

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

ЩЕРБАК МАРИНА ОЛЕКСІЇВНА



УДК 547.792.03/.04-021.58-026.8

**ДОСЛІДЖЕННЯ СИНТЕТИЧНИХ, ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ І БІОЛОГІЧНИХ
ВЛАСТИВОСТЕЙ 4-АМІНО-5-(2-, 3-, 4-НІТРОФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-
ТІОНІВ ТА ЇХ N- і S-ЗАМІЩЕНИХ**

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Запоріжжя – 2015

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Запорізькому державному медичному університеті Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник доктор фармацевтичних наук, доцент **Каплаушенко Андрій Григорович**, Запорізький державний медичний університет, завідувач кафедри фізикоїдної хімії.

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор **Омельянчик Людмила Олександрівна**, Запорізький національний університет, професор кафедри хімії;

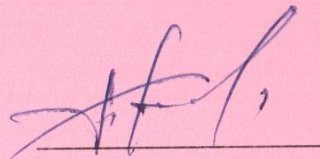
доктор фармацевтичних наук, доцент **Березнякова Наталя Леонідівна**, Національний фармацевтичний університет, доцент кафедри медичної хімії.

Захист відбудеться «29» червня 2015 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 17.600.03 при Запорізькому державному медичному університеті (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Запорізького державного медичного університету (69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26).

Автореферат розісланий «26» липня 2015 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради



В. В. Парченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Імпортозаміщення лікарських препаратів є однією з головних проблем для науковців сучасної фармацевтичної галузі України. Вивчення реакційної здатності, фізико-хімічних та біологічних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу в залежності від хімічної будови є цікавим та перспективним напрямом вирішення цієї проблеми. Завдяки широкому спектру біологічної активності одночасно з низькою токсичністю похідних даної гетероциклічної системи сучасна медицина має приклади успішного їх використання в якості протигрибкових, протипухлинних, антиоксидантних, гепатопротекторних, антидепресивних та противірусних лікарських засобів.

В останні декілька десятиліть синтез фармакологічно активних речовин на основі 1,2,4-тріазолу привертає увагу все ширшого кола як вітчизняних, так і закордонних науковців. На базі Запорізького державного медичного університету пошук фармакологічно активних агентів серед похідних 1,2,4-тріазолу здійснюють школи Є. Г. Книша, О. І. Панасенка та ін. Учені нашого університету працюють над даною проблематикою вже майже півстоліття. Як результат отримано препарат «Тіотріазолін», лікарський засіб «Тіокс», а також препарати ветеринарного напрямку «Авесстим» та «Трифузол», які проходять клінічні випробування.

Незважаючи на велику кількість публікацій, у літературі практично відсутні відомості щодо синтетичних, фізико-хімічних та біологічних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу, що мають у своєму складі одночасно нітрофенільний замісник та аміногрупу. Оскільки окремо ці замісники присутні в молекулах уже відомих лікарських засобів, їх поєднання в одній молекулі вірогідно призведе до появи речовин із високою фармакологічною активністю.

Виходячи з цього пошук біологічно активних речовин серед похідних 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, що містять нітрофенільні замісники, є актуальним, має теоретичну і практичну значимість.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до плану науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету з проблеми МОЗ України «Дослідження синтетичних, фізико-хімічних та біологічних властивостей похідних 5-арил- та 5-гетерил-1,2,4-тріазол-3-тіонів» (номер державної реєстрації 0113U005084, шифр теми ІН 15000213). Автором особисто проведені дослідження нових 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміщених.

Мета і задачі дослідження. Основною метою даної роботи є цілеспрямований пошук нових біологічно активних речовин серед 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміщених з протимікробною, протигрибковою, діуретичною, антиоксидантною, антигіпоксичною, актопротекторною, жарознижуючою, гіпоглікемічною і кардіопротекторною дією та низькою токсичністю.

Для реалізації означеної мети були поставлені такі задачі:

- провести аналіз і узагальнення літературних джерел стосовно хімічних та біологічних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу; розробити препаративні методики синтезу 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, для яких провести аналіз кількісного вмісту таутомерних форм;

- за допомогою квантово-хімічних розрахунків молекул спрогнозувати й дослідити подальші реакції електрофільного заміщення та синтезувати ряд 3-алкіл-, 3-карбоксиметил-, 3-нітрилометилентіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів;

- вивчити фізико-хімічні властивості, а саме, для 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів визначити здатність до адсорбції, для 2-(4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот встановити показники кислотності;

- вивчити окиснення атому Сульфуру 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів до чотири- та шестивалентного стану;

- запропонувати методики отримання 1- R_1 -3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл)тіосечовин, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів та 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R_1 -азо)-1,2,4-тріазол-3-тіонів;

- будову та індивідуальність отриманих речовин підтвердити комплексним використанням хімічних перетворень, зустрічного синтезу, елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектрофотометрії, ПМР-спектрометрії, ТШХ, ВЕРХ-МС;

- визначити потенційні види фармакологічної активності та встановити закономірності впливу замісників у положенні 5 ядра 1,2,4-тріазолу та за атомами Нітрогену аміногрупи і Сульфуру на біологічну активність. Найбільш активні в біологічному плані сполуки рекомендувати для доклінічних випробувань;

- для найбільш активної сполуки розробити та затвердити проекти лабораторної методики синтезу, технічних умов, а також «Методів контролю якості» на субстанцію.

Об'єкт дослідження. Способи синтезу, хімічні, фізико-хімічні, технологічні та біологічні властивості похідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та продуктів їх хімічних перетворень.

Предмет дослідження. N- і S- заміщені 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та продукти їх хімічних перетворень.

Методи дослідження. У роботі використані хімічні методи (реакції електрофільного заміщення і приєднання, етерифікації, гідразінолізу, нуклеофільного приєднання, циклізації тощо), біохімічні методи, фізико-хімічні методи (елементний аналіз, ТШХ, ВЕРХ-МС, УФ-, ІЧ-спектрофотометрія, ПМР-спектрометрія, потенціометрія), біологічні методи (вивчення протимікробної, антиоксидантної, антигіпоксичної, актопротекторної, жарознижуючої, гіпоглікемічної, кардіопротекторної та інших видів активностей), методи математичної статистики, бібліосемантичний метод.

Наукова новизна одержаних результатів. Запропоновано перспективний науковий напрям у синтезі біологічно активних структур на основі нових

похідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, при цьому одержано 96 нових сполук.

Розроблено ефективні методики одержання нових 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів, 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфініл-1,2,4-тріазолів, 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазолів, 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот та їх солей, 2-((4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетонітрилів, 1- R_1 -3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл)тіосечовин, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R_1 -азо)-1,2,4-тріазол-3-тіонів.

Уперше методом хромато-мас-спектрометрії встановлено кількісний склад суміші таутомерів для 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів на основі квантово-хімічних розрахунків, визначено нуклеофільні центри, спрогнозовано направленість та проведено реакції електрофільного заміщення.

Серед 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів визначено величини їх поверхневої активності та відносної адсорбції на поверхні поділу рідина-газ, що дало змогу встановити зв'язок між довжиною вуглеводневого ланцюга, величинами поверхневої активності та показником фармакологічної дії та токсичності.

Уперше для 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот та їх солей визначені константи кислотності, що дало змогу спрогнозувати відділ шлунково-кишківного тракту, в якому досліджувані сполуки будуть більш активно всмоктуватись при їх пероральному застосуванні.

Для ряду нових 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та продуктів їх хімічних перетворень вивчено гостру токсичність, протимікробну, протигрибкову, антиоксидантну, актопротекторну, антигіпоксичну, діуретичну, гіпоглікемічну, а також аналгетичну і кардіопротекторну активності, що дало змогу встановити зв'язок між наявністю й характером замісників та біологічною дією. Усього вивчено біологічну активність 72 нових речовин, 7 з яких за показниками фармакологічної дії значно перевищують еталонні препарати, тому їх можна запропонувати для поглибленого вивчення з метою створення оригінальних лікарських засобів. Наукова новизна роботи підтверджена патентом України на винахід (№№ 108689). Отримано 10 патентів України на корисну модель (№№ 80686, 83483, 88006, 88740, 94480, 94550, 97632, 97634, 98917, 98922).

Практичне значення одержаних результатів. Полягає в тому, що вирішено важливу задачу сучасної фармацевтичної науки, а саме, на основі вивчення синтетичних, фізико-хімічних та біологічних властивостей S- та N- заміщених 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів для поглибленого вивчення запропоновано 5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-3-нонілсульфоніл-1,2,4-тріазол гідрохлорид як потенційний кардіопротекторний засіб антиоксидантного типу дії, для якого розроблено та випробувано в

напівпромислових умовах методи отримання, складено й затверджено проекти технічних умов на кінцевий продукт (ТУ № У 24.1–00479712– 002:20144), а також проект МКЯ, що містить дані стосовно основних характеристик, методів ідентифікації і кількісного визначення основної речовини та можливих супутніх домішок.

