес алкілування вихідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(тіофен-3-ілмети)-4Н-

1,2,4-триазол-3-тіолу по атому сульфуру з використанням галогеналканів, дигалогеналкану, ізопропілового естеру 2-хлоретанової кислоти, 2-бром-1-арилетанонів, 2-бром-1-феніл-1-оном, 2-хлорацетаміду та 2-хлорацетатної кислоти з утворенням відповідних класів сполук. Було синтезовано солі відповідних кислот. Вивчено реакції амонілізу ізопропілових естерів відповідних етанових кислот, відновлення кетону.

Встановлено фізико-хімічні характеристики для синтезованих сполук використовуючи сучасні інструментальні методи аналізу (1H ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектроскопія, ІЧ-спектроскопія та елементний аналіз).

Вивчено антиоксидантну активність за допомогою *in vitro* методів на трьох моделях ініціювання СРО, встановлено деякі закономірності «будова-дія», визначено для сполуки лідера гостру токсичність за допомогою *in vivo* методу Кербера, розраховано LD50 та встановлено клас токсичності, також для сполуки лідера досліджено гіполіпідемічну активність і плейотропні ефекти *in vivo* методом Yousufzai & Siddiqi.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Результатами дослідження похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів було опрацьовано та зроблено загальні висновки, що можуть бути корисними для подальшої модифікації та усунення недоліків. Отримані результати хімічних та фармакологічних експериментальних аналізів були впроваджені в науково-педагогічний процес медичних закладів вищої освіти України: кафедра фізколоїдної хімії, кафедра аналітичної хімії, кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та в науковий та навчальний процес кафедри інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного аграрно-економічного

університету і кафедри хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету.

Дослідження були спрямовані на збільшення баз хімічних сполук з 1,2,4-триазолом, які можуть бути використані для створення нових лікарських засобів з високою ефективністю та низькою токсичністю.

**Публікації:** За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукових роботи, у тому числі 7 наукових статей, з яких 3 у фахових виданнях України, 2 у міжнародних виданнях та 2 наукові статті, що входять до наукометричних баз Scopus та Web of Science, 15 тез доповідей.

**Ключові слова:** *1,2,4-триазол, гетероциклічні сполуки, модифікація, тіофен, органічний синтез, фізико-хімічні властивості, аналіз, комп'ютерне моделювання, QSAR-аналіз, фармакологічна активність, молекулярний докінг, антиоксидантна активність, гостра токсичність, гіперліпідемія.*

## ANNOTATION

*Khilkovets A. V.* Targeted synthesis of compounds with lipid-lowering activity in a number of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4-R-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. - qualification scientific work on the rights of a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of philosophy in the specialty 15.00.02 "Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy" (226 – Pharmacy, Industrial Pharmacy). - Zaporizhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of health of Ukraine, Zaporizhia, 2024.

Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2024.

The dissertation is devoted to the search for a new bioactive compound that will exhibit antioxidant and lipid-lowering activity in a number of derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-R-1,2,4-triazole-3-thiol, determination of acute toxicity, establishment of certain patterns and further recommendations of the compound as a promising candidate for creating a potential drug.

In recent years, there has been a steady increase in cases of cardiovascular diseases and an increase in deaths from them around the world. It is known that the main causes of myocardial infarction and stroke are atherosclerosis of the coronary vessels and cerebral arteries. Disorders of fat metabolism, or hyperlipidemia, play a key role in the pathogenesis of atherosclerosis, causing a pathological increase in the level of lipids in blood plasma. Recently, much attention has also been paid to the role of free radicals in the development of atherosclerosis, and the role of the antioxidant system remains ambiguous. Thus, it is important to find new compounds that will reduce the level of triglycerides, total cholesterol, LDL cholesterol, as well as increase the level of HDL cholesterol.

Analysis of the scientific literature shows significant prospects for the use of heterocyclic systems for the development of possible drugs. The 1,2,4-triazole system proved to be one of the most attractive not only in synthetic production, but



also as a component of many biologically active substances. The increased attention to 1,2,4-triazole derivatives has a reasonable explanation: firstly, these compounds exhibit high reactivity, and secondly, their low toxicity and high pharmacological activity create the promised conditions for a promising search for potential biologically active substances.

In our experimental study, two initial compounds 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol and 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4h-1,2,4-triazole-3-thiol were synthesized. The corresponding N-R1-2-(thiophene-3-yl)acetylhydrazine carbotiamides were used as an intermediate. The cycle closure takes place in an alkaline medium, and the isolation of these thiols was carried out by adding acetic acid. Further synthetic transformations were performed by attaching various pharmacophore fragments behind the sulfur atom.

3-Alkylthio-5-thiophene-4R-1,2,4-triazoles and thioethanones were obtained in an alkaline medium when equivalent amounts of haloalkanes and bromketones were added to the initial compounds. The next step was the synthesis of acids, namely 2-((5-thiophene-3-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acid and 2-((4-phenyl-5-(thiophene-3-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acid, which are obtained in an alkaline-alcoholic medium with the addition of monochloroacetic acid. According to two methods, the corresponding esters were obtained: the first method is by alkylation of the initial thiols with isopropyl ester of monochloroacetic acid, in the presence of potassium hydroxide, and the second method is by applying the corresponding aliphatic alcohol (isopropanol) in the presence of concentrated sulphate acid to previously obtained acetate acids. It should be noted that esters obtained by two methods do not give a dispersion of the melting point.

Salts of 2-((5-thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acids were synthesized as a result of the interaction of inorganic bases (KOH and NaOH) and morpholine with the corresponding acids in an aqueous medium. Using two classical methods, a number of amides were obtained. The first method is based

on alkylation of the initial thiols, and the second method is the interaction of the corresponding esters with an excess of an aqueous solution of ammonia.

The structure of the obtained 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol and 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol, as well as their S-derivatives, was confirmed using various physical and chemical methods (NMR, chromatography, mass spectrometry, elemental analysis and infrared spectroscopy).

Primary pharmacological screening of the antioxidant activity *in silico* of various classes of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives was performed, which included molecular docking, molecular dynamic simulations, and MM-PBSA calculations. Based on the results, the most effective structures were identified that can bind to the corresponding biomolecules, which are responsible for the antioxidant balance. In the future, antioxidant activity was studied using three *in vitro* models: inhibition of nonenzymatic initiation of lipoperoxidation in egg yolk phospholipids, inhibition of superoxide radical, and inhibition of oxidative protein modification. Certain regularities of "structure-action" were established. Taking into account the results of three models, the compound leader 2-((4-phenyl-5-thiophene-3-ylmethyl)-1,2,4-triazole-3-yl)thio) sodium acetate was selected, the effectiveness index of which exceeded the indicators of comparison drugs.

At the next stage, specific activity was determined, namely acute toxicity, lipid-lowering activity, and pleiotropic effects for the leader compound. Pharmacological studies were conducted at the educational and scientific medical and laboratory center with a vivarium (head of Doctor of pharmaceutical sciences, professor Shcherbina R. O.) of Zaporizhia State Medical and Pharmaceutical University.

The study of acute toxicity was carried out *in vivo*, according to the recommendations of Stefanov O. V. with the subsequent calculation of acute toxicity parameters by the Kerber method in the modification of Loit A. O. and Savchenkov M. F. The experiment used nonlinear rats (36) which were divided into six groups (intact, dose levels – 200 mg/kg, 500 mg/kg, 700 mg/kg, 1500 mg/kg and 3000

mg/kg), the experiment lasted 14 days. According to the results, it was found that the compound leader when administered intraperitoneally belongs to the V class of toxicity LD50 equals to 1125 mg/kg.

The study of lipid-lowering activity was performed using the Yousufzai & Siddiqi method on 20 white nonlinear rats, which were divided into 4 groups (intact, control pathology, control pathology + Atorvastatin, control pathology + leader compound). Pathology modeling was reproduced by introducing an atherogenic mixture: cholesterol 40 mg/kg and an oil solution of 0.125% ergocalciferol 350,000 U/kg). According to the results, it was found that the studied compound has a hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effect, as well as increases the level of HDLC, and exceeds the reference values of the drug Atorvastatin. Pleiotropic effects of the leader compound using the mitochondrial and cytosolic fractions of rat heart homogenates were studied using physico-chemical and biochemical analysis methods. The following indicators were determined: eNOS, D-dimer, MV-CPK, CRP, MP detection, NAD-MDH, SDH, GPO, and nitrotyrosine. According to the results, the compound 2-((4-phenyl-5-thiophen-2-ylmethyl)-1,2,4-triazole-3-yl)thio) sodium acetate exhibits hemostatic, antioxidant, endothelial activity, activates aerobic glycolysis and TAC intensification.

### **Scientific novelty of the obtained results**

Derivatives of 5-(thiophen-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazol-3-thiols, not described in the literature, were synthesized for the first time. The alkylation process of starting 5-(thiophen-3-ylmethyl)-4-phenyl-1,2,4-triazole-3-thiol and 5-(thiophen-3-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-thiol on the sulfur atom using haloalkanes, dihaloalkanes, isopropyl ester of 2-chloroethanoic acid, 2-bromo-1-arylethanones, 2-bromo-1-phenyl-1-one, 2-chloroacetamide and 2-chloroacetic acid with the formation of the corresponding classes of compounds. Salts of the corresponding acids were synthesized. The reactions of ammonolysis of isopropyl esters of the corresponding ethanoic acids, ketone reduction were studied.

The physicochemical characteristics of the synthesized compounds were established using modern instrumental methods of analysis (1H NMR spectroscopy, chromato-mass spectroscopy, IR spectroscopy and elemental analysis).

Antioxidant activity was studied using in vitro methods on three models of SPO initiation, some "structure-activity" patterns were established, acute toxicity was determined for the leader compound using the in vivo Kerber method, LD50 was calculated and the toxicity class was established, hypolipidemic activity was also investigated for the leader compound and pleiotropic effects in vivo by the method of Yousufzai & Siddiqi.

### **Practical significance of the obtained results**

The results of the study of derivatives of 5-(thiophen-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazol-3-thiols were worked out and general conclusions were made, which may be useful for further modification and elimination of shortcomings. The obtained results of chemical and pharmacological experimental analyzes were implemented in the scientific and pedagogical process of medical institutions of higher education of Ukraine: the Department of Physicocolloid Chemistry, the Department of Analytical Chemistry, the Department of Pharmaceutical, Organic and Bioorganic Chemistry, the educational-scientific medical-laboratory center with a vivarium of Zaporizhzhya State Medical and Pharmaceutical university and in the scientific and educational process of the Department of Animal Infectious Diseases of the Dnipro State Agrarian and Economic University and the Department of Surgery and Midwifery of the Poltava State Agrarian University.

Research was aimed at increasing the base of chemical compounds with 1,2,4-triazole, which can be used to create new drugs with high efficiency and low toxicity.

Based on the materials of the dissertation, 22 scientific works were published, including 7 scientific articles, of which 3 were published in specialized publications of Ukraine, 2 in international publications and 2 scientific articles included in the scientometric databases Scopus and Web of Science, 15 theses of reports.)

**Key words:** *1,2,4-triazole, heterocyclic compounds, modification, thiophene, organic synthesis, physicochemical properties, analysis, computer modeling, QSAR analysis, pharmacological activity, molecular docking, antioxidant activity, acute toxicity, hyperlipidemia.*

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Khilkovets A. V. Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2. С. 152-156. doi. 10.14739/2409-2932.2021.2.232334
2. Khilkovets A. V. Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene-(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols. *Фармацевтичний журнал*. 2021. Т. 76, № 5. Р. 50-56. <https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y>
3. Khilkovets A. V., Parchenko V. V. Analysis of biological properties of 1,2,4-triazole-containing compounds (literature review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики* 2022. Т. 15, № 1 (38). С. 102-106. DOI:10.14739/2409-2932.2022.1.252392 (Особистий внесок - участь у проведенні літературного пошуку, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
4. Khilkovets A. V., Parchenko V.V. Synthetic features of new 1,2,4-triazole derivatives. *SWorldJournal*. 2022. Vol. 11, N 3. Р. 8-14. DOI: 10.30888/2663-5712.2022-11-03-053 (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку).
5. Synthetic and biological aspects of studying the properties of 1,2,4-triazole derivatives / A. Khilkovets, Y. Karpenko, O. Bigdan, M. Parchenko, V.r Parchenko. *Scientific Journal of Polonia University*. 2022. Vol. 51. Р. 324-331. DOI: <https://doi.org/10.23856/5138> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку).

6. Khilkovets A. V., Bilai I. M. Study of acute toxicity of new thiophene-containing derivatives of 1,2,4-triazole. *Запорізький медичний журнал*. 2023. Т. 25, № 1. С. 46–49. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.1.266318 (Дисертантом проведено аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень фармакологічної активності, обговорення, підготовка тексту статті до друку).

7. An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions / Ye. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets, Yu. Karpenko, V. Parchenko, Ya. Klochkova, Yu. Bila, I. Lukina, N. Nahorna, V. Nahorni. *Pharmacia*. 2023. Vol. 70, N 1. P. 139–153. DOI 10.3897/pharmacia.@@.e90783 (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку).

8. Хільковець А. В. Пошук нових сполук, які володіють гіполіпідемічною активністю у ряді тіофен-3-ілметилзаміщених 1,2,4-триазолів. *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ. м. Запоріжжя, 16 груд. 2020 р. Запоріжжя, 2020. С. 55. [http://zsmu.edu.ua/upload/files/student/201216\\_zb\\_tez.pdf](http://zsmu.edu.ua/upload/files/student/201216_zb_tez.pdf)

9. Хільковець А. В., Білай І. М. Нові тіофенвімісні 1,2,4-триазоли як об'єкти пошуку нових фармакологічно активних сполук. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, (м. Запоріжжя, 15-16 квіт. 2021 р.). Запоріжжя: ЗДМУ, 2021. С. 144-145. [http://zsmu.edu.ua/upload/razdel/210526\\_zbirnyk.pdf](http://zsmu.edu.ua/upload/razdel/210526_zbirnyk.pdf) (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).

10. Хільковець А. В. Деякі особливості синтезу нових 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : тези доп. Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., присвяч. 100-річчю

кафедри аналітичної хімії НФаУ (м. Харків, 16 квіт. 2021 р.). - Харків : НФаУ, 2021. С. 190. <https://anchem.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/100-anchem-2021.pdf>

11. Хільковець А. В. Синтез нових тіофенвмісних похідних 1,2,4-триазолу. *YOUNG SCIENCE 3.0* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (в онлайн режимі) (м. Київ, 26 бер. 2021 р.). Київ, 2021. С. 134. <https://nuozu.edu.ua/s/orhany-hromadskoho-samovriaduvannia/naukove-tovarystvo-molodykh-vchenykh/materialy-konferentsii-molodykh-uchenykh>

12. Хільковець А. В., Білай І. М. Хімічна модифікація та фізико-хімічні властивості нових тіофенвмісних 1,2,4-триазолів. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів* : матеріали V Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11-12 бер. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 823. <https://nni.nuph.edu.ua/liky-liudyni/> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).

13. Хільковець А. В., Білай І. М. Синтетичні та біологічні властивості нових похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Нац. фармацевтичного ун-ту, м. Харків, 10 вер. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 39-40. <https://nuph.edu.ua/100-richchya-nfau/> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).

14. Хільковець А. В. Комп'ютерне прогнозування біологічної активності нових тіофенвмісних 1,2,4-триазолів. *Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності* : матеріали міжнар. наук.-практ. конференції, м. Дніпро 14-15 січ. 2022 р. Дніпро, 2022. С. 63-66.

15. Хільковець А. В. Деякі синтетичні підходи щодо пошуку нових біологічно активних сполук в ряді 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Актуальні проблеми сучасної освіти та науки: теорія, методологія,*



*практика* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Полтава 15 листоп. 2021 р. Полтава, 2021. С. 54-55

16. Хільковець А. В. Хімічне моделювання та фізико-хімічні властивості нових тіофенпохідних 1,2,4-триазол-3-тіону. *Запорізький фармацевтичний форум - 2021* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 25-26 листоп. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 93.

17. Хільковець А. В. Синтетичні особливості нових біологічно активних сполук в ряді S-заміщених 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів. *Розвиток наукових міжгалузевих досліджень* : матеріали наук.-практ. конф. м. Вінниця, 26-27 листоп. 2021 р. Вінниця, 2021. С. 134-135.

18. Хільковець А. В., Бігдан О. А. Перспективні аспекти пошуку нових біологічно активних молекул серед тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Розвиток освіти, науки та бізнесу: результати 2021*: матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет конф. м. Дніпро, 6-7 груд. 2021 р. Дніпро. 2021. С. 57-58. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез)*.

19. Хільковець А. В., Парченко В. В. Дослідження властивостей нових похідних 1,2,4-триазолу, які містять фрагмент тіофену. *Scientific Research and Innovation: Proceedings of the 1st International Scientific and Practical Internet Conference, April 7-8, 2022. Dnipro* : FOP Marenichenko V.V., 2022. P. 257-258. Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. м. Дніпро. 2022. С. 257-258. *((Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, синтез та вивчення фізико-хімічних властивостей нових S-похідних 1,2,4-триазолу, підготовка тексту тез)*.

20. Хільковець А. В., Білай І. М., Михайлюк Є. О. Дослідження гострої токсичності нових 1,2,4-триазол похідних. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали ІХ наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22-23 вер. 2022 р. Тернопіль

: ТНМУ, «Укрмедкнига», 2022. С. 161. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень фармакологічної активності, обговорення, підготовка тексту тез).*

21. Хільковець А. В., Парченко В. В., Жукова О. В. Дослідження антиоксидантної активності *in silico* нових гетероциклічних похідних 1,2,4-триазолів. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17-18 листоп. 2022 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2022. С. 105. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).*

22. Хільковець А. В. Вивчення гострої токсичності натрій 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації -2023* : зб. тез доп. 83-ї Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 25-26 трав. 2023 р. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2023. С. 113-114.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК	УМОВНИХ	ПОЗНАЧЕНЬ,	СИМВОЛІВ	I
СКОРОЧЕНЬ	.....	.....	.....	22
ВСТУП	.....	.....	.....	24
РОЗДІЛ 1	ХІМІЧНІ	ВЛАСТИВОСТІ	ТА	БІОЛОГІЧНА
ГЕТЕРИЛ	ПОХІДНИХ	1,2,4-ТРИАЗОЛУ	(ОГЛЯД	ЛІТЕРАТУРИ)
.....	.....	.....	.....	32
1.1	Синтез	вихідних	сполук	.....
.....	.....	.....	.....	32
1.2	Хімічні	перетворення	гетерил	похідних
.....	.....	.....	.....	1,2,4-
.....	.....	.....	.....	триазолів
.....	.....	.....	.....	38
1.3	Біологічна	активність	гетерил	похідних
.....	.....	.....	.....	1,2,4-
.....	.....	.....	.....	триазолу
.....	.....	.....	.....	45
РОЗДІЛ 2	СИНТЕЗ,	ПЕРЕТВОРЕННЯ	ТА	ФІЗИКО-ХІМІЧНІ
ВЛАСТИВОСТІ	S-ЗАМІЩЕНИХ	4-R-5-(ТІОФЕН-3-ІЛМЕТИЛ)-4H-1,2,4-	ТРИАЗОЛ-3-	ТІОЛІВ
.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	55
2.1	Синтез	та	фізико-хімічні	характеристики
.....	.....	.....	.....	вихідних
.....	.....	.....	.....	речовин
.....	.....	.....	.....	55
2.2	Синтез	S-алкіл	похідних	4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-
.....	.....	.....	.....	3-тіолів
.....	.....	.....	.....	60
2.3	Синтез	1,2-біс-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів	.....	.....
.....	.....	.....	.....	63
2.4	Синтез	1-(гетерил)-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-онів	.....	.....
.....	.....	.....	.....	65
2.5	Синтез	4-R-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4H-1,2,4-триазолів	.....	.....
.....	.....	.....	.....	68
2.6	Синтез	2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот	.....	.....
.....	.....	.....	.....	70

2.7 Синтез солей 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот.....	72
2.8 Синтез ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот.....	75
2.9 Синтез 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамідів.....	78
2.10 Синтез 1-феніл-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олів.....	80
2.11 Опис експериментів.....	83
Резюме.....	95
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 5-(ТІОФЕН-3-ІЛМЕТИ)-4R-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ.....	96
3.1 Поєднання молекулярного докінгу, молекулярно-динамічного моделювання, MM-PBSA та ADME-прогноз для ідентифікації потенційних антиоксидантних агентів на основі похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів.....	97
3.2 Вивчення антиоксидантної активності нових похідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу in vitro.....	114
3.3 Вивчення гострої токсичності 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат натрію.....	129
3.4 Дослідження гіполіпідемічних ефектів 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату натрія при експериментальній гіперліпідемії.....	134
3.5 Дослідження плейотропних ефектів 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату натрія при експериментальній гіперліпідемії.....	143
Резюме.....	152
ВИСНОВКИ.....	154
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	156

Додаток А Акти провадження.....	180
Додаток Б Список опублікованих автором праць на тему дисертації.....	189
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації.....	194

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ І СКОРОЧЕНЬ**

- АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;
- АФК – активні форми кисню;
- АФН – активні форми нітрогену;
- АФГ – альдегідфенлігідрозон;
- ВРО – вільнорадикальне окиснення;
- ГЛП – гіперліпідемія;
- ГПО – глутатіонпероксидаза;
- ДМСО – диметилсульфоксид;
- ДМФА – диметилформамід;
- ЕДТА – етилендіамінтетраацетат;
- ІЧ – інфрачервоний;
- ЗХС – загальний холестерин;
- КФГ – кетофенілгідрозон;
- ЛП – ліпопротеїни;
- МП – мітохондріальні пори;
- МДА – малоновий діальдегід;
- МВ-КФК – МВ-креатинінфосфокіназа;
- <sup>1</sup>H ЯМР – протонний ядерний магнітний резонанс;
- НАД-МДГ – НАД-залежна малатдегідрогеназа;
- НАДФ – нікотинаміддифосфат;
- НАДФН<sub>2</sub> – нікотинаміддифосфат відновлений;
- ОМБ – окислювальна модифікація білків;
- ПОЛ – перикисне окиснення ліпідів;
- СДГ – сукцинатдегідрогеназа;
- СРБ – с-реактивний білок;
- ТГ – тригліцериди;
- ХС ЛПНЦ – холестерин ліпопротеїдів низької щільності;

ХС ЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності

ХС ЛПВЩ – холестерин ліпопротеїдів високої щільності

ХІА – холестеринний індекс;

ЦТК – цикл трикарбонових кислот;

ФАС – фізіологічно активні сполуки;

ADME – Absorbion, Distribution, Metabolism, Excretion (всмоктування, розподіл, метаболізм, виведення);

ЕММ – енергія молекулярної механіки;

eNOS – ендотеліальна синтетаза;

LD<sub>50</sub> – напівлетальна доза;

РСА – метод факторного аналізу;

RMSD – середньоквадратичне відхилення;

RMSF – середнє квадратичне відхилення флуктуації;

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Аналіз наукової літератури свідчить про великі можливості гетероциклічних систем на шляху створення потенційних ліків. Відомо, що система 1,2,4-триазолу зарекомендувала себе як одна з найбільш привабливих не лише у синтетичному аспекті, але і як фрагмент багатьох біологічно активних субстанцій. У науковому світі за останні роки спостерігається тенденція до збільшення кількості публікацій, які стосуються вивчення властивостей гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу та її похідних. Зацікавленість до даних сполук проявляють не лише вчені, які займаються органічним синтезом, але і фармакологи, біологи. Такий пильний увазі з боку широкого колу наукової спільноти до похідних 1,2,4-триазолу є аргументоване пояснення, по-перше, 1,2,4-триазол та його похідні дуже реакційно здатні, по-друге, їх незначна токсичність та висока фармакологічна активність цілеспрямоване створює умови для перспективного пошуку потенційних біологічно активних сполук. Слід відзначити, що введення різних функціональних замісників до ядра 1,2,4-триазолу позитивно впливає не лише на підвищення фармакологічної активності та появу нової дії, але і доступність проведення різних перетворень на основі системи 1,2,4-триазолу [1, 2].

Проблемою пошуку перспективних сполук у ряду похідних 1,2,4-триазолу наразі займаються як вітчизняні, так і закордонні вчені. Слід відмітити, що українські вчені займають високі позиції за кількістю патентів. А саме, Колеснику Ю. М., Книшу Є. Г., Панасенку О. І., Абрамову А.В., Мазуру І. А., Кучеренко Л. І., Романенку М. І., Парченку В. В. (Запорізький державний медичний університет), Гриценку І. С., Конєву В. Ф. (Інститут монокристалів Національної академії наук України), Коваленку Д. С., Омелянчик Л. О., Панасенку Т. В. (Запорізький національний університет). Існують дані щодо наявності гіполіпідемічної активності серед похідних 1,2,4-триазолу, яку також вивчали науковці нашого університету.



Завдяки широкому спектру фармакологічної дії похідні 1,2,4-триазолу є дужеперспективними для подальшого синтезу потенційних лікарських засобів. Тому, дослідження їх реакцій з різними хімічними реагентами з отриманням нових сполук представляє значний інтерес для подальшого фармакологічного скринінгу. Слід відзначити, що на сьогодні відсутня інформація про поєднання структурних фрагментів 1,2,4-триазолу та тіофен-3-ільного замісника. Таким чином, пошук фармакологічно активних сполук серед похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіолів є актуальним на нашу думку, має теоретичну і практичну значимість для вдосконалення лікарських засобів.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами**

Дисертаційна робота є фрагментом планової наукової роботи кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Синтез та вивчення фізико-хімічних та біологічних властивостей речовин в ряду азагетероциклів. Створення та стандартизація оригінальних та комбінованих лікарських препаратів на основі похідних азагетероциклів. Розробка та валідація нових методик аналізу лікарських засобів» (2023-2028 р.р., № держреєстрації: 0123U103937) та кафедри клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету «Фармакологічна дія нових похідних п'яти- та шестичленних азагетероциклів і препаратів природного походження (2022-2027 р.р., № держреєстрації 0121U107522). Дисертант є співвиконавцем зазначених тем. Дисертантом особисто проведено синтез та отримано 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів, досліджено їх фізико-хімічні та фармакологічні властивості.

**Мета дослідження:** Головною метою дисертаційної роботи є розробка умов синтезу неописаних раніше в літературі похідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів з виразною гіполіпідемічною активністю.

**Задачі дослідження:**

1. Розробити препаративні методики синтезу 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.
2. Дослідити процес алкілування вихідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(тіофен-3-ілмети)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу з використанням галогеналканів, дигалогеналкану, 2-бром-1-арилетанонів, 2-хлортіофеном, 2-бром-1-феніл-1-оном, ізопропіловим естером 2-хлоретанової кислотита 2-хлорацетатної кислоти, 2-хлорацетамідом з утворенням відповідних класів сполук, синтезувати солі. Вивчити реакції амонілізу ізопропілових естерів2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот та відновлення кетонів боргідридом.
3. Вивчити фізико-хімічні характеристики для синтезованих сполук використовуючи сучасні інструментальні методи аналізу.
4. Провести дослідження *in silico* та дослідити антиоксидантну активність за допомогою *in vitro* методів на трьох моделях ініціювання СРО. За результатами досліджень встановити певні закономірності «будова-дія» та «сполуку лідер».
5. Визначити для сполуки лідера гостру токсичність за допомогою *in vivo* методу Кербера, розрахувати LD<sub>50</sub> та встановити клас токсичності. Для сполуки лідера вивчити гіполіпідемічну активність і плейотропні ефекти *in vivo* методом Yousufzai&Siddiqi.

*Об'єкт дослідження:* синтез нових сполук, дослідження їх фізико-хімічних властивостей, виявлення найбільш активної сполуки, проведення первинного фармакологічного скринінгу антиоксидантної активності,

визначення гострої токсичності, гіполіпідемічної активності та плейотропних ефектів.

*Предмет дослідження:* похідні 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів та продукти їх хімічних перетворень.

### **Методи дослідження**

Для отримання сполук з гіполіпідемічною активністю застосовували методи органічного синтезу, а будову отриманих речовин визначали за допомогою сучасних методів аналізу (1H ЯМР-, ІЧ-спектроскопія, елементний аналіз та ГХ-МС); відбір сполуки лідера, для якої було досліджено специфічну активність, проводили за результатами віртуальних скринінгових методів та *in vitro* методів. Антиоксидантну активність вивчали на трьох моделях ініціювання перикисного окислення ліпідів та білків. Гостру токсичність досліджували експериментальним методом *in vivo* згідно рекомендацій Стефанова О. В. Визначення параметрів гострої токсичності (LD50) розраховували за методом Кербера. Гіполіпідемічну активність та плейотропні ефекти вивчали за експериментальним методом Yousufzai&Siddiqi.

Результати представлені в дисертації, отримані на персональному комп'ютері у програмі «STATISTICA®forWindows 13.00» (StatsoftInc., США, ліцензія NjPZ8041382130ARCN10 – J). Отримані дані біохімічних досліджень заносилися в електронну та паперову базу даних. Визначалися традиційні описові дані варіаційної статистики: середня арифметична, стандартна похибка, стандартне відхилення. Кількісні безперервні дані лабораторних досліджень у разі нормального розподілу представлені у вигляді середніх величин із стандартним відхиленням. Якісні характеристики представлені у відсотках. Порівняння отриманих результатів з умовною нормою та в динаміці для безперервних даних проведено за допомогою параметричного критерію t

Ст'юдента. Для всіх видів аналізу відмінності вважали достовірними при  $p < 0,05$ .

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Вперше синтезовано неописані в літературі похідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. Досліджено процес алкілювання вихідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(тіофен-3-ілмети)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу по атому сульфуру з використанням галогеналканів, дигалогеналкану, ізопропілового естеру 2-хлоретанової кислоти, 2-бром-1-арилетанонів, 2-бром-1-феніл-1-оном, 2-хлорацетаміду та 2-хлорацетатної кислоти з утворенням відповідних класів сполук. Було синтезовано солі відповідних кислот. Вивчено реакції амонілізу ізопропілових естерів відповідних етанових кислот, відновлення кетону.

Встановлено фізико-хімічні характеристики для синтезованих сполук використовуючи сучасні інструментальні методи аналізу ( $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектроскопія, ІЧ-спектроскопія та елементний аналіз).

Вивчено антиоксидантну активність за допомогою *in vitro* методів на трьох моделях ініціювання СРО, встановлено деякі закономірності «будова-дія», визначено для сполуки лідера гостру токсичність за допомогою *in vivo* методу Кербера, розрахувати LD50 та встановити клас токсичності, також для сполуки лідера досліджено гіполіпідемічну активність і плейотропні ефекти *in vivo* методом Yousufzai & Siddiqi.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Результатами дослідження похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів було опрацьовано та зроблено загальні висновки, що можуть бути корисними для подальшої модифікації та усунення недоліків. Отримані результати хімічних та фармакологічних експериментальних аналізів були впроваджені в науково-педагогічний процес медичних закладів вищої освіти

України: кафедра фізколоїдної хімії, кафедра аналітичної хімії, кафедра фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії, навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету та в науковий та навчальний процес кафедри інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету і кафедри хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету.

Дослідження були спрямовані на збільшення баз хімічних сполук з 1,2,4-триазолом фрагментом, які можуть бути використані для створення нових лікарських засобів з високою ефективністю та низькою токсичністю.

### **Особистий внесок здобувача**

Дисертаційна робота є самостійно завершеною працею, в якій висвітлені методики цілеспрямованого синтезу нових похідних 1,2,4-триазолу та пошук серед них перспективної сполуки з гіполіпідемічною активністю.

Під час роботи над дисертацією здобувач провів самостійний патентно-інформаційний пошук, проаналізував та систематизував наукові джерела, запланував та виконав експериментальну частину, синтезував нові похідні 1,2,4-триазолу з визначенням їх хімічної структури, інтерпретував отримані результати щодо біологічної активності деяких S-заміщених 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.

Спільно з науковими керівниками було поставлено мету та завдання дослідження, проведено узагальнення отриманих результатів та сформульовано основні положення та висновки. Співавторами наукових публікацій є наукові керівники та інші співробітники Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, які брали участь у синтетичних та фармакологічних дослідженнях. Персональний внесок дисертанта в опублікованих працях зі співавторами вказано у списку фахових публікацій.

### **Апробація результатів дисертації**

Матеріали дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на науковій конференції ЗДМУ «Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки» (2020, Запоріжжя), наукова конференція ЗДМУ «Сучасні аспекти медицини і фармації» (2021, Запоріжжя), міжнародній науково-практичній дистанційній конференції, присвяченій 100-річчю кафедри аналітичної НФаУ, «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (2021, Харків), науковій-практичній конференції з міжнародною участю «Young science» (2021, Київ), V науково-практичній конференції «Ліки – людини. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (2021, Харків), науково-практична конференція з міжнародною участю присвяченій 100-річчю Національного фармацевтичного університету «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» (2021, Харків), міжнародній науково-практичній конференції «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності» (14-15 січня, 2022, Дніпро), міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні проблеми сучасної освіти та науки: теорія, методологія, практика» (15 листопада, 2021, Полтава), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021» (25-26 листопада, 2021, Запоріжжя), науково-практичній конференції «Розвиток наукових міжгалузевих досліджень» (26-27 листопада, 2021 Вінниця), міжнародній науково-практичній інтернет конференції «Розвиток освіти, науки та бізнесу» (2021, Дніпро), міжнародній науково-практичній інтернет-конференції, (2022, Дніпро), IX науково-практичній конференції з міжнародною участю (2022, Тернопіль), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2022» (2022, Запоріжжя), всеукраїнській науко-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації - 2023» (2023, Запоріжжя).

Фаховий семінар з апробації дисертації відбувся на спільному засіданні співробітників кафедр I та II фармацевтичних факультетів і Навчально-наукового інституту післядипломної освіти Запорізького державного медико-фармацевтичного університету МОЗ України 08 лютого 2024 р.

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукових роботи, у тому числі 7 наукових статей, з яких 3 у фахових виданнях України, 2 у міжнародних виданнях та 2 наукові статті, що входять до наукометричних баз Scopus та Web of Science, 15 тез доповідей.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена державною мовою на 194 сторінках та складається з анотацій, вступу, огляду літератури, 3 розділів власних досліджень, висновків, списку використаних джерел (з яких кирилицею – 24, латиницею – 145) та додатків. Роботу ілюстровано 16 таблицями, 81 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

### ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ГЕТЕРИЛ ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Незважаючи на велику кількість існуючої інформації щодо отримання, перетворень та вивчення фармакологічної дії похідних 1,2,4-триазолу, ця тема і надалі залишається актуальною [3, 4]. Триазоли є циклічними гетерогенними сполуками з п'ятичленним кільцем, які мають два атоми вуглецю із загальною формулою  $C_2H_3N_3$ . Дослідження, присвячені хімії 1,2,4-триазолів, які є широко популярними через велику кількість селективних і прямих шляхів синтезу цих сполук, а також завдяки широкому спектру доступних методів дериватизації [5, 6, 7, 8].

Нині у науковому світі зростає тенденція до поєднання 1,2,4-триазолу з різними замісниками, функціональними групами, а також ароматичними та гетероциклічними фрагментами [9, 10, 11]. Такі дослідження безумовно є перспективними та оригінальними. Отримані, таким чином нові молекули проявляють широкий спектр біологічної активності, до того ж більшість із них малотоксичні, що безперечно має велике значення для фармацевтичної та медичної галузі [12, 13]. Цікавим є також і той факт, що введення різних фармакофорів до молекули 1,2,4-триазолу призводить до формування нових властивостей або до потенціювання вже існуючих, що надає можливості для створення нової перспективної сполуки [14, 15, 16].

#### 1.1 Синтез вихідних сполук

Науковцями з Близького Сходу [17] за допомогою стадійного синтезу отримано похідні [1,2,4]-триазол-3-тіону (рисунок 1.1). Спершу, шляхом циклоконденсації дикарбонілового ефіру з фенілгідрaziном в етановій кислоті отримано етил-5-(1-метил-1Н-пірол-3-іл)-1-феніл-1Н-піразол-3-карбоксилат. Далі, за присутності гідрзингідрату в спиртовому середовищі отримано



відповідний гідрозид карбонової кислоти, який в подальшому реагує з тіоціанатом амонію за присутності хлоридної кислоти з утворенням відповідного тіосемікарбазиду, який кип'ятили у лужно-спиртовому розчинні, що давало відповідний триазол-3-тіон.

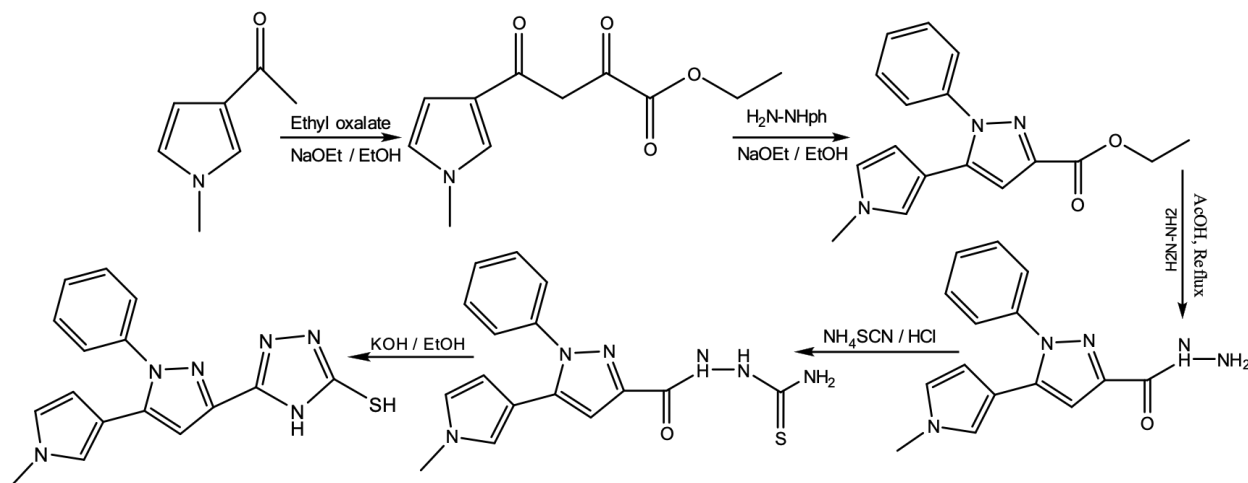


Рисунок 1.1 – Схема отримання похідних [1,2,4]-триазол-3-тіону.

Відомим фактом є високий біологічний потенціал нітрогеновмісних гетероциклічних сполук, саме тому науковці нашого університету поєднали 1,2,4-триазол та піразол [18, 19, 20, 21]. В якості вихідних сполук було використано діетилоксалат, ацетон і натрій метилат та отримано 2,4-діоксопентаноат до якого додали подвійну кількість гідрозин гідрату для отримання 5-метилпіразол-3-карбогідрозид. Далі, за допомогою реакції нуклеофільного приєднання етилізотіоціанату та лужної гетероциклізації було отримано 5-(5-метилпіразол)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіол (рисунок 1.2).

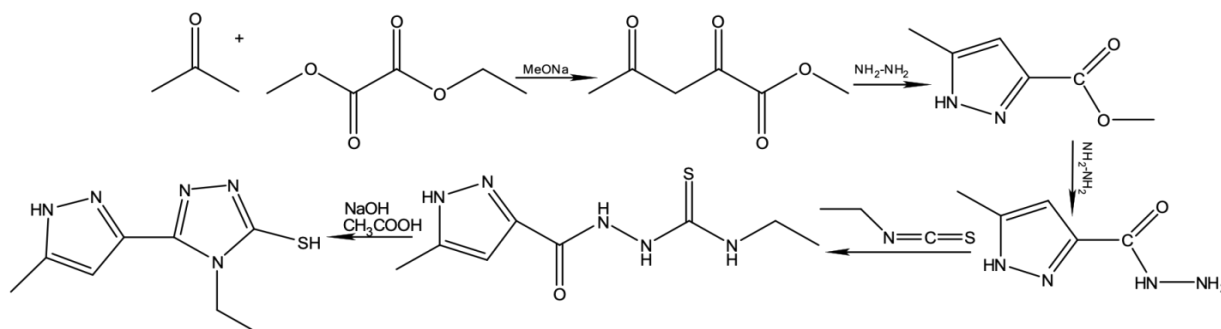


Рисунок 1.2 - Схема синтезу 5-(5-метилпіразол)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіолу.

Піримідин-2-тіол, ще один нітроген-вмісний гетероциклічний фрагмент який привернув увагу наших науковців [22], оскільки він проявляє протизапальні та протипухлинні властивості [23]. Враховуючи попередній досвід [24, 25] отримано 2-(піримідин-2-ілтіо)ацетогідразид який потім кип'ятили дві години з натрієм гідроксидом і після охолодження додали етанову кислоту. Наступним кроком була гетероциклізація отриманого карботіоміду в результаті якої одержано 1,2,4-триазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідин (рисунок 1.3).

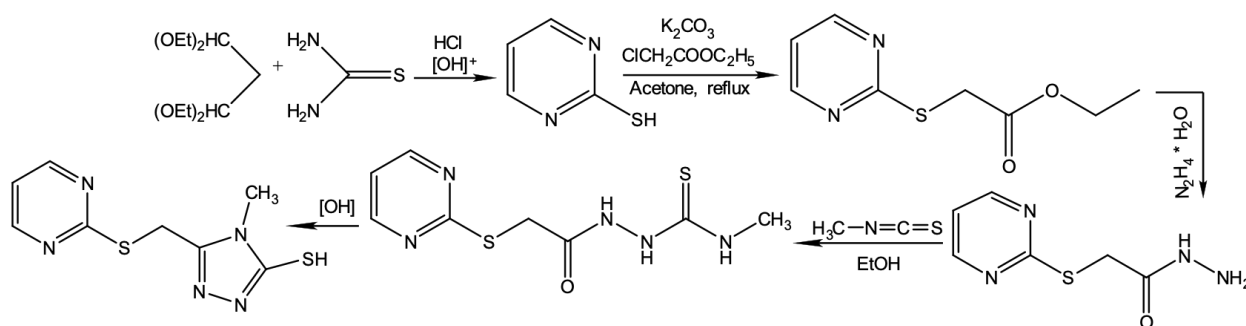


Рисунок 1.3 - Схема синтезу 1,2,4-триазол-3(2H)-іл)метил)тіопіримідину.

Al-Wabli R.I та інші [26] з метою розробки нових потужних хімічних речовин із значними фармакокінетичними та фармакодинамічними профілями отримали серію нових індол-триазолових кон'югантів (рисунок 1.4). Синтез було розпочато реакцією естерифікації індол-2-карбонової кислоти в етанолі за присутності у якості каталізатору сірчаної кислоти. Отриманий ефір було перетворено у відповідний гідразид, шляхом реакції з гідразингідратом в етанолі, який в подальшому реагував з ізотіоціанатом до утворення тіосемікарбозиду. Наступним кроком була реакція циклодегідратації у 10 % водному розчині натрію гідрохлориду. На заключному етапі було проведено реакцію нуклеофільного заміщення, в якій відповідна тіолова група піддавалася нуклеофільній атаці. Слід зазначити, що використання полярних протонних розчинників сприяло утворенню як S-алкільних похідних як основних продуктів, так і N-алкільних похідних як другорядних продуктів.

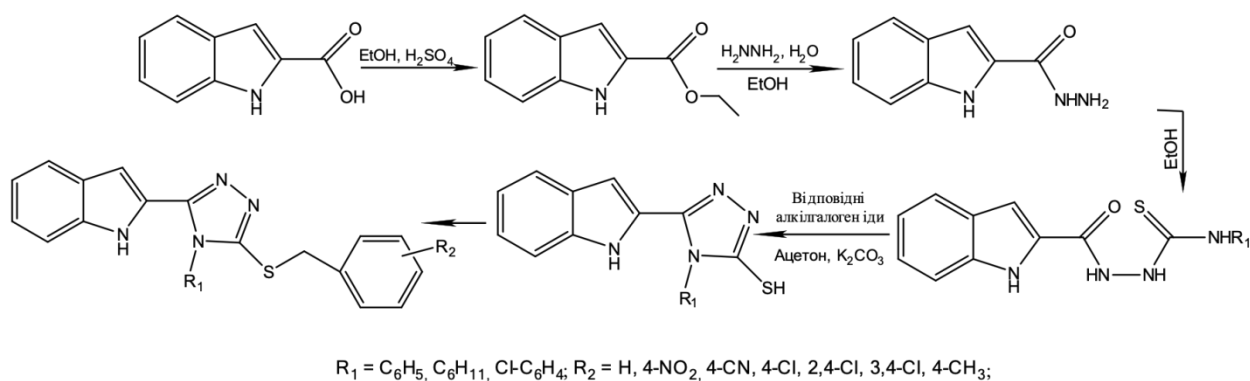


Рисунок 1.4 - Схема отримання нових індол-триазолових кон'югантів.

Турецькі науковці [27] отримали ряд нових похідних бензімідазол-1,2,4-триазолу, будову яких було підтверджено за допомогою  $^1\text{H}$  та  $^{13}\text{C}$  ЯМР та спектральному аналізу. В якості вихідної сполуки було використано метил-4-формілбензоат який реагував в присутності етанолу з піросульфідом натрію з утворенням метабісульфату натрію бензальдегіду. Наступним кроком була реакція конденсації отриманого бензальдегіду з 5-ціано-1,2-фенілендіаміну в результаті якої отриману сполуку метил-4-(5-ціано-1H-бенз[d]імідазол-2-іл)бензоат обробляли гідразингідратом в спиртовому середовищі з утворенням бензгідразиду. На подальшому етапі синтезу відповідний гідразид кип'ятили із фенілізотіоціанатом. Отриманий осад відфільтровували та кипятили в спиртовому середовищі з  $\text{NaOH}$  в результаті чого було отримано сполуку 2-(4-(5-меркапто-4-феніл-4H-1,2,4-триазол-3-іл)феніл)-1H-бенз[d]імідазол-5-карбонітрил (рисунок 1.5).

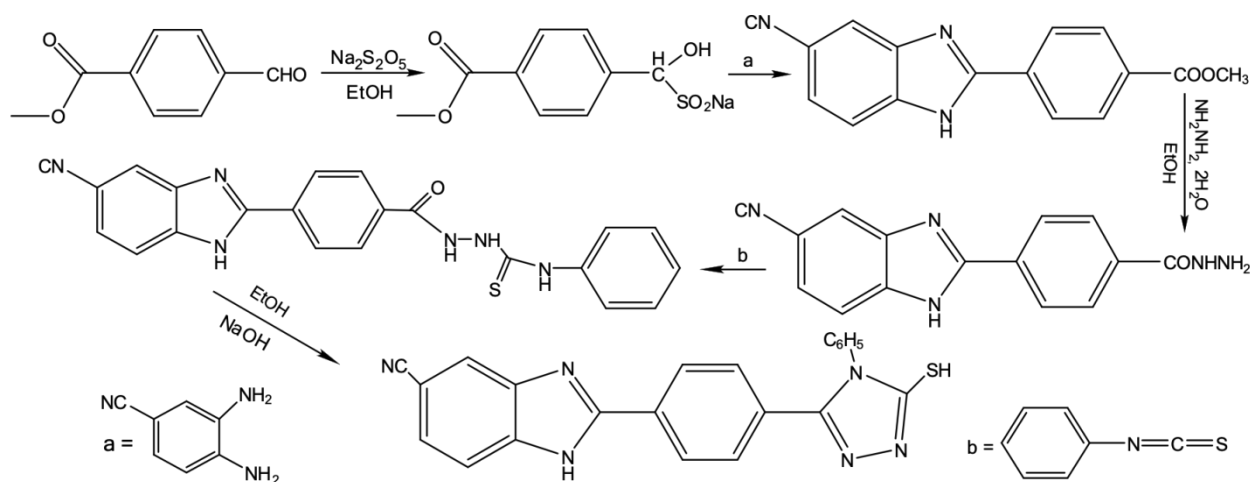


Рисунок 1.5 - Схема отримання бензімідазол-1,2,4-триазолу.

РароскаR. [28, 29, 30] розроблено метод синтезу для отримання нових похідних 1,2,4-триазолу, що містять фрагмент пропанової кислоти. Даний метод полягає в використанні в якості вихідних сполук амідразонів та бурштинового ангідриду. Вченими було досліджено різні можливі умови (розчинники, каталізатори, тощо) для отримання кращих результатів та запропоновано декілька альтернативних способів (A-D) (рисунок 1.6). Спосіб (A) полягав в використанні в якості розчинника діетилового ефіру під час нагрівання, метод (B) – застосування в якості розчинника киплячого толуолу, що дало швидший результат але менші виходи порівняно з попереднім способом. Наступного разу в якості розчинника було обрано киплячий хлороформ (C) оскільки температура кипіння в нього нижча ніж толуолу, але результати були гіршими. Останній метод полягав в застосуванні того ж діетилового ефіру в якості розчинника але в лужному середовищі (D).

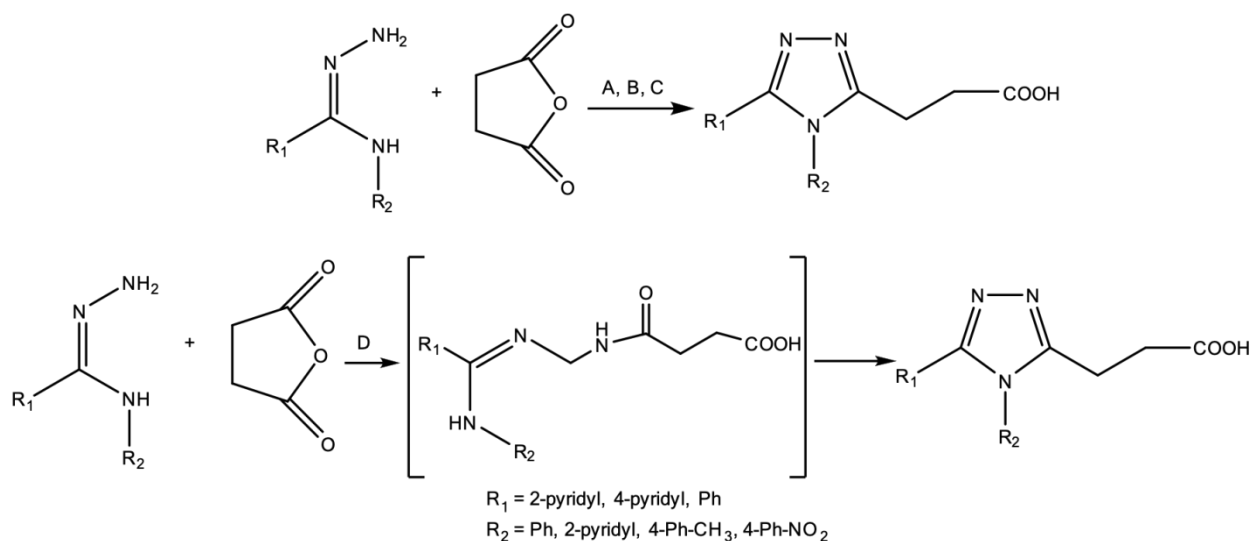


Рисунок 1.6 - Схема синтезу нових похідних 1,2,4-триазолу, які містять фрагмент пропанової кислоти за методами (A, B, C, D).

Gheorghe Roman та інші [31] з метою розробки нових антибактеріальних сполук в якості основи отримали 5-(4-(1H-пірол-1-іл)феніл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол, фрагментами якого у триазольному кільці в положеннях N-4 можливі алільна або фенільна група та в положенні N-2 – амінометильна. Для отримання проміжних естерів в якості вихідних сполук можна

використовувати метил 4-амінобензоат або гексан-2,5-діон. Після отримання естерів їх перетворюють відповідні гідразиди, які в подальшому під дією аліл (феніл) ізотіоціанатом трансформуються в відповідні N1, N4-дизаміщенні тіосемікарбазиди. Замкнення циклу проводили під дією калію гідроксиду в водному середовищі і кип'ятінням протягом 3 годин (рисунок 1.7).

