



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

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ФЕДОТОВ СЕРГІЙ ОЛЕГОВИЧ

УДК 547.792'77.03/.04.057:615.015.11.015.4

ДИСЕРТАЦІЯ

СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ S-ПОХІДНИХ 4-АМІНО-5-(5-R-ПІРАЗОЛ-3-ІЛ)-
1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ ТА ПРОДУКТІВ ЇХ ХІМІЧНИХ ПЕРЕТВОРЕНЬ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

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

_____ С. О. Федотов

Науковий керівник Гоцуля Андрій Сергійович, доктор фармацевтичних наук,
доцент

Запоріжжя – 2023

АНОТАЦІЯ

Федотов С. О. Синтез та властивості *S*-похідних 4-аміно-5-(5-*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та продуктів їх хімічних перетворень. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» (226 – Фармація, промислова фармація). – Запорізький державний медико-фармацевтичний університет МОЗ України, Запоріжжя, 2023.

Дисертаційна робота присвячена комплексному дослідженню практично значимих методів синтезу біоактивних сполук в ряду *S*-похідних 4-аміно-5-(5-*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу і продуктів їх хімічної трансформації, а також стратегії пошуку біологічно активних агентів з потенційною протимікробною, протигрибковою, протизапальною, антиоксидантною активністю, встановленню певних закономірностей «структура-біологічна дія», виявленню оптимальних напрямів хімічної модифікації з метою підвищення фармакологічних характеристик та подальшим рекомендаціям щодо сполук, які можуть бути кандидатами для створення біологічно активної субстанції.

Вагоме значення цієї роботи полягає в тому, що вона розширює можливості та створює додаткові перспективи для подальших досліджень у сфері розробки потенційних лікарських препаратів. Інноваційні знання, одержанні в ході виконання дисертаційного дослідження, можуть стати цінним внеском у розвиток сучасної медицини та фармації.

Значна частина досліджень у фармацевтичній галузі націлена на створення нових перспективних біологічно активних сполук, зокрема, на основі гетероциклів. Похідні 1,2,4-триазолу та піразолу є одними з найбільш досліджених класів з доведеним потенціалом фармакологічної активності, що було підтверджено проведеним аналізом літературних джерел останніх років. Також за даними наукової літератури показані широкі можливості в сфері хімічного конструювання нових молекул, які представляють собою симбіоз

фрагментів 1,2,4-триазолу та піразолу і дозволяють створювати перспективні біологічно активні сполуки. Всебічний аналіз літератури дозволив виявити ряд питань, які пов'язані з розширенням можливостей в сфері синтезу перспективних похідних зазначених гетероциклічних систем і тому потребують вирішення.

В процесі практичної реалізації наукових досліджень були обговорені особливості формування структури та синтезовано три вихідні речовини – 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол та 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол за допомогою внутрішньомолекулярної лужної гетероциклізації відповідних заміщених гідразинокарботіоамідів. Синтез цільових продуктів хімічного перетворення включав кілька послідовних кроків.

Початковим етапом була взаємодія заміщених ацетофенонів, а також ацетону з діетилоксалатом в середовищі метанолу у присутності натрій метилату. Утворені в результаті зазначеної взаємодії заміщені етил 2,4-діоксопентаноати циклізували в середовищі пропан-2-олу з додаванням подвійного надлишку гідразин гідрату, що супроводжувалось формуванням відповідно етил 3-метилпіразол-5-метаноату, етил 3-(3-фторофеніл)піразол-5-метаноату та етил 3-(4-метоксифеніл)піразол-5-метаноату.

Подальше додавання гідразин гідрату призводило до утворення продуктів хімічного перетворення у вигляді гідразидів, а саме: 3-метилпіразол-5-карбогідразиду, 3-(3-фторофеніл)піразол-5-карбогідразиду та 3-(4-метоксифеніл)піразол-5-карбогідразиду.

Далі реалізовувалась взаємодія відповідних гідразидів з карбон дисульфідом з наступною циклізацією в середовищі гідразин гідрату та кінцевим підкисленням кислотою етановою до нейтрального середовища, що в результаті дало змогу одержати 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол та 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол.

Наступним кроком був синтез *S*-алкілпохідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-

триазол-3-тіолу. Алкілювання вихідних тіолів проводили відповідними галогеналканами в середовищі пропан-1-олу в присутності еквівалентної кількості натрій гідроксиду. Як алкілюючі агенти були обрані йодометан, бромоетан, 1-бромпропан, 1-бромобутан, 1-бромопентан, 1-бромогексан, 1-бромогептан, 1-бромооктан, 1-бромонonan та 1-бромодекан.

В подальшому вивчалась реакція взаємодії 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-3-(алкілтіо)-1,2,4-триазолу з надлишком триетоксиметану при кип'ятінні, в результаті було одержано 9-метил-3-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини.

Для 4-аміно-3-(етилтіо)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазолу було досліджено реакцію взаємодії з калій етилксантогенатом в середовищі пропан-2-олу при інтенсивному перемішуванні. Як результат було одержано 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини.

З метою розширення арсеналу перспективних сполук було синтезовано проміжний 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол в результаті нуклеофільного приєднання 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу до 2,6-дихлоробензальдегіду. Хімічна взаємодія реалізовувалась в середовищі кислоти етанової при нагріванні.

Подальші синтетичні дослідження включали в себе одержання карбонільних похідних за участі заміщених α -галогенкетонів та 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу. Дані реагенти при тривалому перемішуванні в середовищі тетрагідрофурану сприяли утворенню (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-іл)(*R*-феніл)метанонів.

Наступним етапом роботи було одержання 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)алканових кислот шляхом алкілювання вихідного 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу відповідними 2-бромпропановою та 2-бром-3-метилбутановою кислотами в середовищі пропан-2-олу. Також в результаті реакції взаємодії інтермедіату 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з хлоретановою

кислотою в середовищі тетрагідрофурану було синтезовано 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонову кислоту.

Синтез естерів відповідних кислот проводили методом алкілуванням 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу метиловим, етиловим та ізопропіловим естерами 2-бромпропанової та 2-бром-3-метилбутанової кислоти за участі еквівалентної кількості натрій гідрогенкарбонату.

Солі 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти одержували взаємодією зазначеної кислоти з неорганічними та органічними основами у водно-спиртовому середовищі.

Подальші дослідження актуальних напрямків перетворення вихідного 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу дозволили встановити, що в реакції взаємодії з карбонілдімідазолом в середовищі 1,4-діоксану з попереднім захистом тіольної групи відбувається формування 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтію)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-ону. Показано, що використання трифторометансульфонового ангідриду дозволяє створювати умови для активного залучення карбонільного вуглецю до реакції взаємодії з *Boc*-захищеним піперазином. Зазначений процес відбувається у дві стадії. На першій стадії в середовищі дихлорометану у присутності *N,N*-ді-ізопропілетиламіну відбувається утворення 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтію)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл трифлуорометансульфонату. На другій стадії одержаний сульфонат був залучений до взаємодії з *Boc*-піперазином, що дозволило ввести до структури досліджуваної сполуки піперазиновий фрагмент та після деблокування *Boc*-захисту за допомогою хлоридної кислоти в середовищі 1,4-діоксану одержати 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтію)-6-(піперазин-1-іл)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлорид.

Наступний етап функціоналізації передбачав введення карбонільної групи до структури синтезованого 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтію)-6-(піперазин-1-іл)-

піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлориду шляхом взаємодії з хлорангітридами алкіл-, арил- та гетерилкарбонових кислот. Реакція успішно відбувається в середовищі дихлорометану в присутності триетиламіну.

Фізико-хімічні, а також спектральні характеристики нових S-похідних 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу було встановлено за допомогою сучасного набору методів аналізу, включаючи ІЧ- та ¹H-ЯМР-спектроскопію, елементний аналіз, хромато-мас-спектрометрію.

Біологічні дослідження проводились на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології (в. о. зав. каф. к. мед. н., доцент Количева Н. Л.), навчально-наукового медико-лабораторного центру з віварієм (керівник - д. фарм. н., професор кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Щербина Р. О.) Запорізького державного медико-фармацевтичного університету, навчально-науково-виробничої клініки ветеринарної медицини Полтавської державного аграрного університету (завідувач к. вет. н., доцент Звенігородська Т. В.)

В ході проведеного дослідження було одержано 81 сполуку, які були піддані біологічному тестуванню для оцінки їх гострої токсичності, протимікробної, протигрибкової, антиоксидантної та анагетичної активності. З цих сполук було виділено найбільш активні. Крім цього, були виявлені певні зв'язки між хімічною структурою та біологічною активністю цих речовин.

Для подальших поглиблених фармакологічних досліджень рекомендовано 2 сполуки, які проявляли найвищий потенціал біологічної активності.

Серед них ізопропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат, який проявляє протигрибкову дію та продемонстрував задовільні показники анагетичної активності та (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(феніл)метанон, який виступив потенційним антиоксидантним агентом. Наведені похідні 1,2,4-триазолу являються перспективними кандидатами для удосконалення, подальшого вивчення і майбутньої розробки нових засобів терапевтичного спрямування.

Ключові слова: 1,2,4-триазол, піразол, синтез, фізико-хімічні властивості, біологічна активність, молекулярний докінг, антиоксидантна активність, протимікробна активність, аналгетична активність.

ABSTRACT

Fedotov S. O. Synthesis and properties of *S*-derivatives of 4-amino-5-(5-*R*-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and products of their chemical transformations. - 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, 2023.

The dissertation is devoted to a comprehensive study of practically significant methods for the synthesis of bioactive compounds in a number of *S*-derivatives of 4-amino-5-(5-*R*-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and their chemical transformation products, as well as strategies for finding biologically active agents with potential antimicrobial, antifungal, anti-inflammatory, antioxidant activity, establishing certain regularities "structure-biological action", identifying optimal directions of chemical modification in order to improve pharmacological characteristics and further recommendations about connections, which can be candidates for creating a biologically active substance.

The significant importance of this work is that it expands opportunities and creates additional prospects for further research in the development of potential drugs. Innovative knowledge gained in the course of dissertation research can become a valuable contribution to the development of modern medicine and pharmacy.

A significant part of research in the pharmaceutical industry is aimed at creating new promising biologically active compounds, in particular, based on heterocycles. Derivatives of 1,2,4-triazole and pyrazole are among the most studied classes with proven potential for pharmacological activity, which was confirmed by the analysis of

literature sources in recent years. Also, according to the scientific literature, wide opportunities in the field of chemical construction of new molecules are shown, which are a symbiosis of fragments of 1,2,4-triazole and pyrazole and allow creating promising biologically active compounds. A comprehensive analysis of the literature revealed a number of issues that are related to expanding opportunities in the field of synthesis of promising derivatives of these heterocyclic systems and therefore need to be addressed.

In the course of practical implementation of scientific research, the features of structure formation were discussed and three starting substances were synthesized – 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and 4-amino-5-(3-(4-methoxyphenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol by intramolecular alkaline heterocyclization of the corresponding substituted hydrazine carbotoamides. The synthesis of target chemical transformation products involved several consecutive steps.

The initial stage was the interaction of substituted acetophenones, as well as acetone with diethyloxalate in a methanol medium in the presence of sodium methylate. The substituted ethyl 2,4-dioxopentanoates formed as a result of this interaction were cycled in a propan-2-ol medium with the addition of a double excess of hydrazine hydrate, which was accompanied by the formation of ethyl 3-methylpyrazole-5-methanoate, ethyl 3-(3-fluorophenyl)pyrazole-5-methanoate and ethyl 3-(4-methoxyphenyl)pyrazole-5-methanoate, respectively.

Further addition of hydrazine hydrate led to the formation of chemical conversion products in the form of hydrazides, namely: 3-methylpyrazole-5-carbohydrazide, 3-(3-fluorophenyl)pyrazole-5-carbohydrazide and 3-(4-methoxyphenyl)pyrazole-5-carbohydrazide.

Further, the interaction of the corresponding hydrazides with carbon disulfide was implemented, followed by cyclization in the hydrazine hydrate medium and final acidification with ethanoic acid to a neutral medium, which eventually allowed us to obtain 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, 4-amino-5-(3-(3-fluoro-

phenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-yl) thiol and 4-amino-5-(3-(4-methoxyphenyl)-pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol.

The synthesis of *S*-alkyl derivatives 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol to 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. Alkylation of these compounds was carried out with two-sided halogenalkanes in the middle of propan-1-ol in the presence of an equivalent amount of sodium hydroxide. Iodomethane, bromoethane, 1-bromopropane, 1-bromobutane, 1-bromopentane, 1-bromohexane, 1-bromoheptan, 1-bromooctane, 1-bromononane and 1-bromodecane were chosen as alkylating agents.

Further, the reaction of the interaction of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-3-(alkylthio)-1,2,4-triazole with an excess of triethoxymethane during boiling was studied, resulting in 9-methyl-3-(alkylthio)pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]-triazines.

For 4-amino-3-(ethylthio)-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole, the reaction of interaction with potassium ethylxanthogenate in a propane-2-ol medium under intensive mixing was studied. As a result, 3-(ethylthio)-9-methyl-6-(alkylthio)pyrazolo[1,5-*d*]-[1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazines were obtained.

In order to expand the arsenal of promising compounds, the intermediate 4-((2,6-dichlorobenzylidene)amino)-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol was synthesized as a result of the nucleophilic addition of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol to 2,6-dichlorobenzaldehyde. The chemical interaction was realized in an ethanoic acid medium when heated.

Further synthetic studies included the production of carbonyl derivatives involving substituted α -halogenketones and 4-((2,6-dichlorobenzylidene)amino)-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. These reagents, when mixed for a long time in a tetrahydrofuran medium, contributed to the formation of (6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazine-7-yl)(*R*-phenyl)methanones.

The next stage of work was the production of 2-((4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazol-3-yl)alkanoic acids by alkylation of the initial 4-amino-5-(3-

methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol with the corresponding 2-bromopropane and 2-bromo-3-methylbutanoic acids in a propane-2-ol medium. Also, as a result of the interaction of the 4-((2,6-dichlorobenzylidene)amino)-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol Intermediate with chloroethanic acid, 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid, was synthesized in a tetrahydrofuran medium.

The synthesis of esters of the corresponding acids was carried out by alkylation of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol with methyl, ethyl and isopropyl esters of 2-bromopropane and 2-bromo-3-methylbutanoic acid with the participation of an equivalent amount of sodium hydrogencarbonate.

Salts of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid were obtained by interacting this acid with inorganic and organic bases in a water-alcohol medium.

Further studies of the actual conversion directions of the initial 4-amino-5-(3-(4-methoxyphenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol allowed us to establish that in the reaction of interaction with carbonyldiimidazole in a 1,4-dioxane medium with preliminary protection of the thiol group, 9-(4-methoxyphenyl)-3-(methylthio)pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine-6-on. It is shown that the use of trifluoromethanesulfone anhydride allows creating conditions for the active involvement of carbonyl carbon in the reaction of interaction with *Boc*-protected piperazine. This process takes place in two stages.

At the first stage, 9-(4-methoxyphenyl)-3-(methylthio)-pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine-6-yl trifluoromethanesulfonate is formed in the dichloromethane medium in the presence of *N,N*-diisopropylethylamine. At the second stage, the obtained sulfonate was involved in interaction with *Boc*-piperazine, which made it possible to introduce a piperazine fragment into the structure of the studied compound and, after unblocking the *Boc* protection with hydrochloric acid in a 1,4-dioxane medium, to obtain 9-(4-methoxyphenyl)-3-(methylthio)-6-(piperazine-1-yl)pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine hydrochloride.

The next stage of functionalization involved the introduction of a carbonyl group into the structure of synthesized 9-(4-methoxyphenyl)-3-(methylthio)-6-(piperazine-1-yl)-pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine hydrochloride by interaction with alkyl-, aryl - and heteryl carboxylic acid chloranhydrides. The reaction successfully occurs in a dichloromethane medium in the presence of triethylamine.

The physicochemical and spectral characteristics of the new *S*-derivatives of 4-amino-5-(3-*R*-pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol were established using a modern set of analysis methods, including IR and ¹H NMR spectroscopy, elemental analysis, and chromatography - mass spectrometry.

Biological studies were conducted on the basis of the Department of microbiology, virology and immunology (acting head of the department, Candidate of Medical Sciences, associate professor Kolycheva N. L.), the educational and scientific medical laboratory center with a vivarium (head - Doctor of Pharmaceutical Sciences, associate professor of the Department of natural sciences for foreign students and toxicological chemistry Shcherbyna R. O.) Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, educational and scientific and production clinic of veterinary medicine of Poltava State Agrarian University (head - Candidate of Veterinary Sciences, associate professor Zvenigorodskaya T. V.)

In the course of the study, 81 compounds were obtained, which were subjected to biological testing to assess their acute toxicity, antimicrobial, antifungal, antioxidant and analgesic activity. Of these compounds, the most active ones were isolated. In addition, certain connections were found between the chemical structure and biological activity of these substances.

For further in-depth pharmacological studies, 2 compounds that showed the highest potential for biological activity are recommended. Among them there is isopropyl 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-7-ethanoate, which exhibits an antifungal effect and has demonstrated satisfactory indicators of analgesic activity and (6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-7-yl)(phenyl)-methanone, which acted as a potential antioxidant agent. These derivatives of

1,2,4-triazole are promising candidates for improvement, further study and future development of new therapeutic agents.

Key words: 1,2,4-triazole, pyrazole, synthesis, physico-chemical properties, biological activity, molecular docking, antioxidant activity, antimicrobial activity, analgesic activity.

Список публікацій здобувача

1. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2021). Synthesis and properties of *S*-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 14(3), 268-274. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

2. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S., Panasenko, O. I. (2022). Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazoles. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(2), 117-122. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.2.259227>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

3. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2022). 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. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(3), 227-234. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.263994>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

4. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of *S*-alkyl 4-amino-5-(5-(3-fluorophenyl)pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(1), 5-11. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273461>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

5. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(2), 121-129. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

6. Fedotov, S., Gotsulya, A., Zaika, Y., Brytanova, T. (2023). 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. *J. Fac. Pharm. Ankara*. 47(2), 336-348. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1180794>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

7. Karpun, Y., Fedotov, S., Khilkovets, A., Karpenko, Y., Parchenko, V., Klochkova, Y., Bila, Y., Lukina, I., Nahorna, N., Nahorni, V. (2023). 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. *Pharmacia*. 70(1), 139-153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>. (Особистий внесок – участь у проведенні літературного пошуку, проведення хімічних експериментальних досліджень, участь у комп'ютерно обчислювальній

експериментальній частині, участь в обговоренні результатів та підготовка тексту статті).

8. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Synthesis and research of biological properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.* (с. 10-12). 11-12 листопада, 2021, Харків, Україна: НФаУ. (Особистий внесок – участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).

9. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. (2021). Synthesis and properties a some derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Запорізький фармацевтичний форум – 2021 : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* (с. 6). 25-26 листопада, 2021, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ (Особистий внесок – участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).

10. Fedotov, S. O. (2022). Synthesis and properties of 3-alkylthio derivatives of 9-methylpyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine. *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки – 2022 : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених* (с. 81). 04 лютого, 2022, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.

11. Fedotov, S. O. (2022). Synthesis and biological properties of 9-R-3-(methylthio)pyrazole[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022 : матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів* (с. 59). 17 травня, 2022, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.

12. Fedotov, S. O. (2022). 9-R-3-(methylthio)pyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine and its derivatives: synthesis and properties. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали IX наук.-практ. конф. з міжнар. участю* (с. 21-22). 22-23 вересня, 2022, Тернопіль, Україна : ТНМУ.

13. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazole.

Запорізький фармацевтичний форум – 2022: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю (с. 120). 17-18 листопада, 2022, Запоріжжя, Україна: ЗДМУ. (Особистий внесок – участь у проведенні дослідження, обробці одержаних результатів та оформленні тез).

14. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості *N*-(3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-іл)бензаміду та його похідних. *Хімічні Каразінські читання – 2023 : матеріали XV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів* (с. 12-14). 24-26 квітня, 2023, Харків, Україна.

15. Fedotov, S. O. (2023). Synthesis and study of physico-chemical properties of derivative analysis of (6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-7-yl)(R)methanone. *Modern chemistry of medicines : матеріали міжнародної Internet-конференції* (с. 33). 18 травня, 2023, Харків, Україна : НФаУ.

16. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості деяких 6-(2,6-дихлорфеніл)-7-*R*-3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-6,7-дигідро-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазинів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023 : матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (с. 111). 25-26 травня, 2023, Запоріжжя, Україна : ЗДМФУ.

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПІРАЗОЛОПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД).....	26
1.1 Синтетичні можливості та біологічний потенціал поєднаних ковалентним хімічним зв'язком похідних піразолу та 1,2,4-триазолу	27
1.2 Синтез та властивості конденсованих піразоло-1,2,4-триазолових систем	45
1.3. Біологічні властивості піразолопохідних 1,2,4-триазолу та їх конденсованих аналогів	48
РОЗДІЛ 2 СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 4-АМІНО-5-(5-R- ПІРАЗОЛ-3-ІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ ТА ЇХ S-ПОХІДНИХ.....	57
2.1 Синтез та фізико-хімічні властивості 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)- 1,2,4-триазол-3-тіолів.....	57
2.2 Синтез та фізико-хімічні властивості S-алкілпохідних 4-аміно-5-(5- R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу	62
2.2 Синтез та властивості 9-метил-3-(алкілтіо)піразоло[1,5-d][1,2,4]- триазоло[3,4-f][1,2,4]триазинів.....	69
2.3 Синтез та властивості 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)-піразоло[1,5- d]-[1,2,4]триазоло[3,4-f][1,2,4]триазинів.....	73
Висновки	80
РОЗДІЛ 3 СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ КАРБОНІЛВМІСНИХ ПОХІДНИХ І КОНДЕСОВАНИХ СИСТЕМ НА ОСНОВІ 4-АМІНО-5-(3-R-ПІРАЗОЛ-5-ІЛ)- 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ	82
3.1 Синтез та фізико-хімічні властивості 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол- 3-іл)-6-R-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів	82

3.2. Синтез та фізико-хімічні властивості 3-(5-метилпіразол-3-іл)- <i>N</i> -феніл-[1,2,4]триазоло[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазол-6-аміну	86
3.3. Синтез та фізико-хімічні властивості карбонільних похідних 4-((2,6-ди-хлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу...	89
3.4. Синтез та фізико-хімічні властивості солей 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти	95
3.5 Синтез (4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5- <i>d</i>][1,2,4]-триазоло[3,4- <i>f</i>][1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-іл)(алкіл-, арил-, гетерил)метанонів	99
Висновки	109
РОЗДІЛ 4 БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІРАЗОЛОВМІСНИХ ПОХІДНИХ	
1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ	111
4.1 Предиктивна оцінка фармакокінетичних параметрів методом ADME-аналізу	111
4.2 <i>In silico</i> дослідження синтезованих сполук методом молекулярного докінгу	114
4.3 Дослідження гострої токсичності новосинтезованої сполуки на дорослому гідробіонті данію реріо (<i>Danio rerio</i>)	128
4.4 Дослідження антиоксидантної активності (поглинання вільних радикалів) похідних 1,2,4-триазолу з використанням 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH).....	131
4.5 Дослідження протимікробної активності.....	134
4.6 Дослідження аналгетичної активності серед піразоловмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу та конденсованих систем на його основі	135
Висновки	143
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	145
СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ	146
ДОДАТКИ	167

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт
БАР	– біологічно активні речовини;
ГЕБ	– гематоенцефалічний бар'єр
ДМСО	– диметилсульфоксид
ДМФА	– <i>N,N</i> -диметилформамід
ДМФА-ДМА	– <i>N,N</i> -диметилформаміду диметилацеталь
ДФПГ	– 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразил
<i>KCCB</i>	– константа спін-спінової взаємодії
ЛД ₅₀	– середньотоксична доза
МЛС	– множинна лікарська стійкість
НПЗЗ	– нестероїдні протизапальні засоби
ЦНС	– центральна нервова система
ЦОГ-1	– циклооксигеназа I типу;
ЦОГ-2	– циклооксигеназа II типу;
¹ H ЯМР	– протонний ядерний магнітний резонанс;
«drug-like»	– подібність до ліків
CDI	– <i>N,N'</i> -карбонілдіімідазол
ED ₅₀	– середньоефективна доза
IC ₅₀	– концентрація напівмаксимального інгібування
log P	– ліпофільність
log S	– розчинність у воді
SAR	– взаємозв'язок «структура-активність»
SwissADME	– веб-інструмент для оцінки фармакокінетики, подібності та сумісності малих молекул з ліками

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Створення інноваційної вітчизняної біологічно активної субстанції як основи для перспективного і затребуваного лікарського засобу є важливим завданням для сучасної науки. Одним з найбільш важливих кроків на шляху реалізації зазначеної стратегії є обрання ключового фармакофорного фрагменту. Особливу зацікавленість в цьому плані викликають гетероциклічні сполуки, які займають чільне місце у складному та багатовекторному процесі конструювання високоактивної та малотоксичної сполуки-лідера. Поєднання в структурі однієї молекули різних гетероциклічних фрагментів значно посилює вірогідність створення практично значимої речовини. Серед таких можна відзначити піразол та 1,2,4-триазол. Дані гетероциклічні системи достатньо широко представлені в структурі різноманітних лікарських засобів і зацікавленість до залучення цих циклів до створення новітніх ліків лише посилюється. Наприклад, серед похідних піразолу можна відзначити антикоагулянт апіксабан, анксиолітик топіпразол, НПЗЗ целекоксиб та лоназолак, протиракові руксолітиніб та кризотиніб. Так само на основі 1,2,4-триазолу одержана значна кількість молекул, на основі яких було створено ряд відомих лікарських засобів з протигрибковою, анксиолітичною, гепато- та кардіопротекторними і іншими властивостями. Слід також зазначити, що підвищена привабливість до даних гетероциклів та їх похідних пов'язана також з значим різноманіттям синтетичних методів їх формування, простотою реалізації цих методів, широкими можливостями щодо введення додаткових фармакофорних фрагментів. Поряд з цим, дослідження ковалентно поєднаних триазолового синтону з піразоловим фрагментом і конденсованих систем за їх участю є недосить повними та потребують додаткового вивчення.

Таким чином, враховуючи значний синтетичний та біологічний потенціал даних нітрогеновмісних гетероциклів, можна зробити висновок, що методів поєднання в структурі однієї молекули фрагментів 1,2,4-триазолу та піразолу та дослідження властивостей створених тандемних систем є обґрунтовано

актуальним науковим напрямком, який дозволяє одержувати перспективні біологічно активні сполуки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану НДР Запорізького державного медико-фармацевтичного університету за темою «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3,4-дизаміщених 3(5)-тіо-1,2,4-тріазолу з антиоксидантною, антигіпоксичною, антимікробною, кардіо- та гепатопротекторною дією» (2018-2022 рр., № держреєстрації 0118U007143).

Мета і задачі дослідження

Головною метою даної роботи є цілеспрямований синтез та дослідження властивостей похідних 1,2,4-тріазолу, які містять піразоловий фрагмент, з наступною оцінкою можливості створення нових біологічно активних сполук з покращеними показниками безпеки та ефективності.

Для реалізації поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

- використовуючи дані сучасних літературних джерел обрати найбільш перспективний напрямок синтетичних перетворень, пов'язаних з створенням 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу та похідних на його основі;
- реалізувати реакції S-алкілювання 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу як доступний інструмент для створення перспективних біологічно активних сполук;
- дослідити процес введення карбонільної групи до структури похідних 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу за допомогою реакцій взаємодії з галогенкарбоновими кислотами та їх естерами;
- синтезувати солі 2-((5-(3-R-піразол-5-іл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-етанових кислот з метою створення зручних для біологічних досліджень речовин;
- розробити препаративні методики синтезу конденсованих похідних [1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину та піразоло[1,5-*d*][1,2,4]тріазоло[3,4-*f*]-[1,2,4]тріазину;

– довести будову, визначити фізико-хімічні показники, а також індивідуальність одержаних речовин за допомогою сучасних методів аналізу (^1H ЯМР-спектроскопія, елементний аналіз, хромато-мас-спектрометрія);

– за допомогою методів *in silico* визначити сполуки з найбільшим потенціалом протигрибкової, протизапальної та протиракової дії і відібрати ряд ключових речовин для подальшої реалізації *in vivo* моделей антиноцицептивної активності («оцтовокислих корчів» та «формалінової»).

Об'єкт дослідження – реакції та методи створення органічних сполук, молекулярний докінг, молекулярні дескриптори, фізико-хімічні та біологічні властивостей похідних 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та продуктів його хімічної модифікації та функціоналізації.

Предмет дослідження – похідні 4-аміно-5-(3-R-піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та продуктів його хімічної модифікації та функціоналізації

Методи дослідження

Для одержання сполук були використані загальноприйняті методи органічного синтезу, для встановлення особливостей перебігу реакцій, визначення чистоти та структури синтезованих сполук були використані фізико-хімічні методи, зокрема елементний аналіз, хроматомас-спектрометрія, ^1H ЯМР-спектроскопія. Докінгові дослідження здійснювали з використанням програми AutoDock 4.2, структури біомішеней отримано з Protein Data Bank (PDB), розрахунок лікоподібних параметрів здійснювався з допомогою програм ADME. Для вивчення біологічної активності синтезованих сполук використовувалась методологія *in vitro* та *in vivo*, статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 10.0 і Microsoft Excel.

Наукова новизна отриманих результатів

Встановлено оптимальні умови перебігу реакцій алкілування 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолів за участю галогеналканів.

Досліджено реакції взаємодії відповідних *S*-похідних 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з ксантогенатом калію та подальшим алкілуванням, що у підсумку дозволило розширити бібліотеку оригінальних

сполук в ряду 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів.

Встановлено також, що під час нагрівання *S*-похідних 4-аміно-5-(5-*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу в надлишку триетилформіату призводить до утворення конденсованих *S*-похідних [1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинової системи як потенційних біологічно активних агентів.

Вивчено реакції циклоконденсації 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з карбоновими кислотами, що призводить до формування відповідних 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-*R*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазолів.

Встановлено що взаємодія 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу при взаємодії з заміщеними бромоацетофенонами сприяє процесу циклізації та утворенню карбонільних сполук. В той самий час, взаємодія 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з галогенокарбоновими кислотами супроводжується формуванням конденсованих похідних, які функціоналізовані карбоксильною групою.

Взаємодія 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти з органічними та неорганічними основами дозволила розширити ряд водорозчинних сполук у вигляді відповідних солей. В свою чергу, реакція етерифікації вихідної 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин-7-карбонової кислоти сприяла синтезу ряду естерів як високopersпективних біоактивних структур.

За допомогою сучасного комплексу інструментальних методів аналізу, таких як ¹H ЯМР-спектроскопія, елементний аналіз та хромато-мас-спектрометрія, були виявлені особливості будови та фізико-хімічних властивостей в ряду нових синтезованих сполук. В ході проведеного дослідження було одержано 81 сполука, яка була піддана біологічному тестуванню для оцінки їх гострої токсичності, протимікробної, протигрибкової, антиоксидантної та

аналгетичної активності. З цих сполук було виділено найбільш активні. Крім цього, були виявлені певні зв'язки між хімічною структурою та біологічною активністю цих речовин.

Для подальших поглиблених фармакологічних досліджень рекомендовано 2 сполуки, які проявляли найвищий потенціал біологічної активності. Серед них *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат, який проявляє протигрибкову дію та продемонстрував задовільні показники аналгетичної активності та (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин-7-іл)(феніл)метанон, який виступив потенційним антиоксидантним агентом. Наведені похідні 1,2,4-триазолу являються перспективними кандидатами для удосконалення, подальшого вивчення і майбутньої розробки нових засобів терапевтичного спрямування.

Теоретичне та практичне значення одержаних результатів

Запропоновано наукове обґрунтування сучасного підходу до вирішення актуальної проблеми у галузі фармації, а саме створення нових біологічно активних субстанцій на основі похідних 1,2,4-триазолу з піразоловим замісником, що дозволяє одержувати цільовий продукт хімічного перетворення з покращеними характеристиками безпеки та ефективності. Встановлені фізико-хімічні характеристики нових синтезованих речовин є значимими як для теоретичного так і для практичного аспектів сучасної фармацевтичної науки.

Виявлені аспекти взаємозв'язку «будова-активність» формують вагомий внесок в теоретичні засади процесу розробки нових біологічно активних речовин з антимікробною, протигрибковою, антирадикальною та аналгетичною активностями.

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійно завершеною працею, в якій висвітлені загальна положення методики цілеспрямованого створення нових похідних 1,2,4-триазолу в комбінації з фрагментом піразолу та подальший пошук серед них перспективних біологічно активних сполук.

Під час роботи над дисертацією здобувач виконав 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 певних S-похідних 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу.

У сумісництві з науковим керівником було поставлено мету та завдання дослідження, проведено узагальнення отриманих результатів та сформульовано основні положення та висновки. Наукові праці були підготовлені спільно з науковим керівником та командою науковців, разом з якими проводилися дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих речовин.

Апробація результатів дисертації

Матеріали дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2021» (25-26 листопада 2021 р., м. Запоріжжя), науковій конференції «Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки – 2022» Підсумки I туру всеукраїнського конкурсу студентських наукових робіт з галузей знань і спеціальностей та результати роботи наукових товариств у 2021/2022 навчальному році Online (4 лютого 2022 р., м. Запоріжжя), 82 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022» (17 травня 2022 р., м. Запоріжжя), всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2022» (17-18 листопада 2022 року, м. Запоріжжя), 83 Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023» (25-26 травня 2023 р., м. Запоріжжя).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 16 наукових робіт, у тому числі 5 наукових статей у фахових виданнях України, та 2 наукові статті в журналах що

входять до наукометричних баз *Scopus* та *Web of Science*, 9 тез доповідей. В наукових публікаціях за темою дисертації 10 робіт опубліковано із співавторами.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 189 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту складає 165 сторінки), складається з анотації, вступу, 4 розділів, висновків, списку використаних джерел та 3 додатків (10 актів впровадження). Робота проілюстрована 7 таблицями, 60 рисунками. Список використаних джерел містить 140 найменувань, з них кирилицею – 15 та латиницею – 125.

РОЗДІЛ 1

СИНТЕЗ ТА БІОЛОГІЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ПІРАЗОЛОПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ (ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД)

Гетероциклічні сполуки мають незаперечний потенціал у створенні нових біологічно активних речовин, що підтверджується досягненнями науковців як в українській, так і світовій науковій спільноті [1-7]. Серед величезного різноманіття гетероароматичних систем похідні 1,2,4-триазолу займають одну з топових позицій у контексті концентрування уваги та ресурсів науковців фармацевтичної, медичної та хімічної галузей [8-22]. Не можна недооцінювати значення лікарських засобів, які були створені з використанням даного гетероциклу, у лікуванні різних захворювань [23, 24, 25].

Система 1,2,4-триазолу вже довела наявність значного потенціалу у створенні протигрибкових лікарських засобів (флуконазол, вориконазол, равуконазол, терконазол, ітраконазол та сертаконазол – інгібітори синтезу ергостеролу), протиракових засобів (анастрозол, ворозол та летрозол – інгібітори ароматази), протимігренозних ліків (різатриптан - селективний агоніст 5-НТ1В- та 5-НТ1D-рецепторів), антидотів при отруєнні сполуками металів (деферазірокс – хелатоутворюючий реагент, що застосовують для зв'язування надлишку іонів Fe^{3+}), засобів з анксиолітичною дією (альпразолам та триазолам – вплив на чутливі до γ -аміномасляної кислоти бенздіазепінові рецептори), противірусних ліків (рибавірин – інгібітор синтезу РНК та ДНК вірусів) [26, 27, 28].

Іншим важливим фактором, який визначає привілейованість зазначеної гетероциклічної системи у науковій роботі є гнучкість у хімічних перетвореннях, що дозволяє конструювати широкий спектр цільових сполук за відносно невеликий проміжок часу [29-33]. Вже на етапі формування триазольного кільця є можливість його поєднання з необхідними замісниками (алкільними, арильними або гетерильними) [34, 35, 36]. Крім того, у разі наявності в структурі 1,2,4-триазолу тіольної, аміногруп або інших подібних функціональних груп

формується можливість для збільшення різноманіття фармакологічно активних сполук [37, 38, 39].

Серед значної кількості гетероциклічних фрагментів, які є перспективними на роль замісника в структурі 1,2,4-триазолу, підвищеної уваги заслуговує піразоловий синтон [40, 41]. Висловлена думка підкріплюється значною кількістю наукових публікацій, присвячених даному напрямку [40-48].

В окресленому напрямку синтетичних досліджень можна відокремити роботи, присвячені створенню ковалентно поєднаних піразолового та 1,2,4-триазолового кілець та конденсованих систем на їх основі.

1.1 Синтетичні можливості та біологічний потенціал поєднаних ковалентним хімічним зв'язком похідних піразолу та 1,2,4-триазолу

Одним з поширених методів поєднання 1,2,4-триазолового фрагменту з цільовим замісником за 5 положенням є використання як вихідної речовини відповідної карбонової кислоти та її похідних (естеру або гідразиду).

Так, в роботі *K. Karrouchi* з співавторами вивчали перетворення 5-метилпіразол-3-карбогідразиду, що передбачало проведення реакцій з карбон дисульфідом у лужно-спиртовому середовищі з наступним залученням утвореного продукту до взаємодії з гідразином [49]. Виділений 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол в подальшому використовувався для синтезу основ Шиффа (рис. 1.1).

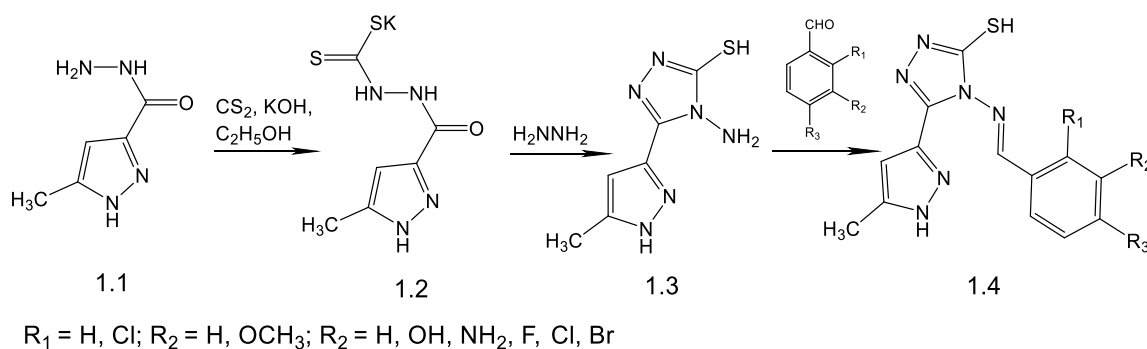


Рис. 1.1 Схема синтезу 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та його похідних

Серед великого різноманіття функціональних груп, які можуть бути введеними до структури піразолу з метою підвищення його фармакофорних властивостей важливе місце посідає аміногрупа, що підтверджується рядом наукових робіт.

Так, дослідницька група *Fadaly W. A. A., Elshaier Y. A. M. M., Hassanein E. H. M.* запропонувала ідею введення до майбутніх похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу 5-амінопіразолового синтону.

З цією метою як реагенти були використані етилові естери 2-ціано-3-етоксибутанової та акрилової кислот та похідні фенілгідазину гідрохлориду. Процес відбувався у безводному етанолі при нагріванні. Одержаний продукт був виділений у вигляді похідного 5-амінопіразолу з естерною групою за 4 положенням вказаного гетероциклу, яка дозволила успішно реалізувати гідазиноліз. Утворений гідазид був використаний в реакції з фенілізотіоціанатом в безводному етанолі. Наступним етапом була лужна гетероциклізація, що в свою чергу дозволила сформувати 1,2,4-триазоловий фрагмент (рис. 1.2) [50].

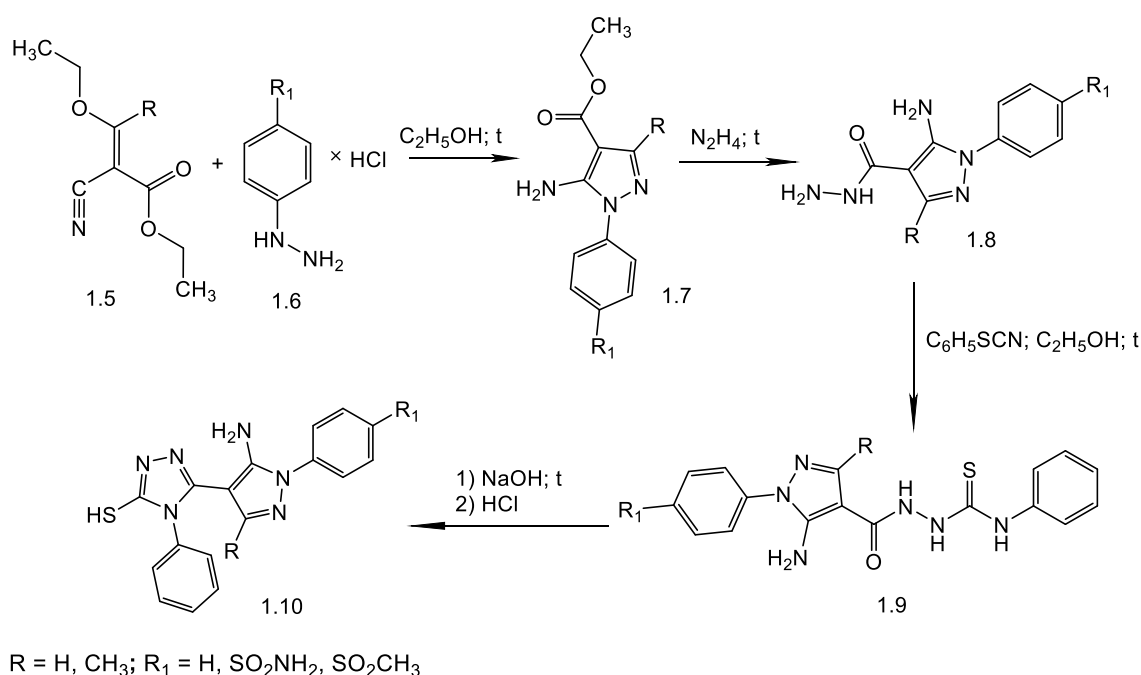


Рис. 1.2 Схема синтезу похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу з 5-амінопіразоловим замісником

В органічній хімії важливе значення має реалізація хімічних процесів без використання розчинників або при мінімальному їх застосуванні, що відповідає сучасній стратегії впровадження методів «зеленої» хімії. Зазначений підхід також має місце і у разі синтезу похідних 1,2,4-триазолу, забезпечують максимальну ефективність при мінімальному негативному впливі на навколишнє середовище.

Наприклад, зазначена методологія може бути використана в процесі перетворення 5-аміно-1-алкіл(арил)-4-карбонілпохідних піразолу, в структурі яких етоксигрупа при взаємодії з ароматичними амінами при нагріванні сприяє утворенню *N*-арилацетогідрозонамідів (**1.12**), які згодом були успішно залучені до процесу внутрішньомолекулярної циклізації з утворенням 5-амінопіразоліл-похідного 1,2,4-триазолу (**1.13**) (рис. 1.3) [51].

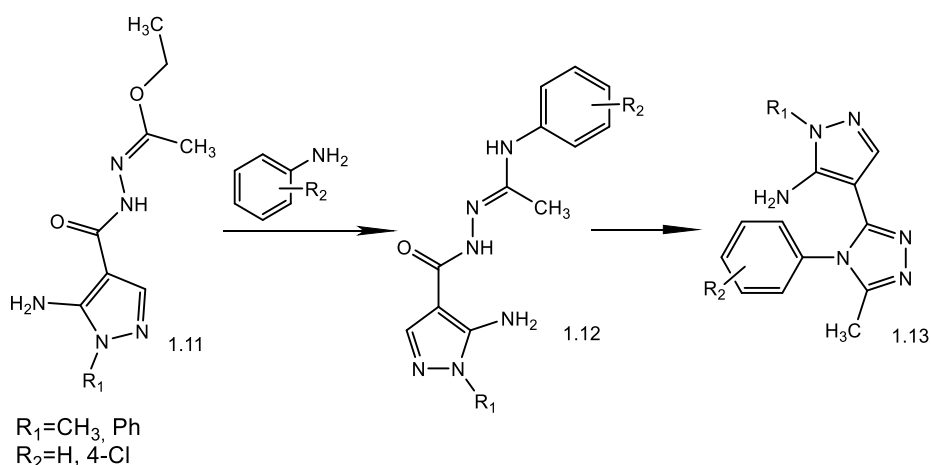


Рис. 1.3 Схема перетворення 4-карбонілпохідних 5-аміно-1-алкіл(арил)-піразолу у 1-алкіл(арил)-4-(5-метил-4-арил-1,2,4-триазол-3-іл)-5-амінопіразол

Введення арильних замісників до піразолового синтону може підвищувати вірогідність створення біологічно активної субстанції, що було продемонстровано в роботі [52]. Алгоритм перетворень, які представлені у роботі, ґрунтується на постадійному перетворенні 2-ціано-3-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)пропеноїл хлориду, яке включало заміну атома Хлора на ізотіоціанатну групу, що залучається до взаємодії з моно- та бідентантними нуклеофілами (наприклад, фенілгідрaziном)

(рис. 1.4). В подальшому виділений 2-ціано-3-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)-*N*-(фенілкарбамотіюіл)пропеноїламід піддавався процесу гетероциклізації з метою формування 1,2,4-триазолового фрагменту.

Процес відбувався при перемішуванні за кімнатної температури без додаткових умов. Встановлено, що остання стадія крім утворення цільового 3-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)-2-(2-феніл-5-тіо-2,5-дигідро-1,2,4-триазол-3-іл)-пропеноїлнітрилу супроводжується формуванням 6-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)-4-оксо-1-(феніламіно)-2-тіогексагідропіримідин-5-карбонітрилу [52] (рис. 1.4). Автори пропонують відокремити триазоловмісний продукт (**1.18**) кристалізацією з 1,4-діоксану. Вихід склав 59 %.

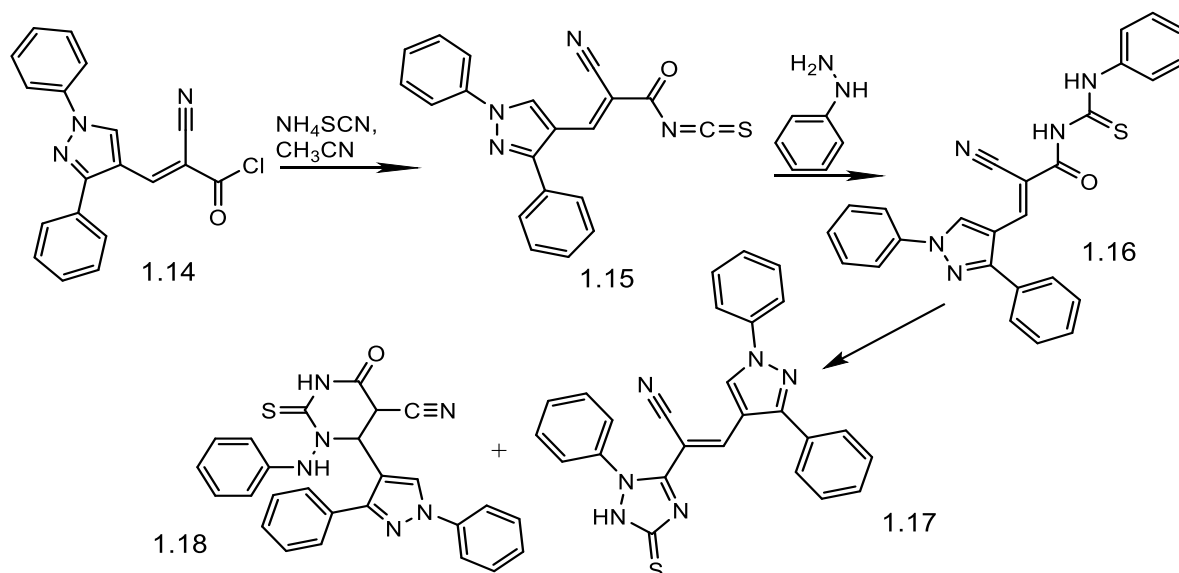


Рис. 1.4 Схема синтезу похідного 1,2,4-триазол-3-тіолу з 2-ціано-3-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)пропеноїл хлориду

Abdelrehim E. M. розробив метод синтезу, який дозволив успішно поєднати три різні гетероциклічні фрагменти [53]. В рамках виконаної роботи було одержано етил-4-(1-метилпірол-3-іл)-2,4-діоксобутаноат з використанням 3-ацетил-1-метилпіролу, натрій етаноату і діетилоксалату. Як зазначає автор статі, утворений етиловий естер 4-(1-метилпірол-3-іл)-2,4-діоксобутанової кислоти,

реагуючи з фенілгідазином нагрівався, утворював етил-5-(1-метилпірол-3-іл)-1-фенілпіразол-3-карбоксилат. Утворений естер легко вступає в реакцію взаємодії з гідазином та очікувано утворює 5-(1-метилпірол-3-іл)-1-фенілпіразол-3-карбогідразид. На шляху до формування триазолового фрагменту одержаний гідазид був трансформований у 5-[5-(1-метилпіразол-3-іл)-1-фенілпіразол-3-іл]-[1,3,4]оксадіазол-2-тіол за участі сірковуглецю в лужно-спиртовому середовищі. Автором показано, що при дії гідазин гідрату оксадіазоловий фрагмент перетворюється у 1,2,4-триазоловий і виділяється 4-аміно-5-(5-(1-метилпірол-3-іл)-1-фенілпіразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (рис. 1.5).

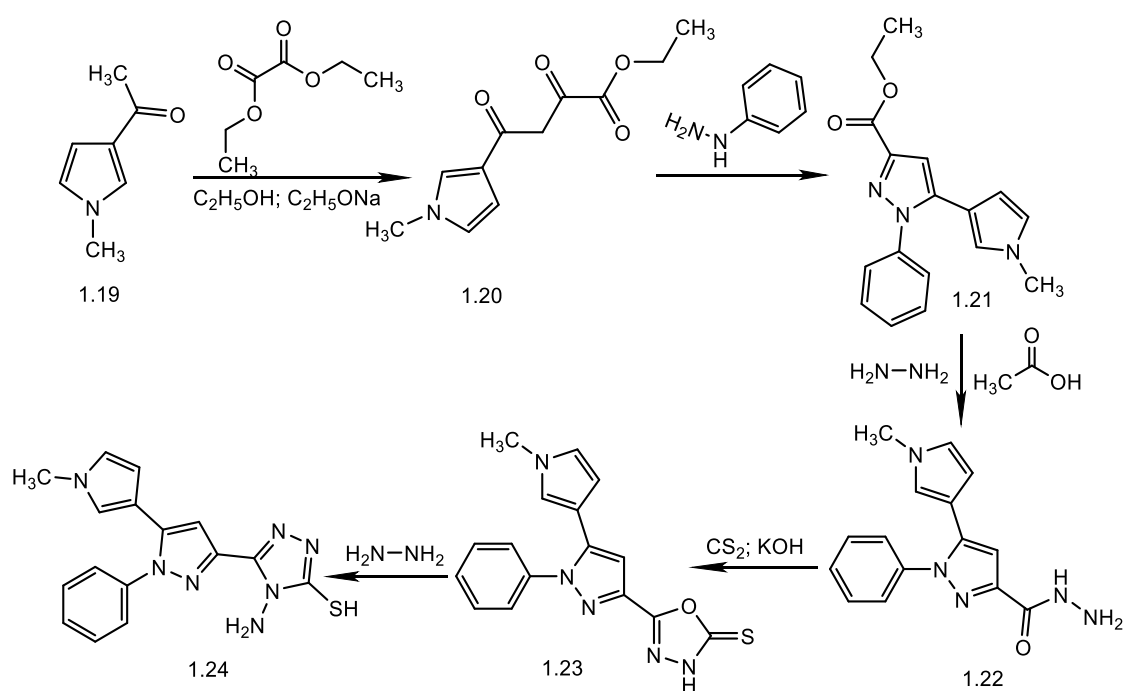


Рис. 1.5 Схема синтезу 4-аміно-5-(5-(1-метилпірол-3-іл)-1-фенілпіразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

Одним з відомих способів одержання піразоловмісних сполук є використання як вихідної речовини ацетилацетону. Зазначений напрямок лишається актуальним і в наш час. Так, провідними науковцями Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького та Львівського національного університету імені Івана Франка досліджена реакція взаємодії етил

(2*Z*)-хлоро(фенілгідразоно)ацетатів (**1.25**) з ацетилацетоном (**1.26**), що дозволило визначити оптимальні умови для синтезу етил-4-ацетил-5-метил-1-фенілпіразол-3-карбоксилатів (**1.27**) [54].