Практична значимість роботи полягає в тому, що в процесі роботи розроблені препаративні методики синтезу 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів, 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфініл-1,2,4-тріазолів, 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазолів, 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот та їх солей, 2-((4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетонітрилів, 1- R_1 -3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл)тіосечовин, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R_1 -азо)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, вивчено біологічну активність 72 сполук, що дало змогу встановити вплив наявності і характеру замісників за атомом Сульфуру та атомом Нітрогену 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів на їх біологічну дію. Усе вищезначене може бути використане в подальших дослідженнях науковцями, які працюють в галузі органічного і фармацевтичного синтезу.

Результати роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету, токсикологічної та аналітичної хімії ЛНМУ ім. Данила Галицького, контролю якості й стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету.

За результатами наукових досліджень оформлені галузеві нововведення (№№ 392/35/11).

Особистий внесок здобувача. Під час роботи над дисертацією, дисертантом разом з науковим керівником визначено мету та задачі дослідження, а також розроблено методичні підходи, згідно з якими підібрано методи виконання експериментальної частини дисертації. Особисто дисертантом здійснено систематизацію літературних даних, патентно-інформаційний пошук, розроблені нові препаративні методики, відповідно до яких здійснено синтез в ряду 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміснених. В ході роботи реалізовано виконання експериментальної частини, аналіз спектральних досліджень та встановлення будови отриманих сполук. Дисертантом узагальнені отримані результати, сформульовані основні положення та висновки, які захищаються.

Результати власних експериментальних досліджень висвітлено у наукових працях, опублікованих у співавторстві. Співавторами наукових праць є науковий керівник, а також науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Апробація результатів дисертації. Основні фрагменти результатів дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на X міжнародній науковій медичній конференції студентів і молодих вчених (Москва, 2015), всеукраїнських науково-практичних конференціях «Хімія природних сполук» (Тернопіль, 2012), «Сучасні аспекти медицини і фармації» (Запоріжжя, 2014), міжнародних наукових конференціях «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (Запоріжжя, 2012), «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (Київ, 2012), «Роль сучасної медицини у забезпеченні здоров'я суспільства» (Одеса, 2012), «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2013), «Вітчизняна та світова медицина: вимоги сьогодення» (Дніпропетровськ, 2013), «Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі» (Одеса, 2014), регіональних науково-практичних конференціях «Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук» (Запоріжжя, 2012), «Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук» (Запоріжжя, 2014).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на спільному засіданні професорсько-викладацького складу кафедр Запорізького державного медичного університету 25 травня 2015 року.

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 30 робіт, у тому числі 1 монографія, 9 статей (7 у наукових фахових виданнях України, 4 з яких входять до наукометричних баз, 2 закордонні, що також цитуються), 1 патент України на винахід та 10 патентів України на корисну модель, 9 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається з вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літературних джерел, додатків. Дисертація викладена на 210 сторінках друкованого тексту (обсяг основного тексту 115 сторінок), ілюстрована 68 рисунками та 1 таблицею. Список літератури включає 240 джерел.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Дослідження реакцій електрофільного заміщення та біологічна активність в ряду 1,2,4-тріазолів (огляд літератури)

Проаналізовано і узагальнено літературні дані, які свідчать, що похідні 1,2,4-тріазолу все більш широко застосовуються з метою пошуку біологічно активних сполук і є перспективним класом гетероциклічних речовин, які можуть бути основою для створення нових оригінальних і ефективних лікарських засобів, що знайшло своє відображення в монографії «Похідні 4-аміно та 3-тіо-1,2,4-тріазолу як потенційні лікарські засоби».

У той же час недостатньо вивчені реакції алкілування похідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, а також реакції окиснення, відновлення, солеутворення, конденсації, діазотування, азосполучення. Цікавим аспектом є дослідження фізико-хімічних властивостей нових похідних 1,2,4-тріазолу, а саме, кількісного вмісту таутомерних форм, схильності до

адсорбції, кислотно-основних характеристик та їх впливу на фармакологічну дію. Крім того, недостатньо вивчена біологічна активність похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу, що містять аміногрупу та нітрофенільні замісники.

Дослідження реакційної здатності 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів за участю *s*-функції

В ході виконання експериментальної частини розроблені методики синтезу, за якими отримано ряд 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів. Так 2-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)гідразинкарбодитіони (сполуки 2.4-2.6, рис. 1) отримані взаємодією гідразидів відповідної 2-, 3-, 4-нітробензойної кислоти (2.1-2.3) з карбон дисульфідом у середовищі лужного розчину бутанолу.

Замикання 1,2,4-тріазолового циклу проходить в лужному середовищі, при цьому отримані 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіони (2.10-2.12). Речовини 2.10-2.12 синтезовані через проміжну стадію отримання відповідних *N'*-(гідразинкарбонотіол)-2-, 3-, 4-нітробензгідразидів (2.7-2.9, рис. 1), які з реакційної суміші не виділяли.

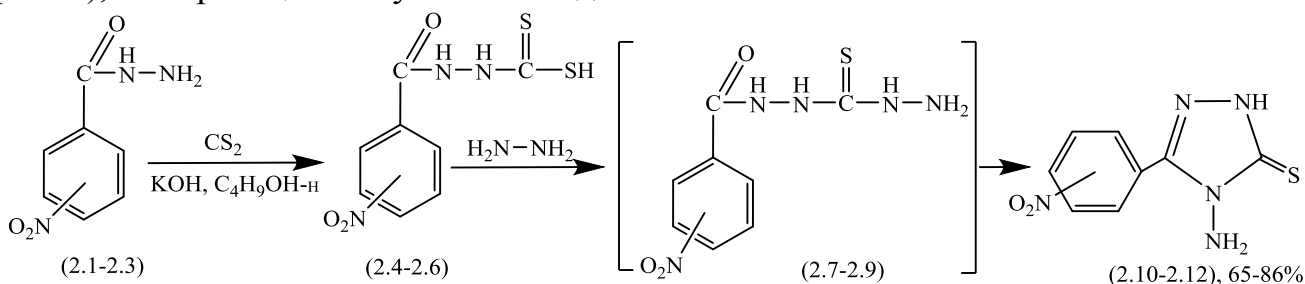


Рис. 1. Схема синтезу 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів (2.10-2.12)

З метою визначення реакційних центрів та за для прогнозування подальших реакцій нуклеофільного та електрофільного заміщення-приєднання за методом Х'юкеля з використанням комп'ютерної програми Hyper Chem[®] 10.0 проведено квантово-хімічні розрахунки молекул тіонів 2.10-2.12, які показали, що найбільшу електронегативність в молекулах 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів (2.10-2.12) мають атоми двовалентного Сульфуру, що має бути основним центром, за яким пройдуть реакції електрофільної атаки.

За допомогою одночасного використання хромато-мас- і УФ-спектрометрії проведено визначення і аналіз кількісного вмісту таутомерних форм 3-тіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів. При цьому встановлено, що в нативному стані переважає тіонна форма (97%), що при підвищенні рН зменшується в бік тіолу. Дані експерименту підтверджено розрахунками загальної електронегативності, що здійснено за допомогою програмного пакета MOPAC за методом MINDO/3.

Алкилування тіонів (2.10-2.12) галогідними алканами (1-бромпропан, 1-бромгексан, 1-бромгептан, 1-бромнонан, 1-бромдекан) проводилось в середовищі спирту в присутності еквімолекулярної кількості натрій гідроксиду (рис. 2).

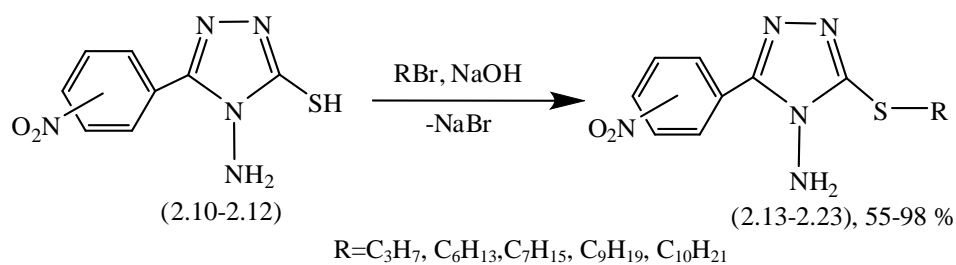


Рис. 2. Схема синтезу 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (2.13-2.23)

Для вивчення здатності до адсорбції (підтвердження правила Траубе) і проведення кореляції результатів дослідження з фармакологічними дослідями для 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (2.13-2.23) методом Ребіндера встановлено величину поверхневої активності синтезованих речовин на межі поділу рідина-газ. Результати показують, що зі збільшенням довжини вуглеводневого ланцюга поверхневий натяг спиртових розчинів знижується (рис. 3), а адсорбційна здатність речовин збільшується (рис. 4), хоча і в меншій мірі, ніж за правилом Траубе, однак пропорційна залежність все ж наявна.