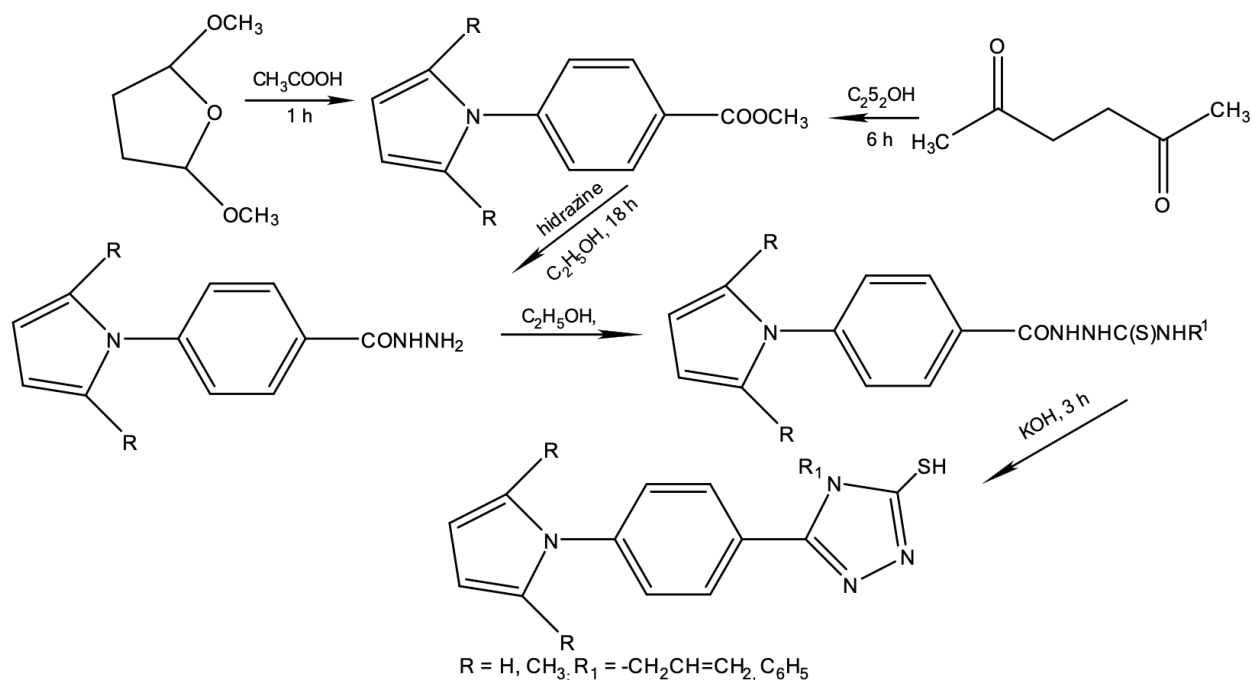


Рисунок 1.7 - Схема отримання нових гібридів меркаптотриазолу-піролу.

Бігданом О. А. [32, 33, 34] було отримано нові вихідні сполуки: 5-(тіофен-3-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол та 5-(тіофен-3-іл)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіол. В якості вихідної сполуки було використано відповідні карбонові кислоти, які в умовах дії каталітичної кількості сульфатної кислоти та за присутності етанолу перетворюються на відповідні етилові естери. До отриманих сполук додають гідразин гідрат, також в середовищі етанолу та отримують відповідні гідразиди. На останніх етапах проводили реакцію з алкілізотіоціанатами в присутності етанолу та замикання триазолового циклу під дією лугу (рисунок 1.8). Будову отриманих сполук було підтверджено сучасними фізико-хімічними методами.

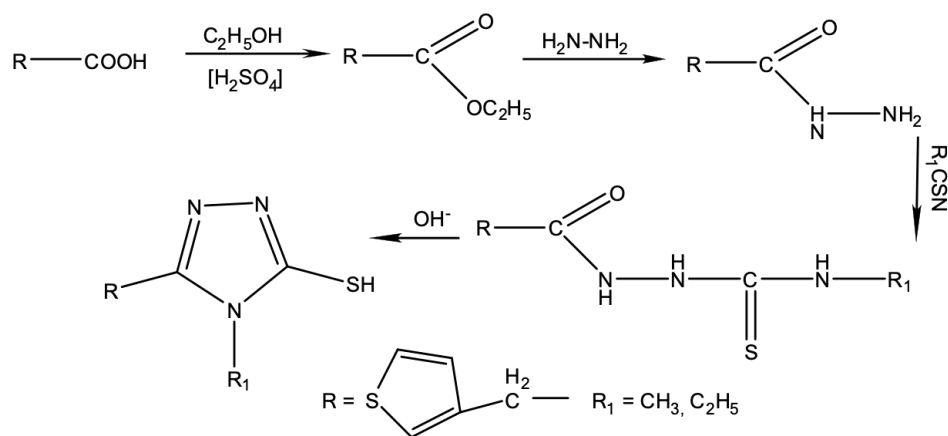


Рисунок 1.8 - Схема отримання 5-(тіофен-3-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.

## 1.2 Хімічні перетворення гетерил похідних 1,2,4-триазолів.

Науковцями нашого університету [35, 36] синтезовано ряд цікавих сполук, які в результаті одностайної реакції було отримали з вихідного 1,2,4-триазол-тіолу. До 5-(тіофен-3-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу додавали 2-фенілацетил хлорид (1), галогенкетони (2) та 3-фторобензоїл хлорид (3) в середовищі метанолу та за наявності еквівалентної кількості натрій гідроксиду, суміш кип'ятили протягом 2-4 годин. Таким чином було отримано нові тіопохідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів (рисунок 1.9).

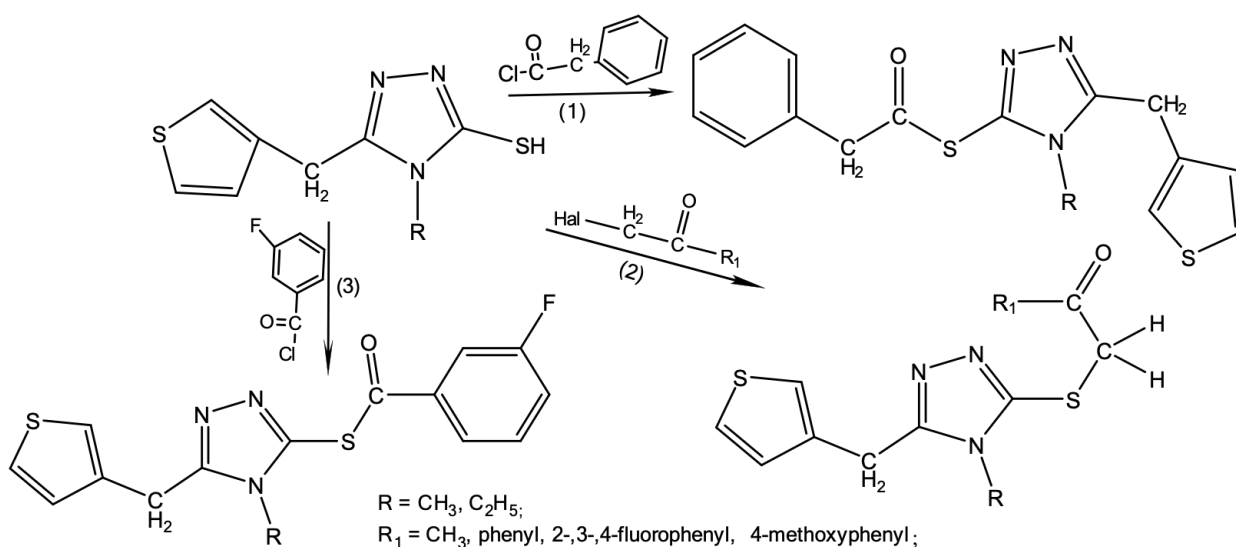


Рисунок 1.9 - Схема хімічних перетворень 5-(тіофен-3-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.

Також, вітчизняними вченими [37], в результаті проведення низки синтетичних перетворень було отримано нові 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-d][1,2,4]триазоло[3,4-f][1,2,4]триазини, підтверджено їх будову та вивчено їх властивості (рисунок 1.10). До розчину 3-(етилтіо)-9-метилпіразоло[1,5-d][1,2,4]триазоло[3,4-f][1,2,4]триазин-6-тіоляту калію додавали відповідні галоалкани ( $C_nH_{2n+1}Br$ ;  $n=1-10$ ) в розчині пропан-2-олу та нагрівали близько однієї години. В подальшому, за допомогою вакууму видаляли надлишок спирту. Осад який утворився відфільтровували та кристалізували.

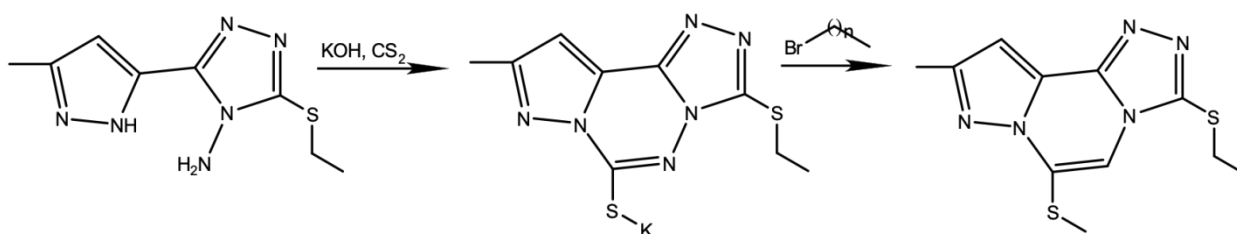


Рисунок 1.10 - Схема утворення 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-d][1,2,4]триазоло[3,4-f][1,2,4]триазинів.

Цікавий спосіб отримання нових іліденгідразидів шляхом конденсації ацетальдегідів запропонували RomanShcherbuna та інші [38]. В якості вихідної сполуки було використано 2-((4-R-5-R1-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетальдегід до якого додавали ацетогідразид, бензогідразид, 3-нітробензогідразид, 4-нітробензогідразид, ізонікотиногідразид та нікотиногідразид (рисунок 1.11). Структуру, чистоту та індивідуальність усіх отриманих сполук було підтверджено сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

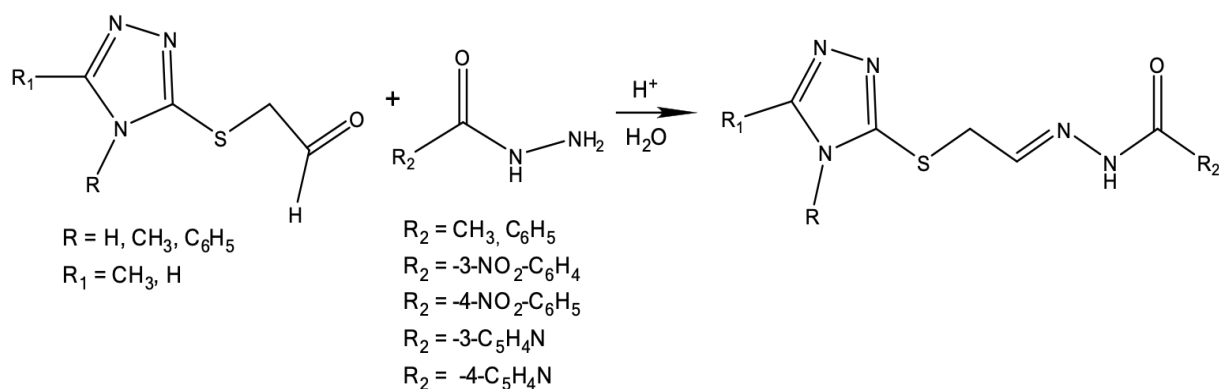


Рисунок 1.11 - Схема отримання іліденгідрозидів 2-((4-R-5-R1-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетальдегідів.

Турецькі вчені [39] з метою розширення бібліотеки біологічно активних речовин поєднали два найперспективніших фрагменти 1,2,4-триазол та кумарин, в результаті отримали похідне 4-(((4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-6,8-диметилкумарин. Реакція була проведена у декілька етапів (рисунок 1.12). В якості вихідних сполук використовували тіофен-2-карбогідрозид та етилізотіоціанат, проміжними продуктами були тіосемікарбазид та 4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол. На заключному етапі в присутності карбонату калію та ацетону до розчину 4-(хлорметил)-7-метилкумарину по краплям додавали 4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол протягом 6 годин. Будову 4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу і 4-(((4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-6,8-диметилкумарину було підтверджено.

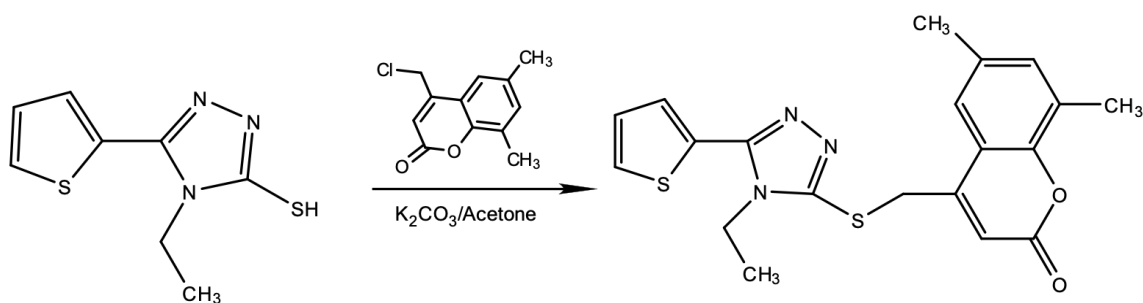


Рисунок 1.12 - Схема синтезу 4-(((4-етил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-6,8-диметилкумарину.

Колективом зарубіжних вчених, з метою розширення кола похідних 1,2,4-триазолів, а також пошуку нових біологічно активних представників



цього ряду було проведено ряд цікавих хімічних перетворень. Запропоновано нову економічну схему синтезу етилового ефіру 2,4-триазолу [40] (рисунок 1.13). Далі на основі ефіру були синтезовані відповідні гідразиди та тіосемікарбазиди, які в лужному середовищі переходять до внутрішньомолекулярної циклізації. У результаті отримано нові біогетероциклічні сполуки 5-{(5-заміщений-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил}-4-феніл-4Н-1,2,4- триазол-3-тіоли [41].

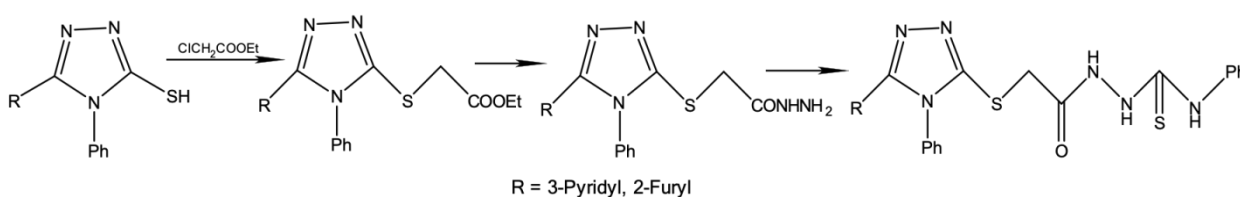


Рисунок 1.13 - Схема отримання 5-{(5-заміщений-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)метил}-4-феніл-4Н-1,2,4- триазол-3-тіоли.

HendA.A. AbdEl-Wahab та інші [42] синтезували та дослідили серію гідридів 1,2,4-триазолоксиму. В якості ключового вихідного матеріалу використано 5-(4-піридил)-1,2,4-триазол-3-тіон, який було отримано в результаті двостадійної реакції гідразиду ізонікотинової кислоти з амоній тіоціанатом в кислому середовищі та з подальшою лужною циклізацією [43, 44]. Вподальшому, було проведено алкілування різними фенацилбромідами та нагрівання із зворотнім холодильником з використанням гідроксиламінів у кислому середовищі (рисунок 1.14).

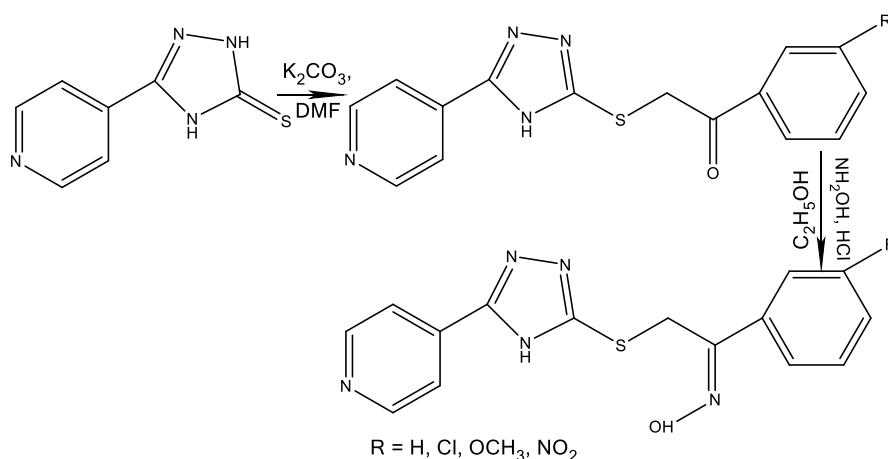
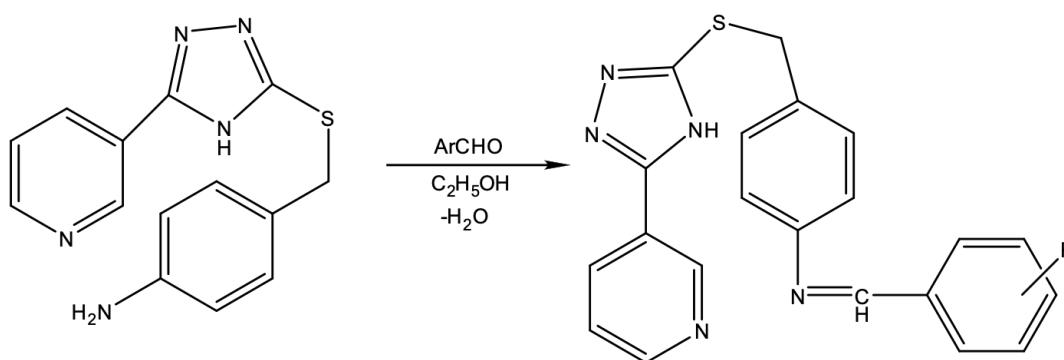


Рисунок 1.14 - Схема отримання похідних 1,2,4-триазолоксиму.

Індійські вчені [45] запропонували цікавий спосіб отримання нових різноманітних гібридів 1,2,4-триазолпіридинових основ Шиффа (рисунок 1.15). Для отримання зазначених сполук, в якості вихідної, було обрано 4-((5-(піридин-3-іл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)метил)бензоамін який було розчинено в етанолі. До отриманого розчину було додано ароматичний альдегід, після чого суміш кип'ятили зі зворотнім холодильником протягом 5-6 годин та при зниженому тиску. В ході реакції об'єм етанолу зменшується вдвічі. Отриманий розчин поміщають на колотий лід. Після охолодження отриманий осад висушують та кристалізують етанолом.



R = -2-OH-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, -C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -2-NH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, -4-OH-3-OCH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>, -4-NO<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, -4-OCH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, -4-Cl-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, -4-CH<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>, -2-F-C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>;

Рисунок 1.15 - Схема синтезу (Z)-N-(заміщеного арилідену)-4-((5-(піридин-3-іл)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)метил)бензоаміну (основи Шиффа).

Турецькі науковці [46] провели деякі хімічні перетворення 4-етил-5-(2-тієніл)-2,4-дигідро-3Н-1,2,4-триазол-3-тіону в результаті яких було отримано нову сполуку: 1-(3-метил-3-мезитил)циклобутил-2-(5-тіофен-4-етил-2Н-[1,2,4]триазол-3-ілсульфаніл)етанон (рисунок 1.16). Для проведення даних перетворень, 2-хлор-1-(3-метил-3-мезитилциклобутил)етанон розчинили в сухому ацетоні, що містив калій карбонат. До отриманої суміші додавали розчин 4-етил-5-(2-тієніл)-2,4-дигідро-3Н-1,2,4-триазол-3-тіону в ацетоні при кімнатній температурі протягом 60 хвилин безперервно перемішуючи. Отриману тверду речовину відфільтровували та кристалізували етиловим спиртом.

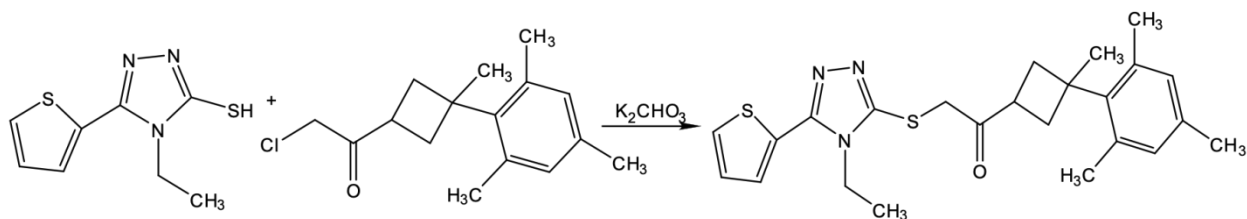


Рисунок 1.16 - Схема синтезу 1-(3-метил-3-мезитил)циклобутил-2-(5-тіофен-4-етил-2Н-[1,2,4]тріазол-3-ілсульфаніл)етанон.

Керуючись актуальністю застосування в медичній та фармацевтичній практиці карбонових кислот та тіазолового фрагменту, а також їх похідних S. O. Fedotov, A. S. Hotsulia [47] провели ряд синтетичних модифікацій та отримали 6-(2,3-дихлорофеніл)-3-(3-метил-1Н-піразол-5-іл)-6,7-дигідро-5Н-[1,2,4]тріазол-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонову кислоту, а пізніше відповідні солі. Процес отримання було проведено шляхом стадійного, поступового синтезу. Для початку, до отриманої раніше Шифової основи у сухому тетрагідрофурані при кімнатній температурі додавали подвійну кількість гідриду натрію. Через 15 хвилин до утвореної солі було додано 2-хлоретанову кислоту після чого розчин перемішували протягом 10 годин, розчинник видаляли під вакуумом, а отриманий триазолотіадіазин кристалізували етанолом. Завершальним етапом було отримання солей, шляхом взаємодії кислоти з органічними та неорганічними основами у водно-спиртовому середовищі (рисунок 1.17).

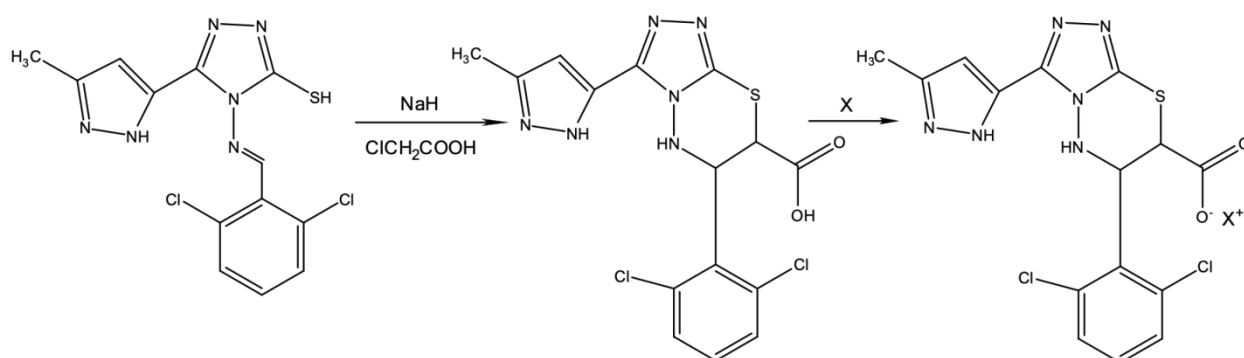


Рисунок 1.17 - Схема отримання 6-(2,3-дихлорофеніл)-3-(3-метил-1Н-піразол-5-іл)-6,7-дигідро-5Н-[1,2,4]тріазол-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти та її солей.

Andrii A. Safonov [48] провівши деякі хімічні перетворення раніше отриманого ізопропіл 2-((3-(тіофен-2-ілметил)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетату отримав ряд нових N'-заміщених-2-((5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетогідрозидів (рисунок 1.18). До вихідної сполуки додавали гідрозингідрат та кип'ятили зі зворотнім холодильником протягом 3-4 годин в спиртовому середовищі, було отримано (2-((3-(тіофен-2-ілметил)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетогідрозид) до якого в подальшому додавали ароматичний або гетероциклічний альдегід в оцтовій кислоті.

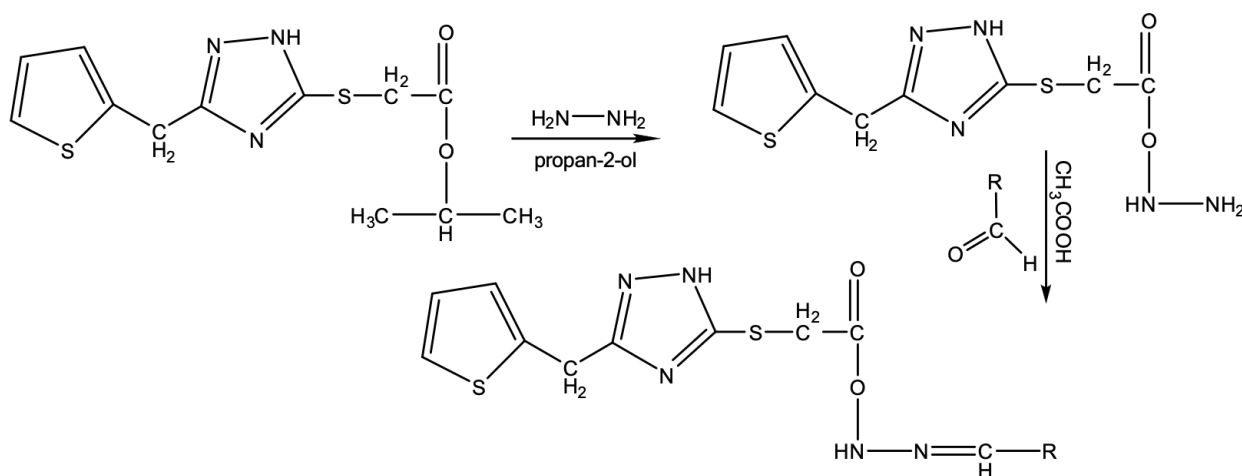


Рисунок 1.18 - Схема синтезу N'-заміщених-2-((5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетогідрозидів.

В наукових колах все більшу увагу привертає високоефективний метод мікрохвильового синтезу. Завдяки використанню мікрохвильового опромінення можливо суттєво зменшити час реакції та кількість розчинника, що дозволяє збільшити вихід та мінімізувати побічні реакції. Саме за допомогою системи мікрохвильового синтезу було оптимізовано спосіб отримання нових похідних 4-((5-((циклогексилметил)тіо)-4-R<sub>1</sub>-4H-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну та 4-((4-R<sub>1</sub>-5-(піридин-2-ілтіо)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну [49, 50, 51, 52, 53,54]. Для отримання зазначених сполук в обох випадках в якості вихідної сполуки було використано 4-R<sub>1</sub>-3-(морфолінометил)-4H-1,2,4-триазол-5-тіоли до яких в першому випадку додавали (бромметил)циклогексан, а в другому – 2-

хлорпіридин (рисунок 1.19). Реакцію було проведено в мікрохвильовій системі Milestone Flexi Wave. Найкращі показники було досягнуто за таких параметрів: температура – 160 °С та час – 10 хвилин.

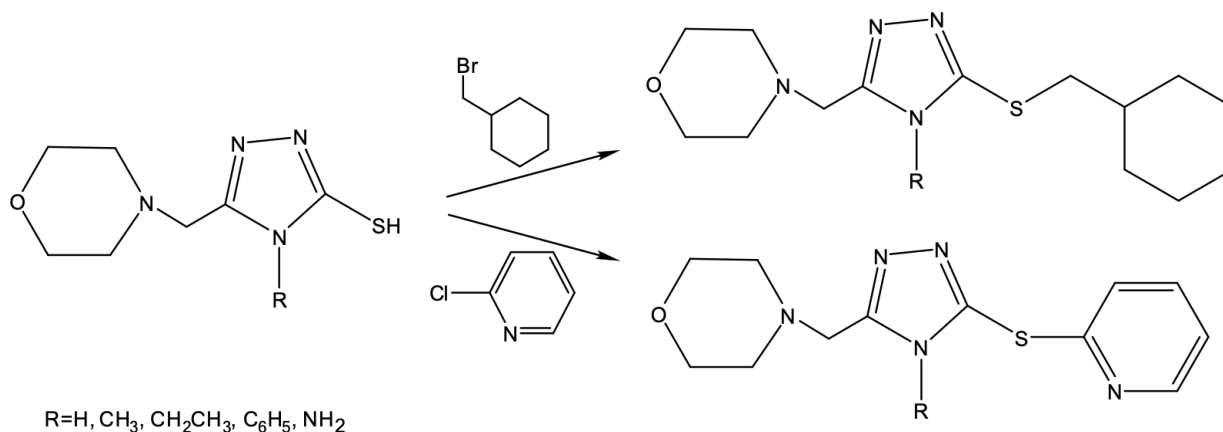


Рисунок 1.19 - Схема отримання 4-заміщених-3-(морфолінометил)-4H-1,2,4-триазол-5-тіолів.

### 1.3 Біологічна активність гетерил похідних 1,2,4-триазолу

Створення нових перспективних молекул синтетичного походження є пріоритетним завданням сучасної фармацевтичної науки [55, 56]. Синтезом нових оригінальних молекул серед похідних 1,2,4-триазолу займаються вчені майже всього світу. Можливість додаткового введення різних замісників у «каркас» є вирішальною при моделюванні нових «бібліотек» перспективних сполук [57, 58]. На сьогодні 1,2,4-триазол є розповсюдженим фармакофором, який присутній в багатьох вже відомих молекулах лікарських сполук та як відомо, його похідні проявляють безліч фармакологічних властивостей: протимікробну, протигрибкову, антибактеріальну, протитуберкульозною, антиоксидантну, протипухлинну, аналгетичну, протизапальною активністю тощо (рисунок 1.20) [59, 60, 61, 62, 63]. Інші похідних цієї системи також використовуються у сільськогосподарській та ветеринарній промисловості [64, 65].

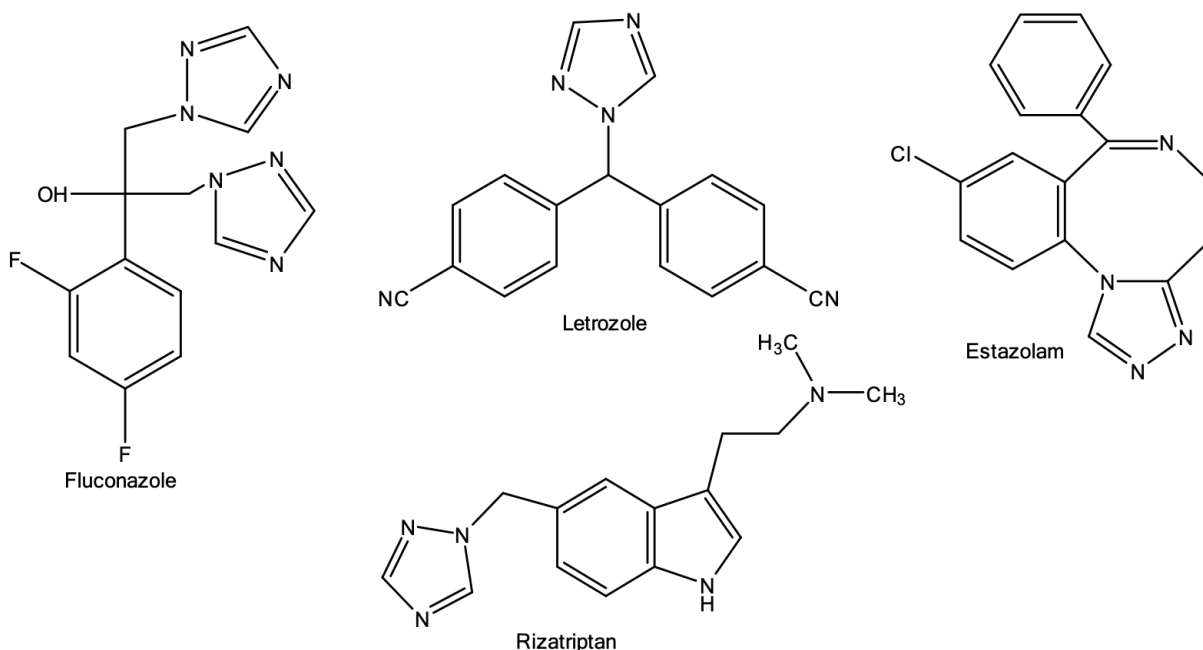


Рисунок 1.20 - Приклад 1,2,4-триазол вмісних лікарських засобів.

Численні нові штами мікроорганізмів, стійких до антимікробних препаратів, нещодавно були виявлені по всьому світу, що створює серйозну загрозу для здоров'я. Удосконалення існуючих і розробка нових ефективних протимікробних і протигрибкових синтетичних лікарських засобів є одним із пріоритетних напрямків сучасної фармацевтичної промисловості. З цією метою активно вивчаються похідні 1,2,4-триазолів [66, 67, 68, 69]. Існують вже відомі представники (такі як флуконазол, ітраконазол, вориконазол), які є найцікавішим класом протигрибкових препаратів через їх широкий спектр, високу дію і наявність цільового ферменту.

Науковцями отримано серію нових гібридів «1,2,4-триазол-норфлорксацин» (рисунок 1.21). Отримані сполуки проявили вищу антибактеріальну дію, ніж норфлорксацин відносно грампозитивних та грамнегативних бактерій [70, 71]. Встановлено, що гемоліз не спостерігався при концентрації 64 мкг/мл, що свідчить про хорошу біосумісність молекул, а за результатами молекулярного докінгу найменша енергія зв'язку становить від 9,4 до 9,7 ккал/моль.

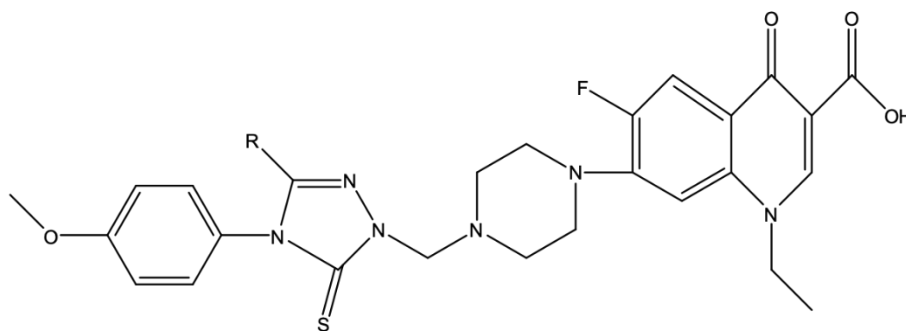


Рисунок 1.21 - Похідні 1,2,4-триазолу.

Науковцями Запорізького державного медико-фармацевтичного університету [72] отримано та досліджено ряд нових S-заміщених 1,2,4-триазол-3-тіолів з 2-арил-2-оксоетан-1-ільним замісником. В подальшому для них було проведено вивчення антибактеріальної та протигрибкової активності. У якості тест-культури використовували штам *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 та *Candida albicans* ATCC 885-653. Активність досліджували методом подвійних серійних розведень у рідкому поживному середовищі, яке вважалось оптимальним для росту дослідних культур, у концентрації  $10^6$  клітин/мл. Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали за відсутністю видимого росту в пробірці при мінімальній концентрації зразка досліджуваної речовини. Найвищу активність продемонстрували сполуки 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 та 1-(4-метоксифеніл)-2-(((4-етил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанон (рисунок 1.22, 1.23). Результати свідчать, що данні речовини є перспективними для подальших досліджень.

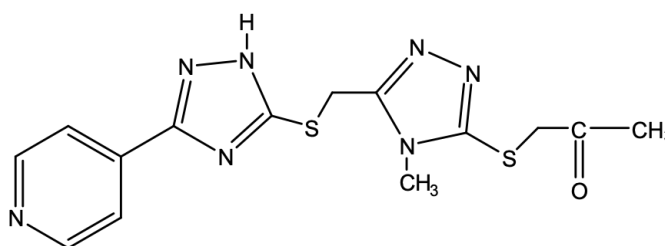


Рисунок 1.22 - 1-((4-етил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропан-2-он.

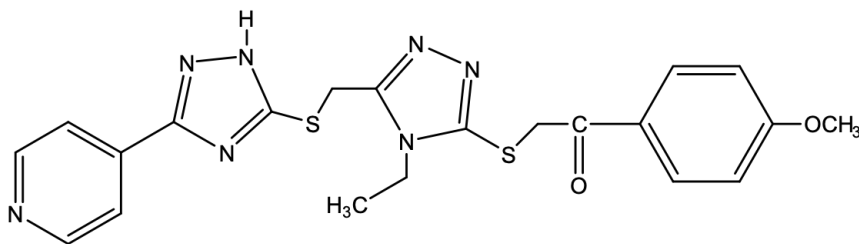


Рисунок 1.23 - 1-(4-метоксифеніл)-2-((4-етил-5-(((3-(піридин-4-іл)-1Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанон.

Маhמודі та інші [73] поставили за мету отримати нові високоефективні протигрибкові засоби модифікувавши молекулу флуконазолу. Було отримано серію триазольних спиртів, які містять N-бензилпіперазинкарбодитіоатний фрагмент. В порівнянні з флуконазолом було заміщене одне триазольне кільце каркасом N-(галобензил)піперазинкарбодитіоатом (рисунок 1.25). Проведено ряд біотестів *invitro* проти різних видів *Candida* (*C. Albicans*, *C. Glabrata*, *C. Parapsilosis* та інші) результати яких були кращі за засіб порівняння. Було також оцінено потенціал новосинтезованих сполук щодо резистентних до флуконазолу ізолятів, а також їх токсичність щодо еритроцитів людини та клітин HerG2.

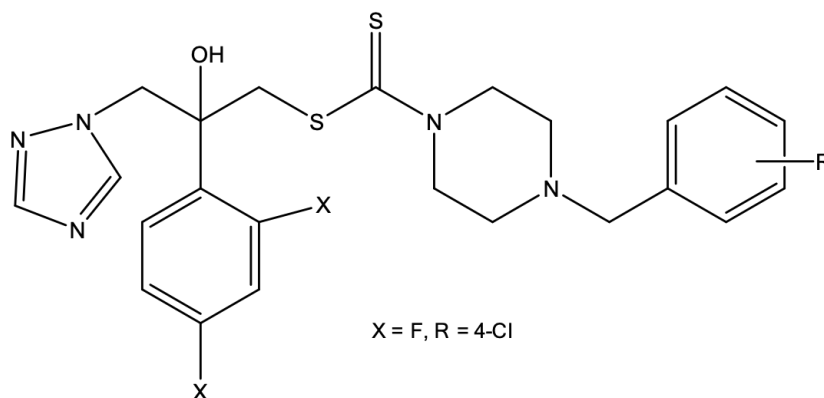


Рисунок 1.24 - Загальна формула 1Н-1,2,4-триазолових спиртів, що містять N-(галобензил)піперазин-карбодитіоатний фрагмент.



Колективом турецьких вчених [74] синтезовано нові 1,2,4-триазол-3-тіони та 4-тіазалідони (рисунок 1.26). Отримані речовини було вивчено щодо їх протимікробної та протигрибкової активності до дев'яти штамів різноманітних мікроорганізмів (*C. parapsilosis*, *C. Albicans*, *M. gypseum*, *C. krusei*, *T. Tonsurans* та інші). Результати досліджень показали, що данні сполуки є досить перспективними в якості фунгіцидних та протимікробних засобів.

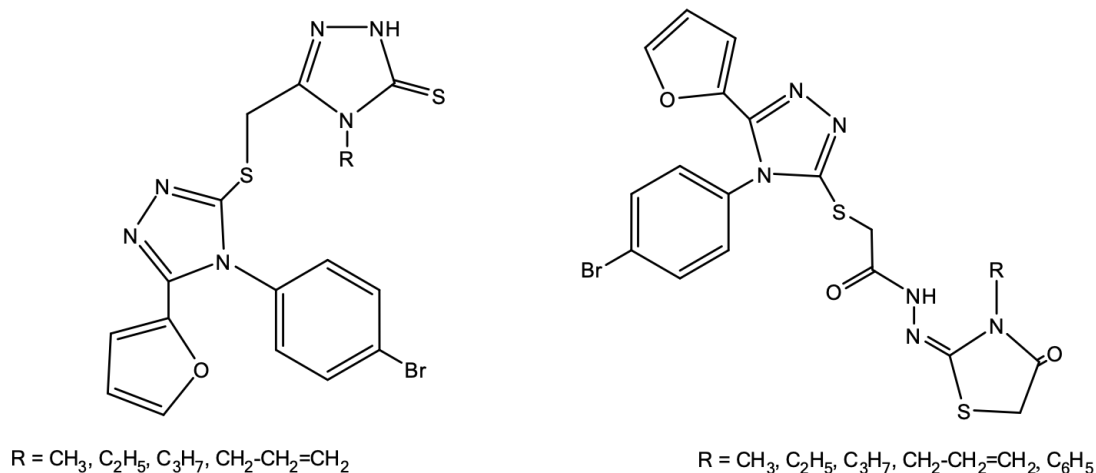


Рисунок 1.25 - Нові похідні 1,2,4-триазол-3-тіону та 4-тіазалідону.

Литовськими вченими [75] було отримано нові похідні 1-феніл-5-оксопіролідину, що містять 1,2,4-триазольний фрагмент та оцінено їх антимікробну активність. Науковцями було отримано гетероциклічну сполуку з двома 4-феніл-5-тіоксо-1,2,4-триазольними фрагментами в структурі (рисунок 1.27), яку в подальшому було досліджено *in vitro* проти *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa* з використанням аналізів MIC та MBC.

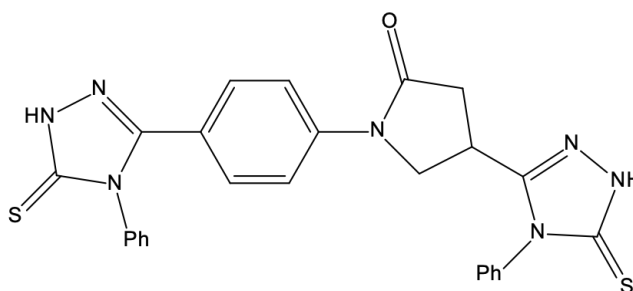


Рисунок 1.26 - 4-(4-Феніл-5-тіоксо-4,5-дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл)-1-(4-(4-феніл-5-тіоксо-4,5- дигідро-1Н-1,2,4-тріазол-3-іл)феніл)піролідин-2-он.

Французькі вчені [76] також проводили пошукові роботи нових речовин з фунгіцидною активністю саме в ряді похідних 1,2,4-тріазолу. Під час розробки молекули було припущено, що пара-заміщення акцепторами водневих зв'язків має націлюватися на специфічний для грибів залишок гістидину, посилювати зв'язування з грибковим СУР51, а також компенсувати мутації поблизу сайту гему, які надають стійкість до триазолів. З цією метою молекулу було модифіковано за рахунок приєднання пірролотріазинового фрагменту (рисунок 1.28). Отримані сполуки дійсно продемонстрували високі результати проти патогенних *Candidaspp.* (перевищували активність флуконазолу), проти двох ізолятів *Candidaalbicans* з відомим механізмом резистентності до азолів, а також проти нитчастих грибів *Aspergillusfumigatus* і зигоміцетів *Rhizopusoryzae*.

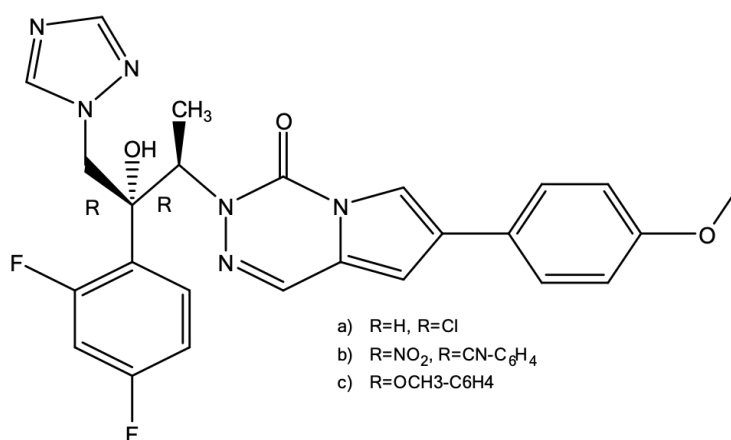


Рисунок 1.27 - Нові азольні протигрибкові похідні на основі пірролотріазинового каркасу.

Запалення, процес який супроводжує чималу кількість захворювань. Як відомо, запальний процес є захисним механізмом зі складною серією відповідей на різні подразники, тому процес повалення запалення є неменш складним процесом. Більшість нестероїдних протизапальних засобів діють на синтез медіаторів запалення, а саме метаболітів арахідонової кислоти через

пригнічення активності циклооксигенази. Але існує інший шлях, ліпооксигеназний, шлях послідовної взаємодії різних підтипів ліпооксигеназ, в результаті з арахідонату утворюються різні підтипи лейкотриєнів та ліпоксинів.

W. Shahid та ін. активно вивчали інгібуючу активність новосинтезованих S-алкіл/аралкидних похідних 2-(4-етил/феніл-5-(1-фенілкарбамоїлпіперидин)-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ефірів проти ліпооксигенази [77, 78, 79] (рисунок 1.29). Під час роботи було використано ряд методів *in vitro*, *in silico*, МТТ-аналіз та метод проточної цитометрії, за результатами яких отримано цікаві дані. Для деяких сполук виявлено потужні інгібиторні профілі проти ферменту 15-sLOX та 5-LOX людини (5-hLOX), а також їм притаманна максимальна клітинна життєздатність лімфоцитів і мають вплив на клітини у фазі пізнього апоптозу. За результатами продовжено роботу з пошуку активного протизапального засобу.

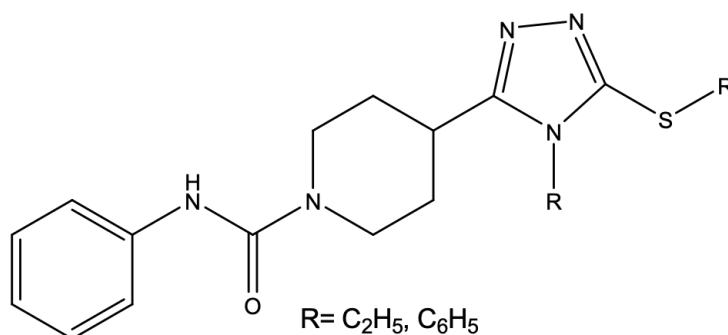


Рисунок 1.28 - N-етил/феніл-3,5-дизаміщені триазоли.

Командою досвідчених фахівців в галузі органічної хімії та фармакології було отримано та досліджено гіполіпідемічну дію для нових похідних 1,2,4-триазолу [80], а саме морфолінієвих солей 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-4Н-1,2,4-триазол-3-ілтіо)оцтових кислот. Дослідження проводили за допомогою експериментального методу моделювання гіперліпідемії на білих нелінійних щурах, яким вводили атерогенну суміш (холестерол та 0,125 % олійний розчин вітаміну D<sub>2</sub>) шляхом перорального зондування. Експеримент тривав п'ять днів. На шосту добу здійснювали забір крові та визначали формування

атеросклерозу за рівнем ЗХС, ЛПНЩ, ТГ і ХС. Серед вивчених сполук деякі продемонстрували досить високі результати відносно засобу порівняння аторвастатину, але сполука (рисунок 1.30) має найвищі показники. Таким чином можна дійти до висновків про високу перспективність пошуку серед похідних 1,2,4-триазолів з речовин з гіполіпідемічною активністю.

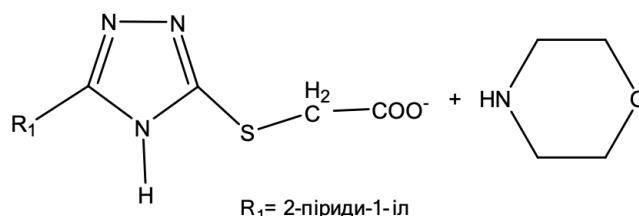


Рисунок 1.29 - Загальна формула морфолінієвих солей 2-(4-R-5-R<sub>1</sub>-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)оцтових кислот.

Чимала кількість літературних даних свідчить щодо значної антиоксидантної активності похідних 1,2,4-триазолів [81, 82, 83, 84, 85, 86]. YusufSicak [87] турецький вчений дослідив антиоксидантну активність нових похідних 1,2,4-триазолів на основі п'ятичленного гетероциклу – фурану. Антиоксидантну активність було вивчено за інгібуючою активністю перикисного окиснення ліпідів, а також за допомогою SwissADME було розраховано фізико-хімічні і фармакодинамічні властивості, прораховано спорідненість сполук з відомими лікарськими засобами. З ряду сполук що вивчались деякі продемонстрували досить високі результати (рисунок 1.31).

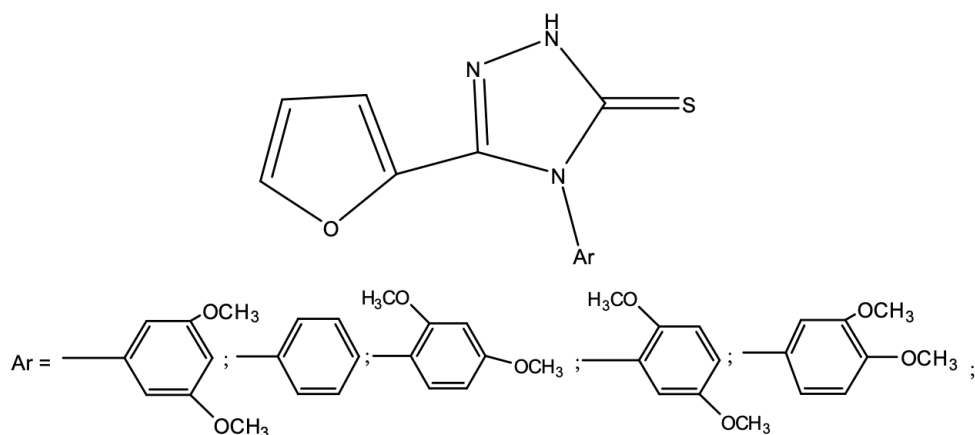


Рисунок 1.30 - Похідні 1,2,4-триазолу з фурановим гетероциклом.

На сьогодні, пошук протипухлинних засобів є досить актуальною метою, оскільки за смертністю рак посідає друге місце в світі [88, 89, 90]. Необхідні нові засоби, що здатні впливати на пухлини, які вже адаптувались до стандартних методів лікування. Відомо, що такі рецептори як тирозинкінази VEGFR-2 відіграють важливу роль у ангіогенезі пухлин. Саме тому необхідним є отримання нових речовин-інгібіторів тирозинкінази VEGFR-2, які стримуватимуть процес зростання пухлин. Керуючись зазначеною метою, групою вчених [91] синтезовано серію нових 2-оксохіноксалініл-1,2,4-триазолів та оцінено їх інгібуючу активність проти лінії клітин раку молочної залози MCF-7 і кінази VEGFR-2. Додатково були проведені молекулярні докінг-дослідження, для вивчення співвідношення їхньої інгібіторної активності до режиму зв'язування в активному центрі VEGFR-2. Для більшості сполук були отримані непогані результати, проте одна з них (рисунок 1.32) продемонструвала високі показники ( $IC_{50} = 0,037$  мкМ) інгібуючої активності у порівнянні з референс-засобом ( $IC_{50} = 0,045$  мкМ). Згідно докінгу, ця ж сполука проявила взаємодію водневих зав'язків з амінокислотами Glu885, Asp1046, Cys919, що є подібним до засобу порівняння.