Сполуки, одержані на попередньому етапі (**1.27**), були піддані реакції бромовання, що призвело до утворення цільових бромокетонів (**1.28**). Показано, що зазначені бромокетони в реакції з 4-аміно-5-арил(гетерил)-2,4-дигідро-1,2,4-триазол-3-тіолами в середовищі етилового спирту сприяли формуванню 1,3,4-тіадіазольного фрагменту та етил-1-арил-4-(3-арил(гетарил)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-5-метилпіразол-3-карбоксилатів з виходом 72-89 % (**1.29-1.31**). За необхідності кінцеві продукти хімічного перетворення кристалізуються з етанолу.

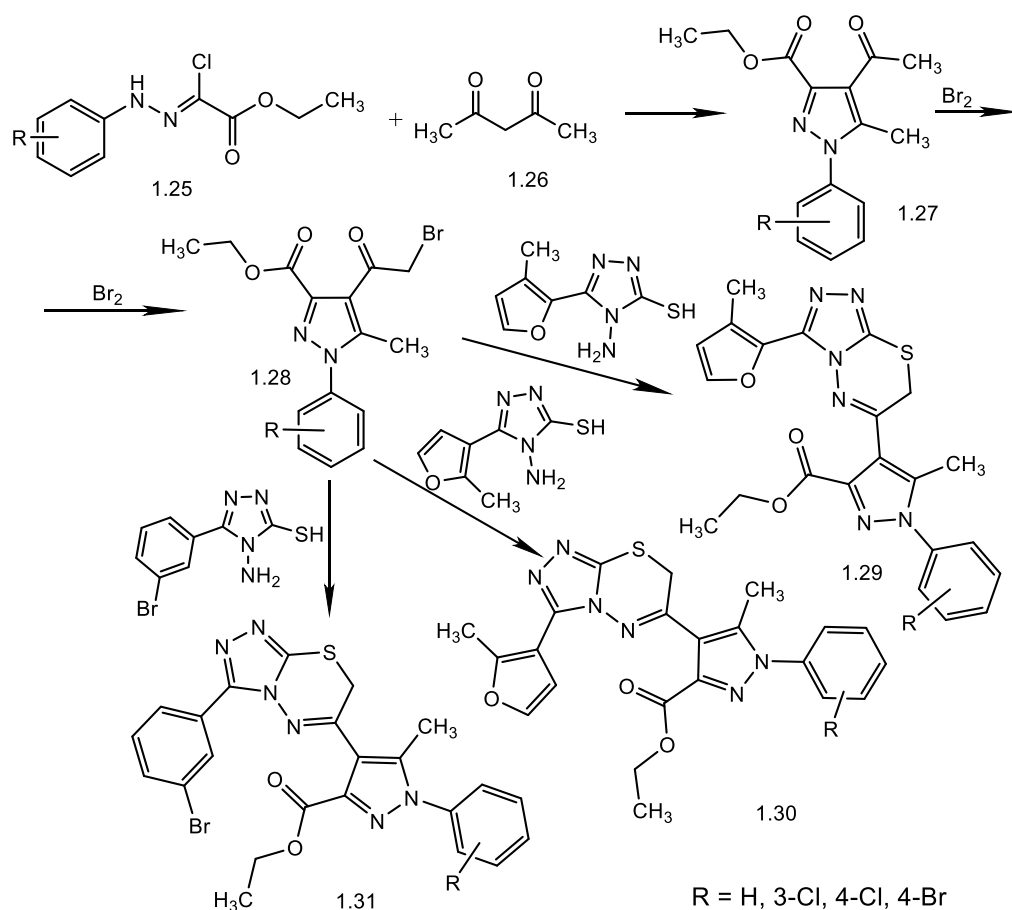


Рис. 1.6 Схема синтезу етил-1-арил-4-(3-арил(гетерил)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-5-метилпіразоло-3-карбоксилатів

Ще одним відомим напрямком створення піразолового фрагменту є взаємодія ацетилацетону з гідрaziном. Так, *Xiao-Dong Y. та Yu-Ye Yu* дослідили синтез похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу, які зв'язані з ядром піразолу лінкерною метиленовою групою [55]. Ацетилацетон (**1.32**) як вихідна сполука при взаємодії з гідразин гідратом утворює 3,5-диметилпіразол (**1.33**). Подальша трансформація сполуки (**1.33**) з етилхлорацетатом в ацетоні в присутності калію карбонату супроводжувалась утворенням етил-2-(3,5-диметилпіразол-1-іл)ацетату (**1.34**), який в реакції гідразинолізу очікувано утворює 2-(3,5-диметилпіразол-1-іл)-ацетогідразид (**1.35**). Подальша функціоналізація сполуки (**1.35**) передбачала взаємодію з фенілізотіоціанатом, яка характеризувалась утворенням 2-(2-(3,5-диметилпіразол-1-іл)ацетил)-*N*-фенілгідразин-1-карботіоаміду (**1.36**), гетероциклізація якого в лужному середовищі призводить до одержання 5-((3,5-диметилпіразол-1-іл)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-тіолу (**1.37**).

Вирішення питання щодо доцільності подальшої хімічної трансформації призвело до синтезу 1-(4-хлорофеніл)-2-((5-((3,5-диметилпіразол-1-іл)метил)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону (**1.38**) в реакції взаємодії вихідного тіолу з 2-бромо-1-(4-хлорофеніл)етан-1-оном (рис. 1.7).

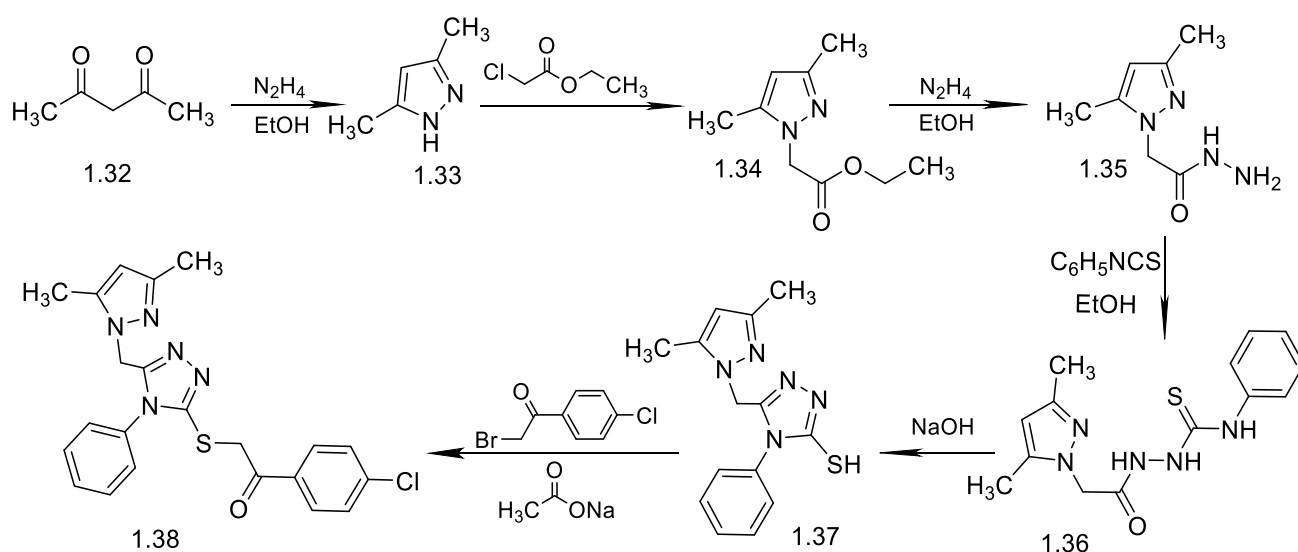


Рис. 1.7 Схема синтезу 1-(4-хлорофеніл)-2-((5-((3,5-диметилпіразол-1-іл)-метил)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-ону

Колектив авторів досліджував протокол синтезу піразоловмісних похідних 1,2,4-триазолу, використовуючи як вихідні структури етил-3-оксобутаноат та етилортоформіат [56]. Утворений інтермедіат етил-2-(етоксиметил)-3-оксобутаноат далі був перетворений за участю метилгідразину у етил-1,3-диметилпіразол-4-метаноат, який на наступному етапі шляхом гідрозинолізу було трансформовано у ключовий проміжний продукт 1,3-диметилпіразол-4-карбогідразид. Використання одержаного гідразиду (**1.42**) в реакції нуклеофільного приєднання фенілізотіоціанату дозволило сформувати 2-(1,3-диметилпіразол-4-карбоніл)-*N*-фенілгідразин-1-карботіоамід (**1.43**), який піддавали лужній гетероциклізації з утворення цільового тіолу формули (**1.44**).

Подальша функціоналізація за атомом Сульфуру передбачала взаємодію з похідними бензилхлориду та піридину (1-хлоро-2-(хлорометил)бенzenом, 1-хлоро-4-(хлорометил)бенzenом, 4-(хлорометил)бензонітрилом, 2-хлороацетонітрилом, 1-(хлорометил)-2-фторобенzenом, 1-бромо-2-(хлорометил)бенzenом, 2,4-дихлоро-1-(хлорометил)бенzenом, 2-хлоро-5-(хлорометил)піридином).

Реакцію проводили у присутності поташу з додаванням ДМФА.

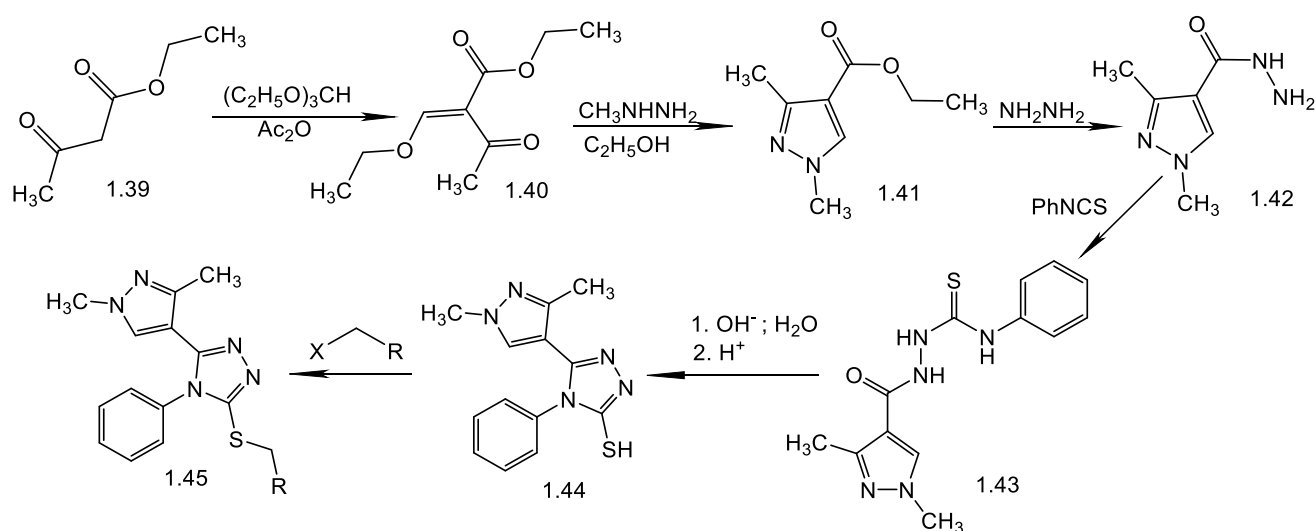


Рис. 1.8 Схема синтезу 3-(1,3-диметилпіразол-4-іл)-5-R-тіо-4-феніл-1,2,4-триазолу

Метод створення складних систем, які дозволяють поєднувати кондесовану піразоло[3,4-*c*]піразол-3-онову систему з 1,2,4-триазоловим фрагментом, представлено у роботі *Azab I. H.*

Вихідною ланкою у даному хімічному перетворенні був 5-(метилтіо)-3-оксо-2-(4-фенілтіазол-2-іл)-2,3-дигідропіразол-4-карбонітрил (**1.46**).

З даної сполуки шляхом взаємодії з гідразинокарботіоамідом у спиртовому середовищі було одержано 3-аміно-4-оксо-5-(4-фенілтіазол-2-іл)-5,6-дигідропіразоло[3,4-*c*]піразолокарботіоамід (**1.47**).

Далі сполуку (**1.47**) шляхом конденсації з фенацилбромідом було перетворено на 4-аміно-2,5-*bis*(4-фенілтіазол-2-іл)-1,5-дигідропіразоло[3,4-*c*]піразол-3-он (**1.48**).

Подальша трансформація дозволила одержати калій (4-оксо-2,5-*bis*(4-феніл-2-іл)-2,4,5,6-тетрагідропіразоло[3,4-*c*]піразол-3-іл)карбамодитіоат (**1.49**), якій на наступній стадії було піддано гідразинолізу з виходом продукту реакції 85% (**1.50**).

Наступний крок передбачав використання відповідних реагентів за певних умов (*a*), що дозволило створити цільовий ряд сполук (**1.51-1.58**) (рис. 1.9) [57].

Молекула 4-аміно-3-гідразино-5-меркапто-1,2,4-триазолу (**1.59**) має важливі для хімічної модифікації нуклеофільні центри, які утворені Нітрогенами аміно- та гідразиногруп і Сульфуром меркаптогрупи.

В контексті формування ковалентно приєднаного піразолового замісника до 1,2,4-триазолу важливе місце займає гідразиногрупа, що активно висвітлюється у сучасних наукових роботах.

Так, в оглядовій статті [58] продемонстровано, що використання ацетофенону, 1-(4-хлорофеніл)- та 1-(*para*-толіл)етан-1-онів, 3-оксо-3-фенілпропанонітрилу, циклогексан-1,3-діону та його похідних дозволяють успішно конструювати піразольний фрагмент за допомогою зазначеної гідразиногрупи (рис. 1.10).

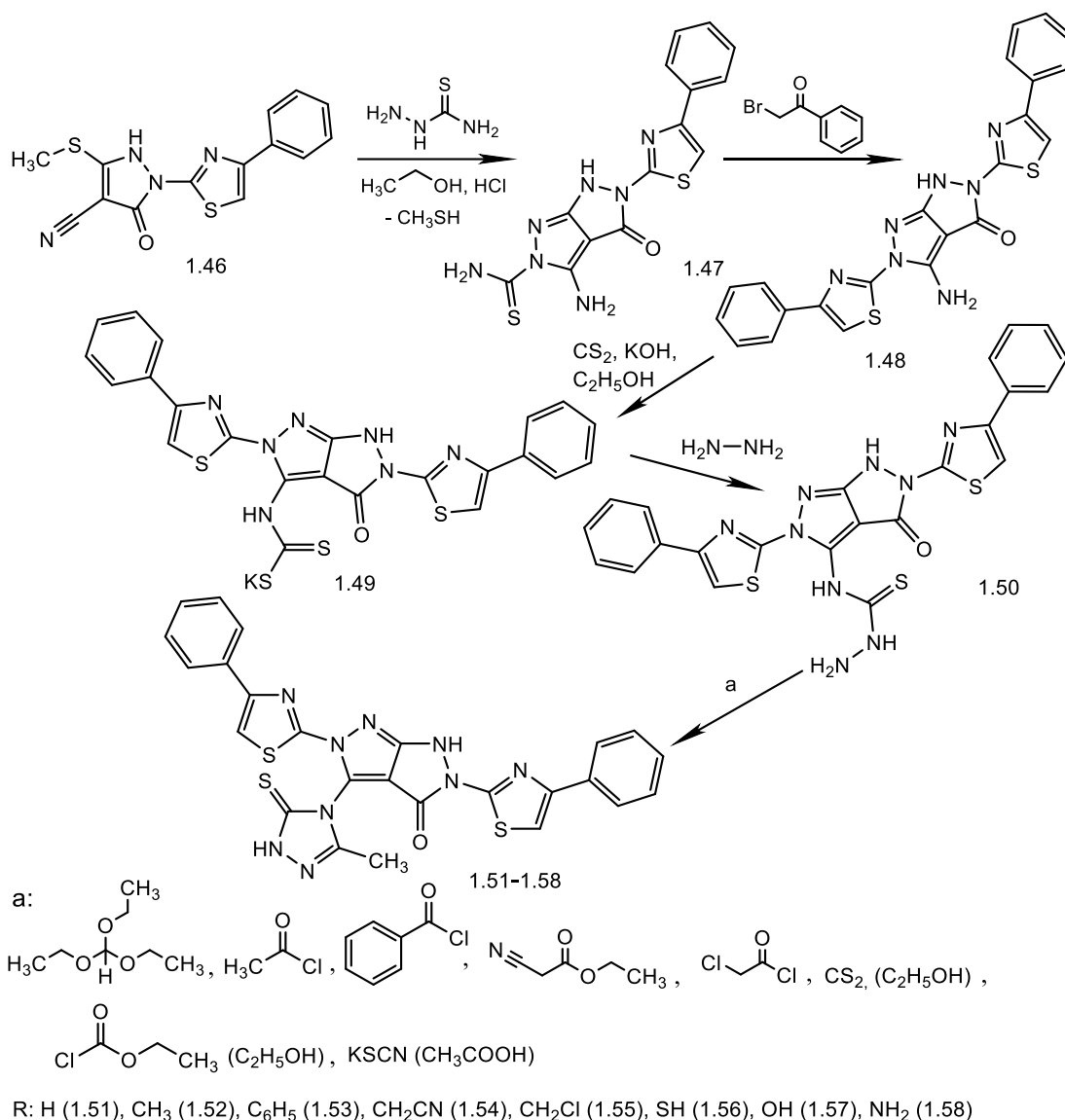


Рис. 1.9 Схема синтезу 4-(3-R-5-меркапто-1,5-дигідро-1,2,4-триазол-4-іл)-2,5-біс(4-фенілтіазол-2-іл)-1,5-дигідропіразоло[3,4-с]піразол-3-ону

Хімічне перетворення реалізується за участю *N,N*-диметилформаміду диметилацеталу в ортофосфатній кислоті, яка каталізує зазначений процес.

Практична значимість наявності в структурі речовини скафолду кислоти барбітурової (**1.71**) підкреслюється хімічним перетворенням за її участю з залученням до процесу 3-гідразино-5-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**1.59**), *N,N*-диметилформамід диметилацеталу в середовищі орто-фосфатної кислоти, що

супроводжується утворенням 2-(4-аміно-5-меркапто-1,2,4-триазол-3-іл)-7a-гідрокси-1,2,7,7a-терагідропіразоло[3,4-d]піримідин-4,6-діону (**1.72**) (рис. 10) [58].

Подібне до вищенаведеного перетворення має хімічна трансформація за участю бензоїлацетону (**1.73**) та 3-гідразино-5-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**1.59**).

Сформований 1-(1-(4-аміно-5-меркапто-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фенілпіразол-4-іл)етан-1-он одразу вступає в реакцію відщеплення етанової кислоти за умови нагрівання реакційного середовища, що дозволяє одержати 4-аміно-5-(3-фенілпіразол-1-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**1.61**) (рис. 1.10) [58].

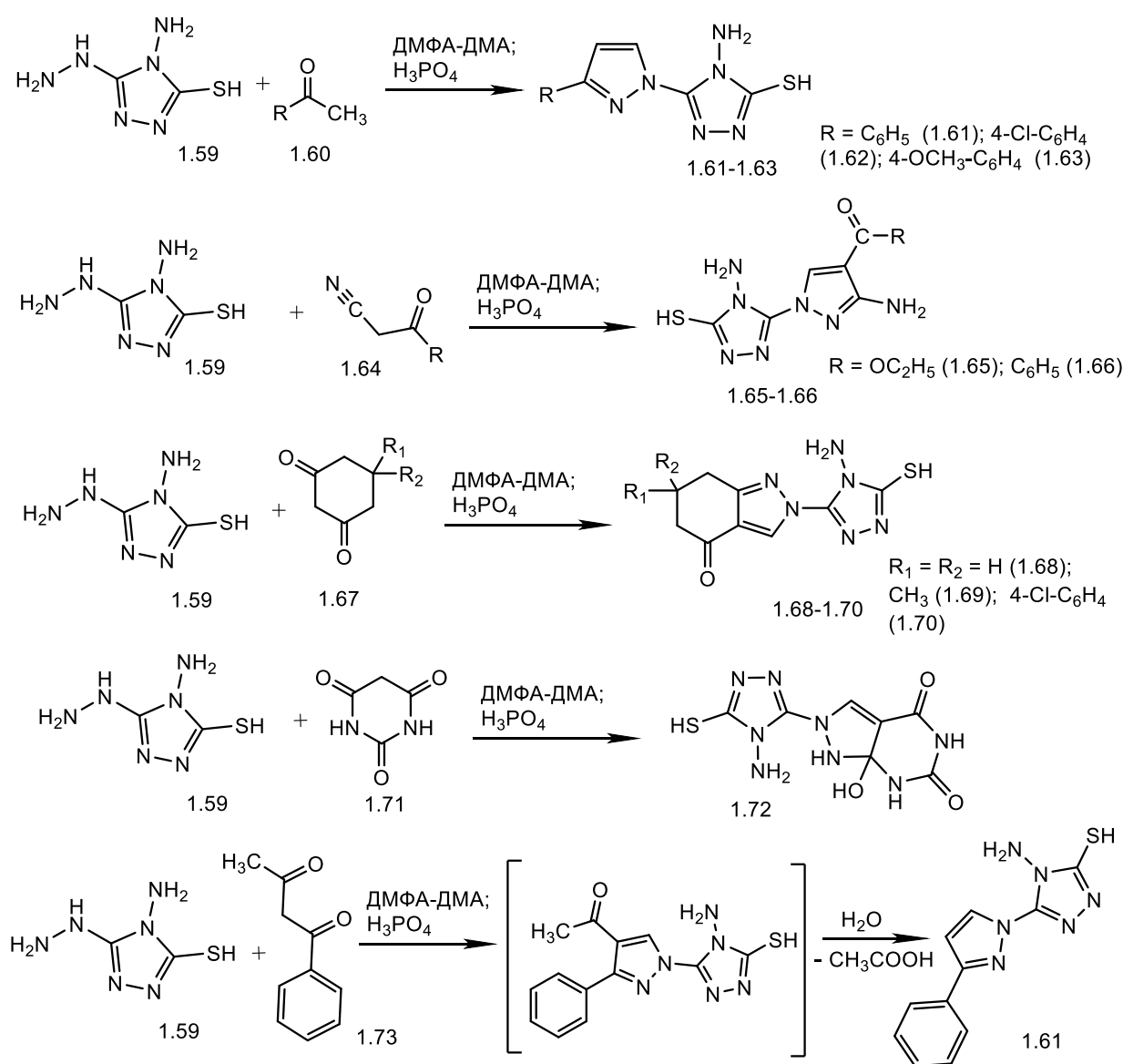


Рис. 1.10 Функціоналізація 4-аміно-5-гідразино-1,2,4-триазол-3-тіолу формуванням піразолового фрагменту

Більш складні форми поєднання ковалентним зв'язком піразолового синтону та 1,2,4-триазолового остову за участю 3-гідразино-5-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу можна знайти в роботах *Pavurala* та *Vedula* [59] та *Aggarwl R.* з співавторами [60]. Представлений синтетичний протокол мав на меті створення 3-(піразоліл[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)хромен-2-онів шляхом відтворення мультикомпонентного одnoreакторного синтезу. Реакція проходила за участю взаємодією 4-аміно-5-гідразино-3-меркапто-1,2,4-триазолу (**1.59**) з заміщеними 3-(2-бromo-ацетил)кумаринами (**1.74**) та ацетилацетоном (**1.32**) в абсолютному етанолі. Автори зазначають досить високі виходи продуктів реакції та простоту відтворення процесу [59, 60].

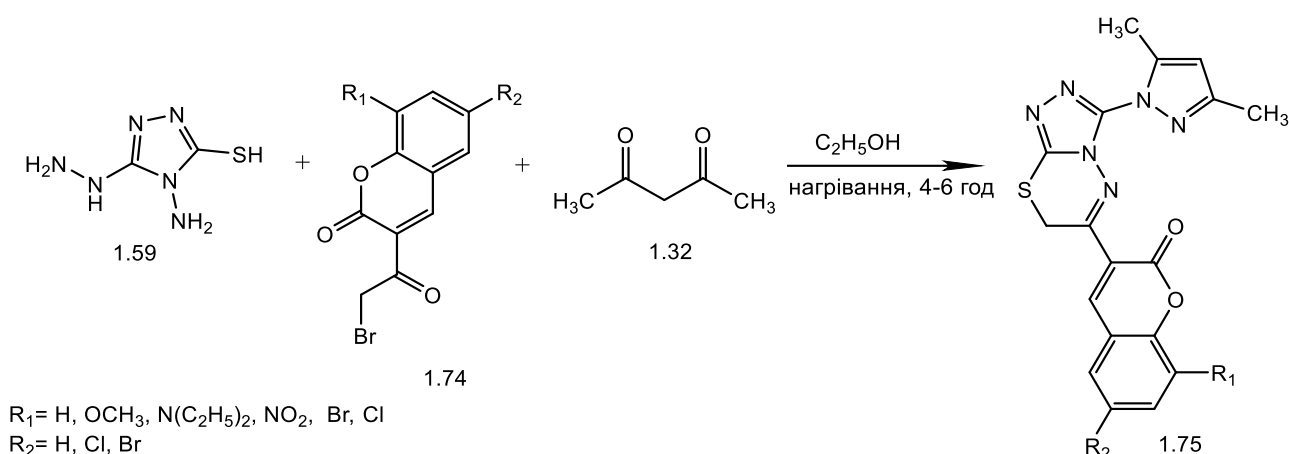


Рис. 1.11 Схема багатокомпонентного одnoreакторного синтезу 3-(піразоліл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)хромен-2-онів

Sujata та ін. описали перетворення 4-аміно-5-гідразино-3-меркапто-1,2,4-триазолу (**1.59**) з використанням бензоїлацетонітрилів, що дозволило долучити до вихідної структури піразоловий замісник з аміногрупою [61]. Як додаткові реагенти застосовувались різноманітні фенацилброміди (**1.77**) або 3-(2-бromo-ацетил)кумарини (**1.78**). Реакція проводилась у середовищі етанолу та у присутності каталітичної кількості етанової кислоти, який пришвидшує процес конденсації [61].

Реакційна суміш, яка включала еквівалентні кількості похідних кумарину та 1,2,4-триазолу з каталізатором, нагрівалась впродовж 1 години. Потім додавалась еквівалентна кількість бензоїлацетонітрилу і знову проводилось нагрівання впродовж 1 години. За необхідності кінцеві продукти реакції кристалізувались з метанолу.

Як результат з високими виходами були одержані відповідно 3-арил-1-(6-арил[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-3-іл)піразол-5-аміни (**1.79**) та 3-(3-(5-аміно-3-арилпіразол-1-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-8-алкілоксихромен-2-они (**1.80**) (рис. 1.12).

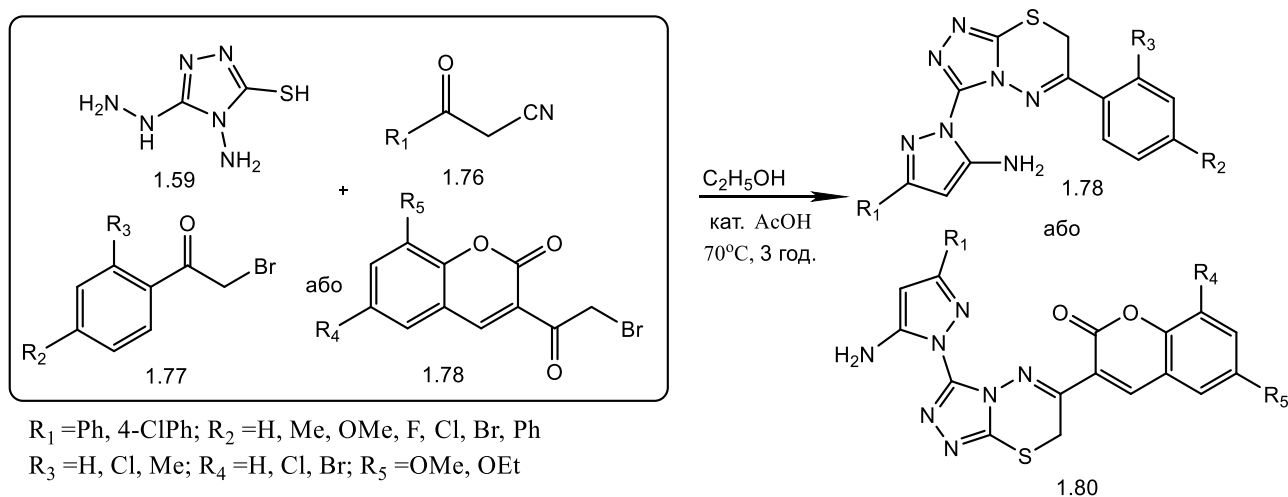


Рис. 1.12 Багатокомпонентний синтез 3-арил-1-(6-арил[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-3-іл)піразол-5-амінів та 3-(3-(5-аміно-3-арилпіразол-1-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-6-іл)-8-алкілоксихромен-2-онів

Aychiluhim T. B. та *Rao V. R.* в рамках дослідження перетворення попередньо одержаного 4-аміно-5-гідразино-3-меркапто-1,2,4-триазолу (**1.59**) вивчили однореакторну його взаємодію з 3-(2-бromoацетил)кумаринами (**1.78**) та етил-2-(2-(арил)гідразоно)-3-оксобутаноатами (**1.81**) за участю ацетатного буферу [62]. Суміш нагрівалась впродовж 3-5 годин.

В результаті зазначеної конденсації було одержано 4-(арилгідразоно)-3-метил-1-(6-(кумарин-3-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-3-іл)піразол-5-они

(**1.82**) з виходом до 87%. Продукти хімічної реакції перекристалізували з етанової кислоти.

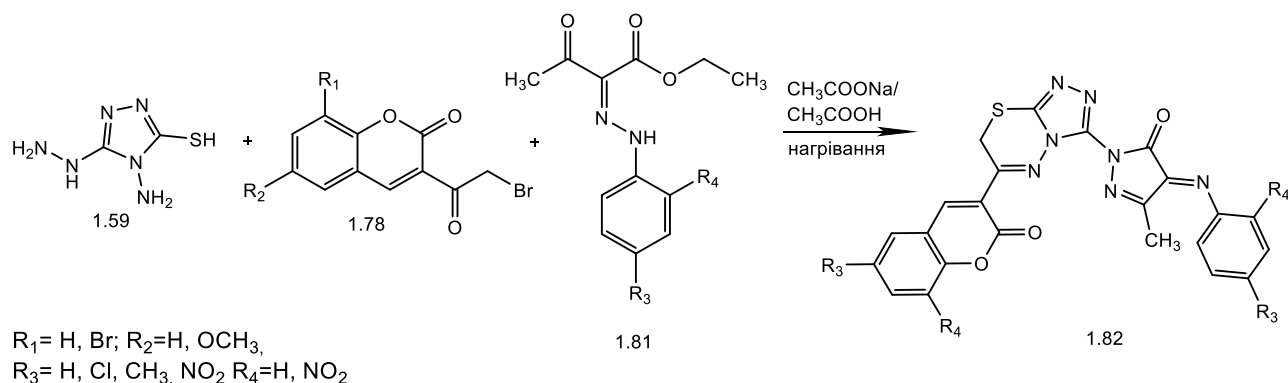


Рис. 1.13 Схема синтезу 4-(арилідразоно)-3-метил-1-(6-(кумарин-3-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-3-іл)піразол-5-онів

Структурна модифікація похідних піразолу шляхом введення до його структури 1,2,4-триазолу та його похідних розробляється багатьма науковими колективами.

Так, синтез нових моно- та *bis*-1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів, пов'язаних із піразольним фрагментом (**1.85**) та (**1.86**), був описаний *Salem M. E.* та ін. [63].

Реакція похідних 4-аміно-3-меркапто-1,2,4-триазолу з 2-бром-1-(5-метил-1-фенілпіразол-4-іл)етаноном (**1.83**) при кип'ятінні в етанолі у присутності триетиламіну як каталізатора, давала проміжну сполуку (**1.84**), яку циклізували при кип'ятінні в етановій кислоті з одержанням піразоліл(5,6-дигідро-*S*-триазоло[3,4-*b*]тіадіазинів) (**1.85**) з виходом 70–75% (рис. 1.14).

Bis(6-піразоліл-*S*-триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазини), пов'язані з алкільним спейсером (**1.86**), були синтезовані в одну стадію шляхом циклоконденсації *bis*(4-аміно-5-меркапто-1,2,4-триазол-3-іл)алканів з 2 еквівалентами кетону формули (**1.83**) у етанолі, з додаванням каталітичної кількості триетиламіну.

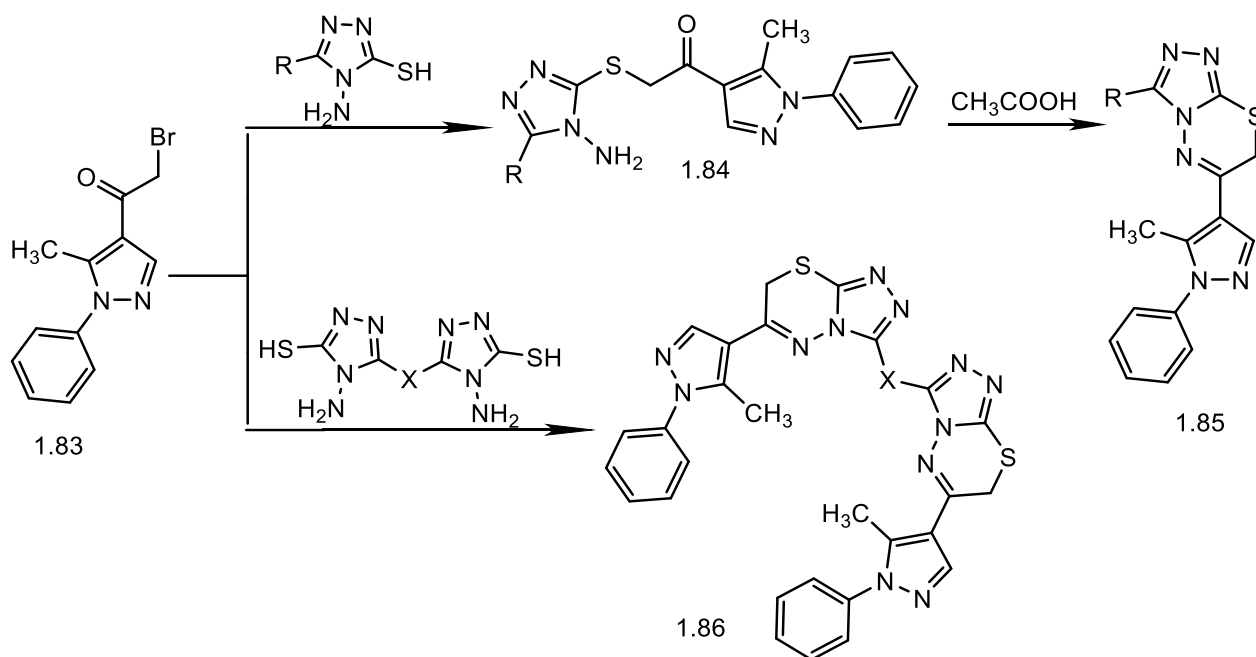


Рис. 1.14 Схема синтезу піразолопохідних моно- та *bis*-1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів

Взаємодією 3-метил-1-феніл-5-(1,2,4-триазол-1-іл)піразол-4-карбальдегіду (**1.87**) з заміщеними бензальдегіду (**1.88**) в лужно-спиртовому середовищі за кімнатною температури при перемішуванні впродовж 10-25 хвилин було одержано відповідні халкони (**1.89**) [64].

Структуру синтезованих сполук (**1.89**) було оптимізовано шляхом взаємодії з ізатином (**1.90**) та L-проліном (**1.91**). Як розчинник використовували метанол (при нагріванні або за кімнатної температури), етанол (при нагріванні), ацетонітрил (при нагріванні), тетрагідрофуран (при нагріванні), 1-бутил-3-метилімідазолітетрафлуороборат (за кімнатної температури, при нагріванні або під впливом ультразвуку).

Останній варіант природи розчинника та додаткових умов у вигляді ультразвуку дозволив одержати продукт реакції у вигляді спіроконденсованої системи (**1.92**) з досить високим виходом (до 92%). Оптимальний час проведення зазначеної реакції за визначених умов склав 6 хвилин. Реагенти на другій стадії використовувались у еквімолярних кількостях.

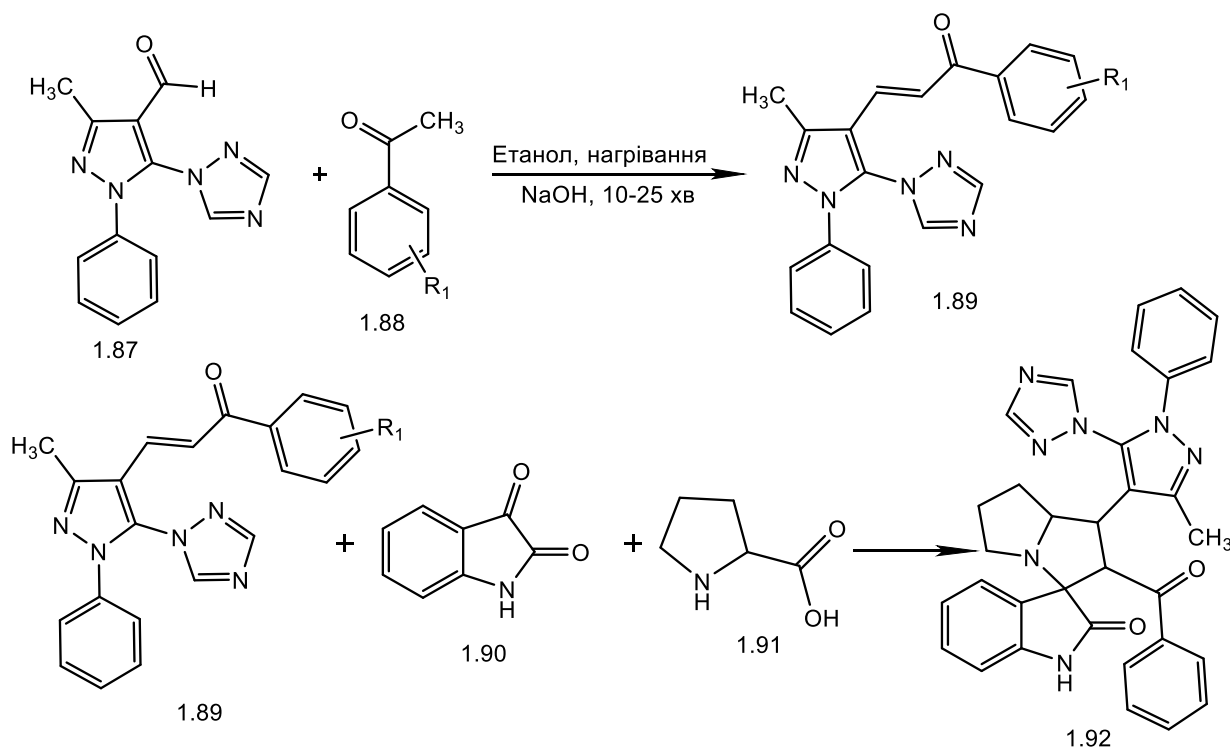


Рис. 1.15 Схема синтезу 2'-бензоїл-1'-(3-метил-1-феніл-5-(1,2,4-триазол-1-іл)піразол-4-л)-1',2',5',6',7',7a'-гексагідроспіро[індолін-3,3'-піролізін]-2-ону

Привертає увагу робота *P. Prasad* та ін. [65], яка дозволила за допомогою широко використовуємих хімічних реакцій поєднати фрагменти піразолу, 1,2,4-триазолу та імідазо[1,2-*a*]піримідину. Як вихідну речовину було обрано 5-метил-2-феніл-2,4-дигідропіразол-3-он (**1.93**), в структуру якого за допомогою реакції Вісмєра-Хаака було введено альдегідну групу. Реакція виконувалась за участю диметилформаміду та фосфор оксихлориду при нагріванні впродовж 2 годин. Одержаний 5-хлоро-3-метил-1-фенілпіразол-4-карбальдегід (**1.94**) було залучено у реакцію нуклеофільного заміщення за участю 1,2,4-триазолового скафолду, який зайняв місце ковалентно зв'язаного Хлору. Реакція була виконана в середовищі диметилформаміду у присутності калій карбонату.

В подальшому була застосована конденсація Кляйзена-Шмідта, яка була реалізована за участю 3-метил-1-феніл-5-(1,2,4-триазол-1-іл)піразол-4-карбальдегіду (**1.95**) та 1-(4-*R*-феніл/гетероарил)етанонів. Процес перебігав за допомогою мікрохвильового опромінення і завершувався за 10 хвилин.

Одержаний проміжний халкон (**1.96**) в подальшому був задіяний в реакцію [3+3] циклоконденсації з 2-амінобензімідазолом, що дозволило одержати цільову гетероароматичну систему (**1.97**).

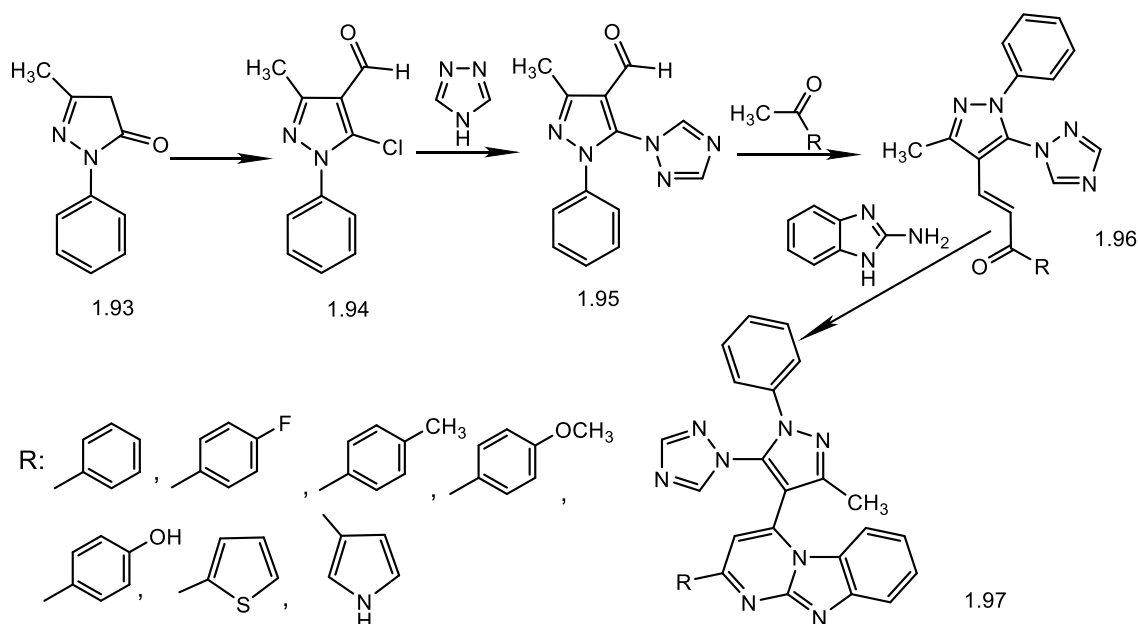


Рис. 1.16 Схема синтезу 2-R-4-(3-метил-1-феніл-5-(1,2,4-триазол-1-іл)-піразол-4-іл)бензо[4,5]імідазо[1,2-*a*]піримідинів

Серед цікавих робіт звертає на себе увагу розробка *Хи М.* з співавторами, яка демонструє поєднання синтетичним шляхом 4-нітропіразолового фрагменту з 3-нітро-1,2,4-триазоловим [66].

На першому етапі проводиться нітрування за допомогою нітруючої суміші, що допомагає реалізувати електрофільне заміщення за четвертим положенням і сформуванню сполуку (**1.99**).

Другий етап включав окислення метильних груп за третім та п'ятим положенням піразолового кільця. Для цього був використаний калій перманганат, який сприяв перетворенню метильних замісників на карбоксильні групи, що дозволило ідентифікувати 4-нітропіразол-3,5-дикарбонову кислоту (**1.100**).

Наступний етап представленого хімічного перетворення передбачав функціоналізацію з формуванням естерної групи, яка була реалізована за участю

тіоніл хлориду та метанолу і сприяла виділенню диметил 4-нітропіразол-3,5-метаноату (**1.101**).

Подальший етап трансформації ґрунтувався на використанні чотирьох еквівалентів гуанідину сульфату та натрій метилату як нуклеофільного реагенту.

Даний процес реалізовувався при нагріванні до кипіння протягом 20 годин як однореакторна циклізація.

Підкислення до рН = 5 за допомогою концентрованої кислоти соляної дозволило виділити та ідентифікувати 5,5'-(4-нітропіразол-3,5-дііл)біс(1,2,4-триазол-3-амін) (**1.102**).

Ключовий 4-нітро-3,5-біс(1,2,4-триазол-3-нітро)піразол (**1.103**) було одержано за допомогою реакції діазотування в сульфатній кислоті у присутності натрій нітриту.

За умов обробки речовини **1.102** в концентрованій сульфатній та нітратній кислоті при 0 °С утворюється *N,N'*-((4-нітропіразол-3,5-дііл)біс(1,2,4-триазол-5,3-дііл))динітроамід (**1.104**).

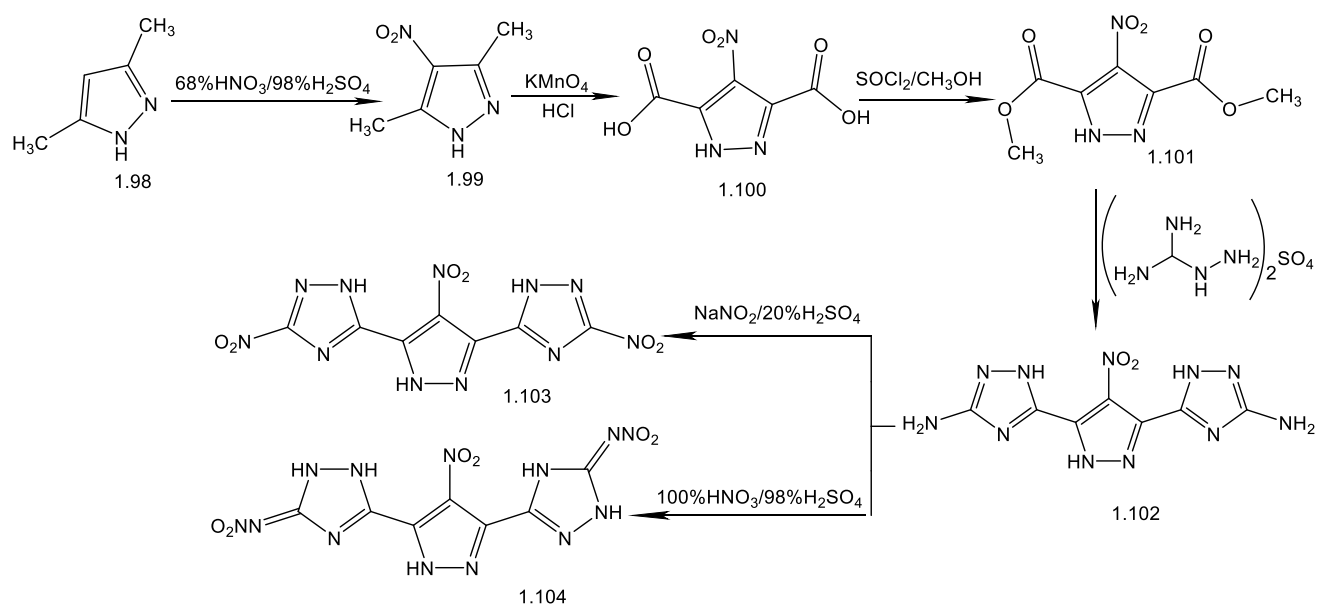


Рис. 1.17 Схема поєднання 4-нітропіразолового та 3-нітро-1,2,4-триазолового фрагментів

1.2 Синтез та властивості конденсованих піразоло-1,2,4-триазолових систем

Зацікавленість синтетичним напрямком, який представлений дослідженням методів синтезу конденсованих систем, які поєднують піразол та 1,2,4-триазол підтверджується чисельними роботами в області органічної та медичної хімії [67-78].

Всі методи формування таких конденсованих систем можна поділити на дві загальні групи: перша ґрунтується на використанні реакцій, в яких як вихідна структура формується 1,2,4-триазол, друга – на застосуванні підходів з першочерговим конструюванням піразоловмісних сполук.

До першої групи реакцій можна віднести формування 4-аміно-1,2,4-триазолу і 1-алкіл-1,2,4-триазолу та їх похідних як ключових інтермедіатів.

Друга група має набагато ширший спектр синтетичних напрямків і включає формування проміжних сполук в рядах піразоламінів, ациламінопіразолів, піразолгідразинів, піразолгідразидів, піразолгідразонів, діазонієвих солей піразолу, піразол-3-онів, 2-ацилпіразол-3-онів та інших. Зазначені методи були успішно реалізовані та описані в літературі [67-79].

Наприклад, відомі результати досліджень, пов'язаних з процесом одержання 1,2,4-триазоло[4,3-*b*][1,2,4]триазепін-8-онів (**1.105**) з вихідних 3,4-діаміно[1,2,4]триазолів і етил-3-оксобутаноату при нагріванні. Встановлення структури проміжних продуктів реакції дозволило виявити 1,2,4-триазоло[4,3-*b*]-[1,2,4]триазепін-8-они.

З метою цільової трансформації виділені речовини обробляли оцтовим ангідридом для одержання ацетильних похідних імідазо[1,2-*b*][1,2,4]триазолів або імідазо[2,1-*c*][1,2,4]триазолів [79].

Але *Claramunt* та ін. показали, що утворюються не імідазотриазоли, а саме 1-(піразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазол-1-іл)етан-1-они (**1.106**). В подальшому сполуки **1.106** було піддано реакції деацетилюванню за участю натрій гідроксиду або натрій метилату в суміші тетрагідрофуран - метанол з утворенням піразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазолів (рис. 1.18) [79].

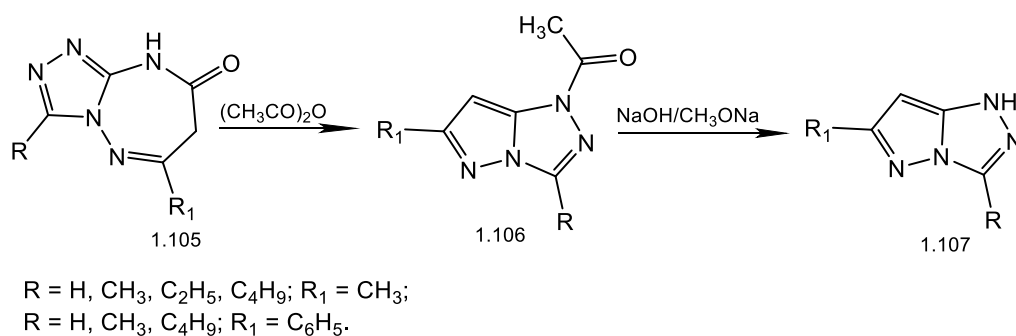


Рис. 1.18 Схема синтезу піразоло[5,1-с][1,2,4]триазолів

Згодом, при дослідженні кінетики процесу взаємодії 6-метил-[1,2,4]-триазоло[4,3-*b*][1,2,4]триазепин-8-онів (**1.105**) з оцтовим ангідридом при зменшенні часу перебігу хімічного процесу відбувається формування двох продуктів хімічної реакції: переважає 1-(6-метилпіразоло[5,1-с][1,2,4]триазол-1-іл)етан-1-он (**1.106**) та в невеликій кількості присутній 1-ацетил-3-*R*-6-*R*₁-азето[3',2':4,5]піразоло[5,1-с][1,2,4]триазол-7-он (**1.108**) [80].