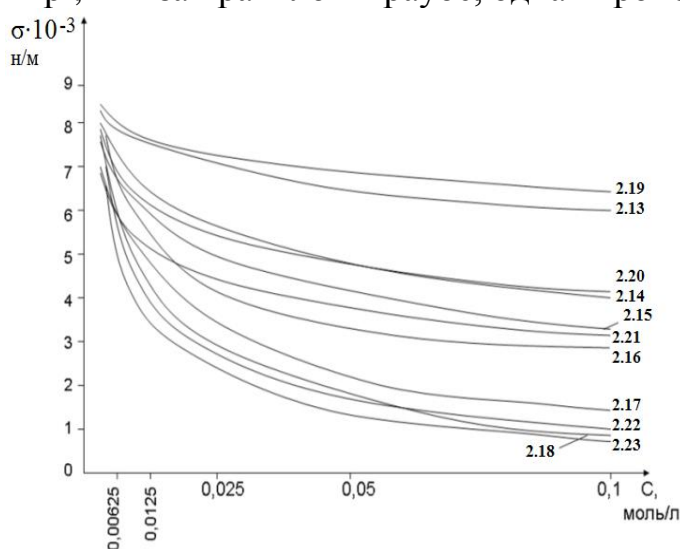


Рис. 3. Залежність поверхневого натягу від концентрації для сполук 2.13-2.23

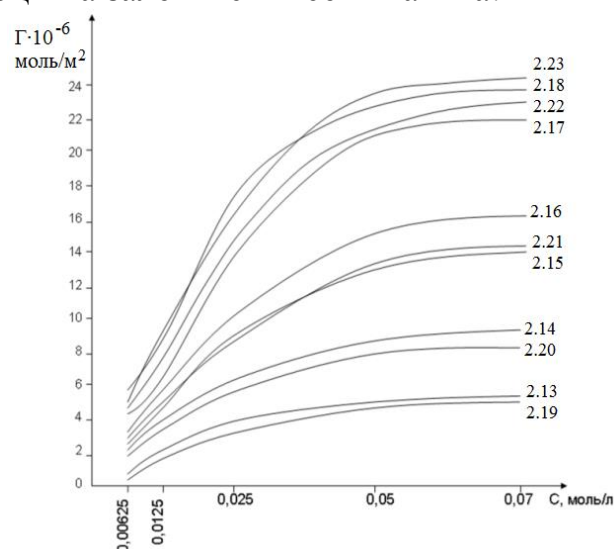


Рис. 4. Залежність величини адсорбції від концентрації для сполук 2.13-2.23

Встановлено, що окиснення 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (2.14-2.18, 2.20, 2.21, 2.23) розчином калій гідрогенпероксосульфату у середовищі 1,4-діоксану призводить до утворення відповідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфініл-1,2,4-тріазолів (2.24-2.31, рис. 5).

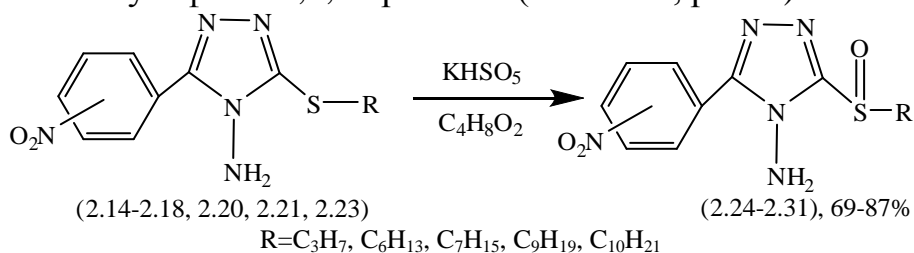


Рис. 5. Схема синтезу 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфініл-1,2,4-тріазолів (2.24-2.31)

На відміну від сульфоксидів для отримання ряду 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазолів слід використати більш активний окисник, що окиснить атом Сульфуру до VI-валентного стану. Для окиснення 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів-3-тіоалканів (2.13-2.17, 2.20-2.23) використано розчин гідроген пероксиду. Реакцію проводили в концентрованій ацетатній кислоті (рис. 6).

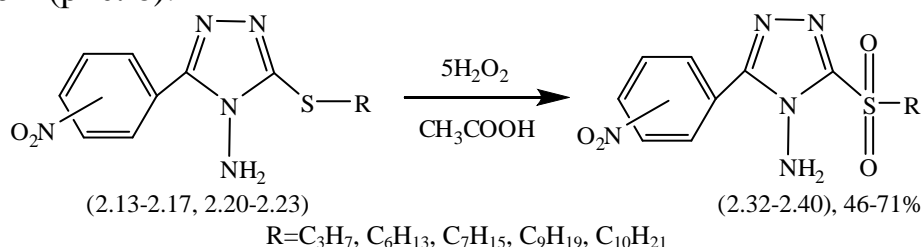


Рис. 6. Схема синтезу 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-3-алкілсульфоніл-1,2,4-тріазолів (2.32-2.40)

Як відомо з літературних джерел похідні 1,2,4-тріазол-3-ілтіоацетатних кислот проявляють широкий спектр біологічної активності. Алкілування 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (2.10-2.12) проводили їх нагріванням з кислотою хлорацетатною у водному середовищі без додавання натрій гідроксиду або з додаванням його еквімолекулярної кількості (рис. 7).

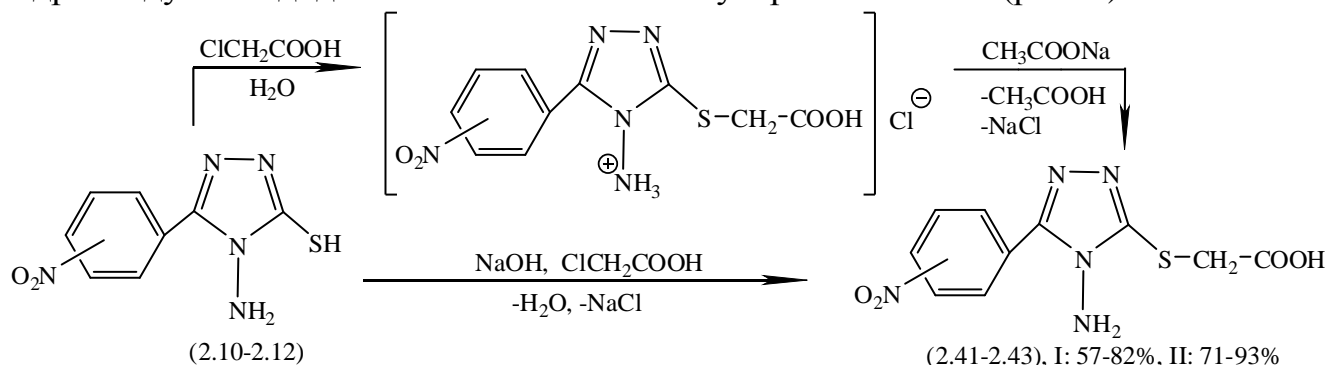


Рис. 7. Схема синтезу 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот (2.41-2.43)

Речовини (2.41-2.43), отримані з використанням двох методик, не дають депресії температури плавлення, але друга методика характеризується більш високими виходами і рекомендована для подальшого використання.

Калієві, натрієві та амонійна солі (2.44-2.46, 2.51-2.53) 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот синтезовані взаємодією відповідних кислот (2.41-2.43) з розчинами калій, натрій гідроксиду чи амоніаком у водному середовищі з подальшим випаровуванням розчинника (рис. 8). Купрум (II) та ферум (II) 2-(5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетати (2.47, 2.48) отримано відповідно з калій або натрій 2-(5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатів (2.45, 2.46) додаванням купрум (II) сульфату або ферум (II) хлориду. Солі 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот з органічними основами (2.49-2.50, 2.54-2.59) (монометиламоній, диметиламоній, диетиламоній, моноетаноламоній, морфолін,

піперидин) синтезовані розчиненням вихідних речовин в етанолі та подальшим випаровуванням розчинника (рис. 8).

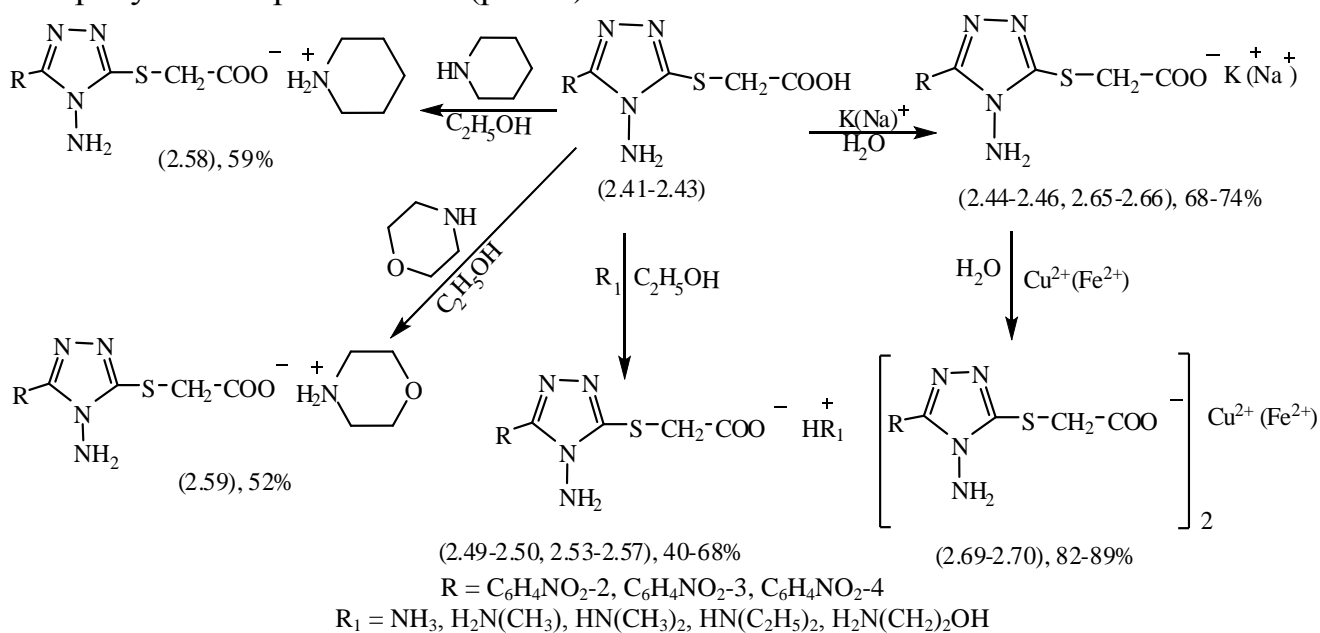


Рис. 8. Схема синтезу солей 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот (2.44-2.59)