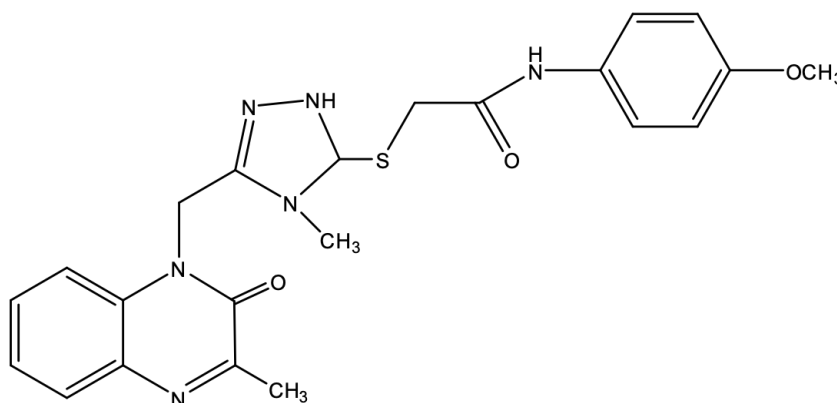


Рисунок 1.31 - N-(4-метоксифеніл)-2-((4-метил-3-((3-метил-2-оксохіноксалін-1(2H)-іл)метил)-4,5-дигідро-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетамід.

З метою розробки нових сполук, які можуть впливати на механізми розвитку стомлюваності та будуть володіти здібністю регенерувати функції клітин науковцями [92, 93, 94, 95] було проведено дослідження актопротекторних можливостей деяких похідних 1,2,4-триазолу. Для проведення експерименту було обрано відомий метод «примусового занурення у воду» [96] на групі білих нелінійних щурів та вивчено ряд синтезованих 5-(тіофен-3-іл)-4R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-тіолів. Після статистичної обробки отриманих результатів стало відомим, що деякі сполуки (рисунок 1.33) продемонстрували результати, які перевищували показники засобу порівняння «Рибоксин» у тричі. Також було встановлено певні закономірності: введення до молекули ароматичних фармакофорів з атомом бромов чи фтору різко підвищувало актопротекторну ативність сполуки.

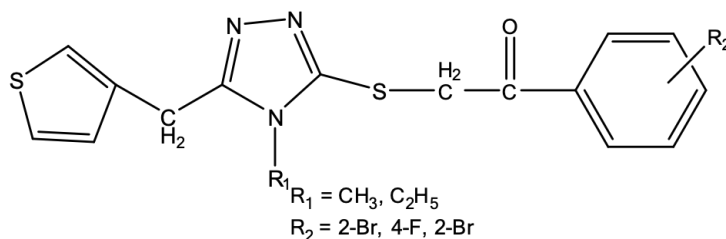


Рисунок 1.32 - Тіопохідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-тіолів.

За матеріалами розділу опубліковані роботи [97, 98, 99].

## РОЗДІЛ 2

### СИНТЕЗ, МОДИФІКАЦІЇ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ S-ЗАМІЩЕНИХ 4-R-5-(ТІОФЕН-3-ІЛМЕТИЛ)-4H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ

На сьогодні 1,2,4-триазол є однією з найперспективніших гетероциклічних систем [100, 101, 102, 103]. Гібриди похідних 1,2,4-триазолу відзначаються низькою токсичністю та широким спектром біологічної активності. Значущим аспектом у хімічному моделюванні та функціоналізації, особливо при комбінуванні фармакофорів, є цілеспрямований пошук біоактивних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолів за атомом сульфуру [104, 105, 106]. Завдяки можливості внесення різних замісників та зручній хімічній модифікації, особливо перспективними є S-заміщені похідні 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів. З урахуванням цих особливостей, синтез похідних 1,2,4-триазолів з тіофеновим фармакофором та різними функціональними замісниками може призвести до відкриття нових сполук з різноманітними біологічними властивостями.

#### 2.1 Синтез та фізико-хімічні характеристики вихідних речовин.

З метою виявлення біологічно активних сполук проведено синтез ряду 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів. Вихідні 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіоли (2.1, 2.2) отримано відповідно до класичного методу, а саме, циклізації тіосемікарбазиду в лужному середовищі [107].

Для отримання першого інтермедіату використовували загальноприйнятий метод синтезу [108], згідно якого проводили естерифікацію 3-тіофенетанової кислоти пропан-2-олом з додаванням каталітичної кількості сульфатної кислоти (рисунок 2.1).

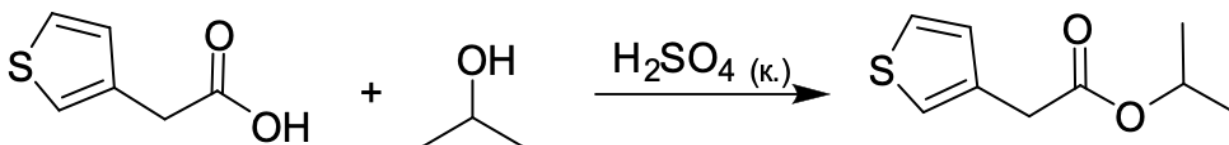


Рисунок 2.1 - Схема синтезу ізопропіл 2-(тіофен-3-іл)етаноату.

Другий етап синтезу вихідних сполук включав реакцію ізопропілового естеру 3-тіофенетанової кислоти з гідразином при нагріванні, з утворенням відповідного ацетогідрозиду (рисунок 2.2).

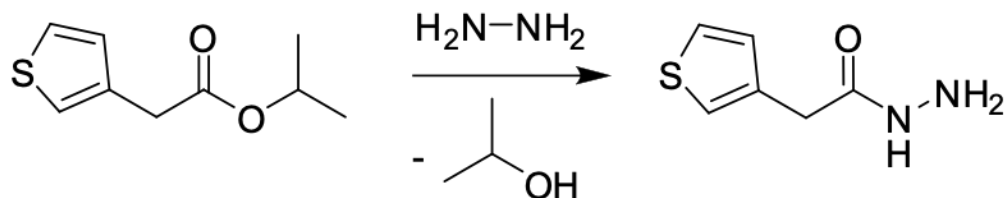


Рисунок 2.2 - Схема синтезу 2-(тіофен-3-іл)ацетогідрозиду.

В подальшому до утвореного 2-(тіофен-3-іл)ацетогідрозиду додавали розчин відповідного ізотіоціанату. Реакція екзотермічна (рисунок 2.3).

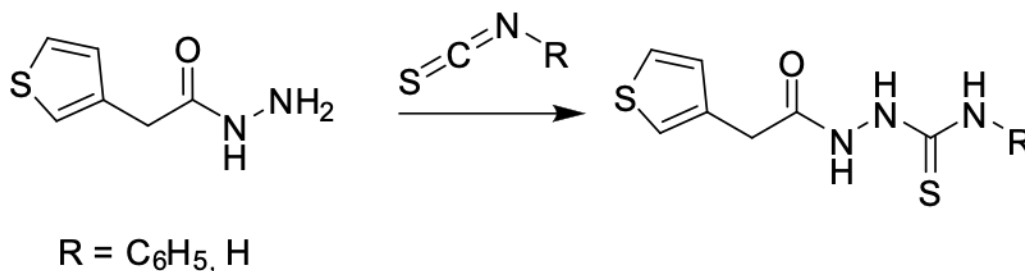


Рисунок 2.3 - Схема синтезу тіосемікарбозиду.

Отриманий N-R-2-(2-(тіофен-3-іл)ацетил)гідразин-1-карботіоамід піддали циклізації у 30% водному розчині гідроксиду натрію, а потім нейтралізували, додаючи етанову кислоту (рисунок 2.4).

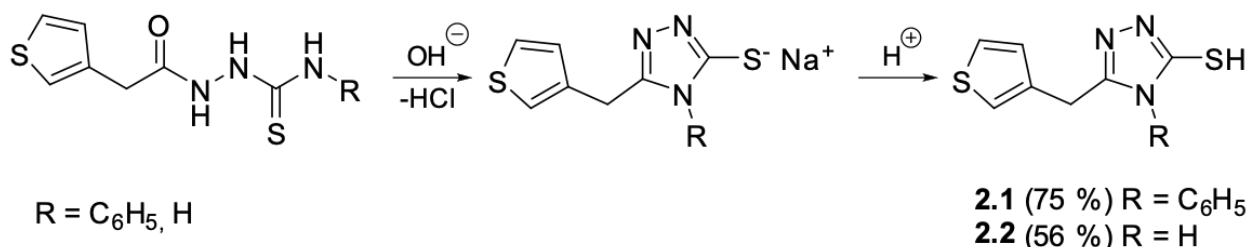


Рисунок 2.4 - Схема синтезу 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу.



Вихідні сполуки (2.1, 2.2) виглядають як білі кристалічні речовини, нерозчинні у воді, спиртах, діетиловому етері, ацетоні та розчинні в ДМФА, ДМСО, оцтовій кислоті. Для подальших фізико-хімічних та фармакологічних досліджень сполуки очищали перекристалізацією з суміші ДМФА-метанол (2:1).

Для верифікації структури отриманих вихідних речовин було проведено елементний аналіз,  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопію, ІЧ-спектроскопію та ГХ-МС аналіз.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр 4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1) характеризується сигналами при 3,82 м. ч., у вигляді триплету з малою константою зв'язку, що вказує на наявність двох еквівалентних протонів. Хімічний зсув і константа зв'язку відповідають метиленовій ( $-\text{CH}_2-$ ) групі. Ароматична частина сполуки відображена в сигналах при 6,72 м. ч. (д,  $J = 4,9$  Гц) та 6,92 м. ч. (д,  $J = 2,9$  Гц), які представляють два ароматичні протони. Дублети дублетів при 7,23 м. ч. ( $J = 2,9, 6,7$  Гц) та 7,35 м. ч. ( $J = 2,9, 5,0$  Гц) вказують на додаткові ароматичні протони в різних хімічних середовищах, вірогідно, ці сигнали характеризують наявність тіофенового фрагменту в структурі сполуки. Ці сигнали формують характерні множини для ароматичних ядер. Надалі, сигнал при 7,45 м. ч. утворює мультиплет з константою зв'язку  $J = 4,1$  Гц, що свідчить про наявність чотирьох протонів. Ймовірно, це ароматичні протони, що знаходяться в фенільному кільці.

Усі вказані хімічні зсуви та константи зв'язку в  $^1\text{H}$  ЯМР спектрі відповідають очікуваній структурі 4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1) і гармонійно інтегруються в загальну хімічну картину сполуки (рисунок 2.5).

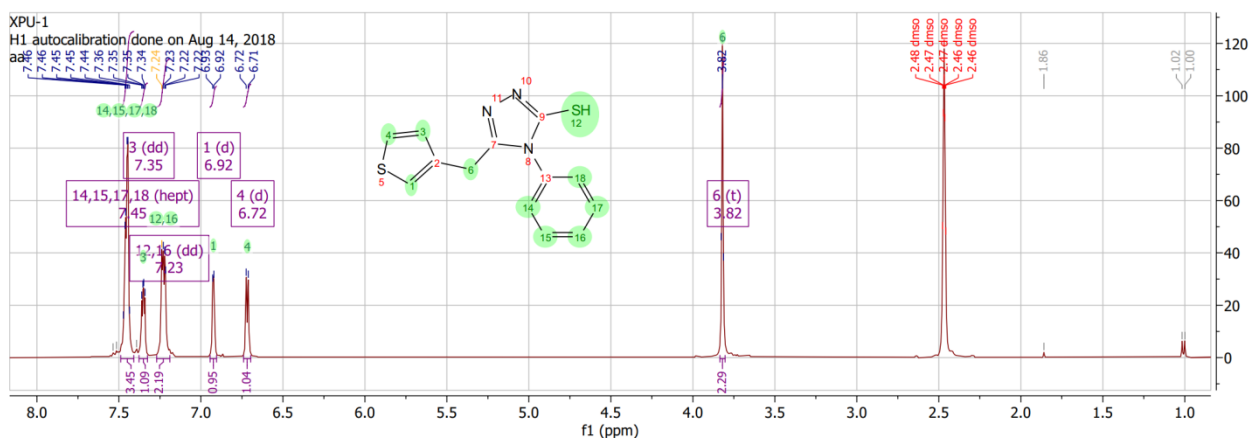


Рисунок 2.5 -  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр 4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу (2.1).

Інфрачервоні спектри отриманих сполук характеризуються вираженими смугами валентних коливань, які є помітними для основних фрагментів молекул. У вихідних сполуках спостерігається валентне коливання  $\text{C}=\text{C}$  в діапазоні  $1620\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$ ,  $\text{C}=\text{N}$  у діапазоні -  $1480\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ , а також високоінтенсивні валентні коливання тіофену в діапазоні  $690\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ . Присутні також валентні коливання в межах  $2550\text{-}2590\text{ cm}^{-1}$ , що свідчать про наявність групи  $-\text{SH}$  (рисунок 2.6).

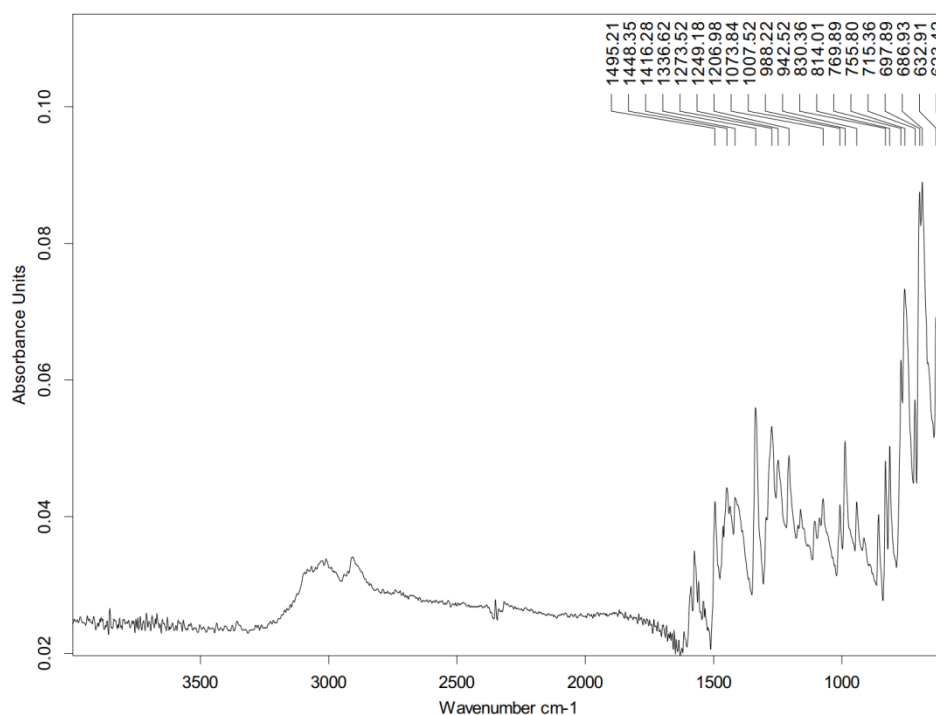


Рисунок 2.6 - ІЧ-спектр вихідного тіолу (2.1).

Вихідна речовина, 5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіол (2.2), не переходила у газовий стан під час інжекції при 320 С, тому проведення аналізу здійснювалося безпосередньо за допомогою мас-спектрометра (прямого введення). Поодинокий хроматографічний пік на рисунку 2.7 свідчить про відсутність домішок.

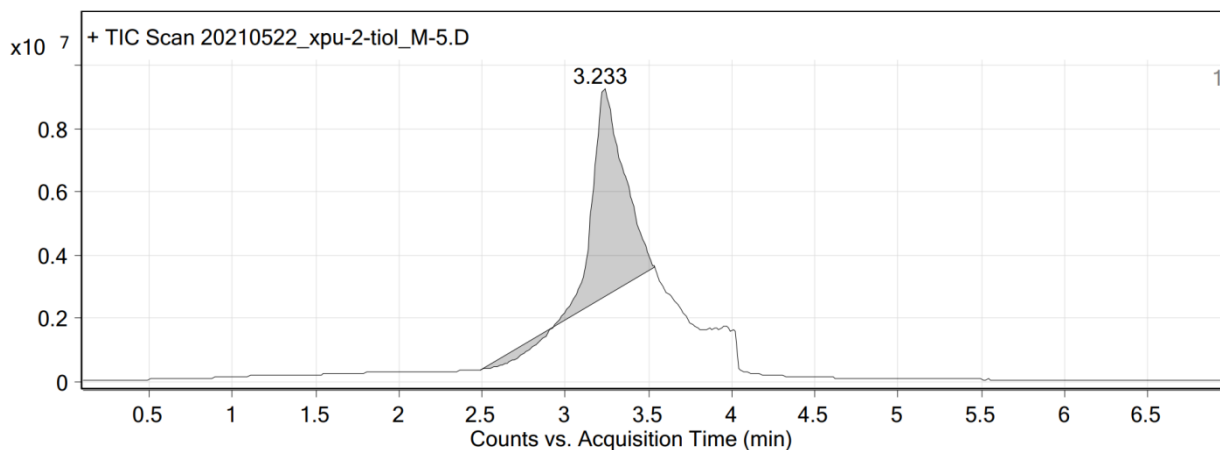


Рисунок 2.7 - Хроматограма прямого вводу сполуки 5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіол (2.2).

Маса до заряду молекулярного іона становила 197  $m/z$ , що повністю співвідноситься з молекулярною масою вихідного тіолу 2.2(рисунку 2.8)

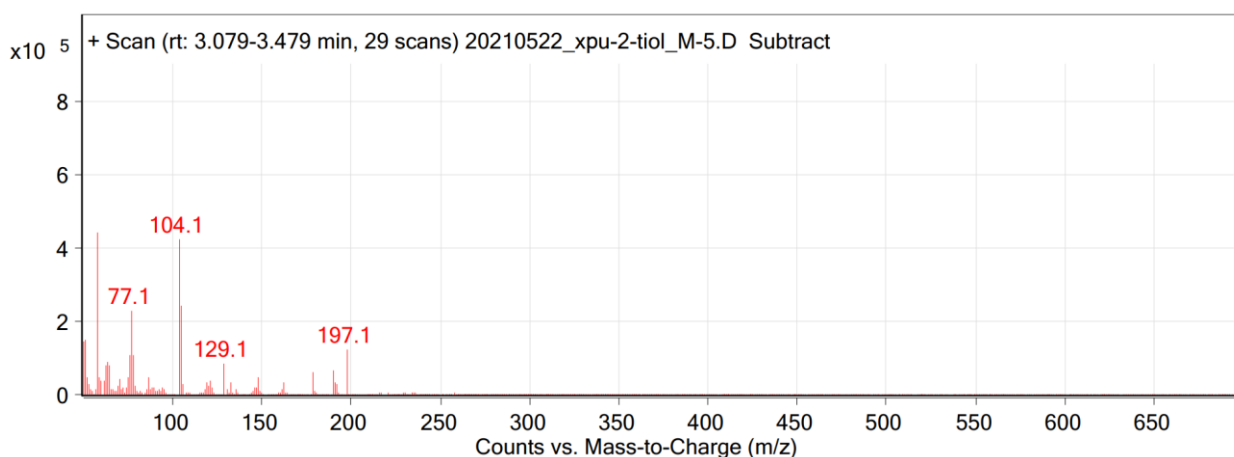


Рисунок 2.8 - Мас-спектр 5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіолу 2.2.

## 2.2 Синтез S-алкіл похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів

Синтез 3-(алкілтіо)-4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів виконували шляхом алкілювання 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів за допомогою відповідних галогеналканів у середовищі пропан-2-олу з додаванням еквівалентної кількості калію гідроксиду при підвищеній температурі. В якості алкілюючих агентів використовували бромометан, 2-бромпропан, 1-бромопентан, 1-бромнооктан, 1-бромнонан та 1-бромодекан (рисунок 2.9).

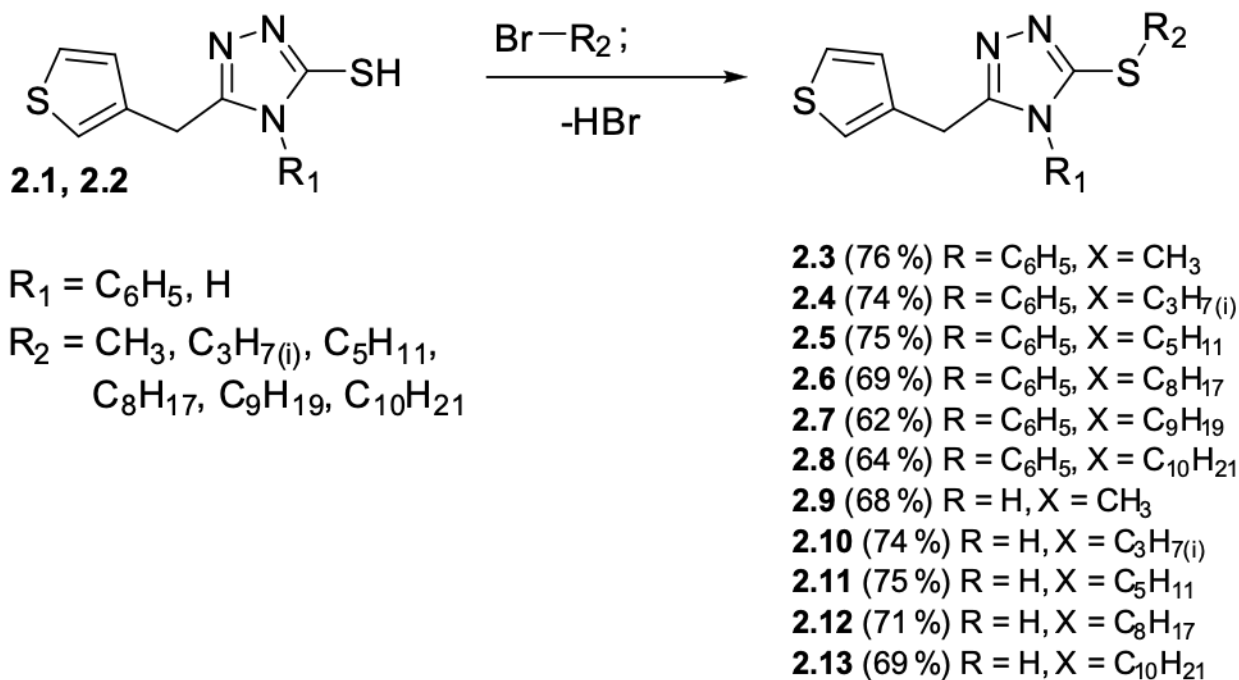


Рисунок 2.9 - Схема синтезу S-алкіл заміщених 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів.

Отримані сполуки представляють собою кристалічні субстанції 2.3-2.12, що є S-алкільними похідними 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів. Переважна більшість 3-(алкілтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазолів має світло-жовтий колір, в той час як 3-(алкілтіо)-4-феніл-5-(тіофен-

3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолів характеризуються світло-червоним забарвленням. Отримані речовини (2.3-2.12) практично не розчинні у воді та спирті та ацетоні, та слабозчинні у малополярних розчинниках. Для аналізу сполук вони піддаються перекристалізації з розчину метанолу та ДМФА (1:1).

Структуру синтезованих сполук 2.3-2.12 підтверджено за допомогою комплексного використання сучасних фізико-хімічних методів аналізу, таких як елементний аналіз, <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопія, ІЧ-спетроскопія та ГХ-МС.

На прикладі 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолу (2.5) можна спостерігати відмінність у сигналах протонів в порівнянні з вихідними тіолами (2.1-2.2).

<sup>1</sup>H ЯМР-спектр для сполуки 2.5 розкриває структурні риси сполуки в деталях (рисунок 2.10). Триплет при 0,79 м. ч. та мультиплет свідчить про тріо еквівалентних протонів метиленової групи пентилового залишку та п'ять еквівалентних протонів, що належать пентиловому залишку відповідно, вказуючи на аліфатичний характер цієї частини сполуки. Сигнал при 1,56 м. ч. вказує на два еквівалентних протони метиленової групи аліфатичної частини. Сигнал триплету при 3,00 м. ч. на два протони та характеризує метиленової групи, ймовірно, пов'язаних з атомом сульфуру. Сигнали в діапазоні 7,25-7,57 м. ч. представлені мультиплетами і вказують на присутність різних ароматичних протонів у тіофеновому та фенільному кільцях відповідно. Отже, аналіз спектра підтверджує відповідність наданих сигналів з викладеною структурою сполуки 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолу (2.5).

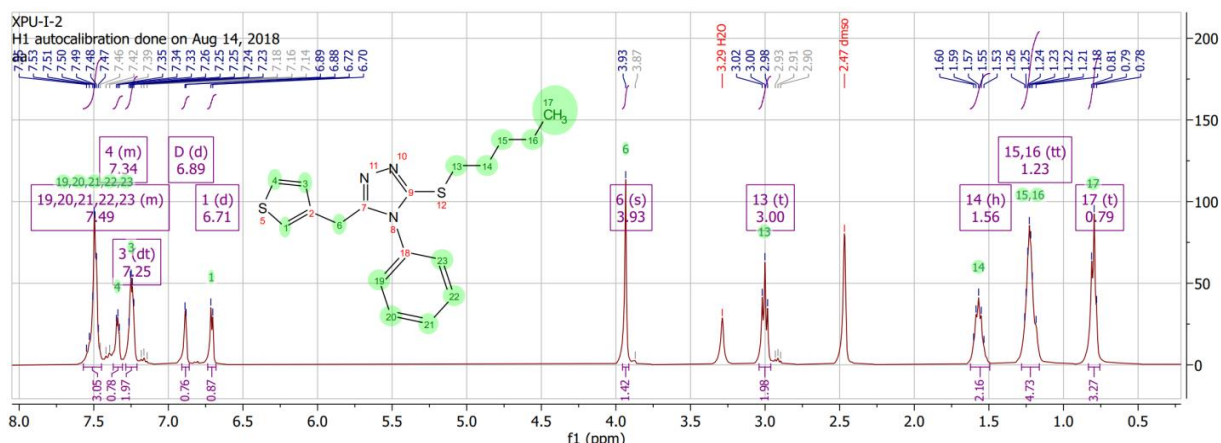


Рисунок 2.10 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра S-алкіл заміщеного похідного 1,2,4-триазолу 2.5.

Метод хромато-мас-спектрометрії підтвердив індивідуальність синтезованих S-алкіл заміщених 1,2,4-триазолів. Мас-спектр сполуки 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолу (2.5) демонструє молекулярний пік при 343  $m/z$ , що узгоджується з молекулярною масою досліджуваної сполуки (рисунок 2.11).

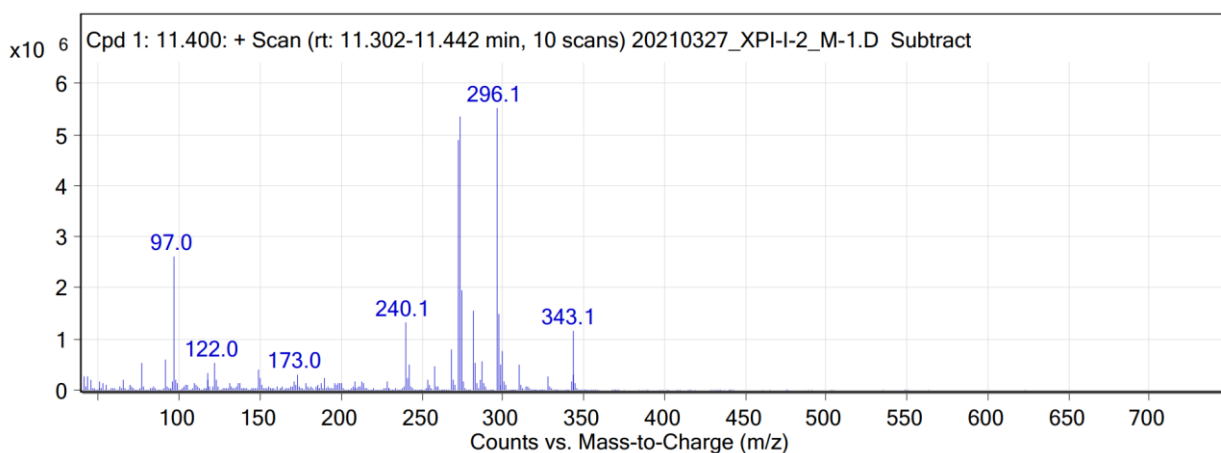


Рисунок 2.11 - Мас-спектр 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолу (2.5).

В ІЧ-спектрах алкілпохідних чітко спостерігаються валентні коливання  $\text{CH}_2$  групи у межах 2870-2940  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{CH}_3$  – 2950-2975  $\text{cm}^{-1}$  та деформаційні коливання групи S- $\text{CH}_3$  в області 1325  $\text{cm}^{-1}$  (рисунок 2.12).

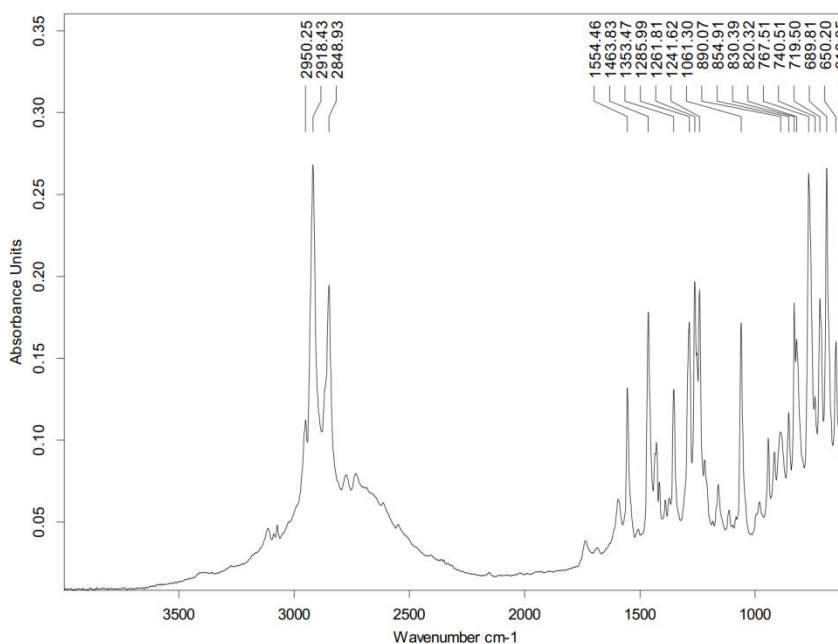


Рисунок 2.12. ІЧ-спектр 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазолу (2.5).

### 2.3 Синтез 1,2-біс((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів

1,2-Біс((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанони синтезовані взаємодією відповідного подвійного надлишку вихідного тіола (2.1, 2.2) та 1,2-дихлороетану при кип'ятінні у метанолі в присутності подвійної молярної кількості луку (рисунок 2.13).

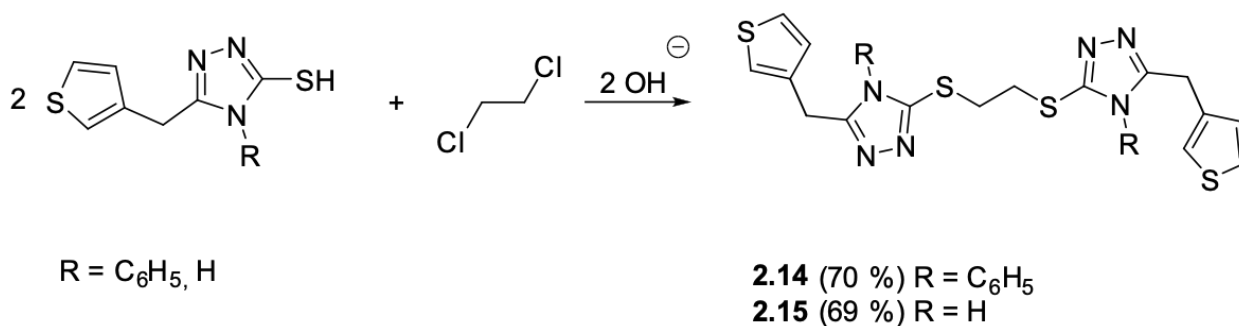


Рисунок 2.13 - Схема синтезу 1,2-біс((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів.

Отримані порошкоподібні речовини мають світло-жовте (2.14) та світло-помаранчеве забарвлення (2.15), є нерозчинними у воді, спиртах, діоксані, діетиловому етері, ацетоні, метиленхлориді, добре розчиняються в ДМФА, оцтовій кислоті, ацетонітрилі.

В  $^1\text{H}$  ЯМР спектрі 1,2-біс((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів 2.14, 2.15 сигнали протонів в повній мірі узгоджуються з будовою синтезованих речовин. Сигнал при 3,85 м. ч. (синглет, 3H) вказує на метилові протони, ймовірно, пов'язані з етановою частиною сполуки (рисунок 2.14). Триплет з чотирьох протонів при 4,00 м. ч. представляє аліфатичний лінкер між двома гетероциклами. Ароматична частина сполуки представлена сигналами при 6,94 – 7,05 м. ч. та при 7,23-7,43 м. ч., що вказують на наявність ароматичних протонів з різними константами зв'язку пов'язаних з кільцями тіофену. Сигнали в діапазоні 7,23-7,43 м. ч. також вказують на чотири ароматичні протони, ймовірно, з тіофенових замісників.

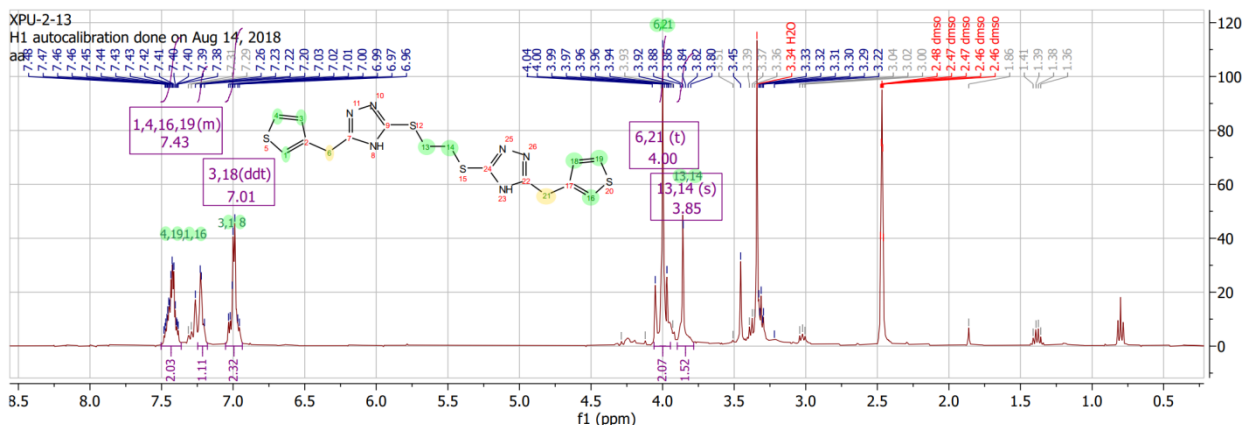


Рисунок 2.14 -  $^1\text{H}$  ЯМР спектр 1,2-біс((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан 2.15.

Хромато-мас-спектрометричні показники для речовини 2.15 характеризуються масою до заряду у 420  $m/z$  (рисунок 2.15), також на хроматограмі спостерігається індивідуальний пік аналізованої сполуки



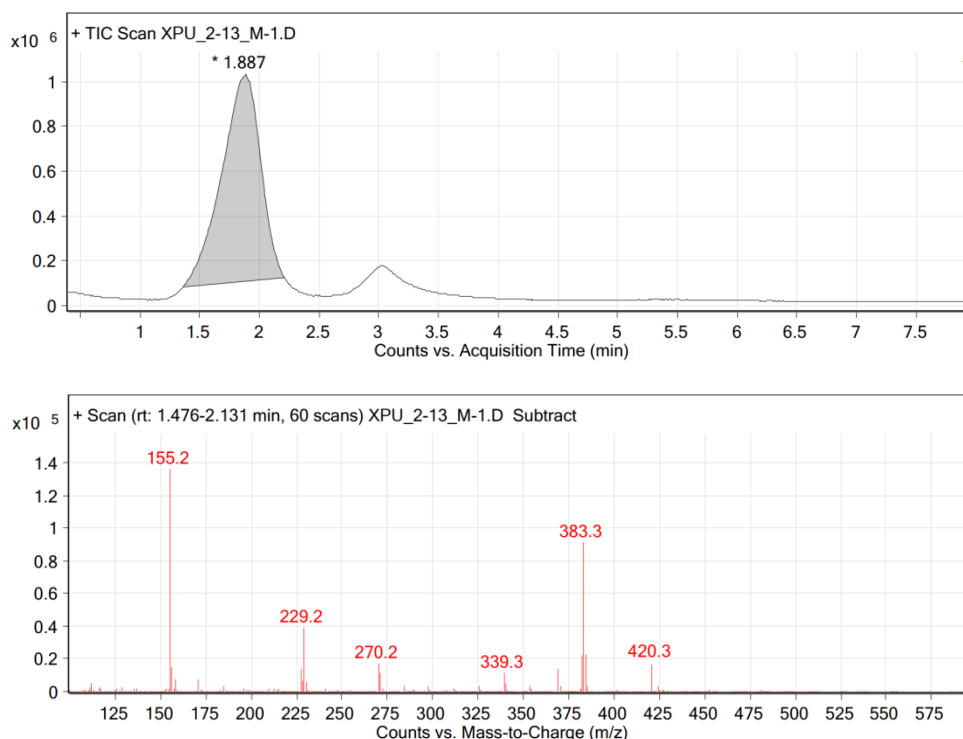


Рисунок 2.15 - 1,2-біс((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан 2.15в умовах ГХ-МС.

## 2.4 Синтез 1-(гетерил)-2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-онів

Отримання кетонів похідних від 4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолів, проводилося шляхом алкілування вихідних сполук (2.1, 2.2) відповідними 2-бром-1-арилетанонами у середовищі пропан-2-олу за участі еквівалентної кількості калію гідроксиду (рисунок 2.16).

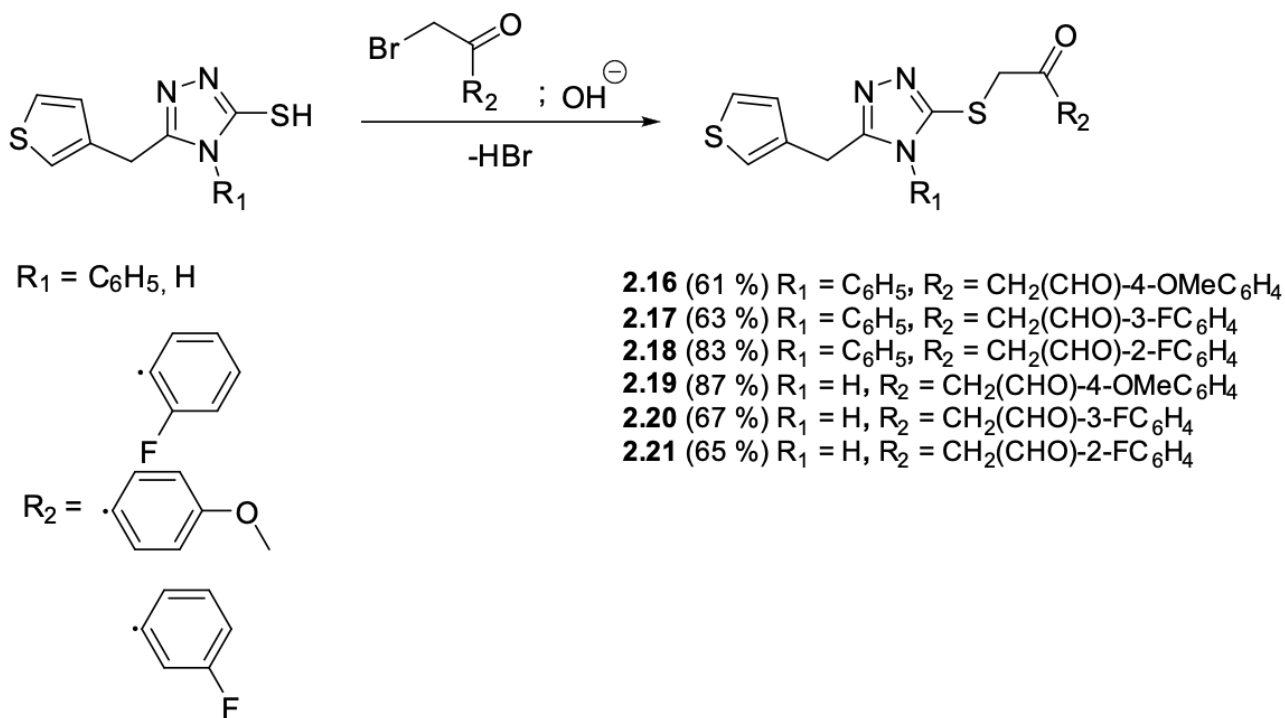


Рисунок 2.16 - Схема синтезу 1-(гетерил)-2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-онів 2.16-2.21.

Речовини представляють собою кристалічні сполуки різноманітного кольору, які мають коричневий (2.16, 2.17), помаранчевий (2.18, 2.19) та червоний (2.20, 2.21) відтінки. Вони малорозчинні у воді, не розчинні у 1,4-діоксані, хлороформі та етері, але розчинні у метанолі, пропан-2-олі та ДМФА. Структуру сполук було підтверджено за допомогою спектральних методів аналізу, а їх унікальність визначено хромато-мас-спектрометрично.

Аналізуючи  $^1\text{H}$  ЯМР-спектри синтезованих сполук 2.16-2.21 можна зробити певні висновки щодо присутності сигналів характерних для ароматичних замісників у тіо-1-(арил)етан-1-онах.  $^1\text{H}$  ЯМР-спектр для сполуки 1-(4-метоксифеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону 2.16 надає важливий інсайт у структурні особливості даної сполуки: Сигнал при 3,82 м. ч. (синглет, 2H) вказує на наявність метоксигрупи, що характеризується хімічним зсувом в цій області. Дві метиленові групи вказуються сигналами двопротонним триплетом при 3,93 м. ч. та двопротонним синглетом при 4,75 м. ч., що свідчить про

аліфатичну частину молекули. Дві дублетні множини при 7,24 м. ч. (дублет триплетів) та при 7,36 м. ч. (дублет дублетів) характерні для ароматичних протонів у фенільному та тіофеновому кільцях відповідно. Ароматична частина сполуки представлена сигналами дублетів при 6,72 м. ч. та 6,94 м. ч., відображаючи протони в тіофеновому фармакофорі. Шість протонів реєструються при 7,46 м. ч. у вигляді мультиплету та вказують на ароматичні протони, що знаходяться в близькості фенільного кільця (рисунок 2.17).

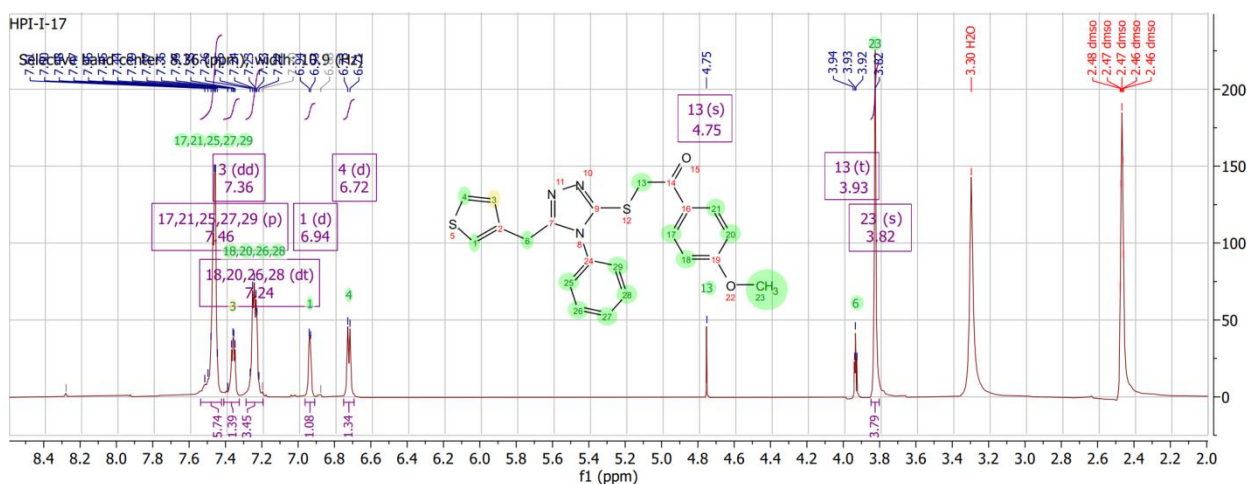


Рисунок 2.17 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра 1-(4-метоксифеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону 2.16.

Дослідження хромато-мас-спектрів отриманих сполук 2.16-2.21 показало наявність молекулярних піків  $[M^+]$  з низькою інтенсивністю, що відповідають масі до заряду, яка збігається з обчисленими молекулярними масами відповідних сполук. Наприклад, мас-спектр для 1-(4-метоксифеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону 2.16 демонструє, що значення маси до заряду 421,1  $m/z$  повністю відповідає передбачуваній структурі. Також індивідуальність сполуки підтверджується отриманою хроматограмою (рисунок 2.18).

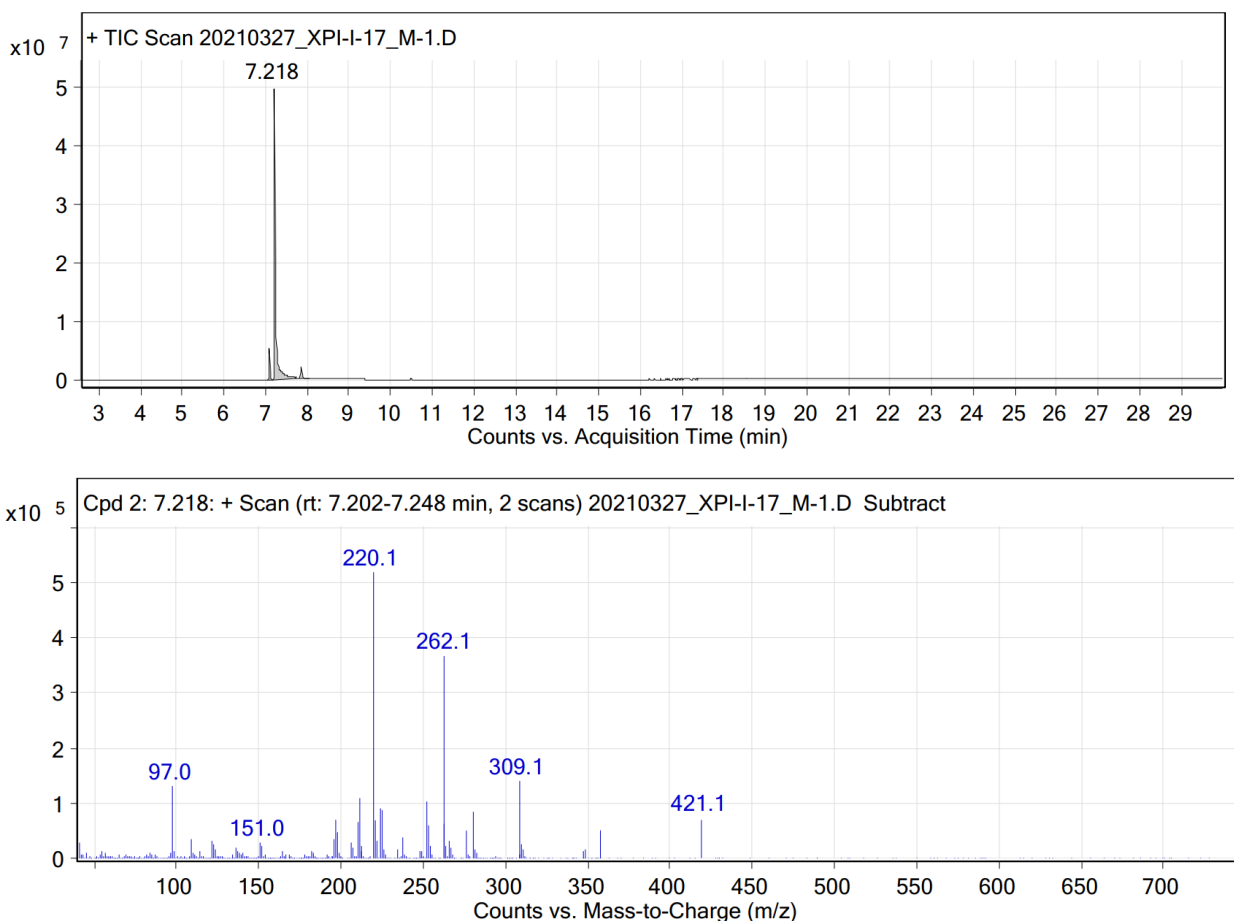


Рисунок 2.18 - хромато-мас-спектрометрична поведінка 1-(4-метоксифеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону 2.16.

## 2.5 Синтез 4-*R*-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4*H*-1,2,4-триазолів

*S*-тіофен заміщені 4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіоли (2.22, 2.23) були синтезовані взаємодією відповідного вихідного тіолу (2.1, 2.2) з 2-хлоротіофеном при тривалому кип'ятінні у метанолі в присутності еквівалентної кількості калію гідроксиду (рисунок 2.19). Отримують сполуки 4-*R*-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4*H*-1,2,4-триазол (2.22, 2.23), які являють собою світло-жовті кристалічні речовини важко розчинні у воді, спиртах, етерах, ацетоні, розчинні в розчинах лугів та ДМФА та оцтовій кислоті. Для аналізу сполуки очищені із суміші пропан-2-ол-вода (1:1).

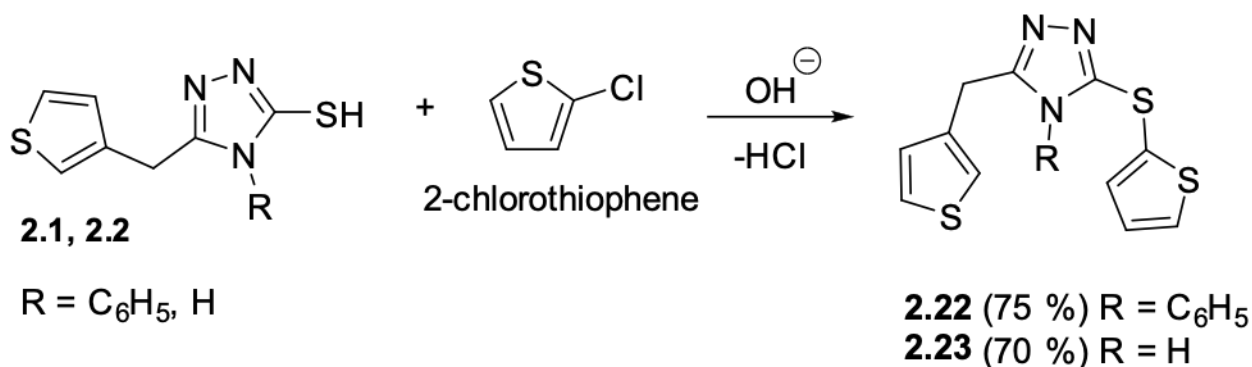


Рисунок 2.19 - Схема синтезу 4- $R$ -3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4 $H$ -1,2,4-триазолів (2.22, 2.23).

Характеристики хромато-мас-спектрометрії повністю відповідали молекулярним масам досліджених  $S$ -тіофен заміщених 4- $R$ -5-(тіофен-3-ілметил)-4 $H$ -1,2,4-триазол-3-тіолів (2.22, 2.23). Мас-спектр 4-феніл-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4 $H$ -1,2,4-триазолу (2.22) характеризувався відношенням заряду до маси у 355,1  $m/z$  (рисунок 2.19).