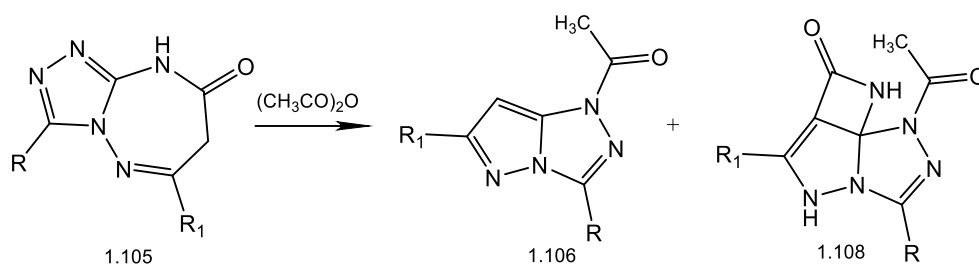


Рис. 1.19 Схема синтезу 1-(піразоло[5,1-с][1,2,4]триазол-1-іл)етан-1-онів, який супроводжується формуванням мінорного продукту

Зручним та сучасним методом одержання конденсованої піразоло[5,1-с]-[1,2,4]триазолової гетероциклічної системи є реакція взаємодії гідразинокарботіогідразиду та етилового естеру ціаноетанової кислоти, яка відбувається в інтервалі температури плавлення етилціаноетаноату, який складає 140-150 °С, та супроводжується утворенням проміжної піразол-5-онової системи [79]. Хімічне перетворення передбачає відщеплення етанолу з наступним формуванням

проміжного 3-аміно-5-оксо-4,5-дигідропіразол-1-карботіогідрозиду, який в подальшому трансформується шляхом відщеплення води у 6-амінопіразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазол-3-тіол (рис. 1.20). Час перебігу хімічної реакції склав 30 хвилин. Вихід кінцевого продукту реакції становив 82 %.

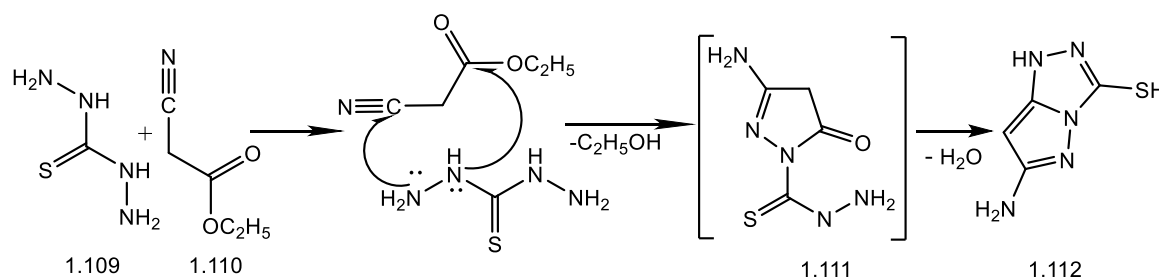
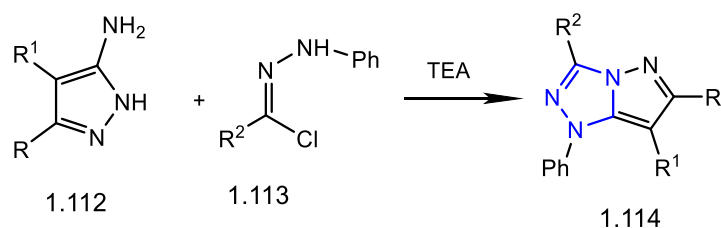


Рис. 1.20 Схема синтезу 6-амінопіразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазол-3-тіолу

Різні класи похідних піразолу, функціоналізовані в 3- та 5-положеннях, є зручними прекурсорами для конструювання піразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазолів шляхом реакції з відповідними бідентатними реагентами [79].

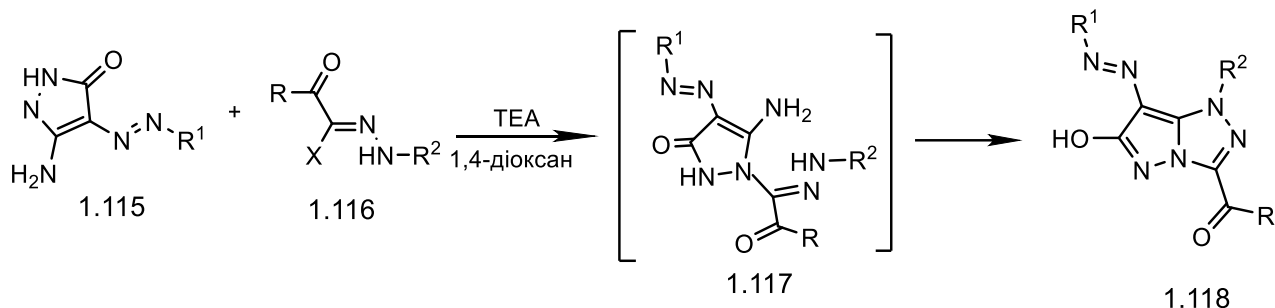
Практично значимим прикладом є 3,4-дизаміщені піразол-5-аміну (**1.112**), які активно реагують з *N*-фенілбензогідразоноіл хлоридами (**1.113**) у присутності триетил-аміну в етанолі або 1,4-діоксані, що супроводжується формуванням структури 6-заміщених та 6,7-дизаміщених 3-арил-1-фенілпіразоло[5,1-*c*][1,2,4]-триазолів (**1.114**) (рис. 1.21) [79].



R = феніл; R₁ = H; R₂ = феніл, 4-X-C₆H₄ (X = Cl, CH₃, OCH₃)
 R = CH₃; R₁ = феніл; R₂ = феніл, 4-CH₃-C₆H₄
 R = феніл; R₁ = Br; R₂ = феніл, 4-X-C₆H₄ (X = Cl, CH₃)

Рис. 1.21 Схема синтезу 6-заміщених та 6,7-дизаміщених 3-арил-1-феніл-піразоло[5,1-*c*][1,2,4]триазолів

Реакція 7-(арилдіазеніл)-2,4-дигідропіразол-3-онів **1.115** з 2-оксо-*N*-арилгідразоноїл галогенідами **1.116** у присутності триетиламіну в середовищі 1,4-діоксану перетворюються у 3-ацил-1-арил-7-(арилдіазеніл)піразоло[5,1-*c*]-[1,2,4]триазол-6-оли **1.118** (рис. 1.22). Як проміжні комплекси формуються сполуки формули **1.117** [79].



X = Cl: R = CH₃, R₁ = феніл; R₂ = феніл; X = Cl: R = CH₃, R₁ = 4-Cl-C₆H₄; R₂ = феніл, 4-Y-C₆H₄ (Y = Cl, Br, CH₃, NO₂, OCH₃); X = Cl: R = CH₃, R₁ = 4-CH₃-C₆H₄; R₂ = феніл, 4-Y-C₆H₄ (Y = Cl, Br, CH₃, OCH₃); X = Cl: R = CH₃, R₁ = 4-NO₂-C₆H₄; R₂ = феніл; X = Cl: R = феніл; R₁ = 4-CH₃-C₆H₄; R₂ = феніл

Рис. 1.22 Схема синтезу 3-ацил-1-арил-7-(арилдіазеніл)піразоло[5,1-*c*]-[1,2,4]триазол-6-олів

1.3. Біологічні властивості піразолопохідних 1,2,4-триазолу та їх конденсованих аналогів

Багатовекторність у створенні великого різноманіття похідних, що поєднують гетероциклічні фрагменти піразолу та 1,2,4-триазолу пов'язана перед усім зі значними перспективами у створенні оригінальної біологічно активної субстанції.

Дані літературних джерел останніх років свідчать про те, що зазначені сполуки мають вагомий потенціал у фармакології, включаючи протиракову, протимікробну, болезаспокійливу, протизапальну, антиоксидантну, протівірусну дію, а також можуть служити інгібіторами ферментів і протитуберкульозними

засобами, реалізуючи свою активність шляхом залучення різних механізмів, наприклад, таких як інгібування ферментів і взаємодія з клітинними мішенями.

За допомогою процесу HTS (High-Throughput Screening) *LaPorte* та ін. [81] ідентифікували серію піразолопохідних 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазинів (**1.118**) як потужних та селективних інгібіторів STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3).

STAT3 - це важливий білок внутрішньоклітинного сигнального шляху, який відіграє ключову роль в багатьох біологічних процесах, включаючи регуляцію експресії генів, протизапальні відповіді, а також ріст клітин. STAT3 є привабливою мішенню для протипухлинних агентів [81].

Сполуки **1.118a** і **1.118b**, під час тестування, виявили високу антипроліферативну активність проти декількох клітинних ліній плоскоклітинного раку голови та шийі, таких як 686LN, Cal33, FaDu та OSC19.

Ця активність проявилася в здатності сполук знижувати рівень фосфорильованого STAT3 в клітинах, а також впливати на експресію генів, які пов'язані з активністю STAT3.

Значення GI_{50} (половина максимального інгібіторного ефекту) для цих сполук становили від 14 до 44 мкмоль/л.

Сполуки **1.118a** і **1.118b** виявилися більш селективними інгібіторами STAT3 з значенням IC_{50} 6,8 і 9,6 мкмоль/л, порівняно зі STAT1 (IC_{50} : > 50 мкмоль/л для зазначеної пари речовин).

Дослідження SAR виявили вплив алкільних, піразоловмісних та арильних замісників в структурі похідних 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину для інгібування STAT3 (рис. 1.23).

Крім того, покращення ефективності та метаболічної стабільності було досягнуто шляхом введення α -метильної групи в тіадіазин (**1.118c**, GI_{50} = 1,9 мкмоль/л, IC_{50} = 8,2 мкмоль/л).

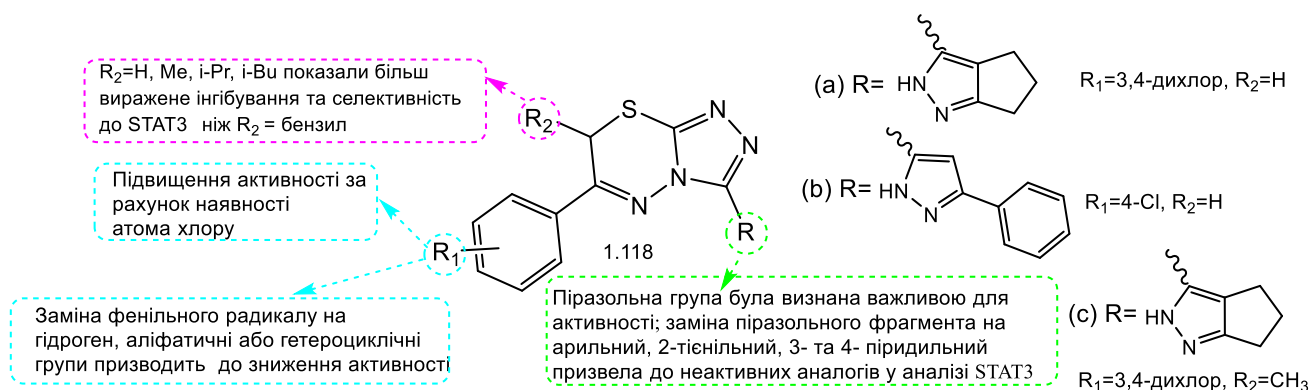


Рис. 1.23 Результати SAR аналізу впливу піразоловмісних похідних 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину на сигнальні шляхи STAT1 та STAT3

Penta et al. [82] синтезували похідні піразоліл[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4](тіадіазин-6-іл)піран-2-ону (**1.119**) та оцінили їх *in vitro* антибактеріальну активність проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* та *Klebsiella pneumonia* та протигрибкові властивості щодо *Candida albicans*. Серед досліджуваних сполук речовина **1.119e** показала кращу затримку росту (зона інгібування = 27–35 мм), ніж стандартні препарати (зона інгібування = 25–32 мм). Дослідження SAR показало, що похідне, яке містить електроноакцепторну групу на фенільному кільці, демонструє найпотужнішу антимікробну активність (рис. 1.24).

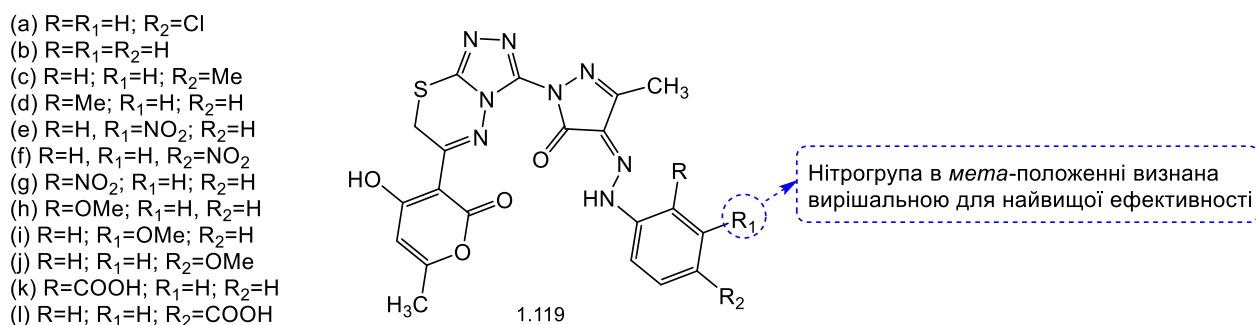


Рис. 1.24 Результати SAR-аналізу антимікробної активності похідних піразоліл[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4](тіадіазин-6-іл)піран-2-ону

Редді та ін. [83] синтезували похідні 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**1.120**) та оцінили їх антибактеріальну активність *in vitro*. Дослідження дозволило

встановити, що речовина формули **1.120c** має значний потенціал антибактеріальної активності. До даної сполуки високочутливими виявились *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella dysenteriae* та *Shigella flexneri* і за значенням зони інгібування росту бактерій дана речовина була на рівні з стрептоміцином та активніша за неоміцин (рис. 1.25).

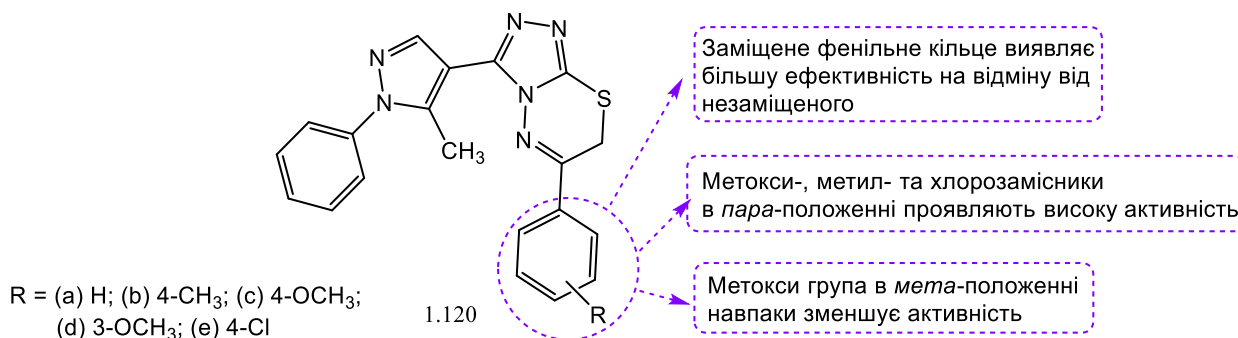


Рис. 1.25 Антимікробна активність похідних 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазину з піразоловим замісником

Науковою групою *Puthiyapurayil* та ін. [84] були одержані перспективні результати щодо протизапальної та аналгетичної активності в ряду похідних 3,6-дизаміщених 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**1.121**). Дослідження проводились *in vivo* з використанням моделей асептичного запалення, а саме: формалінового та карагенінового набряку, а також скринінгової аналгетичної моделі «оцтовокислих корчей». З досліджуваної серії сполуки **1.121 a-c** продемонстрували потужну та тривалу аналгетичну активність при пероральному введенні у дозах 100 мг×кг⁻¹, так і в 200 мг×кг⁻¹. Зазначені структури в експерименті проявили відмінну протизапальну активність на фоні незначної ульцерогенної активності за умов введення у дозі 50 мг×кг⁻¹. За результатами дослідження SAR було встановлено, що похідні з 4-(трифторметил)фенільним замісником при піразоловому фрагменті є більш активними, ніж похідні, які містять (4-хлорфеніл)-1-метилетильний замісник (рис. 1.26). Сполука **1.121b** також продемонструвала значний цитотоксичний ефект на лінії клітин раку молочної залози людини (MCF-7) зі значенням IC₅₀=14,24 мкмоль/л.

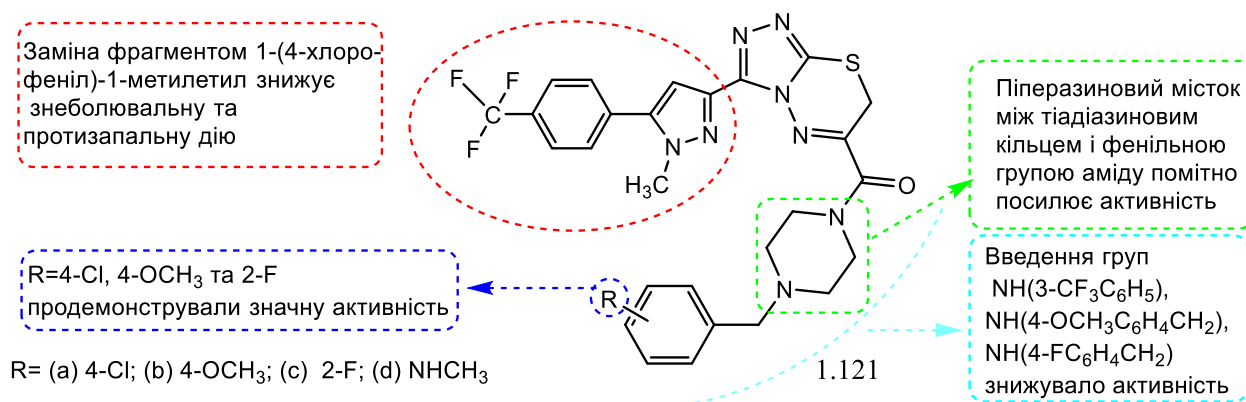


Рис. 1.26 SAR аналіз похідних 3,6-дизаміщених 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазину

Авторами [85] продемонстровано, що ряд похідних піразол-5-метанової кислоти, що містять 1,2,4-триазоловий каркас проявляють антимікробну активність *in vitro* проти трьох грампозитивних (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*) і трьох грамнегативних (*Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*) штамів бактерій, а також мають протигрибкову активність (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*).

Результати показали, що сполука **1.123** має найбільшу антибактеріальну дію проти всіх зазначених штамів бактерій і продемонструвала значну протигрибкову активність проти *A. niger* і *C. albicans* у МІК = 4 мкг/л [25] (рис. 1.27).

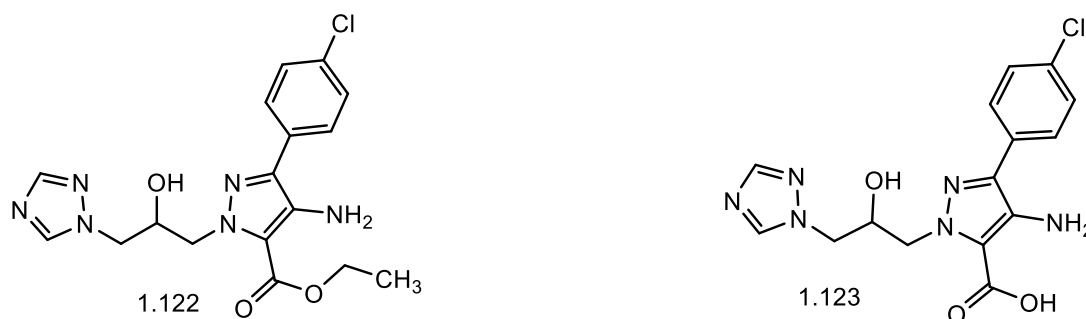


Рис. 1.27 1,2,4-Триазолопохідні з піразоловим фрагментом як потенційні протимікробні та протигрибкові агенти

В свою чергу, ненабагато менш активною виявилась сполука формули **1.122**, яка була прекурсором для сполуки **1.123** в реакції лужного гідролізу (рис. 1.28).

Vijesh A. M. та ін. [86] дослідили синтетичні шляхи поєднання фрагментів 1,2,4-триазол-3-тіолу та піразолу з замісниками арильної та гетерильної природи, що дозволило виявити ряд перспективних сполук з анагетичною та протимікробною і протигрибковою активністю. Додатково автори також зазначають важливу роль, яку виконує азометинова група у формуванні зазначених видів активності.

За результатами досліджень встановлено, що сполука **1.124** виявилась найбільш активною в тесті «гаряча пластина» і за показниками анагетичної активності наближалась до препарату порівняння пентазоцину (рис. 1.28). Одночасно, 4-(((4-(2,5-дихлоротіофен-3-іл)піразол-3-іл)метиліден)аміно)-5-[(нафтален-1-ілокси)метил]-1,2,4-триазол-3-тіол (**1.124**) та 4-(((4-(2,4-дихлорофеніл)піразол-3-іл)метиліден)аміно)-5-(6-метилпіридин-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**1.125**) демонструють значну антимікробну активність проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, яка була визначена на рівні стандарту цефтріаксону.

Авторами також показана висока протигрибкова активність сполук **1.124** та **1.125** відносно *Candida albicans*, яка виявилась на рівні флуконазолу.

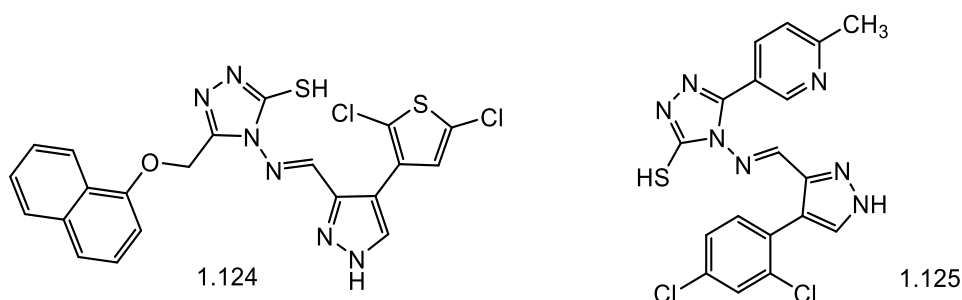


Рис. 1.28 Високоперспективні основи Шиффа, створені шляхом поєднання заміщених 1,2,4-триазол-3-тіолу та піразолу

В публікації *Jaimin D. Bhatt* та ін. [87] демонструються результати формування низки нових гібридів на основі триазоло-піримідину, ковалентно зв'язаних з піразолом (рис. 1.29). Синтезований ряд 7-(1,3-дифенілпіразол-4-іл)-5-метил-*N*-(метилпіридин-2-іл)-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]піримідин-6-карбоксамідів було протестовано на протитуберкульозну активність з використанням штаму *M. tuberculosis* H37Rv (MTCC 300).

Було встановлено, що найбільший вплив на активність синтезованих сполук має природа замісника R_1 – F найбільше сприяв посиленню досліджуваної активності. Також було з'ясовано, що природа замісника R_2 також має помірний вплив на протитуберкульозну активність сполук формули **1.126**. Наявність атома Броду за цим положенням найбільш сильно сприяла даному виду активності. Дослідження впливу замісника R_3 на антимікобактеріальну активність дозволило визначити, що подовження алкільного ланцюга та збільшення його розгалуження мають негативний вплив на даний вид активності.

Таким чином, авторами досить обгрунтовано визначена найбільш перспективна сполука для створення біологічно активної субстанції – *N*-(5-бромопіридин-2-іл)-3-(4-фторофеніл)-4-(7-метил-5,8-дигідро[1,2,4]триазоло-[1,5-*a*]піридин-5-іл)-1-фенілпіразол-5-карбоксамід (**1.127**), який інгібував *M. tuberculosis* (99%) при МІК 0,39 мкг/мл [87].

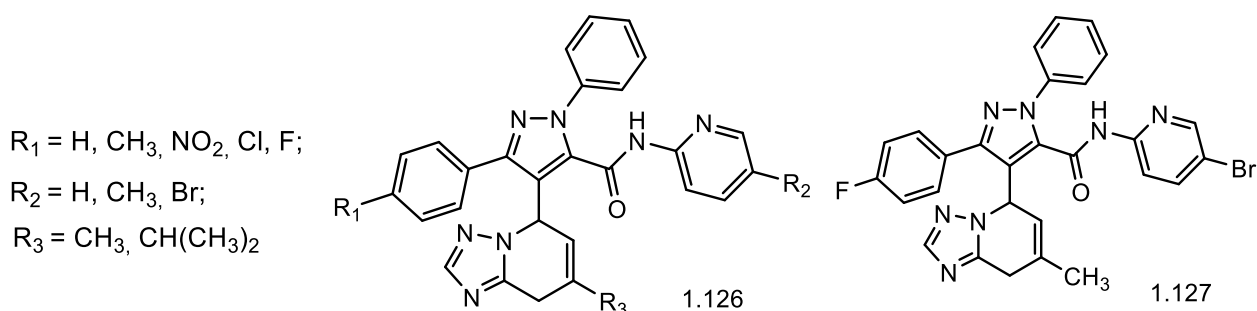


Рис. 1.29 7-(1,3-Дифенілпіразол-4-іл)-5-метил-*N*-(метилпіридин-2-іл)-4,7-дигідро[1,2,4]триазоло[1,5-*a*]піримідин-6-карбоксаміди як перспективні сполуки з протитуберкульозною активністю

Проведений літературний огляд дозволив сформулювати ряд закономірностей, які можуть бути врахованими при проектуванні та конструюванні перспективних біологічно активних сполук на основі похідних 1,2,4-триазолу у поєднанні з піразолом. По-перше, неконденсовані 1,2,4-триазолові системи виявилися менш біологічно активними у порівнянні з конденсованими.

Наприклад, піразоло[5,1-с][1,2,4]триазол та його похідні мають більший потенціал для створення біологічно активних сполук аніж, наприклад, 5-піразоло-1,2,4-триазол та його похідні. При цьому, серед різноманітних гетероциклічних кілець, які у конденсованому з 1,2,4-триазолом стані мали найбільший вплив на біологічний профіль, саме тіадіазинове кільце виявилось найбільш значимим. Ненасиченість у 6-членному тіадіазиніновому кільці посилює біоактивність порівняно з насиченими похідними.

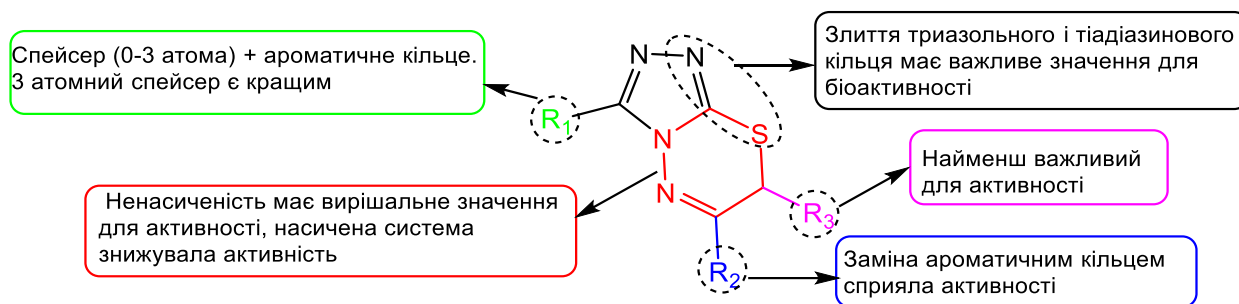
Серед інших факторів привертає до себе увагу третє положення 1,2,4-триазолового циклу: наявність ароматичного замісника, який приєднаний безпосередньо або за участі алкільного лінкєру $(-CH_2)_n$, $n = 1-3$) сприяє посиленню активності.

Ароматичні замісники в положенні 6 триазолотіадіазинінового кільця демонструють кращий фармакодинамічний профіль молекул у порівнянні з аліфатичними аналогами.

Галогензаміщені арильні групи, зокрема ті, що містять хлор, виявляють вищу активність порівняно з електронодонорними групами, через те що аліфатичні замісники зменшують активність.

Заміщення в положенні 7 триазолотіадіазинінового кільця може впливати на активність, але не має вирішального значення.

На рисунку 1.30 узагальнено структурні модифікації з точки зору різних замісників у положеннях 3, 6 і 7 (R_1 , R_2 і R_3) щодо різних біологічних активностей, а саме протипухлинної, протівірусної, протимікробної, антиоксидантної, протитуберкульозної, болезаспокійливої та протизапальної дії.



Протиракова активність	Протизапальна активність
$R_1 = \text{CF}_3, \text{Ph}, 4\text{-MePh}, 3\text{-OMePh}, 4\text{-NO}_2\text{-Ph}$ 	$R_1 = 3,4\text{-(Cl)}_2\text{Ph}, \text{піридин-4-іл},$
$R_2 = \text{Me}, \text{Ph}, 4\text{-haloPh}, 4\text{-MePh}, 4\text{-OMePh},$ $3\text{-FPh}, \text{біфеніл}, \text{тіофен}, \text{фуран}, \text{похідні кумарину}$	$R_2 = \text{Ph}, 4\text{-haloPh}, 4\text{-MePh}, 4\text{-OMePh}, 4\text{-OEtPh},$ $4\text{-NO}_2\text{Ph}, 4\text{-(2-нафтїл)}, 5\text{-Cl-2-SO}_2\text{NH}_2\text{-3-тієніл}$
$R_3 = \text{H}, \text{Me}, 4\text{-MePhCO}, 4\text{-OCH}_3\text{PhNHN=},$ $4\text{COCH}_3\text{PhNHN=},$ 	$R_3 = \text{H},$
Інгібітор ферментів	Протимікробна активність
$R_1 = \text{Me}, \text{Ph}, \text{піридин-4-іл}, 4\text{-SO}_2\text{NH}_2\text{-Ph},$ 	$R_1 = \text{піридин-4-іл}, 5\text{-NO}_2\text{-фурил}, \text{Ph}, 3\text{-ClPh}, \text{Et}$
$R_2 = \text{Me}, \text{Ph}, 4\text{-haloPh}, 4\text{-MePh}, 4\text{-OMePh}, 4\text{-NO}_2\text{Ph},$ $3\text{-NO}_2\text{Ph}, 3,4\text{-(Cl)}_2\text{Ph}, 2,4\text{-(F)}_2\text{Ph}, \text{нафтїл}$	$R_2 = \text{Me}, \text{Ph}, 4\text{-haloPh}, 4\text{-CNPh}, 4\text{-NO}_2\text{-Ph}, 2\text{-OHPh},$ $3\text{-OMePh}, 4\text{-SO}_2\text{MePh}, 4\text{-Cl-3-NO}_2\text{Ph}$
$R_3 = \text{=N-NH-}$ 	$R_3 = 2\text{-OHPh}, 3\text{-OMePh}, 4\text{-OH-3-OMePh}, \text{OMe}, \text{OEt},$ $\text{Cl}, \text{сульфонаміди}$

Рис. 1.30 SAR-аналіз піразоловмісних похідних 1,2,4-триазолу

Таким чином, проведений аналіз результатів наукової роботи, пов'язаної з створенням та встановленням властивостей похідних 1,2,4-триазолу у поєднанні з піразоловим фрагментом як перспективних біологічно активних сполук, обґрунтовує актуальність та практичну значимість окресленого напрямку досліджень.

РОЗДІЛ 2

СИНТЕЗ ТА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 4-АМІНО-5-(5-R-ПІРАЗОЛ-3-ІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛІВ ТА ЇХ S-ПОХІДНИХ

Вибір базової структури для створення цільової групи сполук ґрунтувався на аналізі інформації щодо досягнень хімії гетерилпохідних 1,2,4-триазол-3-тіолу. Відомо, що поєднання різноманітних нітрогеновмісних замісників з структурою ядра 1,2,4-триазолу позитивно впливає не тільки на підвищення існуючої та появу нової фармакологічної активності, але й дозволяє запропонувати додаткові можливості для хімічних перетворень [88-93]. Важливо відзначити той факт, що похідні 1,2,4-триазолу, крім високої біологічної активності, у своїй більшості є переважно малотоксичними або практично нетоксичними сполуками. Враховуючи наявні літературні данні та попередньо одержані результати *in silico* досліджень було спрогнозовано, що поєднання 1,2,4-триазольного і піразольного фрагментів в одній молекулі має певну практичну значущість і є перспективним.

2.1 Синтез та фізико-хімічні властивості 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолів

Першим етапом хімічної частини роботи був синтез S-алкілпохідних 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолів. Реалізовано було цей етап за допомогою ряду ключових тіолів: 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.16**), 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.17**) та 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.18**) відповідно [94, 95].

Введення піразолового синтону до цільової молекули передбачало його попереднє конструювання за участю ацетону (**2.1**) для сполуки **2.16**, 3'-фтороацетофенону (**2.2**) - **2.17** та 4'-метоксиацетофенону (**2.3**) - **2.18**, а також натрій метилату та діетилоксалату з наступним залученням утворених етил 2,4-діоксопентаноату (**2.4**), етил 4-(3-фторофеніл)-2,4-діоксобутаноату (**2.5**), етил

4-(4-метоксифеніл)-2,4-діоксобутаноату (**2.6**) в реакції взаємодії з гідрaziном, що призвело до утворення відповідних етил 3-R-піразол-5-етаноатів (**2.7-2.9**). Подальше хімічне перетворення передбачало повторне використання гідразин гідрату, що супроводжувалось формуванням гідразидів формули (**2.10-2.12**) (рис. 2.1). Наступний вплив карбон дисульфїду на гідразиди **2.10-2.12** в лужному середовищі призводив до одержання відповідних калій дитіоатів (**2.13-2.15**). Взаємодія сполук **2.13-2.15** з гідразин гідратом супроводжувалась утворенням відповідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.16**), 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.17**) та 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.18**) [94, 95].

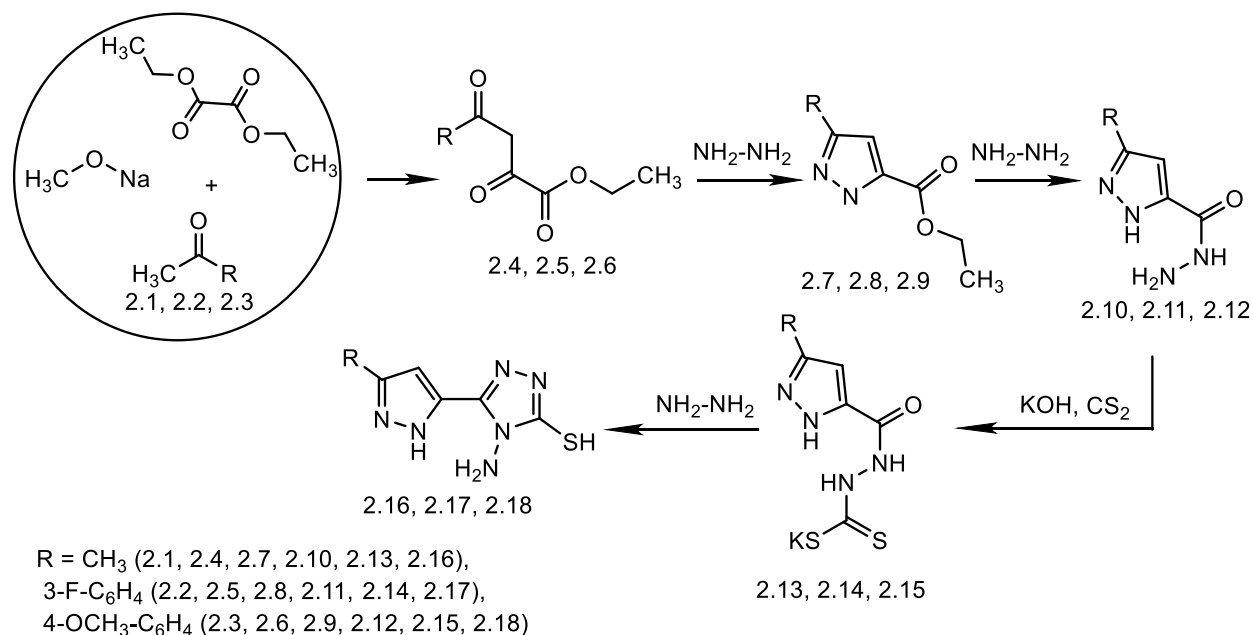


Рис. 2.1 Схема синтезу вихідних 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолів

Синтезовані тіоли (**2.16-2.18**) – білі кристалічні речовини малорозчинні у 1,4-діоксані та низькомолекулярних одноатомних спиртах, розчинні в ДМФА та ДМСО, практично нерозчинні у воді. Будова одержаних сполук підтверджена елементним аналізом, хромато-мас-спектрометрією, методами ІЧ-, ^1H ЯМР спектроскопії.

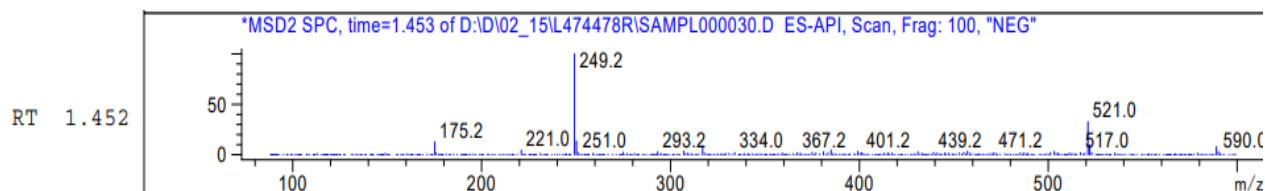


Рис. 2.2 Хромато-мас спектр етил 4-(4-метоксифеніл)-2,4-діоксобутаноату

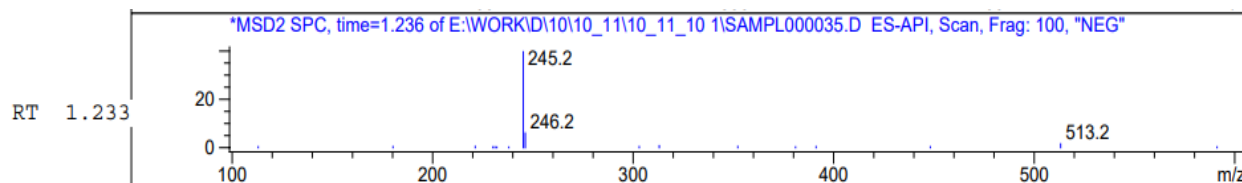


Рис. 2.3 Хромато-мас спектр етил 3-(4-метоксифеніл)піразол-5-карбоксилату

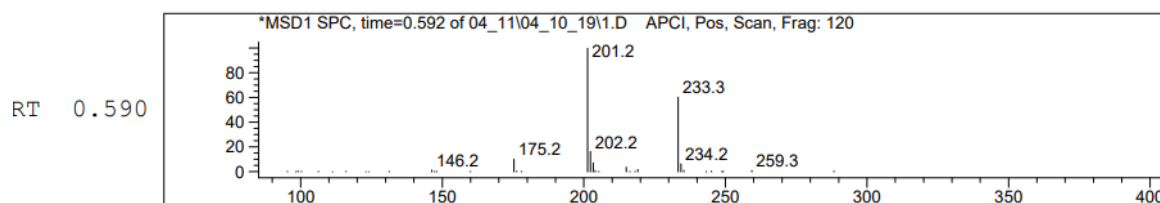


Рис. 2.4 Хромато-мас спектр 3-(4-метоксифеніл)піразол-5-карбогідразиду

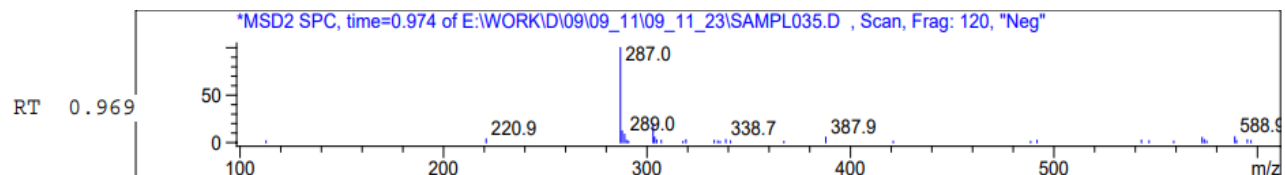


Рис. 2.5 Хромато-мас спектр 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

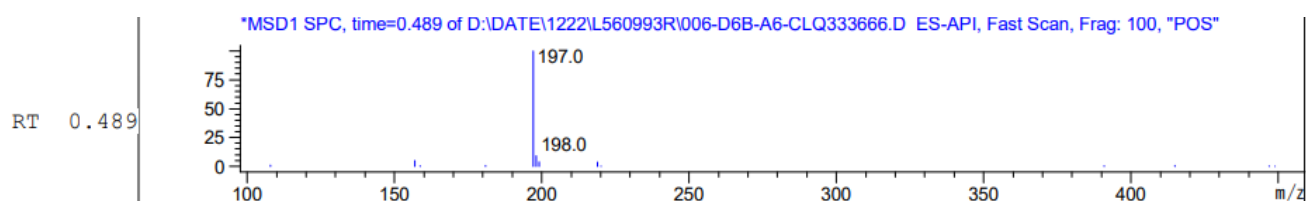


Рис. 2.6 Хромато-мас спектр сполуки 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

^1H ЯМР спектри синтезованих тіолів (**2.16-2.18**) характеризуються наявністю синглетного сигналу протону тіольної групи при 13.87-13.74 м.ч. Сигнал NH-групи піразолового фрагменту так само формується у вигляді синглету та реєструється в інтервалі 13.11-11.45 м.ч. Також в слабкій ділянці спектру реєструється сигнал СН-протону піразолового замісника при 8.05-6.63 м.ч. В свою чергу, сигнали протонів замісників у структурі піразолового кільця інтерпретуються в очікуваних областях спектру з відповідною мультиплетністю. Наприклад, синглетні сигнали протонів метильної групи сполуки **2.16** реєструються при 2.26 м.ч. Ароматичні протони 3-фторофенільного замісника резонують у вигляді мультиплету з хімічним зсувом 7.58-7.48 м.ч., 4-метокси-фенільного замісника – у вигляді двох мультиплетів: при 7.60-7.53 м.ч. та 7.05-6.98 м.ч. Сигнали протонів аміно-групи всіх досліджуваних сполук (**2.16-2.18**) реєструються у вигляді синглету при 6.18-5.98 м.ч.

ІЧ-спектри синтезованих тіолів (**2.16-2.18**) характеризуються наявністю чітких смуг поглинання: валентних коливань ароматичної С-Н групи в інтервалі 3075-3048 cm^{-1} , площинних деформаційних коливань С-Н групи в області 1229-950 cm^{-1} (смуги низької інтенсивності при 1230-1182 cm^{-1} , 1045-1030 cm^{-1} , 1010-998 cm^{-1} , 975-960 cm^{-1}). Також наявні смуги сильної інтенсивності при 781-765 cm^{-1} та при 687-672 cm^{-1} . Спостерігається присутність характерних смуг валентних коливань групи SH в діапазоні 3298-3280 cm^{-1} . Смуги поглинання в інтервалах 3397-3385 cm^{-1} та 3245-3228 cm^{-1} віднесені до коливань NH_2 - та NH-груп відповідно. Також реєструються смуги коливань фрагмента C=N в області 1548-1530 cm^{-1} .

Для карбонових кислот і їх функціональних похідних проявляється інтенсивні смуги поглинання в області від 1900 до 1600 cm^{-1} , що обумовлені валентними коливаннями зв'язку C=O.

У мономерах смуга поглинання не зв'язаної гідроксильної групи значно вужче і становить від 3650 до 3500 cm^{-1} .

2.5 Вихід: 83 %. $T_{\text{пл.}}$ = 96 – 98 °С. ІЧ (cm^{-1}): 1736 (C=O, естер), 1687 (C=O, кетон), 1445 (C=C). ^1H ЯМР, δ (м.ч.), J (Гц): 15.10 (с, 1H, OH), 7.62 – 7.36 (м, 4H, 3-F-C₆H₄), 6.45 (с, 1H, =CH), 4.27 (кв, J = 6.9 Гц, 2H, OCH₂CH₃), 1.18 (т, 3H,

OCH_2CH_3). Елементний аналіз ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{FO}_4$): розраховано (%) – С, 60.51; Н, 4.65; знайдено (%) – С, 60.35; Н, 4.66.

2.6 Вихід: 83 %. $T_{\text{пл.}} = 96 - 98$ °С. ІЧ (cm^{-1}): 1735 (C=O, естер), 1685 (C=O, кетон), 1447 (C=C). ^1H ЯМР, δ (м.ч.), J (Гц): 14.76 (с, 1Н, OH), 7.94 – 7.88 (м, 2Н, Н-2,6, 4- OCH_3 - C_6H_4), 6.43 (с, 1Н, =CH), 4.25 (кв, $J = 6.8$ Гц, 2Н, OCH_2CH_3), 3.74 (с, 3Н, 4- OCH_3 - C_6H_4), 1.17 (т, 3Н, OCH_2CH_3). Елементний аналіз ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{O}_5$): розраховано (%) – С, 62.39; Н, 5.64; знайдено (%) – С, 62.55; Н, 5.63.

2.8 Вихід: 79 %. $T_{\text{пл.}} = 135 - 137$ °С. ІЧ (cm^{-1}): 1734, 1725 (C=O, естер), 1438 (C=C). ^1H ЯМР, δ (м.ч.), J (Гц): 12.45 (с, 1Н, NH, піразол), 7.86 (с, 1Н, CH, піразол), 7.48 – 7.19 (м, 4Н, 3-F- C_6H_4), 4.34 (кв, $J = 6.4$ Гц, 2Н, OCH_2CH_3), 1.22 (т, 3Н, OCH_2CH_3). Елементний аналіз ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{FN}_2\text{O}_2$): розраховано (%) – С, 61.53; Н, 4.73; N, 11.96; знайдено (%) – С, 61.36; Н, 4.72; N, 11.99.

2.9 Вихід: 76 %. $T_{\text{пл.}} = 166 - 168$ °С. ІЧ (cm^{-1}): 1721 (C=O, естер), 1435 (C=C). ^1H ЯМР, δ (м.ч.), J (Гц): 13.04 (с, 1Н, NH, піразол), 8.66 (с, 1Н, CH, піразол), 7.59 – 7.54 (м, 2Н, Н-2,6, 4- OCH_3 - C_6H_4), 4.31 (кв, $J = 6.2$ Гц, 2Н, OCH_2CH_3), 3.77 (с, 3Н, 4- OCH_3 - C_6H_4), 1.15 (т, 3Н, OCH_2CH_3). Елементний аналіз ($\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$): розраховано (%) – С, 63.40; Н, 5.73; N, 11.38; знайдено (%) – С, 63.23; Н, 5.71; N, 11.42.

2.11 Вихід: 80 %. $T_{\text{пл.}}: 173 - 175$ °С; ІЧ (ν , cm^{-1}): 3390-3245 (NH, NH_2), 1608 (C=O); ^1H ЯМР (δ , м.ч.): 12.48 (с, 1Н, NH, піразол), 9.24 (т, $J = 4.6$ Hz, 1Н, NHNH_2), 7.88 (с, 1Н, CH, піразол), 7.46 – 7.21 (м, 4Н, 3-F- C_6H_4), 4.31 (d, $J = 4.8$ Hz, 2Н, NHNH_2). Елементний аналіз ($\text{C}_{10}\text{H}_9\text{FN}_4\text{O}$): розраховано (%) – С, 54.54; Н, 4.12; N, 25.44; знайдено – (%) С, 54.37; Н, 4.13; N, 25.51.

2.12 Вихід: 80 %; $T_{\text{пл.}}: 153 - 155$ °С; ІЧ (ν , cm^{-1}): 3404-3233 (NH, NH_2), 1615 (C=O); ^1H ЯМР (δ , м.ч.): 13.12 (с, 1Н, NH, піразол), 9.21 (т, $J = 4.6$ Hz, 1Н, NHNH_2), 8.27 (с, 1Н, CH, піразол), 7.57 – 7.52 (м, 2Н, Н-2,6, 4- OCH_3 - C_6H_4), 4.29 (d, $J = 4.8$ Hz, 2Н, NHNH_2), 3.79 (с, 3Н, 4- OCH_3 - C_6H_4). Елементний аналіз ($\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$): розраховано (%) – С, 56.89; Н, 5.21; N, 24.12; знайдено – (%) С, 57.04; Н, 5.20; N, 24.18.

2.16. Вихід: 71 %. $T_{пл.}$: 218 – 216 °C; ІЧ (ν , cm^{-1}): 3397 (NH), 3285 (SH), 3228 (NH₂); ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 13.74 (с, 1H, SH); 13.11 (с, 1H, NH, піразол), 6.63 (с, 1H, СН-піразол), 5.98 (с, 2H, NH₂), 2.26 (с, 3H, СН₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 197$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₆H₈N₆S): розраховано (%) – С, 36.72; Н, 4.11; N, 42.83; S, 16.34; знайдено (%) – С, 36.81; Н, 4.12; N, 42.75; S, 16.32.

2.17. Вихід: 81 %. $T_{пл.}$: 277 – 279 °C; ІЧ (ν , cm^{-1}): 3390 (NH), 3298 (SH), 3245 (NH₂); ¹H ЯМР, δ (м.ч.): δ 13.87 (с, 1H, SH) 11.45 (с, 1H, NH, піразол), 8.05 (с, 1H, СН, піразол), 7.58 – 7.48 (м, 4H, 3-F-C₆H₄), 6.18 (с, 2H NH₂). Елементний аналіз (C₁₁H₉FN₆S): розраховано (%) – С, 47.82; Н, 3.28; N, 30.42; S, 11.60; знайдено (%) – С, 47.69; Н, 3.27; N, 30.50; S, 11.63.

2.18. Вихід: 67 %. $T_{пл.}$: 218 – 216 °C; ІЧ (ν , cm^{-1}): 3385 (NH), 3280 (SH), 3232 (NH₂); ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 13.79 (с, 1H, SH), 13.02 (с, 1H, NH, піразол), 8.07 (с, 1H, СН, піразол), 7.60 – 7.53 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.05 – 6.98 (м, 2H, H-3,5,7, 4-OCH₃-C₆H₄), 6.11 (с, 2H NH₂), 3.78 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). Елементний аналіз (C₁₂H₁₂N₆OS): розраховано (%) – С, 49.99; Н, 4.20; N, 29.15; S, 11.12; знайдено (%) – С, 50.12; Н, 4.19; N, 29.07; S, 11.15.

2.2 Синтез та фізико-хімічні властивості S-алкілпохідних 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

Варто зазначити той факт, що введення до структури молекули алкільного замісника значно підвищує вірогідність створення біологічно активної субстанції [96-101]. Важливо також відзначити, що присутність триазолового фрагменту разом з алкільним значно підсилює обґрунтованість висловленого твердження.

Як вихідні речовин для створення ряду S-алкілпохідних були використані 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.16**) та 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.17**)

Синтез цільових продуктів хімічного перетворення був реалізований за участю галогеналканів в середовищі пропан-1-олу при нагріванні. Синтезовані

сполуки кристалізовано в середовищі метанолу. В результаті було одержано ряд похідних з високими виходами.