Розглядаючи 1,2,4-тріазол-3-ілтіюацетатні кислоти та їх солі слід зазначити наявність у даних сполук амфотерних властивостей, обумовлених одночасною присутністю кислотного (-COOH) і основного (NH₂-групи в sp²-гібридації) центрів.

Для визначення кислотно-основного критерію проведені теоретичні розрахунки констант іонізації сполук (2.41-2.70) за методами Спикмена і Бейтса. На ряду з цим константи іонізації сполук (2.41-2.70) визначено експериментально і вони практично не відрізняються від розрахованих. Найсильніші кислотні властивості має 2-(4-аміно-5-(2-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатна кислота (2.41) та її солі, найменш виражені кислотні властивості виявлені у 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатної кислоти. Даний факт можна пояснити тим, що нітрогрупа як замісник електронакцепторного характеру знаходиться в *орто*-положенні і найбільш активно стягує на себе електронну густину, у тому числі з ядра 1,2,4-тріазолу. Нітрогрупа, що знаходиться далі в ланцюгу супряження, а саме, в *мета*-положенні, менш активно стягує електронну густину, найменші електронакцепторні властивості нітрогрупи виявлені при її максимальному віддаленні від 1,2,4-тріазолового циклу, тобто у *пара*-ізомеру.

Порівнявши величини констант іонізації (розраховані та визначені експериментальним шляхом) слід припустити, що обговорювані кислоти та їх солі при їх пероральному застосуванні будуть більш активно всмоктуватись у шлунку (рН 1-3) або в товстому (рН 8) кишківнику. Тому бажано рекомендувати дані сполуки у вигляді таблеток для перорального застосування.

Ряд 2-(4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетонітрилів (2.60-2.62) отримані недовготривалою взаємодією вихідних тіонів (2.10-2.12) з

хлорацетонітрилом за кімнатної температури (рис. 9). Продукти реакції (сполуки 2.60-2.62) виділяли додаванням води до реакційної суміші. 2-(4-Аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетонітрили (2.60-2.62) відфільтровували, кристалізували з суміші метанол:вода 1:1.

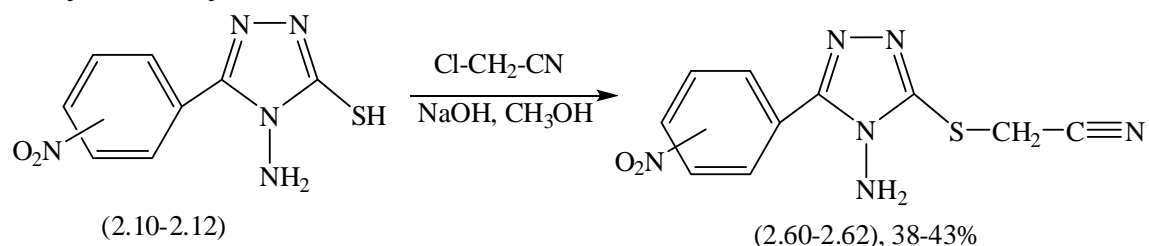


Рис. 9. Схема синтезу 2-(4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетонітрилів (2.60-2.62)

Дослідження реакційної здатності 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів за участю N-функції

Враховуючи високі фармакологічні властивості 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіону однією з пріоритетних задач роботи був синтез, дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей N-заміщених 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів.

Дією ізотіоціонатів (метилізотіоціонату, етилізотіоціонату, фенілізотіоціонату) на 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіони (2.10-2.12) у середовищі 1,4-діоксану вперше отримано ряд 1- R_1 -3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл) тіосечовин (рис. 10). Вихідні речовини нагрівали до утворення розчину та залишали за кімнатної температури протягом 24 год. Продукти реакції відфільтровували і висушували.

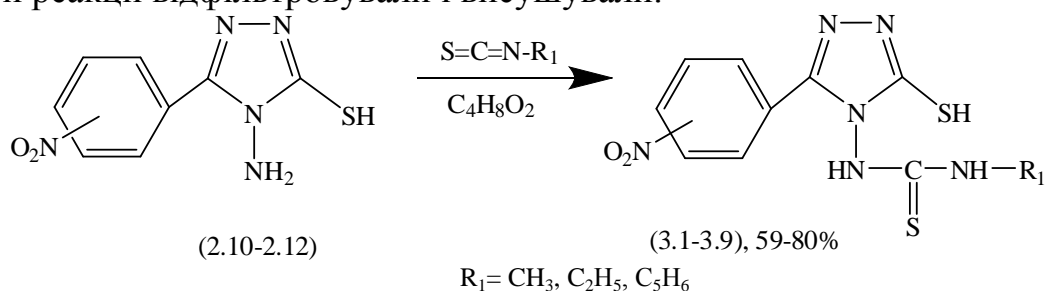
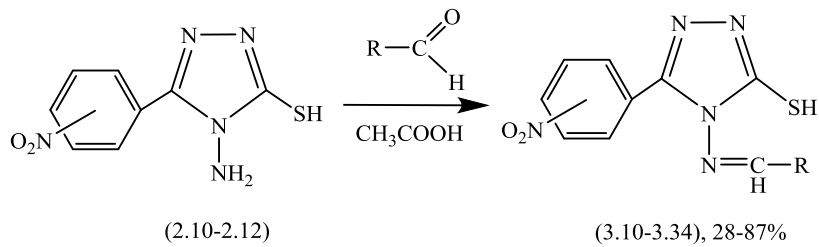


Рис. 10. Схема синтезу 1- R_1 -3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл)тіосечовин (3.1-3.9)

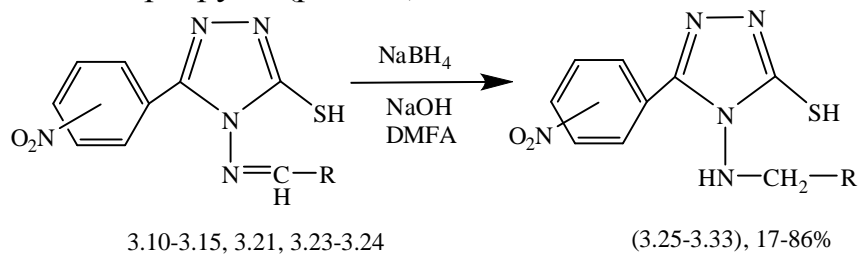
На наступному етапі з метою вивчення фармакологічної активності та встановлення зв'язків між біологічною дією і будовою синтезованих речовин серед N-заміщених 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів вперше були синтезовані 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензилденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіони. Відповідні 4-ілденаміни (3.10-3.24, рис. 11) отримані дією альдегідів на 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіони (2.10-2.12). Слід зазначити, що дана реакція каталізується кислотами, тому проводили синтез у середовищі ацетатної кислоти.



R= C₆H₄-F-3, C₆H₄-F-4, C₆H₄-Cl-4, C₆H₄-OH-2, C₆H₄-NO₂-3, C₆H₄-NO₂-4, C₆H₄-OCH₃-3, C₆H₄-NC₂H₅-3, C₆H₃-(OCH₃)₂-1,3, C₆H₃-(OCH₃)₂-2,3, C₆H₃-OCH₃-2-OC₂H₅-3, C₆H₂-OH-3-OCH₃-2-NO₂-4, C₉H₅NCl-2, C₁₃H₉N₂C₁₆H₁₃N₂O₂S

Рис. 11. Схема синтезу 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (3.10-3.24)

Для розширення спектра пошуку біологічно активних речовин поставили за мету дослідити реакцію відновлення подвійного зв'язку безпосередньо у 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів. Розроблено препаративну методику селективного відновлення подвійного зв'язку аліфатичної іліденаміногрупи C=N, при цьому з невисокими виходами отримано сполуки 3.25-3.33. В якості відновлювального агенту було обрано натрій боргідрид, у середовищі диметилформаміду, що дозволяє провести відновлення подвійного зв'язку за наявності нітрогрупи (рис. 12).