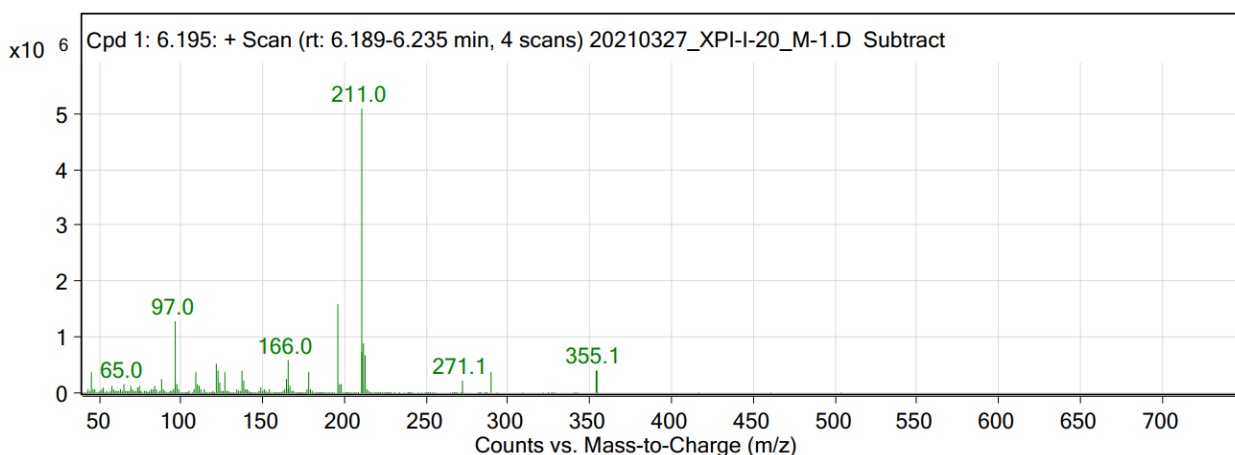


Рисунок 2.20 - Мас-спектрометричні характеристики 4-феніл-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4 $H$ -1,2,4-триазолу.

$^1H$  ЯМР-спектр сполуки 4-феніл-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4 $H$ -1,2,4-триазолу 2.22 показує деякі структурні особливості, а саме: ароматична частина сполуки відображена в сигналах однопротонними дублетами при 6,72 м. ч. та 6,93 м. ч., представляючи ароматичні протони.

Дублети дублетів при 7,24 м. ч. та 7,36 м. ч. вказують на додаткові ароматичні протони у різних хімічних середовищах, формуючи характерні множини для ароматичних ядер тіофену (рисунок 2.21).

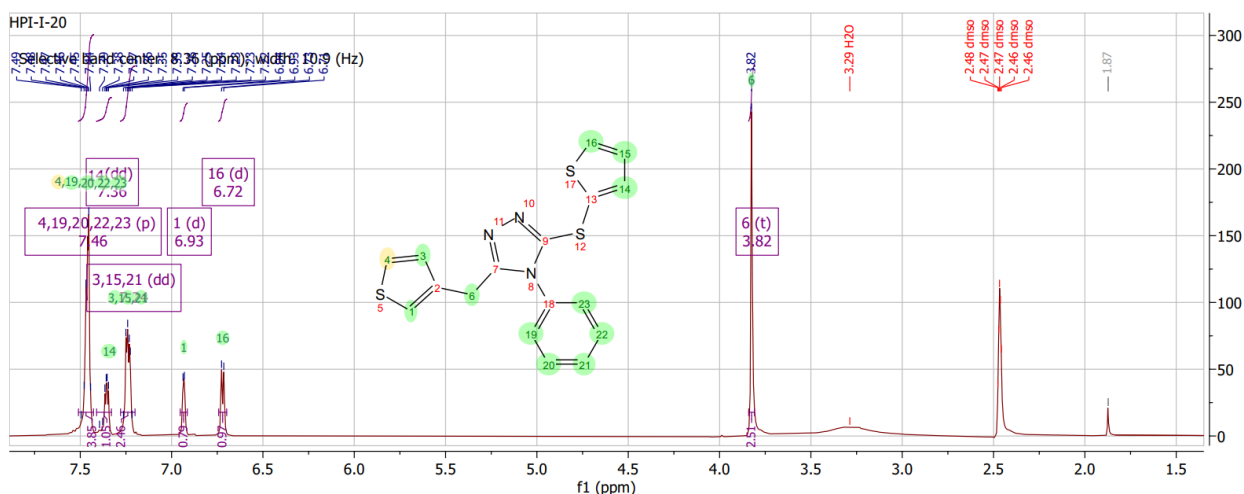


Рисунок 2.21 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра 4-феніл-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4H-1,2,4-триазолу 2.22.

## 2.6 Синтез 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот

2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанові кислоти (2.26-2.27) були отримані за допомогою взаємодії відповідного 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1-2.2) з 2-хлоретановою кислотою під час кип'ятіння у метанолі в присутності еквівалентної кількості луку (рисунок 2.22).

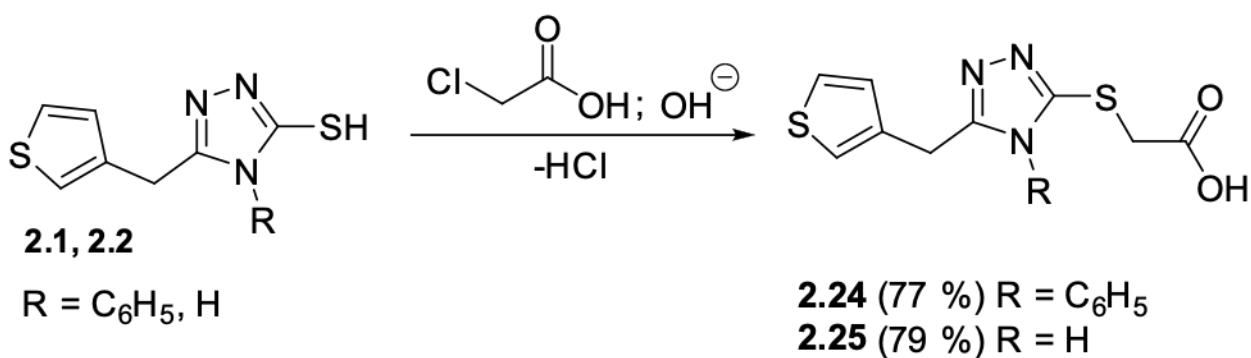


Рисунок 2.22 - Схема синтезу 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот.

Утворені кислоти (2.24-2.25) мають світло-жовте забарвлення та добре розчиняються у оцтовій кислоті, бутанолі, пропан-2-олі, ДМФА, ДМСО, майже не розчиняються у воді, метанолі та ацетоні.

Індивідуальність та чистота сполук була підтверджена хроматографічно, а особливості структури вивчали за допомогою інструментальних методів аналізу:  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопія, елементний аналіз.

Для 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанової кислоти 2.24 реєструвався відносно великий молекулярний пік у 255,0  $m/z$  (рисунок 2.23).

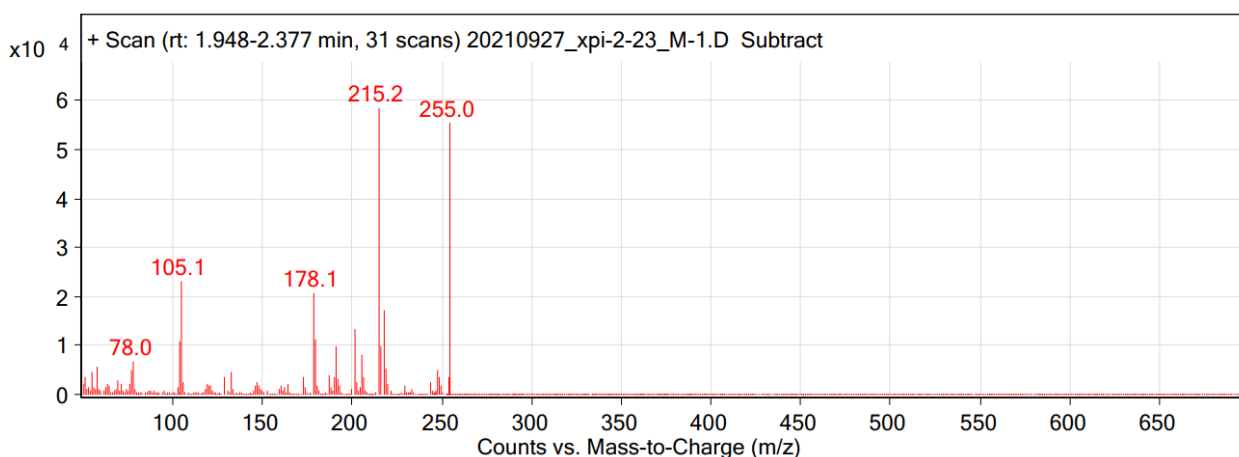


Рисунок 2.23 - Мас-спектр етанової кислоти 2.25 похідного 1,2,4-триазолу.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр сполуки 2.24 повністю узгоджується з структурою 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанової кислоти, сигнали відповідають основним хімічним зсувам які притаманні похідним 4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолам. Відмінністю є те, що сигнал однопротоного синглету реєструється в слабкому полі при 13,74 м. ч. і відповідає протону карбоксильної групи (рисунок 2.24).

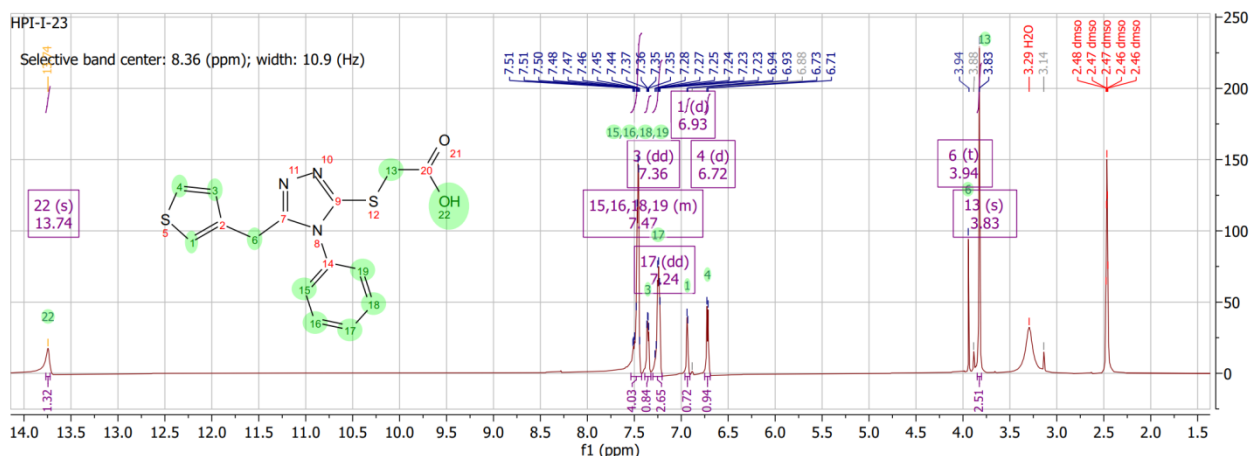


Рисунок 2.24 -  $^1\text{H}$  ЯМР спектр 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанової кислоти 2.24.

## 2.7 Синтез солей 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот

Однією з важливих завдань у галузі медичної та фармацевтичної хімії є пошук сполук, які легко розчиняються у воді та мають достатню біодоступність. Розчинність грає значущу роль у визначенні ефективності та біоеквівалентності біологічно активних речовин. В багатьох випадках це визначає можливість розробки лікарських форм з ефективною дозою біологічно активної речовини, що забезпечує швидке та повне всмоктування. Це особливо актуально при розробці препаратів із речовинами, які обмежено розчиняються.

Розглядаючи структуру та фізико-хімічні параметри отриманих кислот (2.24, 2.25), необхідно врахувати значущий аспект: це слабкі органічні кислоти, малорозчинні у воді. Це обмежує вибір оптимальної лікарської форми та методу введення в певній мірі.

З метою поліпшення розчинності отриманих кислот (2.24, 2.25), були синтезовані їхні солі за допомогою неорганічних основ (рисунок 2.25). Варто відзначити, що перспективою у пошуку біологічно активних агентів серед сполук цього класу є їхня катіонно-аніонна структура, що дозволяє одночасно використовувати два активних компоненти для фармакологічного ефекту.



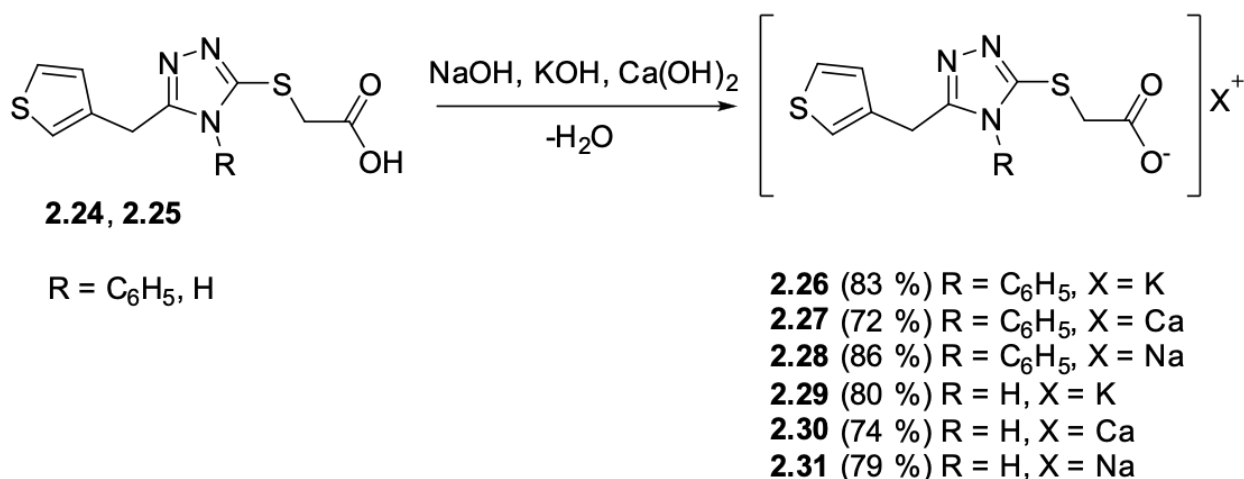


Рисунок 2.25 - Схема синтезу солей 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот (2.26-2.31).

Натрій, калій та кальцій 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноати синтезовані взаємодією відповідних кислот (2.24, 2.25) з натрій або калій гідроксидами в водному середовищі з подальшим випаровуванням розчинника. Сухий залишок кристалізували з суміші метанол-вода. Отримані сполуки – білі або світло-жовті кристалічні речовини добре розчинні у воді та органічних розчинниках, погано розчинні у неполярних органічних розчинниках.

В  $^1H$  ЯМР-спектрах синтезованих солей реєструються схожі сигнали з етановою кислотою 2.25, а саме: двопротонний синглет при 3,82 м. ч. що свідчить про залишок етанової кислоти, метиленові два протони аліфатичної частини в вигляді триплету з константою зв'язку  $J = 0,8$  Гц. Також ароматична частина молекули представлена сигналами при 6,72 м. ч., 6,93 м. ч., 7,23 м. ч. та 7,46 м. ч. Ці сигнали відображають характеристики ароматичних протонів тіофенового та фенільного кілець, утворюючи характерні множини, що відповідають структурі 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату калію 2.26 (рисунки 2.26 та 2.27).

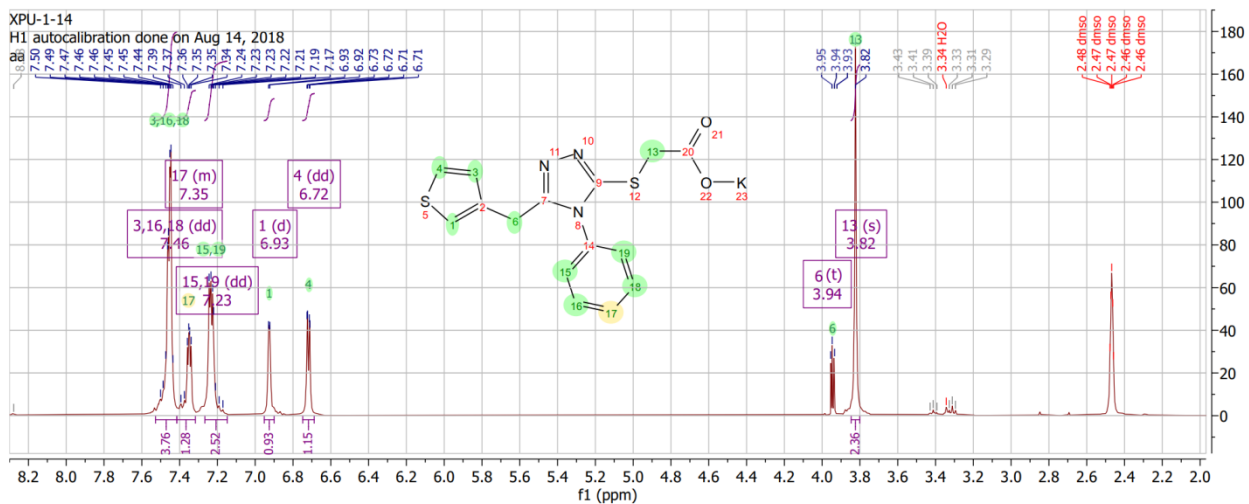


Рисунок 2.26 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектру 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату калію 2.26.

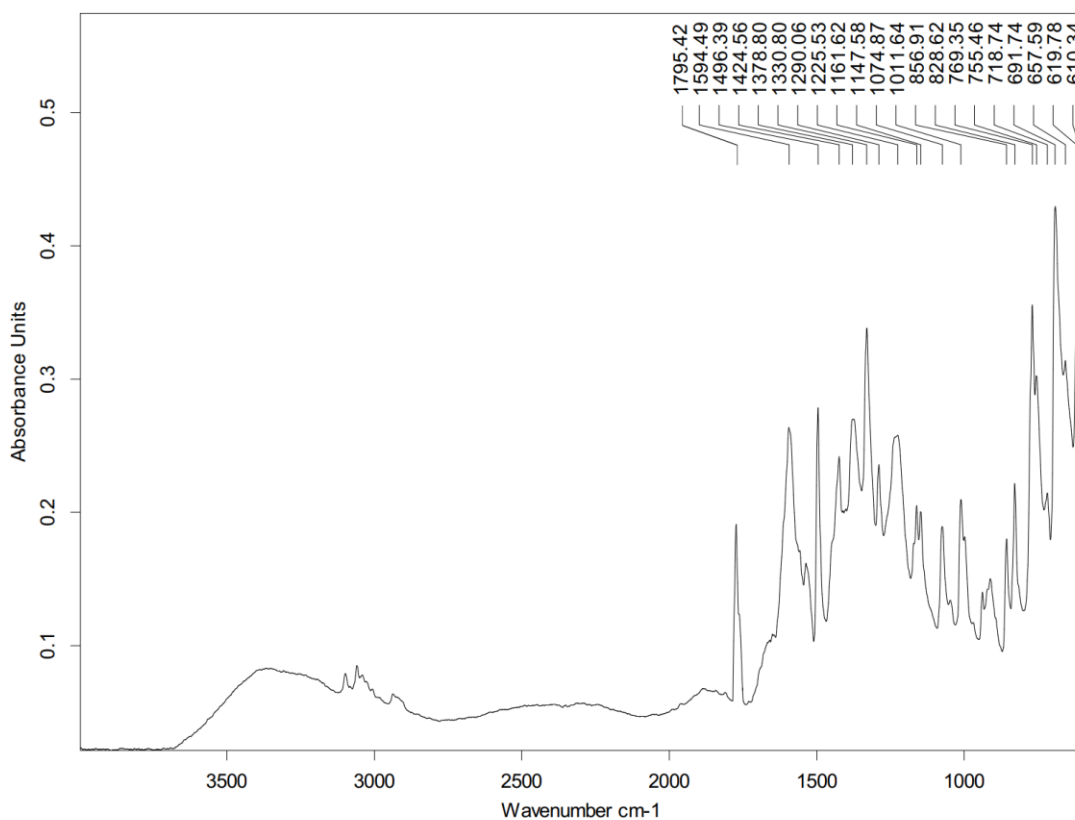


Рисунок 2.27 - ІЧ-спектр 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату калію 2.26.

Також у ІЧ-спектрах солей можна чітко визначити деформаційні коливання групи  $\text{C}=\text{O}$ , які знаходяться в діапазоні від  $1790$  до  $1800\text{ cm}^{-1}$ .

## 2.8 Синтез ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот

Одержання нових естерів залишається актуальним завданням, оскільки ці сполуки можуть бути перспективними не тільки як субстанції біологічно активних сполук, але й як об'єкти для подальших хімічних перетворень, таких як синтез амідів, гідразидів та інших, а також для вивчення їх фізико-хімічних властивостей. Це завдання має як теоретичний, так і практичний інтерес.

Синтез ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот здійснювали двома методами. Перший - алкілюванням 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів ізопропіловим естером 2-хлоретанової кислоти у присутності калію гідроксиду (рисунок 2.28). Другий метод передбачає отримання естерів шляхом взаємодії етанової кислоти із відповідним аліфатичним спиртом у присутності концентрованої сульфатної кислоти.

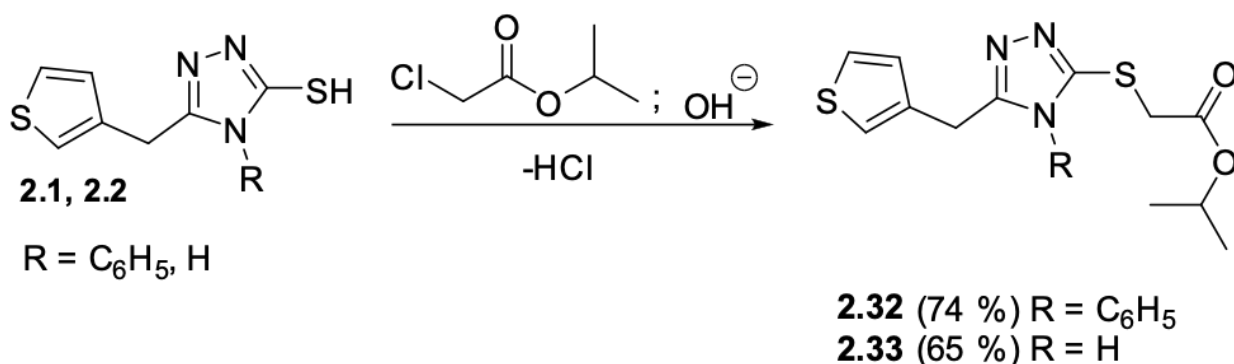


Рисунок 2.28 - Схема синтезу ізопропіл 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноатів 2.32-2.33.

Отримані естери 2.32-2.33 мали світло-жовте забарвлення, були гігроскопічними та легко розчинялись у воді, спиртах, ДМФА та ДМСО, не розчинялись в диетиловому етері, ацетоні, метиленхлориді, гексані. Для подальшого аналізу сполуки 2.32-2.33 були перекристалізовані з ізопропанолу.

Структуру отриманих ізопропіл 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноатів було підтверджено за допомогою комплексного аналізу, включаючи елементний аналіз,  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопію, та їх унікальні характеристики були визначені за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії.

На рисунку 2.29 представлений мас-спектр ізопропілового естеру 2.33, отриманого методом ГХ-МС, який характеризується молекулярним піком у 297,1 m/z.

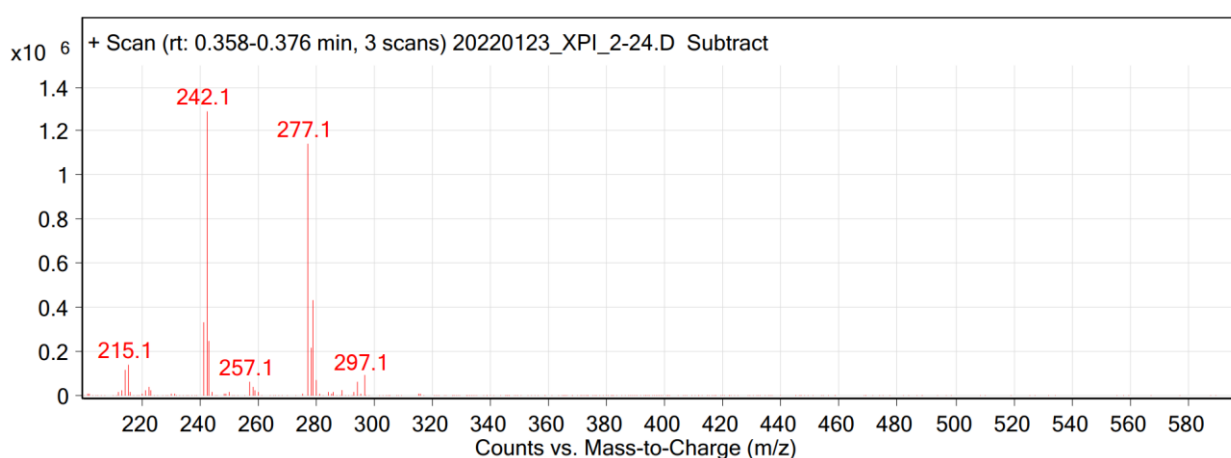


Рисунок 2.29 - Хромато-мас-спектр сполуки ізопропіл 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату 2.33.

В ЯМР  $^1\text{H}$  спектрах сполук 2.32-2.33 присутня подібність у сигналах з вже описаними похідними 4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолами. Відмінностями є шестипротонний дублет метилових груп ізопропілового радикалу при 1,11 м. ч. та сигнал мультиплету при 4,84 м. ч., який свідчить про протон, що знаходиться поруч із метиловою групою ізопропілу.

Також сигнал синглету при 4,00 м. ч. підтверджує наявність етанової ( $-\text{CH}_2-\text{COO}-$ ) групи (рисунок 2.30).

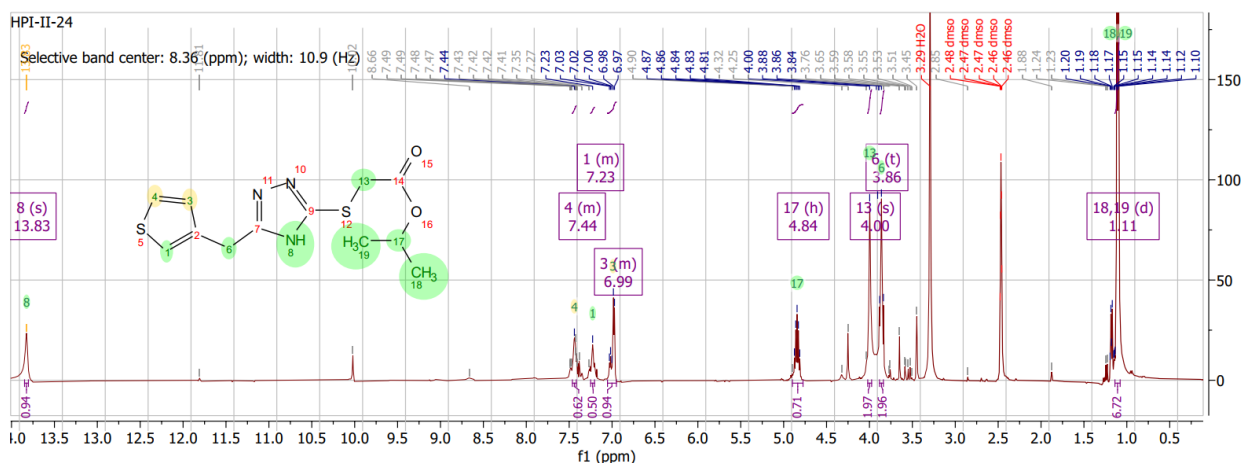


Рисунок 2.30 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра ізопропіл 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату 2.33.

## 2.9 Синтез 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамідів

У літературі зазначено, що серед *N*-заміщених ацетамідів 1,2,4-триазолів знайдено сполуки, які мають виражені антибактеріальні та антиоксидантні властивості [109, 110, 111, 112]. Такий підхід до синтезу нових *N*-заміщених ацетамідів похідних цього ряду є актуальним і цікавим як з практичної, так і з теоретичної точки зору.

Враховуючи той факт, що аміді гетерилкарбонових кислот проявляють високу біологічну активність було вирішено проводити синтез 2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамідів. Метод отримання передбачає алкілування вихідних тіолів (2.1, 2.2) 2-хлорацетамідом в присутності еквівалентної кількості калій гідроксиду (рисунок 2.31).

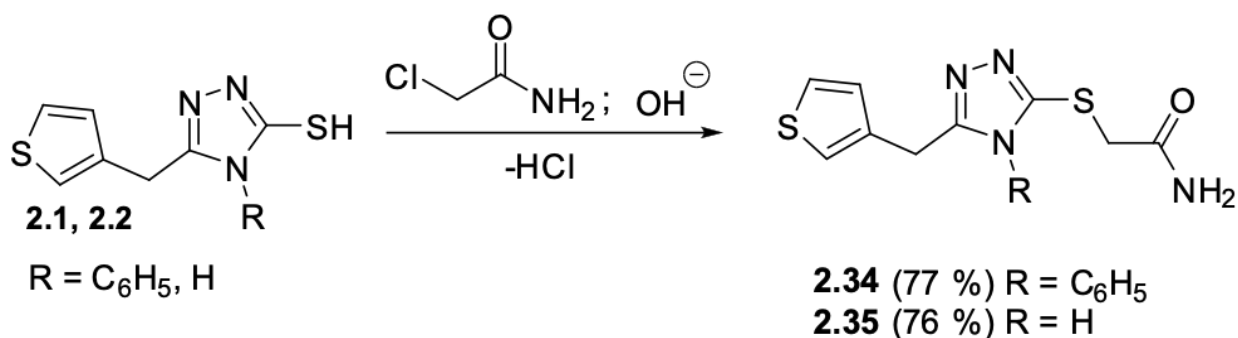


Рисунок 2.31 - Схема синтезу 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамідів (2.34, 2.35).

Синтез N-заміщених ацетамідів (2.36-2.39) відбувався шляхом амонолізу ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанової кислоти 2.32-2.33 надлишком первинних і вторинних амінів (рисунок 2.32), які містять замісники у вигляді метилу та етилу, а також циклічного аміну – морфоліну.

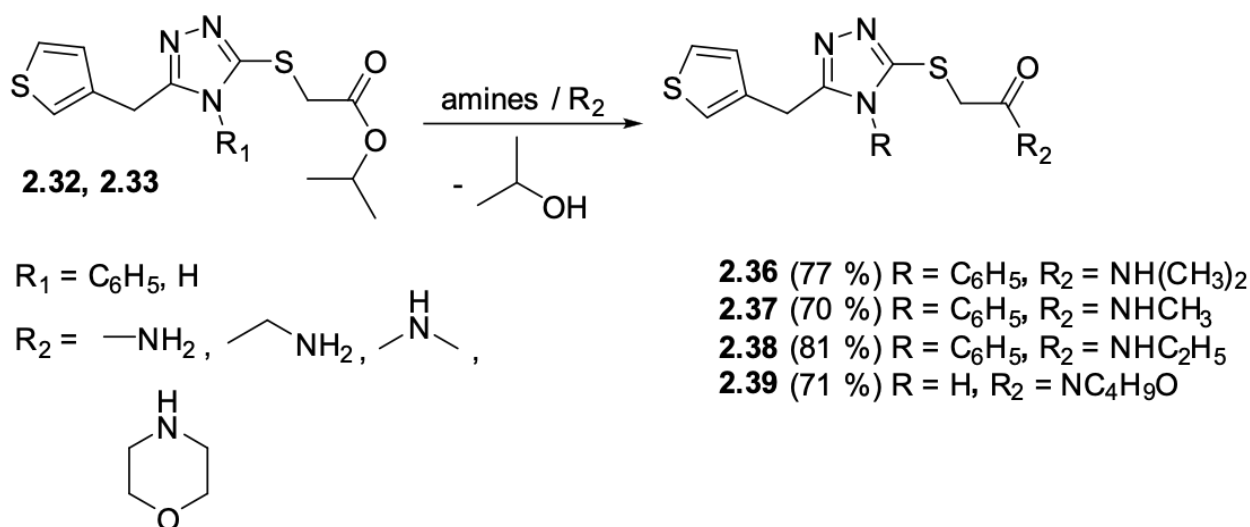


Рисунок 2.32 – Схема синтезу N-заміщених 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамідів 2.36-2.39.

Отримані ацетаміди (2.34-2.39) представляють собою кристалічні речовини світло-жовтого кольору. 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміди розчинні у ДМФА, ДМСО та спиртах, малорозчинні у дихлорметані, і нерозчинні у ацетоні, диетиловому етері та хлороформі. Структура всіх синтезованих сполук була підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

Хромато-масс-спектрометричний метод аналізу підтвердив індивідуальність отриманих ацетамідів. Маса до заряду сполуки 2.35 становила 254.0 m/z (рисунок 2.33).

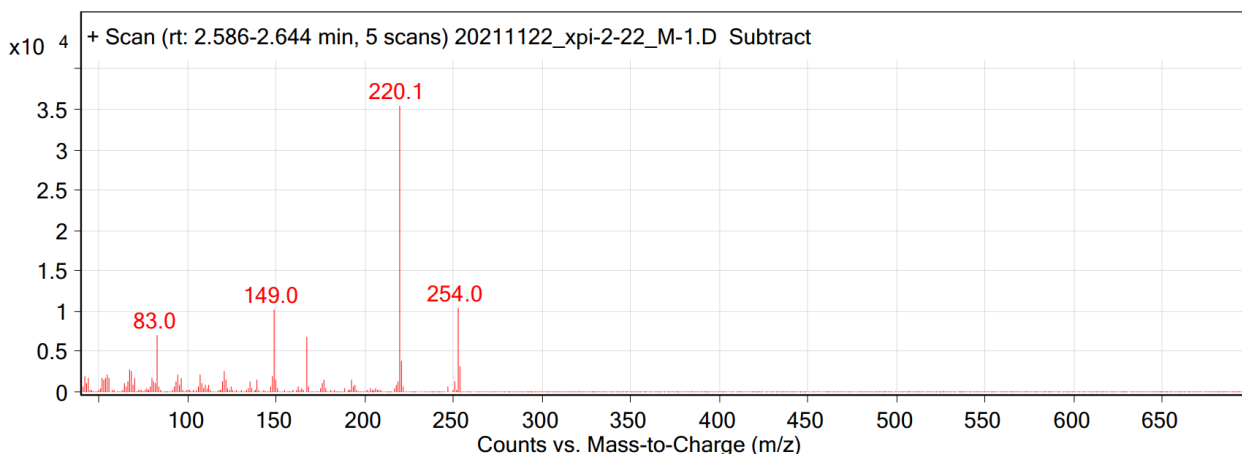


Рисунок 2.33 - Мас-спектрометричні характеристики 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду 2.35.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр для спектра 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду 2.35 характеризуються наявністю двопротонного синглету аміногрупи у слабкому полі при 6,81 м. ч. Дві метиленові групи характеризуються сигналами триплета при 4,00 м. ч., що вказує на наявність аліфатичної частини молекули. Ароматична частина молекули представлена сигналами при 7,01 м. ч. (дублет дублет триплетів, 1H), 7,44-7,58 м. ч. (мультиплети, 2H), що вказує на характер ароматичних протонів у тіофеновому кільці. Для 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду 2.35 гідроген в гетероциклі 1,2,4-триазолу реєструється в більш слабкому полі в вигляді синглету протону при 13,81 м. ч. (рисунок 2.34). Для *N*-етил-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду.

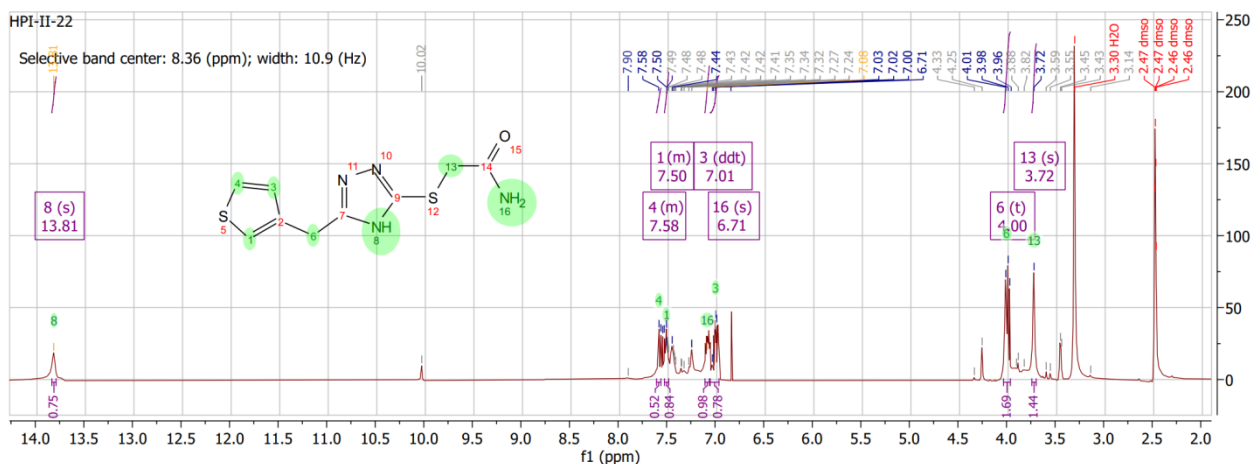


Рисунок 2.34 - Фрагмент  $^1\text{H}$  ЯМР-спектра 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду 2.35.

## 2.10 Синтез 1-феніл-2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олів

Далі в роботі було проведено відновлення кетонів 4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолів. Першим етапом було отримання відповідних 1-(феніл)-2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-онів методом алкілювання вихідних тіолів (2.1, 2.2) 2-бromo-1-фенілетан-1-оном. В подальшому до розчину утворених кетонів додавали подвійну кількість натрію боргідриду (рисунок 2.35). Процес відновлення кетонної групи до спирту відбувається при кімнатній температурі і за постійного перемішування.

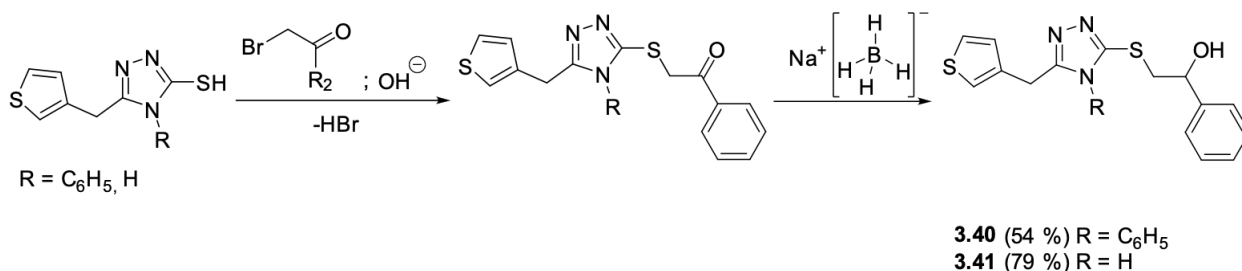


Рисунок 2.35 - Схема синтезу 1-*R*-2-((4-*R*-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олів 2.40-2.41.

Спирти представляли собою кристалічні речовини світоло-жовтого кольору. Вони були малорозчинні у воді, розчинні у метанолі та ДМФА, але не розчинялись у хлороформі, дихлорметані та диетиловому етері. Для подальшого аналізу сполуки перекристалізували з метанол-вода (1:1). Структура синтезованих молекул була визначена за допомогою комплексного фізико-хімічного аналізу.

$^1\text{H}$  ЯМР-спектри отриманих спиртів підтверджують відповідність їх молекулярним формулам. Для 1-феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-



1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олу 2.40 було характерно наявність сигналу метиленового містка магнітно-нееквівалентної  $-S-\underline{CH}_2-CH(OH)-$  групи у вигляді подвійних дублетів при 3,28 м.ч та у більш слабкому полі при 3,43 м.ч. (рисунок 2.36). Також реєструвався сигнал квартету одного протону  $-CH-$  групи, який зв'язаний з гідроксилом, при 4,78 м. ч. Ароматична частина представлена сигналами при 6,71 м. ч., 6,88 м. ч., та діапазоном при 7,18 – 7,38 м. ч., а також сигналом при 7,49 м. ч. Ці сигнали вказують на складність ароматичних структур, включаючи тіофенову та фенільні групи. Отже, всі надані хімічні зсуви та константи зв'язку в  $^1H$  ЯМР-спектрі відповідають структурі 1-феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олу, і ці дані інтегруються в загальну хімічну картину сполуки.

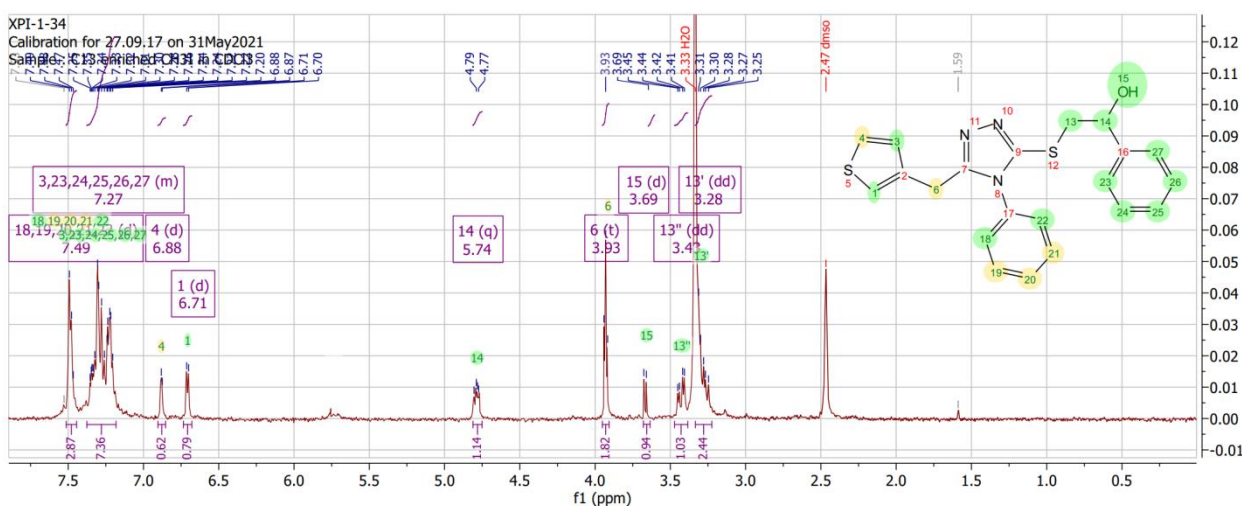


Рисунок 2.36 - Фрагмент  $^1H$  ЯМР-спектра 1-феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олу 2.40.

Мас-спектр сполуки 2.40 вказує на наявність молекулярного піку у 393,1  $m/z$ , що відповідає молекулярній масі досліджуваного спирту. На рисунку 2.37 показано поодинокий хроматографічний пік, що вказує на чистоту аналізованого 1-феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олу 2.40.

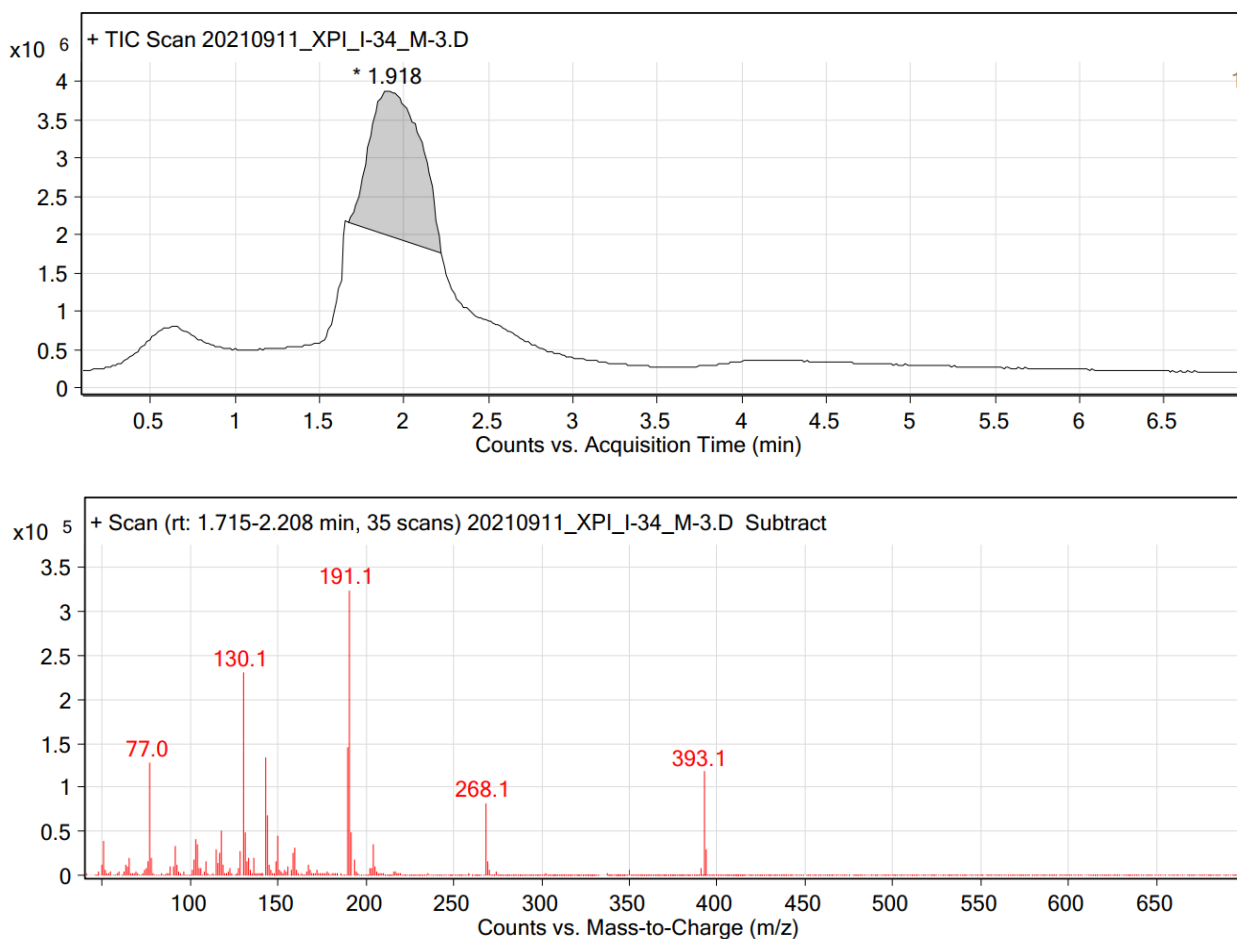


Рисунок 2.37 - Фрагмент мас-спектру та хроматограми 1-феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олу 2.40.

## 2.11 Опис експериментів

Хімічні сполуки вказано відповідно до принципів номенклатури IUPAC, відзначених у редакції 1979 року, та рекомендацій IUPAC з 2014 року.

Дослідження фізико-хімічних характеристик отриманих речовин проведено відповідно до методик, описаних у Державній Фармакопеї України.

Температуру плавлення вимірювали на приладі OptiMelt MPA100 виробництва США, з використанням платинового терморезистивного датчика, що дозволяє точне визначення температури до 400°C методом відкритого капіляру. Елементний аналіз сполук проводили за допомогою багатофункціонального аналізатора Elementar Vario L cube (Німеччина), використовуючи 4-амінобензолсульфонамід як стандарт. Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  були отримані спектрометром Mercury 400 виробництва США, з

використанням ДМСО-d6 як розчинника та тетраметилсилану (ТМС) як внутрішнього стандарту, і розшифровувалися за допомогою програми MestReNova. Хромато-мас-спектрометричні дослідження проводили на газовому хроматографі Agilent 7890В із мас-спектрометричним детектором Agilent 5977В виробництва США.

*4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів (2.1, 2.2)*

У реакційній посудині змішують 0,01 моль 2-(тіофен-3-іл)етанової кислоти та 10 мл пропан-2-олу у присутності кислотного каталізатора і нагрівають протягом 20 годин. Потім реакційну суміш гасять натрій гідрокарбонатом для нейтралізації середовища. Органічний шар, що містить естер, відокремлюють ділільною воронкою, сушать осушувачем (сульфат магнію). До отриманого 0,01 моль ізопропіл 2-(тіофен-3-іл)етаноату в метанолі додають 0,01 моль гідразин гідрату. До 50 мл метанолу додавали 0,01 моль отриманого В подальшому до утвореного 2-(тіофен-3-іл)ацетогідразиду приливали розчин відповідного ізотіоціанату, після чого внесли 0,01 моль відповідного алкілізотіоціаната. Протягом 8 годин суміш першійного. Реакційну суміш охолоджували холодною водою, внаслідок чого N-R-2-(2-(тіофен-3-іл)ацетил)гідразин-1-карботіоамід випадав в осад. Цей осад фільтрували, а отриману масу перекристалізували з метанолу. 0,01 Моль тіосемікарбазиду розчиняли в 30 мл метанолу з додаванням 30% розчину NaOH до досягнення рН~10. Після 4 годин кип'ятіння розчин охолоджували і нейтралізували етановою кислотою до нейтрального середовища. Отриманий розчин фільтрували, а фільтрат промивали очищеною водою. Синтезовані 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіоли виявились кристалічними речовинами, забарвленими у білий колір, нерозчинними у воді та розчинними у ДМФА та ДМСО. З метою аналізу сполуки очищували перекристалізацією із суміші ДМФА-метанол у співвідношенні 1:1.

**4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіол (2.1).** Вихід 75%, т. пл. 188–190 °С. ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,82 (т, J = 0,9 Гц, 2H), 6,72 (д, J = 4,9 Гц, 1H), 6,92 (д, J = 2,9 Гц, 1H), 7,23 (дд, J = 2,9, 6,7 Гц, 1H), 7,35

(дд,  $J = 2,9, 5,0$  Гц, 1Н), 7,45 (м,  $J = 4,1$  Гц, 4Н). ГХ-МС,  $m/z$  273,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 57,2; Н 4,05; N 15,33; S 23,42. C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 57,12; Н 4,06; N 15,37; S 23,45.

**5-(Тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіол(2.2).** Вихід 56%, т. пл. 178–180 °С. ЯМР<sup>1</sup>Н-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 3,89 (т, 2Н), 7,03 (д,  $J = 4,9$  Гц, 1Н), 7,30 (с, 1Н), 7,49 (дд,  $J = 4,7, 2,9$  Гц, 1Н). ГХ-МС,  $m/z$  197,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 42,58; Н 3,58; N 21,29; S 32,55. C<sub>7</sub>H<sub>7</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 42,62; Н 3,58; N 21,3; S 32,5.

*3-(Алкілтіо)-4-Р-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол(2.3 - 2.13)*

0,01 Моль 4-Р-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1, 2.2) додають у в суміш 50 мл метанолу і 0,01 моль калію гідроксиду і поступово приливають 0,01 моль відповідного бромметану, 2-бромпропану, 3-бромпентану, 1-бромоктану, 1-бромнонану та 1-бромдекану, кип'ятять на водяному огрівнику протягом 8 годин. Охолоджену суміш фільтрують і випаровують. Синтезовані сполуки представляють собою кристалічні речовини світло-жовтого кольору (2.3-2.12). Для аналізу сполуки перекристалізують із суміші метанол-ДМФА (1:1).

**3-(Метилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол(2.3).**

Вихід 76%, т. пл. 175-177 °С. ЯМР<sup>1</sup>Н-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 2,51 (с, 2Н), 3,94 (т,  $J = 0,8$  Гц, 2Н), 6,89 (д,  $J = 3,2$  Гц, 1Н), 7,24 – 7,30 (м, 1Н), 7,32 – 7,41 (м, 1Н), 7,43 – 7,52 (м, 2Н). ГХ-МС,  $m/z$  287,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 58,43; Н 4,55; N 14,62; S 22,4. C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 58,51; Н 4,56; N 14,62; S 22,31.