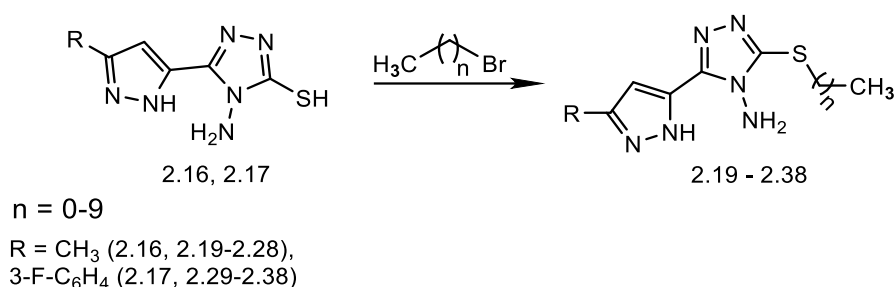


Рис. 2.7 Схема синтезу *S*-похідних 4-аміно-5-(3-*R*-піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

Синтезовані сполуки (**2.19-2.38**) – білі кристалічні речовини розчинні у 1,4-діоксані та низькомолекулярних одноатомних спиртах при нагріванні, розчинні в ДМФА та ДМСО, практично нерозчинні у воді. Будова одержаних сполук підтверджена елементним аналізом, хромато-мас-спектрометрією, методами ІЧ-та ^1H ЯМР спектроскопії.

Аналіз спектрів ^1H ЯМР сполук **2.19-2.38** демонструє, що протони *S*-алкільних фрагментів резонують у сильній частині поля у вигляді сигналів з різною інтенсивністю в діапазоні 3,23-0,82 м.д. Наприклад, сигнали метильних протонів тіометильного фрагмента сполук **2.19** та **2.29** фіксуються у вигляді синглету при 2,67 м.д. та 2,68 м.ч. відповідно. У вигляді триплету формується сигнал протонів метиленової групи тіоалкільного фрагменту, яка безпосередньо контактує з Сульфуром ($\text{S-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$). У зазначеному випадку сигнал формується в інтервалі 3,23-3,08 м.ч. (**2.20-2.28**, **2.30-2.38**). Інші сигнали протонів метиленових фрагментів ($\text{S-CH}_2\text{-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$) реєструються в більш сильному полі при 1,92-1,18 м.д. у вигляді багатопротонних мультиплетів (**2.21-2.28**, **2.31-2.38**). Поступове збільшення довжини *S*-алкільного ланцюга призводить до зменшення значень хімічних зсувів і відповідно незначного зміщення сигналів протонів метильної групи ($\text{S-(CH}_2)_n\text{-CH}_3$) в більш сильну частину поля.

У спектрах синтезованих алкілпохідних (2.19-2.28) спостерігаються деформаційні коливання алкільних груп в діапазоні від 645 до 1390 cm^{-1} і фрагмента Н-С-Н у вузькому діапазоні частот 1485-1360 cm^{-1} .

У хромато-мас-спектрах фіксуються окремі піки молекулярних іонів $[M+1]$, які мають високу інтенсивність, що підтверджує структуру та індивідуальність сполук (рис. 2.8, 2.9).

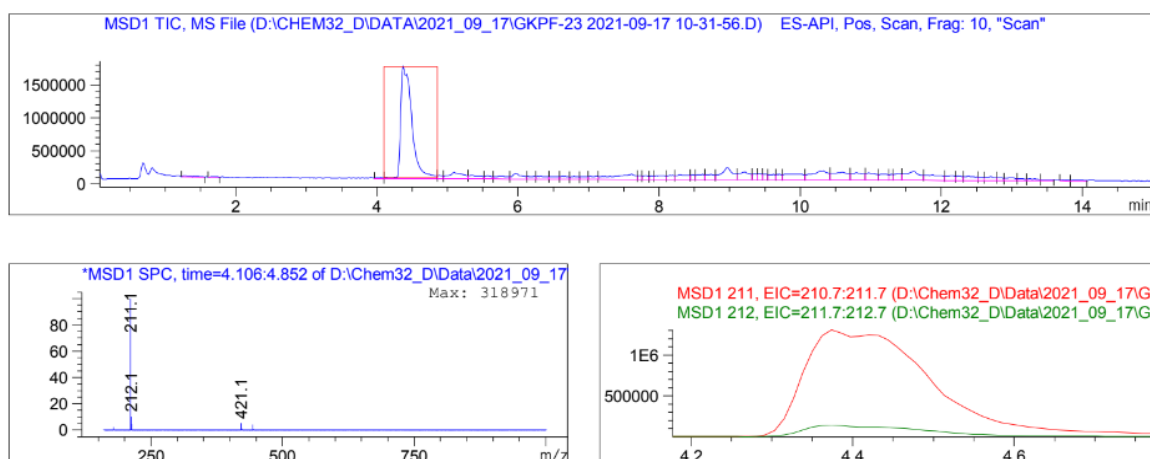


Рис. 2.8 Хромато-мас спектр 3-(3-метилпіразол-5-іл)-5-(метилтіо)-1,2,4-триазол-4-аміну

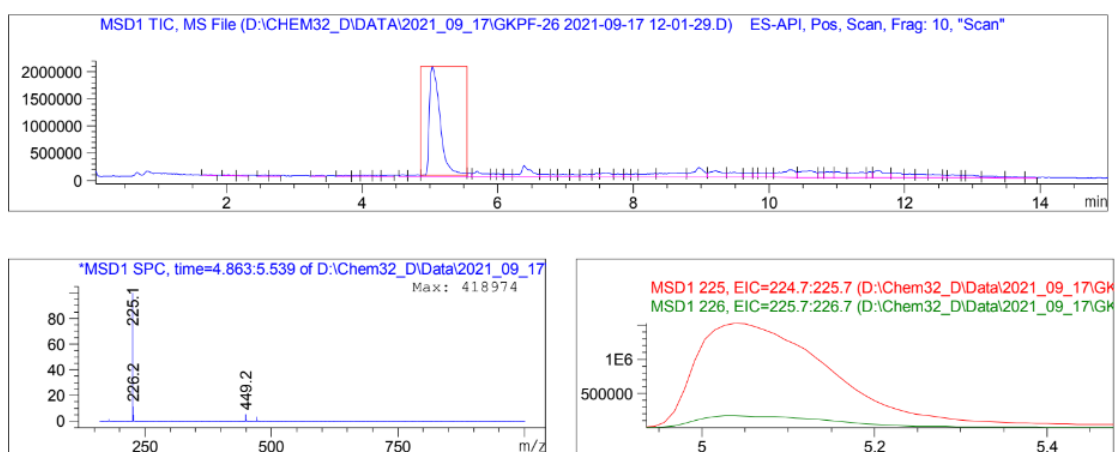


Рис. 2.9 Хромато-мас спектр 3-(етилтіо)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-4-аміну

2.19 Вихід: 79 %. $T_{пл.}$: 196-194 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH-піразол), 6.65 (с, 1H, СН-піразол), 6.02 (с, 2H, NH₂), 2.67 (с, 3H, S-CH₃), 2.33 (с, 3H, CH₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 211 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₇H₁₀N₆S): розраховано (%) – С, 39.99; Н, 4.79; N, 39.97; S, 15.25; знайдено (%) – С, 39.89; Н, 4.80; N, 39.87; S, 15.29.

2.20 Вихід: 82 %. $T_{пл.}$: 193-191 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.10 (с, 1H, NH-піразол), 6.61 (с, 1H, СН-піразол), 6.05 (с, 2H, NH₂), 3.13 (т, 2H, S-CH₂-CH₃), 2.30 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.36 (т, 3H, S-CH₂-CH₃). ESI-MS: $m/z = 225 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₈H₁₂N₆S): розраховано (%) – С, 42.84; Н, 5.39; N, 37.47; S, 14.29; знайдено (%) – С, 42.74; Н, 5.38; N, 37.56; S, 14.32.

2.21 Вихід: 76 %. $T_{пл.}$: 186-184 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.05 (с, 1H, NH-піразол), 6.67 (с, 1H, СН-піразол), 6.01 (с, 2H, NH₂), 3.11 (т, 2H, S-CH₂-CH₃), 2.35 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.92 – 1.56 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-CH₃), 1.05 (с, 3H, S-(CH₂)₂-CH₃). ESI-MS: $m/z = 239 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₉H₁₄N₆S): розраховано (%) – С, 45.36; Н, 5.92; N, 35.27; S, 13.45; знайдено (%) – С, 45.47; Н, 5.91; N, 35.18; S, 13.41.

2.22 Вихід: 71 %. $T_{пл.}$: 182-180 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.08 (с, 1H, NH-піразол), 6.63 (с, 1H, СН-піразол), 6.04 (с, 2H, NH₂), 3.14 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₂-CH₃), 2.30 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.84 – 1.50 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.46 – 1.33 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-CH₃), 0.92 (т, 3H, S-(CH₂)₃-CH₃). ESI-MS: $m/z = 253 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₀H₁₆N₆S): розраховано (%) – С, 47.60; Н, 6.39; N, 33.31; S, 12.71; знайдено (%) – С, 47.49; Н, 6.40; N, 33.23; S, 12.74.

2.23 Вихід: 74 %. $T_{пл.}$: 172-174 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.04 (с, 1H, NH-піразол), 6.57 (с, 1H, СН-піразол), 6.07 (с, 2H, NH₂), 3.10 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 2.33 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.87 – 1.55 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₂-CH₃), 1.49 – 1.25 (м, 4H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₂-CH₃), 0.83 (т, 3H, S-(CH₂)₄-CH₃). ESI-MS: $m/z = 267 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₁H₁₈N₆S): розраховано (%) – С, 49.60; Н, 6.81; N, 31.55; S, 12.04; знайдено (%) – С, 49.69; Н, 6.82; N, 31.47; S, 12.01.

2.24 Вихід: 78 %. $T_{пл.}$: 177-179 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.08 (с, 1H, NH-піразол), 6.59 (с, 1H, СН-піразол), 6.05 (с, 2H, NH₂), 3.12 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₄-

CH₃), 2.34 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.69 - 1.51 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 1.39 - 1.24 (м, 6H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₃-CH₃), 0.84 (т, 3H, S-(CH₂)₅-CH₃). ESI-MS: m/z = 281 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₂H₂₀N₆S): розраховано (%) – С, 51.40; Н, 7.19; N, 29.97; S, 11.43; знайдено (%) – С, 51.30; Н, 7.18; N, 29.91; S, 11.45.

2.25 Вихід: 70 %. T_{пл.}: 170-172 °С; ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 13.09 (с, 1H, NH-піразол), 6.55 (с, 1H, СН-піразол), 6.07 (с, 2H, NH₂), 3.08 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 2.32 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.74 - 1.63 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₄-CH₃), 1.31-1.22 (м, 8H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₄-CH₃), 0.82 (т, 3H, S-(CH₂)₆-CH₃). ESI-MS: m/z = 295 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₃H₂₂N₆S): розраховано (%) – С, 53.03; Н, 7.53; N, 28.54; S, 10.89; знайдено (%) – С, 53.12; Н, 7.54; N, 28.49; S, 10.87.

2.26 Вихід: 74 %. T_{пл.}: 162-164 °С; ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 13.06 (с, 1H, NH-піразол), 6.59 (с, 1H, СН- піразол), 6.06 (с, 2H, NH₂), 3.10 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₆-CH₃), 2.33 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.82 - 1.56 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 1.43 - 1.22 (м, 10H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₅-CH₃), 0.86 (т, 3H, S-(CH₂)₇-CH₃). ESI-MS: m/z = 309 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₄H₂₄N₆S): розраховано (%) – С, 54.52; Н, 7.84; N, 27.25; S, 10.39; знайдено (%) – С, 54.62; Н, 7.83; N, 27.20; S, 10.41.

2.27 Вихід: 70 %. T_{пл.}: 166-168 °С; ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 13.11 (с, 1H, NH-піразол), 6.56 (с, 1H, СН-піразол), 6.05 (с, 2H, NH₂), 3.12 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₇-CH₃), 2.31 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.70-1.66 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃), 1.30-1.21 (м, 12H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₆-CH₃), 0.84 (т, 3H, S-(CH₂)₈-CH₃). ESI-MS: m/z = 323 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₅H₂₆N₆S): розраховано (%) – С, 55.87; Н, 8.13; N, 26.06; S, 9.94; знайдено (%) – С, 55.76; Н, 8.12; N, 26.11; S, 9.96.

2.28 Вихід: 68 %. T_{пл.}: 158-160 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 13.11 (с, 1H, NH-піразол), 6.53 (с, 1H, СН-піразол), 6.05 (с, 2H, NH₂), 3.10 (т, 2H, S-CH₂-(CH₂)₈-CH₃), 2.33 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.74 - 1.63 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₇-CH₃), 1.41 - 1.30 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃), 1.34 - 1.20 (м, 12H, S-(CH₂)₃-(CH₂)₆-CH₃), 0.82 (т, 3H, S-(CH₂)₉-CH₃). ESI-MS: m/z = 337 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₆H₂₈N₆S): розраховано (%) – С, 57.11; Н, 8.39; N, 24.98; S, 9.53; знайдено (%) – С, 57.21; Н, 8.40; N, 24.93; S, 9.50.

2.29. Вихід: 63%. $T_{пл.}$: 178-180 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 9.52 (с, 1H, NH, піразол), 8.14 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.50 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.19 (дд, 1H, $J = 8.5, 4.0$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.76 (с, 2H, NH₂), 2.68 (с, 3H, CH₃). ESI-MS: $m/z = 291$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₂H₁₁FN₆S): розраховано (%) – С, 49.65; Н, 3.82; N, 28.95; S, 11.04; знайдено (%) – С, 49.52; Н, 3.83; N, 28.87; S, 11.07;

2.30. Вихід: 71%. $T_{пл.}$: 191-193 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 9.54 (с, 1H, NH, піразол), 8.14 (с, 1H, H-4, піразол), 7.61 – 7.53 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.20 (дд, 1H, $J = 8.2, 3.8$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.45 (с, 2H, NH₂), 3.13 (кв, $J = 7.8$ Гц, 2H, S-CH₂-CH₃), 1.37 (т, $J = 8.3$ Гц, 3H, CH₃). ESI-MS: $m/z = 305$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₃H₁₃FN₆S): розраховано (%) – С, 51.30; Н, 4.31; N, 27.61; S, 10.53; знайдено (%) – С, 51.43; Н, 4.30; N, 27.68; S, 10.50

2.31. Вихід: 76%. $T_{пл.}$: 176-178 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 9.54 (с, 1H, NH, піразол), 8.15 (с, 1H, H-4, піразол), 7.59 – 7.50 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.18 – 7.13 (дд, 1H, $J = 8.1, 3.8$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.49 (с, 2H, NH₂), 3.14 (т, $J = 5.1$ Гц, 2H, S-CH₂-C₂H₅), 1.78 – 1.72 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-CH₃), 1.05 (т, $J = 7.6$ Гц, 3H, CH₃). ESI-MS: $m/z = 319$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₄H₁₅FN₆S): розраховано (%) – С, 52.82; Н, 4.75; N, 26.40; S, 10.07; знайдено (%) – С, 52.69; Н, 4.74; N, 26.47; S, 10.10

2.32. Вихід: 65%. $T_{пл.}$: 172-174 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 9.53 (с, 1H, NH, піразол), 8.14 (с, 1H, H-4, піразол), 7.57 – 7.49 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.19 – 7.13 (дд, 1H, $J = 8.1, 3.9$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.52 (с, 2H, NH₂), 3.23 (т, $J = 6.7$ Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₂-CH₃), 1.72 – 1.68 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-CH₂-CH₃), 1.41-1.37 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-CH₃), 0.92 (т, $J = 7.1$ Гц, 3H, S-(CH₂)₃-CH₃). ESI-MS: $m/z = 333$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₅H₁₇FN₆S): розраховано (%) – С, 54.20; Н, 5.16; N, 25.28; S, 9.64; знайдено (%) – С, 54.35; Н, 5.17; N, 25.21; S, 9.61;

2.33. Вихід: 69%. $T_{пл.}$: 167-169 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 9.52 (с, 1H, NH, піразол), 8.14 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.48 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.18 – 7.13 (дд, 1H, $J = 8.2, 3.8$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.53 (с, 2H, NH₂), 3.18 (т, $J = 6.0$ Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 1.77 – 1.68 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₂-CH₃), 1.45 – 1.37 (м, 4H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₂-CH₃), 0.92 – 0.87 (м, 3H, S-(CH₂)₄-CH₃). ESI-MS: $m/z = 347$ [M+H]⁺.

Елементний аналіз (C₁₆H₁₉FN₆S): розраховано (%) – С, 55.47; Н, 5.53; N, 24.26; S, 9.25; знайдено (%) – С, 55.60; Н, 5.52; N, 24.32; S, 9.23;

2.34. Вихід: 74%. T_{пл.}: 171-173 °С. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 9.52 (с, 1H, NH, піразол), 8.13 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.49 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.20 – 7.14 (дд, 1H, J = 8.1, 3.8 Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.50 (с, 2H, NH₂), 3.19 (т, J = 6.4 Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₄-CH₃), 1.69 – 1.64 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 1.42 – 1.36 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-(CH₂)₂-CH₃), 1.33 – 1.25 (м, 4H, S-(CH₂)₃-(CH₂)₂-CH₃), 0.94 – 0.89 (м, 3H, S-(CH₂)₅-CH₃). ESI-MS: m/z = 361 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₇H₂₁FN₆S): розраховано (%) – С, 56.65; Н, 5.87; N, 23.32; S, 8.89; знайдено (%) – С, 56.59; Н, 5.86; N, 23.38; S, 8.91

2.35. Вихід: 77%. T_{пл.}: 154-156 °С. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 9.53 (с, 1H, NH, піразол), 8.14 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.50 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.21 – 7.15 (дд, 1H, J = 8.0, 3.6 Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.50 (с, 2H, NH₂), 3.19 (т, J = 6.2 Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 1.74 – 1.69 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₄-CH₃), 1.41 – 1.37 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-(CH₂)₃-CH₃), 1.32 – 1.24 (м, 6H, S-(CH₂)₃-(CH₂)₃-CH₃), 0.93 – 0.88 (м, 3H, S-(CH₂)₆-CH₃). ESI-MS: m/z = 375 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₈H₂₃FN₆S): розраховано (%) – С, 57.73; Н, 6.19; N, 22.44; S, 8.56; знайдено (%) – С, 57.89; Н, 6.20; N, 22.38; S, 8.54;

2.36. Вихід: 62%. T_{пл.}: 150-151 °С. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 9.52 (с, 1H, NH, піразол), 8.13 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.48 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.19 – 7.14 (дд, 1H, J = 8.2, 3.8 Hz, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.50 (с, 2H, NH₂), 3.19 (т, J = 6.4 Гц, 1H, S-CH₂-(CH₂)₆-CH₃), 1.67 – 1.63 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 1.34 – 1.23 (м, 10H, S-(CH₂)₂-(CH₂)₅-CH₃), 0.94 – 0.89 (м, 3H, S-(CH₂)₇-CH₃). ESI-MS: m/z = 389 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₉H₂₅FN₆S): розраховано (%) – С, 58.74; Н, 6.49; N, 21.63; S, 8.25; знайдено (%) – С, 58.61; Н, 6.50; N, 21.58; S, 8.27

2.37. Вихід: 78%. T_{пл.}: 146-148 °С. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 9.53 (с, 1H, NH, піразол), 8.15 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.50 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.18 – 7.13 (дд, 1H, J = 8.1, 3.9 Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.52 (с, 2H, NH₂), 3.18 (т, J = 6.5 Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₇-CH₃), 1.68 – 1.64 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₆-CH₃), 1.40 – 1.35 (м, 2H, S-(CH₂)₂-CH₂-(CH₂)₅-CH₃), 1.29 – 1.18 (м, 10H, S-(CH₂)₃-(CH₂)₅-CH₃), 0.91 – 0.86 (м,

3H, S-(CH₂)₈-CH₃). ESI-MS: $m/z = 403 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₂₀H₂₇FN₆S): розраховано (%) – С, 59.68; Н, 6.76; N, 20.88; S, 7.96; знайдено (%) – С, 59.85; Н, 6.75; N, 20.82; S, 7.98;

2.38. Вихід: 71%. T_{пл.}: 143-144 °С. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 9.53 (с, 1H, NH, піразол), 8.15 (с, 1H, H-4, піразол), 7.58 – 7.51 (м, 3H, H-2, 5, 6, 3-F-C₆H₄), 7.20 – 7.15 (дд, 1H, $J = 8.2, 3.9$ Гц, H-4, 3-F-C₆H₄), 5.51 (с, 2H, NH₂), 3.17 (т, $J = 6.5$ Гц, 2H, S-CH₂-(CH₂)₈-CH₃), 1.71 – 1.67 (м, 2H, S-CH₂-CH₂-(CH₂)₇-CH₃), 1.40 – 1.34 (м, 12H, S-(CH₂)₃-(CH₂)₆-CH₃), 0.88 – 0.82 (м, 3H, S-(CH₂)₉-CH₃). ESI-MS: $m/z = 417 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₂₁H₂₉FN₆S): розраховано (%) – С, 60.55; Н, 7.02; N, 20.18; S, 7.70; знайдено (%) – С, 60.41; Н, 7.01; N, 20.23; S, 7.72.

2.2 Синтез та властивості 9-метил-3-(алкілтію)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів

Встановлено, що при взаємодії *S*-алкілпохідних 4-аміно-5-(5-*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.19-2.28**) з триетилформіатом утворюються відповідні 9-метил-3-(алкілтію)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини [102].

Реакція відбувається при нагріванні реагентів до кипіння протягом 12 годин (рис. 2.10).

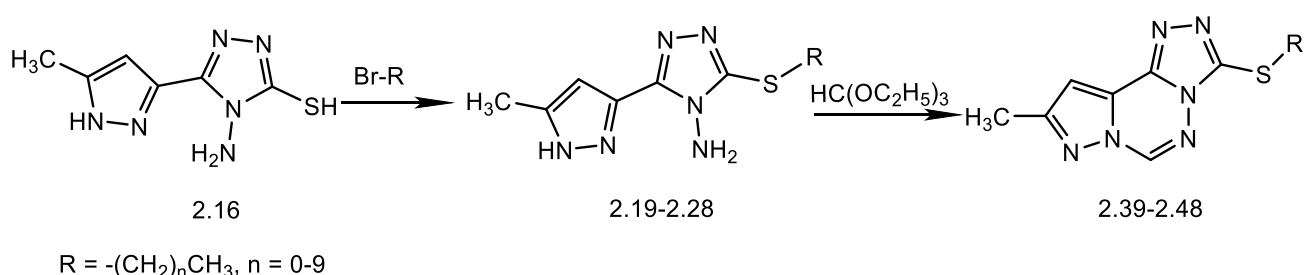


Рис. 2.10 Схема синтезу 9-метил-3-(алкілтію)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів

Синтезовані сполуки (**2.39-2.48**) – білі кристалічні речовини розчинні у 1,4-діоксані та низькомолекулярних одноатомних спиртах при нагріванні, розчинні в ДМФА та ДМСО, практично нерозчинні у воді. Будова одержаних сполук підтверджена елементним аналізом, хромато-мас-спектрометрією, методом ^1H ЯМР спектроскопії.

В ^1H -ЯМР спектрі продуктів хімічного перетворення (**2.39-2.48**) Гідроген 1,2,4-тріазинового циклу утворює синглетний сигнал, який реєструється в інтервалі 8.96-8.92 м.ч. Протон піразолового фрагменту утворює синглет при 7.76-7.73 м.ч. Протони метильного замісника піразолового синтону формують трьохпротонний синглетний сигнал при 2.45-2.42 м.ч.

Утворення S-алкілпохідних супроводжується появою протонного сигналу алкільних фрагментів в аліфатичній частині спектра. Наприклад, у спектрі сполуки **2.39** фіксується сигнал у вигляді синглету при 2.76 м.д., який зумовлений метильною групою, зв'язаною з Сульфуром.

Метиленова група етильного замісника сполуки **2.40** реєструється на спектрі у вигляді квадруплету при 3,24 м.д., метильний фрагмент цього замісника утворює триплет при 1,32 м.д. Пропільний замісник сполуки **2.41** сприяє появі в спектрі двох триплетів при 3,12 м.ч. і 1,07 м.ч. відповідно, а також квадруплету при 1,78 м.ч. Сигнали протонів метиленових фрагментів інших сполук **2.42-2.48** також реєструються в більш сильному магнітному полі між 3.28-1.20 м.д. Подовження S-алкільного ланцюга призводить до невеликого зміщення сигналів протонів CH_3 -групи до більш сильної частини поля. Наприклад, протонні сигнали групи CH_3 децильного замісника ($-(\text{CH}_2)_9-\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_3$) проявляються у вигляді мультиплету в інтервалі 0.89-0.84 м.ч. Сигнали протонів більшості метиленових фрагментів ($\text{CH}_2-\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2-\text{C}_8\text{H}_{17}$, $-(\text{CH}_2)_3-(\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2)_6-\text{CH}_3$) також проявляються у вигляді мультиплетів в інтервалах 1.73-1.64 м.ч. та 1.40-1.20 м.ч., але їх важко диференціювати між собою. У той же час сигнали протонів метиленового фрагмента, який безпосередньо зв'язаний з Сульфуром ($\underline{\text{C}}\underline{\text{H}}_2-\text{C}_9\text{H}_{19}$), проявляються у вигляді триплету і фіксуються в більш слабкому полі при 3.25 м.ч.

Мас-спектри синтезованих сполук містять піки молекулярних іонів, що відповідають молекулярній масі (рис. 2.11). Кількісне відхилення за результатами елементного аналізу було в межах $\pm 0,3\%$.

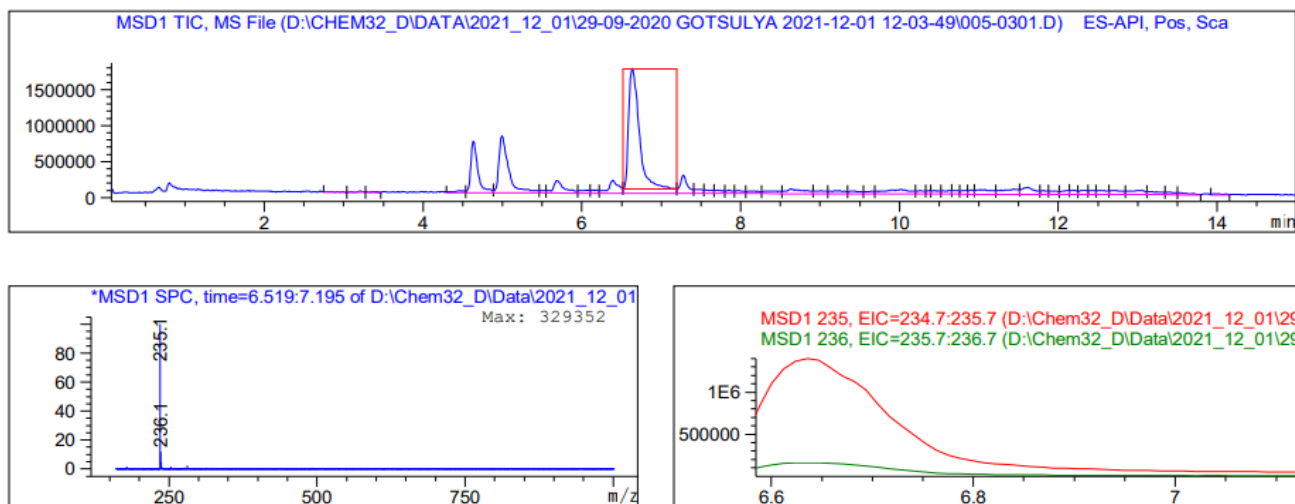


Рис. 2.11 Хромато-мас спектр 3-(етилтію)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазину

2.39. Вихід: 64%. $T_{пл}$: 212 – 214 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.95 (с, 1H, триазин CH), 7.73 (с, 1H, піразол CH), 2.76 (с, 3H, S-CH₃), 2.45 (с, 3H, CH₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 221 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₈H₈N₆S): розраховано (%) – С, 43.63; Н, 3.66; N, 38.16; S, 14.56; знайдено (%) – С, 43.74; Н, 3.65; N, 38.06; S, 14.60.

2.40. Вихід: 67%. $T_{пл}$: 186 – 184 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.92 (с, 1H, триазин CH), 7.76 (с, 1H, піразол CH), 3.24 (кв, $J=6.2$ Гц, 2H, S-CH₂-CH₃), 2.44 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.32 (т, $J=6.0$ Гц, 3H, S-CH₂-CH₃). ESI-MS: $m/z = 234 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₉H₁₀N₆S): розраховано (%) – С, 46.14; Н, 4.30; N, 35.87; S, 13.68; знайдено (%) – С, 46.02; Н, 4.31; N, 35.78; S, 13.71.

2.41. Вихід: 81%. $T_{пл}$: 170 – 172 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.94 (с, 1H, триазин CH), 7.74 (с, 1H, піразол CH), 3.12 (т, $J=5.1$ Гц, 2H, S-CH₂-C₂H₅), 2.45 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.78 (кв, $J=5.3$ Гц, 2H, S-CH₂-CH₂-CH₃), 1.07 (т, $J=7.0$ Гц, 3H, S-(CH₂)₂-CH₃). ESI-MS: $m/z = 249 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₀H₁₂N₆S): розраховано (%) – С,

48.37; H, 4.87; N, 33.85; S, 12.91; знайдено (%) – C, 48.49; H, 4.88; N, 33.76; S, 12.87.

2.42. Вихід: 74%. $T_{пл.}$: 179 – 181 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.96 (с, 1H, триазин CH), 7.73 (с, 1H, піразол CH), 3.27 (т, $J=6.7$ Гц, 2H, S- \underline{CH}_2 -C₃H₇), 2.42 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.72–1.63 (м, 2H, S-CH₂- \underline{CH}_2 -C₂H₅), 1.41–1.36 (м, 2H, S-(CH₂)₂- \underline{CH}_2 -CH₃), 0.92 (т, $J=7.1$ Гц, 3H, S-(CH₂)₃- \underline{CH}_3). ESI-MS: $m/z = 263$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₁H₁₄N₆S): розраховано (%) – C, 50.36; H, 5.38; N, 32.04; S, 12.22; знайдено (%) – C, 50.49; H, 5.39; N, 31.95; S, 12.19.

2.43. Вихід: 77%. $T_{пл.}$: 173 – 175 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.93 (с, 1H, триазин CH), 7.76 (с, 1H, піразол CH), 3.28 (т, $J=6.0$ Гц, 2H, S- \underline{CH}_2 -C₄H₉), 2.44 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.78–1.74 (м, 2H, S-CH₂- \underline{CH}_2 -C₃H₇), 1.45–1.33 (м, 4H, S-(CH₂)₂-(\underline{CH}_2)₂-CH₃), 0.93–0.84 (м, 3H, S-(CH₂)₄- \underline{CH}_3). ESI-MS: $m/z = 277$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₂H₁₆N₆S): розраховано (%) – C, 52.15; H, 5.84; N, 30.41; S, 11.60; знайдено (%) – C, 52.01; H, 5.85; N, 30.48; S, 11.56.

2.44. Вихід: 65%. $T_{пл.}$: 188 – 190 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.95 (с, 1H, триазин CH), 7.74 (с, 1H, піразол CH), 3.27 (т, $J=6.4$ Гц, 2H, S- \underline{CH}_2 -C₅H₁₁), 2.42 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.69–1.64 (м, 2H, S-CH₂- \underline{CH}_2 -C₄H₉), 1.42–1.30 (м, 2H, S-(CH₂)₂- \underline{CH}_2 -C₃H₇), 1.39–1.26 (м, 4H, S-(CH₂)₃-(\underline{CH}_2)₂-CH₃), 0.94–0.89 (м, 3H, S-(CH₂)₅- \underline{CH}_3). ESI-MS: $m/z = 291$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₃H₁₈N₆S): розраховано (%) – C, 53.77; H, 6.25; N, 28.94; S, 11.04; знайдено (%) – C, 53.62; H, 6.24; N, 29.01; S, 11.07.

2.45. Вихід: 71%. $T_{пл.}$: 194 – 196 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.94 (с, 1H, триазин CH), 7.75 (с, 1H, піразол CH), 3.28 (т, $J=6.2$ Гц, 2H, S- \underline{CH}_2 -(CH₂)₅-CH₃), 2.45 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.67–1.63 (м, 2H, S-CH₂- \underline{CH}_2 -C₅H₁₁), 1.44–1.35 (м, 2H, S-(CH₂)₂- \underline{CH}_2 -C₄H₉), 1.34–1.26 (м, 6H, S-(CH₂)₃-(\underline{CH}_2)₃-CH₃), 0.93–0.88 (м, 3H, S-(CH₂)₆- \underline{CH}_3). ESI-MS: $m/z = 305$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₄H₂₀N₆S): розраховано (%) – C, 55.24; H, 6.62; N, 27.61; S, 10.53; знайдено (%) – C, 55.11; H, 6.61; N, 27.68; S, 10.56.

2.46. Вихід: 63%. $T_{пл.}$: 187 – 189 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.96 (с, 1H, триазин CH), 7.74 (с, 1H, піразол CH), 3.26 (т, $J=6.3$ Гц, 2H, S- \underline{CH}_2 -C₇H₁₅), 2.44 (с, 3H, піразол-CH₃), 1.69–1.64 (м, 2H, S-CH₂- \underline{CH}_2 -C₆H₁₃), 1.40–1.23 (м, 10H, м, 2H, S-(CH₂)₂-(\underline{CH}_2)₅-CH₃), 0.94–0.89 (м, 3H, S-(CH₂)₇- \underline{CH}_3). ESI-MS: $m/z = 319$ [M+H]⁺.

Елементний аналіз (C₁₅H₂₂N₆S): розраховано (%) – С, 56.58; Н, 6.96; N, 26.39; S, 10.07; знайдено (%) – С, 56.43; Н, 6.98; N, 26.46; S, 10.04.

2.47. Вихід: 68%. T_{пл.}: 186 – 184 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 8.95 (с, 1Н, триазин СН), 7.76 (с, 1Н, піразол-СН₃), 3.27 (т, J = 6.5 Гц, 2Н, S-CH₂-(CH₂)₇-СН₃), 2.44 (с, 3Н, СН₃-піразол), 1.68–1.64 (м, 2Н, S-CH₂-CH₂-C₇H₁₅), 1.41–1.30 (м, 2Н, S-(CH₂)₂-CH₂-C₆H₁₃), 1.33–1.21 (м, 10Н, S-(CH₂)₃-(CH₂)₅-СН₃), 0.91–0.86 (м, 3Н, S-(CH₂)₈-CH₃). ESI-MS: m/z = 333 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₆H₂₄N₆S): розраховано (%) – С, 57.80, Н, 7.28, N, 25.28, S, 9.64; знайдено (%) – С, 57.93; Н, 7.26; N, 25.22; S, 9.67.

2.48. Вихід: 74%. T_{пл.}: 191 – 193 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 8.95 (с, 1Н, триазин СН), 7.76 (с, 1Н, піразол СН), 3.25 (т, J=6.5 Гц, 2Н, S-CH₂-C₉H₁₉), 2.45 (с, 3Н, піразол-СН₃), 1.73–1.64 (м, 2Н, S-CH₂-CH₂-C₈H₁₇), 1.40–1.20 (м, 12Н, S-(CH₂)₃-(CH₂)₆-СН₃), 0.89–0.84 (м, 3Н, S-(CH₂)₉-CH₃). ESI-MS: m/z = 347 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₇H₂₆N₆S): розраховано (%) – С, 58.93; Н, 7.56; N, 24.25; S, 9.25; знайдено (%) – С, 58.84; Н, 7.57; N, 24.21; S, 9.23.

2.3 Синтез та властивості 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)-піразоло[1,5-*d*]-[1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів

Синтез нових конденсованих систем за участю гетероциклів має сприятливі умови для активного розвитку, оскільки дозволяє створювати молекули з різними видами біологічної активності. Серед таких систем особливу увагу приділяють тим, які містять у своїй структурі Нітроген.

Серед сучасних напрямків створення конденсованих систем досить привабливо виглядає піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазиновий каркас, який дозволяє на своїй основі створювати оригінальні сполуки з бажаним спектром необхідних властивостей. Для створення цільового ряду 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів як вихідну сполуку було обрано 4-аміно-3-(етилтіо)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.20**), синтез якого описаний в підрозділах 2.1 та 2.2.

Перетворення сполуки **2.20** у цільовий ряд сполук (**2.49-2.58**) передбачало синтез проміжного 3-(етилтіо)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-тіолата калію із застосуванням сірковуглецю в лужно-спиртовому середовищі (рис. 2.12). В подальшому було проведено алкілювання по Сульфуру на триазиновому фрагменті сполуки **2.20** а. Для цього в якості алкілюючого агента використовували галогеналкани [103, 104]. Реакцію проводили в середовищі пропан-2-олу при нагріванні протягом 1 години.

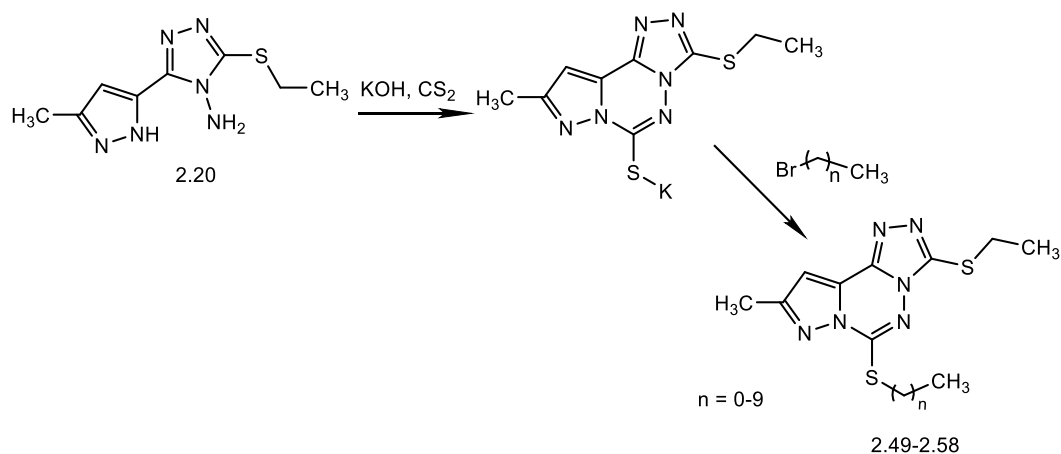


Рис. 2.12 Схема синтезу 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів

Синтезовані речовини **2.49-2.58** являють собою білі кристалічні порошки, розчинні в ДМФА і ДМСО, при нагріванні - в 1,4-діоксані та аліфатичних одноатомних спиртах, практично нерозчинні у воді, діетиловому ефірі та хлороформі.

Сpektри ЯМР ¹H усіх синтезованих сполук (**2.49-2.58**) характеризуються наявністю синглетних сигналів, обумовлених Гідрогеном піразольного фрагменту (7,37-7,35 м.д.) і метильної групи, асоційованої з цим гетероциклом (2,56-2,54 м.д.). Інтенсивність сигналу в цьому випадку відповідає 1 і 3 протонам відповідно. Сpektри сполук також містять сигнали тіоетильного фрагменту у вигляді двопротонного квадруплету та трипротонного триплету. Наприклад, в спектрі сполуки **2.49** протони даного фрагменту фіксуються при 3.22 м.ч. (*S*-CH₂-CH₃) та при 1.37 м.ч. (*S*-CH₂-CH₃) відповідно. Але в більшості випадків сигнали протонів

цього фрагмента визначаються разом з сигналами протонів метиленових груп іншого тіоалкільного замітника, утворюючи складний мультипротонний мультиплет в інтервалі 1,42-1,25 м.ч.

У спектрах ^1H ЯМР сполук **2.50-2.52** метиленовий фрагмент, який безпосередньо зв'язаний з Сульфуром при триазиновій структурі, проявляється у формі двопротонного квадруплету при 3,22-3,21 м.ч. У сполуках **2.53-2.58** зазначений метиленовий фрагмент (триазин- $\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n = 3-8$) разом із протонними сигналами метиленової групи тіоалкільного фрагмента при триазоловому циклі (триазол- $\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n = 3-8$) утворює мультиплет при 3,28-3,17 м.ч. Також у сполук **2.53-2.58** окремим мультиплетом представлені сигнали наступних метиленових груп тіоалкільного замітника при триазиновому фрагменті (триазин- $\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n = 3-8$). Слід зазначити, що збільшення довжини даного тіоалкільного фрагмента супроводжується поступовим зміщенням сигналу в більш сильнопольну ділянку спектра. Так, у спектрі сполуки **2.53** цей мультиплет прописаний в області сильного поля при 1,77-1,71 м.ч., у випадку сполуки **2.58** – при 1,63-1,57 м.ч.

Протони метильної групи, яка входить до складу тіоалкільного замітника при триазиновому фрагменті (триазин- $\text{S}(\text{CH}_2)_n\text{CH}_3$, $n = 0-9$), утворюють сигнал у вигляді синглету (**2.49**), триплету (**2.51-2.53**) або мультиплету (**2.50, 2.54-2.58**). Зазначені сигнали прописуються при 2,61 м.ч. (**2.49**), а також в інтервалах 1,38-1,31 м.ч. (**2.50**), 1,07-0,89 м.ч. (**2.51-2.53**) і 0,94-0,85 м.ч. (**2.54-2.58**) відповідно.

Хромато-мас-спектри синтезованих сполук містять сигнал квазімолекулярного іона $[\text{M}+1]$, який за значенням m/z відповідає молекулярним масам представлених речовин (рис. 2.13).

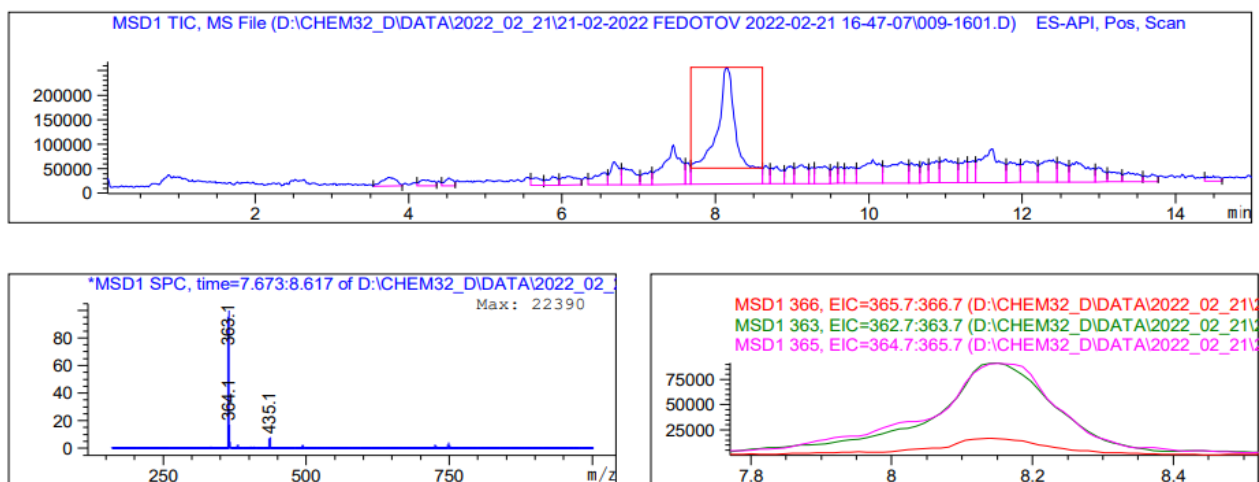


Рис. 2.13 Хромато-мас спектр 3-(етилтію)-6-(гептилтію)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазину

2.49: Вихід: 67%. $T_{пл.}$: 215 – 217 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 7.35 (с, СН, піразол), 3.22 (кв, $J = 6.2$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 2.61 (с, 3Н, SCH_3), 2.54 (с, 3Н, CH_3), 1.37 (т, $J = 12.5$ Гц, 3Н, CH_2CH_3). ESI-MS: $m/z = 281$ $[M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{10}H_{12}N_6S_2$): розраховано (%) – С, 42.84; Н, 4.31; N, 29.98; S, 22.87; знайдено (%) – С, 42.95; Н, 4.32; N, 29.90; S, 22.81.

2.50: Вихід: 75%. $T_{пл.}$: 204 – 206 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 7.36 (с, СН, піразол), 3.22 (кв, $J = 6.2$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 3.13 (кв, $J = 5.5$ Гц, 2Н, SCH_2CH_3), 2.54 (с, 3Н, CH_3), 1.38 – 1.31 (м, 6Н, $2CH_2CH_3$). ESI-MS: $m/z = 295$ $[M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{11}H_{14}N_6S_2$): розраховано (%) – С, 44.88; Н, 4.79; N, 28.55; S, 21.78; знайдено (%) – С, 44.76; Н, 4.78; N, 28.48; S, 21.84.

2.51: Вихід: 73%. $T_{пл.}$: 182 – 184 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 7.35 (с, СН, піразол), 3.22 (кв, $J = 6.2$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 3.14 (т, $J = 4.6$ Гц, 2Н, $SCH_2CH_2CH_3$), 2.54 (с, 3Н, CH_3), 1.77 – 1.71 (м, 2Н, $SCH_2CH_2CH_3$), 1.37 (т, $J = 6.2$ Гц, 3Н, CH_2CH_3), 1.07 (т, $J = 7.2$ Гц, 3Н, $S(CH_2)_2CH_3$). ESI-MS: $m/z = 309$ $[M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{12}H_{16}N_6S_2$): розраховано (%) – С, 46.73; Н, 5.23; N, 27.25; S, 20.79; знайдено (%) – С, 46.86; Н, 5.24; N, 27.17; S, 20.73.

2.52: Вихід: 82%. $T_{пл.}$: 195 – 197 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 7.37 (с, СН, піразол), 3.12 (т, $J = 4.6$ Гц, 2Н, $SCH_2(CH_2)_2CH_3$), 3.21 (кв, $J = 5.8$ Гц, 2Н, CH_2CH_3), 2.54 (с,

3H, CH₃), 1.69 – 1.61 (м, 2H, SCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.39 – 1.33 (м, 4H, CH₂CH₃, S(CH₂)₂CH₂CH₃), 0.92 (т, $J = 7.1$ Гц, 3H, S(CH₂)₃CH₃). ESI-MS: $m/z = 323$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₃H₁₈N₆S₂): розраховано (%) – C, 48.42; H, 5.63; N, 26.06; S, 19.89; знайдено (%) – C, 48.29; H, 5.62; N, 26.13; S, 19.94.

2.53: Вихід: 77%. T_{пл.}: 168 – 170 °C. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 7.36 (с, CH, піразол), 3.27 – 3.18 (м, 4H, CH₂CH₃, SCH₂(CH₂)₃CH₃), 2.54 (с, 3H, CH₃), 1.77 – 1.71 (м, 2H, SCH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 1.41 – 1.33 (м, 7H, CH₂CH₃, SCH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 0.89 (т, $J = 7.1$ Гц, 3H, S(CH₂)₄CH₃). ESI-MS: $m/z = 337$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₄H₂₀N₆S₂): розраховано (%) – C, 49.98; H, 5.99; N, 24.98; S, 19.06; знайдено (%) – C, 49.83; H, 6.00; N, 25.05; S, 19.01.

2.54: Вихід: 71%. T_{пл.}: 181 – 183 °C. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 7.36 (с, CH, піразол), 3.26 – 3.17 (м, 4H, CH₂CH₃, SCH₂(CH₂)₄CH₃), 2.54 (с, 3H, CH₃), 1.65 – 1.57 (м, 2H, SCH₂CH₂(CH₂)₃CH₃), 1.42 – 1.32 (м, 9H, CH₂CH₃, S(CH₂)₂(CH₂)₃CH₃), 0.94 – 0.84 (м, 3H, S(CH₂)₅CH₃). ESI-MS: $m/z = 351$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₅H₂₂N₆S₂): розраховано (%) – C, 51.40; H, 6.33; N, 23.98; S, 18.29; знайдено (%) – C, 51.53; H, 6.34; N, 23.92; S, 18.24.

2.55: Вихід: 65%. T_{пл.}: 164 – 166 °C. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 7.35 (с, CH, піразол), 3.27 – 3.20 (м, 4H, CH₂CH₃, SCH₂(CH₂)₅CH₃), 2.55 (с, 3H, CH₃), 1.65 – 1.57 (м, 2H, SCH₂CH₂(CH₂)₄CH₃), 1.37 – 1.25 (м, 11H, CH₂CH₃, S(CH₂)₂(CH₂)₄CH₃), 0.92 – 0.86 (м, 3H, S(CH₂)₆CH₃). ESI-MS: $m/z = 365$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₆H₂₄N₆S₂): розраховано (%) – C, 52.72; H, 6.64; N, 23.05; S, 17.59; знайдено (%) – C, 52.57; H, 6.63; N, 22.99; S, 17.64.

2.56: Вихід: 84%. T_{пл.}: 162 – 164 °C. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 7.37 (с, CH, піразол), 3.27 – 3.19 (м, 4H, CH₂CH₃, SCH₂(CH₂)₆CH₃), 2.55 (с, 3H, CH₃), 1.65 – 1.57 (м, 2H, SCH₂CH₂(CH₂)₅CH₃), 1.39 – 1.28 (м, 13H, CH₂CH₃, S(CH₂)₂(CH₂)₅CH₃), 0.94 – 0.85 (м, 3H, S(CH₂)₇CH₃). ESI-MS: $m/z = 379$ [M+H]⁺. Елементний аналіз. (C₁₇H₂₆N₆S₂): розраховано (%) – C, 53.94; H, 6.92; N, 22.20; S, 16.94; знайдено (%) – C, 54.09; H, 6.91; N, 22.14; S, 16.99.

2.57: Вихід: 82%. T_{пл.}: 155 – 157 °C. ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 7.37 (с, CH, піразол), 3.28 – 3.20 (м, 4H, CH₂CH₃, SCH₂(CH₂)₆CH₃), 2.54 (с, 3H, CH₃), 1.65 – 1.57 (м, 2H,

$\text{SCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$), 1.40 – 1.33 (м, 15H, CH_2CH_3 , $\text{S}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_3$), 0.94 – 0.85 (м, 3H, $\text{S}(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$). ESI-MS: $m/z = 393$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_6\text{S}_2$): розраховано (%) – С, 55.07; Н, 7.19; N, 21.41; S, 16.33; знайдено (%) – С, 54.93; Н, 7.18; N, 21.46; S, 16.37.

2.58: Вихід: 70%. $T_{\text{пл.}}$: 150 – 152 °С. ^1H ЯМР, δ (м.ч.): 7.36 (с, СН, піразол), 3.27 – 3.18 (м, 4H, CH_2CH_3 , $\text{SCH}_2(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 2.56 (с, 3H, CH_3), 1.63 – 1.57 (м, 2H, $\text{SCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 1.40 – 1.27 (м, 17H, CH_2CH_3 , $\text{S}(\text{CH}_2)_2(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 0.94 – 0.85 (м, 3H, $\text{S}(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$). ESI-MS: $m/z = 407$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{19}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{S}_2$): розраховано (%) – С, 56.12; Н, 7.44; N, 20.67; S, 15.77; знайдено (%) – С, 56.27; Н, 7.45; N, 20.61; S, 15.73.

Експериментальна частина

*Загальна методика синтезу етил-4-гідрокси-2-*R*-3-етаноату (2.4, 2.5, 2.6).* До суміші 0,01 моль відповідного кетону (ацетону, 1-(4-метоксифеніл)етан-1-ону, 1-(3-флуорофеніл)етан-1-ону) та 0,15 моль діетилоксалату в 60 мл безводного толуену додають 0,2 моль натрій гідриду. Реакційну суміш перемішують при 30 °С протягом 8 годин. Розчинник видаляють за допомогою вакуума. Неочищену суміш виливають в 100 мл крижаної води та підкислюють розбавленою кислотою хлоридною. Одержаний кристалічний осад відфільтровують та промивають водою. Для аналізу кристалізують з метанолу. Жовта кристалічна речовина.

*Загальна методика синтезу етил-5-*R*-піразол-3-карбоксилату (2.7-2.9).* До 0,1 моль етил-4-гідрокси-2-*R*-3-етаноату додають 0,5 моль гідразин гідрату у 40 мл пропан-1-олу та нагрівають до кипіння протягом 8 годин. Після видалення спирту формується оліїста рідина, яку виливають на подрібнену кригу. Біла кристалічна речовина.