R= C₆H₄-F-3, C₆H₄-F-4, C₆H₄-OH-2, C₆H₄-NO₂-3, C₆H₄-NO₂-4, C₆H₃-(OCH₃)₂-2,3, C₆H₂-OH-3-OCH₃-2-NO₂-4, C₁₃H₉N₂, C₁₆H₁₃N₂O₂S

Рис. 12. Схема синтезу 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (3.25-3.33)

Розроблено препаративні методики отримання 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів (рис. 13), при цьому встановлено оптимальні умови проведення реакції діазотування. Проведення процесу здійснювали при 0⁰C з інтенсивним перемішуванням. Лімітуючою стадією процесу є нітרוзування, тому швидкість реакції залежить від pKa аміну і кислотності середовища.

Для оптимізації pH середовища за допомогою сайту chemicalize.org проведено розрахунок значення pKa для аміногрупи вихідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (2.10-2.12). Отримані дані свідчать, що pKa аміногрупи сполук 2.10-2.12 знаходиться в межах 1,41-1,52. Таким чином, для зміщення рівноваги в бік основи необхідно використовувати pH > 1,52. Процес проводили при pH 2,0, тому що в занадто кислому середовищі реакція з сильною основою не проходить, але при цьому отримали низькі виходи цільових продуктів. Для збільшення виходу pH середовища підвищували до 3,0, але при pH 3,0 амін не розчинявся в реакційній суміші, тому як оптимальне значення для препаративного синтезу використано pH 2,5.

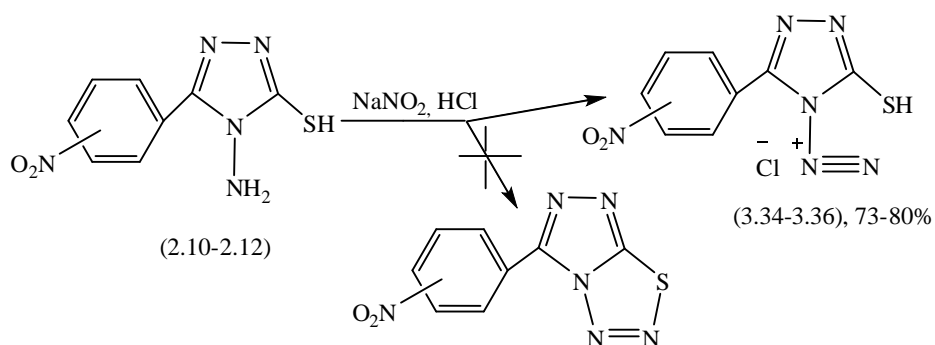


Рис. 13. Схема синтезу 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів (3.34-3.36)

Отримані 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлориди (3.34-3.36) не стійкі, саме тому були одразу використані в подальшій реакції азосполучення (рис. 14).

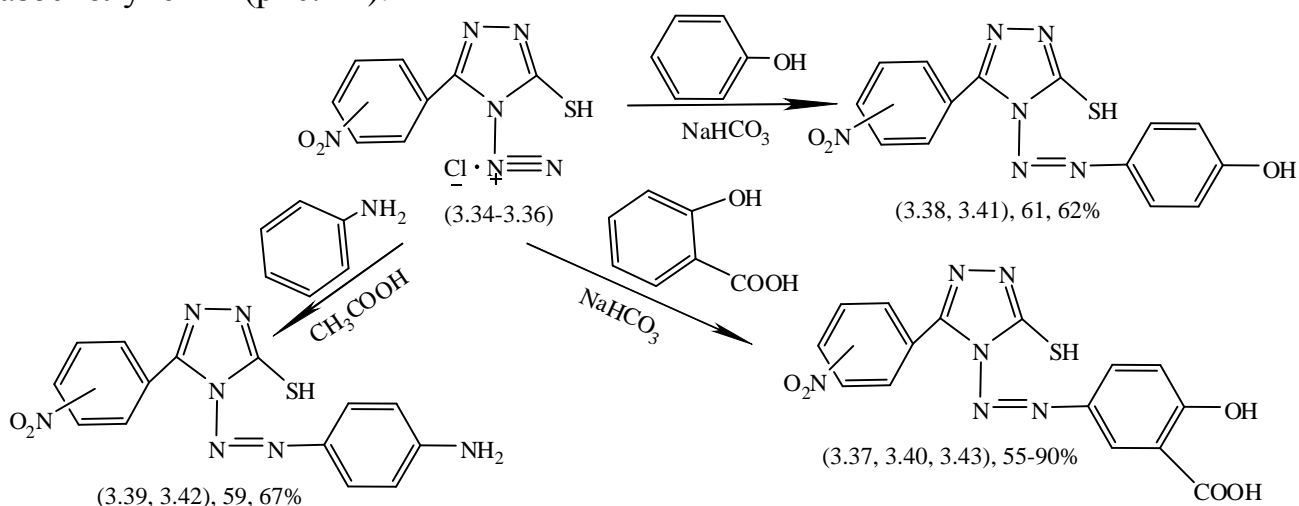


Рис. 14. Схема синтезу 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R₁-азо)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (3.37-3.43)

Поєднання солей діазонію з фенолами проводили в слабколужному середовищі, в якому вони добре розчиняються і знаходяться в активній фенолятній формі. При цьому поєднання з амінами краще вести в слабкокислому середовищі (розбавлена оцтова кислота). За цих умов аміни розчиняються, значна частина їх знаходиться в активній формі, а солі діазонію стійкі. Сильно кисле середовище неприпустиме, оскільки група $-\text{NH}_3^+$ є акцептором електронів і дезактивує ароматичне ядро. Солі амінів не можуть вступати в реакцію азосполучення.

При проведенні реакції враховували, що азосполучення ведуть за низьких температур (0-25°C), щоб уникнути розкладання солі діазонію. Продукт реакції не розчиняється, і тому був виділений з реакційної маси фільтруванням.

Підтвердження будови, встановлення індивідуальності та чистоти отриманих речовин та потенційної субстанції проведено комплексним використанням хімічних перетворень, зустрічного синтезу, елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектрофотометрії, ПМР-спектроскопії, ТШХ, ВЕРХ-МС.

Обговорення біологічної активності синтезованих 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних. Хіміко-технологічні та аналітичні аспекти виготовлення найбільш активної речовини

Проведено аналіз і узагальнення наукової літератури, що містить інформацію стосовно біологічної активності похідних 1,2,4-тріазолу, які були синтезовані за останні десятиліття, узагальнені данні викладено у монографії «Похідні 4-аміно та 3-тіо-1,2,4-тріазолу як потенційні лікарські засоби». Спираючись на результати, отримані попередніми дослідженнями, звузили спектр видів біологічної дії та відібрали класи речовин, вивчення біологічної дії яких, мало виявити найактивніші сполуки. Дослідження проводились на гостру токсичність, протимікробну, протигрибкову, антиоксидантну, актопротекторну, антигіпоксичну, кардіопротекторну, діуретичну, гіпоглікемічну, анагетичну активності.

Досліди проводились на кафедрі мікробіології і вірусології Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри д. мед. н., доцент Камишний О. М.), кафедрі фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри д. біол. н., доцент Тржецинський С. Д.), кафедрі клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО Запорізького державного медичного університету (завідувач кафедри д. мед. н., професор Білай І. М., дослідження проводив к.фарм.н. Пругло Є. С.), кафедрі фармакології та медичної рецептури (завідувач кафедри д. біол. н., професор Беленічев І. Ф.) та кафедрі фармакології Луганського державного медичного університету (зав. кафедри д. мед. н., проф. В. Д. Лук'янчук). Результати вивчення біологічної активності наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Біологічна активність синтезованих сполук

Вид активності	Кількість досліджених сполук	Кількість сполук, що перевищують активність еталону порівняння	Еталони порівняння
Протимікробна	17	3	Етакридину лактат
Діуретична	22	5	Гіпотіазид
Антиоксидантна	21	14	Вітамін Е
Антигіпоксична	15	2	Пентоксифілін
Актопротекторна	23	12	Інозин
Гіпоглікемічна	8	3	Глімепірид
Жарознижуюча	10	4	Кислота ацетилсаліцилова

Досліджено гостру токсичність 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних, при цьому LD₅₀ досліджуваних сполук знаходиться в межах 512-1256 мг/кг.

Під час вивчення біологічної дії нових синтетичних похідних 1,2,4-тріазолу знайдені речовини з високими показниками протимікробної (3 з 17), антиоксидантної (14 з 21), антигіпоксичної (2 з 15), діуретичної (5 з 22), актопротекторної (12 з 23), гіпоглікемічної (3 з 8) та жарознижуючої (4 з 10) дії.