**3-(Ізопропілтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол(2.4).**

Вихід 74%, т. пл., 174-176, ЯМР<sup>1</sup>Н-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 1,14 (д,  $J = 6,7$  Гц, 6Н), 3,92-4,06 (м, 3Н, 3,97), 7,19 (тт, 1Н,  $J = 7,4, 1,3$  Гц), 7,31 (дд,  $J = 5,0, 1,3$  Гц, 1Н), 7,38 (дд,  $J = 5,0, 1,7$  Гц, 1Н), 7,42 (м,  $J = 8,0, 7,4, 1,3, 0,5$  Гц, 2Н), 7,50 (м, 2Н), 7,54 (1Н, м,  $J = 1,7, 1,3$  Гц), ГХ-МС,  $m/z$  315,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 61,01 Н 5,44 N 13,24 S 20,31. C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 60,92 Н 5,43 N 13,32 S 20,33.

**3-(Пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.5).**

Вихід 75%, т. пл. 169-171 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 0,79 (т, J = 6,8 Гц, 3H), 1,23 (тт, J = 7,0, 14,5 Гц, 5H), 1,56 (с, J = 6,8 Гц, 2H), 3,00 (т, J = 7,2 Гц, 2H), 3,93 (с, 1H), 6,71 (д, J = 5,1 Гц, 1H), 6,89 (д, J = 2,8 Гц, 1H), 7,25 (дт, J = 3,8, 7,1 Гц, 2H), 7,31 – 7,37 (м, 1H), 7,45 – 7,57 (м, 3H). ГХ-МС, m/z 343,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 62,95; Н 6,17; N 12,22; S 18,65. C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 62,94; Н 6,16; N 12,23; S 18,67.

**3-(Октилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.6).**

Вихід 69%, т. пл. 182-184 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 0,82 (т, J = 6,4 Гц, 3H), 1,17-1,47 (м, 12H), 3,26 (т, J = 7,3 Гц, 2H), 3,97 (с, 2H), 7,01 (м, 1H), 7,05 (дд, J = 5,0, 1,3 Гц, 1H), 7,17 (м, 1H), 7,22 (ддт, J = 8,0, 1,3, 0,5 Гц, 2H), 7,31 (м, 2H), 7,44 (дд, 1H). ГХ-МС, m/z 385,2 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 65,34; Н 7,02; N 10,94; S 16,7. C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 65,41; Н 7,06; N 10,9; S 16,63.

**3-(Нонилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.7).**

Вихід 62%, т. пл. 169-171 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 0,86 (т, J = 6,8 Гц, 3H), 1,14-1,35 (м, 12H), 3,24 (т, J = 7,0 Гц, 2H), 3,967 (с, 2H), 6,98 (м, 1H), 7,04 (дд, J = 5,0, 1,3 Гц, 1H), 7,23 (м, 1H), 7,28 (ддт, J = 8,2, 1,5, 0,6 Гц, 2H), 7,38 (м, 2H), 7,49-7,53 (м, 1H). ГХ-МС, m/z 343,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 66,2; Н 7,3; N 10,52; S 15,98. C<sub>22</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 66,12; Н 7,32; N 10,52; S 16,05.

**3-(Децилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.8).**

Вихід 64%, т. пл. 82-84 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 0,87 (3H, т, J = 7,0 Гц), 1,16-1,28 (м, 8H), 1,29-1,40 (м, 8H), 3,97 (с, 2H), 4,02 (т, J = 7,3 Гц, 2H), 7,02 (тт, J = 7,4, 1,3 Гц, 1H), 7,11 (дд, J = 5,0, 1,3 Гц, 1H), 7,20 (дд, J = 5,0, 1,7 Гц, 1H), 7,29-7,35 (м, 2H), 7,40-7,44 (м, 2H), 7,54 (дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 1H). ГХ-МС, m/z 413,2 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 66,72; Н 7,43; N 10,27; S 15,58. C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 66,79; Н 7,55; N 10,16; S 15,5.

**3-(Метилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.9).** Вихід 68%, т. пл. 124-126 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,32 (с, 3H), 4,04 (с, 2H), 7,08 (дд, J = 5,1, 1,3 Гц, 1H), 7,26 (дд, J = 5,1, 1,7 Гц, 1H), 7,41-7,53 (м, 1H). ГХ-МС,

$m/z$  211,1 ( $M^+$ ). Знайдено, %: С 45,53; Н 4,3; N 19,89; S 30,28.  $C_8H_9N_3S_2$ . Розраховано, %: С 45,47; Н 4,29; N 19,89; S 30,35.

**3-(Ізопропілтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.10).** Вихід 75%, т. пл. 141-142 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 0,87 (т, J = 6,5 Гц, 3H), 1,22-1,45 (м, 6H), 3,78 (т, J = 7,1 Гц, 2H), 4,11 (с, 2H), 7,31 (дд, J = 5,0, 1,3 Гц, 1H), 7,38 (дд, J = 5,1, 1,7 Гц, 1H), 7,45 (дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 1H). ГХ-МС,  $m/z$  267,1 ( $M^+$ ). Знайдено, %: С 54,04; Н 6,4; N 15,66; S 23,90.  $C_{12}H_{17}N_3S_2$ . Розраховано, %: С 53,90; Н 6,41; N 15,71; S 23,98.

**3-(Пентилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.11).** Вихід 74%, т. пл. 102-104 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 1,11 (д, J = 6,7 Гц, 6H), 3,71 (м, 1H), 4,10 (с, 2H), 7,31 (дд, J = 5,1, 1,2 Гц, 1H), 7,38 (дд, J = 5,7, 1,4 Гц, 1H), 7,76 (м, 1H), ГХ-МС,  $m/z$  343,1 ( $M^+$ ). Знайдено, %: С 50,23; Н 6,17; N 17,63; S 26,72.  $C_{10}H_{13}N_3S_2$ . Розраховано, %: С 50,18; Н 5,47; N 17,56; S 26,79.

**3-(Октилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.12).** Вихід 71%, т. пл., 67-69 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 0,87 (3H, т, J = 7,4 Гц); 1,20-1,25 (м, 6H); 1,27 (тт, J = 6,1, 4,5 Гц, 2H); 1,28 (h, J = 7,0 Гц, 2H); 1,32-1,39 (м, 2H); 3,59 (т, J = 7,0 Гц, 2H); 4,10 (с, 2H); 7,07 (дд, J = 5,3, 1,5 Гц, 1H); 7,18-7,26 (м, 1H); 7,35 (дд, J = 3,2, 1,4 Гц, 1H), ГХ-МС,  $m/z$  309,1 ( $M^+$ ). Знайдено, %: С 58,16; Н 7,49; N 13,53; S 20,82.  $C_{15}H_{23}N_3S_2$ . Розраховано, %: С 58,21; Н 7,49; N 13,58; S 20,72.

**3-(Децилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол(2.13).** Вихід 69%, т. пл., 85-87 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр,  $\delta$ , м.ч. (J, Гц): 1,16-1,24 (м, 8H); 1,27 (тт, J = 7,1, 6,5 Гц, 2H); 1,28 (h, J = 7,0 Гц, 2H); 1,30-1,39 (м, 4H); 4,05 (с, 2H); 4,12 (т, J = 7,1 Гц, 2H); 7,01 (ддт, J = 1,6, 5,0, 13,2 Гц, 1H); 7,35-7,42 (м, 1H); 7,46-7,51 (м, 1H), ГХ-МС,  $m/z$  337,2 ( $M^+$ ). Знайдено, %: С 60,45; Н 8,05; N 12,46; S 19,04.  $C_{17}H_{27}N_3S_2$ . Розраховано, %: С 60,49; Н 8,06; N 12,45; S 19,00.

*1,2-Біс((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етани*  
(2.14-2.15)

До суміші 0,01 моль відповідного вихідного тіолу (2.1, 2.2), 0,02 моль натрію гідроксиду та 0,02 моль 1,2-дихлороетану додають 40 мл метанолу та

нагрівають протягом 6 годин. Надлишок спирту видаляли випарюванням розчину. Осад, що утворився, відфільтрували і перекристалізували.

**1,2-Біс((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан(2.14).** Вихід 70%, т. пл., 214-216 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,87 (т, J = 6,9 Гц, 4H); 3,97 (с, 4H); 7,01 (тт, J = 7,4, 1,3 Гц, 2H); 7,07 (дд, J = 5,0, 1,3 Гц, 2H); 7,19-7,25 (м, 2H); 7,30-7,36 (м, 4H); 7,41 (дддд, J = 8,1, 1,4, 1,3, 0,5 Гц, 4H); 7,58 (дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 2H), ГХ-МС, m/z 572,3 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 58,82; Н 4,2; N 14,6; S 22,38. C<sub>28</sub>H<sub>24</sub>N<sub>6</sub>S<sub>4</sub>. Розраховано, %: С 58,71; Н 4,22; N 14,67; S 22,4.

**1,2-Біс((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан(2.15).** Вихід 69%, т. пл., 186-188 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,78 – 3,90 (с, 3H); 4,00 (т, J = 0,9 Гц, 4H); 6,94 – 7,05 (ддт, J = 0,9, 1,7, 5,1 Гц, 2H); 7,23-7,43 (м, 4H), ГХ-МС, m/z 420,3 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 48,19; Н 3,71; N 22,44; S 25,66. C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>6</sub>S<sub>4</sub>. Розраховано, %: С 45,69; Н 3,83; N 19,98; S 30,5.

*1-(гетерил)-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-они (2.16-2.21)*

До розчиненої у 40 мл пропан-2-олу суміші 0,01 моль відповідного 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1, 2.2) та 0,01 моль натрій гідроксиду додають також 0,01 моль 2-бром-1-арилетанону (2-бром-1-(4-метоксифеніл)етан-1-он, 2-бром-1-(2-фторфеніл)етан-1-он, 2-бром-1-(3-фторфеніл)етан-1-он). Нагрівають впродовж 4 год, охолоджують, осад відфільтровують. Для аналізу кристалізують з метанолу. Речовини світло-жовтого кольору, практично нерозчинні у воді, ацетоні, розчинні в спиртах при нагріванні, ДМСО та ДМФА.

**1-(4-Метоксифеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.16).** Вихід 61%, т. пл., 180-182 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,82 (с, 2H); 3,93 (т, J = 1,0 Гц, 2H); 4,75 (с, 2H); 6,72 (д, J = 5,0 Гц, 1H); 6,94 (д, J = 2,9 Гц, 1H); 7,24 (дт, J = 3,7, 5,9 Гц, 3H); 7,36 (дд, J = 3,0, 4,9 Гц, 1H); 7,46 (р, J = 4,0 Гц, 6H), ГХ-МС, m/z 421,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено,

%, С 62,68; Н 4,41; N 10; S 15,24.  $C_{22}H_{19}N_3O_2S_2$ . Розраховано, %: С 62,69; Н 4,38; N 9,97; S 15,21.

**1-(3-Фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.17).** Вихід 63%, т. пл., 176-178 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,88 (с, 2H); 3,97 (с, 2H); 6,89 (м, 1H); 7,00 (тт, J = 7,4, 1,3 Гц, 1H); 7,04-7,21 (дд, J = 6,0, 3,3 Гц, 1H); 7,28-7,40 (м, 4H); 7,41 (дд, J = 8,0, 1,4 Гц, 2H); 7,52 (м, 1H); 7,86 (м, 1H), ГХ-МС, m/z 409,1 (M<sup>+</sup>). ІЧ (см<sup>-1</sup>): 3110, 2840, 1731, 1680, 1483, 1417, 1234–1147, 1001, 756–697. Знайдено, %: С 61,53; Н 3,94; N 10,25; S 15,64.  $C_{21}H_{16}FN_3OS_2$ . Розраховано, %: С 61,6; Н 3,94; N 10,26; S 15,66.

**1-(2-Фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.18).** Вихід 83%, т. пл., 160-162 °С. ГХ-МС, m/z 409,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 61,51; Н 3,98; N 10,29; S 15,6.  $C_{21}H_{16}FN_3OS_2$ . Розраховано, %: С 61,6; Н 3,94; N 10,26; S 15,66.

**1-(4-Метоксифеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.19).** Вихід 87%, т. пл., 147-147 °С. ГХ-МС, m/z 345,4 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 55,69; Н 4,37; N 12,15; S 18,59.  $C_{16}H_{15}N_3O_2S_2$ . Розраховано, %: С 55,63; Н 4,38; N 12,16; S 18,56.

**1-(3-Фторфеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.20).** Вихід 67%, т. пл., 178-180 °С, ГХ-МС, m/z 333,1 (M<sup>+</sup>). ІЧ (см<sup>-1</sup>): 3068, 2910, 1731, 1683, 1494, 1415, 1339, 1207–1159, 1035, 749. Знайдено, %: С 53,87; Н 3,59; N 12,6; S 19,16.  $C_{15}H_{12}FN_3OS_2$ . Розраховано, %: С 54,04; Н 3,63; N 12,6; S 19,23.

**1-(2-Фторфеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.21).** Вихід 65%, т. пл., 175-177 °С, ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,80 (с, 2H); 4,10 (с, 2H); 7,02-7,06 (м, 1H); 7,12 (дд, J = 8,1, 4,3 Гц, 1H); 7,17 (дд, J = 5,1, 1,7 Гц, 1H); 7,22-7,26 (м, 1H); 7,30-7,35 (м, 1H); 7,40-7,46 (м, 2H), ГХ-МС, m/z 333,4 (M<sup>+</sup>). ІЧ (см<sup>-1</sup>): 3128, 2869–2840, 1731, 1675, 1480, 1419, 1228–1157, 1051, 753. Знайдено, %: С 53,9; Н 3,62; N 12,63; S 19,23.  $C_{15}H_{12}FN_3OS_2$ . Розраховано, %: С 54,04; Н 3,63; N 12,6; S 19,23.



*4-R-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4H-1,2,4-триазол* (2.22-2.23)

S-тіофен заміщені 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіоли отримують шляхом алкілування еквімолярних кількостей (0,01 моль) вихідного тіолу (2.1, 2.2) 2-хлортіофеном з додаванням натрій гідроксиду у метанолі при нагріванні протягом 8 годин. Продукти реакції кристалізують з пропан-2-олу.

**4-Феніл-3-(тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4H-1,2,4-триазол**

(2.22). Вихід 75%, т. пл., 182-183 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,82 (т, J = 1,0 Гц, 2H); 6,72 (д, J = 4,9 Гц, 1H); 6,93 (д, J = 2,9 Гц, 1H); 7,24 (дд, J = 3,0, 6,7 Гц, 3H); 7,36 (дд, J = 2,9, 5,0 Гц, 1H); 7,46 (р, J = 3,9 Гц, 5H), ГХ-МС, m/z 355,1 (M<sup>+</sup>). ІЧ (см<sup>-1</sup>): 3077, 2901, 2840, 1651–1493, 1249, 1225, 715, 697. Знайдено, %: С 57,53; Н 3,7; N 11,79; S 27,02. С<sub>17</sub>Н<sub>13</sub>Н<sub>3</sub>С<sub>3</sub>. Розраховано, %: С 57,44; Н 3,69; N 11,82; S 27,05.

**3-(Тіофен-3-ілметил)-5-(тіофен-3-ілтіо)-4H-1,2,4-триазол (2.23)**. Вихід 70%, т. пл., 195-197 °С. ГХ-МС, m/z 279,3 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 47,4; Н 3,22; N 14,98; S 34,39. С<sub>11</sub>Н<sub>9</sub>Н<sub>3</sub>С<sub>3</sub>. Розраховано, %: С 47,29; Н 3,25; N 15,04; S 34,42.

*2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанова кислота (2.24-2.25)*

До 20 мл пропан-2-олу додається 0,01 моль КОН, а також 0,02 моль відповідного 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1, 2.2) та 0,02 моль 2-хлоретанової кислоти. Суміш кип'ятять протягом 2 годин, після чого проводять фільтрацію та випаровують розчин. Отримані кристалічні кислоти 2.24-2.25 мають світло-жовтий колір, малорозчинні у воді, але розчинні у лужних середовищах і органічних розчинниках. Для подальшого аналізу 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанові кислоти перекристалізували з суміші пропан-2-ол-вода (1:1).

**2-((4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанова кислота (2.24)**. Вихід 77%, т. пл., 171-172 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,83 (с, 3H); 3,94 (т, J = 0,8 Гц, 2H); 6,72 (д, J = 5,0 Гц, 1H); 6,93 (д, J = 2,9 Гц,

1H); 7,24 (дд, J = 3,0, 6,7 Гц, 3H); 7,36 (дд, J = 3,0, 5,0 Гц, 3H); 7,42 – 7,54 (м, 1H), ГХ-МС, m/z 331,4 (M+). Знайдено, %: С 54,26; Н 3,96; N 12,69; S 19,4. C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 54,36; Н 3,95; N 12,68; S 19,35.

**2-((5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанова кислота (2.25).** Вихід 79%, т. пл., 188-189 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,48 (с, 2H); 4,10 (с, 2H); 6,91 (дд, J = 5,1, 1,3 Гц, 1H); 7,08 (дд, J = 5,1, 1,7 Гц, 1H); 7,42 (дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 1H), ГХ-МС, m/z 255 (M+). Знайдено, %: С 42,26; Н 3,55; N 16,49; S 25,12. C<sub>9</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 42,34; Н 3,55; N 16,46; S 25,11.

*Солі* 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етановоїкислоти (2.26-2.31)

Суміш 0,01 моль відповідної кислоти 2.23-2.24 та калій, кальцій або натрійгідроксиду 20 мл очищеної води, піддавали нагріванню протягом 10 хвилин. Після цього розчин випаровували на водяній бані. Сухі осадки мали білий колір і були перекристалізовані із суміші вода-пропанол-2-ол (2:1).

**2-((4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат калію (2.26).** Вихід 83%, т. пл., 245-246 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,82 (с, 2H); 3,93 (т, J = 0,8 Гц, 2H); 6,72 (дд, J = 1,3, 4,9 Гц, 1H); 6,93 (д, J = 2,9 Гц, 1H); 7,23 (дд, J = 3,0, 6,5 Гц, 2H); 7,32 – 7,41 (м, 1H); 7,46 (дд, J = 2,0, 5,0 Гц, 4H), ІЧ (см<sup>-1</sup>): 1550, 1594, 3128.

**2-((4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат кальцію (2.27).** Вихід 72%, т. пл., 213-215 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,79 (с, 2H); 3,99 (т, J = 0,8 Гц, 2H); 6,98 (д, J = 2,9 Гц, 1H); 7,17 (дд, J = 3,0, 6,5 Гц, 2H); 7,28 – 7,35 (м, 1H); 7,43-7.52 (м, 3H), ІЧ (см<sup>-1</sup>): 1546, 1599, 3181.

**2-((4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат натрію (2.28).** Вихід 86%, т. пл., 231-233 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,93 (с, 2H); 4,02 (т, J = 0,8 Гц, 2H); 6,95 (м, 1H); 7,14-7,23 (м, 1H); 7,31 (дд, J = 3,0, 6,5 Гц, 2H); 7,44 (дд, J = 2,0, 5,0 Гц, 3H), ІЧ (см<sup>-1</sup>): 1565, 1602, 3196.

**2-((5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат калію (2.29).** Вихід 80%, т. пл., 240-241 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,76 (с, 2H);

4,01 (с, 2H); 6,87 (д, J = 5,1 Гц); 7,02 (дд, J = 5,1, 1,7 Гц, 1H); 7,35 (1H, дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 1H), ГЧ (см<sup>-1</sup>): 1558, 1586, 3202.

**2-((5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат кальцію (2.30).** Вихід 74%, т. пл., 202-203 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,82 (с, 2H); 4,04 (с, 2H); 6,93 (д, J = 5,8 Гц); 7,04 (дд, J = 4,5, 1,4 Гц, 1H); 7,31 (1H, дд, J = 1,9, 1,4 Гц, 1H), ГЧ (см<sup>-1</sup>): 1540, 1591, 3225.

**2-((5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат натрію (2.31).** Вихід 79%, т. пл., 199-201 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,80 (с, 2H); 4,06 (т, J = 1,7 Гц, 2H); 7,01 (ддт, J = 1,8, 5,4, 12,7 Гц, 1H); 7,35-7,42 (м, 1H); 7,47-7,53 (м, 1H), ГЧ (см<sup>-1</sup>): 1563, 1599, 3176.

*Ізопропіл* **2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноати (2.32-2.33)**

До 25 мл метанолу додають 0,01 моль калію гідроксиду, 0,02 моль відповідного 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1, 2.2), та 0,01 моль ізопропілу 2-хлоретаноату, після чого кип'ятять протягом 2 годин. Після охолодження розчин фільтрують, випаровують і перекристалізують із суміші вода-метанол (1:1). Синтезовані сполуки представляють собою світло-жовті (2.32, 2.33) кристалічні порошки, які добре розчиняються у ДМФА, ДМСО, слабо розчиняються в метанолі та абсолютно не розчиняються в воді та неполярних органічних розчинниках.

**Ізопропіл 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.32).** Вихід 74%, т. пл., 164-165 °С. ГХ-МС, m/z 373,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 57,65; Н 5,10; N 11,2; S 17,10. C<sub>18</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 57,89; Н 5,13; N 11,25; S 17,17.

**Ізопропіл 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.33).** Вихід 65%, т. пл., 151-153 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 1,11 (д, J = 6,2 Гц, 6H); 3,86 (т, J = 1,9 Гц, 2H); 4,00 (с, 2H); 4,84 (h, J = 6,2 Гц, 1H); 6,95 – 7,05 (м, 1H); 7,23-7,27 (м, 1H); 7,43-7,47 (м, 1H); 13,83 (с, 1H), ГХ-МС, m/z 297,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 48,61; Н 5,07; N 14,1; S 21,56. C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 48,47; Н 5,08; N 14,13; S 21,56.

*2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміди*  
(2.34-2.39)

Досуміші 0,01 моль відповідного тіолу (2.1, 2.2), каліюгідроксиду та 2-хлорацетаміду приливають 30 мл пропан-2-олу та нагрівають протягом 4 годин. Після охолодження, відфільтровують та утворені речовини перекристалізують з пропан-2-олу.

Відповідний Ізопропіл 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (0,01 моль) відважують та поміщають у термостійку колбу, розчиняють у 25-40 мл метанолу та додають еквімолярну кількість аміну (метиламін, етиламін, диетиламін, морфолін. У такому вигляді суміш залишають на 16 годин під витяжною шафою. Розчинник випаровують, залишок фільтрують, сушать і перекристалізують із суміші вода-метанол (1:2).

**2-((4-Феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамід (2.34).** Вихід 77%, т. пл., 172-174 °С. ГХ-МС, m/z 330,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 54,53; Н 4,28; N 17,01; S 19,48. C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 54,53; Н 4,27; N 16,96; S 19,41.

**2-((5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамід (2.35).** Вихід 76%, т. пл., 124-126 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,72 (с, 2H); 4,00 (т, J = 1,7 Гц, 2H); 6,71 (с, 2H); 7,01 (ддт, J = 1,6, 5,0, 13,2 Гц, 1H); 7,44-7,49 (м, 1H); 7,50-7,58 (м, 1H); 13,81 (с, 1H), ГХ-МС, m/z 254,2 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 42,5; Н 3,95; N 22,02; S 25,17. C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>N<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 42,5; Н 3,96; N 22,03; S 25,21.

**N,N-диметил-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамід (2.36).** Вихід 77%, т. пл., 167-168 °С. ГХ-МС, m/z 358,2 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 56,92; Н 5,00; N 15,58; S 17,81. C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 56,96; Н 5,06; N 15,63; S 17,89.

**N-метил-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамід (2.37).** Вихід 70%, т. пл., 142-144 °С. ГХ-МС, m/z 344,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 55,71; Н 4,66; N 16,23; S 18,69. C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 55,79; Н 4,68; N 16,27; S 18,62.

**N-етил-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетамід (2.38).** Вихід 81%, т. пл., 135-136 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 0,96 (т, J = 7,3 Гц, 2H); 3,02 (дк, 3,1, 6,2 Гц, 2H); 3,52 (с, 2H); 3,93 (т, J = 1,1 Гц, 2H); 6,70 (д, J = 5,4 Гц, 1H); 6,89 (с, 1H); 7,27 (т, J = 6,3 Гц, 3H); 7,34 (д, J = 4,8 Гц, 1H); 7,50 (дд, J = 2,5, 5,2 Гц, 3H), ГХ-МС, m/z 358,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 57,07; Н 5,08; N 15,68; S 17,81. C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 56,96; Н 5,06; N 15,63; S 17,89.

**1-Морфоліно-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.39).** Вихід 71%, т. пл., 110-112 °С, ЯМР <sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,51 (с, 2H); 3,55-3,69 (м, 8H); 4,10 (2H, s); 7,05 (дд, J = 5,1, 1,3 Гц, 1H); 7,19-7,29 (м, 1H); 7,52 (дд, J = 1,7, 1,3 Гц, 1H), ГХ-МС, m/z 324,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 48,04; Н 4,95; N 17,2; S 19,76. C<sub>13</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 48,13; Н 4,97; N 17,27; S 19,76.

*1-феніл-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-оли (2.40-2.41)*

До суспензії 0,01 моль тіолу (2.1, 2.2) в 30 мл пропан-2-олу додають еквімолярну кількість каліюгідроксиду та 2-бром-1-фенілетанону.

0,01 Моль утвореного 1-(феніл)-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону розчиняють у 10 мл метанолу та додають 0,02 моль кристалічного NaBH<sub>4</sub> до отриманогорозчину. Суміш перемішують протягом 4 годин на магнітній мішалці. Після цього реакційну суміш фільтрують, осад промивають діетиловим ефіром і сушать під шафою.

**1-Феніл-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ол (2.40).** Вихід 54%, т. пл. 178-180 °С. ЯМР<sup>1</sup>H-спектр, δ, м.ч. (J, Гц): 3,28 (дд, J = 4,3, 12,3 Гц, 1H); 3,43 (дд, J = 4,6, 13,0 Гц, 1H); 3,69 (д, J = 4,9 Гц, 1H); 3,93 (т, J = 0,9 Гц, 2H); 4,78 (к, J = 6,5 Гц, 1H); 6,71 (д, J = 5,0 Гц, 1H); 6,88 (д, J = 2,7 Гц, 1H); 7,18 – 7,38 (м, 6H); 7,49 (д, J = 5,5 Гц, 5H). ГХ-МС, m/z 393,1 (M<sup>+</sup>). Знайдено, %: С 64,04; Н 4,81; N 10,68; S 16,26. C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 64,10; Н 4,87; N 10,68; S 16,29.

**1-Феніл-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ол (2.41).** Вихід 79%, т. пл., 163-164 °С. ГХ-МС, m/z 317,1 (M+). Знайдено, %: С 56,77; Н 4,73; N 13,26; S 20,20. C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>OS<sub>2</sub>. Розраховано, %: С 56,76; Н 4,76; N 13,24; S 20,20.

### Резюме

1. Проведено синтез вихідних сполук: 4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу.
  2. Вивчено реакцію алкілування вихідних тіолівгалогеналканами, дигалонегалканам, 2-хлортіофеном, 2-хлоретановою кислотою, хроацетамідом, ізопрапіловим естером 2-хлоретанової кислоти, 2-бром-1-арилетанонами, 2-бром-1-феніл-1-оном.
  3. Синтезовано солі 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етанових кислот.
  4. Вперше досліджено відновлення 1-феніл-2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олів натрій боргідридом.
  5. Вперше для ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот досліджено амоноліз відповідними первинним, вторинними та циклічними амінами.
  6. Для всіх синтезованих сполук досліджено будову сучасними фізико-хімічними методами аналізу, а їх індивідуальність хроматографічно.
- За матеріалами розділу опубліковані роботи [113, 114].

### РОЗДІЛ 3

#### ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПОХІДНИХ 5-(ТІОФЕН-3-ІЛМЕТИЛ)-4R-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ

Широка розповсюдженість атеросклерозу та його клінічних проявів (ІХС (стенокардія, інфаркт міокарду, раптова коронарна смерть), гострі та хронічні розлади мозкового кровообігу (мозкові інсульти), облітеруючий атеросклероз артерій нижніх кінцівок та ін.) диктують наполегливу необхідність пошуку ефективних засобів лікування та профілактики цього захворювання. У зв'язку з необхідністю тривалого застосування до цих препаратів пред'являються високі вимоги безпеки. Застосовувані в теперішній час гіполіпідемічні засоби володіють здатністю знижувати рівень ліпідів та ЛПП у крові на 17-40 %. Водночас по результатам популяційних досліджень смертність від ІХС знижувалася на 31-41 % [115]. Проте досвід їх практичного застосування показує, що широкозастосовувані антиатеросклеротичні засоби не позбавлені здатності викликати доволі серйозні ускладнення та навіть найсучасніші та високоефективні препарати із групи статинів володіють рядом побічних ефектів.

Незважаючи на великі досягнення в області теорії атеросклерозу, в практичній медицині ще не існує відпрацьованих схем лікування захворювань, які пов'язані з атеросклеротичним ураженням артеріальних судин. У теоретичному плані ще немає загальноприйнятої теорії атерогенезу. В останні роки активно розвивається перикисна теорія атерогенезу, яка базується на тому, що важливим атерогеним чинником є саме дефіцит антиоксидантної системи, що веде до підсилення аутоокислення ліпідів, білків та біополімерів з утворенням токсичних продуктів.

Значне місце у механізмах пошкодження ендотелію відводиться процесам ПОЛ. У низці наукових праць [116, 117] показано, що накопичення продуктів ліпопероксидації призводить до змін структури артеріальної стінки

та формування атероматозних бляшок. Окислені ЛПНЩ є факторам ризику в патогенезі атеросклерозу. Ведуча роль в окислювальній модифікації ЛПНЩ відводиться вільним радикалам [118, 119]. Надлишкова активація ПОЛ та накопичення продуктів аутоокислення ліпідів може сприяти пошкодженню інтимальних клітин, проліферації гладком'язових клітин, інгібуванню синтезу PGJ2 у судинній стінці та збільшення агрегації тромбоцитів.

Активація ВРО призводить до утворення перексомодифікованих ЛПНЩ, які стимулюють ліпідну інфільтрацію судинної стінки, завдяки можливості рецепторнезалежного транспорту через ендотеліальну вистилку. Водночас причиною активації вільнорадикальних механізмів атерогенезу є зниження активності позаклітинної АОС при дефіциті антиоксиданту, емоційного виснаження або вікового зниження антиоксидантних факторів. У зв'язку з цим застосування інгібіторів ПОЛ та лікарських засобів, що стимулюють активність АОС, знаходить патогенетичне обґрунтування корекції атерогенезу.

В цьому контексті певну зацікавленість представляють нові синтетичні похідні 1,2,4-триазолу, відмінні безпечністю, можливістю їх тривалого застосування без ускладнень. У зв'язку з цим актуальність досліджень по гострій токсичності та проведення оцінки специфічної активності найбільш ефективної нової синтетичної сполуки, цілеспрямовано синтезованої, яка б володіла гіполіпідемічною активністю цілком очевидна.

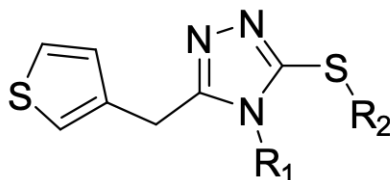
### **3.1 Дослідження похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів як потенційних антиоксидантних агентів методами *in silico***

Метаболічний процес, відомий як оксидативний стрес, є характерним для всіх живих організмів і включає в себе дисбаланс між активними формами кисню та нітрогену (АФК, АФН) та системами антиоксидантного захисту. АФК(Н), які виникають при окисленні жирів та олій, можуть призводити до ушкодження біомолекул, таких як ДНК, протеїни та ліпіди, що може



спричинити розвиток різних хронічних захворювань [120, 121, 122, 123]. Для зменшення або усунення проявів оксидативного стресу в організмі людини використовують антиоксиданти, які активно взаємодіють із вільними радикалами, хелатують метали, а також регулюють рівень АФК та АФН шляхом інгібування чи активації ферментів [124, 125, 126].

Було проведено віртуальний скринінг 22 похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолів (2.1-2.3, 2.7-2.9, 2.12-2.17, 2.20- 2.22, 2.24, 2.25, 2.33-2.35, 2.37 2.39) різних класів використовуючи стратегію молекулярного стикування з використанням 6 ферментів, що мають вплив на регулювання оксидативного стресу (рисунок 3.1).



- |   |   |
|---|---|
| <b>2.1;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = H   | <b>2.17;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> (CHO)-3-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> |
| <b>2.2;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = H  | <b>2.20;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> (CHO)-3-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                              |
| <b>2.3;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub>   | <b>2.21;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> (CHO)-2-FC <sub>6</sub> H <sub>4</sub>                              |
| <b>2.7;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = C <sub>9</sub> H <sub>19</sub>                            | <b>2.22;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> S                        |
| <b>2.8;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>                           | <b>2.24;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> COOH                                   |
| <b>2.9;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>3</sub>  | <b>2.25;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> COOH  |
| <b>2.12;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = C <sub>8</sub> H <sub>17</sub>  | <b>2.33;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> COO <sup>i</sup> C <sub>3</sub> H <sub>7</sub>                      |
| <b>2.13;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = C <sub>10</sub> H <sub>21</sub>   | <b>2.34;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>                      |
| <b>2.14;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = bis  | <b>2.35;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> CONH <sub>2</sub>   |
| <b>2.15;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = bis   | <b>2.37;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> CONHCH <sub>3</sub>                    |
| <b>2.16;</b> R <sub>1</sub> = C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> , R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> (CHO)-4-OMeC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> | <b>2.39;</b> R <sub>1</sub> = H, R <sub>2</sub> = CH <sub>2</sub> COC <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO                                  |

Рисунок 3.1 - 1Обрані сполуки для обчислювальних досліджень.

### *Підготовка лігандів*

Для створення двовимірних структур похідних 1,2,4-триазолів використовувалося ChemAxon Marvin Sketch [127, 128]. Структури були оптимізовані для рН 7,4 та мінімізовані з використанням силового поля MMFF94 [129]. Далі молекули були перетворені у sdf формат через OpenBabel-2.4.1 [130].

### *Підготовка цілей*

У цьому дослідженні було обрано 6 ензимів із бази даних білків RCSB, які в різний спосіб регулюють окисний стрес в організмі: пероксиредоксин, що контролює швидкість синтезу меланіну, нейрональна NO-синтаза, НАД(Ф)Н-оксидаза, тирозиназа, гемоксигеназа та NMDA рецептор гіперактивація яких ініціює основні реакції оксидативно-нітрозативного стресу [131, 132, 133]. З використанням програмного забезпечення OpenBabel-2.4.1 та Molegro Molecular Viewer [134] було підготовлено рецепторибез урахування молекул води, кофакторів та кристалічно пов'язаних лігандів. Залишки амінокислот CYS297, PRO298, SER339, GLN340, HIS341, THR342, ARG343, LYS344, PRO345, GLU346, ASP347, LYS717, GLY718 для 6NGJ та GLY1, MET2, SER3 для 4KFQ були відсутні в кристалічній структурі, але їх внесення здійснювалося за допомогою Modeller 10.2 [135]. Дані амінокислотні залишки не були частиною активного сайту білків. Для мінімізації структури та додавання відсутніх гідрогенів було використано програму Chimera 1.16 [136].

#### *Аналіз ADME властивостей*

Для прогнозування властивостей ADME обраних сполук використано безкоштовне програмне забезпечення SwissADME [137]. Різноманітні молекулярні параметри, такі як молекулярна маса, кількість акцепторів і донорів водневих зв'язків, а також значення LogP, були аналізовані в рамках правила п'яти Ліпінського.

#### *Протокол докінгу*

Для аналізу того, як обрані сполуки взаємодіють з мішенями, проведено дослідження молекулярного взаємодії, використовуючи програмне забезпечення Smina [138], що є форком Autodock Vina (<http://vina.scripps.edu/>) з модифікованою скорінг функцією. У процесі напівгнучкого докінгу рецептор розглядався як жорстка структура, у той час як ліганд залишався гнучким для досягнення оптимального положення у рецепторному комплексі. Деталі процедури валідації для молекулярного докінгу наведено на рисунку 3.2 та в таблиці 3.1

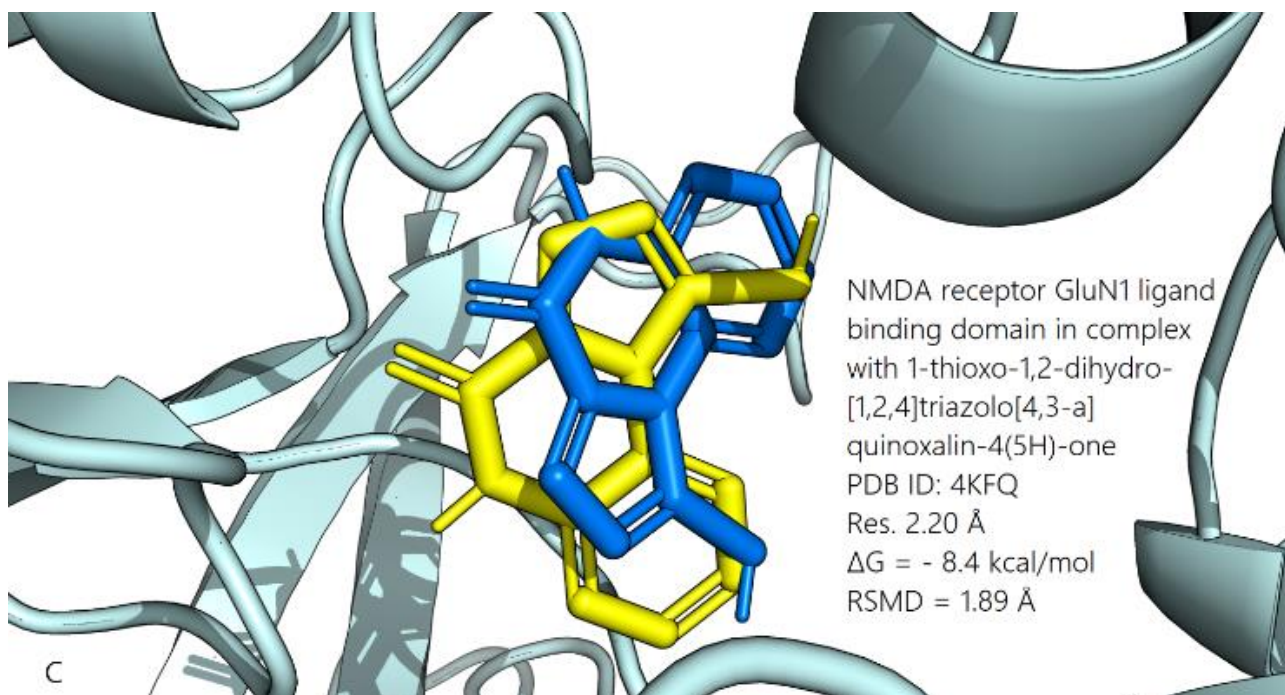


Рисунок 3.2 - Рецептор (4KFQ) в комплексі з розрахованою та експериментальною конформацією 1-сульфаніл[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіноксалін-4(5H)-ону.

За даними з літератури, розходження середньоквадратичного відхилення положень атомів (RMSD), що вказує на відмінність між розрахованими та кристалографічними конформаціями комплексного ліганду, не повинно перевищувати 2,0 Å. [139, 140].

Для кожної речовини було обрано на підставі її енергетичних характеристик та оптимального відповідності з активним центром з мінімальним значенням RMSD. Зменшення енергії зв'язку ( $\Delta G$ ) свідчить про більш значущу взаємодію між рецептором та лігандами.

Таблиця 3.1 - Просторові параметри активних сайтів обраних білків

Рецептор	Ліганд	Координати центру Grid Box	Розмір Grid Box	RMSD
Пероксидаза (PDB: 3MNG)	(4S,5S)-1,2-Дитіан-4,5-діол	7.96 x 42.45 y 32.35 z	16 x 16 y 16 z	0,14
NO-синтаза (PDB: :6NGJ)	6-(3-Фтор-5-(3-(метиламіно)проп-1-ін-1-іл)фенетил)-4-метилпіридин-2-амін	10.92 x 2.92 y 27.24 z	22 x 22 y 26 z	1,76
НАД(Ф)Н-оксидаза (PDB: 2CDU)	Аденозин-5'-дифосфат	19.12 x -5.23 y -0.07 z	22 x 22 y 22 z	1,03
Тирозиназа (PDB: 3NM8)	5-Гідрокси-2-(гідроксиметил)-4H-піран-4-он	1.68 x 9.88 y 54.96 z	30 x 14 y 32 z	0,58
NMDA-рецептор GluN1 (PDB: 4KFQ)	1-Сульфаніл[1,2,4]тріазоло[4,3-а]хіноксалін-4(5H)-он	27.51 x 34.68 y 46.90 z	18 x 18 y 18 z	1,89
Гемоксигеназа (PDB: 1N3U)	Протопорфірин IX	25.92 x 17.39 y -36.81 z	22 x 18 y 20 z	1,41

### *Молекулярне динамічне (МД) моделювання*

Для підтримки концепції дослідження ми використовували молекулярно-динамічне моделювання комплексів, де аналіз лігандів базувався на їхній найнижчій енергетичній конформації та перевищенні показників порівняння з кристалографічними структурами. Віртуальний експеримент проводився для апо-форми Рецептора NMDA (PDB: 4KFQ), в якій білок утворював комплекс із сполукою 2.17, порівняною з кристалічним лігандом. Молекулярно-динамічні симуляції були здійснені за допомогою пакету GROMACS 2022.2. [141, 142]. Структура рецепторів була створена за допомогою функції pdb2gmx, а параметризація лігандів виконувалася

використовуючи ресурс серверу <https://www.swissparam.ch/> [143]. Усі системи були обгорнуті водяною моделлю (TIP3P) у формі додекаедральної коробки, віддаленої на 1 нм від країв білка у всіх напрямках. Для забезпечення нейтралізації системи використовувалися іони  $\text{Na}^+$  і  $\text{Cl}^-$ , також щоб емулювати фізіологічний буферний розчин додавали  $\text{NaCl}$  з концентрацією 0,15 моль. З метою зниження енергії та уникнення стеричних зіткнень використовувався алгоритм найкрутішого спуску на 500 кроків, з максимальною силою  $F_{\text{max}}$ , що не перевищувала  $1000 \text{ кДж/моль} \cdot \text{нм}$ . Далі системи піддавались врівноваженню у режимах NVT та NPT протягом 100 пс, де тиск утримувався на рівні 1 бар за допомогою баростата Берендсена, а температура підтримувалася на рівні 300 К за допомогою модифікованого термостата Берендсена. Молекулярно-динамічне моделювання тривало 100 нс з кроком часу 2 фс та межею дальньої взаємодії 1 нм, використовуючи електростатику Particle-Mesh Ewald [144]. Аналіз траєкторій виконувався шляхом використання різноманітних скриптів у програмному забезпеченні GROMACS, а отримані результати відображались з використанням Rmол. Графіки, які наочно відображали результати моделювання, були створені за допомогою інструменту QtGrace.

#### *ММ-PBSA аналіз*

Для аналізу взаємодії між білком та інгібітором застосовувався метод молекулярної механіки/поверхні Пуассона-Больцмана (ММ-PBSA) [145]. Оцінка енергії вільного зв'язування у комплексі білок-ліганд здійснювалась за допомогою `g_mmpbsa` у співпраці з молекулярною динамікою, і це виконується згідно наступного рівняння (1):

$$\Delta G_{\text{binding}} = \Delta G_{\text{complex}} - (\Delta G_{\text{protein}} + \Delta G_{\text{ligand}}) \quad (1)$$

Додатково, окремі вільні енергії для комплексу, протеїну або ліганду можна розрахувати за рівнянням (2):

$$\Delta G = (E_{\text{MM}}) + G_{\text{solvation}} \quad (2)$$

Середня потенційна енергія молекулярної механіки (ЕММ) визначається як середнє значення потенційної енергії без врахування тиску. Середня енергія сольватації розкладається на дві складові - полярну та неполярну (3):

$$\Delta G_{solvation} = \Delta G_{polar} + \Delta G_{nonpolar} \quad (3)$$

Енергія зв'язку формується за рахунок трьох окремих компонентів: потенційної енергії у вакуумі, енергії полярної сольватації та енергії неполярної сольватації.

#### *Аналіз докінг дослідження*

Було проведено аналіз докінгу для 22 різних сполук, які взаємодіють з шістьма білками, відповідальними за контроль окисного процесу. Для кожної з цих сполук було враховано дев'ять конформаційних позицій, і з кожної з них обрано ту, яка мала найкраще значення афінності. Отримані результати представлені в таблиці 3.2. Значення  $\Delta G$  енергії зв'язування, які були підкреслені, перевищували показники  $\Delta G$  лігандів, визначених кристалографічними методами, що було відзначено у порівняльному аналізі.

#### *Аналіз фармакокінетичних властивостей сполук-лідерів*

П'ять хітів (2.14, 2.16, 2.17, 2.20, 2.22), які перевищували показники докінг-оцінки лігандів порівняння, піддавались аналізу ADME за допомогою SwissADME (таблиця 3.3). Для визначення схожості цих речовин з лікарськими препаратами були використані різні критерії основані на "правилі п'яти Ліпінського". Властивості ADME, які розглядалися в аналізі, вміщували молекулярну масу, топологічну площу полярної поверхні, кількість донорів і акцепторів Н-зв'язку, прогнозовану розчинність у воді, проникність через гематоенцефалічний бар'єр, а також передбачений метаболізм і детоксикація ксенобіотиків шляхом інгібування цитохромів P450.

Чотири сполуки відповідали правилу Ліпінського, але біс похідне 1,2,4-триазолу 2.14, яке перевищувала межу молекулярної маси у 500 г/моль мало значення consensus log P більше 5. З цієї причини для подальшого віртуального скринінгу та аналізу взаємодії білок-ліганд було обрано іншу речовину 2.17 з більш прийнятними значеннями.

Таблиця 3.2 - Результати оцінки енергії зв'язування досліджуваних сполук 3.9, 3.11-3.18, 3.23, 3.24, 3.30, 3.35, 3.40-3.42

Сполуки	Значення розрахованої $\Delta G$ для вибраних білків (ккал/моль)						Сполуки	Значення розрахованої $\Delta G$ для вибраних білків (ккал/моль)					
	6 N G J	4 K F Q	1 N 3 U	3 N M 8	3 N M G	2 C D U		6 N G J	4 K F Q	1 N 3 U	3 N M 8	3N M G	2 C D U
<b>2.1</b>	-7,9	-7,6	-6,6	-5,4	-5,0	-6,9	<b>2.17</b>	-9,5	<u>-10,1</u>	-8,5	-7,2	-5,8	-8,3
<b>2.2</b>	-5,8	-5,9	-5,0	-4,2	-4,4	-5,4	<b>2.20</b>	-8,8	<u>-8,4</u>	-7,4	-6,5	-5,3	-7,5
<b>2.3</b>	-7,6	-7,7	-6,7	-5,5	-4,7	-6,5	<b>2.21</b>	-8,7	-8,3	-7,1	-6,3	-5,2	-7,5
<b>2.7</b>	-7,5	-8,2	-7,1	-5,8	-4,8	-6,9	<b>2.22</b>	-8,7	<u>-8,6</u>	-7,1	-6,6	-5,1	-7,5
<b>2.8</b>	-7,6	-8,1	-7,0	-5,2	-4,8	-6,7	<b>2.24</b>	-8,0	-8,2	-7,1	-6,2	-5,1	-7,2
<b>2.9</b>	-6,0	-5,9	-5,0	-4,6	-4,3	-5,5	<b>2.25</b>	-7,1	-6,9	-6,0	-5,7	-4,8	-6,7
<b>2.12</b>	-7,3	-6,5	-5,7	-5,0	-4,5	-6,5	<b>2.33</b>	-6,8	-6,9	-6,0	-5,6	-4,3	-6,4
<b>2.13</b>	-6,8	-6,6	-5,6	-4,2	-4,4	-5,4	<b>2.34</b>	-8,2	-8,3	-7,1	-6,0	-4,9	-7,1
<b>2.14</b>	<u>-9,9</u>	<u>-10,3</u>	-9,1	-7,2	-5,9	-8,4	<b>2.35</b>	-6,8	-6,7	-5,7	-5,6	-4,7	-6,5
<b>2.15</b>	-8,6	-7,7	-6,6	-6,1	-4,5	-7,3	<b>3.37</b>	-8,0	-8,2	-7,1	-6,2	-5,1	-7,2
<b>2.16</b>	<u>-10,1</u>	<u>-9,6</u>	-8,1	-7,4	-5,4	-8,8	<b>3.39</b>	-7,5	-7,5	-6,5	-7,0	-5,3	-7,1
							<b>Л. П.</b>	-9,7	-8,4	<u>-10,4</u>	-7,9	-3,7	<u>-10,3</u>

Примітка: (Л. П.) – ліганд порівняння

Таблиця 3.3 - Фармакокінетичний профіль сполук 2.14, 2.16, 2.17, 2.20, 2.22

С по л у ка	Мо л. ма са	К-ть ак це пт ор ів Н-зв'яз ку	К-ть до но рі в Н-зв'яз ку	Пло ща пол ярн ої пов ерх ні	Lo g P	Lo g S	П ор у ш ен ня пр ав ил а п'ят и	Ге ма то ен це фал іч на пр он ик ніс ть	P g p	C Y P 1 A 2	C Y P 2 C 1 9	C Y P 2 C 9	C Y P 2 D 6	C Y P 3 A 4
										i n h i b i t o r	i n h i b i t o r	i n h i b i t o r	i n h i b i t o r	i n h i b i t o r
2.14	544,74	4	0	168,5	6,07	-9,65	2	-	+	-	-	+	-	+
2.16	421,54	4	0	110,55	4,44	-7,01	0	-	-	+	+	+	+	+
<b>2.17</b>	409,5	4	0	101,32	4,71	-6,95	0	-	-	+	+	+	-	+
2.20	333,4	4	1	112,18	3,44	-5,51	0	-	-	+	+	+	+	+
2.22	355,5	2	0	112,49	4,62	-6,9	0	-	+	+	+	+	-	+

#### Док-аналіз топ-хіта

Вивчення впливу різних сполук на NMDA-рецептор GluN1 виявило, що 1,2-біс((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан(2.14) має найвищу енергію зв'язування на рівні -10,3 ккал/моль. Зауважимо, що ця речовина не відповідає правилам Ліпінського. Внаслідок цього було вирішено обрати наступний ліганд 1-(3-фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.17), який виявив афінність на рівні -10,1 ккал/моль. Характер взаємодії ліганду порівняння представлений у статті [146], і демонструє утворення стабільного комплексу через водневі зв'язки з 1-тіоксо-1,2-дигідро-[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіноксалін-4(5Н)-он: PRO124,



THR126, ARG131 і SER296. Залишок PHE92 стабілізує зв'язування референс ліганду за допомогою  $\pi$ -стекиннг взаємодії. У нашому випадку, PHE92 (4.97 Å) мав стабілізуючу  $\pi$ - $\pi$  стекиннг з 3-фторфеніловим замісником відповідно (рисунок 3.3).

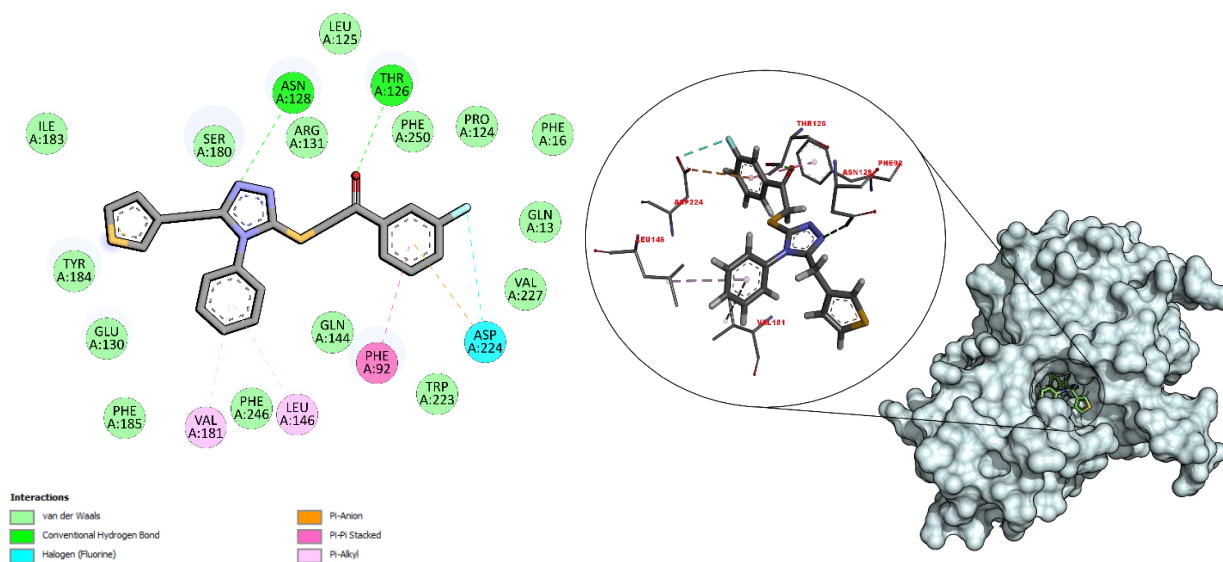


Рисунок 3.3 - Взаємодія 2D та 3D графічні контакти N-метил-d-аспаратного (NMDA) рецептора GluN1 та сполуки 2.17.