*5-*R*-піразол-3-карбогідразид (2.10-2.12)*

Суміш 0,1 моль відповідного етил-5-*R*-піразол-3-карбоксилату та 0,2 моль гідразин гідрату нагрівають у 40 мл етанолу до кипіння протягом 6 годин. Після охолодження, відфільтровують та перекристалізують з води.

Загальна методика синтезу калій 2-(5-R-піразол-3-карбоніл)гідразин-1-карбодитіоату (2.13-2.15)

З 0,2 калій гідроксиду готують 9% бутан-1-оловий розчин, у якому розчиняють 0,2 моль 5-R-піразол-3-карбогідразида. Після повного розчинення перемішують і до утвореної суміші додають по краплях 0,3 моль CS₂. По закінченню додавання сірковуглецю, суміш перемішують ще 0,5 години. Спостерігається утворення жовтої кристалічної речовини.

Загальна методика синтезу 4-аміно-5-(5-(R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.16-2.18).

Калій 2-(5-R-піразол-3-карбоніл)гідразин-1-карбодитіоат відважують та поміщають у термостійку колбу, розчиняють у 150 – 200 мл води очищеної та додають 5-кратний надлишок гідразин гідрату. У такому вигляді суміш кип'ятять протягом 6 годин. По закінченню нагрівання розчин охолоджують та поступово, при постійному перемішуванні, додають до нього концентровану хлоридну кислоту до рН = 1 – 2. Утворюється білий кристалічний осад. Утворений осад відфільтровують та сушать.

S-алкілтохідні 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.19-2.38).
До розчиненої у 40 мл етанолу суміші 0,005 моль відповідного 4-аміно-5-(5-R-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та 0,005 моль натрій гідроксиду додають також 0,005 моль галогеналкану (йодометан, бромометан, 1-бромпропан, 1-бромобутан, 1-бромопентан, 1-бромогексан, 1-бромогептан, 1-бромооктан, 1-бромононан, 1-бромодекан). Нагрівають впродовж 2 год, охолоджують, осад відфільтровують, промивають водою очищеною. Для аналізу кристалізують з метанолу. Речовини білого кольору, практично нерозчинні у воді, розчинні в спиртах при нагріванні, ДМСО та ДМФА.

Загальна методика синтезу 9-метил-3-(алкілтіо)піразоло[1,5-d][1,2,4]-триазоло[3,4-f][1,2,4]триазинів (2.39-2.48). До 0,01 моль відповідного S-алкіл-похідного 4-аміно-5-(5-метилпіразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.19-2.28) додають 40 мл триетилортоформіату та нагрівають до кипіння протягом 12 годин.

Залишок триетилортоформіату видаляють у вакуумі. Продукти реакції кристалізують з пропан-2-олу.

*3-(Етилтіо)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-тіолат калію (2.20a).* До розчину 0,01 моль калій гідроксиду в 50 мл пропан-2-олу додають 0,01 моль 3-(етилтіо)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-4-аміну і перемішують до розчинення. Після повного розчинення суміш переносять на крижану баню і по краплях додають сірковуглець. Перемішують протягом 2 годин. Надлишок спирту видаляють під вакуумом. Отриману жовту кристалічну речовину відфільтровують і перекристалізують зі спирту.

*Загальна методика синтезу 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (2.49-2.58).* Еквівалентну кількість відповідного галогеналкану ($C_nH_{2n+1}Br$; $n = 1-10$) додають до розчину 0,005 моль калію 3-(етилтіо)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-тіолату в 35 мл пропан-2-олу. Нагрівають 1 годину. Надлишок спирту видаляють під вакуумом. Осад, що утворився, відфільтровують і перекристалізують.

Висновки

1. Здійснено постадійне формування структури базового 4-аміно-5-(5-(*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з використання як вихідних речовин кетону відповідної природи (ацетону, 1-(4-метоксифеніл)етан-1-ону, 1-(3-флуорофеніл)етан-1-ону), діетилоксалату за участю натрій гідриду.

2. Взаємодією 4-аміно-5-(5-(*R*-піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з рядом галогеналканів у присутності натрій гідроксиду в середовищі етанолу одержано ряд *S*-алкілпохідних, які в подальшому за участі триетилформіату перетворюються у відповідні 9-метил-3-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини.

3. Встановлено, що взаємодія 3-(етилтіо)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-4-аміну з карбон дисульфідом у лужному середовищі призводить до

формування калій 3-(етилтіо)-9-метилпіразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-тіолату як перспективного джерела у створенні біологічно активних субстанцій.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях: 94, 95, 101, 102, 103, 104.

РОЗДІЛ 3

СИНТЕЗ ТА ВЛАСТИВОСТІ КАРБОНІЛВМІСНИХ ПОХІДНИХ І КОНДЕСОВАНИХ СИСТЕМ НА ОСНОВІ 4-АМІНО-5-(3-R-ПІРАЗОЛ-5-ІЛ)- 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ

Карбонільна група відіграє важливу роль у структурі та функціях багатьох біологічно активних сполук, що може бути використано науковцями з метою створення нових лікарських препаратів і біомолекул зі специфічними біологічними властивостями. Карбонільна група володіє особливим хімічним потенціалом, завдяки якому вона може вступати у взаємодію з іншими молекулами в біологічних системах. Серед функціональних груп з зазначеним фрагментом особливим біологічним потенціалом володіють карбоксильна та естерна групи, що підтверджується наявністю відомих лікарських засобів з зазначеними групами.

3.1 Синтез та фізико-хімічні властивості 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів

Серед значної кількості похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу значною перспективою створення біологічно активних субстанцій володіють їх конденсовані похідні [1]. Зазначеному процесу активно сприяють як зовнішні та внутрішні нуклеофільні центри в структурі даних сполук [2].

Відповідний хімічний потенціал аміно- та меркаптогруп як замісників при фрагменті 1,2,4-триазолу був використаний на наступному етапі наукової роботи.

Хімічна взаємодія попередньо синтезованого 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.18**) з ароматичними карбоновими кислотами під дією фосфор оксихлориду сприяла одержанню 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (рис. 3.1) [105, 106].

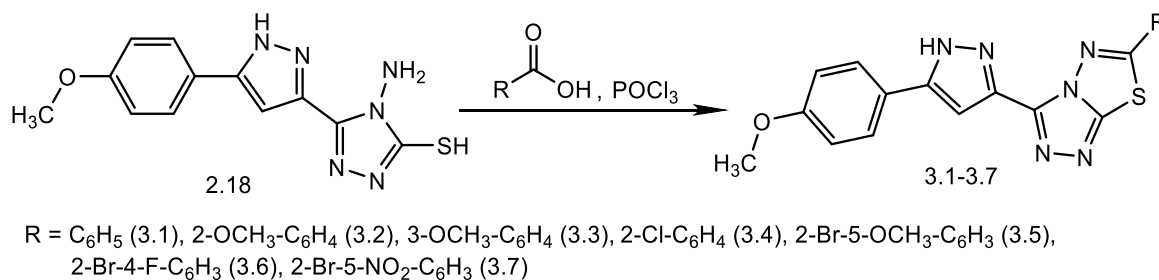


Рис. 3.1 Схема синтезу 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів

Структуру та індивідуальність отриманих сполук підтверджено за допомогою фізико-хімічних методів аналізу: елементного аналізу, ІЧ-спектрофотометрії, ¹H ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії.

Сполуки кристалізуються з концентрованої етанової кислоти. Білі (**3.1-3.4**), жовті (**3.5, 3.7**), яскраво-жовті (**3.6**) кристалічні речовини. Практично нерозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках.

¹H ЯМР спектри синтезованих сполук (**3.1-3.7**) фіксувались у відповідності з запропонованими структурами. Так, сигнал протонів NH групи піразольного циклу знаходиться при 13.05 – 13.07 м.ч. у вигляді синглету. В слабкій частині магнітного поля фіксуються синглети, які утворюють протони метинової групи піразолового фрагменту при 8.70 – 8.72 м.ч. 4-Метоксифенільний замісник у більшості випадків (**3.3, 3.5-3.7**) має мультиплетний сигнал *орто*-протонів в області 7.51 – 7.59 м.ч. та мультиплетний сигнал *мета*-протонів в області 6.97 – 7.05 м.ч. В спектрах інших сполук (**3.1, 3.2, 3.4**) в «ароматичній» частині спектру спостерігаються більш складні мультиплети, формування яких обумовлено наявністю в структурі синтезованих сполук наряду з 4-метоксифенільним замісником фенільного (**3.1**), 2-метоксифенільного (**3.2**) та 2-хлорофенільного (**3.4**). Наприклад, в спектрі вихідного тіолу **2.18** сигнали *мета*- та *пара*-протонів фенільного замісника та сигнали *орто*-протонів 4-метоксифенільного замісника дають в спектрі п'ятипротонний мультиплет при 7.45 – 7.56 м.ч.

Сигнали протонів в 4 та 5 положеннях 2-метоксифенільного замісника сполуки **3.2** проявляються у вигляді триплетів з інтенсивністю 1H при 7.36 м.ч. і

при 7.21 м.ч. відповідно. Так само в спектрі сполуки **3.3** сигнал протону в 5 положенні 3-метоксифенільного замісника утворює триплет при 7.37 м.ч. В той самий час, протон в 4 положенні зазначеного замісника сполуки **3.3** виявляється дублетом дублетів при 6.85 м.ч. Сигнали протонів 2-бromo-5-метоксифенільного замісника сполуки **3.5** дають в спектрі дублети (H-3 та H-6) при 7.67 м.ч. та 7.26 м.ч. відповідно, дублет дублетів (H-4) при 6.82 м.ч. Схожу картину сигналів протонів утворюють 2-бromo-4-флуорофенільний (**3.6**) та 2-бromo-5-нітрофенільний замісники (**3.7**). Але є і очікувані особливості. Наприклад, наявність нітрогрупи в структурі ароматичного замісника сполуки **3.7** сприяє зміщенню сигналів протонів у більш слабке поле, що обумовлене вираженим «-I»-ефектом зазначеної групи. Так, протон в 6 положенні 2-бromo-5-нітрофенільного замісника (**3.7**) утворює сигнал у вигляді дублету при 8.61 м.ч., в 4 положенні – у вигляді дублету дублетів при 8.19 м.ч. і в 3 положенні – у вигляді дублету при 7.96 м.ч.

В сильній частині магнітного поля сигнали протонів метоксигрупи 2-, 3- та 4-метоксифенільного замісників проявляються у вигляді синглету при 3.96 м.ч., 3.88 м.ч. та 3.79 – 3.82 м.ч. відповідно.

3.1. Вихід: 79 %. $T_{пл.}$: 205-207 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH, піразол), 8.70 (с, 1H, CH, піразол), 7.97 – 7.90 (м, 2H, H-2,6, C₆H₅), 7.56 – 7.45 (м, 5H, H-3,4,5, C₆H₅, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.03 – 6.97 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 3.82 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 375 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₉H₁₄N₆OS): розраховано (%) – C, 60.95; H, 3.77; N, 22.45; S, 8.56; знайдено (%) – C, 60.78; H, 3.76; N, 22.51; S, 8.58.

3.2. Вихід: 63 %. $T_{пл.}$: 189-191 °C; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.05 (с, 1H, NH, піразол), 8.72 (с, 1H, CH, піразол), 7.79 (дд, $J = 6.8, 1.7$ Гц, 1H, H-6, 2-OCH₃-C₆H₄), 7.56 – 7.51 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.36 (т, 1H, H-4, 2-OCH₃-C₆H₄), 7.21 (т, 1H, H-5, 2-OCH₃-C₆H₄), 7.04 – 6.97 (м, 3H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄, H-5, 2-OCH₃-C₆H₄), 3.96 (с, 3H, 2-OCH₃-C₆H₄), 3.80 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 405 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₂₀H₁₆N₆O₂S): розраховано (%) – C, 59.39; H, 3.99; N, 20.78; S, 7.93; знайдено (%) – C, 59.23; H, 4.00; N, 20.72; S, 7.91.

3.3. Вихід: 65 %. $T_{пл.}$: 194-196 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH, піразол), 8.71 (с 1H, СН, піразол), 7.73 (дд, $J = 6.9, 2.1$ Гц, 1H, H-6, 3-OCH₃-C₆H₄), 7.58 – 7.53 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.37 (т, 1H, H-5, 3-OCH₃-C₆H₄), 7.05 – 6.98 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 6.85 (дд, $J = 8.1, 1.9$ Гц, 1H, H-4, 3-OCH₃-C₆H₄), 3.88 (с, 3H, 3-OCH₃-C₆H₄), 3.79 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 405$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₂₀H₁₆N₆O₂S): розраховано (%) – С, 59.39; Н, 3.99; N, 20.78; S, 7.93; знайдено (%) – С, 59.55; Н, 3.98; N, 20.73; S, 7.95.

3.4. Вихід: 70 %. $T_{пл.}$: 202-204 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH, піразол), 8.70 (с, 1H, СН, піразол), 7.81 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H, H-6, 2-Cl-C₆H₄), 7.59 – 7.52 (м, 3H, H-3, 2-Cl-C₆H₄, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.41 – 7.32 (м, 2H, H-4,5, 2-Cl-C₆H₄), 7.04 – 6.97 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 3.80 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 409,5$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₉H₁₃ClN₆OS): розраховано (%) – С, 55.82; Н, 3.20; N, 20.56; S, 7.84; знайдено (%) – С, 55.96; Н, 3.19; N, 20.60; S, 7.82.

3.5. Вихід: 73 %. $T_{пл.}$: 185-187 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.05 (с, 1H, NH, піразол), 8.70 (с, 1H, СН, піразол), 7.67 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, H-3, 2-Br-5-OCH₃-C₆H₃), 7.55 – 7.51 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.26 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H, H-6, 2-Br-5-OCH₃-C₆H₃), 7.03 – 6.97 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 6.82 (дд, $J = 8.4, 2.8$ Hz, 1H, H-4, 2-Br-5-OCH₃-C₆H₃), 3.86 (с, 3H, 2-Br-5-OCH₃-C₆H₃), 3.81 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 484$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₂₀H₁₅BrN₆O₂S): розраховано (%) – С, 49.70; Н, 3.13; N, 17.39; S, 6.63; знайдено (%) – С, 49.56; Н, 3.14; N, 17.42; S, 6.61.

3.6. Вихід: 61 %. $T_{пл.}$: 176-178 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH, піразол), 8.71 (с, 1H, СН, піразол), 7.72 (дд, $J = 7.8, 4.9$ Гц, 1H, H-6, 2-Br-4-F-C₆H₃), 7.57 – 7.52 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.48 (дд, $J = 11.6, 2.2$ Гц, 1H, H-3, 2-Br-4-F-C₆H₃), 7.19 – 7.12 (м, 1H, H-5, 2-Br-4-F-C₆H₃), 7.02 – 6.97 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 3.80 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: $m/z = 472$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₉H₁₂BrFN₆OS): розраховано (%) – С, 48.42; Н, 2.57; N, 17.83; S, 6.80; знайдено (%) – С, 48.56; Н, 2.58; N, 17.79; S, 6.78.

3.7. Вихід: 69 %. $T_{пл.}$: 172-174 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 13.07 (с, 1H, NH, піразол), 8.70 (с, 1H, СН, піразол), 8.61 (д, $J = 2.1$ Гц, 1H, H-6, 2-Br-5-NO₂-C₆H₃), 8.19 (дд, $J = 8.6, 2.2$ Гц, 1H, H-4, 2-Br-5-NO₂-C₆H₃), 7.96 (д, $J = 8.5$ Гц, 1H, H-3, 2-

Br-5-NO₂-C₆H₃), 7.59 – 7.54 (м, 2H, H-2,6, 4-OCH₃-C₆H₄), 7.03 – 6.97 (м, 2H, H-3,5, 4-OCH₃-C₆H₄), 3.78 (с, 3H, 4-OCH₃-C₆H₄). ESI-MS: m/z = 471 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₉H₁₂BrN₇O₃S): розраховано (%) – С, 45.80; Н, 2.43; N, 19.68; S, 6.43; знайдено (%) – С, 45.69; Н, 2.42; N, 19.71; S, 6.45.

3.2. Синтез та фізико-хімічні властивості 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-аміну

Враховуючі значні синтетичні можливості похідних 4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу та електронодонорний характер екзоциклічних функціональних груп було здійснено дослідження умов синтезу 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-амінів. Реакція реалізувалась при нагріванні в середовищі кислоти етанової за участю ряду алкіл- та арилізотіоціанатів.

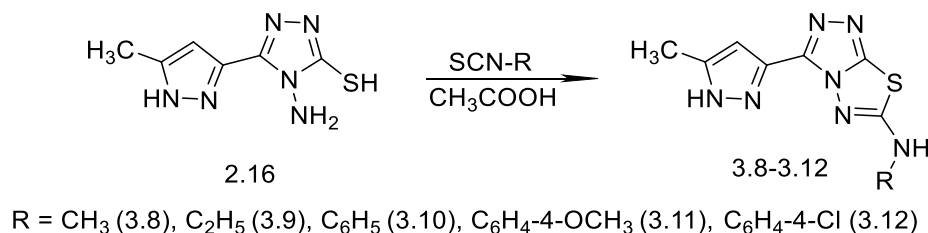


Рис. 3.2 Схема синтезу 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-амінів

Структуру та індивідуальність продуктів циклоконденсації встановлено за допомогою фізико-хімічних методів аналізу: елементного аналізу, ІЧ-спектрофотометрії, ¹H ЯМР-спектроскопії, хромато-мас-спектрометрії.

У ¹H ЯМР спектрах сполук **3.8-3.12** фіксуються сигнали протонів NH групи піразолового синтону у вигляді синглету при 13.07-12.73 м.ч. В спектрах зазначених сполук також у вигляді однопротонного синглету формується сигнал при 6.82-6.81 м.ч., пов'язаний з метиленовим фрагментом піразолового замісника. Протон аміногрупи аміноалкільного замісника (NH-C_nH_{2n+1}) резонує або у вигляді

мультиплету в інтервалі 7.25-7.21 м.ч. (**3.8**) або у вигляді триплету при 6.57 м.ч. (**3.9**). Тоді як метильний замісник вказаної аміногрупи (NH-CH_3) сприяє формуванню сигналу при 3.03 м.ч. (**3.8**). Протони етильного замісника цієї аміногрупи ($\text{NH-C}_2\text{H}_5$) реєструються як мультиплет при 3.55-3.51 м.ч. ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_3$) та триплет при 1.19 м.ч. ($\text{NH-CH}_2\text{-CH}_3$) (**3.9**). Ароматична зона спектрів представлена серією очікуваних сигналів. Так, сигнали протонів фенільного замісника сполуки **3.10** проявляються у вигляді двох мультиплетів при 7.36 – 7.31 м.ч. і при 7.56 – 7.52 м.ч. та триплету при 6.88 м.ч. Поява метоксигрупи та Хлору як замісників в *para*-положенні фенільного фрагменту сприяє зміщенню сигналів «ароматичних» протонів у більш сильне поле, які відповідно реєструються у вигляді мультиплетів при 7.56-7.52 м.ч. та при 7.36-7.31 м.ч. (**3.11**) і при 6.95-6.89 м.ч. та при 7.53-7.49 м.ч. (**3.12**). Наявність метильної групи як замісника піразолового фрагменту підтверджується трьохпротонним синглетом при 2.32-2.34 м.ч. (**3.8-3.12**).

Мас-спектри сполук **3.8-3.12** містять піки молекулярних іонів, які відповідають молекулярній масі (рис. 3.3).

Кількісне відхилення при елементному аналізі було в межах $\pm 0,3 \%$.

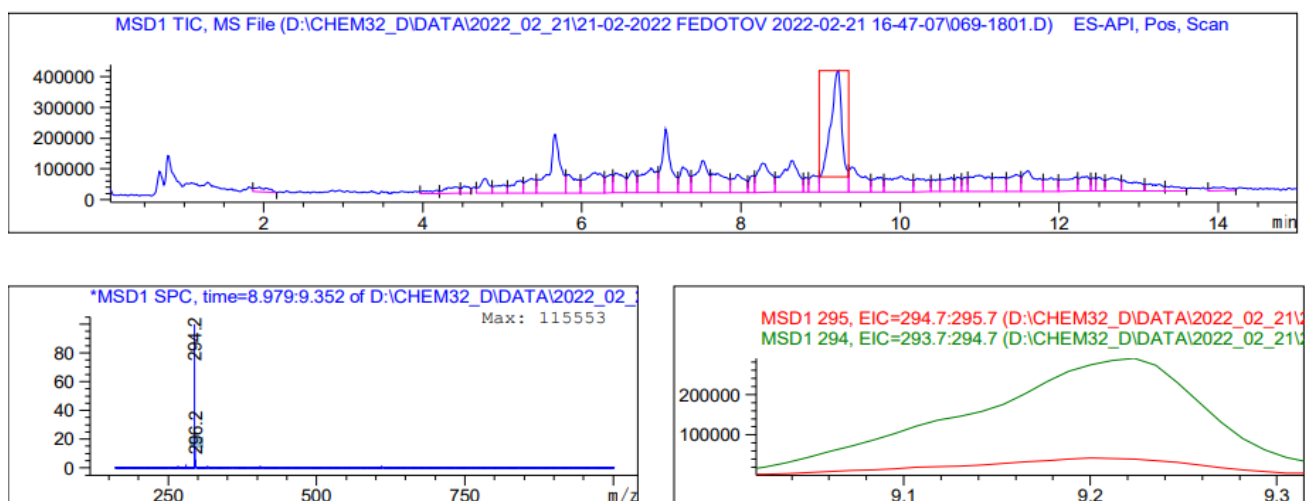


Рис. 3.3 Хромато-мас спектр 3-(3-метилпіразол-5-іл)-*N*-феніл-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-аміну

3.8. Вихід: 63 %. $T_{пл.}$: 213-215 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.74 (с, 1H, NH, піразол), 7.25 – 7.21 (м, 1H, $NH-CH_3$), 6.82 (с, 1H, CH, піразол), 3.03 (д, $J = 3.8$ Гц, 3H, $NH-CH_3$), 2.34 (с, 3H, CH_3). ESI-MS: $m/z = 236 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_8H_9N_7S$): розраховано (%) – С, 40.84; Н, 3.86; N, 41.68; S, 13.63; знайдено (%) – С, 40.73; Н, 3.87; N, 41.78; S, 13.59.

3.9. Вихід: 67 %. $T_{пл.}$: 222-224 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.73 (с, 1H, NH, піразол), 6.82 (с, 1H, CH, піразол), 6.57 (т, $J = 3.4$ Гц, 1H, $NH-CH_2-CH_3$), 3.55-3.51 (м, 2H, $NH-CH_2-CH_3$), 2.34 (с, 3H, CH_3), 1.19 (т, $J = 5.6$ Гц, 3H, $NH-CH_2-CH_3$). ESI-MS: $m/z = 337 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_9H_{11}N_7S$): розраховано (%) – С, 43.36; Н, 4.45; N, 39.33; S, 12.86; знайдено (%) – С, 43.25; Н, 4.46; N, 39.42; S, 12.89.

3.10. Вихід: 75 %. $T_{пл.}$: 176-178 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.85 (с, 1H, NH, піразол), 10.06 (с, 1H, NH), 7.56 – 7.52 (м, 2H, H-2, 6, C_6H_5), 7.36 – 7.31 (м, 2H, H-3, 5, C_6H_5), 6.88 (т, $J = 6.7$ Гц, 1H, H-4, C_6H_5), 6.81 (с, 1H, CH, піразол), 2.33 (с, 3H, CH_3). ESI-MS: $m/z = 298 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{13}H_{11}N_7S$): розраховано (%) – С, 52.51; Н, 3.73; N, 32.98; S, 10.78; знайдено (%) – С, 52.38; Н, 3.74; N, 32.89; S, 10.81.

3.11. Вихід: 64 %. $T_{пл.}$: 241-243 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.86 (с, 1H, NH, піразол), 10.08 (с, 1H, NH), 7.53 – 7.49 (м, 2H, H-2, 6, $CH_3OC_6H_4$), 6.95 – 6.89 (м, 2H, H-3, 5, $CH_3OC_6H_4$), 6.82 (с, 1H, CH, піразол), 3.80 (с, 3H, $CH_3OC_6H_4$), 2.32 (с, 3H, CH_3). ESI-MS: $m/z = 328 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{14}H_{13}N_7OS$): розраховано (%) – С, 51.37; Н, 4.00; N, 29.95; S, 9.79; знайдено (%) – С, 51.24; Н, 3.99; N, 30.01; S, 9.81.

3.12. Вихід: 78 %. $T_{пл.}$: 228-230 °С; 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.80 (с, 1H, NH, піразол), 9.96 (с, 1H, NH), 7.34 – 7.28 (м, 2H, H-2, 6, ClC_6H_4), 7.22-7.17 (м, 2H, H-3, 5, ClC_6H_4), 6.81 (с, 1H, CH, піразол), 2.32 (с, 3H, CH_3). ESI-MS: $m/z = 332 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{13}H_{10}ClN_7S$): розраховано (%) – С, 47.06; Н, 3.04; N, 29.55; S, 9.66; знайдено (%) – С, 47.17; Н, 3.05; N, 30.01; S, 9.63.

3.3. Синтез та фізико-хімічні властивості карбонільних похідних 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

Оптимізація умов синтезу та вивчення властивостей нових сполук завжди мають велике значення для галузі хімії. Наявність в структурі біологічно активної речовини триазолотіадіазинового каркасу сприяє проявленню ряду властивостей, серед яких антибактеріальні, противірусні, протипухлинні та протигрибкові [107-109]. Крім того, додаткове введення до структури піразолового компоненту посилює вірогідність створення нової речовини з протизапальними властивостями.

Таким чином, поєднання двох зазначених гетероциклічних фрагментів в одній молекулі може призвести до створення нових лікарських засобів з вираженою активністю та покращеними фармакологічними властивостями. Карбонільна група присутня в структурі багатьох молекул, які відіграють важливу роль в багатьох біологічних процесах. Серед них карбонові кислоти, естери, кетони та інші. Наприклад, карбонові кислоти, приймають активну участь в метаболічних процесах та виконуючи активну роль в регуляції та передачі сигналів створює основу для перебігу ряду важливих біологічних процесів.

У зазначеному контексті 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонова кислота (**3.13**) та її похідні у вигляді естерів мають значний потенціал для створення біологічно активної субстанції.

На першому етапі оптимізовано умови синтезу 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти [110].

З цією метою першочергово були встановлені оптимальні умови реакції нуклеофільного приєднання 2,6-дихлорбензальдегіду до вихідного 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.16**), що передбачало використання в якості реакційного середовища крижаної етанової кислоти (рис. 3.4).

В подальшому одержана основа Шиффа формули **2.16a** була залучена до реакції з хлоретановою кислотою в середовищі тетрагідрофурану з додаванням подвійної кількості натрій гідриду (рис. 3.4). Далі впродовж 10 годин здійснювалось перемішування з подальшим видаленням розчинника, що дозволило одержати 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонову кислоту (**3.13**).

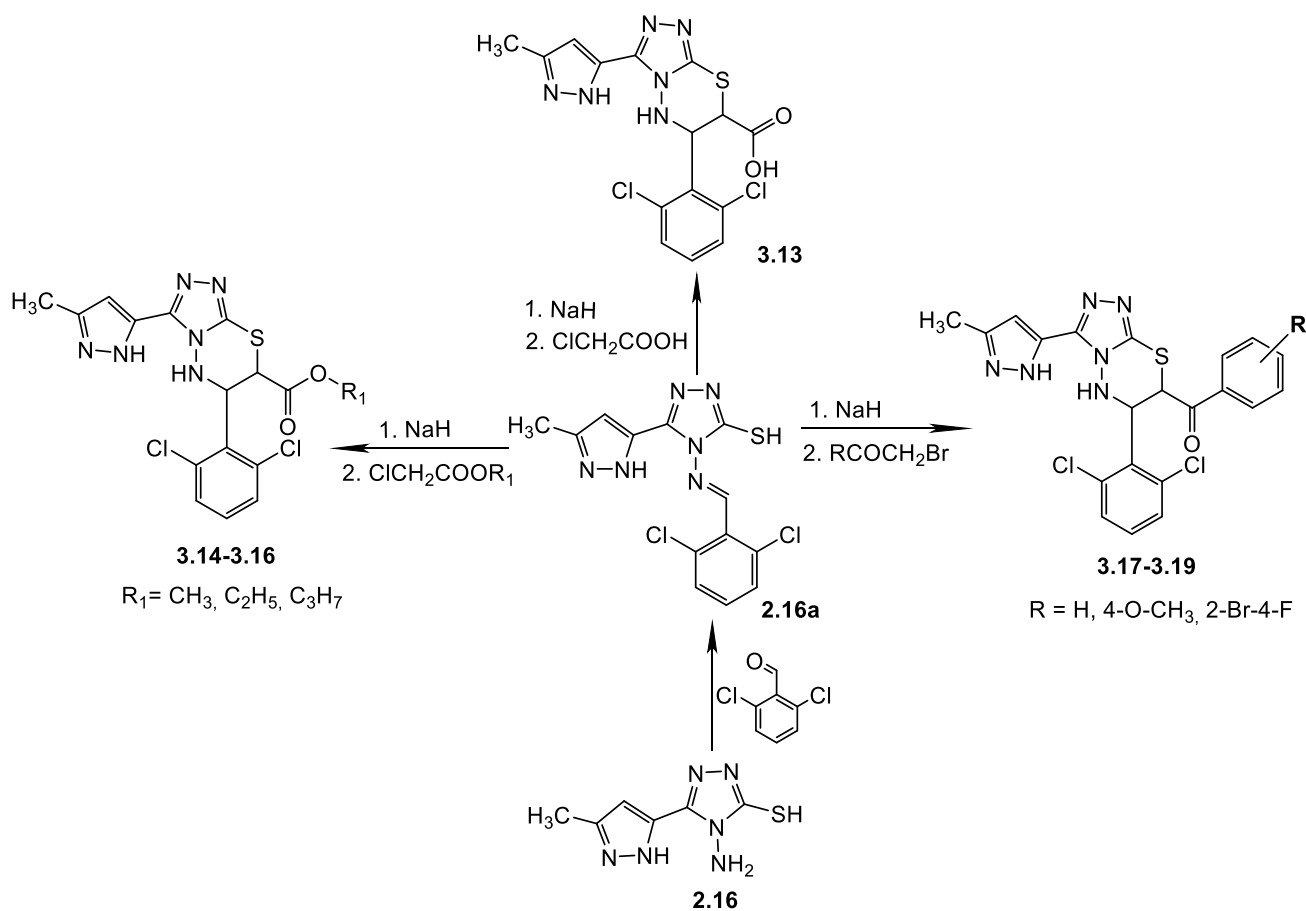


Рис. 3.4 Схема синтезу карбонільних похідних 4-((2,6-дихлоробензиліден)-аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу

Будова синтезованої кислоти (**3.13**) була підтверджена фізико-хімічними методами: спектроскопією ¹H ЯМР та елементним аналізом.

Чистота продукту хімічної реакції та його ідентичність підтвержені хромато-мас-спектрами.

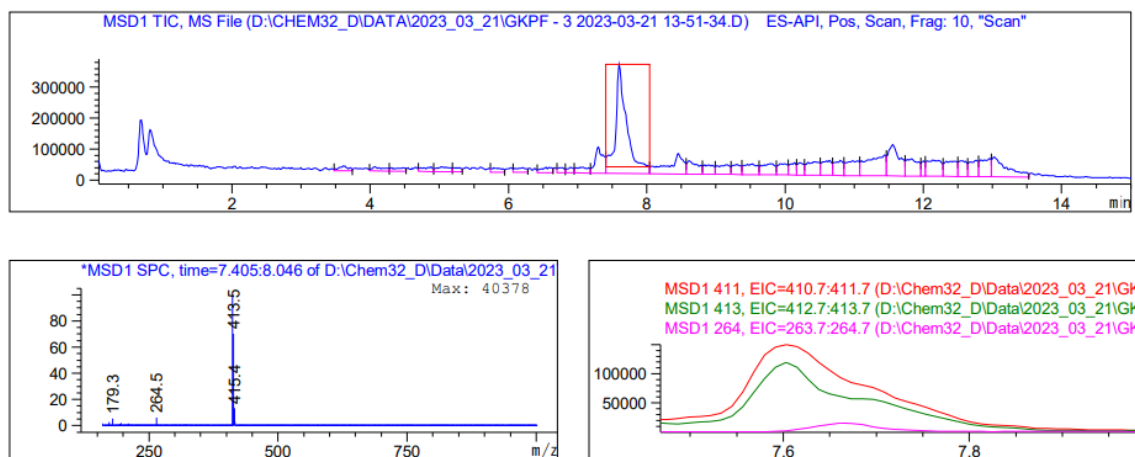


Рис. 3.5 Хромато-мас спектр 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонова кислота

Зокрема, відмінність спектрів синтезованої кислоти (**3.13**) обумовлена сигналом протону карбоксильної групи. Зазначений сигнал формується у вигляді однопротонного синглету при 10.45 м.ч. Так само вигляд однопротонного синглету має сигнал NH-протону піразолового синтону, який реєструється при 12.32 м.ч. Крім того, в спектрі наявний синглетний сигнал СН-протону піразолового фрагменту при 7.63 м.ч.

У спектрі також спостерігаються сигнали 2,6-дихлорофенільного замісника у вигляді трьохпротонного мультиплету, який фіксується при 7.42-7.34 м.ч. Подальший перехід до сильнопольної частини спектру демонструє сигнали трьох протонів тіадіазинового фрагменту, які прописуються дублетом протону NH групи при 6.63 м.ч., сусіднім дублетом дублетів при 5.85 м.ч., який пов'язаний з СН групою та наступним дублетом при 5.08 м.ч., що відповідає SCH структурному компоненту.

Сильнопольна частина спектру представлена сигналами метильного замісника піразолового фрагменту, які формуються у вигляді синглету при 2.53 м.ч.

3.13 Вихід: 80 %. $T_{пл.}$: 183–185 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.32 (с., 1H, NH-піразол), 10.45 (с, 1H, COOH), 7.63 (с, 1H, H-4 піразол), 7.42 – 7.34 (м, 3H, H-3,4,5

2,6-Cl-C₆H₃), 6.63 (д, $J = 6.7$ Гц, 1H, N-NH-), 5.85 (дд, $J = 9.8, 5.2$ Гц, 1H, CH, тіадіазин), 5.08 (д, $J = 5.3$ Гц, 1H, SCH, тіадіазин), 2.53 (с, 3H, CH₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 411$ [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₅H₁₂Cl₂N₆O₂S): розраховано (%) – С, 43.81; Н, 2.94; N, 20.44; S, 7.80; знайдено (%) – С, 43.70; Н, 2.95; N, 20.38; S, 7.82.

В подальшому був реалізований перехід від даної кислоти до естерів (**3.14-3.16**) та арилетанонів (**3.17-3.19**) з використанням як вихідної сполуки **2.16a**. Зміна карбоксильної групи на складноєфірну (**3.14-3.16**) очікувано супроводжувалась появою додаткових протонних сигналів спиртового залишку в сильнопольній частині спектру. Наприклад, в спектрі метилового ефіру зазначеної кислоти (**3.14**) формується трипротонний синглет метоксифрагменту. В спектрі етилового ефіру даної кислоти (**3.15**) етоксифрагмент прописується двохпротонним мультиплетом метиленової групи при 4.15-4.06 м.ч. та трьохпротонним триплетом метильної групи при 0.97 м.ч. В свою чергу, в спектрі ізопропілового ефіру даної кислоти (**3.16**) в слабопольній зоні формуються мультиплетний сигнал метинового фрагменту в інтервалі значень 4.96-4.88 м.ч. та шестипротонний сигнал у вигляді дублету дублетів при 1,21 м.ч.

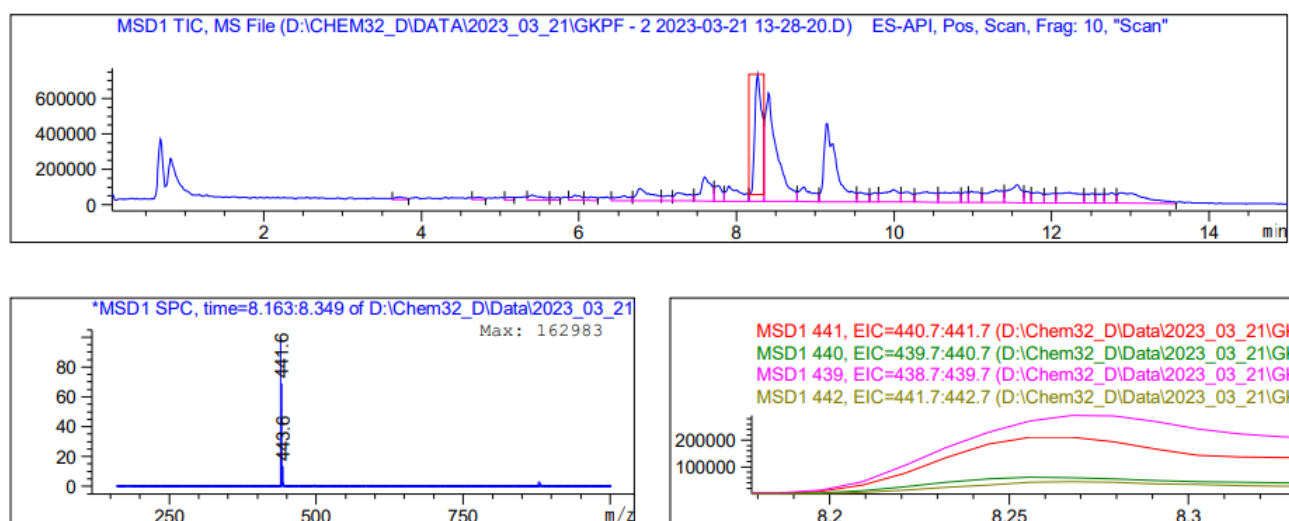


Рис. 3.6 Хромато-мас спектр *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорфеніл)-3-(3-метил-піразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбоксилату

3.14 Вихід: 74 %. $T_{пл.}$: 147–149 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.34 (с, 1H, NH -піразол), 7.61 (с, 1H, Н-4 піразол), 7.42 – 7.34 (м, 3H, Н-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.53 (д, $J = 6.8$ Гц, 1H, N- NH -), 5.84 (дд, $J = 9.8, 5.2$ Гц, 1H, CH , тіадіазин), 5.06 (д, $J = 5.3$ Гц, 1H, SCH , тіадіазин), 3.74 (с, 3H, OCH₃).

3.15 Вихід: 82 %. $T_{пл.}$: 135–136 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.34 (с, 1H, NH -піразол), 7.62 (с, 1H, Н-4 піразол), 7.42 – 7.34 (м, 3H, Н-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.54 (д, $J = 6.7$ Гц, 1H, N- NH -), 5.85 (дд, $J = 9.8, 5.2$ Гц, 1H, CH , тіадіазин), 5.06 (д, $J = 5.3$ Гц, 1H, SCH , тіадіазин), 4.15 – 4.06 (м, 2H, OCH₂CH₃), 0.97 (т, $J = 6.3$ Гц, 3H, OCH₂CH₃).

3.16 Вихід: 74 %. $T_{пл.}$: 129–131 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.32 (с, 1H, NH -піразол), 7.62 (с, 1H, Н-4 піразол), 7.42 – 7.34 (м, 3H, Н-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.53 (д, $J = 6.8$ Гц, 1H, N- NH -), 5.84 (дд, $J = 9.8, 5.2$ Гц, 1H, CH , тіадіазин), 5.07 (д, $J = 5.3$ Гц, 1H, SCH , тіадіазин), 4.96-4.88 (м, 1H, $CH(CH_3)_2$), 1.21 (дд, $J = 10.9, 5.8$ Hz, 6H, $CH(CH_3)_2$).

Одержання сполук з [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазиновим скафолдом є безперечно актуальним напрямом процесу створення біологічно активних субстанцій. Наприклад, дана конденсована система значно посилює вірогідність формування протиракової активності у синтезованих сполук [53]. Наявність кето-групи даних сполук додатково може посприяти поліпшенню біологічного профілю синтезованих сполук, що додатково привертає увагу до даного напрямку хімічного перетворення. Синтез цільових кетонів (**3.17-3.19**) був реалізований в середовищі тетрагідрофурану шляхом взаємодії основи Шиффа формули **2.16a** з відповідним фенацилбромідом. Реакція здійснювалась за участю натрій гідриду в середовищі тетрагідрофурану при постійному перемішуванні за кімнатної температури впродовж 8 годин.

1H ЯМР спектроскопія синтезованих кетонів (**3.17-3.19**) демонструє подібну природу сигналів до попередньо описаних карбонільних сполук (**3.13-3.16**). Так, спектр (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(феніл)метанону представлений синглетним сигналом NH групи при 12,34 м.ч., дублетом *орто*-протонів фенільного замісника при 8.03

м.ч. двома триплетами *мета*- та *пара*-протонів даного замісника при 7.52 м.ч. та при 7.68 м.ч. відповідно. Ароматична частина даного спектру доповнюється трьопротонним мультиплетом 2,6-дихлорофенільного замісника при 7.40-7.32 м.ч. Подальший перехід в частину сильного поля демонструє наявність сигналів, які пов'язані з тїадіазиновим фрагментом у вигляді двох однопротонних дублетів при 6.65 м.ч. та при 5.88 м.ч., а також дублету дублетів при 6.04 м.ч. Спектри інших двох синтезованих кетонів мають подібну природу та відрізняються лише сигналами ароматичної складової кетонного фрагменту. Наприклад, в ^1H ЯМР спектрі (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тїадіазин-7-іл)(4-метоксифеніл)метанону (**3.18**) 4-метоксифенільний замісник представлений двома мультиплетами в ароматичній зоні спектру при 7.96 – 7.90 м.ч. та при 7.03 – 6.96 м.ч і і синглетом метоксильного фрагменту при 3.83 м.ч. В спектрі кетону **3.19** 4-флуорофенільний замісник представлений двома дублет дублетами, які формуються при 7.94 м.ч. та при 7.18 м.ч.

У хромато-мас-спектрах спостерігаються виділені високоінтенсивні піки молекулярних іонів $[M+1]$, що підтверджують унікальність та структуру сполук (рис. 3.7). За результатами елементного аналізу було виявлено відхилення, яке не перевищувало $\pm 0,3\%$.

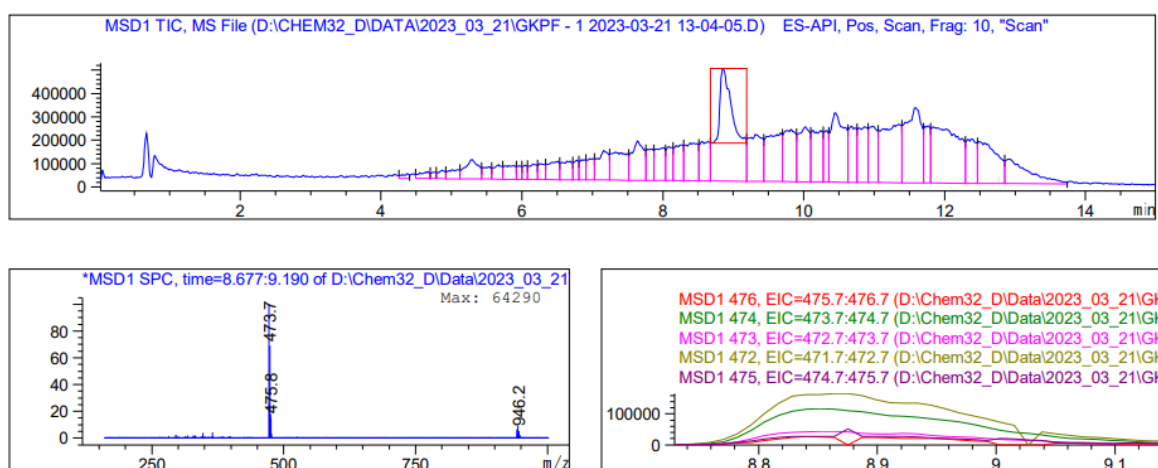


Рис. 3.7 Хромато-мас спектр (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тїадіазин-7-іл)(феніл)метанон

3.17 Вихід: 67 %. $T_{пл.}$: 156–158 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.34 (с, 1H, NH-піразол), 8.03 (д, $J = 7.7$ Hz, 2H, H-2,6, C_6H_5), 7.68 (т, $J = 8.2$ Hz, 1H, H-4, C_6H_5), 7.62 (с, 1H, H-4 піразол), 7.52 (т, $J = 8.2$ Hz, 2H, H-3,5, C_6H_5), 7.40 – 7.32 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 6.65 (д, $J = 6.7$ Гц, 1H, N-NH-), 6.04 (дд, $J = 9.0, 5.2$ Гц, 1H, CH, тіадіазин), 5.88 (д, $J = 5.3$ Hz, 1H, SCH, тіадіазин).

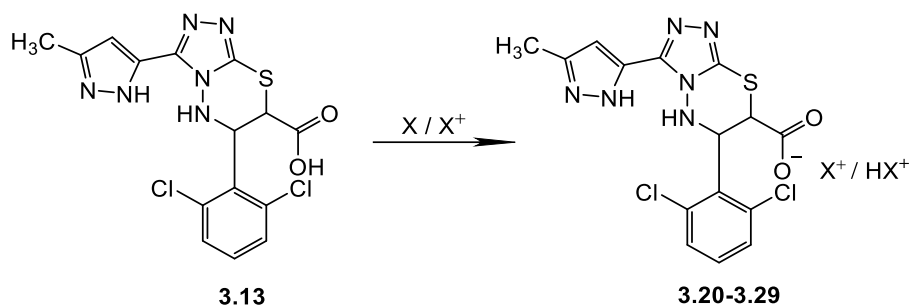
3.18 Вихід: 75 %. $T_{пл.}$: 174–176 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.35 (с, 1H, NH-піразол), 7.96 – 7.90 (м, 2H, H-2,6 $H_3CO-C_6H_4$), 7.62 (с, 1H, H-4 піразол), 7.39 – 7.32 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 7.03 – 6.96 (м, 2H, H-3,5 $H_3CO-C_6H_4$), 6.63 (д, $J = 6.7$ Гц, 1H, N-NH-), 6.05 (дд, $J = 9.0, 5.2$ Гц, 1H, CH, тіадіазин), 5.90 (д, $J = 5.3$ Hz, 1H, SCH, тіадіазин), 3.83 (с, 3H, H $_3CO-C_6H_4$).

3.19 Вихід: 64 %. $T_{пл.}$: 158–160 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 12.35 (с, 1H, NH-піразол), 7.94 (дд, $J = 9.0, 5.2$ Гц, 2H, H-2,6 4F- C_6H_4), 7.62 (с, 1H, H-4 піразол), 7.39 – 7.32 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 7.18 (дд, $J = 8.6$ Гц, 2H, H-3,5 4F- C_6H_4), 6.64 (д, $J = 6.7$ Гц, 1H, N-NH-), 6.05 (дд, $J = 9.0, 5.2$ Гц, 1H, CH, тіадіазин), 5.91 (д, $J = 5.3$ Hz, 1H, SCH, тіадіазин).

3.4. Синтез та фізико-хімічні властивості солей 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти

Одержання солей карбонових кислот дозволяє активно впливати на фізичні та біологічні властивості синтезованих сполук. Солі 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти були одержані в результаті реакції з неорганічними та органічними основами у водно-спиртовому середовищі.

Синтезовані речовини являють собою білі кристалічні порошки, розчинні у воді. Перекристалізовано з пропан-2-олу.



$X^+ = Na^+$ (**3.20**), K^+ (**3.21**), NH_4^+ (**3.22**), NH_2-CH_3 (**3.23**), $NH_2-C_2H_5$ (**3.24**), $NH_2-C_2H_5OH$ (**3.25**), $NH_2-(C_2H_5)_2$ (**3.26**), $NH_2-(C_2H_5OH)_2$ (**3.27**), піперидин (**3.28**), морфолін (**3.29**)

Рис. 3.8 Схема синтезу 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ацетатів

1H ЯМР спектри синтезованих органічних солей на відміну від спектрів вихідних кислот доповнюються сигналами протонів амінів. Так, в спектрі амонієвої солі спостерігається синглетний сигнал протонів відповідного катіону при 10.23 м.ч. В спектрі метиламонієвої солі прописуються сигнали відповідних структурних фрагментів катіону у вигляді синглету при 9.30 м.ч. ($^+NH_3-CH_3$) та триплету при 2.62 м.ч. ($^+NH_3-CH_3$). В спектрі солі **3.24** реєструються сигнали як алкільного фрагменту відповідного катіону у вигляді мультиплету в інтервалі значень 3.03-2.92 м.ч. ($^+NH_3-CH_2-CH_3$) та триплету при 1.38 м.ч. ($^+NH_3-CH_2-CH_3$) так і амонієвого фрагменту у вигляді синглету при 9.25 м.ч. ($^+NH_3-CH_2-CH_3$). Спектр солі **3.26** має подібну природу з подвійною інтенсивністю сигналів. Спектр моноетаноламонієвої солі містить сигнали алкільного фрагменту катіону у вигляді двох мультиплетів: при 3.96-3.91 ($^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$) і при 3.32-3.28 ($^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$). Гідроксогрупа зазначеного залишку основи проявляється на зазначеному спектрі у вигляді синглету при 4.65 м.ч., амонієвий фрагмент – як синглет при 9.15 м.ч. Спектр солі **3.27** містить подібні сигнали, але їх інтенсивність відповідно в два рази більша. В спектрі солі **3.28** піперидиній катіон відображається у вигляді одного двопротонного при 1.55 – 1.42 м.ч. та двох чотирьопротонних при 3.40 – 3.31 м.ч. і 2.24 – 2.15 мультиплетів. Найявний також сигнал NH_2^+ -групи даного катіону, який фіксується у вигляді синглету при 9.60

м.ч. Сигнали протонів морфоліній катіону в спектрі солі **3.29** представлені двома чотирьохпротонними мультиплетами при 4.18 – 4.05 м.ч. і при 3.57 – 3.44 м.ч. Фрагмент NH_2^+ -групи прописується на спектрі синглетом при 8.68 м.ч.

Будова неорганічних солей була доведена даними елементного аналізу.

3.20. Вихід: 75 %. $T_{\text{пл.}}$: 243–245 °С. ESI-MS: $m/z = 434$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{NaO}_2\text{S}$): розраховано (%) – С, 41.59; Н, 2.56; N, 19.40; S, 7.40; знайдено (%) – С, 41.45; Н, 2.55; N, 19.45; S, 7.42.

3.21. Вихід: 77 %. $T_{\text{пл.}}$: 252–254 °С. ESI-MS: $m/z = 450$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{Cl}_2\text{N}_6\text{KO}_2\text{S}$): розраховано (%) – С, 40.09; Н, 2.47; N, 18.70; S, 7.13; знайдено (%) – С, 40.19; Н, 2.46; N, 18.74; S, 7.11.

3.22. Вихід: 78 %. $T_{\text{пл.}}$: 221–223 °С. ^1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.46 (с, 1H, NH -піразол), 10.23 (с, 4H, NH_4^+), 7.64 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.43 – 7.30 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 6.45 (д, $J = 7.3$ Гц, 1H, N- NH -), 5.92-5.86 (м, 1H, C^6H , тіадіазин), 5.45 (д, $J = 5.6$ Гц, 1H, C^7H , тіадіазин), 2.55 (с, 3H, CH_3 -піразол). ESI-MS: $m/z = 428$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$): розраховано (%) – С, 42.17; Н, 3.30; N, 22.95; S, 7.50; знайдено (%) – С, 42.28; Н, 3.29; N, 22.90; S, 7.52.