Встановлені закономірності впливу наявності й характеру радикалів у положенні 5 ядра 1,2,4-тріазолу, а також замісників за атомами Нітрогену аміногрупи і Сульфуру похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, а саме:

- найбільш токсичними у більшості випадків виявились сполуки, що мають у своєму складі 4-нітрофенільний замісник, при цьому 4-нітропохідні 1,2,4-тріазолу мають вищі показники діуретичної та антиоксидантної активності у порівнянні з 2-нітро- та 3-нітропохідними;

- алкілування тіонів галоїдними алканами призводить до зниження токсичності, підвищення діуретичної та актопротекторної дії;

- збільшення довжини вуглеводневого ланцюга підвищує актопротекторну дію, що пояснюється збільшенням адсорбційної зданості, а також до підвищення токсичності та зниження діуретичної активності сполук, що корелюється з результатами розчинності;

- окиснення 3-алкілтіопохідних 1,2,4-тріазолу призводить до зниження показників токсичності та діуретичної активності, натомість підвищує антиоксидантну дію;

- алкілування тіонів кислотою хлорацетатною підвищує діуретичну, антиоксидантну та актопротекторну активності;

- серед N-заміщених високі показники протимікробної дії вивчені у 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів.

За результатами вивчення біологічної активності отриманих сполук для поглиблених доклінічних випробувань рекомендовані 7, а саме, 4-((3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-ілїміно)метил)-2-метокси-6-нітрофенол (3.21), 2-гідроксиетиламоній 2-((4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат (2.55), 2-((3-меркапто-5-(3-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-іл-їміно)метил)фенол (3.13), 4-((2,3-диметоксибензіліден)аміно)-5-(2-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон (3.12), 4-((3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-іламіно)метил)-2-метокси-6-нітрофенол (3.31), ферум(II) 2-(5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат (2.47), 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін (2.39).

Оскільки в даний час для корекції станів, що супроводжуються ендотеліальною дисфункцією, перспективними вважаються препарати, що володіють антиоксидантною та антигіпоксичною дією, було запропоновано вивчення кардіопротекторної дії 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну (2.39) у вигляді гідрохлориду, показники якого значно перевищували еталон порівняння (вітамін Е) за антиоксидантними властивостями.

Дослідження кардіопротекторної активності проводились на кафедрі фармакології та медичної рецептури (завідувач кафедри д. біол. н., професор Беленічев І. Ф.). Експериментальні дослідження проведено згідно з «Методичними рекомендаціями з доклінічного вивчення потенційних лікарських

засобів з кардіопротекторною активністю». Досліди було виконано на 50 щурах лінії Вістар масою 170-180г, отриманих із розплідника Інституту фармакології та токсикології АМН України. Досліди проводили на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів. Інфаркт міокарда моделювали поетапним введенням ізадрину та пітуїтрину. Кардіопротекторну активність 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну гідрохлориду оцінювали за зниженням летальності, покращенням показників ЕКГ, зниженням гіперферметемії кардіоспецифічних ізоензимів, підвищенням активності антиоксидантних ферментів та зниженням маркерів оксидативного стресу. Крім того, кардіопротекторну активність оцінювали за станом системи оксиду нітрогену міокарда.

Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в міокарді визначали маркери окисної модифікації білку – АФГ та КФГ. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю ГПР. Про продукцію NO свідчив вміст його стабільних метаболітів – нітратів цитозольної фракції гомогенату серця.

Під час моделювання ІМ спостерігалось пригнічення активності ГПР і підвищення рівня маркерів окислювальної модифікації білка АФГ і КФГ у міокарді. Введення 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну гідрохлориду та мілдронату виявляло значний антиоксидантний ефект, що спостерігалось в підвищенні активності ГПР та зниженні маркерних продуктів – АФГ та КФГ в цитозолі міокарда. При чому під час зниження маркеру ОМБ-КФГ 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін гідрохлорид цілком певно мав перевагу над мілдронатом. Моделювання інфаркту міокарда призводило до утискання процесів синтезу оксиду азоту, який виконував в умовах ішемії міокарда роль ендотеліопротекторного й кардіопротекторного фактору, про що свідчить зниження продукції стабільних метаболітів оксиду азоту – нітратів. 3-(4-Нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін гідрохлорид виявляє протекторну дію на систему оксиду азоту за умов ішемії. Введення тваринам з інфарктом міокарда 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну гідрохлориду призводить до збільшення продукції NO, про що свідчило підвищення вмісту нітратів. Щодо ступеня впливу на приріст нітратів, досліджувана сполука цілком певно має перевагу над мілдронатом. Однак, NO-залежні механізми кардіопротекторної дії 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну вимагають додаткових досліджень.

Лабораторні методики постадійного синтезу та проекти технічних умов на 4-аміно-3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазолу гідрохлорид (ТУ № У 24.1-00479712-002:2014) розроблені та затверджені фахівцями підприємства ПАТ «Біолік» (м. Ладижин) під керівництвом технічного директора О. М. Мащенко. Усі вищеперераховані речовини виробляються на підприємстві ПАТ «Біолік» як реактиви для синтезу.

Розробку проекту «Методів контролю якості субстанції для виготовлення стерильних лікарських форм», що містить 4-аміно-3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазолу гідрохлорид проводили спільно з кафедрою аналітичної хімії ЗДМУ (зав. кафедри д. фарм. н., професор Васюк С.О.) та кафедрою стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії

післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика (завідувач кафедри д. фарм. н., професор Ветютнева Н. О.). Ідентифікацію субстанції проводять методом ІЧ-спектрометрії (ДФУ 2.2.24), кількісне визначення – неводним потенціометричним титруванням або за альтернативною методикою – методом рідинної хроматографії з внутрішнім стандартом (ДФУ 2.2.29). Випробування на супутні домішки – методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29) з мас-детектуванням. Залишкові розчинники визначають методом газової хроматографії (ДФУ 2.2.28).

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота містить експериментальне вирішення важливої наукової задачі з пошуку малотоксичних і високоефективних сполук на основі цілеспрямованого синтезу 96 нових 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміщених, для яких розроблені препаративні методики синтезу, вивчені фізико-хімічні властивості, встановлено будову та індивідуальність. Вивчення біологічної активності дозволило встановити закономірності «будова-дія», а також запропонувати для поглибленого вивчення малотоксичний 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін гідрохлорид як потенційний антиоксидант і антигіпоксанти з кардіопротекторними властивостями, для якого запропоновано потенційний механізм дії і розроблені та затверджені проекти лабораторних методик синтезу, технічних вимог, а також МКЯ на субстанцію.

1. Розроблено препаративні методики отримання 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, для яких уперше проведено аналіз кількісного вмісту таутомерних форм, визначено зв'язок структури з УФ- та мас-спектрами, при цьому встановлено, що в нативному стані переважає тіонна форма (97%), що при підвищенні рН зменшується в бік тіолу.

2. Проведені квантово-хімічні розрахунки дали змогу визначити нуклеофільні центри, спрогнозувати і провести подальші реакції електрофільного заміщення, у результаті чого синтезовано ряд 3-алкіл(нітрилометил)тіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів, для частини з яких визначено величини поверхневої відносної адсорбції. Встановлено, що зі збільшенням довжини вуглеводневого ланцюга адсорбційна здатність речовин збільшується.

3. Вивчено реакції окиснення атому Сульфуру 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів до чотири- та шестивалентного стану.

4. Розроблені прості у виконанні методики синтезу 2-(4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот та їх солей, для яких встановлено закономірності впливу замісників на кислотно-основні властивості, що дало змогу спрогнозувати, що речовини даного ряду при їх пероральному застосуванні будуть більш активно всмоктуватись в шлунку або товстому кишківнику.

5. Запропоновано ефективні методики отримання 1-R₁-3-(3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-іл)тіосечовин, 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів, для яких розроблено препаративну

методику селективного відновлення аліфатичної C=N-групи. Також розроблено препаративні методики отримання 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазоній хлоридів, при цьому встановлено оптимальні умови проведення реакції діазотування та подальшого азосполучення.

6. Підтвердження будови, встановлення індивідуальності та чистоти отриманих речовин та потенційної субстанції проведено комплексним використанням хімічних перетворень, зустрічного синтезу, елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектрофотометрії, ПМР-спектрометрії, ТШХ, ВЕРХ-МС.

7. Під час вивчення гострої токсичності нових 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних встановлено, що їх LD₅₀ знаходиться в межах 512-1256 мг/кг, при вивченні біологічної дії 72 сполук знайдені речовини з високими показниками протимікробної (3 з 17), антиоксидантної (14 з 21), антигіпоксичної (2 з 15), діуретичної (5 з 22), актопротекторної (12 з 23), гіпоглікемічної (3 з 10) та жарознижуючої (4 з 10) дії і встановлені закономірності впливу наявності і характеру радикалів у положенні 5 ядра 1,2,4-тріазолу, а також замісників за атомами Нітрогену аміногрупи і Сульфур у похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, а саме:

- найбільш токсичними у більшості випадків виявились сполуки, що мають у своєму складі 4-нітрофенільний замісник, при цьому 4-нітропохідні 1,2,4-тріазолу мають вищі показники діуретичної та антиоксидантної активності у порівнянні з 2-нітро- та 3-нітропохідними;

- алкілування тіонів галоїдними алканами призводить до зниження токсичності, підвищення діуретичної та актопротекторної дії;

- збільшення довжини вуглеводневого ланцюга підвищує актопротекторну дію, що пояснюється збільшенням адсорбційної зданості, а також до підвищення токсичності та зниження діуретичної активності сполук, що корелюється з результатами розчинності;

- окиснення 3-алкілтіопохідних 1,2,4-тріазолу призводить до зниження показників токсичності та діуретичної активності, натомість підвищує антиоксидантну дію;

- алкілування тіонів кислотою хлорацетатною підвищує діуретичну, антиоксидантну та актопротекторну активності;

- серед N-заміщених високі показники протимікробної дії вивчені у 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів.