Атом кисню O1 у вуглекислотній групі виявив слабкий водневий зв'язок із гідроксильною групою залишку THR126 (на відстані 2,96 Å), атом азоту N1 у циклі 1,2,4-триазолу утворив взаємодію з аміногрупою ASN128 (3,16 Å). Додатково, в нашому комплексі спостерігались гідрофобні, електростатичні та нетрадиційні водневі зв'язки: електронна область ароматичного кільця фенілового радикалу взаємодіяла у формі  $\pi$ -алкіл контакту з амінокислотними залишками VAL181 (5,27 Å) та LEU (4,92 Å). Вміст фтору призводив до утворення галогенового зв'язку із карбоксильною групою ASP224 (4,96 Å). Також,  $\pi$ -аніонний зв'язок сприяв стабілізації електростатичної взаємодії карбоксильної групи ASP224 (4,82 Å) з поляризованою Pi-електронною областю ароматичного кільця 3-фторфенілу.

*Дослідження моделювання молекулярної динаміки*

Для оцінки стійкості комплексів ліганд-фермент було використано метод молекулярної динаміки. Це дозволило отримати важливі відомості про динамічну поведінку вивчених сполук протягом тривалих траєкторій у 100 наносекунд у реальному часі та в середовищі з розчинником. По завершенню кожної 100-наносекундної симуляції для кожного комплексу проводився аналіз за допомогою таких параметрів, як: RMSD, RMSF, Rg, SASA, Hbonds, PCA. Молекулярна динаміка досліджувалася для наступних комплексів: NMDA-рецептор з сполукою, яка мали найвище значення докінгу та перевищували оцінки докінгу кристалографічного препарату порівняння (4KFQ\_2.17); NMDA-рецептор з кристалографічними референтним лігандом, який використовувався для підтвердження ефективності протоколу молекулярного докінгу, при цьому для моделювання NMDA-рецептора GluN1 використовувався 1-сульфаніл[1,2,4]триазоло[4,3-а]хіноксалін-4(5H)-он (4KFQ\_STD). Також проводилося молекулярне моделювання нативної форми ферменту (4KFQ\_Apo) для подальшого порівняння.

Аналіз змін у конфігурації білка та його комплексів з лігандом проводився шляхом визначення середнього квадратичного відхилення (RMSD) координат скелету протеїну під час 100 наносекундного молекулярно-динамічного моделювання. З графіка RMSD видно, що для апо-форми NMDA-рецептора спостерігалось найвище значення RMSD, яке складало  $0,45 \pm 0,17$  нм (рисунок 3.4). У випадку зв'язаних систем стабільність була вищою, і протягом усього моделювання середнє значення RMSD для 4KFQ\_STD становило  $0,37 \pm 0,15$  нм, а для 4KFQ\_2.17 –  $0,31 \pm 0,05$  нм. Це свідчить про стійку конформаційну поведінку під час динаміки. З усього вище зазначеного можна зробити висновок, що досліджувана сполука 1-(3-фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он2.17 демонструє кращу поведінку в межах активного центру білка 4KFQ, ніж еталонний комплекс.

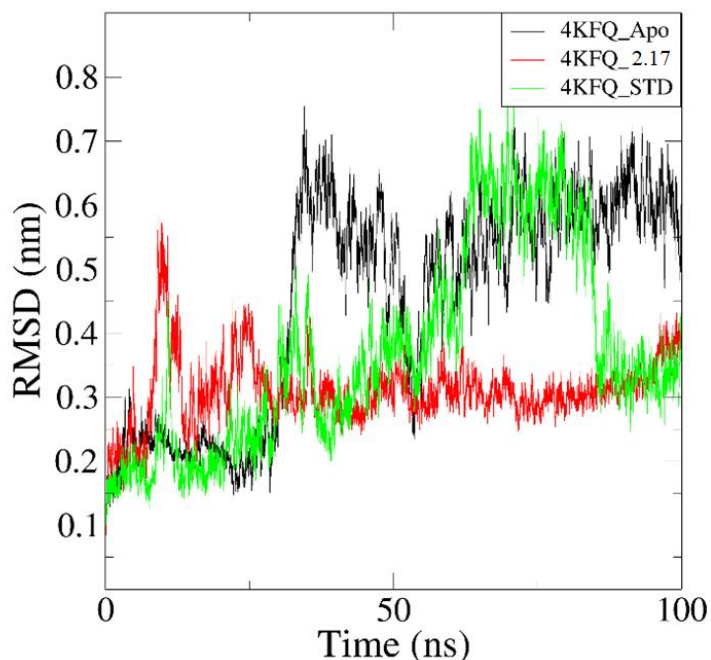


Рисунок 3.4 – Діаграма RMSD нативного NMDA-рецептора, комплексів 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD.

Для оцінки рухливості та гнучкості залишків білка під час моделювання використовувалась середня флуктуація положення, розрахована за значеннями середньоквадратичного відхилення флуктуації (RMSF) кожного залишку. Значення RMSF для нативного NMDA рецептора складало  $0,26 \pm 0,13$  нм, у порівнянні з лігандом 2.17 –  $0,16 \pm 0,11$  нм, та для комплексу білка та референтної сполуки –  $0,25 \pm 0,11$  нм (рисунок 3.5). Амінокислотні залишки, які розташовані в активному сайті ферменту, проявляли найвищі значення флуктуації в двох діапазонах – ASN48-HIS57 та ARG97-LYS104. Зменшення середнього значення RMSF майже вдвічі для 4KFQ\_2.17 свідчить про те, що вторинні конформації рецептора залишаються більш стабільними.

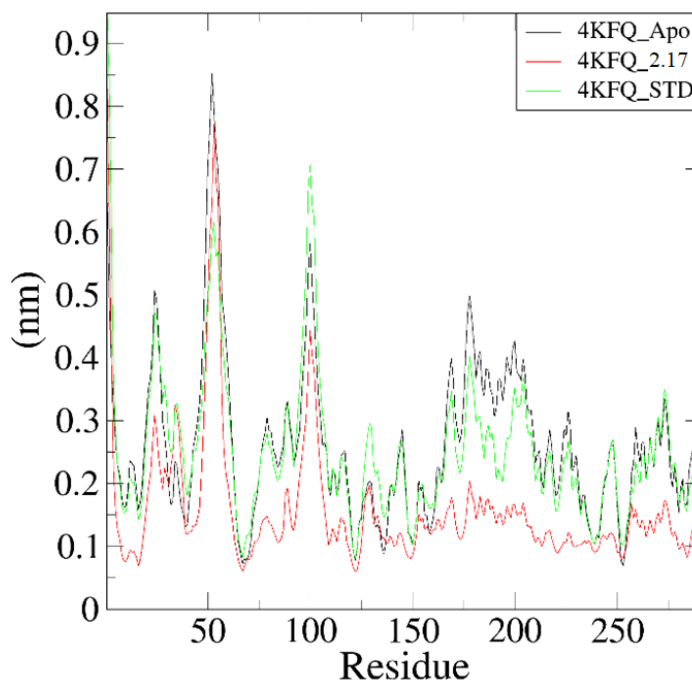


Рисунок 3.5 - Остаточні відхилення RMSF (нм) атомів скелету білка 4KFQ, комплексів 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD.

Стійкість біомолекул визначається радіусом обертання, який відображає їх структурну компактність протягом періоду молекулярної динаміки. Графік, представлений на рисунку 3.6, вказує на середні значення  $R_g$  для апо-форми 4KFQ, комплексів 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD, які склали  $2,11 \pm 0,08$  нм,  $2,06 \pm 0,03$  нм та  $2,08 \pm 0,06$  нм відповідно. Зменшення  $R_g$  для 4KFQ\_2.17 свідчить про більшу компактність білок-лігандного комплексу. В цілому, комплекс 4KFQ\_2.17 виявив подібну структурну компактність і сталу величину  $R_g$  порівняно з нативним білком та еталонним.

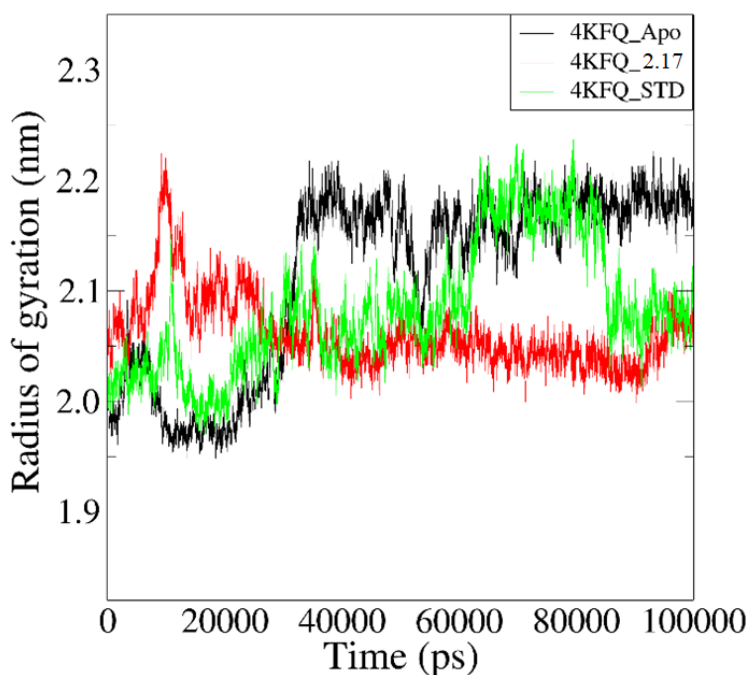


Рисунок 3.6 - Радіус обертання атомів остова нативного білка 4KFQ, комплексів 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD.

Визначення площі поверхні, доступної для розчинника (SASA), потрібна для розрахунку області поверхні білка та його комплексу, яка може взаємодіяти з розчинником. На графіку, представленою на рисунку 3.7, демонструється залежність значень SASA для NMDA рецептора та його зв'язаних комплексів. Середні значення SASA для 4KFQ\_Apo, 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD були дуже схожими і склали  $160,01 \pm 1,23$  нм,  $160,28 \pm 1,36$  нм та  $160,23 \pm 1,22$  нм відповідно. Ці обчислення говорять про те, що досліджуваний комплекс має значення SASA, яке істотно збігається як з апо-комплексом, так і з комплексом порівняння.

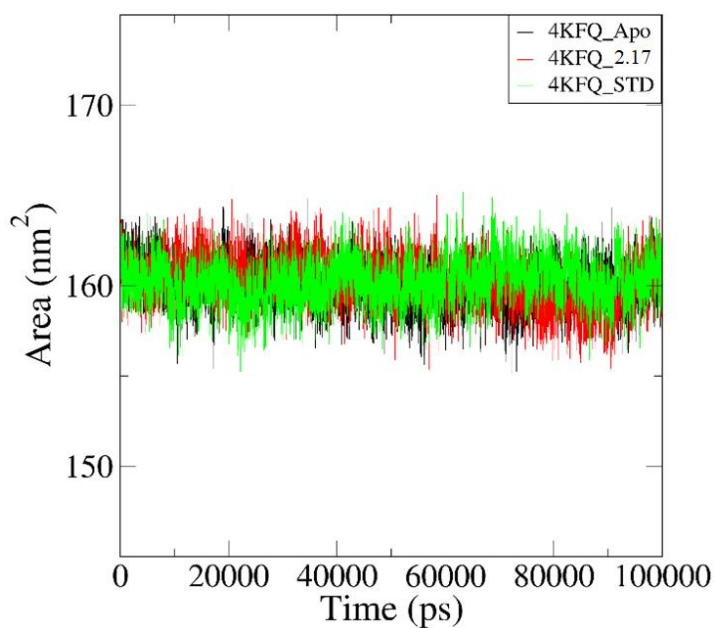


Рисунок 3.7 - Площа поверхні, доступної для розчинника у 4KFQ\_Apo, комплексу 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD.

Взаємодія через водневі зв'язки виступає як ключовий фактор, що визначає специфічність зв'язування між лігандом і рецептором. Середні значення кількості Н-зв'язків, взятих за період 100 наносекунд моделювання, між NMDA рецептором та 2.17, склали  $0,76 \pm 0,72$  (рисунок 3.8).

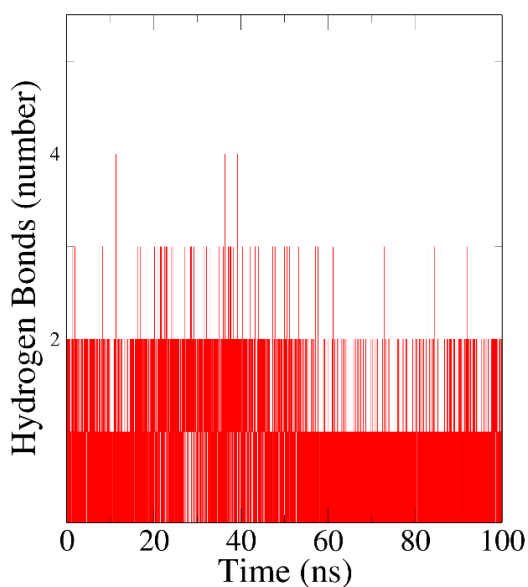


Рисунок 3.8 - Н-зв'язки білка 4KFQ з досліджуваним лігандом 2.17.

Аналіз головних компонентів (PCA) - це статистичний метод обчислень, спрямований на скорочення обсягу даних. У нашому випадку він базується на виділенні значущих рухів атомів C $\alpha$  скелета білка в порівнянні з лігандом. Для даного дослідження ми обрали перші 40 власних векторів і власних значень для двох вивчених ензимів - з референс лігандом та з сполукою 2.17. Перші 40 власних векторів склали 99,17 % для 4KFQ\_2.17 та 99,99 % для 4KFQ\_STD. Гнучкість всіх систем аналізували, розраховуючи слід діагоналізованої коваріаційної матриці, що представляє суму значень власних векторів. Проекція траєкторій для 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD, зображена на рисунку 10, показує суму слідових значень коваріаційної матриці в 1,52 нм<sup>2</sup> та 12,46 нм<sup>2</sup> відповідно. Комплекс рецептора з досліджуваним лігандом 2.17 виявився дуже стабільним, оскільки займав менше місця у фазовому просторі, і кластер був чітко виражений в порівнянні з комплексом білок-референс ліганд (рисунок 3.9).

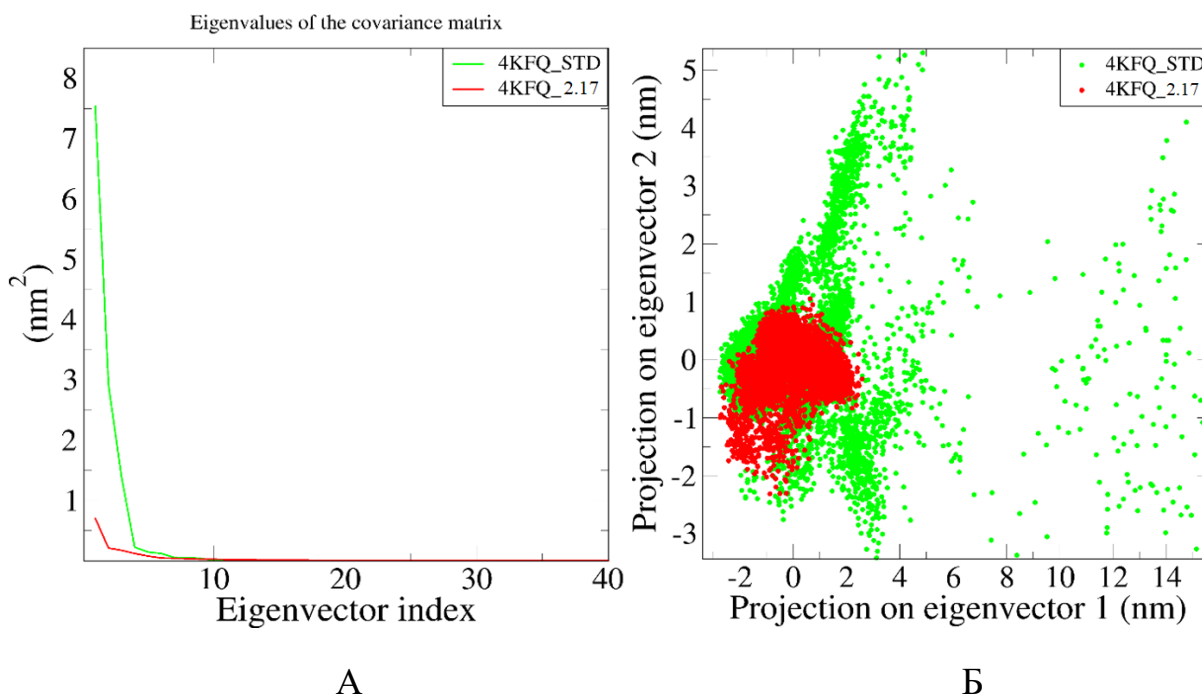


Рисунок 3.9 - (А) Аналіз головних компонентів. Ділянки власних значень щодо перших 40 власних векторів комплексу 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD. (Б) Графіки розсіювання PCA показують проекції зміщення

атомів  $C_{\alpha}$  вздовж першого власного вектора та другого власного вектора в кожній точці часу для 4KFQ\_2.17 та 4KFQ\_STD.

Підбиваючи підсумки усього викладеного вище, можна зробити висновок, що 1-(3-фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он(2.17), для якої проводилося молекулярно-динамічне дослідження, підтвердила якісну взаємодію з рецептором. Виявлено, що ця випробувана молекула виявляла тенденцію залишатися зв'язаними з обраним ензимом і не відокремлюватися від активного сайту протягом усього періоду моделювання. Важливо зауважити, що комплекс NMDA-рецептора з лігандом 2.17 проявив помітні відмінності в порівнянні з еталонним комплексом в кращій бік. Досліджуваний ліганд сприяв більшій компактності структури ферменту, а сам комплекс демонстрував менше залишкових флуктуацій, що свідчить про його більшу стабільність порівняно з еталонним комплексом 4KFQ\_STD.

Енергія зв'язування між стандартним комплексом і досліджуваним лігандом 2.17 майже не відрізнялася. В таблиці 3.4 видно, що комплекс 4KFQ виявив кращу афінність до сполуки 2.17 ( $-24,14 \pm 0,32$  ккал/моль) порівняно з етанолоним лігандом, який мав значення  $-1,24 \pm 2,77$  ккал/моль.

Таблиця 3.4 - Середня статистика розрахунку MM-PBSA

Комплекси	Енергія зв'язку комплексів (ккал/моль)	Енергія Ван-дер-Ваальса (EvdW) (ккал/моль)	Електростатична енергія (Eelec) (ккал/моль)	Енергія полярної сольватації (ккал/моль)	SASA енергія (ккал/моль)
4KFQ_2.17	$-24,14 \pm 0,32$	$-34,99 \pm 2,88$	$-189,05 \pm 3,35$	$177,61 \pm 1,69$	$22,28 \pm 0,56$
4KFQ_STD	$1,24 \pm 2,77$	$-19,13 \pm 1,25$	$-165,11 \pm 9,28$	$169,22 \pm 7,61$	$16,26 \pm 0,72$



Електростатична енергія виявляє помірні значення при вивченні комплексу 4KFQ\_2.17. Стабільність комплексу, виявлена енергією зв'язку, натякає на можливість використання ліганду 2.17 як потенційного інгібітора або антагоніста для обраного ферменту.

Отже, аналіз, ґрунтований на характеристиках молекулярної динаміки (RMSD, RMSF, Rg, SASA та PCA), свідчить, що взаємодія ліганду 2.17 з 4KFQ проявила велику стабілізуючу ефективність та конформаційну вигоду порівняно з еталоном. Аналіз RMSD демонструє стабільність траєкторії MD вивченого комплексу протягом усього періоду моделювання. Розрахунки вільної енергії зв'язування комплексу показали схожі значення для досліджуваного ліганду та NMDA рецептора, але все ж ліганд 2.17 виявив більший вигравш в енергії при взаємодії з білком порівняно з еталонним лігандом. Таким чином, ліганд 1-(3-фторфеніл)-2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.17) проявив кращі результати за енергією зв'язування у методі MM-PBSA, що вказує на його потенціал як ефективного інгібітора NMDA рецептора GluN1 у відкритті конкурентних інгібіторів. Теоретичні висновки підтверджують, що досліджувана молекула може слугувати перспективним кандидатом для подальших *in vitro* та *in vivo* досліджень його антиоксидантної активності.

### **3.2. Вивчення антиоксидантної активності нових похідних 5-тіофен-3-ілметил-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу**

Вченими не одноразово доведено, що в основі більшості патологічних процесів, які виникають в організмі людини є оксидативний стрес. Причиною виникнення оксидативного стресу є заміщення окисно-відновного гомеостазу в бік прооксидантного компонента. Загальнобіологічне значення відіграє реакція пероксидазного окислення ліпідів, яка до того ж є універсальним механізмом пошкодження клітинної структури. Пошук нових сполук з вираженою антиоксидантною дією на сьогодні є важливою задачею, оскільки

допоможе запобігти виникненню ряду серцево-судинних патологій, таких як ішемічна хвороба і інфаркт міокарда. Серед відомих гетероциклічних сполук перспективними є похідні 1,2,4-триазолу, оскільки мають великий обсяг фармако-біологічних активностей. Доведено, що ці похідні мають суттєву антиоксидантну активність [147, 148].

Цілеспрямований пошук нових синтетичних сполук з антиоксидантними властивостями обґрунтовує обов'язкове дослідження їх на різних моделях в експерименті ініціювання ПОЛ. Це зв'язано з тим, що активація вільнорадикального окислення ліпідів є основним ланцюжком патогенезу атеросклерозу з багатьма етіопатогенетичними чинниками, а також за розвитком ініціювання ПОЛ.

У експериментальних дослідженнях антиоксидантні властивості лікарських препаратів та нових синтезованих сполук вивчаються на складних моделях гіперліпідемії та атеросклерозу, які мають молекулярно-клітинні особливості. Ці моделі часто не мають змоги оцінити адекватну дію антиоксидантів, як непрямих, опосередкованих різними фізіологічними та біохімічними змінами в організмі, що протікають *in vivo* та не відображають особливості дії нових синтетичних сполук, їх молекулярних механізмів у біоорганізмі. Тому на початковому етапі скринінгового експерименту нами використовані методи первинної оцінки антиоксидантних ефектів нових синтетичних речовин у експериментах *in vitro*.

Для оцінки різних етапів цього ланцюжкового процесу активації ПОЛ ми провели вивчення антиоксидантної активності новосинтезованих сполук на трьох моделях ініціювання перикисного окислення ліпідів та білків у дослідах *in vitro*. Це дуже наблизило відтворення механізму продукції активних форм кисню та вільних радикалів у процесі вільнорадикального окиснення при експериментальній гіперліпідемії. До того ж враховувалася відносна простота проведення експериментів на цих моделях. Водночас були виключені інші чинники, які могли вплинути на вільнорадикальні процеси. Важливим також є

отримання кількісної оцінки ефектів новосинтезованих речовин, а також доступність багатьох хімічних реактивів і приладів для виконання цих експериментальних моделей *in vitro*.

Нами було проведено первинний фармакологічний скринінг антиоксидантної активності *in vitro* для двадцяти трьох новосинтезованих сполук. З цією метою було обрано три моделі ініціювання СРО:

- визначення окислювальної модифікації білків;
- оцінка антиоксидантної дії ФАС на основі вивчення їх інгібуючої активності щодо накопичення кінцевих молекулярних продуктів ВРО ліпідів за умов неферментативного ініціювання ВРО;
- оцінка антиоксидантної активності ФАС за інгібуванням накопичення активних форм кисню.

Маркери окислення білків є важливими показниками пошкодження макромолекул в результаті оксидативного стресу. Дослідження в цій області переважно мали теоретичний характер. Деякі дослідження вказують на те, що окислення може спричинити інактивацію ферментів та зміну структури білків [149]. На сьогоднішній день існують методи оцінки як спонтанного, так і стимульованого окислення білків, які відображають окисний потенціал організму та його резервно-адаптаційні можливості. Це може призвести до мутацій і пошкодження генетичної інформації, що може впливати на функціонування клітини і сприяти розвитку різних захворювань, включаючи рак, нейродегенеративні захворювання і серцево-судинні захворювання. Тому, виявлення і вимірювання рівня окислення білків є важливими показниками стану окислювального стресу в клітинах і організмі.

Також окисна модифікація білків може призводити до зниження функції білків у ланцюгу переносників електронів, активності АТФ-ази і функціонування транспортних білків. Зміна окисного потенціалу мітохондріальної мембрани може спричинити дисфункцію дихального

ланцюга. Отже, окиснені білки не лише свідчать про оксидативний стрес, але також активно беруть участь у ньому. Таким чином, окисна модифікація білків відіграє ключову роль у молекулярних механізмах оксидативного стресу і може сприяти початку окисної деструкції інших молекул, таких як ліпіди і ДНК в клітині. Оскільки окисна модифікація білків є вибірковою і специфічною, і її продукти є маркерами раннього оксидативного стресу, подальше вивчення цього процесу допоможе вдосконалити методи діагностики і лікування нейродегенеративних захворювань.

Основою першого методу дослідження є насамперед визначення маркерів окислювальної деструкції білків: альдегідфенілгідрозонів (АФГ) та кетонфенілгідрозонів (КФГ). Процес визначення окислювальної модифікації білків полягає в проходженні реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідрозоном з подальшим утворенням 2,4-динітрофенілгідрозонів, що мають характерні спектри поглинання. Згідно загальноприйнятої методики [150, 151] до біологічного матеріалу (0,5-1,0 мгбілку) було додано 25 % трихлороцтової кислоти та відцентровано 30 хв при 3000 об/хв. Потім до осаду, що утворився додавали 2,2% 2,4-динітрофенілгідрозину та інкубували годину за температури 37 °С, після чого знов центрифугували 10 хв при 3000 об/хв. Отриманий осад промивали етилацетатом і розводили 3 мл 50 % розчином сечовини, додавали 1 краплю 7% розчину соляної кислоти та розводили дистильованою водою у 12 разів. Підготовлений розчин спектрофотометрували при довжині хвилі 274 нм та 363 нм. Таким чином, було визначено вміст альдегідфенілгідрозону (при довжині хвилі 274 нм) та кетонфенілгідрозону (при довжині хвилі 363 нм).

Другий метод - неферментативного ініціювання ліпопероксидації в фосфоліпідах яєчного жовтка. Основою методу полягає в оцінці інгібуючого впливу фізіологічно активних сполук на вільнорадикальне окислення, що активується в ліпопротеїнів курячого яйця під впливом іонів  $Fe^{2+}$ , що свідчить про процес неферментативного ліпопереокислення. Згідно методики [151, 152,

153], суспензія яєчних ліпопротеїдів (приготовлена з розрахунку: ліпопротеїни 0,15 М КСІ= 1:1) готувалась шляхом гомогенізації яєчного жовтка з фосфатним буфером (до рН 7,4). До 4 мл готової суспензії додавали 1 мл досліджуваних сполук ( $10^{-6}$ М). Реакцію вільнорадикального окислення ініціювали додаванням 1,0 мл 25 мМ розчину сульфату двовалентного заліза та подальшою інкубацією протягом 30 хвилин, яку зупиняли 10% розчином трихлороцтової кислоти і центрифугуванням. До надосадового розчину додавали тіобарбітурову кислоту, кип'ятили 60 хвилин, в результаті чого комплекс малонового діальдегіду забарвлювався та його вилучали додаванням н-бутанолу. Визначення концентрації отриманого діальдегіду проводили спектрофотометричним методом. Отримані результати концентрації малонового діальдегіду свідчили про інтенсивність проходження процесів вільнорадикального окислення. АОА обчислювали за наступною формулою (4):

$$\text{АОА} = \frac{(C_x - C_0)}{C_x} \times 100 (\%), \quad (4)$$

де:  $C_x$  – концентрація МДА в контрольних пробах;

$C_0$  – концентрація МДА в досліджуваних пробах.

В основі третього методу полягає оцінка антиоксидантної активності досліджуваних сполук з використанням моделі інгібування утворення супероксидрадикалу. Цей спосіб широко використовується в науковій практиці для скринінгових досліджень антиоксидантної активності *in vitro* [150, 151, 152]. Даний спосіб ґрунтується на інгібуванні фізіологічно активними сполуками активних форм кисню. Зокрема нами вивчався вплив досліджуваних сполук на швидкість реакції автоокислення адреналіну в адренохром (забарвлений продукт), що супроводжується накопиченням вільного аніон-радикалу кисню  $O_2^-$ .

Методика проведення наступна. У кювету спектрофотометра вносили 2 мл 0,15 М натрій-карбонатного буфера з додаванням розчину ЕДТА- $Na_2$ , до

якого додавали розчини вивчаємих сполук. Запуск реакції починали після введення у систему водного розчину адреналіну, який готували на бідистильованій воді, використовуючи тільки чистий кристалічний адреналін. Готовий розчин адреналіну доводили хлористоводневою кислотою до значення рН 2,25. Реакцію проводили при тривалості експозиції 3 хв, температурі - 35-36°C, та довжині хвилі 480 нм. Розрахунки проводили за наступною формулою (5):

$$AOA = \frac{(D_x - D_o)}{D_x} \times 100(\%), \quad (5)$$

де  $D_x$  – оптична густина, що відображає швидкість неінгібованого автоокислення адреналіну;

$D_o$  – оптична густина, що відображає швидкість автоокислення адреналіну в присутності досліджуваних речовин.

В якості препаратів порівняння були обрані широкозастосовувані антиоксиданти тіотриазолін та емоксипін.

Результати експериментальних досліджень показали, що як прпарати порівняння, так і досліджувавальні сполуки неоднозначно змінювали рівень МДА, супероксидрадикалу, альдегідфенілгідразонів та кетофенілгідразонів.

У результаті проведеного дослідження було виявлено (таблиці 3.5, 3.6), що найбільше серед солей похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу (сполуки 2.26, 2.28, 2.29, 2.30, 2.31) рівень МДА знижували натрію 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.28, на 73,33 %) та кальцію (2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.30, на 43,73 % відповідно). Таким чином, введення до молекули катіону натрію фенільного радикалу при четвертому положенні 1,2,4-триазольного ядра підвищує ступінь інгібуючої активності порівняно з іншими солями. Суттєво знижували рівень МДА також кетопохідні, серед яких 1-(3-фторфеніл)-2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-

1-он (сполука 2.20, на 56,80%). Порівнюючи з іншими кетопохідними, слід відмітити, що замінав четвертому положенні фенільного радикалу на атому гідрогену, а також наявність в третьому положенні при ароматичному заміснику атому флюору значно покращує показники. Помірно достовірно знижувала вміст МДА алкілпохідне 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол (сполука 2.5) на 24, 80 %.

Таблиця 3.5 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування неферментативного ініціювання ліпопероксидації у фосфоліпідах яєчного жовтка *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	МДА, ммоль/г суспензії	Антиоксидантна активність, %
Контрольна серія	0,375±0,001	
Сполука 2.5	0,282±0,001*	24,80
Сполука 2.9	0,306±0,001	18,40
Сполука 2.11	0,360±0,001	4,0
Сполука 2.13	0,336±0,001	10,40
Сполука 2.16	0,450±0,001	+20,0
Сполука 2.17	0,347±0,001	7,46
Сполука 2.20	0,162±0,001*	56,80
Сполука 2.21	0,360±0,001	4,0
Сполука 2.22	0,375±0,001	0
Сполука 2.24	0,383±0,001	+2,13
Сполука 2.25	0,380±0,001	+1,33
Сполука 2.26	0,340±0,001	9,33

Примітка. \*- достовірність між контрольною серією та дослідною ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.6 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування неферментативного ініціювання ліпопероксидації у фосфоліпідах яєчного жовтка *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	МДА, ммоль/г суспензії	Антиоксидантна активність, %
Контрольна серія	0,375±0,001	
Сполука 2,28	0,100±0,001*	73,33
Сполука 2,29	0,335±0,001	10,66
Сполука 2,30	0,211±0,001*	43,73
Сполука 2,31	0,380±0,001	+1,33
Сполука 2,33	0,470±0,001*	+25,33
Сполука 2,34	0,303±0,001	19,20
Сполука 2,35	0,397±0,001	+5,86
Сполука 2,37	0,720±0,001	+92,0
Сполука 2,38	0,370±0,001	1,33
Сполука 2,40	0,560±0,001*	+49,33
Сполука 2,41	0,311±0,001	17,06
Контрольна серія	0,254±0,001	
Тіотриазолін	0,069 ±0,002*	72,83
Емоксипін	0,091±0,002*	64,17

Примітка. \* - достовірність між контрольною серією та дослідною ( $p < 0,05$ ).

Похідне ацетамідів 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) ацетамід (сполука 2.34), алкілпохідне 3-(метилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол (сполука 2.9), 1-феніл-2((5-тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ол (сполука 2.41), алкілпохідне 3-(децилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол (сполука 2.13) та ізопропіл 2-((5-тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (сполука 2.33) виявляли помірну антиоксидантну активність у вигляді тенденції: зниження рівня МДА на 19,20



%; на 18,40 %; на 17,06 %; на 10,40 % та на 10,66 % відповідно. Виходячи з вищезазначеної тенденції можна зробити висновок, що введення до структури аміногрупи помірно впливає на показники активності. Препарати порівняння тіотриазолін та емоксипін значно знижували рівень МДА при інгібуванні неферментативного ініціювання ліпопероксидації у фосфоліпідах яєчного жовтка *in vitro* на 72,83 % та 64,17 % відповідно.

Таким чином, деякі похідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу проявляли істотну антиоксидантну активність. Причому сполука 2.28 була найактивнішою (зниження рівня МДА на 73,33 %), що перевищує антиоксидантну активність тіотриазоліну та емоксипіну. Водночас емоксипін перевищував по цій силі фармакодинамічного ефекту найбільш активні сполуки 2.20 та сполуку 2.30.

Серед досліджених речовини алкілпохідне (сполука 2.5), кетопохідне (сполука 2.20) та солі (сполука 2.28 та 2.30) S-похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу мали неоднаковий вплив на рівень інгібування супероксидрадикалу *in vitro* (таблиці 3.7 та 3.8).

Так, суттєву антиоксидантну активність знов проявляли сполуки 2.28 натрію 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (зниження на 72,0 %) та сполука 2.20 1-(3-фторфеніл)-2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (зниження на 56,0 %). Виразно знижували рівень інгібування супероксидрадикалу *in vitro* 3-(пентилтіо)-4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол (сполука 2.5) (на 40,0 %) та кльцію 2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (на 32,0 %). Антиоксидантна активність референс-препаратів тіотриазоліну та емоксипіну була суттєвою (зниження інгібування супероксидрадикалу на 71,66 % та 62,5 % відповідно).

Таблиця 3.7 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування супероксидрадикалу *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	Оптична щільність супероксидрадикалу, $\Delta$	Антиоксидантна активність, %
Контрольна серія	0,25±0,001	
Сполука 2.5	0,15±0,001*	40,0
Сполука 2.9	0,25±0,001	0
Сполука 2.11	0,25±0,001	0
Сполука 2.13	0,25±0,001	0
Сполука 2.16	0,33±0,001	+32,0
Сполука 2.17	0,25±0,001	0
Сполука 2.20	0,11±0,001*	56,0
Сполука 2.21	0,25±0,001	0
Сполука 2.22	0,25±0,001	0
Сполука 2.24	0,27±0,001	+8,0
Сполука 2.25	0,25±0,001	0
Сполука 2.26	0,27±0,001	+8,0

Примітка. \* - достовірність між контрольною серією та дослідно ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 3.8 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*-1,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування супероксидрадикалу *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	Оптична щільність супероксидрадикалу, $\Delta$	Антиоксидантна активність, %
Контрольна серія	0,25±0,001	
Сполука 2,28	0,070±0,001*	72,0
Сполука 2,29	0,25±0,001	0
Сполука 2,30	0,17±0,001*	32,0
Сполука 2,31	0,25±0,001	0
Сполука 2,33	0,28±0,001	+12,0
Сполука 2,34	0,25±0,001	0
Сполука 2,35	0,25±0,001	0
Сполука 2,37	0,35±0,001*	+40,0
Сполука 2,38	0,28±0,001	+12,0
Сполука 2,40	0,40±0,001*	+60,0
Сполука 2,41	0,25±0,001	0
Контрольна серія	0,24±0,001	
Тіотриазолін	0,068 ±0,001*	71,66
Емоксипін	0,090±0,001*	62,5

Примітка: \* - достовірність між контрольною серією та дослідною ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, найбільш істотну антиоксидантну активність мали сполука 2.28 та сполука 2.20. Водночас тіотриазолін поступався по силі цього ефекту сполуці 2.28, а емоксипін перевершував сполку 2.20, сполуку 2.5 та сполуку 2.30.

Результати дослідження впливу синтетичних речовин серед похідних (5-тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу на інгібування окисної модифікації білку *in vitro* виявили (таблиці 3.9 та 3.10), що суттєву антиоксидантну активність мала знов ж таки сіль натрію 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.28) (зниження рівня альдегідфенілгідрозонів (АФГ) на 49,87 %). Також, істотно знижували рівень АФГ сіль кальцію (2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.30) (на 44,90 %) та кетопохідне 1-(3-фторфеніл)-2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (сполука 2.20) (на 44,82 %). Водночас препарат порівняння емоксипін знижував найбільш значно рівень АФГ (на 50,51 %).

Рівень кетонфенілгідрозонів (КФГ) достовірно істотно знижувало алкілпохідне 3-(метилтіо)-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол (сполука 2.9) (на 39,38 %) (таблиці 3.9 та 3.10). Помірною антиоксидантною активністю володіла сіль кальцію (2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.30) (зниження вмісту КФГ на 30,97 %). Незначне зниження цього ж показника у вигляді тенденції спостерігалось у кетопохідного 1-(3-фторфеніл)-2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (сполука 2.20) (на 14,53 %) та солі натрію 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо) етаноат (сполука 2.28) (на 14,34 %). Класичний антиоксидант емоксипін знижував рівень кетонфенілгідрозонів на 21,81 %.

Таблиця 3.9 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування окисної модифікації білку *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	Довжина хвилі 270 нм		Довжина хвилі 363 нм	
	E <sub>1</sub>	Антиоксидантна активність, %	E <sub>2</sub>	Антиоксидантна активність, %
Контрольна серія	3,737±0,001		5,230±0,001	
Сполука 2.5	5,082±0,001*	+35,99	8,890±0,001*	+69,98
Сполука 2.9	4,006±0,001	+7,19	3,170±0,001*	39,38
Сполука 2.11	3,976±0,001	+6,39	10,730±0,001*	+105,16
Сполука 2.13	3,836±0,001	+2,64	6,027±0,001*	+15,23
Сполука 2.16	4,015±0,001	+7,43	19,450±0,001*	+27,89
Сполука 2.17	3,847±0,001	+2,94	6,910±0,001*	+32,12
Сполука 2.20	2,062±0,001*	44,82	4,470±0,001	14,53
Сполука 2.21	3,856±0,001	+3,18	8,320±0,001	+59,08
Сполука 2.22	3,795±0,001	+1,55	6,130±0,001	+17,20
Сполука 2.24	3,683±0,001	1,44	5,3700±0,001	+2,67
Сполука 2.25	3,687±0,001	1,33	5,460±0,001	+4,39
Сполука 2.26	3,734±0,001	0,08	6,130±0,001	+17,20

Примітка: \* - достовірність між контрольною серією та дослідною (p < 0,05).

Таблиця 3.10 - Вплив похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу ( $10^{-6}$ М) на інгібування окисної модифікації білку *in vitro* (n=9)

№ сполуки, серії	Довжина хвилі 270 нм		Довжина хвилі 363 нм	
	E <sub>1</sub>	Антиокси- дантна актив- ність, %	E <sub>2</sub>	Антиокси- дантна актив- ність, %
Контрольна серія	3,737±0,001		5,230±0,001	
Сполука 2,28	1,873±0,001*	49,87	4,480±0,001	14,34
Сполука 2,29	3,835±0,001	+2,62	7,580±0,001	+44,93
Сполука 2,30	2,059±0,001*	44,90	3,610±0,001*	30,97
Сполука 2,31	3,985±0,001	6,63	13,640±0,001*	+160,80
Сполука 2,33	5,659±0,001*	+51,43	7,430±0,001*	+42,06
Сполука 2,34	3,803±0,001	+1,76	5,660±0,001	+8,22
Сполука 2,35	3,971±0,001	+6,26	8,870±0,001*	+69,59
Сполука 2,37	6,766±0,001*	+81,05	5,510±0,001	+5,35
Сполука 2,38	3,807±0,001	+1,87	6,260±0,001*	+19,69
Сполука 2,40	6,766±0,001*	+81,05	5,490±0,001	+4,97
Сполука 2,41	3,702±0,001	0,93	5,600±0,001	+7,07
Контрольна серія	11,272±0,001		18,049±0,001	
Емоксипін	5,578 ±0,667*	50,51	14,111 ±0,220*	21,81

Примітка. \* - достовірність між контрольною серією та дослідною (p<0,05).

Таким чином, даючи оцінку впливу похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу на інгібування окисної модифікації білків *in vitro*, слід зазначити їх високу ефективність. Найбільш виразна активність була властива сполуці 2.20 та сполуці 2.30 та 2.28 які не поступалися по силі цього фармакодинамічного ефекту референс-препарату емоксипіну.

За результатами трьох методів скринінгових досліджень антиоксидантної активності *in vitro* слід встановити певні закономірності «будова-дія». Згідно результатів, серед алкілпохідних прямої залежності між подовженням алькільного замісника за атомом сульфуру не спостерігається (сполуки 2.9, 2.11, 2.13), проте введення фенільного радикалу за четвертим положенням триазольного кільця (сполука 2.5) підвищує активність майже вдвічі. 1-(3-Фторфеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (сполука 2.20) серед інших кетопохідних виявляє найбільший вплив на інгібування накопичення кінцевих продуктів ВРО та на процес гальмування окислення адренохрому, цілком імовірно, що це пов'язано зі зміною положення атому флюору при ароматичному заміснику (з другого в третє). Натомість введення метоксигрупи (сполука 2.16) значно збільшує ефективність щодо зменшення рівню КФГ. Серед досліджуваних кислот (2.24 та 2.25) не виявлено високих показників активності у порівнянні до референс препаратів, проте ситуація змінюється при отриманні відповідних солей. Встановлено, що натрій 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.28) та кальцій 2-((5-(тіофен-3-іметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (сполука 2.30) продемонстрували найбільшу ефективність за всіма методами *in vitro*. Слід зазначити, що введення до молекули додаткового фрагменту тіофену (сполука 2.22) призводило до суттєвого зниження активності за трьома моделями ініціювання СРО.

Оцінюючи загальні отримані результати скринінгових досліджень в цілому, можна констатувати, що по всіх трьох скринінговим моделям порядок складності за ефективністю такий: «сполука лідер» - сполука 2.28, наступні сполука 2.20 та сполука 2.30. Водночас класичний антиоксидант емоксипін поступався сполуці-лідеру 2.28 та переважав сполуку 2.20 та сполуку 2.30.

### 3.3. Вивчення гострої токсичності 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат натрію

Прискорений розвиток хімічної промисловості пояснюється прагненням компенсувати нестачу природних матеріалів, які застосовуються традиційно. Також стрімкий розвиток пояснюється необхідністю створення нових синтетичних речовин, що перевершують природні сполуки за споживчими властивостями або відрізняються ширшим спектром галузей застосування. В сьогоденні, цілком природних умовах, безперервне зростання населення має свою зворотню сторону, а саме збільшення ступеня негативного впливу на довкілля. В даний час значна частина людства тією чи іншою мірою схильна до дії різних хімічних сполук. Вони проникають в організм з повітрям, водою і продуктами харчування та звісно у виді ліків. Очевидним наслідком такого впливу стало збільшення рівня захворюваності, особливо пов'язаної з медикаментозним отруєнням, порушенням імунного статусу та інше. Тому найважливішою вимогою до знову синтезованих сполук є їх незначна, прийнятна ступінь токсичності.

Дослідження гострої токсичності є невід'ємним етапом доклінічних досліджень будь-якої нової біологічно активної сполуки. Слід зауважити, що саме цей етап дослідження має вирішальне значення стосовно можливості подальшого використання фармакологічно активної речовини в якості лікарського засобу. Також даний показник допомагає визначитись з початковою дозою для клінічних досліджень та встановити діапазон потенційно безпечних доз. Отримані дані допоможуть визначитися зі спрямованістю нових хімічних синтезів, поповнити відповідні бібліотеки *in silico*, а також розкрити безліч інших принципово важливих параметрів, які характеризують взаємодію в системі сполука-живий організм.

Беручи до уваги роботи науковців нашого університету та зарубіжних вчених можна дійти висновків, що похідні 1,2,4-триазолу є малотоксичними або практично не токсичними сполуками [154, 155]. Цей факт, без сумніву є



переконливим при виборі «молекулярного каркасу» для отримання нових перспективних гетероциклічних сполук. На сьогоднішній день отримано чималу кількість зазначених похідних які використовуються в чисельних галузях промисловості, фармації та ветеринарії. Але пошук триває і надалі, адже наука прогресує і навпинно йде уперед.

Традиційно виявлення ступеня токсичності проводять експериментально на лабораторних тваринах. Токсикологічні дослідження – тривалий процес, альтернативою якому може бути позаекспериментальний скринінг з використанням експертних систем. Дані системи базуються на виявлених раніше кількісних закономірностях структура-токсичність для вже відомих сполук і дозволяють прогнозувати токсичні властивості для нових, ще не синтезованих хімічних сполук. Враховуючи усі можливості сьогодення та біотичні норми нами було проаналізовано ряд сполук, та обрано одну для вивчення гострої токсичності *in vivo*.

Дослідження проводили відповідно до національних «Загально етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1985), а також згідно з директивою Ради ЄС та з дотриманням біоетичних вимог (Протокол комісії з біоетики № 11 від 26 листопада 2020р).

Для встановлення рівнів доз було проведено комп'ютерне прогнозування гострої токсичності з використанням сервісу ProTox-II. Зазначений комп'ютерний сервіс призначений для побудови моделей кількісних залежностей між структурою та різними властивостями органічних молекул. При виконанні прогнозу величини LD50 для аналізованого з'єднання здійснюється оцінка його потрапляння в область застосування QSAR моделі. Комп'ютерний прогноз гострої токсичності було здійснено за структурною формулою в інтернет-версії зазначеного сервісу. Згідно отриманих даних online-прогнозування для тестованої «сполуки лідеру» середня летальна доза LD 50 має такі значення: при внутрішньобрюшиному введенні - 681,6 мг/кг,

внутрішньовенно - 183,3 мг/кг, перорально - 752,7 мг/кг та підшкірно - 468,7 мг/кг.

Дослідження гострої токсичності водорозчинної сполуки було проведено згідно рекомендацій Стефанова О. В. [156]. Визначення параметрів гострої токсичності (LD50) розраховували за методом Кербера в модифікації А.О. Лойта та М.Ф. Савченкова.

В експериментальному дослідженні було задіяно тридцять шість білих нелінійних щурів, яких було промарковано, зважено та рівномірно розділено на шість груп. Вага щурів коливалась в межах від найменшого значення 197 до найбільшого 390 г. Перша група була контрольна, інші п'ять – рівні доз: 200 мг/кг, 500 мг/кг, 700 мг/кг, 1500 мг/кг та 3000 мг/кг. Водний розчин досліджуваної сполуки вводили тваринам натще внутрішньочеревинно.

У період проведення дослідів підтримували умови годівлі та утримання, прийом води не обмежували. Спостереження за щурами проводили протягом 14 діб з моменту введення речовини. Під час спостереження враховували їх поведінку, загальний стан, клінічну картину отруєння, відношення до корму, стан вовняного покриву і видимих слизових оболонок. Контроль маси тіла проводили в день введення речовини, а також на 3, 7 та 14 добу. За результатами дослідження встановлено, що сполука 2.28 при внутрішньочеревинному введенні викликає загибель щурів.

Під час проведення експерименту було виявлено, що найбільша доза 3000 мг/кг викликала загибель усіх щурів в протягом двох годин після введення. При клінічних спостереженнях за тваринами відмічалися черевне дихання, сонливість, втрата больового рефлексу, нетипові способи пересування (судомність), прострація. Загибель тварин супроводжувалась тоніко-клонічними судомами тривалістю до однієї хвилини.

Доза 1500 мг/кг також викликала пригнічення загального стану щурів, а також зниження апетиту та рухової активності. У тварин цієї групи спостерігалися діафрагмальне дихання та прострація (положення на животі).

Також було виявлено міоз, тобто звуження зіниць незалежно від наявності світла. В цій групі загинуло п'ять осіб з шести, при загибелі яких так само спостерігались судоми.

Серед тварин, які отримали дозу 700 мг/кг в перші години після введення загинула одна тварина, під час загибелі якої судоми не спостерігались. Протягом першої доби спостереження щури були пригнічені та малорухомі, апетит був знижений.

В результаті спостереження за тваринами, які отримали дозу 500 мг/кг та 200 мг/кг ознак інтоксикацій, а також загибель тварин не відмічалася. Загальний стан щурів був задовільним, змін в поведінці не виявлено, апетит та спрага щурів не змінювалися, судоми не спостерігалися.

На підставі отриманих даних в ході експременту було розраховано середньолетальну дозу за допомогою метода Кербера (таблиця 3.11).

Таблиця 3.11 - Результати токсичності

Доза мг/кг	n <sub>1</sub> живі шт	n <sub>2</sub> загинуло шт	n шт	e <sub>1</sub> інтервал мг/кг	n * e <sub>1</sub>	LD 100 мг/кг	LD 50 мг/кг
200	6	0	0	200	0	3000	1125
500	6	0	0	300	0		
700	4	2	1	200	200		
1500	1	5	3,5	800	2800		
3000	0	6	5,5	1500	8250		

Згідно розрахунків сполука 2.28 відноситься до V класу токсичності, тобто практично нетоксичні, оскільки LD<sub>50</sub> дорівнює 1125 мг/кг, що в межах 1001-3000 мг/кг при внутрішньочеревинному введенні (6).

$$LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum n \times e}{n} \quad (6)$$

Для отримання повної загальної картини інтоксикації піддослідних тварин, згідно встановлених методик проведення досліджень щодо визначення гострої токсичності Стефанова О.В. [156], спостереження та зважування щурів виконували на 3, 7 та 14 добу. Динаміку маси щурів, які вижили, наведено в таблиці 3.12. Маса тіла щурів найбільш вагомо зменшувалася при дозі 700 мг/кг на 3, 7 та 14 добу (на 20,45 %, 17,04 % та 16,6 % відносно вихідних даних). В меншій мірі зміни спостерігалися при дозі 500 мг/кг у всі дні спостереження. В групі щурів, яким було введено дозу 200 мг/кг маса тіла щурів змінювалася не суттєво, а саме в межах 1 % відносно вихідних даних.