3.23. Вихід: 71 %. $T_{\text{пл.}}$: 216–218 °С. ^1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.44 (с, 1H, NH -піразол), 9.30 (с, 2H, $^+\text{NH}_3\text{-CH}_3$), 7.65 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.43 – 7.30 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 6.45 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N- NH -), 5.94-5.87 (м, 1H, C^6H , тіадіазин), 5.35 (д, $J = 5.4$ Гц, 1H, C^7H , тіадіазин), 2.62 (т, $J = 3.9$ Гц, 3H, $^+\text{NH}_3\text{-CH}_3$), 2.53 (с, 3H, CH_3 -піразол). ESI-MS: $m/z = 442$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$): розраховано (%) – С, 43.55; Н, 3.65; N, 22.22; S, 7.26; знайдено (%) – С, 43.66; Н, 3.66; N, 22.16; S, 7.24.

3.24. Вихід: 80 %. $T_{\text{пл.}}$: 204–206 °С. ^1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.46 (с, 1H, NH -піразол), 9.25 (с, 3H, $^+\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 7.67 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.43 – 7.30 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl- C_6H_3), 6.43 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N- NH -), 5.91-5.85 (м, 1H, C^6H , тіадіазин), 5.33 (д, $J = 5.4$ Гц, 1H, C^7H , тіадіазин), 3.03 – 2.92 (м, 2H, $^+\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_3$), 2.53 (с, 3H, CH_3 -піразол), 1.38 (т, $J = 6.6$ Гц, 3H, $^+\text{NH}_3\text{-CH}_2\text{-CH}_3$). ESI-MS: $m/z = 456$ $[\text{M}+\text{H}]^+$. Елементний аналіз ($\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{Cl}_2\text{N}_7\text{O}_2\text{S}$): розраховано (%) – С, 44.84; Н, 3.98; N, 21.53; S, 7.04; знайдено (%) – С, 44.72; Н, 3.99; N, 21.58; S, 7.02.

3.25. Вихід: 80 %. $T_{пл.}$: 201–202 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.47 (с, 1H, NH-піразол), 9.15 (с, 2H, $^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$), 7.63 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.41 – 7.28 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.46 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N-NH-), 5.93-5.88 (м, 1H, C⁶H, тіадіазин), 5.35 (д, $J = 5.4$ Гц, 1H, C⁷H, тіадіазин), 4.65 (т, $J = 5.6$ Гц, 1H, $^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$), 3.96-3.91 (м, 2H, $^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$), 3.32-3.28 (м, 2H, $^+NH_3-CH_2-CH_2-OH$), 2.52 (с, 3H, CH₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 472 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₇H₁₈Cl₂N₇O₃S): розраховано (%) – С, 43.32; Н, 3.85; N, 20.80; S, 6.80; знайдено (%) – С, 43.43; Н, 3.86; N, 20.75; S, 6.77.

3.26. Вихід: 80. $T_{пл.}$: 196–198 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.46 (с, 1H, NH-піразол), 9.88 (с, 1H, NH(C₂H₅)₂), 7.59 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.43 – 7.30 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.44 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N-NH), 5.91-5.85 (м, 1H, C⁶H, тіадіазин), 5.39 (д, $J = 5.9$ Hz, 1H, C⁷H, тіадіазин), 3.27 – 3.16 (м, 4H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_3)_2$), 2.55 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.52 (т, $J = 7.5$ Гц, 6H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_3)_2$). ESI-MS: $m/z = 484 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₉H₂₂Cl₂N₇O₂S): розраховано (%) – С, 47.21; Н, 4.59; N, 20.28; S, 6.63; знайдено (%) – С, 47.32; Н, 4.60; N, 20.38; S, 7.79.

3.27. Вихід: 80 %. $T_{пл.}$: 181–183 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 11.43 (с, 1H, NH-піразол), 9.27 (с, 1H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_2)_2-(OH)_2$), 7.61 (д, $J = 7.1$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.46 – 7.31 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.46 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N-NH), 5.94-5.87 (м, 1H, C⁶H, тіадіазин), 5.42 (д, $J = 5.9$ Гц, 1H, C⁷H, тіадіазин), 4.59 (т, $J = 6.2$ Гц, 2H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_2)_2-(OH)_2$), 4.05-3.98 (м, 4H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_2)_2-(OH)_2$), 3.58 – 3.49 (м, 4H, $^+NH_2-(CH_2)_2-(CH_2)_2-(OH)_2$), 2.52 (с, 3H, CH₃-піразол). ESI-MS: $m/z = 516 [M+H]^+$. Елементний аналіз (C₁₉H₂₂Cl₂N₇O₄S): розраховано (%) – С, 44.28; Н, 4.30; N, 19.02; S, 6.22; знайдено (%) – С, 44.17; Н, 4.29; N, 19.07; S, 6.25.

3.28. Вихід: 80 %. $T_{пл.}$: 217–219 °С. 1H ЯМР, δ (м.ч.): δ 11.48 (с, 2H, NH-піразол), 9.60 (с, 1H, $^+NH_2$ -піперидин), 7.63 (d, $J = 7.1$ Гц, 1H, H-4 піразол), 7.43 – 7.30 (м, 3H, H-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.43 (д, $J = 7.0$ Гц, 1H, N-NH), 5.93 – 5.88 (м, 1H, C⁶H, тіадіазин), 5.39 (д, $J = 5.9$ Гц, 1H, C⁷H, тіадіазин), 3.40 – 3.31 (м, 4H, H-2,6 піперидин), 2.51 (с, 3H, CH₃-піразол), 2.24 – 2.15 (м, 4H, H-3,5 піперидин), 1.55 – 1.42 (м, 2H, H-4 піперидин). ESI-MS: $m/z = 496 [M+H]^+$. Елементний аналіз

(C₂₀H₂₂Cl₂N₇O₂S): розраховано (%) – С, 48.49; Н, 4.48; N, 19.79; S, 6.47; знайдено (%) – С, 48.60; Н, 4.49; N, 19.74; S, 6.44. Кристалізовано з пропан-2-олу.

3.29. Вихід: 80 %. T_{пл.}: 169–171 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 11.46 (с, 1Н, NH-піразол), 8.68 (с, 2Н, ⁺NH₂-морфолін), 7.61 (д, J = 7.1 Гц, 1Н, Н-4 піразол), 7.44 – 7.32 (м, 3Н, Н-3,4,5 2,6-Cl-C₆H₃), 6.45 (д, J = 7.0 Гц, 1Н, N-NH), 5.95 – 5.89 (м, 1Н, C⁶H, тіадіазин), 5.40 (д, J = 5.9 Гц, 1Н, C⁷H, тіадіазин), 4.18 – 4.05 (м, 4Н, Н-3,3',5,5' морфолін), 3.57 – 3.44 (м, 4Н, Н-2,2',6,6' морфолін), 2.53 (с, 3Н, CH₃-піразол). ESI-MS: m/z = 497 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₁₉H₂₀Cl₂N₇O₃S): розраховано (%) – С, 45.88; Н, 4.05; N, 19.71; S, 6.45; знайдено (%) – С, 45.77; Н, 4.06; N, 19.65; S, 6.49.

3.5 Синтез (4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-іл)(алкіл-, арил-, гетерил)метанонів

Поява в структурі органічної сполуки піперазинового циклу створює сприятливі умови для формування біологічної активності. Використання *Вос*-захищеного піперазину є одним з поширених методів долучення данного гетероциклу до структури цільових продуктів хімічного перетворення. Зазначена думка активно посилюється рядом робіт як українських так і іноземних науковців.

Дослідження практичних можливостей введення до структури досліджуваних речовин піперазинового фрагменту дозволило визначитись з вихідною речовиною для даного перетворення, роль якої виконав 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол. Попередньо було встановлено, що дана речовина в реакції взаємодії з карбонілдімідазолом в середовищі 1,4-діоксану з одночасним захистом тіольної групи, перетворюється у 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-он.

Показано, що використання трифторометансульфонового ангідриду дозволяє створювати умови для активного залучення карбонільного вуглецю до реакції взаємодії з *Вос*-захищеним піперазином. Цей процес складається з двох етапів. На першому етапі в середовищі дихлорометану у присутності *N,N*-діізопропілетиламіну відбувається утворення 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)-

піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл трифлуорометансульфонату. На другому етапі одержаний сульфонат приймає участь у взаємодії з *Вос*-піперазином, що дозволяє вводити до структури досліджуваної сполуки піперазиновий фрагмент та після деблокування *Вос*-захисту за допомогою хлоридної кислоти в середовищі 1,4-діоксану одержати 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)-6-(піперазин-1-іл)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлорид. Наступний етап функціоналізації передбачав введення карбонільної групи до структури синтезованого 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)-6-(піперазин-1-іл)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлориду шляхом взаємодії з хлорангітридами алкіл-, арил- та гетерилкарбонових кислот. Реакція успішно відбувається в середовищі дихлорометану в присутності триетиламіну (рис. 3.9).

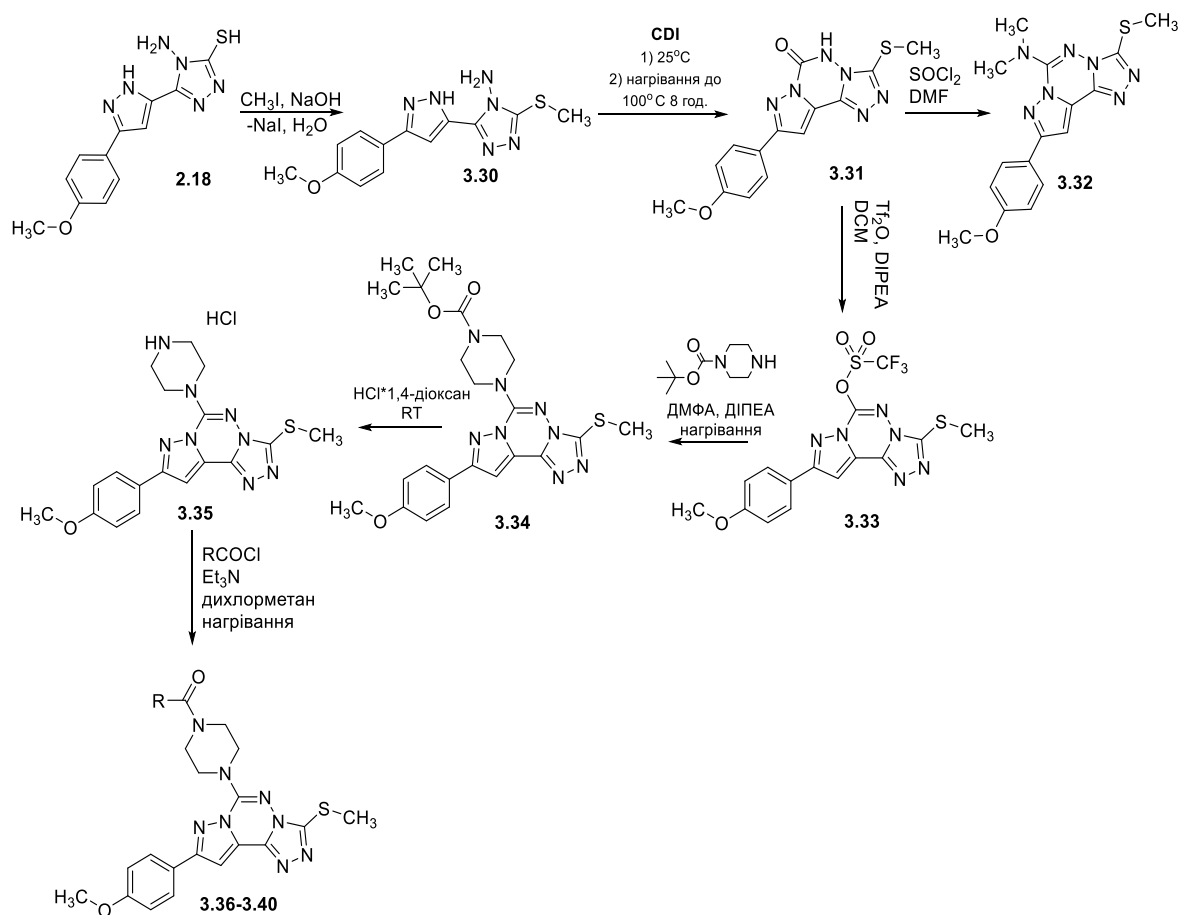


Рис. 3.9 Схема синтезу (4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-іл(алкіл-, арил-, гетерил)-метанонів

В результаті проведеного поетапного хімічного перетворення були одержані білі кристалічні речовини білого кольору, які розчинні в ДМФА та ДМСО, а також в етанолі та пропан-2-олі при нагріванні.

Одержані дані хромато-мас-спектрометрії засвідчили, що за результатами проведеного процесу інтермедіати та цільові продукти хімічної трансформації були одержані у вигляді індивідуальних речовин (рис. 3.10-3.12).

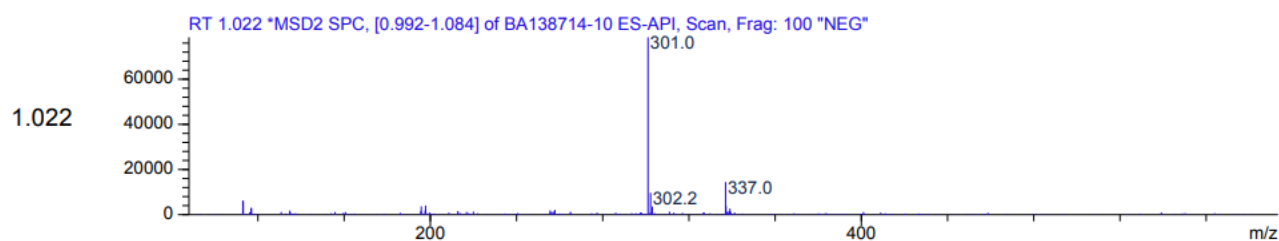


Рис. 3.10 Хромато-мас спектр 3-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-5-(метилтіо)-1,2,4-триазол-4-аміну

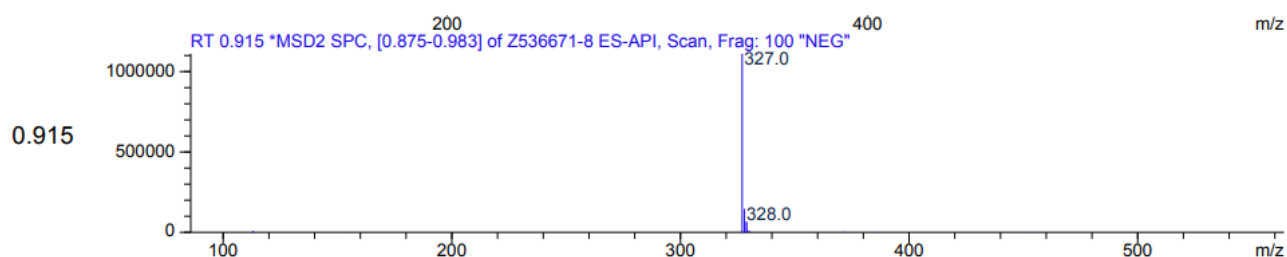


Рис. 3.11 Хромато-мас спектр 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-ону

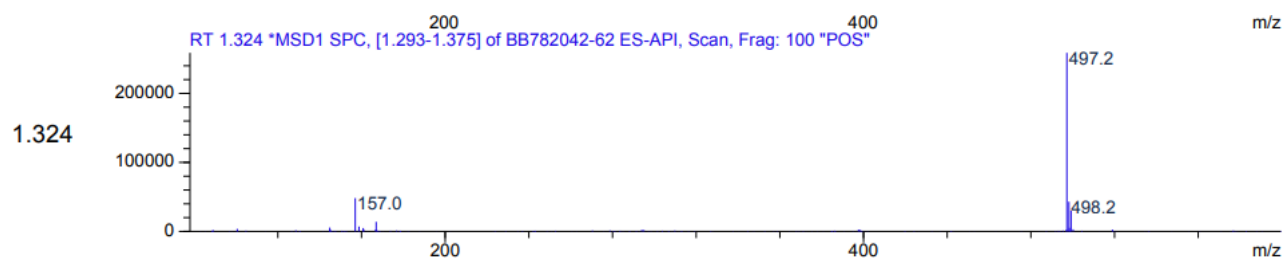


Рис. 3.12 Хромато-мас спектр 6-(4-(*трет*-бутоксиметил)піперазин-1-іл)-9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазину

Дані ^1H ЯМР спектроскопії та елементного аналізу однозначно підтвердили утворення очікуваних продуктів хімічного процесу.

^1H ЯМР спектри синтезованих сполук (**3.32-3.40**) характеризуються наявністю всіх сигналів протонів, які достовірно характеризують структуру всіх одержаних речовин. Характеристичний сигнал СН-протону піразолового фрагменту виявляється у вигляді синглету при 7.78 м.ч. «Ароматична» зона спектру представлена як сигналами протонів 4-метоксифенільного замісника так і арильного або гетерильного замісника при карбонільній групі. Так, наприклад, сигнали 4-метоксифенільного замісника проявлялись у вигляді двох двохпротонних дублетів: протони в *орто*-положенні резонують при 8.03 м.ч., в *мета*-положенні - при 7.08 м.ч. В той самий час, в «ароматичній» зоні спектру зафіксовано сигнали відповідних замісників, безпосередньо поєднаних з карбонільною групою: фенільний та бензильний замісники представлені п'ятипротонними мультиплетами в інтервалах 7.53-7.42 м.ч. та 7.31-7.23 м.ч. відповідно. Натомість, 4-фторфенільний фрагмент обумовлює формування двох дублет дублетів при 7.85 м.ч. та при 7.34 м.ч. Наявність тіофен-2-ільного замісника підтверджується сигналами у вигляді двох дуплетів при 7.84 м.ч. і 7.62 м.ч. та триплету при 7.20 м.ч.

Сигнали протонів піперазинового фрагменту фіксуються у вигляді чотирьохпротонних синглетів при 3.77 м. ч. та при 3.61 м.ч. в спектрі сполуки **3.36**. Заміна алкільного замісника на арильний або гетерильний сприяє незначному зміщенню зазначених сигналів у більш слабопольну частину спектру. Наприклад, сигнали протонів зазначеного фрагменту сполуки **3.37** фіксуються при 3.87 м.ч. та при 3.92 м.ч.

Сигнали протонів метоксигрупи при фенільному заміснику фіксуються сильній частині магнітного поля при 3.75-3.73 м. ч. у вигляді синглету. Протони тіометильного фрагменту проявляються у вигляді синглету в інтервалі 2.76-2.74 м.ч. Протони метиленової групи бензильного замісника реєструвалися у вигляді триплету при 3.53 м.ч.

В слабопольній частині спектру сполуки **3.32** спостерігалось утворення при 8.08 м.ч. та 6.94 м.ч. дублетних сигналів протонів метоксифенільного замісника. Також зазначена частина спектру характеризується наявністю синглету, утвореного Гідрогеном піразолового фрагменту, який реєструється при 7.83 м.ч. Сигнали атомів Гідрогену метоксизамісника метоксифенільного фрагменту були записані у вигляді синглету при 3.76 м.ч. В свою чергу, *N,N*-диметиламінова група є відповідальною за формування шестипротонного синглету при 3.20 м.ч. Додатково фіксується синглетний сигнал при 2.75 м.ч., який пов'язаний з тіометильним фрагментом в структурі синтезованої речовини.

3.32. Вихід: 63 % $T_{пл.}$: 175-177 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.08 (д, 2H, H-2,6 $C_6H_4OCH_3$), 7.83 (с, 1H, CH-піразол), 6.94 (д, 2H, H-3,5 $C_6H_4OCH_3$), 3.76 (с, 3H, $C_6H_4OCH_3$), 3.20 (с, 6H, N-(CH_3)₂), 2.75 (с, 3H, S- CH_3). MS: $m/z = 356 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{16}H_{17}N_7OS$): розраховано (%) – C, 54.07; H, 4.82; N, 27.59; S, 9.02; знайдено (%) – C, 54.21; H, 4.81; N, 27.66; S, 7.30.

3.36. Вихід: 69 %. $T_{пл.}$: 198-200 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.03 (д, 2H, H-2,6 $C_6H_4OCH_3$), 7.78 (с, 1H, CH-піразол), 7.08 (д, 2H, H-3,5 $C_6H_4OCH_3$), 3.77 (с, 4H, H-2,6 піперазин), 3.73 (с, 3H, $C_6H_4OCH_3$), 3.61 (с, 4H, H-3,5 піперазин), 2.74 (с, 3H, S- CH_3), 2.07 (с, 3H, C(O) CH_3). MS: $m/z = 439 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{20}H_{22}N_8O_2S$): розраховано (%) – C, 54.78; H, 5.06; N, 25.55; S, 7.31; знайдено (%) – C, 54.91; H, 5.06; N, 25.48; S, 7.29.

3.37. Вихід: 84 %. $T_{пл.}$: 242-244 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.03 (д, 2H, H-2,6 $C_6H_4OCH_3$), 7.78 (с, 1H, CH-піразол), 7.53 – 7.42 (м, 5H, C_6H_5), 7.08 (д, 2H, H-3,5 $C_6H_4OCH_3$), 3.92 (с, 4H, H-3,5 піперазин), 3.87 (с, 4H, H-2,6 піперазин), 3.73 (с, 3H, $C_6H_4OCH_3$), 2.76 (с, 3H, S- CH_3). MS: $m/z = 501 [M+H]^+$. Елементний аналіз ($C_{25}H_{24}N_8O_2S$): розраховано (%) – C, 59.99; H, 4.83; N, 22.39; S, 6.40; знайдено (%) – C, 59.83; H, 4.84; N, 22.33; S, 6.41.

3.38. Вихід: 63 %. $T_{пл.}$: 265-267 °C. 1H ЯМР, δ (м.ч.): 8.03 (д, 2H, H-2,6 $C_6H_4OCH_3$), 7.78 (с, 1H, CH-піразол), 7.32 – 7.22 (м, 5H, $C_6H_5-CH_2$), 7.08 (д, 2H, H-3,5 $C_6H_4OCH_3$), 3.86 (с, 4H, H-3,5 піперазин), 3.74 (с, 3H, $C_6H_4OCH_3$), 3.79 (с, 4H, H-2,6 піперазин), 3.53 (т, 2H, $C_6H_5-CH_2$), 2.76 (с, 3H, S- CH_3). MS: $m/z = 515$

[M+H]⁺. Елементний аналіз (C₂₆H₂₆N₈O₂S): розраховано (%) – С, 60.68; Н, 5.09; N, 21.78; S, 6.23; знайдено (%) – С, 60.83; Н, 5.08; N, 21.72; S, 6.24.

3.39. Вихід: 72 %. T_{пл.}: 261-263 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 8.03 (д, 2Н, Н-2,6 C₆H₄OCH₃), 7.78 (с, 1Н, СН-піразол), 7.85 (дд, J = 8,6, 5.4 Hz, 2Н, Н-2,6 C₆H₄F), 7.31 (дд, J = 8,6, 5.2 Hz, 2Н, Н-3,5 C₆H₄F), 7.08 (д, 2Н, Н-3,5 C₆H₄OCH₃), 3.92 (с, 4Н, Н-3,5 піперазин), 3.88 (с, 4Н, Н-2,6 піперазин), 3.75 (с, 3Н, C₆H₄OCH₃), 2.74 (с, 3Н, S-CH₃). MS: m/z = 519 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₂₅H₂₃FN₈O₂S): розраховано (%) – С, 57.90; Н, 4.47; N, 21.61; S, 6.18; знайдено (%) – С, 57.75; Н, 4.46; N, 21.55; S, 6.16.

3.40. Вихід: 65 %. T_{пл.}: 211-213 °С. ¹Н ЯМР, δ (м.ч.): 8.03 (д, 2Н, Н-2,6 C₆H₄OCH₃), 7.78 (с, 1Н, СН-піразол), 7.84 (д, 1Н, Н-5 тіофен), 7.62 (д, 1Н, Н-3 тіофен), 7.20 (т, 1Н, Н-4 тіофен), 7.08 (д, 2Н, Н-3,5 C₆H₄OCH₃), 3.91 (с, 4Н, Н-3,5 піперазин), 3.83 (с, 4Н, Н-2,6 піперазин), 3.74 (с, 3Н, C₆H₄OCH₃), 2.74 (с, 3Н, S-CH₃). MS: m/z = 507 [M+H]⁺. Елементний аналіз (C₂₅H₂₃FN₈O₂S): розраховано (%) – С, 54.53; Н, 4.38; N, 22.12; S, 12.66; знайдено (%) – С, 54.67; Н, 4.39; N, 22.06; S, 12.62.

Опис експериментів

4-((2,6-Дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (2.16a)

До 0,01 моль вихідного 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу **2.16** додають 0,01 моль 2,6-дихлоробензальдегіду в 20 мл крижаної етанової кислоти. Нагрівають впродовж двох годин. Утворений осад відфільтровують, промивають водою і використовують без очищення на наступній стадії.

6-(2,6-Дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-карбонова кислота (3.13)

До 0,001 моль сполуки **2.16a**, попередньо розчиненої у 20 мл сухого тетрагідрофурану при кімнатній температурі, додають 0,002 ммоль гідриду натрію. Залишають для утворення солі при кімнатній температурі на 15 хвилин. Потім додають 0,0015 моль хлоретанової кислоти і утворений розчин

перемішують впродовж 10 годин. Розчинник видаляють під вакуумом. Залишок кристалізують з етанолу. Біла кристалічна речовина розчинна в спиртах при нагріванні, малорозчинна в 1,4-діоксані та воді, практично нерозчинна в діетиловому ефірі та хлороформі.

Загальна схема синтезу 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]-триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів (3.1-3.7)

До 0,01 моль вихідного 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.16**) додають 0,01 моль відповідної карбонової кислоти (бензойної, 2-метокси-, 3-метоксибензойної, 2-хлоробензойної, 2-бром-5-метоксибензойної, 2-бром-4-фторобензойної, 2-бром-5-нітробензойної) і 15 мл POCl₃. Одержану суміш нагрівають протягом 3 годин при температурі 80 °С. Після охолодження розчин виливають на кригу. Отриманий осад фільтрують і промивають водою.

Загальна методика синтезу 3-(5-метилпіразол-3-іл)-N-феніл[1,2,4]-триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазол-6-амінів (3.8-3.12)

До 0,01 моль вихідного 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.16**), попередньо розчиненого в 40 мл кислоти етанової, додають 0,01 моль відповідного алкіл-, арилізотіоціанату (метилізотіоціанату, етилізотіоціанату, фенілізотіоціанату, 4-метоксифенілізотіоціанату, 4-хлорофенілізотіоціанату). Одержану реакційну суміш нагрівають впродовж 2 годин. Залишок для аналізу кристалізують з етанолу. Продукти реакції білого кольору, розчинні в ДМФА та ДМСО, в спиртах при нагріванні, малорозчинні в 1,4-діоксані, практично нерозчинні в воді.

Загальна методика синтезу ефірів 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти (3.13-3.16)

До 0,001 моль сполуки **2.16a**, попередньо розчиненої у 20 мл сухого тетрагідрофурану при кімнатній температурі, додають 0,002 моль гідриду натрію. Залишають для утворення солі на 15 хвилин. Потім додають 0,0015 моль відповідного ефіру (метиловий, етиловий, *ізо*-пропіловий) хлоретанової кислоти і

розчин перемішують впродовж 10 годин. Розчинник видаляють під вакуумом. Залишок для аналізу кристалізують з етанолу.

Біла аморфна речовина розчинна в спиртах та етилацетаті при нагріванні, малорозчинна в хлороформі та 1,4-діоксані, практично нерозчинна в воді.

*Загальна методика синтезу (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(R)метанонів (3.17-3.19)*

До розчину сполуки **2.16a** (0,001 моль) у сухому тетрагідрофурані (20 мл) при кімнатній температурі додають 0,002 моль гідриду натрію. Залишають для утворення солі при кімнатній температурі на 15 хвилин. Потім додають 0,0015 моль відповідного заміщеного бромкетону (ацетофенону, 4-метоксиацетофенону, 4-фтороацетофенону). Розчин перемішують впродовж 8 годин. Розчинник видаляють під вакуумом. Залишок для аналізу кристалізують з етанолу. Біла аморфна речовина розчинна в спиртах та ацетоні при нагріванні, малорозчинна в хлороформі, практично нерозчинна в воді.

*Натрій (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ацетат (3.20)*

Суміш 0,01 моль відповідної кислоти (**3.13**) і 0,01 моль натрій гідроксиду в 30 мл води випаровують на водяному огрівнику. Сухий залишок кристалізують з етанолу. Біла кристалічна речовина легкорозчинна у воді, розчинна у метанолі, етанолі, пропан-2-олі при нагріванні, малорозчинна в хлороформі, практично нерозчинна в 1,4-діоксані.

*Калій (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ацетат (3.21)*

Суміш 0,01 моль відповідної кислоти (**3.13**) і 0,01 моль калій гідроксиду в 30 мл води випаровують на водяному огрівнику. Сухий залишок кристалізують з етанолу. Біла кристалічна речовина легкорозчинна у воді, розчинна у метанолі, етанолі, пропан-2-олі при нагріванні, малорозчинна в хлороформі, практично нерозчинна в 1,4-діоксані.

*Амоній (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ацетат (3.22)*

Розчин 0,01 моль кислоти (**3.13**) в 30 мл 25% розчину амоніаку випаровують. Для аналізу одержана сіль перекристалізована з етанолу. Біла кристалічна речовина, легкокорозчинна у воді, розчинна у метанолі, етанолі, пропан-2-олі при нагріванні, малорозчинна в хлороформі, практично нерозчинна в 1,4-діоксані.

*Загальний метод синтезу органічних солей 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанової кислоти (3.23-3.29)*

Суміш 0,01 моль вихідної карбонової кислоти (**3.13**), 15-20 мл води та 0,012 моль відповідної органічної основи (метиламін, етиламін, етаноламін, діетиламін, діетаноламін, піперидин, морфолін) кип'яють впродовж 1 години на водяному огрівнику. Осад, який утворюється відфільтровують, розчинник випаровують. До залишку додають 15-20 мл ацетону, перемішують. Для аналізу одержані солі кристалізують з суміші пропан-1-ол – вода (2:1). Солі **3.23-3.29** являють собою білі кристалічні речовини легкокорозчинні у воді, розчинні у метанолі, етанолі, пропан-2-олі при нагріванні, малорозчинні в хлороформі, практично нерозчинні в 1,4-діоксані та ацетоні.

*9-(4-Метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*]-[1,2,4]триазин-6-он (3.31).* До суспензії 0,005 моль 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу в 20 мл 1,4-діоксану додавали 0,0075 моль карбонілдіімідазолу. Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом двох годин. Одержаний розчин нагрівали до 100 °С протягом 8 годин. Далі розчин охолоджували, випарювали на роторному випарювачі, кристалічну суміш затирали в воді, осад фільтрували та промивали водою, сушили на повітрі.

*9-(4-Метоксифеніл)-*N,N*-диметил-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-амін (3.32).* До 0,005 моль 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*]-[1,2,4]триазин-6-ону в 20 мл диметилформаміду додавали 0,0075 моль тіонілхлориду, суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 2 годин. Одержаний розчин нагрівали до 100 °С впродовж 8 годин. Далі розчин охолоджували, випарювали на роторному

випарювачі, кристалічну суміш затирали в воді, осад фільтрували та промивали водою, сушили на повітрі.

*9-(4-Метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*]-[1,2,4]триазин-6-іл трифторометансульфонат (3.33)*. До суспензії 0,005 моль 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]-триазин-6-ону в 100 мл дихлорометану додавали 0,0075 моль триетиламіну. Одержаний розчин охолоджували сумішшю крига - вода до +5 °С та по краплях додавали 0,006 моль трифторометансульфонового ангідриду. Утворену суспензію перемішували впродовж 12 годин. Отриманий розчин промивали розчином натрій хлориду 2 рази, органічний розчинник сушили натрій сульфатом та випаровували на роторному випарювачі.

*Трет-бутил 4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-карбоксилат (3.34)*. До розчину 0,005 моль 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл трифторометансульфонату в 20 мл ДМФА додавали 0,015 моль триетиламіну та 0,006 моль *N*-Вос-піперазину. Приготовлену суміш нагрівали до 100 °С впродовж 10 годин. Одержаний розчин виливали в 100 мл води та екстрагували 3 рази по 50 мл етилацетатом. Органічний шар промивали розчином натрій хлориду, сушили сульфатом натрію та випарювали.

*9-(4-Метоксифеніл)-3-(метилтіо)-6-(піперазин-1-іл)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлорид (3.35)*. Розчин 0,006 моль *трет*-бутил 4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]-триазин-6-іл)піперазин-1-карбоксилату розчиняли в 10 мл 1,4-діоксану та додавали 5мл 5М розчину соляної кислоти в 1,4-діоксані. Розчин перемішували 12 годин. Отриману суспензію фільтрували та промивали етилацетатом.

*4-(9-(4-Метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*]-[1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-іл)(алкіл-, арил-, гетерил)метанони (3.36-3.40)*. До суспензії 0,0007 моль 9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)-6-(піперазин-1-іл)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин гідрохлориду в 50 мл дихлорометану додавали 0,007 моль триетиламіну. Утворений розчин охолоджували

сумішшю крига - вода до +5 °С, до якого додавали хлороангідриди кислот. Утворену дисперсну систему перемішували впродовж 12 годин. Одержаний розчин промивали водою та розчином натрій хлориду, сушили натрій сульфатом та випаровували.

Висновки

1. Основи Шиффа, одержані за участю 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу, є зручними інтермедіатами для синтезу [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолових та [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинових систем, які володіють значним потенціалом біоактивності.

2. Встановлено, проведення реакції конденсації з використанням 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу та хлоретанової кислоти є ефективним хімічним перетворенням для одержання 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти, яка є зручною структурою для подальших трансформацій.

3. Взаємодія вихідного 4-аміно-5-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу з ароматичними карбоновими кислотами в середовищі фосфор оксихлориду виявилась успішним способом одержання ряду 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-*R*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів.

4. Використання попередньо одержаних естерів хлоретанової кислоти дозволило в реакції з 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолом з кількісними виходами одержати відповідні естери.

5. Продемонстрована можливість синтезу (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(*R*)метанонів в процесі залучення бромоацетофенонів до реакції з 6-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолом.

6. Взаємодією вихідної 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-карбонової кислоти з неорганічними та органічними основами одержано ряд солей, що дозволяє збільшити кількість водорозчинних сполук.

7. Запропоновано методику постадійного перетворення 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу, реалізація якої дозволяє одержати 4-(9-(4-метоксифеніл)-3-(метилтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазин-6-іл)піперазин-1-іл)(алкіл-, арил-, гетерил)метанони.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях: 105, 106, 110.

РОЗДІЛ 4

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ПІРАЗОЛОВМІСНИХ ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОЛУ

Більшість сучасних розробників лікарських засобів з метою створення нових біологічно активних субстанцій активно використовує у своїй науковій роботі мішень-орієнтований віртуальний підхід. Важливою складовою даного підходу є цілеспрямоване конструювання цільових молекул з оптимальним фармакологічними параметрами та їх здатністю відповідати за функцією та формою біомішеням. Одним з відомих напрямків, який дозволяє реалізувати зазначену стратегію, є раціональний дизайн ліків [114-117]. Основна ідея даної методології полягає в створенні лікарських засобів, що специфічно налаштовані та взаємодіють з конкретними біомішенями. Це вимагає аналізу структури молекул, які вже відомі як ефективні ліки, та розробки нових сполук з оптимальними властивостями, що дозволяють їм ефективно взаємодіяти з біологічними системами. Зазначений підхід також володіє певними рисами універсальності, що дозволяє його використовувати на різних етапах створення нових сполук. Одним з основних інструментів, які дозволяють активно впроваджувати на практиці зазначений підхід є *in silico* дослідження.

4.1 Предиктивна оцінка фармакокінетичних параметрів методом ADME-аналізу

Ефективність і безпека є основними показниками якості лікарського засобу і залежить від структури, фармацевтичних та біологічних факторів, які тісно пов'язані між собою і визначають швидкість і цілісність вивільнення та абсорбції активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) з фармацевтичних систем. Тому одним із важливих критеріїв при розробці ліків є оцінка всмоктування, розподілу, метаболізму та виведення (ADME). Зазначені критерії суттєво впливають на

фармакокінетику лікарського препарату, а отже, на фармакологічну активність та ефективність.

У табл. А 1 (додаток А) наведено результати прогнозу віртуального ADME-аналізу синтезованих сполук. На основі аналізу фізико-хімічних характеристик були одержані наступні результати: майже всі сполуки (за виключенням **3.18**, **3.19**, **3.37-3.40**) мають необхідне значення молекулярної маси, яке реалізуються в інтервалі від 150 до 500 г/моль та топологічної площини полярної поверхні (за виключенням **2.18**, **3.7**, **3.40**), які повинні бути в межах від 20 до 130 Å² (табл. А 1). У сукупності з кількісними показниками донорів та акцепторів хімічного зв'язку водневої природи зазначені характеристики демонструють здатність речовини набути конформаційну стійкість в активному сайті відповідного ензиму [118]. В свою чергу, ADME-аналіз дозволив оцінити кількість донорів (не більше п'яти) та акцепторів (не більше десяти) даного типу зв'язку відповідно до правил Ліпінського: всі досліджувані сполуки відповідають цим важливим параметрам. Натомість значна кількість синтезованих речовин не набувають необхідного значення молекулярної рефракції з оптимальним діапазоном від 40 до 130 (табл. А 1). Серед них **3.18**, **3.19**, **3.37-3.40**. Останній дескриптор має досить важливе значення, оскільки він безпосередньо пов'язаний з реалізацією пасивного транспорту йонів та молекул через біологічну мембрану. Зокрема, це найпростіший варіант подолання гемато-енцефалічного бар'єру.

Серед ключових характеристик, які мають суттєве значення для процесу дифузії молекул через біологічні мембрани, слід відзначити ліпофільність. Даний показник був визначений за допомогою ADME-аналізу як консенсусне значення ліпофільності $\log P_{o/w}$ (табл. А 1). Даний показник враховує значення, які одержуються різними методами, а саме: XLOGP3, WLOGP, MLOGP, SILICOS-IT, що, в свою чергу, дозволяє предиктивно оцінити данну властивість достатньо точно (табл. 4.1). За даним критерієм, майже всі сполуки з віртуальної бібліотеки набувають значення до 5 (за виключенням **2.38**, **2.58**), що відповідно до правила Ліпінського є оптимальним для біодоступності (табл. А 1). Додатково, відповідно до правила Черчера, речовини, для яких передбачається пероральне застосування,

повинні мати значення ліпофільності в інтервалі від -1 до 3 [119]. Зазначеному критерію відповідають сполуки **2.16-2.25, 2.29-2.35, 2.39-2.44, 2.49-2.52, 3.8-3.14, 3.31-3.37, 3.40**.

Розчинність у воді є важливим параметром, який обов'язково враховується в процесі створення лікарського засобу, оскільки зазначена властивість безпосередньо впливає на доступність діючої речовини для організму, ефективність лікарського препарату та, одночасно, може вплинути на її токсичність [120]. Оцінка даної властивості відбувається за допомогою логарифма розчинності ($\log S$), який віддзеркалює водорозчинні властивості речовини у вигляді прямопропорційної залежності від розрахованого значення. On-line платформа SwissADME виконує розрахунок з долученням різних методів: ESOL, Ali, SILICOS-IT. Кожен з цих методів має певні особливості [121, 122]. Наприклад, метод Ali враховує площу топологічної полярної поверхні та коефіцієнт розподілу $\log P_{v/o}$ та є досить поширеним у сучасних дослідженнях [123]. За ступенем розчинності досліджувані речовини були оцінені наступним чином: малорозчинні – **2.27, 2.28, 2.34-2.38, 2.47, 2.48, 2.54-2.58, 3.4-3.7, 3.15-3.19**, помірнорозчинні – **2.23-2.26, 2.30-2.33, 2.44-2.46, 2.50-2.53, 3.1-3.3, 3.10-3.14, 3.37-3.40**, розчинні – **2.16-2.22, 2.40-2.43, 2.49, 3.8, 3.9** [124]. Відповідно до одержаних даних більшість сполук мають сприятливий профіль розчинності та з певною вірогідністю можуть бути використаними парентерально.

Наступним пунктом, на якому була зосереджена увага, стало визначення вірогідного рівня шлунково-кишкової адсорбції. Варто зазначити, що майже всі протестовані структури (за виключенням **2.37, 2.38, 2.58, 3.7, 3.19, 3.40**) демонструють високий ступінь вірогідності зазначеного процесу. Водночас, зовсім протилежний результат був одержаний в результаті оцінки спроможності подолання гемато-енцефалічного бар'єру: всі дослідженні молекули демонструють негативний прогноз щодо проникнення крізь даний бар'єр.

Одержанні дані аналізу ADME також дозволили оцінити відповідність вимогам, які необхідні для подолання фільтрів Ліпінського, Гозе, Вебера, Егана та Мюгге. Майже всі дослідженні речовини демонструють критерії відповідності

правилам Ліпінського (за виключенням сполук **3.19, 3.39**), Гозе (за виключенням сполук **2.38, 3.7, 3.18, 3.19, 3.18, 3.19, 3.37-3.40**), Вебера (за виключенням сполук **2.28, 2.37, 2.38, 2.57, 2.58, 3.7, 3.40**), Егана (за виключенням сполук **2.18, 3.7, 3.13, 3.40**) і Мюгге (за виключенням сполук **2.16, 2.36-2.38, 2.48, 2.56-2.58, 3.7, 3.17-3.19**) (табл. А 1).

4.2 *In silico* дослідження синтезованих сполук методом молекулярного докінгу

Молекулярний докінг є найбільш практично значимим методом рецепторно-орієнтованого напрямку створення лікарських засобів [125-127]. Зазначений метод було реалізовано з використанням програмного забезпечення AutoDock та BIOVA Discovery Studio [128]. Даний метод дозволяє передбачити природу механізму взаємодії з активним центром білка-мішені та орієнтує у кількісних показниках енергії зв'язку з хімічно-привілейованими фрагментами структур у комплексі ліганд-ензим. Як джерело інформації щодо тривимірної структури біологічної мішені було використано Protein Data Bank (PDB). Для докінгу були обрані: фрагмент циклооксигенази-2 у комплексі з целекоксибом (3LN1), ланостерол 14 α -диметилази у комплексі з флуконазолом (4ZE3) та рецепторної тирозинкінази у комплексі з кризотинібом (2XP2).

Вибір біологічних мішеней був обумовлений структурною подібністю до відомих лікарських засобів. Наприклад, до структури всіх синтезованих сполук входить піразоловий фрагмент, так само, як і до структури високоселективного інгібітора ЦОГ-2 целекоксибу та до структури інгібітора кінази анапластичної лімфоми кризотиніба. Відповідно, до складу високоактивних протигрибкових засобів з групи азолів (флуконазол, вориконазол, ітраконазол та інші) входить 1,2,4-триазоловий цикл, який є і в структурі досліджуваних сполук. В той самий час, зазначені лікарські засоби володіють широким спектром побічних дій. Тому створення нових лікарських засобів з такими видами активності є актуальним.

Методологія докінгових досліджень полягала у проведенні наступних етапів:

1) підготовка ліганду: конструювання структурних формул сполук з використанням програми MarvinSketch 6.3.0 (збереження у mol-форматі); створення 3D-структури формул сполук – молекулярне моделювання з використанням програми Hyper Chem 8 на основі методу молекулярної механіки ММ+ та напівемпіричного квантово-механічного методу РМЗ із максимальною кількістю циклів і Polak-Ribiere алгоритму (збереження у pdb-форматі); застосування AutoDockTools-1.5.6 з метою перетворення pdb-файлів у PDBQT;

2) підготовка ферментів: видалення молекул води та ліганду з кристалу за допомогою пакету програм Discovery Studio 4.0 (збереження в pdb-форматі); додавання полярних атомів Гідрогену та конвертування ферменту з pdb-файлу у PDBQT за допомогою AutoDockTools-1.5.6;

3) молекулярний докінг: здійснення докінгу за допомогою програми «Vina»; візуалізація даних проведена із використанням програми Discovery Studio 4.0.

Оцінка результатів виконувалась комплексно, з урахуванням якісних (тип хімічного зв'язку та природа амінокислотних залишків) та кількісних параметрів (оцінка аффіності) [129-134].

Молекулярний докінг до активного центру циклооксигенази-2

З метою дослідження ймовірності виявлення молекул з молекулами з протизапальною активністю досліджували параметри взаємодії з активним центром циклооксигенази-2 (ЦОГ-2). Роль референс-ліганду виконував целекоксиб, для якого була розрахована енергія зв'язування з активним центром модельного ензиму (-13,4 ккал/моль). З метою визначення перспективності подальших поглиблених досліджень протизапальної активності було одержано значення енергії зв'язування для досліджуваних сполук (табл. А 2) та ідентифіковано природу амінокислотних залишків, залучених до формування хімічних зв'язків з лігандом.

Основним структурним фрагментом, з яким пов'язують активність целекоксибу є полярна сульфамідна група, яка взаємодіє з гідрофільною бічною «порожниною» ЦОГ-2 за участю ARG A: 514, HIS A: 90, GLN A: 193, SER A: 354 та PHE A: 519. Необхідно також звернути увагу на значну кількість гідрофобних взаємодій та водневих зв'язків. Наприклад, π -взаємодії фіксуються між 4-метилфенільним фрагментом та амінокислотними залишками ALA A: 528 та LEU A: 353 (π -алкільна взаємодія), а також за участю GLY A: 527 (π -амід взаємодія). Зазначений тип взаємодії також відбувається за участю фенольного фрагменту, який пов'язаний з сульфамідною групою з залишками VAL A: 524 та SER A: 354 (π - σ взаємодія). Спряжена р- π система піразолу задіяна у взаємодії з залишками ALA A: 528 та VAL A: 350. Серед амінокислотних залишків, які активно приймають участь в утворенні міжмолекулярних водневих хімічних зв'язків необхідно відмітити ARG A: 514, HIS A: 90, GLN A: 193, SER A: 354 (з Нітрогеном сульфамідної групи) та HIS A: 90, PHE A: 519 (з Оксигеном сульфамідної групи). Алкільна взаємодія формується за участю метильної групи 4-фенілметильного замісника та амінокислотних залишків LEU A: 385, TRP A: 388, TYR A: 386. Аналогічний тип взаємодії відбувається за участю трифлуорофенільного замісника та залишків VAL A: 117, LEU A: 532, LEU A: 360. Частина целекоксибу, яка включає фенільні та піразоловий фрагменти, може активновно взаємодіяти з гідрофобною частиною ЦОГ-1 та не утворює міцних зв'язків з частиною, яка відповідає за активність цього ферменту. Зазначений факт поясніє значну селективність целекоксибу до ЦОГ-2.

Візуалізація взаємодії синтезованого тіолу (**2.17**) з активним центром ЦОГ-2 дозволила встановити її різноплановий характер. Так, серед взаємодій можна відзначити наступні: міжмолекулярні водневі хімічні зв'язки, які реалізуються за допомогою Гідрогену аміногрупи та амінокислотного залишку метіоніну (MET A: 523), π -S – формується за участю тіольної групи та амінокислотного фрагменту триптофану (TRP A: 388), π - σ – утворюється за допомогою π -хімічного зв'язку 3-флуорофенільного замісника та фрагментів аланіну (ALA A: 528) і лейцину (LEU A: 360). Серед інших взаємодій можна відзначити амід- π стекінг – приймає

участь триазоловий фрагмент та залишок гліцину (GLY A: 527), π -алкіл – тут залучаються фрагменти валіну (VAL A: 117, VAL A: 524, VAL A: 532). Перехід до *S*-метилпохідного (**2.29**) змінює певним чином картину взаємодій з активним центром ЦОГ-2. Спостерігається зникнення π -*S* та міжмолекулярного водневого хімічного зв'язків, тобто нівелюється участь ковалентно зв'язаного Сульфура та аміногрупи, що може бути пов'язано із зміною просторової конфігурації молекули в зоні активного центру. Натомість з'являються нові форми взаємодій у вигляді π -донорного водневого зв'язку за участю піразолового та триазолового фрагментів та залишку тирозину (TYR A: 356) та у вигляді алкільних взаємодій з метильною групою залишків валіну (VAL A: 89) та тирозину (TYR A: 116).

Підсилюється координація зазначеного ліганду в активному центрі вже розглянутими π -алкіл взаємодіями, які утворені при взаємодії з амінокислотами VAL A: 350, VAL A: 524 та LEU A: 353.

Подовження алкільного замісника очікувано супроводжується збільшенням алкільних взаємодій. Наприклад, етильний замісник сполуки **2.30** зв'язується з активним центром ферменту вже за допомогою 4 амінокислотних залишків: VAL A: 89, VAL A: 117, LEU A: 93, TYR A: 116. Також необхідно відзначити активну допомогу атома Флуору вірогідній взаємодії: даний атом активно підтримує формування міжмолекулярного водневого хімічного зв'язку з залишком TYR A: 386 (**2.30**). І це не всі можливі міжмолекулярні водневі зв'язки: до координації даної сполуки (**2.30**) долучається також і залишок TYR A: 356, який зв'язується з триазоловим фрагментом (π -донорний водневий зв'язок). π -*S* взаємодія, яка зникла у випадку етильного замісника (**2.30**) та не формувалась пентильним замісником (**2.33**), має тенденцію до сталого формування за участю всіх інших алкільних замісників (**2.31, 2.31, 2.33-2.38**).

Дослідження природи взаємодій 9-метил-3-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (**2.39-2.48**) дозволило виявити певну схожість з целекоксибом. Також був показаний вплив *S*-алкільного залишку на формування додаткових взаємодій з активним центром ЦОГ-2 (табл. А 2). Так, в сполуці **2.39** так само спостерігаються π - σ взаємодія за участю залишків ALA A: 528 та VAL A:

350, в яку залучений триазоловий та скондесований з ним триазиновий фрагменти. У π -алкіл взаємодію залучені залишки LEU A: 532, VAL A: 524. Гідрофобні взаємодії формуються в результаті контакту метильного замісника піразолового фрагменту з LEU A: 353, PHE A: 519 та TRP A: 388. Необхідно також відмітити формування міжмолекулярного водневого зв'язку за участю атома Нітрогену 1,2,4-триазолу та TYR A: 356. Підсилюють комплекс взаємодій з ЦОГ-2 π -Сульфур контактування з залишком TYR A: 356 та слабкі ван дер Ваальсові сили за участю GLY A: 527, SER A: 531 та TYR A: 386.

Подовження алкільного ланцюга призводило до незначного збільшення контактів з амінокислотними залишками.

Природа взаємодій має комплексний характер, але у більшості переважає гідрофобний її характер (алкіл, π - σ та π -алкіл взаємодії). Так, за участю *S*-етильного замісника (**2.40**) відбувається формування алкільної взаємодії з залишком VAL A: 117.

Перехід до *S*-пропільного замісника сполуки **2.41** супроводжується формуванням додаткових алкільних взаємодій за участю залишків ALA A: 528, LEU A: 93 та VAL A: 89.

Аналіз докінгу *S*-бутильного замісника сполуки **2.42** демонструє зменшення кількості амінокислотних залишків, які утворюють з ним алкільні зв'язки. Але в той самий час метильний замісник піразольного кільця збільшує кількість взаємодій з амінокислотними залишками (LEU A: 353, PHE A: 519, TRP A: 388, TYR A: 386).

Збільшення *S*-алкільного фрагменту до 5 атомів Карбону (**2.43**), знову супроводжується збільшенням кількості алкільних взаємодій з амінокислотними залишками, що дозволяє припустити більш активну взаємодію молекули з активним сайтом ферменту.

Одночасно, збільшення довжини *S*-алкільного фрагменту супроводжується втратою міжмолекулярних водневих хімічних зав'язків, що пояснюється збільшенням довжини гідрофобного фрагменту та призводить до значної зміни орієнтації триазолового фрагменту у зв'язувальному сайті.

Саме атоми Нітрогену триазолового циклу приймали участь у формуванні зазначеного типу хімічного зв'язку. Необхідно зазначити, що S-алкілпохідні з кількістю атомів Карбону від 1 до 4 додатково стабілізуються в зв'язувальному сайті ЦОГ-2 π -Сульфур взаємодією ліганду з амінокислотним залишком TYR A: 356 (2.39-2.42).