8. Під час дослідження біологічної активності для поглибленого вивчення рекомендовано малотоксичний 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін гідрохлорид, для якого підтверджено високі показники антиоксидантної, антигіпоксичної та кардіопротекторної активності і запропоновано потенційний механізм дії, а також розроблені та затверджені проекти лабораторних методик синтезу, технічних вимог щодо кінцевого продукту, а також МКЯ на субстанцію.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Похідні 4-аміно та 3-тіо-1,2,4-тріазолу як потенційні лікарські засоби : монографія / [Ю. М. Колесник, А. Г. Каплаушенко, Є. Г. Книш, О. І. Панасенко, М. О. Щербак, Ю. Г. Самелюк]. – Запоріжжя, 2014. – 278 с. (Дисертантом особисто виконано частину аналізу літературних джерел, підготовлено монографію до друку).

2. Щербак М. О. Методи синтезу, фізико-хімічні властивості та подальші перетворення в ряду 4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко // Фармац. журн. – 2013. – № 2. – С. 10–19. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, зроблені висновки та оформлено статтю).

3. Щербак М. О. Синтез, фізико-хімічні властивості та подальші перетворення 5-(3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх іліденамінопохідних / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 129–132. (Дисертантом особисто виконано частину експериментального дослідження, узагальнив отримані результати, підготував статтю до друку).

4. Щербак М. О. Синтез ряду 3-алкілпохідних 3-тіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів та їх подальше окиснення / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко, М. М. Малецький // Фармаком. – 2013. – № 4. – С. 70-75. (Дисертантом особисто проведені дослідження, зроблені висновки та оформлено статтю).

5. Щербак М. О. Вплив адсорбційних властивостей 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів на їх токсичність та актопротекторну активність / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко // Укр. біофармац. журн. – 2014. – № 2. – С. 68–72. (Дисертантом самостійно проводився аналіз літературних джерел, виконано частину експериментального дослідження, підготовлено статтю до друку).

6. The research on creation the dosage form based on 3-(4-nitrophenyl)-5-(nonylsulfonyl)-1,2,4-triazol-4-amine / М. А. Shcherbak, А. G. Kaplaushenko, N. N. Maletskiy, Ye. A. Sharaya // Запорож. мед. журн. – 2014. – № 4. – С. 82–85. (Дисертант приймав участь у плануванні і виконанні експериментальної частини та підготував матеріал до друку).

7. Дослідження кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко, І. Ф. Беленічев // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2014. – № 3. – С. 64–69. (Дисертант приймав участь у плануванні і виконанні експериментальної частини та підготував матеріал до друку).

8. Щербак М. О. Гостра токсичність 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних / М. О. Щербак, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, Н. В. Бухтіярова, С. А. Моргунцова, С. В. Павлов, А. Г. Каплаушенко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2014. – № 3. – С. 63–66.

(Дисертант самостійно виконав хімічну експериментальну частину, узагальнив отримані результати, підготував статтю до друку).

9. Shcherbak M. A. The Study of Acid-Base Properties of 2-(4-Amino-5-(2-, 3-, 4-Nitrophenyl)-1,2,4-Triazole-3-Ylthio) Acetic Acids And Their Salts / M. A. Shcherbak, A. G. Kaplaushenko // Intellectual Archive. – 2014. – Vol. 3, N 2. – P. 28–34. (Дисертант приймав участь у плануванні і виконанні експериментальної частини та підготував матеріал до друку).

10. The study of thione-thiol tautomerism of 5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-4-amino-3-thio-1,2,4-triazole by hplc-ms method / B. A. Varynskyi, M. A. Shcherbak, A. G. Kaplaushenko, I. A. Yurchenko // Jour. of Chem. And Pharm. Research. – 2014. – № 6. – С. 1342–1350. (Дисертант провів літературний аналіз за темою, самостійно виконав хімічну експериментальну частину, підготував статтю до друку).

11. Пат. на корисну модель 80686 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 5-(4-нітро-, (4-метокси), (3,4,5-триметокси)феніл)-4-аміно(Н)-3-тіо-1,2,4-триазоли, що проявляють антиоксидантну активність / Щербак М. О., Лукянчук В. Д., Каплаушенко А. Г., Самелюк Ю. Г.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № u 2012 14001 ; заявл. 10.12.12 ; опубл. 10.06.13, Бюл. № 11. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

12. Пат. на корисну модель 83483 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 4-((3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-4-іліміно)метил)-2-метокси-6-нітрофенол, що проявляє протимікробну та протигрибкову активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Камишний О. М., Поліщук Н. М.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № u 2013 04355 ; заявл. 08.04.13 ; опубл. 10.09.13, Бюл. № 17. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

13. Пат. на корисну модель 80006 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 4-(4-(диметиламіно)бензиліденаміно)-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-3-тіон, що виявляє актопротекторну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Пругло Є. С. ; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № u 2013 11767 ; заявл. 07.10.13 ; опубл. 25.02.14, Бюл. № 4. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

14. Пат. на корисну модель 88740 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 2-((3-меркапто-5-(3-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-триазол-4-іл-іміно)метил)фенол, що виявляє антигіпоксичну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Пругло Є. С. ; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № u 2013 13372 ; заявл. 18.11.13 ; опубл. 25.03.14, Бюл. № 6. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

15. Пат. на корисну модель 94480 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 3-(3-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-триазол-4-амін, що виявляє антигіпоксичну та кардіопротекторну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Беленічев І. Ф., Абрамов А. В., Бухтіярова Н. В.,

Моргунцова С. А., Павлов С. В.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 06745 ; заявл. 16.06.14 ; опубл. 10.11.14, Бюл. № 21. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

16. Пат. на корисну модель 94550 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 4-((3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-іламіно)метил)-2-метокси-6-нітрофенол, що проявляє жарознижуючу активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 02929 ; заявл. 24.03.14 ; опубл. 25.11.14, Бюл. № 22. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

17. Пат. на корисну модель 97632 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. ферум(II) 2-(5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, що виявляє гіпоглікемічну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Тржецинський С. Д., Клеванова В. С.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 10897 ; заявл. 06.10.14 ; опубл. 25.03.15, Бюл. № 6. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну хімічну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

18. Пат. на корисну модель 97634 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 2-((3-меркапто-5-(3-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-4-іл-іміно)метил)фенол, що виявляє гіпоглікемічну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Тржецинський С. Д., Клеванова В. С.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 10900 ; заявл. 06.10.14 ; опубл. 25.03.15, Бюл. № 6. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну хімічну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

19. Пат. на корисну модель 98917 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 2-гідроксиетиламоній 2-((4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетат, що виявляє діуретичну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Пругло Є. С.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 13057 ; заявл. 05.12.14 ; опубл. 12.05.15, Бюл. № 9. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну хімічну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

20. Пат. на корисну модель 98922 Україна, С07D 249/00, А61К31/41. 2-((4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)ацетонітрил, що виявляє діуретичну активність / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Пругло Є. С.; патентовласник Запорізький держ. мед. ун-т. – № у 2014 13063 ; заявл. 05.12.14 ; опубл. 12.05.15, Бюл. № 9. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну хімічну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

21. Пат. на винахід № 108689 Україна, МПК 2006.01 С07D 249/08 С07D 249/12 (2006.01) А61К 31/4196 (2006.01) А61Р 39/06 (2006.01). Застосування 2-(4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти як антиоксидантного засобу / М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко, В. Д. Лук'янчук ;

патентовласник Запорізький держ.мед.ун-т та автори. – № а 201310454 ; заявл. 27.08/2013 ; опубл. 25.05.2015, Бюл. № 10. (Дисертант провів літературний аналіз і патентний пошук за обраною темою, самостійно виконав експериментальну частину, підготував заявку до подачі в Укрпатент).

22. Щербак М. О. Пошук біологічно активних речовин серед 4-аміно-3-тіо-1,2,4-тріазолів, що містять ароматичні замісники / Щербак М. О. // Український науково-медичний молодіжний журнал. – К., 2012. – № 3. – С. 402.