Таблиця 3.12 - Динаміка маси (г) тіла щурів тіла,  $M \pm m$

Групи тварин	Термін спостереження			
	Вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактний контроль	273±20,83	274±20,38	274±20,26	274±20,64
200 мг/кг	281±13,91	276±14,81*	278±14,89*	279±15,13
500 мг/кг	287,1±52,9	281±55,0*	284±52,68*	284±53,12*
700 мг/кг	264±32,5	210±20,07	219±20,30	220±21,07
1500 мг/кг	271±32,5	-	-	-
3000 мг/кг		-	-	-

Примітка. \* -  $p < 0,05$ , достовірність по відношенню до вихідних даних.

Після загибелі тварин, було проведено їх розтин з подальшим описом внутрішніх органів, а також визначення відносної маси органів: серця, печінки, селезінки, легенів та нирок. Слід відзначити, що у щурів, яким було введено максимальну концентрацію досліджуємого розчину (3000 мг/кг) відмічались зміни в печінці, серці, нирках та селезінці. На печінці були наявні

ознаки розвитку цирозу, серце відзначалося наявним запаленням, селезінка – збільшена у розмірах, нирки також мали видимі зміни. Навідмінно від попередньої групи тварин, в групі якій вводили дозу 1500 мг/кг та 700 мг/кг було відмічено не значні зміни органів. В них не відмічалось гіпо- чи гіпертрофії органів та ознак запалення. Поверхня легень мала однорідну блідо-рожеву забарвленість. Слизова оболонка шлунку гладенька з рожевим забарвленням, без ознак подразнення. Поверхня печінки гладка, однорідна, темно-червона. Поверхня селезінки однорідного темно-вишневого відтінку. Консистенція селезінки помірно щільна. Нирки без видимих змін, поверхня органу гладка, однорідного коричнювато-сіруватого кольору.

Таким чином, згідно результатів досліджувана сполука 2.28 (натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат) відноситься до V класу токсичності (практично не токсичні), отримана величина LD50 становить 1125 мг/кг. Цей показник підтверджує перспективність подальшого вивчення зазначеної сполуки.

#### **3.4. Дослідження гіполіпідемічних ефектів натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат при експериментальній гіперліпідемії**

Розширення явлень про фармакобіохімічні механізми гіполіпідемічних засобів створюють основу для певних умов їх оптимального застосування та раціонального комбінування у фармакотерапії атеросклерозу.

Більшість вчених мають думку про те, що при атерогенезі головне значення мають розлади метаболізму та транспорту ліпідів та ЛП. В цьому сенсі практично всі антиатеросклеротичні засоби по суті є гіполіпопротеїдемичними. Цей ефект сучасних лікарських засобів оснований гальмуванням утворення атерогенних ліпопротеїдів (статици, фібрати, нікотинова кислота), що вказує на певні можливості фармакотерапії атеросклерозу. Проте більшість лікарських препаратів по критеріям

ефективності та безпечності не відповідають сучасним вимогам. Саме ці обставини обумовлюють доцільність та необхідність проведення досліджень по порівняльній експериментальній оцінці схем та методів лікування атеросклерозу.

В зв'язку з цим проведені експериментальні дослідження впливу широко застосовуваного антиатеросклеротичного засобу та нової синтезованої сполуки на вузлові патобіохімічні процеси при гіполіпідемії.

Досліджувана сполука 2.28 та аторвастатин (лікарський препарат порівняння) вводили у лікувально-профілактичному режимі (паралельно з формуванням гіперліпідемії) щурам. Вивчення біохімічних показників проводилося на фоні гіполіпідемічних ефектів лікарських засобів, які контролюються біохімічними критеріями (ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ, ХС ЛПДНЩ, ХС ЛПВЩ, ХІА, відношення ЗХС/ХС ЛПВЩ). Відношення було розраховано для більш повної оцінки атерогенних змін за умов експерименту, зміна цих показників свідчить про ризик розвитку та прогресування атеросклерозу.

На підставі проведеного первинного фармакологічного скринінгу для доклінічного вивчення відібрано одну речовину – сполуку 2.28 (натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат), що виявив найбільш суттєву антиоксидантну дію. Для доклінічного вивчення субстанція даної речовини отримана в умовах лабораторного синтезу на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Парченко В.В.

Дослідження специфічної фармакологічної активності було проведено на 20 білих нелінійних щурах масою 160-310 г згідно з біоетичними вимогами (Протокол комісії з біоетики № 11 від 26 листопада 2020 р). Щурів одержано з розплідника ДУ «Інституту фармакології і токсикології НАМН України». Тварини утримувались в стандартних умовах, на збалансованому харчуванні

та питному режимі, рекомендованого для даного виду тварин, при природній зміні дня і ночі. Всі досліджні процедури здійснювали згідно з «Положенням про використання тварин в біомедичних дослідженнях», «Правила доклінічної оцінки безпеки фармакологічних препаратів (GLP), методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України. Евтаназію тварин проводили згідно з «Методичними рекомендаціями про виведення тварин з експерименту». При роботі з журналами дотримувалися «Загальних етичних принципів експерименту на тваринах», що узгоджені з положеннями «Європейські конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей», ухвали Першого національного конгресу з біоетики та вимог комісії з біоетики Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

Вивчаєму речовину вводили внутрішньошлунково у вигляді водної суспензії (сполука суспендувалася з 0,3-0,7 мл дистильованої води, стабілізувалася твіном-80) в дозі 1/10 від LD<sub>50</sub>, відповідно даним, отриманим при вивченні гострої токсичності. Досліджували сироватку крові і серце. На шостий день після наркотизації етиловим ефіром здійснювали забір крові з біфуракції аорти і виділяли серце.

Формували 4 групи тварин: 1) інтактна група; 2) контрольна патологія (ХС + вітамін D<sub>2</sub>, введення суміші ХС з 0,125 % олійним розчином ергокальциферолу (вітаміну D<sub>2</sub>)); 3) контрольна патологія + еталонний препарат, в якості препарату порівняння був використаний аторвастатин (таблетки 10 мг №30, «PfizerInc», Франція) в дозі 10 мг/кг; 4) контрольна патологія + сполука 2.28.

За методом Yousufzai S. Y. K., Siddiqi M. експериментальна гіперліпідемія («вітамінна» модель) відтворювалася шляхом внутрішньочеревинного введення атерогенної суміші (ХС з 0,125 % олійним розчином ергокальциферолу в дозі 350000 ОД/кг (0,8 мл/кг) дорослим щурам-самцям протягом 5 діб. Досліджувану сполуку та аторвастатин вводили у вигляді

водної суспензії тим же шляхом один раз на добу через 1 годину після введення атерогенної суміші під час всього періоду проведення експерименту.

Кров центрифугували 20 хвилин при 1500 об/хв на центрифугу Eppendorfcentrifuge 5810 R (Німечина). Отриману сироватку крові розливали по 0,5 мл по пробірках Eppendorf та зберігали в морозильній камері NZ – 280/75 A при  $-40^{\circ}\text{C}$ . В подальшому зразки розморожували та використовували для біохімічних досліджень – 0,2 мл, для імуноферментних досліджень – 0,1 мл.

Для дослідження порушень ліпідного обміну були обрані сучасні біохімічні показники, які оцінювали по рівню ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ, ХС ЛПВЩ колориметричним, ензиматичним методом діагностичними наборами (Cormay, Польща), ммоль/л на біохімічному аналізаторі ACCENT-200, Польща. Рівень ХС ЛПДНЩ визначали по формулі:  $\text{ТГ}/5 \times 2,29$ , ммоль/л, було розраховано відношення ЗХС/ХС ЛПВЩ та відношення ХС ЛПВЩ/ХС ЛПНЩ. Також використовувався інтегральний показники ХІА, який визначався по О.М. Клімову за формулою (7):

$$\text{ХІА} = \frac{\text{ЗХС} - \text{ХС ЛПВЩ}}{\text{ХС ЛПВЩ}} \quad (7)$$

При визначенні ЗХС його ефіри гідралізуються холестеринестеразою до вільних жирни холестеринестераза єю холестериноксидази окислюються киснем повітря до холестину. Перекис водню, який утворюється в присутності пероксидази окислює речовини – індикатори з утворенням забарвлених сполук. Інтенсивність забарвлення цих сполук пропорційно вмісту ХС вдосліджуваному зразку (рисунок 3.10).

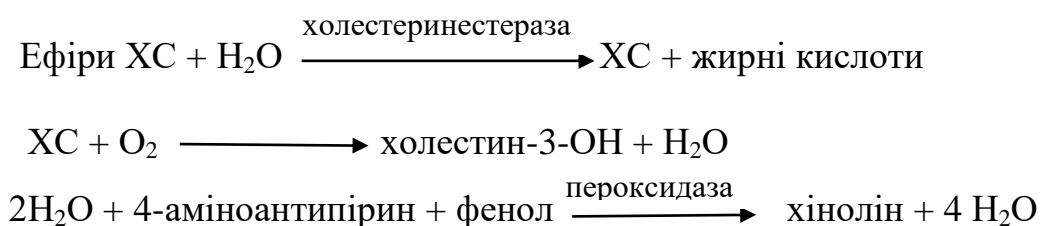


Рисунок 3.10 - Кількісне визначення рівня ЗХС у сироватці крові.



Для визначення рівня ТГ використовували колориметричний, ензиматичний метод з гліцерофосфорою оксидазою. Тригліцериди розщеплялися ліпазою до жирних кислот та гліцерину, який за участю гліцеролокінази та АТФ фосфорілюється з утворенням гліцерил-3-фосфату. Гліцерил-3-фосфат в присутності гліцерофосфатокінази окислюється киснем повітря з утворенням фододіоксиацетону та гідроген пероксиду, який водночас окислює барвник з утворенням забарвленого комплексу. Інтенсивність забарвлення останнього пропорційна концентрації ТГ в досліджуваному зразку (рисунок 3.11).

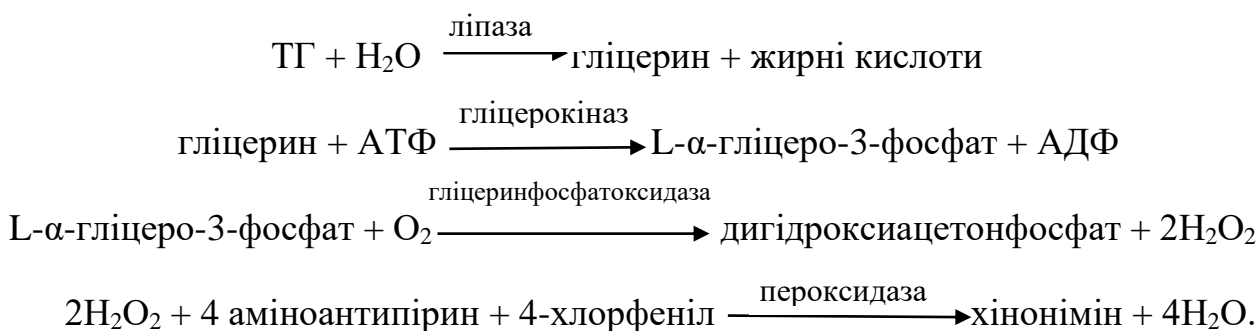


Рисунок 3.11 - Визначення рівня ТГ у сироватці крові.

Для визначення рівня ХС ЛПВЩ спочатку за допомогою натрію вольфрамату осаджували ЛПНЩ та ЛПДНЩ, а потім визначали ХС ЛПВЩ ферментативним методом (рисунок 3.12)

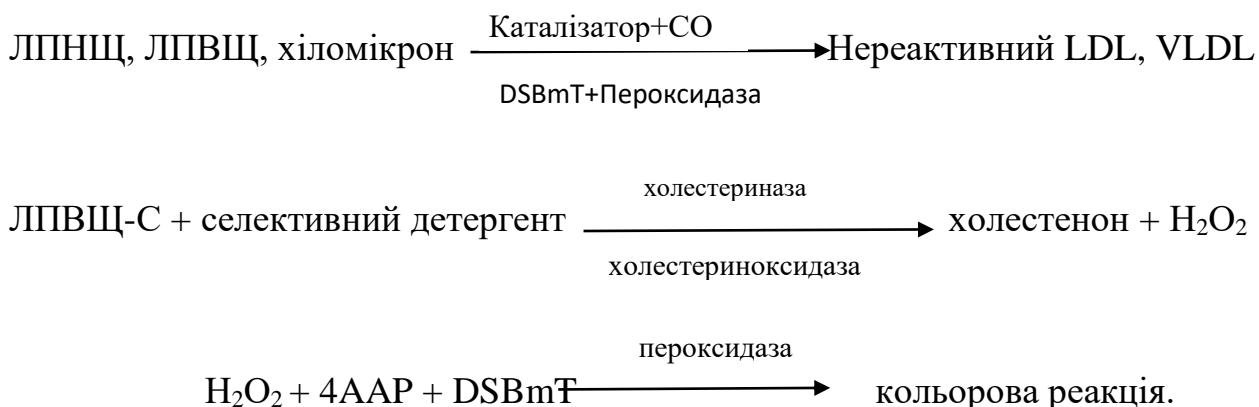


Рисунок 3.12 - Механізм визначення рівня ХС ЛПВЩ у сироватці крові.

Визначення рівня ХС ЛПНЩ проводили за допомогою набору гомогенного методу прямого вимірювання концентрації ХС ЛПВЩ у сироватці крові, без необхідності будь-якої попередньої обробки або центрифугування.

З метою оцінки адекватності вибраних літературних даних експериментальних моделей та критеріїв атеросклеротичного пошкодження проведено дослідження динаміки змін патобіохімічних показників при моделюванні цієї патології.

При моделюванні гіперліпідемії найбільш суттєво підвищувався рівень ТГ (на 88,73 %) та ХС ЛПДНЩ (на 86,0 %) (таблиця 3.13). Водночас значно підвищувався вміст ЗХС та ХС ЛПНЩ (на 44,47 % та 53,48 %) відповідно). За таких обставин рівень ХС ЛПВЩ навпаки помірно знижувався (на 35,64 %) (таблиця 3.14). Про адекватність «вітамінної» моделі гіперліпідемії свідчить також зміна інтегральних показників ліпідного обміну. Так, рівень ХІА та відношення ЗХС/ ХСЛПВЩ підвищувався суттєво (на 387,51 % та 119,97 %, відповідно), що вказує на суттєві атеросклеротичні зміни у щурів. Водночас відношення ХС ЛПВЩ/ХС ЛПНЩ знижувалося достовірно на 58,92 %.

Таблиця 3.13 - Вплив сполуки 2.28 на показники ліпідного обміну у сироватці крові щурів з гіперліпідемією (n=5)

Сполука, група	ЗХС, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	ХС ЛПНЩ, ммоль/л	ХС ЛПДНЩ, ммоль/л
Інтактна група, М±m	1,59± 0,06	0,68± 0,07	0,17± 0,02	0,30 ± 0,03
Контрольна група, М±m, Δ %, p	2,30 ± 0,16 + 44,47 p < 0,05	1,26± 0,05 +86,73 p < 0,05	0,26 ± 0,01 +53,49 p <0,05	0,55 ± 0,03 +86,0 p <0,05
Аторваста-тин, М±m, Δ %	1,48 ± 0,07* -35,57 p < 0,05	0,89 ± 0,04* -29,38 p < 0,05	0,13 ± 0,01* -50,74 p > 0,05	0,41 ± 0,02* -27,24 p < 0,05
Сполука 2.28, М±m, Δ %	1,23 ± 0,04 <sup>*/**</sup> -46,52 p < 0,05	0,75 ± 0,03 <sup>*/**</sup> -40,44 p > 0,05	0,11± 0,02* -57,46 p > 0,05	0,33± 0,01 <sup>*/**</sup> -40,54 p > 0,05

Примітка. p < – достовірність по відношенню до інтактної групи; \* - достовірність по відношенню до контрольної групи; \*\* - достовірність по відношенню до аторвастатину.

Таблиця 3.14 - Показники ліпідного обміну у сироватці крові щурів з експериментальною гіперліпідемією(n=5)

Сполука, група	ХС ЛПВЩ, ммоль/л	ХІА	ЗХС / ХС ЛПВЩ	ХС ЛПВЩ/ ХС ЛПНЩ
Інтактна група, М±m	1,10± 0,03	0,45± 0,44	1,45± 0,04	6,83± 0,60
Контрольна група, М±m, Δ % р	0,70 ± 0,03 -35,64 р <0,05	2,18 ± 0,12 + 387,51 р<0,05	3,18 ± 0,12 +119,97 р<0,05	2,82 ± 0,23 - 58,92 р<0,05
Аторвастатин, М±m, Δ %	1,05 ± 0,09* +47,74 р >0,05	0,47±0,11* -78,54 р >0,05	1,47 ± 0,11* -53,89 р >0,05	8,11± 0,62* +187,89 р <0,05
Сполука 2.28, М±m, Δ %	0,90± 0,03* +26,84 р <0,05	0,38 ± 0,07* -82,64 р >0,05	1,38± 0,07* -56,70 р >0,05	9,32±1,40* + 23,49 р <0,05

Примітка. Р< 0,05 – достовірність по відношенню до інтактної групи; \* – достовірність по відношенню до контрольної групи; \*\* - достовірність по відношенню до аторвастатину.

Таким чином, патологія що змодульована відтворювала основні ознаки атеросклерозу – гіперхолестеринемію, гіпертригліцеридемію, зниження вмісту ХС ЛПВЩ, наростання розрахункових показників ХІА, відношення ЗХС/ХС ЛПВЩ та зниження відношення ХС ЛПВЩ/ХС ЛПНЩ.

Було проведено порівняльне вивчення в експерименті фармакодинамічної дії досліджуваної сполуки 2.28 (2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат натрію) та антиатеросклеротичного препарату-порівняння аторвастатину. Результати експериментальних досліджень показали, що як еталонний антиатеросклеротичний засіб, так і вивчаєма сполука 2.28 неоднозначно змінювали досліджувані показники

ліпідного обміну, тобто у різній ступені знижували патологічно підвищений рівень ЗХС, ТГ, ХСЛПНЩ, ХСЛПДНЩ та підвищували вміст ХСЛПВЩ.

Так, при введенні сполуки 2.28 спостерігалось найбільш суттєве зниження рівня ХС ЛПНЩ (на 57,46 %). Водночас вміст ЗХС знижувався також значно (на 46,52 %). Однаково спостерігалось виразне зниження рівня ТГ та ХСЛПДНЩ (на 40,44 % та 40,54 % відповідно). Водночас сполука 2.28 підвищувала достовірно рівень ХСЛПВЩ (на 26,84 %). Ефективність найбільш активної досліджуваної сполуки підтверджувалась зміною інтегральних показників – суттєве зниження рівня ХІА та відношення ЗХС/ХСЛПВЩ (на 82,64 % та 56,70 %) та одночасне значне збільшення відношення ХСЛПВЩ/ХС ЛПНЩ (на 230,49 %).

Введення щурам аторвастатину на тлі експериментальної гіперліпідемії супроводжувалося достовірним зниженням рівня ЗХС та ТГ (на 35,57 % та 29,38 % відповідно). Водночас найбільш суттєво при цьому знижувався вміст ХС ЛПНЩ (на 50,74 %) та помірно рівень ХСЛПДНЩ (на 27,24 %). Рівень ХСЛПВЩ підвищувався значно при введенні аторвастатину на 47,74 %. За такої умови рівень ХІА та відношення ЗХС/ХСЛПВЩ знижувався суттєво на 78,54 % та 53,89 %, а рівень відношення ХСЛПВЩ/ХСЛПНЩ підвищувався виразно на 187,89 %.

Таким чином, порівняльне вивчення гіполіпідемічної активності сполуки 2.28 показало, що вона володіє гіпохолестеринемічною та гіпотригліцеридемічною дією, підвищує рівень ХСЛПВЩ та не поступався препарату порівняння аторвастатину по досліджуваним показникам, а по рівню ЗХС, ТГ, ХС ЛПНЩ перевищувала антиатеросклеротичний засіб аторвастатин.

Проведені дослідження підтверджують уявлення про патогенез атеросклерозу, коли велике значення має дисбаланс між величиною транспорту ХС в судинну стінку, яка обумовлюється апо-В-вмісними ЛП та

інтенсивністю відтоку надлишку ХС, забезпечуваного апо-А-вмісними ЛПВЩ.

### **3.5 Дослідження плейотропних ефектів натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату при експериментальній гіперліпідемії**

Стосовно фармакоterapiї атерогенезу поняття «плейотропності» означає вплив сполуки на кілька мішенів, які запускають різні біохімічні процеси в організмі. Серед плейотропних ефектів статинів відомі такі як вплив на ендотелій судин – судинорозширюючий (підсилення експресії NO-синтетази, збільшення синтезу NO, вазоділяція), антитромботичний – зниження тромбогенності крові, вплив на атерогенез – протизапальний ефект, покращення скорочувальної функції міокарду, попередження розвитку цукрового діабету 2 типу, імуномодельючий та інші. Останніми роками вивчається зв'язок між розвитком дисліпідемії та поліморфізмом гена eNOS, який є генетичним предиктором дисфункції ендотелію [157, 158]. Науковцями підтверджено гіпотезу щодо первинності ендотеліальної дисфункції по відношенню до структури дисліпідемії, тобто формування зазначеного патологічно стану формується «на вимогу» [159]. Також, аналіз літератури свідчить, що основу ендотеліальної дисфункції складає зниження продукції та біодоступність NO на фоні зниження експресії eNOS, а також пригнічення еквівалентів тіол-дисульфідної системи з одночасним підвищенням рівнів цитотоксичних форм NO і супероксиданіону [160, 161, 162]. Слід зазначити, що серед похідних 1,2,4-триазолу є перспективні сполуки для яких була встановлено ендотеліопротекторна активність [163].

Слід зазначити, що запальний процес спостерігається на всіх стадіях розвитку атеросклеротичного пошкодження артеріальної стінки. С-реактивний білок (СРБ) є найбільш чутливим показником запалення судинної стінки та як медіатор атеротромбозу. Про пряме значення СРБ у патогенезі атеросклерозу свідчить посилення ним експресії інгібітору активатора

плазміногену-1 ендотеліальних клітин, зниження синтезу NO, участь у синтезі пінистих клітин (клітини макрофагів, які містять ліпідні краплі) за рахунок захоплення ЛПНЩ макрофагами, викликає експресію клітин молекулярної адгезії на мембрані ендотеліальних клітин, підсилює Т-клітинами деструкцію ендотеліальних клітин, СРБ стимулює утворення тканинного фактору моноцитами [164, 165].

У зв'язку з виявленими у «сполуки лідера» суттєвої гіпохолестеринемічної та гіпотригліцеридемічної дії, підвищення рівня ХС ЛПВЩ цілком очевидний інтерес представляє вивчення плейотропних ефектів натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату при експериментальній гіперліпідемії.

Було досліджено вплив сполуки 2.28 на нітрозіручий стрес по рівню нітротирзина у цитозольній фракції серця щурів та оксидативний стрес по активності глутатіонпероксидази у сироватці крові. Гемостатична активність оцінювалась по рівню Д-дімеру у сироватці крові як маркеру утворення фібринового згустку та його розчинення. Стан судинного гемостазу оцінювали по активності ендотеліальної синтетази NO у сироватці крові. Мітохондріальна дисфункція, розвиток енергетичного дефіциту викликаний дисфункцією каналів активного іонного транспорту, дестабілізація клітинних мембран визначалися по рівню відкриття мітохондріальних пор у серці. Оцінка хронічного запального процесу у судинній стінці здійснювалась по рівню СРБ у сироватці крові. Енергопродукція м'язових скорочень визначалася по активності МВ-КФК, ферменту каталізуючого процес виділення енергії для м'язових скорочень серця (серцева фракція) у сироватці крові. Стан аеробного окислення оцінювали по активності НАД-МДГ (мітохондріальна фракція) та активності СДГ (мітохондріальна фракція) у тканинах серця щурів.

Дослідження біологічної активності сполуки-лідера 2.28 (натрію 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат) проводили на базі

Начального-наукового медико-лабораторного центру з віварієм Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (атестовано державним експертним центром МОЗ України, свідоцтво засвідчує відповідність критеріям оцінювання ННМЛЦ з віварієм та підтверджує його вимірювальні можливості і технічну компетентність при проведенні лабораторних досліджень у сфері законодавчо регульованої метрології) та на кафедрі клінічної фармації, фармакотерапії, фармакогнозії та фармацевтичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету під керівництвом доктора біологічних наук, професора Беленічева І,Ф. та доктора медичних наук, професора Білая І.М.

Досліди виконано на 20 білих нелінійних щурах, масою 160-310 г, які отримували з розплідника Інституту фармакології та токсикології АМН України. Тварини були на карантині протягом 2 тижнів.

Протягом проведення експерименту щури знаходилися в стандартних умовах при температурі 18-24°C, природному світловому режимі «день-ніч», вологості 50-60 %, на постійному харчовому та питному режимі, встановлених Директивою Європейського Союзу 2010/63/EN та наказом Міністерства освіти і науки, молоді і спорту України від 1. 03. 2012 р. №249.

У сироватці крові щурів визначалися ендотеліальна NO-синтаза (eNOS) (Cloud-CloneCorporation) імуноферментним методом на імуноферментному аналізаторі «Immunochem-2200», США, СРБ імунотурбодиметричним методом (набір виробництва Cormay) на біохімічному аналізаторі ACCENT-200, Польща, МВ-КФК (набір виробництва Cormay) на біохімічному аналізаторі ACCENT-200, Польща, Д-дімер (набір виробництва Вектор-Бест) на біохімічному аналізаторі ACCENT-200, Польща.

Після забиття піддослідних щурів, окрім сироватки крові для досліджень було вилучено серця тварин, які вподальшому промивали та очищали від жиру, сполучної тканини, вирізали судини, з внутрішніх порожнин видаляли



згустки крові і ще раз відмивали. Потім подрібнювали і гомогенізували в 10-кратному обсязі середовища при (2°C), що містить (у ммольх): сахарози – 250, трис-НСІ-буфера – 20, ЕДТА-1 (рН 7,4). При температурі (+4°C) методом диференціального центрифугування на центрифусі рефрижераторної Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли мітохондріальну фракцію. Для очищення мітохондріальної фракції від великих клітинних фрагментів попередньо проводилося центрифугування протягом 7 хвилин при 1000g, потім супернатант повторно центрифугували протягом 20 хвилин при 17000g. Супернатант зливали та зберігали в холодильнику низькотемпературному лабораторному Innova C585. Осад мітохондрій ресуспендували у середовищі виділення, яке містить бичачий сироватковий альбумін (0,5 мг/мл) і знову осаджували протягом 10 хвилин при 17000 g. Мітохондрії суспендували у середовищі виділення. Суспензія містила 40-60 мг білку/мл. Для тривалого зберігання мітохондрії зберігали в холодильнику низькотемпературному лабораторному Innova C585.

Рівень маркера NO-залежного оксидативного стресу та стану тіол-дисульфідної системи – нітротирозину у серці щурів визначали методом твердофазного імуноферментного аналізу з використанням набору NITROTYROSINEELISAKITNK 501 (NycultBiotech, USA) [166]. Дослідження проводили на мікропланшетному імуноферментному рідері Sirio-S (seacRadimCompany, Італія).

Активність НАД-залежної МДГ оцінювали спектрофотометрично у мітохондріальній фракції. Загально відомим фактом є те, що реакція окиснення малату пов'язана з процесом відновлення НАД<sup>+</sup> до НАДН, що також є заключним етапом ЦТК постачання цієї сполуки в дихальний ланцюг мітохондрій. У присутності МДГ малат перетворюється на щавлевооцтову кислоту. Зв'язування щавлевооцтової кислоти гідрозин-гліциновим буфером забезпечує повне окиснення малату. *Малат + НАД<sup>+</sup> + гідрозин → «оксалоацетат-гідрозин» + НАДН + H<sub>2</sub>O*. Утворення відновленої форми

НАДН еквімолярне кількості окисленого малату, збільшення якого реєструють при 340 нм. [151, 167].

Рівень активності СДГ визначали спектрофотометрично. Під впливом СДГ янтарна кислота відновлює гексаціанофероат (III) калію  $K_2[Fe(CN)_6]$ , який має жовте забарвлення, до безкольорового гексаціанофероату (II) калію  $K_4[Fe(CN)_6]$ . Активність ферменту пропорційна кількості гексаціанофероату (III). Для визначення вмісту гексаціанофероату (III) калію в пробах по результатам фотометрування проб, які містять від 100 до 1000 мкг гексаціанофероату (III) калію в 4 мл розчину будували калібровочну криву. По різниці екстинцій ( $E_k - E_{пр}$ ) розраховували кількість гексаціанофероату (III) калію, відновленого за час інкубації. Активність СДГ виражали в нмолях сукцинату/хв на 1 мг білку [151]. Активність ГПО визначали спектрофотометрично по методиці в тесті з гідроперекису тред-бутилу та відновленим глутатіоном. Залишок відновленого глутатіону визначали за інтенсивністю забарвлення з натрій нітропрусидом при довжині шхвилі 540 нм. Активність ГПО оцінюється за зниженням вмісту глутатіону.

Оскільки системною ознакою мітохондріальною дисфункції є порушення бар'єрних функцій мітохондріальних мембран нами проводилися дослідження процесу відкриття гігантських мітохондріальних пор (МП). В інкубаційній суміші суспензії мітохондрії (0,5-1,0 мг білку/мл) при  $+25^{\circ}C$  після ініціації циклоспорином-А (0,5 мл) та постійного перемішування протягом 25 хвилин. Відкриття МП визначали спектрофотометрично, як зниження світлопоглинання при 540 нм [151]. Концентрацію білку оцінювали по методу Бредфорда.

Всі спектрофотометричні дослідження проводили на спектрофотометрі LibraS 32 PC (Велика Британія).

У результаті дослідження виявлено (таблиця 3.15), що при експериментальній гіперліпідемії у сироватці крові щурів знижувалася

активність eNOS (на 52,89 %), яка вказувала на зниження синтезу NO та захисних властивостей ендотелію, що грає важливу роль у підтримці судинного гемостазу. Водночас у сироватці крові щурів підвищувалася активність МВ-КФК (на 146,88 %), що засвідчувало про зниження гіперпродукції м'язових скорочень серця. За такої умови також підвищувався у сироватці крові рівень маркера тромбоутворення (на 50, 65 %). Збільшення рівня СРБ (на 183, 76 %) при гіперліпідемії свідчило про активацію хронічного запального процесу у судинній стінці.

Таблиця 3.15 - Вплив сполуки 2.28 на плеїотропні ефекти у сироватці крові щурів на експериментальну гіперліпідемію

Сполука, група	eNOS, нг/мл	Д-дімер, нг, мл	МВ-КФК, МЕ/л	СРБ, мг/л
Інтактна група, M±m	33,54±1,47	125,88±4,99	19,20±0,92	6,28±0,25
Контрольна група, M±m, Δ % p	15,80±0,75 -52,89 % p<0,05	189,64±1,46 +50,65% p<0,05	47,40±0,80 +146,88% p<0,05	17,82±0,25 +183,76% p<0,05
Аторвастатин, M±m, Δ %	38,58±3,43* +144,18 p<0,05	147,34±5,94* -22,31 p<0,05	11,80±0,77* -75,11 p<0,05	12,06±0,79* -32,32 p<0,05
Сполука2.28, M±m, Δ %	53,16±3,54 <sup>*/**</sup> +236,46 p<0,05	124,42±2,64 <sup>*/**</sup> -34,39 p>0,05	13,40±0,64 <sup>*/**</sup> -71,73 p<0,05	8,04±0,37 <sup>*/**</sup> -54,88 p>0,05

Примітка. p<0,05 – достовірність по відношенню до інтактної групи; \* – достовірність по відношенню до контрольної групи; \*\* - достовірність по відношенню до аторвастатину.

Гіперліпідемія у щурів викликала розвиток енергетичного дефіциту та мітохондріальної дисфункції (таблиця 3.16), що виражалось у відкритті МП

(збільшення на 294,74 %). Разом з цим спостерігалось зменшення активності НАД-МДГ (на 57,83 %), що вказувало на активацію малат-аспартатного човникового механізму транспорту відновлених еквівалентів в мітохондріях.

Таблиця 3.16 - Вплив сполуки 2.28 на плейотропні ефекти у гомогенаті серця щурів на експериментальну гіперліпідемію

Сполука, група	Відкриття МП, ΔE 540 нм	НАД-МДГ (мітохондріальна), мкмоль/мг білку/хв	СДГ (мітохондріальна), нмоль/мг білку/хв	ГПО (цитозольна), мкмоль/хв/г білку	Нітротирозин, (цитозольна), нг/мл
Інтактна група, М±m	0,10±0,01	1,33±0,05	4,42±0,19	64,44±1,87	0,76±0,04
Контрольна група, М±m, Δ %, p	0,39±0,03 +294,74% p<0,05	0,56±0,05 -57,83% p<0,05	2,16±0,05 -51,04% p<0,05	34,12±1,05 -47,05% p<0,05	3,94±0,06 +420,82% p<0,05
Аторвастатин, М±m, Δ %	0,073±0,008* -81,28% p<0,05	1,44 ±0,13* + 156,43% p>0,05	4,67 ±0,25* + 115,99% p>0,05	66,11 ±2,67* + 93,75% p>0,05	1,85±0,25* -52,91% p<0,05
Сполука 2.28, М±m, Δ %	0,053±0,005* -86,36% p<0,05	1,86±0,03 <sup>*/**</sup> +232,50% p<0,05	5,55±0,15 <sup>*/**</sup> +156,38% p<0,05	83,26±3,59 <sup>*/*</sup> +144,02% p<0,05	0,77±0,05 <sup>*/*</sup> -80,34% p>0,05

Примітка. p <0,05 – достовірність по відношенню до інтактної групи; \* – достовірність по відношенню до контрольної групи; \*\* – достовірність по відношенню до аторвастатину.

Про зниження інтенсифікації аеробного окислення свідчило значне зниження (на 51,04 %) активності СДГ, яка бере участь в ЦТК та дихальному ланцюжку переносу електrolітів на 6-й стадії, каталізуючи окислення сукцинату до фумарату, відновлюючи убихінон до убихінолу. При

гіперліпідемії найбільш суттєво підвищувався рівень нітротирозину (на 420, 82 %), що підтверджувало розвиток нітрозуючого стресу. Спостерігалось також зниження на 47,05 % активності цитозольної глутатіон пероксидази, що вказувало на пригнічення тіол-дисульфідної системи, відновлення рівня відновленого та окисленого глутатіона в тканинах серця, активацію окислювальної модифікації білків, а також зниження редокс-гомеостазу в клітинах та збільшення відкриття МП.

Таким чином, модельована експериментальна гіперліпідемія супроводжувалася зменшенням рівня eNOS у сироватці крові, активності мітохондріальної НАД-залежної МДГ, мітохондріальної СДГ, цитозольної ГПО. Водночас спостерігалось підвищення рівня Д-дімеру, СРБ та активності МВ-КФК у сироватці крові та рівня цитозольного нітротирозину та відкриття МП у тканинах серця.

У результаті проведеного дослідження виявлено, що при експериментальній гіперліпідемії найбільш істотно підвищувалася активність eNOS у сироватці крові при введенні щурам сполуки-лідера (на 236,46 %), що переважало вірогідно по силі дії цього показника аторвастатин (на 144,18 %) та інтактну групу (табл. 3.5.1). Цей факт вказує на важливість підтримування судинного гомеостазу у щурів при введенні аторвастатину та сполуки 2.28.

Про антитромботичну активність «сполуки лідера» свідчило суттєве зниження рівня Д-дімеру у сироватці крові на 34,39 %, що переважало достовірно силу цього ефекту референс-препарату (на 22,3 %) та сягало рівня норми ( $124,42 \pm 2,64$  нг/мл та  $125,88 \pm 4,99$  нг/мл).

Водночас у сироватці крові щурів спостерігалось значне вірогідне зниження рівня МВ-КФК при введенні сполуки 2.28 (на 71,73 %) та аторвастатину (на 75,11 %), що було нижче норми ( $19,20 \pm 0,92$  МЕ/л).

Введення сполуки 2.28 найбільш істотно знижувало вміст СРБ (на 54,88 %), вказуючи на наявність протизапального ефекту в речовині. Аторвастатин

помірно знижував рівень цього молекулярного маркера запалення на 32,32 % та поступався достовірно по силі такої дії сплуки-лідера.

У серці щурів спостерігалось істотне зниження рівня відкриття МП у тканинах серця щурів при введенні сполуки 2.28 (на 86,36 %) та аторвастатину (на 81,28 %,  $p < 0,05$ ), що було нижче рівня інтактної групи ( $0,10 \pm 0,01$ ) та вказувало на стабілізацію клітинних мембран та зменшення енергетичного дефіциту та продукції мітохондріями активних форм кисню (табл. 3.5.2).

Досліджувана сполука 2.28 суттєво підвищувала активність мітохондріальної НАД-залежної МДГ у тканинах серця (на 232,50 %). Аторвастатин достовірно поступався по силі активності цього ферменту (на 156,43 %). Виявлений фармакодинамічний ефект вказував на гальмування функціонування ЦТК при експериментальній гіперліпідемії, яке приводить до окислення ферментів дихального ланцюжка – відновника  $O_2$  до  $O_2^{\cdot-}$ .

Введення сполуки 2.28 приводило до підвищення активності мітохондріальної СДГ (на 156,38 %) та достовірно перевищувало аторвастатин та інтактну групу по силі дії цього ферменту (на 115,99 %). Це підтверджувало, що введені речовини збільшували кількість енергії в мітохондріях та інтенсивність аеробного окислення вуглеводів в ЦТК.

Досліджені плейотропні ефекти сполуки 2.28 поєднувалися з підвищенням активності ГПО у серці (на 144,02 %), що свідчило про стабілізацію тіол-дисульфідної системи в підтриманні редокс-статусу, позитивно впливало на функціонування мітохондрій та попереджувало розвиток мітохондріальної дисфункції. Введення аторвастатину збільшувало активність ГПО (на 93,75 %) та було на рівні інтактної групи ( $64,44 \pm 1,87$  мкмоль/хв/г білку та  $66,11 \pm 2,67$  мкмоль/хв/г білку).

Підтвердженням зниження сполукою 2.28 рівня цитозольного нітротирозину у серці (на 80,34 %) є гальмування нітрозуючого стресу та збільшення активності ГПО. Аторвастатин достовірно поступався (зниження

на 52,91 %) по силі антиоксидантної дії сполуці 2.28. Рівень цитозольного нітротирозину при введенні сполуки-лідера сягав рівня норми інтактної групи щурів ( $0,77 \pm 0,05$  нг/мл та  $0,76 \pm 0,04$  нг/мл).

Таким чином, оцінюючи результати дослідження можна констатувати, що досліджувана сполука 2.28 володіє гемостатичною, антиоксидантною, протизапальною, ендотеліотропною активністю, активує гліколіз та інтенсифікацію ЦТК. Водночас по силі цих плейотропних ефектів сполука 2.28(натрій 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат) не поступалася препарату порівняння аторвастатину. Сполука 2.28 водночас володіла гіполіпідемічною дією, яка поєднувалася з плейотропними ефектами, що дуже важливо в патогенетичній терапії атерогенезу, направляючи дію сполуки 2.28 на різні механізми розвитку атеросклерозу – оксидативний та нітрозуючий стрес, хронічний запальний процес у судинній стінці, підвищення розвитку тромбозу, мітохондріальна дисфункція, зниження синтезу NO, активності антиоксидативних ферментів та ферментів, які впливають на інтенсивність ЦТК.

### Резюме

1. Вперше для похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолів досліджено антиоксидантну активність методами *in silico*.

2. Досліджено антиоксидантні властивості двадцяти трьох сполук ряду похідних 4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолів *in vitro* методами. Встановлена висока антиоксидантна активність для сполук: натрій 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.28), 1-(3-фторфеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-он (2.20) та кальцій 2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.30). За результатами встановлено певні закономірності будова-дія.

3. За результатами комплексного дослідження виявлено «сполуку лідер»-натрій 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.28).

4. Для «сполуки лідера» досліджено LD50 за допомогою *in vivo* метода Кербера.

5. Вперше для «сполуки лідера» вивчена гіполіпідемічна активність та встановлена її гіпохолестеринемічна та гіпотригліцеридемічна дія.

6. Досліджено плейотропні ефекти для «сполуки лідера». Вперше виявлено що вона володіє гемостатичною, антиоксидантною, протизапальною, ендотеліальною дією, активує аеробне окислення в ЦТК.

За матеріалами розділу опубліковані роботи [168, 169].



## ВИСНОВКИ

В даній дисертаційній роботі представлено теоретичне та експериментальне розв'язання наукової задачі щодо синтезу фармакологічно активних сполук в ряді 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.

1. Розроблено препаративні методи синтезу 5-(тіофен-3-ілмети)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів.

2. Досліджено процес алкілування вихідних 5-(тіофен-3-ілмети)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(тіофен-3-ілмети)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу з використанням галогеналканів, дигалогеналкану, 2-бром-1-арилетанонів, 2-хлортіофеном, 2-бром-1-феніл-1-оном, 2-хлоретановою кислотою, ізопропіловим естером 2-хлоретанової кислоти та 2-хлорацетамідом з утворенням відповідних класів сполук, синтезувати солі. Вивчено реакції амонолізу ізопропілових естерів 2-((4-R-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанових кислот та відновлення кетонів боргідридом.

3. Вивчено фізико-хімічні характеристики для новосинтезованих сполук з використанням сучасних інструментальних методів аналізу.

4. Проведено дослідження *in silico* за допомогою комп'ютерного моделювання та досліджено антиоксидантну активність за допомогою *in vitro* методів на трьох моделях ініціювання СРО. Виявлена висока антиоксидантна активність для сполук: натрій 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату (2.28), 1-(3-фторфеніл)-2-((5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону (2.20) та кальцію 2-((5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноату (2.30). Встановлено певні закономірності будова-дія

5. За результатами комплексного дослідження встановлено «сполуку лідера» - натрій 2-((4-феніл-5-тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етаноат (2.28).

6. Визначено гостру токсичність за допомогою *in vivo* методу Кербера, розраховано LD50 та встановлено клас токсичності для «сполуки лідера». Вперше для «сполуки лідера» визначено гіполіпідемічну активність та встановлено її гіпохолестеринемічну та гіпотригліцеридемічну дію. Виявлено плейотропні ефекти сполуки лідера: гемостатичний, антиоксидантний, протизапальний, ендотеліальний, активує глікоз та ЦТК.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. In silico дослідження нових похідних біс-3R,4R'-5-(((1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіонів / Є. О. Карпун, Ю. В. Карпенко, В. В. Парченко, О. І. Панасенко. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2019. Т. 12. № 3. С. 270-275.  
<https://www.researchgate.net/deref/https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.3.184186>
2. Король Н. І. Електрофільна гетероциклізація ненасичених похідних 1,2,4-триазол-3-тіону : автореф. дис. ... канд. хім. наук. Харків, 2019. 20 с.[3] Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immunomodulating Activity / N. N. Borisenko, I. V. Bushuieva, V. V. Parchenko et al. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12, Iss. 11. P. 5255-5259.  
<https://www.researchgate.net/deref/http://dx.doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00909.0>
3. Impact of 1,2,4-thio-triazole derivative-based liniment on morphological and immunological blood parameters of dogs suffering from dermatomycoses / V. M. Hunchak et al. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2020. Vol. 11. Iss. 2. P. 294-298.  
<https://www.researchgate.net/deref/https://doi.org/10.15421/022044>
4. Studying of 2-((5-R-4-R-1-4H-1, 2, 4-triazole-3-Y1) Thio) acetic acid salts influence on growth and progress of blackberries (KIOWA Variety) propagules / Shcherbyna R. O. et al. *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 2017. Vol. 8. (3). P. 975-979.
5. Abbas Ashraf A., Dawood Kamal M.. Chapter Four - Recent developments in the chemistry of 1H- and 4H-1,2,4-triazoles. *Adv. Heterocyclic Chem.* 2023. Vol. 141. P. 209-273. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2023.04.002.12>
6. Pinteа B.-N., Bercean V.-N., Badea V.. Chapter Three - The synthesis of pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazoles. Part 2: From bicyclic precursors. Annulated

pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazoles. *Adv. Heterocyclic Chem.* 2022. Vol. 136. P. 125-169. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2021.09.001>

7. Synthesis and Antimicrobial Activity of Functional Derivatives of thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazoles / M. V. Slivka et al. *Lett. Drug Design Discov.* 2022. Vol. 19. P. 791-799. <http://dx.doi.org/10.2174/1570180819666220110145659>

8. Syn-thetic utility of bis-aminomercapto[1,2,4] triazoles in the preparation of bis- fused triazoles and macrocycles / Gomha S. M., Riyadh S. M., Farghaly T. A., Haggam R. A. *Polycycl. Aromat. Compd.* 2022. Vol. 43. (4). P. 1-21. DOI: [10.1080/10406638.2022.2077773](https://doi.org/10.1080/10406638.2022.2077773)

9. Hotsulia A. S., Fedotov S. O. Synthesis and properties of 5-(((5-amino-1,3,4-thiadiazole-2-yl)thio)methyl)-4-phenyl-1,2,4- triazole-3-thione and its some S-derivatives. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2020. Т. 13, № 2. С. 182-186. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207062>

10. Influence of the carrier type and surfactants on the trifuzole emission from veterinary intrauterine suppositories / Bushuieva I. V. et al. *Res. J. Pharmacy Technol.* 2020. Vol. 13 (11). P. 5407-5410. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2020.00945.2>

11. Bihdan O., Parchenko V., Zazharskyi V. Studying of physico-chemical properties of 5-(2,3-fluorophenyl)-4-((aryl-, geteryl) yliden) amino-1,2,4-triazole-3-thiols and any of their retrievalproducts. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 2019. Vol. 10 (1). P. 464-474.

12. Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-thiols / Zazharskyi V. et al. *Питання хімії та хім. технології.* 2020. № 6. С. 50-58. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2020-133-6-50-58>.

13. Design, synthesis, and biological evaluation of 1,2,4-triazole derivatives as potent antitubercular agents / Wen Y. et al. *Chin. Chem. Lett.* 2023. 108464. DOI: 10.1016/j.bmc.2013.10.017
14. Structure and IR spectroscopic properties of complexes of 1,2,4-triazole and 3-amino-1,2,4-triazole with dinitrogen isolated in solid argon / K. Mucha, M. Pagacz-Kostrzewa, J. Krupa, M. Wierzejewska. *Spectrochimica Acta Part A: Mol. and Biomol Spectroscopy.* 2023. Vol. 285. 121901. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121901>
15. Ohloblina M. V., Bushuieva I. V., Parchenko V. V. Analysis of the domestic market of 1,2,4-triazole-containing drugs. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2022. Т. 15, № 2. С. 215-22. <http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/259045>
16. Chromographic research of liniment, which active sub-stance belongs to new derivatives of 1, 2, 4-triazole / Martynyshyn V. P., Hunchak V. M., Yaroshenko A. I., Parchenko V. V. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 2019. Vol. 10 (1). P. 806-811. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35871.61609>
17. El-sayed M. Abdelrehim. Synthesis and Screening of New [1,3,4]Oxadiazole, [1,2,4]Triazole, and [1,2,4]Triazolo[4,3 b][1,2,4]triazole Derivatives as Potential Antitumor Agents on the Colon Carcinoma Cell Line (HCT-116). *ACS Omega.* 2021. Vol. 6. P. 1687–1696. <https://dx.doi.org/10.1021/acsomega.0c05718>
18. Hotsulia A. S., Kulish S. M. Synthesis and properties of some pyrazole derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2020. Т. 13, № 3. С. 318–323. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216164>
19. Design, synthesis and molecular docking of some derivatives of 9-methylpyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo [3,4-f][1,2,4]triazine-3-thiol / Fedotov et al. *J. Fac. Pharm. Ankara.* 2023. Vol. 47 (2). P. 336-348.

20. Fedotov S. O., Hotsulia A. S. Synthesis and properties of S-alkyl 4-amino-5-(5-(3-fluorophenyl)-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2023. Т. 16, № 1. С. 5–11. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273461>
21. Карпун Є. О., Поліщук Н. М. Протимікробна та протигрибкова активність нових 4-(5-(((5-(алкілтіо)-4-*R*-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1*H*-1,2,4-триазол-3-іл)піридинів. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3 (34). С. 354–358.
22. Synthesis and acute toxicity of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2*H*)-yl)methyl thiopyrimidines / Yu. V. Karpenko et al. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2023. Т. 16, № 2. С. 158-164. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.274586>
23. Карпенко Ю. В., Куліш С. М., Аль Халаф Н. А. Біологічно орієнтований синтез ліків (BIODS) на основі гетерилпохідних 2,5-дизаміщених 1,3,4-оксадіазолів (Частина 2). *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2020. Т. 13, № 2. С. 390-398. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207211>
24. Synthesis and Antimicrobial Activity of New Pyrimidine-Hydrazones / Karplancıklı Z. et al. *Lett. Drug Design Discov.* 2013. Vol. 11 (1). P. 76-81. <https://doi.org/10.2174/15701808113109990037>
25. Advanced research for physico-chemical prop-erties and parameters of toxicity piperazinium 2-((5-(furan-2-yl)-4-phe-nyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetate / Karpenko Y. et al. *ScienceRise: Pharmaceutical Sci.* 2022. № 2. С. 18-25. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2022.255848>
26. Design, Synthesis, and Antimicrobial Activity of Certain New Indole-1,2,4 Triazole Conjugates / Al-Wabli R. I. et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 2292. <https://doi.org/10.3390/molecules26082292>

27. Synthesis of Benzimidazole-1,2,4-triazole Derivatives as Potential Antifungal Agents Targeting 14 $\alpha$ -Demethylase / Emir Güzel et al. *ACS Omega*. 2023. Vol. 8. P. 4369–4384. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07755?urlappend=%3Fref%3DPDF&jav=VoR&rel=cite-as>

28. Synthesis of novel tetra-substituted benzimidazole compounds containing certain heterostructures with antioxidant and anti-urease activities / Karaali N., Aydin S., Baltas N., Mentese E. *J. Heterocycl. Chem.* 2020. Vol. 57 (4). P. 1806–1815. Doi: 10.1002/jhet.3905.

29. Evaluation of Biological Activity of New 1,2,4-Triazole Derivatives Containing Propionic Acid Moiety / Paprocka R. et al. *Molecules*. 2023. Vol. 28. 3808. <https://doi.org/10.3390/molecules28093808>

30. Evaluation of Anthelmintic and Anti-Inflammatory Activity of 1,2,4-Triazole Derivatives / Paprocka R. et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27. 4488. <https://doi.org/10.3390/molecules27144488>

31. Design, synthesis, and evaluation of the antimycobacterial activity of 3-mercapto-1,2,4-triazole-pyrrole hybrids / Gheorghe Roman et al. *Turk. J. Chem.* 2019. Vol. 4. P. 531–546. Doi:10.3906/kim-1811-4

32. Бігдан О. А. Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів : дис. ... д.фарм.н. Запоріжжя, 2022. 2022. 379 с.

33. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей нових похідних 5-(2-,3-,4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : III Міжнар. наук.-практ. конф., 14-15 бер. Харків., 2019. Т. 2. С. 49-50.

34. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічні перетворення та біологічна активність 3-,4-,5-заміщених 1,2,4-триазолу. *Сучасний рух науки : X міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.*, 2-3 квітня. Дніпро, 2020. Т. 1. С. 107- 108.
35. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Chemical modification and Physicochemical properties of new derivatives 5-(thiophen-3-ilmethyl)-4-R1-1,2,4-triazole-3-thiol. *Res. J. Pharm. Technol.* 2021. Vol. 14 (9). P. 4621-4629. Doi: 10.52711/0974-360X.2021.00803.
36. Молекулярний докінг і біодоступність S-алкіл похідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромофуран-2-іл)- та 5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4-метил-4H-1,2,4-триазолів in silico методами / Є. О. Карпун, О. А. Бігдан, Ю. В. Карпенко, М. В. Парченко. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2020. Т. 13, № 1 (32). DOI: 10.14739/2409-2932.2020.1.198122
37. Fedotov S. O., Hotsulia A. S. Synthesis and properties of 3-(ethylthio)-9-methyl-6-(alkylthio) pyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazines. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2022. Т. 15, № 3. С. 227-234. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.263994>
38. Synthesis, antimicrobial and antifungal activity of ylidenhydrazides of 2-((4-r-5-r1-4h-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetaldehydes / Shcherbyna R. et al. *J. Fac. Pharm. Ankara.* 2021. Vol. 45 (3). P. 504-514. Doi: 10.33483/jfpau.939418
39. Pelin Koparir, Kamuran Sarac, Rebaz Anwar Omar. Synthesis, Molecular Characterization, Biological and Computational Studies of New Molecule Contain 1,2,4-Triazole, and Coumarin Bearing 6,8-Dimethyl. *Platinum Open Access J.* 2022. Vol. 12. N 1. P. 809–823. <https://doi.org/10.33263/BRIAC121.809823>
40. Synthesis and study of the nematocidal activity of 1,2,4-triazolo-1,2,4-triazoles / M. A. Samvelyan et al. *Chemistry and Biology.* 2020. Vol. 54 (1). P. 3–11. DOI: 10.46991/PYSU:B/2020.54.1.003



41. Samvelyan M. A., Ghochikyan T. V. Synthesis and some transformations of heterocyclic substituted derivatives of thioglycolic acid. *Proc. of the YSU B: Chemical and Biological Sciences*. 2020. Vol. 54 (2). P. 93-98. <https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2020.54.2.093>

42. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling studies of acetophenones-tethered 1,2,4-triazoles and their oximes as epidermal growth factor receptor inhibitors / El-Wahab H. A. A. A., Ali A. M., Abdel-Rahman H. M., Qayed W. S. *Chem. Biol. Drug Design*. 2021. Vol. 100 (5). P. 1-13. DOI: 10.1111/cbdd.13982

43. N-Heterocyclic dicarboxylic acids: Broad-spectrum inhibitors of metallo- $\beta$ -lactamases with co-antibacterial effect against antibiotic-resistant bacteria / Feng L. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012. Vol. 22 (16). P. 5185–5189. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.06.074>

44. Synthesis and biological evaluation of novel xanthine derivatives as potential apoptotic antitumor agents / Hisham M. et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. Vol. 117. P. 117-128. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.015>

45. Synthesis, molecular docking, and biological evaluation of Schiff base hybrids of 1,2,4-triazole-pyridine as dihydrofolate reductase inhibitors / D. Dewangan et al. *Curr. Res. Pharmacol. Drug Discovery*. 2021. Vol. 2. 100024. DOI: 10.1016/j.crphar.2021.100024

46. Synthesis, structure investigation, spectral properties and in vitro antioxidant evaluation of new 1-(3-methyl-3-mesityl)-cyclobutyl-2-(5-thiophen-4-ethyl-2h-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-ethanone / Cahit Orek et al. *Fresenius Envir. Bull.* 2018. Vol. 27. N 5. P. 2992-3005. <https://www.researchgate.net/publication/324894123>

47. Fedotov O., Hotsulia A. S. Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Актуальні питання фармац. і*

мед. науки та практики. 2023. Т. 16, № 2. С. 121-129.  
<https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460>

48. Safonov A. Method of synthesis novel n'-substituted 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio) acetohydrazides. *J. Fac. Pharm. Ankara*. 2020. Vol. 44 (2). P. 242-252. Doi: 10.33483/jfpau.580011

49. Shcherbyna R. Microwave-assisted synthesis of some new derivatives of 4-substituted-3-(morpholinomethyl)-4H-1,2,4-triazole-5-thioles. *J. Fac. Pharm. Ankara*. 2019. Vol. 43 (3). P. 220-229. Doi: 10.33483/jfpau.533166

50. Синтез і фізико-хімічні властивості 2-((4-R-3-(морфолінометил)-4H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот / Р. О. Щербина, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, Б. О. Варинський. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2014. № 3 (16). С. 18- 21.

51. S-Alkylated 1,2,4-Triazoles Derivatives Synthesis, spectral analysis and cytotoxicity evaluation / Barbuceanu S.-F. et al. *Rev. Chim. (Bucharest)*. 2019. Vol. 70. N 1. P. 13-17. DOI: 10.37358/RC.19.1.6841

52. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Some aspects of synthesis 3-(2-florphenyl)-6-R1-[1,2,4] triazol [3,4-b] [1,3,4] thiadiazole and 3-(2-,3-ftorphenyl)-6-R2-7H [1,2,4] triazolo [3,4-b] [1,3,4] tiadiazines. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.* 2018. Vol. 9 (3). P. 463-470. <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/17563>

53. Studying of physico-chemical properties of 5-(2-,3-fluorophenyl)-4-((aryl-geteryl)yliden)amino-1,2,4-triazole-3-thiols and any of their retrieval products / Bihdan O. A. et al. *Res. J. Pharm., Biol. Chem. Sci.*. 2018. Vol. 10 (1). P. 464-474.

54. Silvestru V., Badea V. V. (R,S)-2-{[4-(4-Methylphenyl)-5-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl]thio}-1-phenyl-1-ethanol. *Molbank*. 2021. Vol. 3. M1241. DOI: 10.3390/M1241.

55. The investigation of antimicrobial activity of some s-substituted bis-1,2,4-triazole-3-thiones / Y. Karpun, V. Parchenko, V. Nahornyi, N. Nahorna. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68 (4). P. 797–804. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.68.e65761>

56. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4- Triazoles / Zazharskyi V. et al. *Arch. Pharm. Practice*. 2021. Vol. 12 (2). P. 60-65. <https://doi.org/10.51847/RbJb3waUBB>

57. Карпун Є. О., Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні властивості та антигіпоксична активність деяких S-похідних 4-R-5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Фармац. журн.* 2020. № 6. С. 56–64. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.20.06>

58. Zazharskyi V., Parchenko M., Parchenko V. Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-thiols. *Питання хімії та хім. технології*. 2020. № 6. С. 50-58. DOI: 10.32434/0321-4095-2020-133-6-50-58.

59. Ulviye Acar, Derya Osmaniye. 1,2,4-Triazol Yapısı Taşıyan Benzotriazol Türevlerinin Sentezi ve Antifungal Aktiviteleri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 2020. Vol. 10 (1). P. 1-5. <https://dx.doi.org/10.33631/duzcesbed.593379>

60. Biological exploration of a novel 1,2,4- triazole-indole hybrid molecule as antifungal agent / F. Pagniez et al. *J. Enzyme Inhibit. Med. Chem.* 2020. Vol. 35 (1). P. 398-403. DOI: 10.1080/14756366.2019.1705292

61. Baviskara B. A., Khadabadi S. S. Synthesis of clubbed triazolylindeno[1,2-c]isoquinolines as an novel anticancer agent. *Pel. Res. Lib. Pharm. Sin.* 2012. Vol. 3 (1). P. 24-30.

62. Hou K., Juan Sun. Synthesis and antitumor activity of 1,2,4-triazoles having 1,4-benzodioxan fragment as a novel class of potent methionine aminopeptidase type inhibitors. *Biol. Med. Chem.* 2011. Vol. 19. P. 5948–5954.

63. Review on methods of synthesis of 1,2,4-triazole derivatives / Parminder Kaur et al. *Int. Res. J. Pharm.* 2018. Vol. 9 (7). P. 1-35. DOI: 10.7897/2230-8407.097121

64. Design, Synthesis, Molecular Modeling and Biological Evaluation of Novel 1,5- Diarylpyrazole Carboxamide Derivatives as Antiproliferative Agents / Osama M. Soltan et al. *J. Adv. Biomed. & Pharm. Sci.* 2021. Vol. 4. P. 152-159. <https://www.researchgate.net/publication/356666755>

65. Strzelecka M., Świątek P. 1,2,4-Triazoles as Important Antibacterial Agents. *Pharmaceuticals.* 2021. Vol. 14. 224. <https://doi.org/10.3390/ph14030224>

66. Marinescu M. Benzimidazole-Triazole Hybrids as Antimicrobial and Antiviral Agents: A Systematic Review. *Antibiotics.* 2023. Vol. 12 (7). P. 1220. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12071220>

67. Asawari Mokal. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial Activities of New 1,2,4-Triazole Derivatives. *SSRG Int. J. Appl. Chem.* 2020. Vol. 7 (2). P. 1-5. <https://doi.org/10.14445/23939133/IJAC-V7I2P101>

68. Reddyrajula R., Dalimba U., Madan Kumar S. Molecular hybridization approach for phenothiazine incorporated 1,2,3-triazole hybrids as promising antimicrobial agents: Design, synthesis, molecular docking and in silico ADME studies. *Eur. J. Med. Chem.* 2019. Vol. 168. P. 263-282. Doi: 10.1016/j.ejmech.2019.02.010

69. Synthesis and antibacterial activity of some new 1,2,4-triazole derivatives bearing carbohydrazide moiety / Haitham Al-Sadoni et al. *Eur. J. Chem.* 2020. Vol. 11 (2). P. 113-119. DOI: 10.5155/eurjchem.11.2.113-119.1968

70. Recent advances in 1,2,3- and 1,2,4-triazole hybrids as antimicrobials and their SAR: A critical review / Guimiao Tian et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2023. Vol. 259. 115603. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115603>

71. Synthesis, molecular docking, and evaluation of antibacterial activity of 1,2,4-triazole-norfloxacin hybrids / Yang P. et al. *Bioorg. Chem.* 2021. Vol. 115. 105270. DOI: 10.1016/j.bioorg.2021.105270

72. Karpun Ye., Polishchuk N. Synthesis and antimicrobial activity of s-substituted derivatives of 1,2,4-triazol-3-thiol. *ScienceRise: Pharmaceutical Sci.* 2021. № 3 (31). C. 64–69. Doi: <http://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.235976>

73. New potent antifungal triazole alcohols containing N-benzylpiperazine carbodithioate moiety: Synthesis, in vitro evaluation and in silico study. / Y. Mahmoudi et al. *Bioorg. Chem.* 2019. Vol. 90. 103060. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103060>

74. Design, synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of some novel hydrazinecarbothioamide, 4-thiazolidinone and 1,2,4-triazole-3-thione derivatives / E. D. Dincel, N. Ulusoy-Güzeldemirci, D. Şatana, Ö. Küçükbasmacı. *J. Heterocyclic Chem.* 2021. Vol. 58, N 1. P. 195–205. <https://doi.org/10.1002/jhet.4159>

75. Synthesis and Antibacterial Activity of New Azole, Diazole and Triazole Derivatives Based on p-Aminobenzoic Acid. / Sapijanskaite-Banevič B. et al. *Molecules.* 2021. Vol. 26. P. 2597. <https://doi.org/10.3390/molecules26092597>

76. New azole antifungals with a fused triazinone scaffold / D. Montoir et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2020. Vol. 189. 112082. Doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112082

77. Molecular hybrids of substituted phenylcarbamoylpiperidine and 1,2,4-triazole methylacetamide as potent 15-LOX inhibitors: Design, synthesis, DFT

calculations and molecular docking studies / Nawaz Z. et al. *Bioorg. Chem.* 2024. Vol. 143. 106984. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2023.106984>

78. Ojasvi Gupta, Tathagata Pradhan, Gita Chawla. An updated review on diverse range of biological activities of 1,2,4-triazole derivatives: Insight into structure activity relationship. *J. Mol. Structure.* 2023. Vol. 1274. (2). 134487. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134487>

79. Exploring phenylcarbamoylazirane-1,2,4-triazole thioethers as lipoxygenase inhibitors supported with in vitro, in silico and cytotoxic studies / W. Shahid et al. *Bioorg. Chem.* 2021. Vol. 115. 105261. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105261>

80. Гіполіпідемічна активність деяких похідних 1,2,4-тріазолу / І. М. Білай та ін. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2013. № 1 (11). С. 15-17. <http://dspace.zsmu.edu.ua/handle/123456789/3406>

81. Pachuta-Stec A. Antioxidant Activity of 1,2,4-Triazole and its Derivatives: A Mini-Review. *Mini-Reviews in Med. Chem.* 2022. Vol. 22. P. 1081-1094. <http://dx.doi.org/10.2174/1389557521666210401091802>

82. Fouad M. Design, Synthesis, and Antioxidant Activity Screening of Some New Thiazole and Pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazole Derivatives. *Chem. Rxiv. Organic. Chem.* 2023. <http://dx.doi.org/10.26434/chemrxiv-2023-557bw>

83. Synthesis, antimicrobial and antioxidant evaluation, and molecular docking study of 4,5-disubstituted 1,2,4-triazole-3-thiones / H. Beyzaei, M. Ghanbari Kudeyani, H. Samareh Delarami, R. Aryan. *J. Molecular Structure.* 2020. Vol. 1215. 128273. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128273>

84. 1,2,4-Triazole-based anticonvulsant agents with additional ROS scavenging activity are effective in a model of pharmacoresistant epilepsy / B. Kaproń et al. *J. Enzyme Inhibition and Med. Chem.* 2020. Vol. 35, N 1. P. 993-1002. <https://doi.org/10.1080/14756366.2020.1748026>

85. Ігнатова Т. В., Каплаушенко А. Г., Фролова Ю. С. Створення, дослідження фізичних і хімічних властивостей 2-((4-R-5-фенетил-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)етанових(пропанових, бензойних)кислот і солей 2-((4-R-5-фенетил-4Н-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)етанових кислот. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2019. №. 2 (30). С. 123–128. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.170973>

86. Synthesis and antioxidant properties of some new 5-phenethyl-3-thio-1,2,4-triazoles / T. Ihnatova, A. Kaplaushenko, Yu. Frolova, E. Pryhlo. *Pharmacia*. 2020. Vol. 68 (1). P. 129–133. DOI: 10.3897/pharmacia.68.e53320

87. Yusuf Sıcak. Design and antiproliferative and antioxidant activities of furan-based thiosemicarbazides and 1,2,4-triazoles: their structure-activity relationship and SwissADME predictions. *Med. Chem. Res.* 2021. Vol. 30 (8). P. 1557–1568. DOI: 10.1007/s00044-021-02756-z

88. Development of novel 1,2,4-triazole containing compounds with anticancer and potent anti-CB1 activity / Sümbül Yıldırım, Aslıhan Ayvaz, Arif Mermer, Fatih Kocabaş. *J. Biomolecular Structure and Dynamics*. 2023. DOI: [10.1080/07391102.2023.2239909](https://doi.org/10.1080/07391102.2023.2239909)

89. Synthesis characterization and anticancer activity studies on some Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles / B. Shivarama Holla, B. Veerendra, M. K Shivananda, Boja Poojary *Eur. J. Med. Chem.* 2023. Vol. 38. P. 759-767. [https://doi.org/10.1016/S0223-5234\(03\)00128-4](https://doi.org/10.1016/S0223-5234(03)00128-4)

90. Bhagyashri Rathod, Kapil Kumar. Synthetic and Medicinal Perspective of 1,2,4-Triazole as Anticancer Agents. *Chemistry & Biodiversity*. 2022. Vol. 19. (11).e202200679. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202200679>

91. Design and synthesis of new 2-oxoquinoxaliny-1,2,4-triazoles as antitumor VEGFR-2 inhibitors / Merve Zengin et al. *Bioorg. Chem.* 2022. Vol. 121. 105696. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.1056>

92. Бігдан О. А. Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R1-1,2,4-триазол-3-тіолу. *Фармац. журн.* 2020. № 3. С. 80-85. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.20>.
93. Сафонов А. А. Актопротекторна активність 4-((R-іден)аміно)-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Укр. біофармац. журн.* 2016. № 2 (43). С. 32-34. DOI: [10.24959/ubphj.16.21](https://doi.org/10.24959/ubphj.16.21)
94. Gotsulya A. S. Actoprotective properties of 7'-((3-thio-4-methyl-4H-1,2,4-triazole-5-yl)methyl)theophylline derivatives. *Запорозький мед. журн.* 2016. № 3 (96). С. 104–107. DOI: [10.14739/2310-1210.2016.3.76926](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2016.3.76926)
95. Safonov A. A., Nevmyvaka A. V. Actoprotective activity research of 2-((5-(2-bromophenyl)-4-substituted-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetates. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2020. Т. 13, № 33. С. 260-264. DOI: [10.14739/2409-2932.2020.2.207196](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207196)
96. Противтомлювальна дія алкілпохідних 5-(фуран-2-іл, 2-метилфуран-3-іл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіонів / Данільченко Д. М., Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. *Фармац. журн.* 2016. No 2. С. 92–97.
97. Khilkovets A. V., Parchenko V. V. Analysis of biological properties of 1,2,4-triazole-containing compounds (literature review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики* 2022. Т. 15, № 1 (38). С. 102-106. DOI:10.14739/2409-2932.2022.1.252392
98. Khilkovets A. V., Parchenko V.V. Synthetic features of new 1,2,4-triazole derivatives. *SWorldJournal.* 2022. Vol. 11, N 3. P. 8-14. DOI: 10.30888/2663-5712.2022-11-03-053
99. Synthetic and biological aspects of studying the properties of 1,2,4-triazole derivatives / A. Khilkovets, Y. Karpenko, O. Bigdan, M. Parchenko, V.r



Parchenko. Scientific Journal of Polonia University. 2022. Vol. 51. P. 324-331. DOI: <https://doi.org/10.23856/5138>

100. Dataset on theoretical bio-evaluation of 1,2,4-thiadiazole-1,2,4-triazole analogues against epidermal growth factor receptor kinase down regulating human lung cancer / Abel Kolawole Oyebamiji et al. *Data in Brief*. 2021. Vol. 37. 107234. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107234>

101. 3-Ethoxy-5-phenyl-1H-1,2,4-triazole / A. M. Hebishy et al. *IUCrData*. 2019. Vol. 4. 190378. <https://doi.org/10.1107/S241431461900378X>

102. Sajjad Hussain Sumrra et al. SYNTHESIS, STRUCTURAL, SPECTRAL AND BIOLOGICAL EVALUATION OF METALS ENDOWED 1,2,4-TRIAZOLE Bull. *Chem. Soc. Ethiop.* 2020. Vol. 34 (2).P. 335-351. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/bcse.v34i2.11>

103. Fouad M. Design, Synthesis, and Antioxidant Activity Screening of Some New Thiazole and Pyrazolo[5,1-c][1,2,4]triazole Derivatives. *ChemRxiv*. 2023; doi:10.26434/chemrxiv-2023-557bw

104. Preparation and antitumor effects of 4-amino-1,2,4- triazole Schiff base derivative / Jiang G. W. et al. *J. Int. Med. Res.* 2020. Vol. 48 (2). P. 1-10. DOI: 10.1177/0300060520903874

105. Sim Kooi-Mow, Hoor Yin-Haw, Boo Xin-Lik, Teh Chor-Chin, Lai Shih-Nee, Teh Chor-Pey and Teo Kah-Cheng, Synthesis of Some New 1,2,4-triazole Schiff Bases and their Antibacterial Activity Studies. *Letters in Organic Chemistry*. 2023. V. 20 (9) . <https://dx.doi.org/10.2174/1570178620666230330091737>

106. Copper-Catalyzed Oxidative C(sp<sup>3</sup>)-H Functionalization for Facile Synthesis of 1,2,4-Triazoles and 1,3,5-Triazines from Amidines / Huang H. et al. *Organic Lett.* 2015. Vol. 17, No. 12. C. 2894–2897. doi.10.1021/acs.orglett.5b00995.

107. Synthesis of 1, 2, 4-Triazoles and Thiazoles from Thiosemicarbazide and its Derivatives / M. M. Suni, N. A. Vipin, C. P. Joshua, K. Sreekumar. *Mini-Reviews in Organic Chem.* 2004. Vol. 1 (4). <https://dx.doi.org/10.2174/1570193043403082>

108. Fischer E., Speier A. Darstellung der Ester. *Eur. J. Inorganic Chem.* 1895. Vol. 28 (3). P. 3252-3258. <https://doi.org/10.1002/cber.189502803176>

109. Fedotov SO, Hotsulia AS, Karpenko YV. Synthesis and analgesic activity of new pyrazole-containing derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice* [Internet]. 2023. [cited 2024Feb.13]; V. 16(3). P. 205-12. Available from: <http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/288364>

110. Novel 1, 2, 4-Triazoles as Antifungal Agents / Z. Kazeminejad et al. *BioMed. Res. Int.* 2022. Vol. 39. 4584846. <https://doi.org/10.1155/2022/4584846>

111. Belgin Sever, Mehlika Dilek Altintop, Yeliz Demir. An extensive research on aldose reductase inhibitory effects of new 4H-1,2,4-triazole derivatives. *J. Molecular Structure.* 2021. Vol. 1224. 129446. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129446>

112. Abdelli A., Azzouni S., Plais R. Recent advances in the chemistry of 1,2,4-triazoles: Synthesis, reactivity and biological activities. *Tetrahedron Lett.* 2021. Vol. 86. 153518. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153518>

113. Khilkovets A. V. Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2021. Т. 14, № 2. С. 152–156. Doi: 10.14739/2409-2932.2021.2.232334

114. Хільковець А. В. Деякі перетворення та фізико-хімічні властивості нових S-заміщених 5-тіофен-(3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Фармац. журн.* 2021. Т. 76, № 5. С. 50–56. <https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y>

115. Віничук С. М., Фартушна О. Є. Аторвастатин та його роль у профілактиці та лікуванні ішемічних порушень мозкового кровообігу. *Здоров'я України*. 2015. № 9. С. 3

116. Association of lipid peroxidation and interleukin-6 with carotid atherosclerosis in type 2 diabetes / A. Heshama et al. *Cardiovasc. Endocrinol. Metabol.* 2019. Vol. 8 (3). P 73-76. DOI: 10.1097/XCE.0000000000000175

117. Olmesartan protects endothelial cells against oxidative stress-mediated cellular injury / D. Kadowaki et al. *Clin. Exp. Nephrol.* 2015. Vol. 19 (6). P. 1007-1014. doi: 10.1007/s10157-015-1111-5

118. Losartan inhibits cellular uptake of oxidized LDL by monocyte-macrophages from hypercholesterolemic patients / T. Hayek et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. Vol. 273 (2). P. 417-420. doi: 10.1006/bbrc.2000.2963

119. Recognition of Oxidized Lipids by Macrophages and Its Role in Atherosclerosis Development / N. V. Mushenkova et al. *Biomedicines*. 2021. Vol. 9. (8). P. 915. Doi: 10.3390/biomedicines9080915

120. Oxidative Stress and Its Significant Roles in Neurodegenerative Diseases and Cancer / R. Thank et al. *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16 (1). P. 193-217. <https://doi.org/10.3390/ijms16010193>

121. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease / M. Valko et al. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2007. Vol. 39, N 1. P. 44-84

122. Evaluation of Antioxidant Activity of 1, 2, 4-Triazole Derivatives With Morpholine Moiety / R. Shcherbyna et al. *Hacettepe University J. Faculty of Pharmacy*. 2022. Vol. 42, issue. 2. P. 73-82. <https://doi.org/10.52794/hujpharm.1033112>.

123. Turkey A., Sherbiny F. F. Novel 1,2,4-triazole derivatives: Design, synthesis, anticancer evaluation, molecular docking, and pharmacokinetic profiling studies. *Arch. Pharm. (Weinheim)*. 2020. Vol. 353 (12). e2000170. <https://doi.org/10.1002/ardp.202000170>

124. Design, Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of N-(5-Benzylthio)-4H-1,2,4-Triazol-3-YL)-4-Fluorobenzamide Derivatives as Potential Anticancer Agents / Aliabadi A. et al. *Pharm. Chem. J.* 2016. Vol. 49. P. 694–699.

125. Şafak Akın, Elif Ayazoglu Demir, Ahmet Colak. Synthesis, biological activities and molecular docking studies of some novel 2,4,5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-one derivatives as potent tyrosinase inhibitors. *J. Mol. Structure*. 2019. Vol. 1175. P. 280-286. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.07.065>

126. New insights into highly potent tyrosinase inhibitors based on 3-heteroaryl coumarins: Anti-melanogenesis and antioxidant activities, and computational molecular modeling studies / F. Pintus et al. *Bioorganic Med. Chem.* 2017. Vol. 25 (5). P. 1687-1695. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.01.037>

127. Kapitulnik J.. Bilirubin: An Endogenous Product of Heme Degradation with Both Cytotoxic and Cytoprotective Properties. *Mol. Pharmacol.* 2004. Vol. 66 (4). P. 773-779. DOI: <https://doi.org/10.1124/mol.104.002832>

128. Csizmadia, P. MarvinSketch and MarvinView: Molecule Applets for the World Wide Web. *Proceedings of the 3rd International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, 1-30 November 1999, MDPI: Basel, Switzerland, Doi:10.3390/ecsoc-3-01775

129. Halgren T. A. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *J. Computational Chem.* 1996. Vol. 17. P. 490-519. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-987X\(199604\)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-987X(199604)17:5/6<490::AID-JCC1>3.0.CO;2-P)

130. Open Babel: An open chemical toolbox / O'Boyle N. M. et al. *J. Cheminform.* 2011. Vol. 3. P. 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
131. Antioxidant Activity, Molecular Docking, Quantum Studies and In Vivo Antinociceptive Activity of Sulfonamides Derived From Carvacrol / Aldo S. de Oliveira et al. *Front. Pharmacol. Sec. Experimental Pharmacology and Drug Discovery.* 2021. Vol. 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.788850>
132. Xiao-Long Hu, Ling-Yue Gao, Yi-Xuan Niu. Neuroprotection by Kukoamine A against oxidative stress may involve N-methyl-d-aspartate receptors, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA). General Subjects.* 2015. Vol. 1850 (2). P. 287-298. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2014.11.006>
133. Pacher P., Beckman J. S., Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev.* 2007. Vol. 87 (1). P. 315-424. Doi:10.1152/physrev.00029.2006.
134. Thomsen R., Christensen M. H. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J. Med. Chem.* 2006. Vol. 49 (11). P. 3315–3321
135. Webb B., Sali A. Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER. *Curr. Protoc. Bioinformatics.* 2016. Vol. 54. P. 5.6.1-5.6.37. <https://doi.org/10.1002/cpbi.3>
136. Pettersen E. F., Goddard T. D., Huang C. C. UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *J. Computational Chem.* 2004. Vol. 25. P. 1605-1612. <https://doi.org/10.1002/jcc.20084>
137. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. P. 42717. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
138. Koes D. R., Baumgartner M. P., Camacho C. J. Lessons learned in empirical scoring with smina from the CSAR 2011 benchmarking exercise. *J. Chem. Inf. Model.* 2013. Vol. 53 (8). P. 1893-1904. DOI: 10.1021/ci300604z

139. Validation of molecular docking programs for virtual screening against dihydropteroate synthase / K. E. Hevener et al. *J. Chem. Inf. Model.* 2009. Vol. 49 (2). P. 444-460. DOI: 10.1021/ci800293n
140. Da Silva Costa J., da Silva Lopes Costa K., Cruz Viana J. Virtual Screening and Statistical Analysis in the Design of New Caffeine Analogues Molecules with Potential Epithelial Anticancer Activity. *Curr. Pharm. Design.* 2018. Vol. 24. (5). P. 576-594. <https://dx.doi.org/10.2174/1381612823666170711112510>
141. Vanommeslaeghe K., Hatcher E., Acharya C. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J. Computational Chem.* 2010. Vol. 31. P. 671-690. <https://doi.org/10.1002/jcc.21367>
142. Abraham M. J., Murtolad T., Schulz R. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers. *SoftwareX.* 2015. Vol. 1-2. P. 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.softx.2015.06.001>
143. SwissParam: A fast force field generation tool for small organic molecules / V. Zoete, M. A. Cuendet, A. Grosdidier, O. Michielin. *J. Computational Chem.* 2011. Vol. 32. P. 2359-2368. <https://doi.org/10.1002/jcc.21816>
144. Essmann U., Perera L., Berkowitz M. L. A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.* 1995. Vol. 103. P. 8577–8593. <https://doi.org/10.1063/1.470117>
145. Genheden S., Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. *Expert Opin. Drug Discov.* 2015. Vol. 10 (5). P. 449-461. <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.1032936>
146. Crystal structure and pharmacological characterization of a novel N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor antagonist at the GluN1 glycine binding site

/ Kvist T. et al. *J. Biol. Chem.* 2013. Vol. 288 (46). P. 33124-33135. Doi: 10.1074/jbc.M113.480210.

147. State of the Art in Industrial Application of Amino-1,2,4-Triazoles / Nazarov V. et al. *Mini-Reviews in Organic Chem.* 2023. Vol. 20. P. 394-402. DOI: 10.2174/1570193X19666220331155015

148. Синтез, фізико-хімічні властивості та антиоксидантна дія 7-заміщених 3-метил-8-R-3,7-дигідро-1H-пурин-2,6-діону / Прийменко Б. О., Васильєв Д. А., Прийменко А. О., Казунін М. С., Беленічев І. Ф. *Військова медицина України.* 2016. Т. 16, № 1. С. 96-106.

149. H. Abed Elwahab Al-Somaidai G. Synthesis and study the biological activity of some new derivatives of 1,2,4-triazole compounds. *Tikrit J. Pharm. Scie.* 2023. Vol. 1 (1). P. 64-70. <https://tjphs.tu.edu.iq/index.php/j/article/view/33/20>

150. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free radicals in biology and medicine. *Oxford Press*, 1999. 248 p.

151. Доклінічне вивчення специфічної активності потенційних лікарських засобів первинної та вторинної нейропротекції : методичні рекомендації / упоряд.: І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, О. О. Нагорна та ін. Київ, 2016. 93 с. <http://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/15026>

152. Моргунова С. А., Беленічев І. Ф. Антиоксидантна активність S-заміщених хіназоліну в умовах інгібування супероксидрадикала *in vitro*. *Вісник Запорізького нац. ун-ту.* 2009. № 1. С. 161-165.

153. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільно радикальних процесів *in vitro* (методичні рекомендації) / Ю. І. Губський та ін. К. : ДФЦ МОЗ України, 2002. 26 с.

154. Karpenko YV, Panasenko OI, Kulish SM, Domnich AV. Synthesis and acute toxicity of new S-derivatives (1,2,4-triazole-3(2H)-yl)methyl)

thiopyrimidines. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2023. Т. 16, № 2. С. 158-64. <http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/274586>

155. Сафонов А. А. Вивчення гострої токсичності 4-(R-аміно)-5-(тіофен-2-ілметил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіолів методом *in vivo*. *Фармац. журн.* 2018. № 2. С. 98-101. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.16.06>

156. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рекомендації / ред. О. В. Стефанов. Київ : Авіцена; 2001. 527 с. <https://cryo.net.ua/xmlui/handle/123456789/77>

157. Widmer R. J., Lerman A. Endothelial dysfunction and cardiovascular disease. *Glob. Cardiol. Sci. Pract.* 2014. Vol. 3. P. 291–308.

158. Silva J. M., Saldanha C. Arterial endothelium and atherothrombogenesis II-the role of endothelial dysfunction in atherothrombotic lesions. *Rev. Port. Cardiol.* 2006. Vol. 25. (12). P. 1159–1186.

159. Генетичні предиктори ендотеліальної дисфункції та дисліпідемічні патерни у пацієнтів з артеріальною гіпертензією і супровідним ожирінням / Бондар В. М., Чернишова К. С., Чернишова Г. О., Бондар К. В. *Досягнення біології та медицини*. 2019. № 2 (34). С. 49-53. <https://repo.odmu.edu.ua/xmlui/handle/123456789/6686>

160. Neurochemical status of nitric oxide in the settings of the norm, ischemic event of central nervous system, and pharmacological bn intervention / Belenichev I. et al. *Georgian Med. News.* 2021. Vol. 315. P. 169–176. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34365445/>

161. Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Disease: History and Analysis of the Clinical Utility of the Relation-ship / Little P. J., Askew C. D., Xu S., Kamato D. *Biomedicines.* 2021. Vol. 9 (6). P. 699. <https://doi.org/10.3390%2Fbiomedicines9060699>



162. Pharmacological properties of selenium and its preparations: from antioxidant to neuroprotector / Belenichev I. F. et al. *Res. Results Pharmacol.* 2021. Vol. 7 (4). P. 29–40. DOI: 10.3897/rrpharmacology.7.73051

163. Атеросклероз: клітинно-молекулярні механізми розвитку запалення в артеріях (узагальнення проблеми) / В. К. Казимирко та ін. *Лікарська справа.* 2022. № 1-2. С. 25–39. [https://doi.org/10.31640/2706-8803-2022-\(1-2\)-03](https://doi.org/10.31640/2706-8803-2022-(1-2)-03)

164. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: An individual participant meta-analysis / Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S. et al. *Lancet.* 2010. Vol. 375. P. 132–140. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)61717-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)61717-7)

165. Nitric oxide-dependent mechanism of endothelial dysfunction formation is a promising target link for pharmacological management / I. F. Belenichev et al. *Biopolymers and Cell.* 2022. Vol. 38, N 3. P 145–157. Doi: <http://dx.doi.org/10.7124/bc.000A79>

166. Belenichev I.F. The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats' subjected to experimental acute impairment of cerebral bloodflow: the therapeutic effects of nootropic drugs / I.F. Belenichev, S.V. Gorbacheva, N.V. Bukhtiyarova. *Neurochemical journal.* 2014. V. 8. № 1. P. 24-27.

167. Беленічев І. Ф., Єгоров А.А. Синергізм фармакологічного ефекту гліцину та тіотріазоліну. *Патологія.* 2021. Т. 18. N 1 С. 26-32. <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2021.1.228919>

168. Khilkovets A. V., Bilai I. M. Study of acute toxicity of new thiophene-containing derivatives of 1,2,4-triazole. *Запорізький мед. журн.* 2023. Т. 25, № 1. С. 46–49. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.1.266318

169. An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions / Ye. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets et al. *Pharmacia*. 2023. Vol. 70, N 1. P. 139–153. DOI: 10.3897/pharmacia.@@.e90783

## ДОДАТОК А1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету  
д.мед.н., професор  
В.О. Туманський  
2023р.



## Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene (3-ylmethyl) -4R-1,2,4-triazole-3-thiols
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Хількоєць А.В.
3. **Джерело інформації:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Farmatsevtichnyi zhurnal, 2021.V.76,№5.- P. 50-56. [https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y](https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.05y)
4. **Впроваджено:** кафедра фармацевтичної, органічної та біоорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
5. **Термін впровадження:** ~~01 вересень~~ 2023р. – ~~01 листопада~~ 2023р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає

**Відповідальний за впровадження**  
завідувачка кафедри фармацевтичної,  
органічної та біоорганічної хімії ЗДМФУ  
д. фарм. н., професор

 Людмила КУЧЕРЕНКО

## ДОДАТОК А2



## Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Хількоєць А.В.
3. **Джерело інформації:** Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. // Акт. питання фармац. мед. науки та практики. 2021. V.14, N2. P. 152-156. doi. 10.14739/2409-2932.2021.2.232334
4. **Впроваджено:** кафедра біологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
5. **Термін впровадження:** вересень 2023р. – жовтень 2023р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає

## Відповідальний за впровадження

В.о. завідувача кафедри біологічної хімії  
ЗДМФУ, д. фарм. н., доцент

Дмитро ІВАНЧЕНКО

## ДОДАТОК АЗ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету  
д.мед.н., професор  
В.О. Туманський  
2023р.



## Акт впровадження

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Study of acute toxicity of new thiophene-containing derivatives of 1,2,4-triazole.
- 2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Хількоєць А.В.
- 3. Джерело інформації:** Study of acute toxicity of new thiophene-containing derivatives of 1,2,4-triazole / A.V. Khilkovets, I.M. Bilai // Zaporozhye medical journal. 2023. N 25 (1). P. 46-49. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.1.266318
- 4. Впроваджено:** Навчально-науковий медико-лабораторний центру з віварієм ЗДМФУ
- 5. Термін впровадження:** вересень 2023р. – листопад 2023р.
- 6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково процесу Навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм.
- 7. Зауваження та пропозицій:** немає


Відповідальний за впровадження  
Керівник ННМЛЦ з віварієм ЗДМФУ,  
д.фарм.н., доцент



Роман ШЦЕРБИНА

## ДОДАТОК А4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи  
 Запорізького державного  
 медико-фармацевтичного університету  
 д.мед.н., професор  
 В.О. Туманський  
 03 2023р.



## Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene (3-ylmethyl) -4R-1,2,4-triazole-3-thiols
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Хількоєць А.В.
3. **Джерело інформації:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Farmatsevtichnyi zhurnal. 2021.V.76,№5.- P. 50-56. [https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y](https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.05y)
4. **Впроваджено:** кафедра фізколоїдної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
5. **Термін впровадження:** березень 2023р. – травень 2023р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає

Відповідальний за впровадження  
 завідувач кафедри фізколоїдної хімії ЗДМФУ  
 д. фарм. н., професор



Андрій КАПЛАУШЕНКО

## ДОДАТОК А5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з наукової роботи  
Запорізького державного  
медико-фармацевтичного університету  
д.мед.н., професор  
В.О. Туманський  
2023р.



## Акт впровадження

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols.
- 2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Хількоєць А.В.
- 3. Джерело інформації:** Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Акт. питання фармац. мед. науки та практики. 2021. V.14, N2. P. 152-156. doi. 10.14739/2409-2932.2021.2.232334
- 4. Впроваджено:** кафедра фізіологічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
- 5. Термін впровадження:** березень 2023р. – травень 2023р.
- 6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
- 7. Зауваження та пропозиції:** немає

Відповідальний за впровадження  
завідувач кафедри фізіологічної хімії ЗДМФУ  
д. фарм. н., професор

  
Андрій КАПЛАУШЕНКО

## ДОДАТОК А6



## Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** : Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії,
3. **Джерело інформації:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Farmatsevychnyi zhurnal. 2021.V.76,№5.- P. 50-56. <https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y>
4. **Впроваджено:** кафедра аналітичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.
5. **Термін впровадження:** березень 2023р. – травень 2023р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауваження та пропозиції:** немає

**Відповідальний за впровадження**  
завідувач кафедри аналітичної хімії ЗДФМУ  
д. фарм. н., професор,

 Світлана ВАСЮК



## ДОДАТОК А7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з наукової роботи  
 Запорізького державного  
 медико-фармацевтичного університету  
 д.мед.н., професор  
 В.О. Туманський  
 03 2023р.



## Акт впровадження

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions.

**2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії,

**3. Джерело інформації:** An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions. / Karpun Y, Fedotov S, Khilkovets A. et al. 2023. Pharmacia. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.@@.e90783>

**4. Впроваджено:** кафедра аналітичної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету.

**5. Термін впровадження:** березень 2023р. – травень 2023р.

**6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

**7. Зауваження та пропозиції:** немає

Відповідальний за впровадження  
 завідувач кафедри аналітичної хімії ЗДФМУ  
 д. фарм. н., професор,



Світлана ВАСЮК

## ДОДАТОК А8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор -  
проректор з навчальної роботи  
Дніпровського державного  
аграрно-економічного університету  
к. с.-г. наук, проф.

Д.М. Онопрієнко  
25 грудня 2023р.



## Акт впровадження

**1. Найменування пропозиції для впровадження:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene (3-ylmethyl) -4R-1,2,4-triazole-3-thiols

**2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії. Хільковець А.В.

**3. Джерело інформації:** Some transformations and physicochemical properties of new s-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Farmatsevychnyi zhurnal. 2021.V.76,№5.- P. 50-56. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.05y>

**4. Впроваджено:** в науковий та навчальний процес кафедрою інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного аграрно-економічного університету.

**5. Термін впровадження:** протокол засідання кафедри №6 від «22» грудня 2023 року

**6. Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

**7. Зауважень та пропозицій:** продовжити дослідження в ряді похідних 1, 2, 4-триазолів.

**Відповідальний за впровадження**

Завідувач кафедри інфекційних хвороб тварин,

кандидат ветеринарних наук, доцент

Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

## ДОДАТОК А9

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
 Проректор з науково-педагогічної,  
 наукової роботи Полтавського  
 державного аграрного університету,  
 доцент Олег ГОРБ  
 2023р.

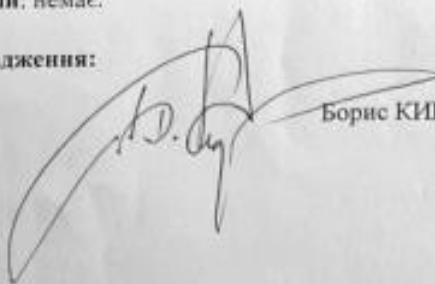


## Акт впровадження

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene (3-ylmethyl) -4R-1,2,4-triazole-3-thiols
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запоріжжя, 69035, просп. Маяковського 26, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії. Хільковець А.В.
3. **Джерело інформації:** Some transformations and physicochemical properties of new s-substituted 5-thiophene(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols / Khilkovets A. V. Farmatsevychnyi zhurnal. 2021.V.76,№5.- P. 50-56.[https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05u](https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.21.05u)
4. **Впроваджено:** кафедра хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету.
5. **Термін впровадження:** протокол засідання кафедри № 8 від «18» квітня 2023 року.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Зауважень та пропозицій:** немає.

Відповідальний за впровадження:

Д-р вет. наук, професор



Борис КИРИЧКО

**ДОДАТОК Б**  
**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ АВТОРОМ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ**  
**ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Khilkovets A. V. Investigation of physical and chemical properties of new derivatives of 5-(thiophene-3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2. С. 152-156. doi. 10.14739/2409-2932.2021.2.232334
2. Khilkovets A. V. Some transformations and physicochemical properties of new S-substituted 5-thiophene-(3-ylmethyl)-4R-1,2,4-triazole-3-thiols. *Фармацевтичний журнал*. 2021. Т. 76, № 5. Р. 50-56. <https://doi.10.32352/0367-3057.5.21.05y>
3. Khilkovets A. V., Parchenko V. V. Analysis of biological properties of 1,2,4-triazole-containing compounds (literature review). *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики* 2022. Т. 15, № 1 (38). С. 102-106. DOI:10.14739/2409-2932.2022.1.252392 (Особистий внесок - участь у проведенні літературного пошуку, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).
4. Khilkovets A. V., Parchenko V.V. Synthetic features of new 1,2,4-triazole derivatives. *SWorldJournal*. 2022. Vol. 11, N 3. P. 8-14. DOI: 10.30888/2663-5712.2022-11-03-053 (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку).
5. Synthetic and biological aspects of studying the properties of 1,2,4-triazole derivatives / A. Khilkovets, Y. Karpenko, O. Bigdan, M. Parchenko, V.r Parchenko. *Scientific Journal of Polonia University*. 2022. Vol. 51. P. 324-331. DOI: <https://doi.org/10.23856/5138> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку).
6. Khilkovets A. V., Bilai I. M. Study of acute toxicity of new thiophene-containing derivatives of 1,2,4-triazole. *Запорізький медичний журнал*. 2023. Т.

25, № 1. С. 46–49. DOI: 10.14739/2310-1210.2023.1.266318 (*Дисертантом проведено аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень фармакологічної активності, обговорення, підготовка тексту статті до друку*).

7. An in silico investigation of 1,2,4-triazole derivatives as potential antioxidant agents using molecular docking, MD simulations, MM-PBSA free energy calculations and ADME predictions / Ye. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets, Yu. Karpenko, V. Parchenko, Ya. Klochkova, Yu. Bila, I. Lukina, N. Nahorna, V. Nahorni. *Pharmacia*. 2023. Vol. 70, N 1. P. 139–153. DOI 10.3897/pharmacia.@@.e90783 (*Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка статті до друку*).

8. Хільковець А. В. Пошук нових сполук, які володіють гіполіпідемічною активністю у ряді тіофен-3-ілметилзаміщених 1,2,4-триазолів. *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ. м. Запоріжжя, 16 груд. 2020 р. Запоріжжя, 2020. С. 55. [http://zsmu.edu.ua/upload/files/student/201216\\_zb\\_tez.pdf](http://zsmu.edu.ua/upload/files/student/201216_zb_tez.pdf)

9. Хільковець А. В., Білай І. М. Нові тіофенвімісні 1,2,4-триазоли як об'єкти пошуку нових фармакологічно активних сполук. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2021* : зб. тез доп. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів, (м. Запоріжжя, 15-16 квіт. 2021 р.). Запоріжжя: ЗДМУ, 2021. С. 144-145. [http://zsmu.edu.ua/upload/razdel/210526\\_zbirnyk.pdf](http://zsmu.edu.ua/upload/razdel/210526_zbirnyk.pdf) (*Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез*).

10. Хільковець А. В. Деякі особливості синтезу нових 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Сучасні аспекти створення лікарських засобів* : тези доп. Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., присвяч. 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ (м. Харків, 16 квіт. 2021 р.). - Харків : НФаУ,

2021. С. 190. <https://anchem.nuph.edu.ua/wp-content/uploads/2021/04/100-anchem-2021.pdf>

11. Хільковець А. В. Синтез нових тіофенвмісних похідних 1,2,4-триазолу. *YOUNG SCIENCE 3.0* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. з міжнар. участю (в онлайн режимі) (м. Київ, 26 бер. 2021 р.). Київ, 2021. С. 134. <https://nuozu.edu.ua/s/orhany-hromadskoho-samovriaduvannia/naukove-tovarystvo-molodykh-vchenykh/materialy-konferentsii-molodykh-uchenykh>

12. Хільковець А. В., Білай І. М. Хімічна модифікація та фізико-хімічні властивості нових тіофенвмісних 1,2,4-триазолів. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів* : матеріали V Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 11-12 бер. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 823. <https://nni.nuph.edu.ua/liky-liudyni/> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).

13. Хільковець А. В., Білай І. М. Синтетичні та біологічні властивості нових похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 100-річчю Нац. фармацевтичного ун-ту, м. Харків, 10 вер. 2021 р. Харків : НФаУ, 2021. С. 39-40. <https://nuph.edu.ua/100-richchya-nfau/> (Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).

14. Хільковець А. В. Комп'ютерне прогнозування біологічної активності нових тіофенвмісних 1,2,4-триазолів. *Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності* : матеріали міжнар. наук.-практ. конференції, м. Дніпро 14-15 січ. 2022 р. Дніпро, 2022. С. 63-66.

15. Хільковець А. В. Деякі синтетичні підходи щодо пошуку нових біологічно активних сполук в ряді 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Актуальні проблеми сучасної освіти та науки: теорія, методологія,*

*практика* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Полтава 15 листоп. 2021 р. Полтава, 2021. С. 54-55

16. Хільковець А. В. Хімічне моделювання та фізико-хімічні властивості нових тіофенпохідних 1,2,4-триазол-3-тіону. *Запорізький фармацевтичний форум - 2021* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 25-26 листоп. 2021 р. Запоріжжя, 2021. С. 93.

17. Хільковець А. В. Синтетичні особливості нових біологічно активних сполук в ряді S-заміщених 5-(тіофен-3-ілметил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів. *Розвиток наукових міжгалузевих досліджень* : матеріали наук.-практ. конф. м. Вінниця, 26-27 листоп. 2021 р. Вінниця, 2021. С. 134-135.

18. Хільковець А. В., Бігдан О. А. Перспективні аспекти пошуку нових біологічно активних молекул серед тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Розвиток освіти, науки та бізнесу: результати 2021*: матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет конф. м. Дніпро, 6-7 груд. 2021 р. Дніпро. 2021. С. 57-58. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез)*.

19. Хільковець А. В., Парченко В. В. Дослідження властивостей нових похідних 1,2,4-триазолу, які містять фрагмент тіофену. *Scientific Research and Innovation: Proceedings of the 1st International Scientific and Practical Internet Conference, April 7-8, 2022. Dnipro* : FOP Marenichenko V.V., 2022. P. 257-258. Матеріали міжнародної науково-практичної інтернет-конференції. м. Дніпро. 2022. С. 257-258. *((Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, синтез та вивчення фізико-хімічних властивостей нових S-похідних 1,2,4-триазолу, підготовка тексту тез)*.

20. Хільковець А. В., Білай І. М., Михайлюк Є. О. Дослідження гострої токсичності нових 1,2,4-триазол похідних. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали ІХ наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 22-23 вер. 2022 р. Тернопіль

: ТНМУ, «Укрмедкнига», 2022. С. 161. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, проведення експериментальних досліджень фармакологічної активності, обговорення, підготовка тексту тез).*

21. Хільковець А. В., Парченко В. В., Жукова О. В. Дослідження антиоксидантної активності *in silico* нових гетероциклічних похідних 1,2,4-триазолів. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 17-18 листоп. 2022 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2022. С. 105. *(Дисертантом проведено аналіз літератури, участь в обговоренні результатів, підготовка тексту тез).*

22. Хільковець А. В. Вивчення гострої токсичності натрій 2-((4-феніл-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату. *Актуальні питання сучасної медицини та фармації -2023* : зб. тез доп. 83-ї Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 25-26 трав. 2023 р. Запоріжжя: ЗДМФУ, 2023. С. 113-114.



## **ДОДАТОК В**

### **ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**

1. Наукова конференція студентів ЗДМУ «Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки» (м. Запоріжжя, 16 грудня 2020 р.) – усна доповідь з публікацією тез.
2. Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації - 2021» (м. Запоріжжя, 15-16 квітня 2021 р.) – усна доповідь з публікацією тез.
3. Міжнародна науково-практична дистанційна конференція, присвячена 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ «Сучасні аспекти створення лікарських засобів» (м. Харків, 16 квітня 2021 р.) – публікація тез.
4. Науково-практична конференція з міжнародною участю «YOUNG SCIENCE 3.0» (м. Київ, 26 березня 2021 р.) – публікація тез.
5. Міжнародна науково-практична конференція «Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (м. Харків, 11-12 березня 2021 р.) – публікація тез.
6. Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 100-річчю Нац. фармацевтичного ун-ту «Відкриваємо нове сторіччя: здобутки та перспективи» ( м. Харків, 10 вересня 2021 р.) – публікація тез.
7. Міжнародна науково-практична конференція «Вітчизняна та світова медицина в умовах сучасності» (м. Дніпро, 14-15 січня 2022 р.) – публікація тез.

8. Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми сучасної освіти та науки: теорія, методологія, практика» (м. Полтава, 15 листопада 2021 р.) – усна доповідь з публікацією тез.

9. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2021» (м. Запоріжжя, 25-26 листопада 2021 р.) – усна доповідь з публікацією тез.

10. Науково-практична конференція «Розвиток наукових міжгалузевих досліджень» (м. Вінниця, 26-27 листопада 2021 р.) – публікація тез.

11. Міжнародна науково-практична інтернет конференція «Розвиток освіти, науки та бізнесу: результати 2021» (м. Дніпро, 6-7 грудня 2021 р.) – публікація тез.

12. 1-а Міжнародна науково-практична інтернет конференція «Scientific Research and Innovation» (м. Дніпро, 7-8 квітня 2022 р.) – публікація тез.

13. ІХ Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 22-23 вересня 2022 р.) – публікація тез.

14. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум - 2022» (м. Запоріжжя, 17-18 листопада 2022 р.) – публікація тез.

15. 83-тя Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини та фармації -2023» (м. Запоріжжя, 25-26 трав. 2023 р.) – публікація тез.



На електронний документ накладено: 1 (Один) підписи чи печатки:  
На момент друку копії, підписи чи печатки перевірено:  
Програмний комплекс: eSign v. 2.3.0;  
Засіб кваліфікованого електронного підпису чи печатки: ПТ Користувач ЦСК-1  
Експертний висновок: №04/05/02-1277 від 09.04.2021;  
Цілісність даних: не порушена;

Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)  
Підписувач: ХІЛЬКОВЕЦЬ АНАСТАСІЯ ВАЛЕРІЇВНА 3378502347;  
Належність до Юридічної особи: ФІЗИЧНА ОСОБА;  
Код юридичної особи в ЄДР: 3378502347;  
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 5E984D526F82F38F0400000F0454D017D97E004;  
Видавець кваліфікованого сертифіката: КНЕДП АЦСК АТ КБ "ПРИВАТБАНК";  
Тип носія особистого ключа: Незахищений;  
Тип підпису: Удосконалений;  
Сертифікат: Кваліфікований;  
Час та дата підпису (позначка часу для підпису): 11:44 26.02.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)  
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 11:44 26.02.2024;  
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)