Результати докінгу 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]-триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (2.49-2.58) свідчать про незначну вірогідність виявлення в даному ряду сполук речовин з протизапальною активністю (табл. А 2).

Візуалізація взаємодії 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (3.1-3.7) з активним центром циклооксигенази-2 показала, що вони мають значний спектр взаємодій зі значною кількістю амінокислотних залишків.

Наприклад, гідрофобна алкільна взаємодія сполуки 3.1 реалізується за участю тіометильного фрагмента ліганду та амінокислотного залишку TYR A: 386 і тіоетилового фрагмента вказаного ліганду та амінокислотних залишків ALA A: 517 і HIS A: 90. Серед гідрофобних взаємодій також можна відзначити π -алкільну. Ця взаємодія забезпечується триазиновим фрагментом із залишками ALA A: 528 та LEU A: 350. Амінокислотний залишок ALA A: 528 також забезпечує π -алкільну взаємодію з триазольним фрагментом. Координація на активному сайті ЦОГ-2 сполуки 3.1 також визначається π -взаємодією, яка реалізується за участю залишку VAL A:524 та триазинового фрагмента. Вуглець-водневий стекінг за участю залишку SER A: 354 посилює представлену взаємодію.

Подовження алкільного фрагмента супроводжується утворенням додаткових взаємодій, а саме, з'являються міжмолекулярні водневі зв'язки та сили Ван-дер-Ваальса.

Перший тип взаємодії відбувається за участю залишку TYR A: 356. Тут водневий зв'язок ліганду утворюється за участю електронегативних атомів Нітрогену триазинового фрагменту та Сульфурі тіопропілового замісника.

Другий тип взаємодії утворюється за участю залишку SER A: 354. Він сприяє орієнтації сполуки **3.3** в активному центрі і посилюється амідно-π укладанням за участю залишку LEU A:353. Це алкільні, π-алкільні та π-сульфурні взаємодії. Перший тип взаємодії реалізується за участю залишків ALA A: 528, LEU A: 532, VAL A: 117 (з тіопропіловим фрагментом). Другий - за участю залишків ALA A: 517, ARG A: 514, HIS A: 90 (з тіоетильним замісником). Третій реалізується за участю залишку PHE A: 519 в контакті з тіоетильним замісником при атомі Сульфура.

Кількісні показники мінімальної вільної енергії зв'язування з ЦОГ-2 представників інших груп синтезованих речовин знаходяться в межах -4,8...-7,5 ккал/моль (за виключенням **3.13**, **3.17**, **3.18** та **3.39**), що свідчить про низьку ймовірність виявлення речовин з протизапальною активністю серед синтезованих сполук (табл. А 2).

Молекулярний докінг до активного центру ланостерол 14α-деметилази

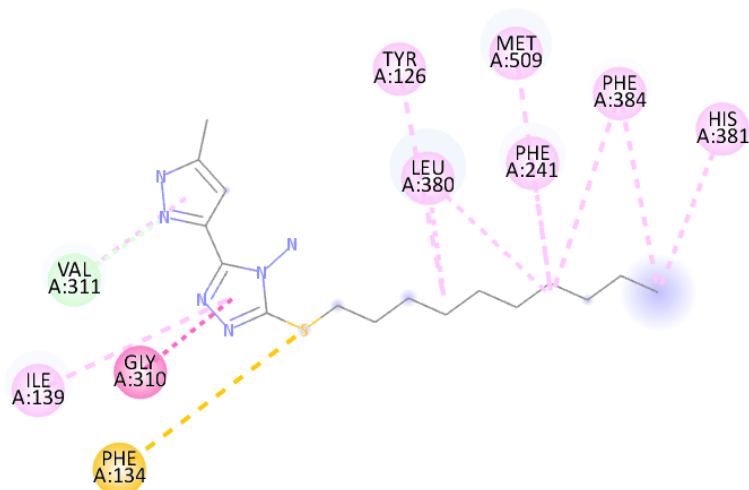
Попередня оцінка протигрибкового потенціалу серед досліджуваних сполук включала як визначення скорингової функції (табл. А 2) так і природи залучених до взаємодії амінокислотних залишків.

Візуалізація докінгу стандартного ліганду в активному центрі ланостерол 14α-деметилази, демонструє утворення зв'язків за участю 2,4-дифлуорофенільного замісника з ARG A: 96 (водневий зв'язок), LEU A: 321, MET A: 79 (π-алкіль взаємодія), TYR A: 76 (π-π Т-подібна взаємодія) та за участю триазольних фрагментів з ALA A: 256, LEU A: 100, LEU A: 321(π-алкіль взаємодія), PHE A: 83 (π-π Т-подібна взаємодія).

Взаємодія синтезованих речовин з активним сайтом ланостерол 14α-деметилази відбувається за участю амінокислотних залишків різної природи.

Візуалізація взаємодії структур з високим значенням скорингової функції (**2.26-2.28**) в ряду S-алкільпохідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.19-2.28**) з активним центром ланостерол-14α-деметилази показала, що вони мають хімічні зв'язки з такими амінокислотними залишками: GLY A: 310,

HIS A: 381, ILE A: 139, LEU A: 380, MET A: 509, PHE A: 134, PHE A: 241, PHE A: 384, TYR A: 126, VAL A: 311 (рис. 4.1).



Типи взаємодій

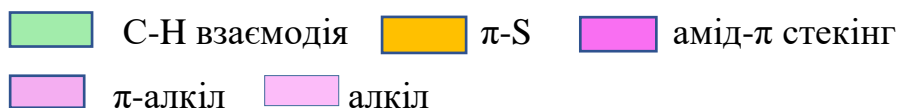


Рисунок 4.1 Візуалізація спорідненості ланостерол 14 α -деметилази зі сполукою **2.28**

Безпосередньо тіол (**2.16**) використовує арильний та піразольний фрагменти для реалізації π -алкільної взаємодії із залишками ALA A: 400, CYS A: 394 та PRO A: 320. π -Донорний водневий зв'язок посилює координацію в сайті зв'язування цих фрагментів з ферментом, який утворюється за безпосередньої участі треоніну (THR A: 260). Крім того, контролюється активна участь атома Флуору, який утворює міжмолекулярний водневий зв'язок із залишком THR A: 264. Триазольний фрагмент не залишається осторонь від контактів з активним центром. Так, цей гетероцикл бере участь у взаємодії із залишками ALA A: 256 (π - σ -взаємодія) та LEU A: 100 (π -алкільна взаємодія). Цьому фрагменту допомагає тіольна група. З її допомогою утворюється міжмолекулярний водневий хімічний зв'язок із залишком LEU A: 100.

Подальше дослідження дозволило встановити, що 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.17**) використовує арильний та

піразольний фрагменти для реалізації π -алкільної взаємодії з залишками ALA A: 400, CYS A: 394 та PRO A: 320. Підсилює координацію в сайті зв'язування ферменту зазначених фрагментів π -донорний водневий зв'язок, який формується за безпосередньої участі треоніну (THR A: 260). Крім того, прослідковується активна участь атома Флуору, який з залишком THR A: 264 утворює міжмолекулярний водневий зв'язок. Не стоїть осторонь контактів з активним центром і триазоловий фрагмент. Так, цей гетероцикл залучений у взаємодію з залишками ALA A: 256 (π - σ взаємодія) та LEU A: 100 (π -алкіл взаємодія). Зазначеному фрагменту допомагає тіольна група. За її допомогою формується міжмолекулярний водневий хімічний зв'язок з залишком LEU A: 100.

Поява за атомом Сульфуру алкільного замісника (**2.29-2.38**) дозволила визначити характерні зміни у взаємодії з активним центром ланостерол 14 α -деметилази. Наприклад, молекули з метильним (**2.29**), етильним (**2.30**) та пропільним (**2.31**) замісниками в процесі координації в активному центрі утворюють порівняно значну кількість міжмолекулярних водневих хімічних зв'язків. Зазначена взаємодія формується за рахунок атомів Нітрогену триазолового циклу (з CYS A: 394 та THR A: 260), за участю атома Гідрогену сполученого з атомом Нітрогену пірольного типу піразольного кільця (з PRO A: 386) та при контакті з атомом Флуору 3-флуорофенільного замісника (з ARG A: 326).

Серед інших взаємодій, які створюють можливість формування стійких комплексів з активним центром ферменту, необхідно відмітити: π -алкіл взаємодію за участю фенільного фрагменту та залишку LEU A: 324, піразольного кільця та залишку CYS A: 394, скелету 1,2,4-триазолу та залишку PRO A: 320. Збільшують вірогідність зв'язування з активним сайтом білка π -донор водневі зв'язки, що формуються за участю триазолового фрагменту та залишку THR A: 260. Крім того, всі синтезовані сполуки (**2.29-2.38**) спроможні утворити алкільні взаємодії з фрагментом S-(CH₂)_nCH₃ за участю ALA A: 400, ILE A: 404, LEU A: 324, TYR A: 76, MET A: 79, PHE A: 83. Також можна відзначити π -S взаємодію між

фрагментом піразолу та залишком CYS A: 394 (**2.38**) або між атомом Сульфура синтезованого ліганда та PHE A: 83 (**2.35**).

Значення мінімальної вільної енергії зв'язування 9-метил-3-(алкілтіо)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (**2.39-2.48**) з ланостерол 14 α -деметилазою (табл. А 2) знаходиться в межах -6,1 ... -9,5 ккал/моль, що обгрунтовує доцільність досліджень у майбутньому деяких сполук (**2.47, 2.48**) як потенційних інгібіторів зазначеного ферменту.

Взаємодія синтезованих сполук з активним сайтом ланостерол 14 α -деметилази відбувається завдяки набору певних типів взаємодій. Наприклад, алкільні замісники синтезованих сполук (**2.39-2.48**) приймають участь у формуванні гідрофобних взаємодій за участю ряду амінокислотних залишків (ALA A: 76, ALA A: 88, ILE A: 64, PHE A: 84, TYR A: 92). π -Аніонні взаємодії утворюються між фрагментами триазолу та триазину при участі GLU A: 83. Додатковій стабілізації комплексів сприяють міжмолекулярні водневі хімічні зв'язки, які формуються за участі Нітрогену триазолового фрагменту та залишку SER A: 80 або триазинового Нітрогену та ASN B: 87. Взаємодія типу π - σ реалізується за участю триазинового фрагменту та залишку ALA B: 76.

Одну з ключових ролей у формуванні взаємодій синтезованих сполук з ланостерол 14 α -деметилазою відіграють стекінг-взаємодії амінокислотного залишку PHE B: 84 з триазиновим фрагментом. Збільшення кількості взаємодій з амінокислотними залишками спостерігається при збільшенні довжини *S*-алкільного фрагменту. Найбільша кількість взаємодій фіксується для сполуки **2.45**, що дозволяє передбачити для неї можливість виникнення протигрибкової активності. Вірогідно сполука даної будови має можливість зайняти найбільш вигідне положення в активному сайті ланостерол 14 α -деметилази. Але незважаючи на цей факт, найкращий показник енергії зв'язування комплексу «ліганд-рецептор» у сполук **2.47** та **2.48** (табл. А 2).

Серед решти синтезованих сполук на особливу увагу заслуговують представники ряду 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-*R*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазолів (**3.1-3.7**). Положення даних сполук в активному центрі

ланостерол 14 α -деметиلاзи забезпечується низкою відомих взаємодій, серед яких можна відзначити: алкільні, π -алкільні, π - σ та π - π зв'язки, а також міжмолекулярні водневі хімічні зв'язки. Наприклад, алкільна взаємодія сполуки **3.1** реалізується за участю амінокислотних залишків ALA A: 256, LEU A: 100, LEU A: 152, які координуються з метильною групою піразольного фрагмента, VAL A: 395 - з метильною групою тіометильного замісника, ALA A: 400, PRO A: 320 - з метильною групою тіоетильного замісника. В той самий час, π -алкільну взаємодію сполуки **3.1** реалізують аланінові залишки ALA A: 256 та ALA A: 400 в координації з фрагментами триазолу та триазину, відповідно. Крім того, π - σ взаємодія, яка відбувається за участю залишку GLY A:396 та триазинового фрагмента, також може позитивно впливати на можливу активність цієї сполуки. Докінг також продемонстрував утворення π -сульфурної взаємодії, яка для сполуки **3.1** реалізується за активної участі PHE A: 386 і тіоетилового замісника та за участі CYS A:394 і триазинового фрагмента. Збільшення довжини алкільного залишку спочатку супроводжується збільшенням кількості міжмолекулярних водневих хімічних зв'язків (**3.2**), а потім їх зникненням. Але іноді цей тип зв'язку утворюється знову, наприклад, у сполуках **3.5** і **3.10** (за участю CYS A: 394 і триазинового фрагмента).

Враховуючи розраховані значення вільної енергії зв'язку для комплексів, утворених 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-R-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазолами і 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазол-6-амінами та рецепторами ланостерол 14 α -деметилази, можна припустити, що саме з міжмолекулярним водневим зв'язком може бути пов'язана здатність даних сполук мати підвищену тропність до активного центру модельного ферменту (табл. А 2). Серед сполук даних груп також окремо можна відзначити структури **3.4** та **3.9**, які виділяються значним різноманіттям природи хімічних зв'язків та є перспективними для подальших досліджень протигрибкової активності (табл. А 2).

Таким чином, серед досліджених сполук спостерігається не тільки певна подібність структури синтезованих лігандів до флуконазолу, але й певна

подібність у природі амінокислотних залишків, які беруть участь у розташуванні цих лігандів в активному центрі ферменту. Розрахунок показників енергії взаємодій одержаних лігандів з активним сайтом ланостерол 14 α -деметилази демонструє здатність ряду сполук впливати на активність даного ферменту (табл. А 2).

Молекулярний докінг до активного центру кінази анапластичної лімфоми

Кризотиніб фіксується в сайті зв'язування за допомогою міжмолекулярних водневих хімічних зав'язків, які формуються між атомом Нітрогену гетероциклічних фрагментів молекули та залишками MET A: 1199, GLU A: 1197.

Додаткова стабілізація кризотинібу в місці зв'язування відбувається за допомогою алкіл та π -алкіл взаємодій за участю ALA A: 1148 та LEU A: 1122. Важливу роль також відіграє π - σ взаємодія, яка відбувається за рахунок LEU A: 1256. Також необхідно звернути увагу на взаємодію Хлору та Флуору з ASN A: 1254 та GLY A: 1269.

Досліджені 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.16**) та його *S*-алкілпохідні (**2.19-2.28**) стабілізовані в активному центрі кінази анапластичної лімфоми за рахунок міжмолекулярного водневого хімічного зв'язку з MET A: 1199, алкілгідрофобного з ALA A: 1200, LEU A: 1122, LEU A: 1196, LEU A: 1198, LEU A: 1256, LYS A: 1150. Крім того, звертає на себе увагу наявність певної кількості π -алкільних та π -аніонних гідрофобних взаємодій з активним центром ферменту (з ALA A: 1200, LEU A: 1122 та GLU A: 1122), який має негайний вплив на стабільність конкретної біологічно активної речовини в активному центрі.

Розрахунки вільної енергії зв'язку показують, що збільшення довжини *S*-алкільного фрагмента *S*-алкілпохідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.19-2.28**) може позитивно впливати на спорідненість з активним центром ферменту (табл. А 2).

Найбільш значний рівень взаємодії з активним центром ферменту демонструють речовини **2.26** та **2.28** із значеннями вільної енергії взаємодії – 8,0 ккал/моль та – 8,4 ккал/моль відповідно (рис. 4.2).

Візуалізація результатів докінгу 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.17**) щодо анапластичної лімфоми кінази дозвола визначити наступні типи взаємодій з активним сайтом протеїну. Це, перед усім, π -алкіл взаємодія фенільного, піразольного та триазольного фрагментів з LEU A: 1122, LEU A: 1256 та VAL A: 1130.

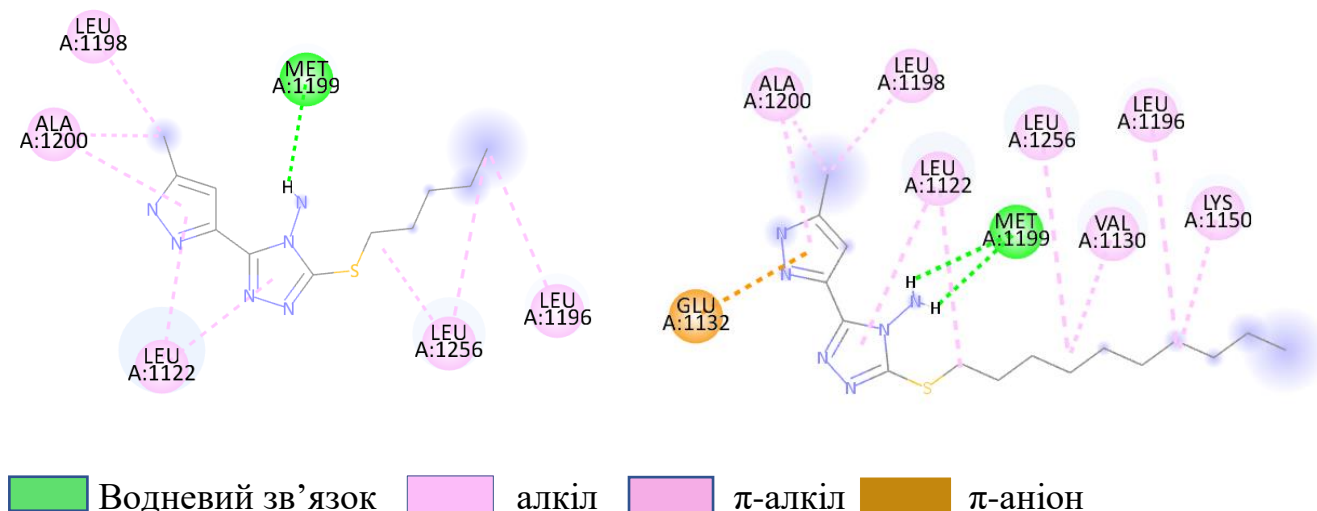


Рис. 4.2 Візуалізація спорідненості кінази анапластичної лімфоми з сполуками **2.23** і **2.28**

Додатково посилює зв'язок між лігандом та білком-мішенню атом Флуору (**2.17**, **2.29-2.38**), який координується з залишком GLY A: 1269 та атомом Гідрогену пірольного Нітрогену піразолу (міжмолекулярний водневий зв'язок з MET: 1199).

Поява метильного (**2.29**) та етильного (**2.30**) замісників в структурі алкілпохідних 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу значного впливу на природу взаємодії з зазначеним ферментом не має. Збільшення до трьох атомів Карбону в структурі *S*-алкільного замісника (**2.31**) додатково сприяє появі алкільних взаємодій, які реалізуються за участю LEU A: 1196 та LYS A: 1150.

S-бутилпохідне (**2.32**) додатково стабілізується С-Н зв'язком, який формується між піразоловим фрагментом та залишком GLY A: 1202. Подальше

збільшення довжини алкільного фрагменту (**2.33-2.38**) не мало значного впливу на природу активних взаємодій з активною зоною протеїну.

Лише у 3-(децилтіо)-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-4-аміну (**2.38**) загальна взаємодія ліганду з ферментом покращується за рахунок двох міжмолекулярних водневих хімічних зв'язку, який утворюється за участю аміногрупи молекули та залишків ALA A: 1200 і MET A: 1199. Зазначений аналіз дозволяє попередньо стверджувати про невисоку вірогідність впливу синтезованих сполук на активність кінази анапластичної лімфоми.

Зміна довжини *S*-алкільного замісника 9-метил-3-(алкілтіо)-піразоло[1,5-*d*]-[1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (**2.39-2.48**) активно впливає на природу та кількість амінокислотних залишків в активному центрі тирозинкінази. Синтезовані сполуки (**2.39-2.48**) демонструють наступні типи взаємодій з активним сайтом тирозинкінази: алкіл-алкіл гідрофобну взаємодію *S*-алкільного замісника з залишками LEU A: 1196, LEU A: 1256 та LYS A: 1150; π -алкіл – з залишками ALA A: 1148 та LEU A: 1256, π - σ - з залишком GLY A: 1202.

Серед інших типів взаємодій, які посилюють контакт з ферментом, можна відзначити C-H взаємодію.

Подовження алкільного ланцюга призводить у ряді випадків до збільшення кількості додаткових гідрофобних взаємодій, наприклад, з амінокислотним залишком ILE A: 1171 (з метильною групою октильного та нонільного замісника). Перехід до децильного замісника (**2.48**) супроводжується зменшенням кількості амінокислотних залишків активної зони тирозинкінази, які взаємодіють з лігандом та характеризується виключно алкільною взаємодією.

Кількісні показники дослідженої скорингової функції 9-метил-3-(алкілтіо)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазинів (**2.39-2.48**) підтверджують, що більшість синтезованих сполук мають спорідненість до кінази анапластичної лімфоми (табл. А 2). Але жодна з синтезованих речовин не перевищує значення кризотинібу.

Аналіз докінгового дослідження 3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-6-*R*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (**3.1-3.7**) з активним сайтом рецептора

тирозинкінази дозволяє констатувати певний рівень однотипності взаємодій. До них належать алкільні, π -алкільні та π - σ взаємодії. І лише для сполуки **3.7** стабілізація в активному центрі цього ферменту додатково забезпечується міжмолекулярним водневим зв'язком. Ця взаємодія забезпечується залишком MET A: 1199.

Якщо говорити про інші типи взаємодій, які були визначені для цієї сполуки, то тут можна відзначити алкільну взаємодію. Цей тип координації обумовлений залишками ALA A: 1148, LEU A: 1196, VAL A: 1130, LEU A: 1122. Необхідно також згадати про π -алкільну взаємодію, яку забезпечують залишки ALA A: 1148, LEU A: 1122 (з триазольним фрагментом), LEU A: 1196, LEU A: 1122, VAL A: 1130 (з тіадіазоловим фрагментом).

Кількісні показники енергії міжмолекулярних взаємодій демонструють, що більшість синтезованих сполук мають афінність до кінази анапластичної лімфоми (табл. А 2). Але жодна з синтезованих речовин не перевищує значення кризотинібу (табл. А 2).

Проведені докінгові дослідження та аналіз одержаних результатів для решти сполук дозволяє попередньо стверджувати про низьку ймовірність впливу синтезованих речовин на активність кінази анапластичної лімфоми.

4.3 Дослідження гострої токсичності новосинтезованої сполуки на дорослому гідробіонті даніо реріо (*Danio rerio*)

Визначення гострої токсичності LC_{50} досліджуваної сполуки проводили *in vivo* на моделі гідробіонта Zebrafish (*Danio rerio*) згідно інструкції OECD № 203 (Fish, Acute Toxicity Test) для тестування хімічних сполук (тест гострої токсичності на рибах від 10.12.2009 р.).

У експерименті використовувались риби двох місяців життя, довжиною $11,8 \pm 0,1$ мм і вагою $2,6 \pm 0,2$ г.

Концентрація досліджуваної сполуки становила в діапазоні від 5,0 до 100,0 мг/л. Дорослі *Danio rerio* зберігалися у провітрюваних акваріумах з фільтрованою

вуглецем водопровідною відстояною водою ($pH=7,3\pm 0,3$; 95% CI) при температурі 26,5 °C. Таку збагачена киснем воду використовували і для експериментів. Перед постановкою дослідів риби були акліматизовані, з показником смертності не більше як 1 з 500 особин. Досліджувані водорозчинні сполуки розчиняли у дистильованій воді. Кожен міні-акваріум з певною дозою сполуки містив не менше 7 особин *Danio rerio*. В процесі проведення дослідів риб утримували на дієті протягом тестових 96 годин і перевіряли їх смертність кожні 24, 48, 72 і 96 години.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою програми Statistica 6.

Ступінь токсичності досліджених сполук визначали за класифікацією D. R. Passino [135].

Дослідження проводили відповідно до національних «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики та «Біоетичної експертизи доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах». Ці принципи розроблено у відповідності до основних засад біоетики та біоетичної експертизи в інтересах захисту людини і всього біологічного різноманіття світу. Вони узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [136].

Риби вважаються мертвими, якщо немає видимих рухів (наприклад, зябрових рухів) і якщо торкання хвостової плодоніжки не викликає реакції. Мертву рибу видаляли при спостереженні та реєстрували смертність.

Смертність кожні 24, 48, 72 і 96 години фіксували на кожну концентрацію та відповідні відсотки.

За отриманими даними будували графіки (рис. 4.3) залежності концентрації від % смертності риби та розраховували відповідні значення LC_{50} новосинтезованих сполук (табл. 4.1).

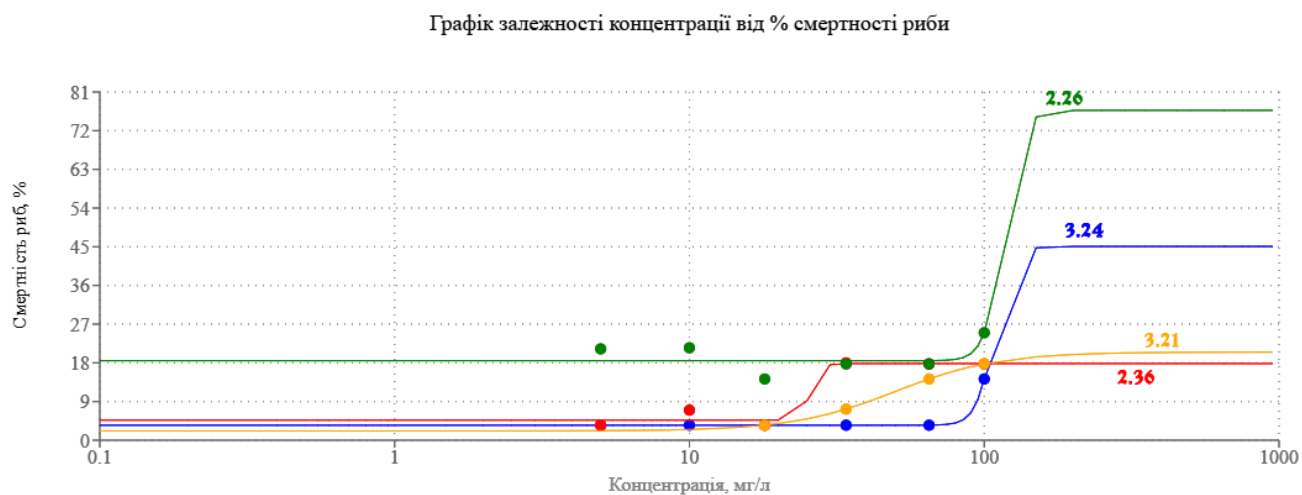


Рис. 4.3 Графік залежності концентрації сполук (2.26, 2.36, 3.21, 3.24) від % смертності риби.

Таблиця 4.1

Розраховані значення LC₅₀ новосинтезованих сполук

Сполука	Гостра токсичність сполук (LC ₅₀), мг/л, 96 годин
2.17	93,34
2.18	104,69
2.19	31,53
2.20	32,34
2.26	12,39
2.29	63,83
2.30	34,00
2.36	28,33
2.39	63,12
2.40	64,13
2.42	65,72
2.49	52,47
2.50	56,50
3.21	68,84
3.24	180,5

За даними гострої токсичності LC_{50} (96 годин) сполуки, що за класифікацією D. R. Passino із співавторами [135] дозволило віднести її до класу помірно токсичної сполуки.

У піддослідних тварин спостерігали такі клінічні ознаки: при низьких концентраціях (5-10 мг/л) – спостерігали екзофтальмію (набряк в орбітальних ямках, що призводить до опуклості одного або обох очей) і збільшення спонтанної активності; середній діапазон концентрацій (18-65 мг/л) відзначався появою петехій (плями розміром з голівку) або гематоми (ділянка крові) через внутрішньошкірну або підслизову кровотечу в рибах і також надлишкове утворення слизу; при високих концентраціях (100 мг/л) – набряк живота через скупчення рідини. Може спричинити випирання луски та/або тріщину в черевній стінці.

Гостра токсичність синтезованих сполук була визначена як *помірно токсична або практично нетоксична*.

4.4 Дослідження антиоксидантної активності (поглинання вільних радикалів) похідних 1,2,4-триазолу з використанням 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH)

Антиоксиданти - це речовини, які запобігають і стабілізують пошкодження, спричинене вільними радикалами, надаючи електрони від антиоксидантів цим пошкодженим клітинам. Антиоксиданти також перетворюють вільні радикали в побічні продукти життєдіяльності, які виводяться з організму. Тому оцінка таких властивостей залишається цікавою та корисною задачею, зокрема для пошуку перспективних джерел синтетичних антиоксидантів похідних 1,2,4-триазолу [137].

Аналіз поглинання вільних радикалів вимірювали за допомогою тесту на вільні радикали 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH) (рис. 4.4).

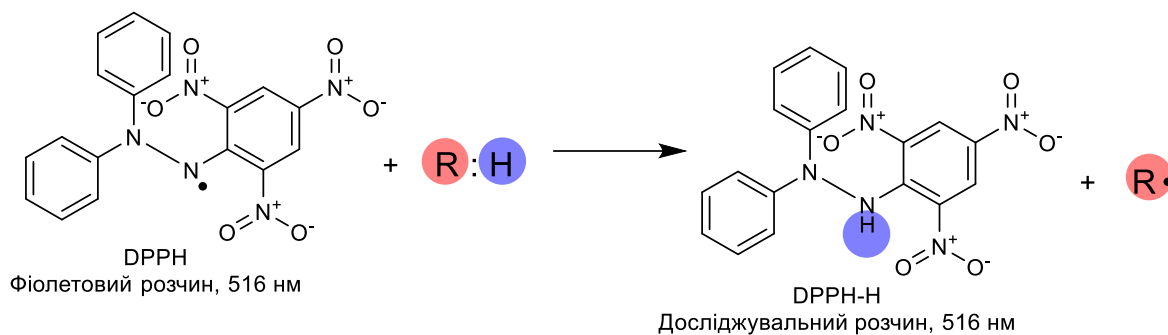


Рис. 4.4 Механізм взаємодії сполуки з 1,1-дифеніл-2-пікрілгідразилом (DPPH)

Точну наважку субстанції (0,001 М) вміщують у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у ДМСО та доводять до позначки, перемішують. 1,00 мл одержаного розчину вміщують у мірну колбу ємністю 10,00 мл (0,0001 М), доводять до позначки ДМСО, перемішують. 2,00 мл отриманого розчину вміщують у пробірку, обробляють 2,00 мл 0,1 мМ розчину DPPH у метанолі (Sigma-Aldrich, Germany), перемішують, щільно закривають.

Пробірки енергійно струшували і залишали на 30 хв при кімнатній температурі в темряві.

Поглинання вимірювали при 516 нм.

Контролем був розчин 2,00 мл 0,1 мМ розчину DPPH за присутності 2,00 мл метанолу, стандартом – аскорбінова кислота.

Активність поглинання вільних радикалів виражали у відсотках інгібування та розраховували за формулою:

$$\% \text{ антиоксидантної активності} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \cdot 100,$$

де A_0 – значення коефіцієнта поглинання контрольного зразку;

A_1 – коефіцієнт поглинання досліджуваного зразка.

Абсорбцію досліджуваних розчинів вимірюють у водно-органічних розчинах та реєстрації максимуму поглинання при 516 нм на спектрофотометрі SPECORD 250 (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Антиоксидантна активність синтезованих сполук

Сполука	Коефіцієнт поглинання, А	Антиоксидантна активність, %
Контроль (DPPH)	0,4305	-
Аскорбінова кислота	0,2959	60,42
2.16	0,4054	31,4
2.17	0,5928	0,530
2.20	0,5948	0,20
2.30	0,2898	51,4
2.40	0,5576	5,65
2.50	0,5819	1,54
3.10	0,1732	70,9
3.11	0,2301	45,3
3.21	0,2200	59,1
3.23	0,5354	0,428
3.26	0,4100	30,6

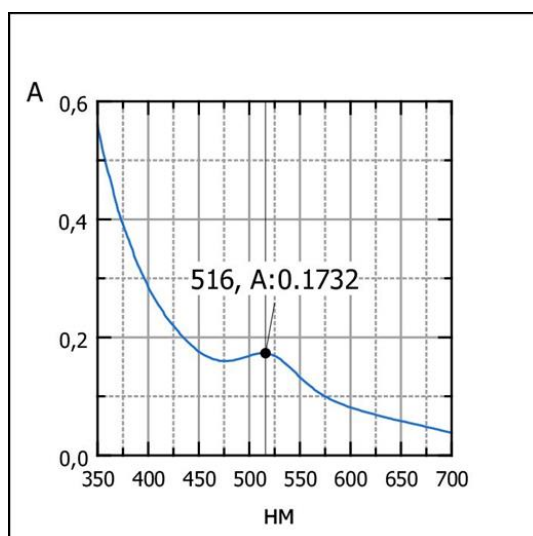


Рис. 4.5 Спектр поглинання сполуки **3.10** та реєстрації максимуму поглинання при 516 нм

Антиоксидантна активність синтезованих сполук, оцінена за допомогою тесту на вільні радикали 1,1-дифеніл-2-пікрилгідразилу (DPPH).

Варто відзначити, що 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-амін (**3.10**) перевищує активність препарату порівняння – природного антиоксиданту аскорбінової кислоти. Також є сенс звернути увагу на 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.30**) та калій 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-ацетат (**3.21**), які за своєю активністю наближаються до препарату порівняння.

Висока активність може бути пов'язана з наявністю амідних фрагментів та аміно-груп, що пов'язано з властивістю проявляти донорні властивості щодо електронів. Серед інших фрагментів, що посилюють вірогідність формування антиоксидантної активності, карбоксильна група.

4.5 Дослідження протимікробної активності

Дослідження протимікробної активності нових синтезованих сполук виконували відповідно до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних засобів» та методичних рекомендацій «Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів». З вихідної концентрації препарату 1 мг/мл, готували ряд двократних серійних розведень у бульйоні Мюлер-Хінтона в об'ємі 1 мл. Потім додавали у кожен пробір по 0,1 мл мікробної зависі (10^6 м.к./мл). МІК (мінімальну інгібуючу концентрацію) визначали за відсутністю видимого росту в пробірці з мінімальною концентрацією препарату, мінімальну бактерицидну/фунгіцидну концентрацію (МБЦК, МФЦК) – за відсутністю росту на агарі після висівання з прозорих пробірок. Як розчинник сполук в дослідженнях використовували диметилсульфоксид. Для первинного скринінгового дослідження нових речовин застосовували еталонні тест-культури як грампозитивних, так і грамнегативних бактерій, що належать до різних за морфофізіологічними властивостями клінічно

значущих груп збудників інфекційних захворювань. У якості набору стандартних тест-штамів взято *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Також проведено контроль поживних середовищ і розчинника з використанням загальноприйнятих методик [138].

Показники протимікробної активності окремих похідних 1,2,4-триазолу наведені в таблиці А 3.

Проведені дослідження дозволили встановити той факт, що значною антибактеріальною активністю відрізняється 6-(2-бромо-5-метоксифеніл)-3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол (**3.5**), до якого особливо чутливою виявилась *E. coli* (МІК = 7,8 мкг/мл), а також *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-етаноат (**3.16**), який блокує ріст *C. albicans* (МІК = 3,9 мкг/мл) і проявляє фунгіцидну активність (табл. А 3).

Також варто відзначити ряд похідних 1,2,4-триазолу, а саме: **2.58**, **3.19**, **3.20**, які виявляють значиму активність проти *C. albicans* (табл. А 3).

Таким чином, можна зробити висновок, що естерний *ізо*-пропільний фрагмент в структурі синтезованих сполук призводить до посилення антибактеріальної активності. Поява замісників при фенільному фрагменті у вигляді метоксигрупи або галогену сприяє посиленню антимікробної активності. Не виявлено значного впливу піразоловго фрагменту на формування протимікробної активності. Введення алкільного залишку з одночасним збільшенням його довжини до C₁₀ сприяє помірному зростанню показників антибактеріальної активності.

4.6 Дослідження аналгетичної активності серед піразоловмісних похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу та конденсованих систем на його основі

Як об'єкти дослідження обрано піразоловмісні похідні 1,2,4-триазолу та конденсованих систем на його основі, а саме (4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-

триазол-3-тіол (**2.16**), 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.17**), 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.20**), 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.30**), 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанова кислота (**3.13**), *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат (**3.16**), (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(феніл)метанон (**3.17**) (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(4-метоксифеніл)метанон (**3.18**).

Вивчення аналгетичних властивостей проводилось на двох моделях [139]:

- 1) «оцтовокислих корчів» (пов'язана з зменшенням активності периферичних медіаторів запалення та болю);
- 2) «гарячої пластини» (демонструє можливу участь центрального компоненту у механізмі аналгетичної дії).

Модель «оцтовокислих корчів» передбачала внутрішньочеревне введення 0,75% розчину оцтової кислоти, що зумовлює підвищення загальної активності ноцицептивної системи та місцеве вивільнення брадикініну, гістаміну, серотоніну, простагландинів та лейкотрієнів. Це призводить до розвитку мимовільних скорочень черевних м'язів живота - корчів, які супроводжуються витягуванням задніх кінцівок та вигинанням спини. Рівень аналгетичної активності досліджуваних препаратів оцінювали за здатністю зменшувати кількість больових реакцій в щурів при внутрішньочеревному введенні 0,75 % розчину оцтової кислоти.

Розчин кислоти етанової вводили через 1 год. після введення досліджуваних речовин. Надалі підраховували кількість больових скорочень (мимовільних скорочень м'язів черевної стінки) у тварин впродовж 15 хв після введення 0,75 % розчину кислоти оцтової. Критерієм ефективності вважали пригнічення больової реакції у тварин дослідних груп порівняно із контрольною на 50 % і більше.

Аналгетичну активність виражали у відсотках та розраховували за формулою:

$$AA = \frac{(C_k - C_d)}{C_k} \cdot 100\%$$

де AA – аналгетична активність, C_k – середня кількість корчів у контрольній групі, C_d – середня кількість корчів у дослідній групі.

Для моделювання гострого ексудативного запалення, щурам внутрішньом'язово вводили 1 мл 5% розчину формаліну в ліву задню кінцівку. Цей процес викликав дві послідовні стадії ноцицептивної реакції.

Початково спостерігалось підняття та періодичне похитування лапки, а також активність в ньому виражалася через покусання або облизування. Відразу після короткого латентного періоду безпосереднього хімічного подразнення больових рецепторів виникала миттєва початкова стадія болю (центральна). Цей етап тривав від 3 до 10 хвилин, зазвичай приблизно 4-5 хвилин.

Після цього настав латентний період другої фази тривалістю 20-30 хвилин, під час якого тварина заспокоювалася і біль відступала. Далі відбувалося розвиток асептичного запалення лапки щура, при цьому біологічно активні речовини, такі як простагландини і брадикініни, проникали в уражену область. Це призводило до збільшення проникності судин, гіперемії, набряку лапки та появи ознак больової чутливості.

Спостереження за тваринами проводилося протягом 60 хвилин після введення формаліну, після чого ознаки больової чутливості зазвичай зменшувалися.

Зміни тривалості латентного періоду другої фази та тривалості ноцицептивної реакції в цій фазі свідчили про ефективність знеболюючої дії досліджуваних речовин.

Всі експериментальні дослідження були проведені відповідно до методик, рекомендованих Комітетом з біоетики Державного експертного центру Міністерства охорони здоров'я України, та відповідали вимогам Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми Statistica 10.0 і Microsoft Excel. Сформовані результати представлені як середнє арифметичне значення (M) \pm стандартна похибка середнього значення (m). Для всіх видів аналізу статистично значимими вважали відмінності при рівні значущості не менше 0.05.

Вплив досліджуваних сполук на аналгетичну активність на моделі «оцтовокислих корчів»

Після внутрішньочеревного введення 0,75 % розчину оцтової кислоти у щурів спостерігали занепокоєність, через 2-3 хв після застосування почали з'являтися характерні рухи тварин, а саме: мимовільні скорочення черевних м'язів живота, що чергувались з їх розслабленням, витягуванням задніх кінцівок, прогинанням спини тощо. Контрольна група тварин одержувала 0,9 % розчин натрій хлориду (табл. А 4).

Впродовж наступних 15 хв підраховували кількість таких корчів для кожної тварини.

За результатами спостереження за контрольною групою тварин було відзначено появу оцтовокислих корчів, які в середньому спровокували 18,3 специфічних рухів протягом 15 хвилин. Даний ефект пов'язаний з виникненням вісцерального болю.

Обробка експериментальних даних включала в себе обчислення середніх арифметичних значень (M) та визначення їхніх похибок ($\pm m$).

Дослідження дозволило встановити, що більшість з обраних для оцінки знеболювальної активності речовин мають достатньо виражений антиноцицептивний ефект.

Серед найбільш активних сполук особливо виділяється *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин-7-етаноат (**3.16**). Однією з особливостей структури даної сполуки є наявність 2,6-дихлорофенільного замісника та карбонільної групи, що є подібним до структури диклофенаку.

Також не останню роль у формуванні даного виду активності відіграє [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазиновий скафолд, що було підтверджено вітчизняними науковцями в більш ранніх дослідженнях [139].

Серед активних сполук увагу також привертає 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанова кислота (**3.13**), яка так само виявилась більш активною за референтний препарат натрій метамізол [140]. Як і у випадку її *ізо*-пропілового естеру (**3.16**), прослідковується подібність до структури диклофенаку.

Інший представник карбонільного ряду сполук, а саме: 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин-7-іл)(феніл)метанон (**3.17**) мав антиноцицептивний ефект близький за рівнем до 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-етанової кислоти (**3.13**).

Інші сполуки виявились менш активними за натрій метамізол. Серед них (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-іл)(4-метоксифеніл)метанон (**3.18**), що дозволило зробити висновок про сприятливий вплив введення метоксигрупи по четвертому положенню фенільного замісника сполуки **3.18**.

Серед найменш активних сполук виявились 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.16**) та 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.17**).

Водночас, поява етильного замісника при атомі Сульфуру (**2.20**, **2.30**) сприяла підвищенню досліджуваного виду активності та дозволила незначно перевищити рівень референтного препарату.

Вплив досліджуваних сполук на аналгетичну активність на експериментальній «формаліновій» моделі (табл. 4.3).

Було встановлено, що внутрішньом'язове введення формаліну викликає реакцію на больовий подразник у інтактних тварин, яка зазвичай починається приблизно через $0,69 \pm 0,36$ хв і виявляється у піднятті пошкодженої лапки та її рухах (I фаза), а також у покусуванні та облизуванні (II фаза).

Таблиця 4.3

Антиноцицептивна активність досліджуваних сполук при пероральному введенні на формаліновій моделі больового запалення

Умови досліджу	I фаза		II фаза	
	Латентний період, хв	Тривалість фази, хв	Латентний період, хв	Тривалість фази, хв
Інтактні тварини	1,65±0,37	5,12±0,13	20,7±2,43	32,1±1,23
Контроль (0,9 % розчин NaCl)	1,66±0,27	5,18±0,63	21,4±1,20	32,6±1,07
Натрій метамізол, 4 мг/кг, в/оч	1,81±0,23**	5,34±0,54**	26,5±1,85*	18,45±1,97*
2.16	1,72±0,14**	5,41±0,21**	22,6±1,16	31,18±0,67
2.17	1,79±0,54**	5,12±0,34**	23,1±0,95	29,78±0,83
2.20	1,79±0,13**	5,21±0,32**	25,8±2,11	17,93±0,77
2.30	1,68±0,11**	5,24±0,12**	24,2±1,15*	27,65±1,27*
3.13	1,74±0,22**	5,27±0,24**	33,1±0,48	12,76±2,87
3.16	1,89±0,35**	5,09±0,11**	36,25±1,71*	8,78±1,67*
3.17	1,77±0,87**	5,35±0,11**	26,8±1,64*	16,83±1,22*
3.18	1,81±0,66**	5,23±0,53**	28,1±0,21*	15,56±0,89*

Примітки: * P<0,05 порівняно з контролем;

** P<0,1 порівняно з контролем (розглядається як тенденція).

Загальна тривалість болю становила 5,12±0,13 хв. Після цього тварини заспокоювались, і близько 20 хв не проявляли жодних змін поведінкових реакцій. Після цього знову виявлялись ознаки реакції на біль, які проявлялись у другій фазі, загальна тривалість яких становила 32,1±1,23 хв. У більшості щурів після закінчення періоду спостереження (після 60 хвилин) симптоми болю залишалися. У контрольних тварин, яким внутрішньоочеревинно вводили розчинники, спостерігалися всі вищезазначені прояви реакції на біль, причому характер та тривалість латентних періодів I та II фаз практично не відрізнялися від тих, що спостерігалися в інтактних тварин.

Як препарат порівняння застосовували натрій метамізол, в дозі 4 мг/кг, який був введений внутрішньоочеревинно.

За результатами дослідження з використанням I фази формалінової моделі болювого запалення встановлено, що 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанова кислота (**3.13**) виявилась дещо більш активна ніж інші досліджені сполуки та препарат порівняння анальгін. Таким чином, вірогідність реалізації центрального механізму у формуванні антиноцицептивного ефекту є невисокою. Натомість, за результатами досліджень II фази перебігу анальгетичного ефекту, виявилось, що найбільш активною сполукою є *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат (**3.16**). Незначно за результатом йому поступається 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанова кислота (**3.13**). Привертає до себе увагу також (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-іл)(4-метоксифеніл)метанон (**3.18**), який виявився незначно більш активним за анальгін. В той самий час, подібний за структурою до сполуки **3.18** (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-іл)(феніл)метанон (**3.17**), який позбавлений метокси-замісника арильного фрагменту у *para*-положенні, проявив активність на рівні референтного препарату. Тобто, наявність замісника у фенільному фрагменті (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-іл)арилметанонів не має значного впливу на зміну анальгетичної активності. Найменш активними виявились 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.16**), 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.17**) та їх *S*-алкілпохідні, а саме: 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.20**) та 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-(3-флуорофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол (**2.30**). Причому, алкілпохідні виявились дещо трохи активнішими за вихідні тіоли, що підкреслює необхідність функціоналізації меркаптогрупи задля підвищення вірогідності створення високоактивних сполук.

Дослідження аналгетичної активності на зазначених моделях підтвердили правильність вибору ряду сполук для подальших *in vivo* експериментів після попередніх прогностичних досліджень. Більш активними виявились сполуки, які в своїй структурі поєднують конденсовану [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинову систему та карбонільну групу. Так само важливим є присутність замісника при фенільному фрагменті арилетанонового скафолду. Варто зазначити, що визначити однозначно найбільш сприятливу функціональну групи (карбоксілну, естерну або кето-групу) для даного виду активності не вдалось. Дані з цього приводу на двох залучених моделях трохи різняться. В той самий час, сполуки з 2,6-дихлорофенільним замісником виявились досить активними, на що є сенс звернути увагу. Вихідні тіоли виявились очікувано найменш активними.

Одержані дані також показали, що на моделі формалінового тесту у щурів досліджувані сполуки у своїй більшості викликали знеболювальну дію, яка в більшій мірі проявилась у II фазі модельного патологічного стану, в патогенезі якої беруть участь медіатори запальної реакції, головним чином простагландини, лейкотрієни тощо.

Висновки

1. Результати *in silico* досліджень, які включали ADME-аналіз та молекулярний докінг, показали, що синтезовані сполуки можуть бути потенційними кандидатами для подальшого дослідження їх активності *in vitro* та *in vivo*, оскільки демонструють високу біодоступність, не порушуючи у більшості випадків правило Ліпінського та показуючи у ряді випадків досить високу спорідненість щодо ЦОГ-2, ланостерол 14 α -деметиلاзи та кінази анапластичної лімфоми.

2. Було досліджено гостру токсичність LC₅₀ *in vivo* в ряду синтезованих похідних 1,2,4-триазолу на моделі гідробіонта *Danio rerio* при впливі впродовж 96 годин. Показники визначеної гострої токсичності дозволили віднести синтезовані сполуки до категорії помірно токсичних або практично нетоксичних.

3. Антиоксидантна активність 3-(5-метилпіразол-3-іл)-*N*-феніл-[1,2,4]-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-аміну (**3.10**) перевищує активність препарату порівняння аскорбінової кислоти, а 3-етилтіо-4-аміно-5-(3-(3-флуорофеніл)-піразол-5-іл)-1,2,4-триазолу (**2.30**) та калій 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ацетату (**3.21**) наближається до препарату порівняння.

4. Проведені дослідження дозволили встановити той факт, що значною антибактеріальною активністю відрізняється 6-(2-бромо-5-метоксифеніл)-3-(5-(4-метоксифеніл)піразол-3-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол (**3.5**), який активно себе проявив щодо *E. coli*. Також серед найбільш активних сполук з протигрибковою активністю - *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат (**3.16**), який блокує ріст *C. albicans*.

5. Експериментальні дослідження показали, що в умовах оцтовокислих корчів та моделі формалінового запалення спостерігали антиноцицептивну активність досліджуваних речовин. Найбільший аналгетичний потенціал виявився у 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-

тіадіазин-7-етанової кислоти (**3.13**) та *ізо*-пропіл 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етаноат (**3.16**), що дозволило встановити привілейовані фармакофори та синтони для конструювання сполук з аналгетичною активністю в ряду похідних 1,2,4-тріазолу.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях: 129-134, 137.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Досліджено методи синтезу похідних 4-аміно-5-(3-*R*-піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу, що дозволило створити ряд перспективних *S*-алкілпохідних та конденсованих систем на їх основі.

1. Проведений аналіз літературних даних дозволив визначити алгоритм досліджень, відповідно до якого була визначена група цільових вихідних сполук та окреслені напрямки їх подальшої функціоналізації і трансформації.

2. Синтезовані 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол та 4-аміно-5-(3-(4-метоксифеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіол, на основі яких було одержано групу *S*-алкілпохідних, що дозволило значно посилити біологічний потенціал синтезованих сполук.

3. Досліджено умови синтезу та вперше одержано 9-метил-3-(алкілтіо)-піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини та 3-(етилтіо)-9-метил-6-(алкілтіо)піразоло[1,5-*d*][1,2,4]триазоло[3,4-*f*][1,2,4]триазини.

4. Опрацьовано одержання 4-((2,6-дихлоробензиліден)аміно)-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу, з використанням якого було синтезовано ряд (6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-6,7-дигідро[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазин-7-іл)(*R*-феніл)метанонів.

5. Опрацьовано синтез 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)алканових кислот та їх естерів, які є практичними інтермедіатами для подальших хімічних перетворень.

6. Взаємодією з неорганічними та органічними основами одержано солі 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)алканових кислот, які є зручними об'єктами для наступних досліджень біологічних властивостей.