23. Щербак М. О. Дослідження похідних 4-аміно-3-тіо-1,2,4-тріазолів, що мають ароматичні замісники / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г. // Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя : збірник тез наукових робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., 30 листоп.-1 груд. 2012 р. – К., 2012. – С. 99. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

24. Щербак М. О. Синтез 4-аміно-3-тіо-1,2,4-тріазолів, що містять ароматичні замісники та пошук серед них біологічно активних речовин / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г. // Актуальні проблеми та перспективи розвитку природничих наук : збірник тез доповідей I Регіональної наук.-практ. конф., 15 груд. 2012 р. – Запоріжжя, 2012. – С. 183. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

25. Щербак М. О. The synthesis of 4-amino-3-thio-1,2,4-triazoles, that contain aromatic substituents and the search of biologically active substances among them / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г. // Роль сучасної медицини у забезпеченні здоров'я суспільства : збірник наукових робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., 21-22 груд. 2012 р. – О., 2012. – С. 12. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

26. Щербак М. О. Синтез та фізико-хімічні властивості алкілтіопохідних 5-(3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г. // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали 5-ї науково-практичної конференції з міжнар. уч., 27-28 вер. 2013 р. – Т., 2013. – С. 27. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

27. Щербак М. О. Пошук біологічно активних речовин серед 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів / Щербак М. О., Солодовнік О. О., Шара Є. О. // Сучасні аспекти медицини і фармації-2014 : збірка тез Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. уч., 15-16 трав. 2014 р. – Запоріжжя, 2014. – С. 196. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

28. Щербак М. О. Synthesis and physical-chemical properties of derivatives of 5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiones / Щербак М. О., Каплаушенко А. Г. // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі : збірник тез наукових робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., 23-24 трав. 2014 р. – О., 2014. – С. 26. (Дисертант виконав експериментальне дослідження, підготував тези до друку).

29. Щербак М. О. Гостра токсичність похідних 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів / Щербак М. О. // Актуальні проблеми та

перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук : збірник тез доповідей III регіональної науково-практичної конф. студентів та молодих вчених з всеукраїнською участю, 29 листоп. 2014р. – Запоріжжя, 2014. – С. 230.

30. Shcherbak M. O. Acute toxicity of 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones and their derivatives / Shcherbak M. O. // Матеріали X міжнародної наукової медичної конференції студентів і молодих учених., 19 марта 2015 г., – М., 2015. – С. 827-828.

АНОТАЦІЯ

Щербак М. О. Дослідження синтетичних, фізико-хімічних і біологічних властивостей 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміщених. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія. – Запорізький державний медичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2015.

Робота присвячена пошуку нових біологічно активних речовин серед 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх N- і S-заміщених з протимікробною, протигрибковою, діуретичною, антиоксидантною, антигіпоксичною, актопротекторною, жарознижуючою, гіпоглікемічною і кардіопротекторною дією та низькою токсичністю, встановленню можливих закономірностей зв'язку «структура – дія», селекції та подальшій рекомендації для доклінічних досліджень найбільш перспективної сполуки.

Підтвердження будови, встановлення індивідуальності та чистоти отриманих речовин та потенційної субстанції проведено комплексним використанням елементного аналізу, ІЧ-, УФ-спектрофотометрії, ПМР-спектрометрії, ТШХ, ВЕРХ-МС.

Для поглибленого вивчення рекомендовано малотоксичний 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-амін гідрохлорид, для якого підтверджено високі показники антиоксидантної, антигіпоксичної та кардіопротекторної активності, а також розроблені та затверджені проекти лабораторних методик синтезу, технічних вимог щодо кінцевого продукту та МКЯ на субстанцію.

Ключові слова: N- і S-заміщені 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів, синтез, перетворення, фізико-хімічні властивості, тіон-тіольна таутомерія, адсорбційні властивості, біологічна активність.

АННОТАЦИЯ

Щербак М. А. Исследование синтетических, физико-химических и биологических свойств 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов а также их N- и S-замещенных. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия. –

Запорожский государственный медицинский университет МЗ Украины, Запорожье, 2015.

Целью работы являлся поиск новых биологически активных веществ среди 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов а также их N- и S-замещенных с противомикробным, противогрибковым, диуретическим, антиоксидантным, антигипоксическим, актопротекторным, жаропонижающим, гипогликемическим и кардиопротекторным действием на ряду с низкой токсичностью, установлению возможных закономерностей связи «структура – действие», селекции и дальнейшей рекомендации для доклинических исследований наиболее перспективных соединений.

Исходными веществами для синтеза 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1*H*-1,2,4-триазол-3-тионов служили 2-(2-, 3-, 4-нитрофенил)гидразинокарбодитионы. 2-(2-, 3-, 4-нитрофенил)гидразинокарбодитионы получены взаимодействием гидразидов соответственно 2-, 3-, 4-нитробензойной кислоты с карбон дисульфидом в среде щелочного раствора бутанола. Замыкание 1,2,4-триазолового цикла проходит в щелочной среде.

Наличие тион-тиольной таутомерии 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-3-тио-1,2,4-триазолов установлено с помощью ВЭЖХ-МС. При этом установлено, что в нативном состоянии перевешивает форма тиона (97%), которая при повышении pH уменьшается в сторону тиола.

Разработаны препаративные методики синтеза 3-алкилтио-4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазолов, для которых определены величины поверхностной активности и относительной адсорбции. Установлено, что с увеличением длины углеводородной цепи адсорбционная способность веществ увеличивается, что коррелируется с результатами биологической активности и токсичности. Изучены реакции окисления атома серы 3-алкилтио-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-4-амино-1,2,4-триазолов до четырех- и шестивалентного состояния.

Разработаны простые в исполнении методики синтеза 2-(4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатных кислот и их солей, для которых установлены закономерности влияния заместителей на кислотно-основные свойства, что позволило спрогнозировать, что вещества данного ряда при их пероральном применении будут более активно всасываться в желудке или толстом кишечнике. Предложены эффективные методики получения 1- R_1 -3-(3-тио-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-4-ил)тиомочевин, 5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-4-бензилиденамино-1,2,4-триазол-3-тионов, для которых разработана препаративная методика селективного восстановления алифатической C=N-группы. Также разработаны препаративные методики получения 3-тио-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-4-дiazоний хлоридов, при этом установлены оптимальные условия проведения реакции diaзотирования и дальнейшего азосочетания.

Подтверждение строения, установления индивидуальности и чистоты полученных веществ и потенциальной субстанции проведения комплексным использованием элементного анализа, ИК, УФ-спектрофотометрии, ПМР-спектрометрии, ТСХ, ВЭЖХ-МС.

При изучении острой токсичности новых 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов а также их производных установлено, что их LD₅₀ находится в пределах 512-1256 мг/кг. При изучении биологического действия 72 соединений из 96 синтезированных, найдены вещества с высокими показателями противомикробного, антиоксидантного, антигипоксического, диуретического, актопротекторного, гипогликемического и жаропонижающего действия. В результате исследований установлены некоторые закономерности влияния структуры синтезированных веществ на биологическое действие.

Для углубленного изучения рекомендуется малотоксичный 3-(4-нитрофенил)-5-(нонилсульфонил)-1,2,4-триазол-4-амин гидрохлорид, для которого подтверждены высокие показатели антиоксидантной, антигипоксической и кардиопротекторной активности, а также разработаны и утверждены проекты лабораторных методик синтеза, технических требований к конечному продукту и МКК на субстанцию.

Ключевые слова: N- и S-замещенные 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов, синтез, превращения, физико-химические свойства, тион-тиольная таутомерия, адсорбционные свойства, биологическая активность.

ANNOTATION

Shcherbak M. A. The research of synthetic, physical-chemical and biological properties of 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones and their N- and S-substituted. – A manuscript .

The thesis for Ph.D. (Pharmacy), speciality 15.00.02 – Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy. – Zaporizhzhya state medical university MPH of Ukraine, Zaporizhzhya, 2015.

The basic aim of this work is finding new high-level and low-toxic agents with antimicrobial, antifungal, diuretic, anti-oxidant, anti-hypoxic, actoprotective, antipyretic, hypoglycemic and cardioprotective effect among N- and S-substituted 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones, establishment of regularities between chemical structure of synthesized compound and biological activity, selection and recommendation the most active compound for preclinical trial.

The structure of the synthesized compounds, their identity and purity has been proved by elemental analysis, IR-, UV-spectrophotometry, NMR-spectrometry, TLC, HPLC-MS.

3-(4-Nitrophenyl)-5-(nonilsulfonil)-1,2,4-triazol-4-amine hydrochloride is recommended for preclinical trial, it possesses high antioxidant, antihypoxic and cardioprotective activity and low toxicity. Projects of the laboratory synthesis methods, technical requirements to the final product, and QC methods on the substance have been developed and approved.

Keywords: derivatives of 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones, transformation, physical and chemical properties, thione-thiol tautomerism, adsorption, biological activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

DMFA	– диметилформаїід;
ВЕРХ-МС	– високоефективна рїдиннай хроматографїя з мас-спектрометричною детекцією;
АОА	– антиоксидантна активність;
АФГ	– альдеїдфенїлгїдрозони;
ВРО	– вільнорадикальне окиснення;
ГПР	– глутатїонпероксидаза;
ЕКГ	– електрокардіограма;
ІМ	– їнфаркт мїокарда;
ІЧ	– їнфрачервоний;
МКЯ	– методи контролю якостї;
КФГ	– кетонфенїлгїдрозони;
ОМБ	– окиснювальна модифїкація бїлка;
ПМР	– протонний магнїтний резонанс;
УФ	– ультрафіолетовий;
ЧСС	– частота серцевих скорочень.