7. Дослідження *in silico* та виявлення сполук з антиоксидантною, антимікробною, протигрибковою та аналгетичною активностями демонструють перспективність подальших досліджень в синтезованому ряді сполук.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Сирова, Г. О., Чаленко, Н. М., Демченко, А. М. (2020). *Застосування 2-[4-аміно-5-(піридин-4-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-іл]тіо-N-(3,4-диметоксифеніл)-ацетаміду як агента з антиексудативною та аналгетичною активністю.* (Патент № 122636). Укрпатент. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=272825>
2. Король, Н. І., Пантьо, В. В., Сливка, М. В., Кривов'яз А. О., Коваль Г. М., Лендел В. Г. (2021). *Застосування йодовмісних солей 1,2,4-триазолію як бактерицидів та фунгіцидів.* (Патент № 122991). Укрпатент. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=274035>
3. Король, Н. І., Головка-Камошенкова, О. М., Сливка, М. В., Паллаг, О. В., Бойко, Н. В., Лендел, В. Г. (2020). *Застосування похідних біс-1,2,4-триазолу як бактерицидів* (Патент № 124603). Укрпатент. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=278466>
4. Книш, Є. Г., Панасенко, О. І., Парченко, В. В. (2020). *Застосування піперидинію 2-[5-(2-фурил)-4-феніл-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетату як панкреопротекторного засобу* (Патент № 121148). Укрпатент. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=267313>
5. Головка-Камошенкова, О. М., Король, Н. І., Сливка, М. В., Тимошук, С. А., Бойко, Н. В. (2022). *Застосування флуоровмісних похідних 1,2,4-триазолу як бактерицидів.* (Патент № 150880). Укрпатент. <https://base.uipv.org/searchINV/search.php?action=viewdetails&IdClaim=281369>
6. Chakraborty, A. K., Manekar, S. S., Rathod, S. M., Kakde, M. U., Sonar, K. S. (2023). Design, synthesis and anti-cancer activity studies of some novel 1,2,4-triazole pyrimidine derivatives. *Eur. Chem. Bull.*, 12(10), 2726-2733. <https://doi.org/10.48047/ecb/2023.12.si10.00325>
7. Oderinlo, O. O., Jordaan, A., Seldon, R., Isaacs, M., Hoppe, H. C., Warner, D. F., Tukulula, M., Khanye, S. D. (2023). Hydrazone-tethered 5-(pyridin-4-yl)-4H-1,2,4-

triazole-3-thiol hybrids: synthesis, characterisation, *in silico* ADME studies, and *in vitro* antimycobacterial evaluation and cytotoxicity. *ChemMedChem*. 18(6): e202200572. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/cmdc.202200572>

8. Pinteă, B-N., Burcă, I., Badea, V., Peter, F. (2023). Synthesis of a novel 2-((4,5-diphenyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetaldehyde as a bisulfite adduct. *Molbank*. 3: M1715. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/M1715>

9. Thorve, P. R., Maji, K., Maji, B. (2023). Construction of 1,2,4-triazole-fused heterocycles *via* an amine oxidase bio-inspired catalyst. *Org. Chem. Front.* 10(2), 480-489. <https://doi.org/10.1039/D2QO01745H>

10. Pan, Y., Tian, R., Chen, Y., Wang, L., Qin, H., Wang, J. (2023). A green one-pot process for the synthesis of 1,2,4-triazole-fused heterocycles using FeBr₃ catalyst and hydrogen peroxide. *Tetrahedron*. 148(16): 133688. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.tet.2023.133688>

11. Chilaka, S. K., Chinthapall, K. P., Soda, A. K., Chellu, R. K., Kurva, S., Nanubolu, J. B., Madabhushi, S. (2023). Synthesis of 1,2,4-triazoles and 1,3,4-thiadiazinones by [3+2] and [3+3] domino annulation reactions of nitrile imines with succinimide and thiazolidine-2,4-dione. *Asian Journal of Organic Chemistry*. 12(4), 130-137. <https://doi.org/10.1002/ajoc.202300041>

12. Abdelli, A., Azzouni, S., Plais, R., Gaucher, A., Efrat, M. L, Prim, D. (2021). Recent advances in the chemistry of 1,2,4-triazoles: Synthesis, reactivity and biological activities. *Tetrahedron Letters*. 86: 153518. Retrieved from [10.1016/j.tetlet.2021.153518](https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2021.153518)

13. Zeinali, N., Darehkordi, A. (2023). A facile and catalyst-free microwave-promoted method for the synthesis of 3-trifluoromethyl 1,2,4-triazole-5-thiones. *Tetrahedron Letters*. 129: 154727. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2023.154727>

14. Oh, H., Kim, H., Kim, I. (2023). Regioselective access to 1,2,4-triazole-fused *N*-heterocycle, pyrrolo[1,2-*a*][1,2,4]triazolo[5,1-*c*]pyrazine, *via* double dehydrative cyclizations. *J. Org. Chem.* 88(16), 11748–11761. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.3c01044>

15. Mahmoud, N. F., Abbas, A. A., Mohamed, G. G. (2021). Synthesis, characterization, antimicrobial, and MOE evaluation of nano 1,2,4-triazole-based Schiff base ligand with some d-block metal ions. *Applied Organometallic Chemistry*. 35(6). Retrieved from <https://doi.org/10.1002/aoc.6219>

16. Dai, X.-J., Xue, L.-P., Ji, S.-K., Zhou, Y., Gao, Y., Zheng, Y. C., Liu, H. M., Liu, H. M. (2023). Triazole-fused pyrimidines in target-based anticancer drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 249: 115101. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.115101>

17. Korol, N., Holovko-Kamoshenkova, O. M., Slivka, M., Pallah, O., Onysko, M. Yu., Kryvovyz, A., Boyko, N. V., Yaremko, O. V., Mariychuk, R. (2023). Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies of novel series of bis-1,2,4-triazoles as thymidine phosphorylase inhibitor. *Advances and applications in bioinformatics and chemistry*. 16, 93-102. <https://doi.org/10.2147/AABC.S415961>

18. Reddy, G. S., Rao, A. V., Prasad, M. S., Viswanath, I. V. K., Laxminarayana, E. (2023). Some new 1,2,4-triazole derivatives bearing the pyrimidine moiety as potential antimycobacterial agents:s and docking analysis. *Letters in Drug Design & Discovery*. 20(10), 1664-1674. <https://doi.org/10.2174/1570180819666220829143739>

19. Ghomi, K. M., Noori, M., Nazari, M. M., Zomorodian, K., Dastyafteh, N., Yazdanpanah, S., Sayahi, M. H., Javanshir, S., Nouri, A., Asadi, M., Badali, H., Larijani, B., Irajie, C., Iraj, A., Mahdavi, M. (2023). [1,2,4]Triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole derivatives as new therapeutic candidates against urease positive microorganisms: design, synthesis, pharmacological evaluations, and *in silico* studies. *Sci Rep*. 13: 10136. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37203-z> .

20. Tomma, J. H., Al-Obaidi, O. B., Al-Dujaili, A. H. (2022). A new thiazoldinone and triazole derivatives: Synthesis, characterization and liquid crystalline properties. *Journal of Molecular Structure*. 1270: 133817. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.133817>.

21. Cai, B-G., Bao, Y.-P., Pei, C., Li, Q., Li, L., Koenigs, R. M., Xuan, J. (2022). Photochemical synthesis of 1,2,4-triazoles *via* addition reaction of triplet intermediates

to diazoalkanes and azomethine ylide intermediates. *Chemical science*. 13, 13141-13146. <https://doi.org/10.1039/D2SC04720A>

22. Maj, A., Kudelko, A., Świątkowski, M. (2022). Synthesis and luminescent properties of *S*-tetrazine derivatives conjugated with the 4*H*-1,2,4-triazole ring. *Molecules*. 27(11): 3642. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules27113642>

23. Zafar, W., Ashfaq, M., Sumrra, S. H. (2023). A review on the antimicrobial assessment of triazole-azomethine functionalized frameworks incorporating transition metals. *Journal of Molecular Structure*. 1288: 135744. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.135744>

24. Aryal, P., Shakya, B. (2023). Synthesis, cytotoxicity, antibacterial and antioxidant activity of new 2-substituted benzimidazole containing 1,2,4-triazoles. *Journal of Nepal Chemical Society*. 43(2), 34-45. <https://doi.org/10.3126/jncs.v43i2.53339>

25. Emami, L., Sadeghian, S., Mojaddami, A., Khabnadideh, S., Sakhteman, A., Sadeghpour, H., Faghieh, Z., Fereidoonzhad, M., Rezaei, Z. (2022). Design, synthesis and evaluation of novel 1,2,4-triazole derivatives as promising anticancer agents. *BMC Chemistry*. 16: 91. Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s13065-022-00887-x>

26. Matin, M. M., Matin, P., Rahman, M. R., Hadda, T. B., Almalki, F. A., Mahmud, S. (2022). Triazoles and their derivatives: chemistry, synthesis and therapeutic applications. *Front. Mol. Biosci*. 9: 864286. Retrieved from <https://doi.org/10.3389/fmolb.2022.864286>

27. Dai, J., Tian, S., Yang, X., Liu, Z. (2022). Synthesis methods of 1,2,3-/1,2,4-triazoles: A review. *Front. Chem*. 10: 891484. Retrieved from <http://doi.org/10.3389/fchem.2022.891484>

28. Kumari, M., Tahlan, S., Narasimhan, B., Ramasamy, K., Lim, S. M., Shah, S. A. A., Mani, V., Kakkar, S. (2021). Synthesis and biological evaluation of heterocyclic 1,2,4-triazole scaffolds as promising pharmacological agents. *BMC Chemistry*. 15(5). Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00717-y>

29. Kazeminejad, Z., Marzi, M., Shiroudi, A., Kouhpayeh, S. A., Farjam, M., Zarenezhad, E. (2022). Novel 1,2,4-triazoles as antifungal agents. *BioMed Research*

International. 2022. Article ID 4584846, 39 pages. Retrieved from <https://doi.org/10.1155/2022/4584846>

30. Yurttas, L., Evren, A. E., Kubilay, A., Temel, H. E. (2021). Synthesis of new 1,2,4-triazole derivatives and investigation of their matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) inhibition properties. *Acta Pharmaceutica Scientia*. 59(2), 215-232. <https://doi.org/10.23893/1307-2080.APS.05913>

31. Zhao, Z., Li, M., Zhou, Y., He, Y., Zhang, L., Li, G., Gu, L. (2021). Synthesis of 1,2,4-triazoles via the electrochemical oxidative [3+2] annulation. *Chinese Journal of Organic Chemistry*. 41(6), 2476-2484. <https://doi.org/10.6023/cjoc202011029>

32. Matsuzaki, H., A1-Takeda, N., A1-Yasui, M., Okazaki, M., Suzuki, S., Ueda, M. (2021). Synthesis of multi-substituted 1,2,4-triazoles utilising the ambiphilic reactivity of hydrazones. *Chem. Commun.* 57, 12187-12190. <https://doi.org/10.1039/D1CC05326D>

33. Liang, Q., Zhang, C., Wang, F., Luo, Z., Yang, W., Zhang, G., Ding D., Zhang, G. (2023). Triazole backbone ligand in an unprecedented efficient manganese catalyst for use in transfer hydrogenation. *Sci. China Chem.* 66, 2028-2036. <https://doi.org/10.1007/s11426-022-1576-5>

34. Singh, M., Sawarkar, H., Shrivastav, B. (2022). A review on synthetic approaches and activities of 1,2,4-triazoles. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 15(12), 58574-8. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2022.00988>

35. Ameen, D. S. M., Hamdi, M. D., Khan, A. K. (2022). Synthesis and biological activities of some 1,2,4-triazole derivatives: a review. *Al Mustansiriyah Journal of Pharmaceutical Sciences*. 22(3), 65-81. <https://doi.org/10.32947/ajps.v22i3.890>

36. Ardón-Muñoz, L. G., Bolliger, J. L. (2022). Synthesis of benzo[4,5]-thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole derivatives via C-H bond functionalization of disulfide intermediates. *Molecules*. 27(5), 1464. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules27051464>

37. Kandemir, L., Karakuş, S., ÖZBAŞ, S., Rollas, S., Akbuğa, J. (2022). Synthesis, structure elucidation and cytotoxic activities of 2,5-disubstituted-1,3,4-

thiadiazole and 1,2,4-triazole-3-thione derivatives. *Journal of Research in Pharmacy*. 26(4), 941-953. <https://doi.org/10.29228/jrp.192>

38. Abdulghani, S. M., Al-Rawi, M. S., Tomma, J. H. (2022). Synthesis of new 1,2,4-triazole derivatives with expected biological activities. *Chemical Methodologies*. 6(1), 59-66. <https://doi.org/10.22034/chemm.2022.1.6>

39. Mohammadnia, F. (2023). Synthesis of 1,2,4-triazole derivatives via 1,3-benzothiazole-2,5-diamine supported on nanocellulose as novel recyclable nano catalyst. *Polycyclic Aromatic Compounds*. 43(9), 1-16. <https://doi.org/10.1080/10406638.2023.2270117>

40. Lusardi, M., Spallarossa, A., & Brullo, C. (2023). Amino-pyrazoles in medicinal chemistry: a review. *International journal of molecular sciences*, 24(9), 7834. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/ijms24097834>

41. Brullo, C., Rapetti, F., & Bruno, O. (2020). Pyrazolyl-ureas as interesting scaffold in medicinal chemistry. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(15), 3457. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules25153457>

42. Alam, M. A. (2023). Pyrazole: an emerging privileged scaffold in drug discovery. *Future medicinal chemistry*. 15(21), 2011-2023. <https://doi.org/10.4155/fmc-2023-0207>

43. Alkahtani, H. M., Almehezia, A. A., Al-Omar, M. A., Obaidullah, A. J., Zen, A. A., Hassan, A. S., Aboulthana, W. M. (2023). *In vitro* evaluation and bioinformatics analysis of Schiff bases bearing pyrazole scaffold as bioactive agents: antioxidant, anti-diabetic, anti-Alzheimer, and anti-arthritic. *Molecules*. 28(20), 7125. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules28207125>

44. Draoui, Y., Radi, S., El Massaoudi, M., Bahjou, Y., Ouahhoud, S., Mamri, S., Ferbinteanu, M., Benabbes, R., Wolff, M., Robeyns, K., Garcia, Y. (2023). Coordination complexes built from a ditopic triazole-pyrazole ligand with antibacterial and antifungal performances. *Molecules*. 28(19), 6801. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules28196801>

45. Jilloju, P. C., Persoons, L., Kurapati, S. K., Schols, D., De Jonghe, S., Daelemans, D., Vedula, R. R. (2022). Discovery of (±)-3-(1*H*-pyrazol-1-yl)-6,7-

dihydro-5H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine derivatives with promising *in vitro* anticoronavirus and antitumoral activity. *Molecular diversity*. 26(3), 1357-1371. <https://doi.org/10.1007/s11030-021-10258-8>

46. Abdellatif, K. R. A., Abdelall, E. K. A., Elshemy, H. A. H., Philoppes, J. N., Hassanein, E. H. M., Kahk, N. M. (2021). Optimization of pyrazole-based compounds with 1,2,4-triazole-3-thiol moiety as selective COX-2 inhibitors cardioprotective drug candidates: Design, synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory, ulcerogenicity, cardiovascular evaluation, and molecular modeling studies. *Bioorganic chemistry*. 114, 105122. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105122>

47. Gajanan, K. S., Raju, A., Baban, M. P., Bhanudas, P. R. (2013). Analgesic activity of some 1,2,4-triazole heterocycles clubbed with pyrazole, tetrazole, isoxazole and pyrimidine. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 3(1), 13-18. <https://doi.org/10.5681/apb.2013.003>

48. Ajin, K. A., Arun, K. S., Singh, M., Akshatha, H. S., Bhagyalalitha, M., Pujar, K. G., Sumana, M. N., Chandrashekar, V. M., Bidye, D., Pujar, G. V. (2023). Novel antitubercular agents: design, synthesis, molecular dynamic and biological studies of pyrazole - 1,2,4-triazole conjugates. *Chemistry & biodiversity*. e202300971. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/cbdv.202300971>

49. Karrouchi, K., Chemlal, L., Taoufik, J., Cherrah, Y., Radi, S., El Abbes, F. M., Ansar M. (2016). Synthesis, antioxidant and analgesic activities of Schiff bases of 4-amino-1,2,4-triazole derivatives containing a pyrazole moiety. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 74(6), 431-438. Retrieved from <https://doi:10.1016/j.pharma.2016.03.005>

50. Fadaly, W. A. A., Elshaier, Y. A. M. M., Hassanein, E. H. M., & Abdellatif, K. R. A. (2020). New 1,2,4-triazole/pyrazole hybrids linked to oxime moiety as nitric oxide donor celecoxib analogs: Synthesis, cyclooxygenase inhibition anti-inflammatory, ulcerogenicity, anti-proliferative activities, apoptosis, molecular modeling and nitric oxide release studies. *Bioorganic Chemistry*, 103752. Retrieved from <https://doi:10.1016/j.bioorg.2020.103752>

51. Tabatabaee, M., Ghassemzadeh, M., Zarabi, B., Heravi, M. M., Anary, A. M., Neumuller, B. (2007). Solvent-free microwave synthesis of (aryland heteroarylmethylene)amino derivatives of 4-amino-6-methyl-5-oxo-3-thioxo-2H-1,2,4-triazine and 4-amino-5-methyl-3-thioxo-2H-1,2,4-triazole. Crystal structure of 6-methyl-4-(3-nitrobenzylideneamino)-5-oxo-3-thioxo-2H-1,2,4-triazine. *Phosphorus, Sulfur Silicon Relat. Elem.* 182(3), 677-686. <https://doi:10.1080/10426500601047461>

52. El-Badawy, A. A., Elgubbi, A. S., El-Helw, E. A. E. (2021). Acryloyl isothiocyanate skeleton as a precursor for synthesis of some novel pyrimidine, triazole, triazepine, thiadiazolopyrimidine and acylthiourea derivatives as antioxidant agents. *Journal of Sulfur Chemistry.* 42(3), 295-307. <https://doi:10.1080/17415993.2021.187817>

53. El-sayed, M. A. (2021). 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.* 6(2), 1687-1696. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05718>

54. Мирко, І. І., Чабан, Т. І., Огурцов, В. В., Матійчук, В. С. (2021). Синтез та дослідження антимікробної активності деяких піразолзаміщених 7H-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів. *Фармацевтичний часопис.* 1, 5-13. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.1.11986>

55. Xiao-Dong, Y., Yu-ye, Y. (2008). Synthesis, crystal structure and fungicidal activity of 1-(4-chlorophenyl)-2-(5-((3,5-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl)methyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazol-3-ylthio)ethanone. *Struct. Chem.* 219, 693-696. <https://doi:10.1007/s11224-008-9362-3>

56. Mu, J.-X., Zhai, Z.-W., Tan, C.-X., Weng, J.-Q., Wu, H.-K., Duke, S. O., Zhang, Y.-G., Liu, X.-H. (2019). Synthesis and herbicidal activity of 1,2,4-triazole derivatives containing a pyrazole moiety. *Journal of Heterocyclic Chemistry.* 56(3), 968-971. <https://doi:10.1002/jhet.3476>

57. El Azab, I. H., Saied, E. M., Osman, A. A., Mehana, A. E., Saad, H. A., Elkanzi, N. A. (2021). Novel *N*-bridged pyrazole-1-carbothioamides with potential

antiproliferative activity: design, synthesis, *in vitro* and *in silico* studies. *Future Med Chem.* 13(20), 1743-1766. <https://doi:10.4155/fmc-2021-0066>

58. Aly, A. A., Hassan, A. A., Makhlof, M. M., Bräse, S. (2020). Chemistry and biological activities of 1,2,4-triazolethiones - antiviral and anti-infective drugs. *Molecules.* 25(13), 3036. <https://doi:10.3390/molecules25133036>

59. Pavurala, S., Vedula, R. R. (2015). An efficient, multicomponent synthesis of pyrazolyl triazolo thiadiazinyl chromen-2-ones. *Journal of Heterocyclic Chemistry.* 52(1), 306-309. <https://doi.org/10.1002/jhet.2027>

60. Aggarwal, R., Hooda, M., Kumar, P., Sumran, G. (2022). Vision on synthetic and medicinal facets of 1,2,4-triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine scaffold. *Topics in current chemistry.* 380(10). Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s41061-022-00365-x>

61. Sujatha, K., Deshpande, R. P., Kesharwani, R. K., Babu, P. P., Rao, V. R. (2018). An efficient one-pot expeditious synthesis of 3-phenyl-1-(6-phenyl-7*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-3-yl)-1*H*-pyrazol-5-amines *via* multi-component approach. *Synthetic Communications.* 49(1), 49-55. <https://doi.org/10.1080/00397911.2018.1537398>

62. Aychiluhim, T. B., Rao, V. R. (2014). Efficient, one-pot synthesis of triazolothiadiazinyl-pyrazolone and pyrazolyl-triazolothiadiazine derivatives *via* multicomponent reaction. *Synthetic Communications.* 44(10), 1422-1429. <https://doi:10.1080/00397911.2012.721917>

63. Salem, M. E., Darweesh, A. F., Farag, A. M., Elwahy, A. H. M. (2016). 2-Bromo-1-(1*H*-pyrazol-4-yl)ethanone: versatile precursors for novel mono-, bis- and poly{6-(1*H*-pyrazol-4-yl)-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines}. *Tetrahedron.* 72(5), 712-719. <https://doi:10.1016/j.tet.2015.12.024>

64. Pogaku, V., Krishna, V. S., Sriram, D., Rangan, K., Basavoju, S. (2019). Ultrasonication-ionic liquid synergy for the synthesis of new potent anti-tuberculosis 1,2,4-triazol-1-yl-pyrazole based spirooxindolopyrrolizidines. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters.* 29, 1682-1687. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2019.04.026>

65. Prasad, P., Kalola, A. G., Patel, M. P. (2018). Microwave assisted one-pot synthetic route to imidazo[1,2-*a*]pyrimidine derivatives of imidazo/triazole clubbed

pyrazole and their pharmacological screening. *New Journal of Chemistry*. 42(15), 12666-12676. <https://doi.org/10.1039/C8NJ00670A>

66. Xu, M., Cheng, G., Xiong, H., Wang, B., Ju, X., Yang, H. (2019). Synthesis of high-performance insensitive energetic materials based on the nitropyrazole and 1,2,4-triazole. *New Journal of Chemistry*. 43, 11157-11163. <https://doi.org/10.1039/C9NJ01445D>

67. Kumar, N., Jain, N., Kishore, D. (2018). Pyrazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazoles: synthesis and biological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 156, 494-517.

68. Alsayari, A., Muhsinah, A. B., Asiri, Y. I., Al-Aizari, F. A., Kheder, N. A., Almarhoon, Z. M., Ghabbour, H. A, Mabkhot, Y. N. (2021). Synthesis, characterization, and biological evaluation of some novel pyrazolo[5,1-*b*]thiazole derivatives as potential antimicrobial and anticancer agents. *Molecules*. 26(17): 5383. Retrieved from <https://doi/10.3390/molecules26175383>

69. El-Sherief, H. A. M., Youssif, B. G. M., Bukhari, S. N. A., Abdel-Aziz M., Abdel-Rahman H. M. (2018). Novel 1,2,4-triazole derivatives as potential anticancer agents: design, synthesis, molecular docking and mechanistic studies. *Bioorg Chem*. 76, 314-325. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.013>

70. Wang, S., Zhao, L. J., Zheng, Y. C., Shen, D. D., Miao, E. F., Qiao, X, P., Zhao, L. J., Liu, Y., Huang, R., Yu, B., Liu, H. M. (2017). Design, synthesis and biological evaluation of [1,2,4]triazolo[1,5-*a*]pyrimidines as potent lysine specific demethylase 1 (LSD1/KDM1A). *European Journal of Medicinal Chemistry*. 125, 940-951. [10.1016/j.ejmech.2016.10.021](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.10.021)

71. Hashem, H. E., Amr, A.-G. E., Nossier, E. S., Anwar, M. M., Azmy, E. M. (2022). New benzimidazole-, 1,2,4-triazole-, and 1,3,5-triazine-based derivatives as potential EGFRWT and EGFR T790M inhibitors: microwave-assisted synthesis, anticancer evaluation, and molecular docking study. *ACS Omega*. 7(8), 7155–7171. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06836>

72. Dong, G., Jiang, Y., Zhang, F., Zhu, F., Liu, J., Xu, Z. (2023). Recent updates on 1,2,3-, 1,2,4-, and 1,3,5-triazine hybrids (2017–present): the anticancer activity,

structure-activity relationships, and mechanisms of action. *Archiv der Pharmazie*. 356(3), 2200479. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/ardp.202200479>

73. Melal, S. P., Mahmoodi, N. O. (2023). A review of synthetic methods of 1,2,4-triazolopyridines and their therapeutic properties. *Results in Chemistry*. 5, 100782. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2023.100782>

74. Tay, N. F., Duran, M., Kayagil, İ., Yurttaş, L., Göger, G., Göger, F., Demirci, F., Demirayak, Ş. (2022). Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of pyridyl substituted thiazolyl triazole derivatives. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 58, e191026. Retrieved from <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e191026>

75. Mallisetty, N. M., Ganipiseti, H., Majhi, D., Sirisilla, R., Kumar, P. V. N. (2023). Synthesis and biological activity evaluation of pyrazole-1,2,4-triazole hybrids: a computer-aided docking studies. *Current Drug Discovery Technologies*. 20(2), e251122211263. Retrieved from <https://doi.org/10.2174/1570163820666221125121625>

76. El-Adl, K., El-Helby, A. A., Sakr, H., Elwan, A. (2020). Design, synthesis, molecular docking and anti-proliferative evaluations of [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]quinoxaline derivatives as DNA intercalators and Topoisomerase II inhibitors. *Bioorg Chem*. 105, 104399. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104399>

77. Salem, M. E., Mahrous, E. M., Ragab, E. A., Nafie, M. S., Dawood, K. M. (2023). Synthesis and anti-breast cancer potency of mono- and bis-(pyrazolyl[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine) derivatives as EGFR/CDK-2 target inhibitors. *ACS Omega*. 8(38), 35359–35369. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c05309>

78. Jawad, W. A., Balakit, A. A., Al-Jibouri, M. N. A., Sert, Y., Obies, M. (2023). Design, synthesis, characterization, antioxidant, antiproliferative activity and molecular docking studies of new transition metal complexes of 1,2,4-triazole as combretastatin A-4 analogues. *Journal of Molecular Structure*. 1274, 134437. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2022.134437>

79. Pinteá, B.-N., Bercean, V.-N., Badea, V. (2022). 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. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. 136, 125-169. <https://doi.org/10.1016/bs.aihch.2021.09.001>

80. Fouad, M. M. (2023). Design, synthesis, and antioxidant activity screening of some new thiazole and pyrazolo[5,1-*c*][1,2,4]triazole derivatives. *ChemRxiv*. Cambridge: Cambridge Open Engage. Retrieved from <https://doi:10.26434/chemrxiv-2023-557bw>

81. LaPorte, M. G., Wang, Z., Colombo, R., Garzan, A., Peshkov, V. A., Liang, M., Johnston, P. A., Schurdak, M. E., Sen, M., Camarco, D. P. (2016). Optimization of pyrazole-containing 1,2,4-triazolo-[3,4-*b*]thiadiazines, a new class of STAT3 pathway inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 26, 3581-3585. <https://doi:10.1016/j.bmcl.2016.06.017>

82. Penta, S., Gadidasu, K. K., Basavoju, S., Rao, V. R. (2013) An efficient one-pot synthesis of pyrazolyl-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-6-yl)-2*H*-pyran-2-one derivatives via multicomponent approach and their potential antimicrobial and nematicidal activities. *Tetrahedron Lett*. 54, 5663–5666. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.07.148>

83. Reddy, C. S., Rao, L. S., Sunitha, B., Nagaraj, A. (2015). Synthesis and antibacterial activity of *N*-substituted-[1,2,4]triazoles and 1,2,4-triazole[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines. *Indian J Chem*. 54B(10), 1283-1289. <https://doi.org/10.1002/chin.201615135>

84. Puthiyapurayil, P., Poojary, B., Buridipad, S. K. (2014). Synthesis, characterization and biological evaluation of a novel series of 1,2,4-triazolo-[3,4-*b*]-1,3,4-thiadiazines containing an amide linkage. *J. Heterocycl. Chem*. 51(51), E55–E67. Retrieved from <https://doi.org/10.1002/jhet.1766>

85. Mu, J.-X., Shi, Y.-X., Yang, M.-Y., Sun, Z.-H., Liu, X.-H., Li, B.-J., Sun, N.-B. (2016). Design, synthesis, DFT study and antifungal activity of pyrazolecarboxamide derivatives. *Molecules*. 21(1), 68. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules21010068>

86. Vijesh, A. M., Isloor, A. M., Shetty, P., Sundershan, S., Fun, H. K. (2013). New pyrazole derivatives containing 1,2,4-triazoles and benzoxazoles as potent

antimicrobial and analgesic agents. *Eur. J. Med. Chem.* 62, 410-415.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.12.057>

87. Bhatt, J. D., Chudasama, C. J., Patel, K. D. (2015). Pyrazole clubbed triazolo[1,5-*a*]pyrimidine hybrids as an anti-tubercular agents: synthesis, *in vitro* screening and molecular docking study. *Bioorg. Med. Chem.* 23(24), 7711-7716.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.11.018>

88. Xia, M. Y., Cai, Y. X., Chen, J. X., Zhao, X., Dong, H. M., Yang, Z. C. (2023). Synthesis, antimycobacterial evaluation, and molecular docking study of 1,2,4-triazole derivatives. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 38(1), 2229070. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/14756366.2023.2229070>

89. Paprocka, R., Kołodziej, P., Wiese-Szadkowska, M., Helmin-Basa, A., Bogucka-Kocka, A. (2022). Evaluation of anthelmintic and anti-inflammatory activity of 1,2,4-triazole derivatives. *Molecules*. 27(14), 4488. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules27144488>

90. Hamoud, M. M. S., Osman, N. A., Rezaq, S., Abd El-Wahab, H., Hassan, A., Abdel-Fattah, H. A., Romero, D. G., Ghanim, A. M. (2022). Design and synthesis of novel 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole derivatives as cyclooxygenase-2 inhibitors with anti-inflammatory and antioxidant activity in LPS-stimulated RAW264.7 macrophages. *Bioorganic chemistry*. 124, 105808. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.1058080>.

91. Azim, T., Wasim, M., Akhtar, M. S., Akram I. (2021). An *in vivo* evaluation of anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activities of newly synthesized 1,2,4-triazole derivatives. *BMC complementary medicine and therapies*. 21(1), 304. Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03485-x>

92. Pachuta-Stec, A. (2022). Antioxidant activity of 1,2,4-triazole and its derivatives: a mini-review. *Mini reviews in medicinal chemistry*. 22(7), 1081-1094.
<https://doi.org/10.2174/1389557521666210401091802>

93. Appell, M., Compton, D. L., Evans, K. O. (2020). Predictive quantitative structure-activity relationship modeling of the antifungal and antibiotic properties of

triazolothiadiazine compounds. *Methods and protocols*, 4(1), 2. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/mps4010002>

94. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2021). Synthesis and properties of *S*-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 14(3), 268-274. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176>

95. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of *S*-alkyl 4-amino-5-(5-(3-fluorophenyl)pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(1), 5-11. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273461>

96. Gavara, L., Verdirosa, F., Seville, L., Legru, A., Corsica, G., Nauton, L., Mercuri, S. P., Sannio, F., De Luca, F., Hadjadj, M., Cerboni, G., Vo, H. Y., Licznar-Fajardo, P., Galleni, M., Docquier, J. D., Hernandez, J. F. (2022). 1,2,4-Triazole-3-thione analogues with an arylalkyl group at position 4 as metallo- β -lactamase inhibitors. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 72, 116964. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2022.116964>

97. Gavara, L., Legru, A., Verdirosa, F., Seville, L., Nauton, L., Corsica, G., Mercuri, P. S., Sannio, F., Feller, G., Coulon, R., De Luca, F., Cerboni, G., Tanfoni, S., Chelini, G., Galleni, M., Docquier, J. D., Hernandez, J. F. (2021). 4-Alkyl-1,2,4-triazole-3-thione analogues as metallo- β -lactamase inhibitors. *Bioorganic chemistry*. 113, 105024. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105024>

98. Gotsulya, A., Fedotov, S., Zynych, O., Trofimova, T., Brytanova, T. (2023). Synthesis and properties of *S*-alkyl 4-(4-chlorophenyl)-5-(pyrrole-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 47(3), 1020-1032. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1280492>

99. Gotsulya, A. (2020). Synthesis and antiradical activity of alkyl derivatives of 5-(5-methyl-1*H*-pyrazol-3-yl)-4-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 44(2), 211-219. <https://doi.org/10.33483/jfpau.616116>

100. Hotsulia, A. S., Kulish, S. M. (2020). Synthesis and properties of some pyrazole derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol. *Current Issues in Pharmacy and*

Medicine: Science and Practice. 13(3), 318-323. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216164>

101. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Synthesis and research of biological properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.* (с. 10-12). 11-12 листопада, 2021, Харків, Україна: НФаУ.

102. Fedotov, S., Gotsulya, A., Zaika, Y., Brytanova, T. (2023). 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. *J. Fac. Pharm. Ankara*. 47(2), 336-348. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1180794>

103. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2022). 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. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(3), 227-234. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.263994>

104. Fedotov, S. O. Synthesis and properties of 3-alkylthio derivatives of 9-methylpyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine. *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки – 2022: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених* (с. 81). 04 лютого, 2022, Запоріжжя, Україна: ЗДМУ.

105. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S., Panasenko, O. I. (2022). Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazoles. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(2), 117-122. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.2.259227>

106. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazole. *Запорізький фармацевтичний форум – 2022: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* (с. 120). 17-18 листопада, 2022, Запоріжжя, Україна: ЗДМУ.

107. Aggarwal, R., Hooda, M., Kumar, P., Sumran, G. (2022). Vision on synthetic and medicinal facets of 1,2,4-triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine scaffold. *Topics in current chemistry (Cham)*. 380(2), 10. <https://doi.org/10.1007/s41061-022-00365-x>

108. Hussein, M. A., Shaker, R. M., Ameen, M. A., Mohammed, M. F. (2011). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, and antibacterial activities of some triazole, triazolothiadiazole, and triazolothiadiazine derivatives. *Archives of pharmacal research*. 34(8), 1239-1250. <https://doi.org/10.1007/s12272-011-0802-z>

109. Gao, W., Zhang, Y., Ye, R., Qi, X., Chen, L., Liu, X., Tang, L., Chen, L., Chen, H., Fan, Z. (2022). Discovery of novel triazolothiadiazines as fungicidal leads targeting pyruvate kinase. *Journal of agricultural and food chemistry*. 70(4), 1047-1057. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07022>

110. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(2), 121-129. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460>

111. Карп'як, В., Лесюк, О. (2021). Взаємодія 5-арилфурфуролів з 1-феніл-(4-толіл)піперазином та сіркою. *Вісник Львівського університету. Серія хімічна*. 62, 215-219. <https://doi.org/10.30970/vch.6201.215>

112. Андронаті, С. А., Корнилов, О. Ю., Поліщук, П. Г., Крисько, А. А., Крисько, О. Л., Кабанова, Т. А., Самбурський, С. Е. (2019). Синтез та антиагрегаційна активність антагоніста $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ -рецепторів на основі 2-(4-піперазин-1-іл)-3*H*-хіназолін-4-ону. *Доповіді Національної академії наук України*. 9, 60-67.

113. Власова, О. Д., Власов, С. В., Кабачний, В. І., Власов, В. С. (2020). Синтез, перетворення та біологічна активність похідних тієно[2,3-*d*]піримідину з карбоксильними замісниками в піримідиновому ядрі. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 18(4), 4-13. <https://doi.org/10.24959/opncj.20.209835>

114. Бобкова, Л. С., Бухтиарова, Т. А., Ядловский, О. Е. (2022). Рациональный дизайн у створенні потенційних нестероїдних протизапальних

препаратів – інгібіторів COX і 5-LOX. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 16(4), 219-239. <https://doi.org/10.33250/16.04.219>

115. Savjani, J., Variya, B., Patel, S., Mulamkattil, S., Amin, H., Butani, S., Allam, A., Ajarem, J., Shah H. (2022). Drug design, synthesis and biological evaluation of heterocyclic molecules as anti-inflammatory agents. *Molecules*. 27(4): 1262. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules27041262>

116. Paul, D., Sanap, G., Shenoy, S., Kalyane, D., Kiran, K., Tekade, R. K. (2021). Artificial intelligence in drug discovery and development. *Drug Discov Today*, 26(1): 80-93.

117. Talha, B. (2020). A new paradigm for drug development. *Lancet Digit Health*. 2(5): e226-e227. Retrieved from [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(20\)30088-1](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(20)30088-1)

118. Lipinski, C. A. (2016). Rule of five in 2015 and beyond: target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 101, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>

119. Nadin, A., Hattotuwigama, C., Churcher, I. (2012). Lead-oriented synthesis: a new opportunity for synthetic chemistry. *Angewandte Chemie International Edition*. 51(21), 1114-1122.

120. Hoang Thi, T. T., Pilkington, E. H., Nguyen, D. H., Lee, J. S., Park, K. D., & Truong, N. P. (2020). The Importance of Poly(ethylene glycol) Alternatives for Overcoming PEG Immunogenicity in Drug Delivery and Bioconjugation. *Polymers*, 12(2), 298. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/polym12020298>

121. Ali, J., Camilleri, P., Brown, M. B., Hutt, A. J., Kirton, S. B. (2012). Revisiting the general solubility equation: *in silico* prediction of aqueous solubility incorporating the effect of topographical polar surface area. *Journal of Chemical Information and Modeling*. 52, 420-428. <https://doi.org/10.1021/ci200387c>

122. Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small

molecules. *Scientific Reports*. 7, 42717. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/srep42717>

123. Ciorsac, A., Filip, M., Isvoran, A. (2021). Predict of water solubility of the low molecular weigh oligomers of polyhydroxyalkanoates. *New Frontiers in Chemistry*. 30(1), 25-34.

124. SwissADME. URL: <http://www.swissadme.ch/index.php#> (дата звернення: 06.09.2023).

125. Yang, C., Chen, E. A., Zhang, Y. (2022). Protein-ligand docking in the machine-learning era. *Molecules*. 27(14): 4568. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules27144568>

126. Thomas, M., Smith, R.T., O'Boyle, N. M., Graaf, C., Bender, A. (2021). Comparison of structure- and ligand-based scoring functions for deep generative models: a GPCR case study. *Journal of Cheminformatics*. 13, 39. Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s13321-021-00516-0>

127. Agu, P. C., Afiukwa, C. A., Orji, O. U., Ezeh, E. M., Ofoke, I. H., Ogbu, C. O., Ugwuja, E. I. & Aja, P. M. (2023). Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Scientific Reports*. 13, 13398. Retrieved from <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>

128. Trott, O., Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. 31(2), 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>

129. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. (2021). Sythesis and properties a some derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Запорізький фармацевтичний форум – 2021 : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* (с. 6). 25-26 листопада, 2021, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.

130. Fedotov, S. O. (2022). Synthesis and biological properties of 9-R-3-(methylthio)pyrazole[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022 : матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної*

конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів (с. 59). 17 травня, 2022, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.

131. Fedotov, S. O. (2022). 9-R-3-(methylthio)pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine and its derivatives: synthesis and properties. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали ІХ наук.-практ. конф. з міжнар. участю* (с. 21-22). 22-23 вересня, 2022, Тернопіль, Україна : ТНМУ.

132. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості *N*-(3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-іл)бензаміду та його похідних. *Хімічні Каразінські читання – 2023 : матеріали XV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів* (с. 12-14). 24-26 квітня, 2023, Харків, Україна.

133. Fedotov, S. O. (2023). Synthesis and study of physico-chemical properties of derivative analysis of (6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-7-yl)(R)methanone. *Modern chemistry of medicines : матеріали міжнародної Internet-конференції* (с. 33). 18 травня, 2023, Харків, Україна : НФаУ.

134. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості деяких 6-(2,6-дихлорфеніл)-7-*R*-3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-6,7-дигідро-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазинів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023 : матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (с. 111). 25-26 травня, 2023, Запоріжжя, Україна : ЗДМФУ.

135. Passino, D. R. M., Smith, S. B. (1987). Acute bioassays and hazard evaluation of representative contaminants detected in great lakes fish. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 6, 901-907. <https://doi.org/10.1002/etc.5620061111>

136. European convention for the protection of vertebrate animal used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 1986. Retrieved from <https://rm.coe.int/168007a67b>

137. Karpun, Y., Fedotov, S., Khilkovets, A., Karpenko, Y., Parchenko, V., Klochkova, Y., Bila, Y., Lukina, I., Nahorna, N., Nahorni, V. (2023). 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. *Pharmacia*. 70(1), 139-153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>.

138. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»». Retrieved from https://zakononline.com.ua/documents/show/95792_95792

139. Ядловський, О. Є., Коваль, А. Я., Серединська, Н. М., Бухтіарова, Т. А., Бершова, Т. А., Демченко, Д. А., Бобкова, Л. С., Демченко, А. М. (2015). Анальгезивна та протизапальна дії похідних 5,7-діацил-3*H*-(алкіл)-6-арил-5*H*-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. *Медична та клінічна хімія*. 17(2), 33-38.

140. Стефанов, О. А. (2001). *Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації)*. Київ: Авіцена.

Додаток А

Таблиця А1

Фармакокінетичний профіль синтезованих сполук

Сполука	Молекулярна маса, г/моль	Кількість акцепторів Н-зв'язків	Кількість донорів Н-зв'язків	Молекулярна рефракція	TPSA, Å ²	Log P _{o/w}	Log S (Ali)	Lipinski	Ghose	Veber	Egan	Мюегге	ШК-адсорбція	Подолання ГЕБ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2.16	196.23	3	2	49.96	124.21	0.22	-2.21	+	+	+	+	-	+	-
2.17	276.29	4	2	70.39	124.21	1.62	-3.63	+	+	+	+	+	+	-
2.18	288.33	4	2	76.93	133.44	1.34	-3.69	+	+	+	-	+	+	-
2.19	210.26	3	2	4.43	110.71	0.64	-2.30	+	+	+	+	+	+	-
2.20	224.29	3	2	59.24	110.71	0.93	-2.69	+	+	+	+	+	+	-
2.21	238.31	3	2	64.05	110.71	1.27	-3.24	+	+	+	+	+	+	-
2.22	252.34	3	2	68.85	110.71	1.61	-3.60	+	+	+	+	+	+	-
2.23	266.37	3	2	73.66	110.71	2.02	-4.17	+	+	+	+	+	+	-
2.24	280.39	3	2	78.47	110.71	2.28	-4.73	+	+	+	+	+	+	-
2.25	294.42	3	2	83.28	110.71	2.72	-5.29	+	+	+	+	+	+	-
2.26	308.45	3	2	88.08	110.71	3.07	-5.85	+	+	+	+	+	+	-
2.27	322.47	3	2	92.89	110.71	3.48	-6.41	+	+	+	+	+	+	-
2.28	336.50	3	2	97.70	110.7	3.61	-6.97	+	+	-	+	+	+	-
2.29	290.32	4	2	74.86	110.71	2.08	-3.72	+	+	+	+	+	+	-
2.30	304.35	4	2	79.67	110.71	2.36	-4.10	+	+	+	+	+	+	-
2.31	318.37	4	2	84.48	110.71	2.65	-4.65	+	+	+	+	+	+	-
2.32	332.40	4	2	89.28	110.71	2.95	-5.02	+	+	+	+	+	+	-
2.33	346.43	4	2	94.09	110.71	3.35	-5.58	+	+	+	+	+	+	-
2.34	360.45	4	2	98.90	110.71	3.70	-6.14	+	+	+	+	+	+	-
2.35	374.48	4	2	103.70	110.71	4.11	-6.70	+	+	+	+	+	+	-
2.36	388.51	4	2	108.51	110.71	4.46	-7.26	+	+	+	+	-	+	-
2.37	402.53	4	2	113.32	110.71	4.83	-7.82	+	+	-	+	-	-	-
2.38	416.56	4	2	118.12	110.71	5.16	-8.39	+	-	-	+	-	-	-
2.39	220.25	4	0	56.22	85.68	1.00	-1.92	+	+	+	+	+	+	-
2.40	234.28	4	0	61.03	85.68	1.33	-2.29	+	+	+	+	+	+	-

Продовж. табл. А1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
2.41	248.31	4	0	65.83	85.68	1.68	-2.73	+	+	+	+	+	+	-
2.42	262.33	4	0	70.64	85.68	2.01	-3.22	+	+	+	+	+	+	-
2.43	276.36	4	0	75.45	85.68	2.36	-3.78	+	+	+	+	+	+	-
2.44	290.39	4	0	80.25	85.68	2.72	-4.34	+	+	+	+	+	+	-
2.45	304.41	4	0	85.06	85.68	3.07	-4.90	+	+	+	+	+	+	-
2.46	318.44	4	0	89.87	85.68	3.44	-5.46	+	+	+	+	+	+	-
2.47	332.47	4	0	94.67	85.68	3.80	-6.02	+	+	+	+	+	+	-
2.48	346.49	4	0	99.48	85.68	4.16	-6.59	+	+	+	+	-	+	-
2.49	280.37	4	0	72.75	110.98	1.98	-3.71	+	+	+	+	+	+	-
2.50	294.40	4	0	77.55	110.98	2.26	-4.08	+	+	+	+	+	+	-
2.51	308.43	4	0	82.36	110.98	2.56	-4.63	+	+	+	+	+	+	-
2.52	322.45	4	0	87.17	110.98	2.88	-5.01	+	+	+	+	+	+	-
2.53	336.48	4	0	91.97	110.98	3.29	-5.57	+	+	+	+	+	+	-
2.54	350.51	4	0	96.78	110.98	3.61	-6.13	+	+	+	+	+	+	-
2.55	364.53	4	0	101.59	110.98	3.99	-6.69	+	+	+	+	+	+	-
2.56	378.56	4	0	106.40	110.98	4.28	-7.25	+	+	+	+	-	+	-
2.57	392.59	4	0	111.20	110.98	4.69	-7.82	+	+	-	+	-	+	-
2.58	406.61	4	0	116.01	110.98	5.11	-8.38	+	+	-	+	-	-	-
3.1	374.42	5	1	103.60	109.23	3.38	-5.53	+	+	+	+	+	+	-
3.2	404.45	6	1	110.10	118.46	3.37	-5.69	+	+	+	+	+	+	-
3.3	404.45	6	1	110.10	118.46	3.39	-5.69	+	+	+	+	+	+	-
3.4	408.86	5	1	08.61	109.23	3.88	-6.17	+	+	+	+	+	+	-
3.5	471.31	6	1	111.26	109.23	4.25	-6.35	+	+	+	+	+	+	-
3.6	471.31	6	1	111.26	109.23	4.25	-6.35	+	+	+	+	+	+	-
3.7	498.31	7	1	120.13	155.05	3.17	-7.03	+	-	-	-	-	-	-
3.8	235.27	4	2	60.51	112.03	0.96	-2.91	+	+	+	+	+	+	-
3.9	249.30	4	2	65.32	112.03	1.29	-3.29	+	+	+	+	+	+	-
3.10	297.34	4	2	80.75	112.03	2.31	-4.53	+	+	+	+	+	+	-
3.11	327.36	5	2	87.24	121.26	2.18	-4.69	+	+	+	+	+	+	-
3.12	331.78	4	2	85.76	112.03	2.85	-5.17	+	+	+	+	+	+	-
3.13	411.27	5	3	101.24	134.02	2.43	-5.76	+	+	+	-	+	+	-

Продовж. табл. А1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
3.14	425.29	5	2	105.56	123.02	2.72	-5.86	+	+	+	+	+	+	-
3.15	439.32	5	2	110.37	123.02	3.03	-6.24	+	+	+	+	+	+	-
3.16	453.35	5	2	115.18	123.02	3.34	-6.69	+	+	+	+	+	+	-
3.17	471.36	4	2	124.38	113.79	3.97	-7.21	+	+	+	+	-	+	-
3.18	501.39	5	2	130.87	123.02	3.90	-7.38	+	-	+	+	-	+	-
3.19	568.25	5	2	132.04	113.79	4.79	-8.03	-	-	+	+	-	-	-
3.31	328.35	5	1	86.01	114.8	1.76	-3.72	+	+	+	+	+	+	-
3.35	396.47	6	1	114.54	110.18	1.80	-3.50	+	+	+	+	+	+	-
3.36	438.51	6	0	124.45	118.46	1.90	-3.61	+	+	+	+	+	+	-
3.37	500.58	6	0	144.35	118.46	2.94	-5.32	+	-	+	+	+	+	-
3.38	514.60	6	0	148.93	118.46	3.01	-5.26	+	-	+	+	+	+	-
3.39	518.57	7	0	144.31	118.46	3.25	-5.42	-	-	+	+	+	+	-
3.40	506.60	6	0	142.23	146.70	2.98	-5.93	+	-	-	-	+	-	-

Таблиця А2

Афінність синтезованих сполук до модельних ферментів

Сполука	Афінність до ЦОГ-2	Афінність до ланестерол 14 α -деметилази	Афінність до кінази анапластичної лімфоми
1	2	3	4
Целекоксиб	-13.4	-	-
Флуконазол	-	- 10.1	-
Кризотиніб	-	-	-10.8
2.16	-4.9	-4.9	-5.5
2.17	-7.2	-8.5	-7.4
2.19	-4.5	-6.5	-5.2
2.20	-5.0	-6.6	-6.0
2.21	-5.3	-6.8	-6.4
2.22	-5.7	-7.5	-6.7
2.23	-6.1	-7.7	-6.5
2.24	-5.5	-8.1	-6.8
2.25	-6.6	-8.1	-7.4
2.26	-7.0	-8.4	-8.0
2.27	-7.3	-8.9	-7.9
2.28	-7.0	-9.4	-8.4
2.29	-6.8	-8.8	-7.6
2.30	-5.9	-9.0	-7.7
2.31	-4.7	-8.5	-8.2
2.32	-2.6	-8.5	-8.4
2.33	-2.5	-8.7	-8.5
2.34	-3.1	-8.3	-8.4
2.35	-1.8	-7.3	-6.5

Продовж. табл. А2

1	2	3	4
2.36	-5.3	-7.0	-7.9
2.37	-8.1	-6.8	-6.6
2.38	-8.1	-4.2	-7.7
2.39	-6.4	-6.1	-6.0
2.40	-6.6	-6.9	-6.2
2.41	-7.1	-7.4	-6.4
2.42	-7.5	-8.1	-6.6
2.43	-7.1	-8.0	-6.3
2.44	-5.9	-8.2	-7.5
2.45	-5.2	-8.1	-7.5
2.46	-4.9	-8.4	-7.4
2.47	-4.9	-9.0	-7.5
2.48	-4.9	-9.5	-7.6
2.49	-6.9	-7.2	-5.6
2.50	-6.4	-7.6	-6.5
2.51	-5.8	-7.7	-5.8
2.52	-4.9	-8.0	-7.0
2.53	-5.0	-8.1	-7.4
2.54	-3.9	-7.7	-7.8
2.55	-3.7	-7.6	-6.0
2.56	-3.8	-7.9	-5.9
2.57	-4.3	-8.0	-8.5
2.58	-4.7	-5.4	-5.9
3.1	-6.2	-10.6	-5.8
3.2	-6.6	-9.5	-6.3
3.3	-6.3	-10.6	-6.5

Продовж. табл. А2

1	2	3	4
3.4	-6.1	-10.3	-8.5
3.5	-6.2	-10.6	-7.6
3.6	-6.8	-10.1	-7.8
3.7	-6.3	-11.3	-8.2
3.8	-6.4	-10.9	-6.4
3.9	-6.0	-11.6	-8.5
3.10	-7.1	-11.2	-8.1
3.11	-6.3	-10.4	-6.8
3.12	-6.2	-10.8	-7.7
3.13	-8.0	-9.1	-8.1
3.14	-6.3	-9.0	-7.2
3.15	-6.2	-8.0	-8.3
3.16	-6.5	-9.4	-7.3
3.17	-8.7	-9.3	-8.7
3.18	-8.4	-9.7	-8.0
3.19	-6.8	-10.3	-9.2
3.36	-7.5	-10.5	-8.8
3.37	-7.2	-11.6	-7.4
3.38	-4.8	-10.7	-8.9
3.39	-8.9	-10.7	-8.5
3.40	-5.2	-10.6	-8.5

Таблиця АЗ

Протимікробна активність синтезованих похідних 1,2,4-триазолу

Сполука	Результати досліджень							
	Протимікробна активність						Протигрибкова активність	
	<i>E. coli</i> АТСС 25922		<i>S. aureus</i> АТСС 25923		<i>P. aeruginosae</i> АТСС 27853		<i>C. albicans</i> АТСС 885-653	
	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МБЦК МКГ/МЛ	МІК, МКГ/МЛ	МФЦК, МКГ/МЛ
1	2	3	4	5	6	7	8	9
2.16	125	250	62,5	125	125	250	31,25	62,5
2.17	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	62,5	125
2.18	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
2.19	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.20	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.21	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.22	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	31,25
2.23	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
2.24	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	31,25
2.25	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
2.26	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.27	62,5	125	125	250	31,25	62,5	62,5	125
2.28	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	62,5	62,5
2.29	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	62,5
2.31	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	62,5
2.32	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.33	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.34	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	62,5	125
2.35	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	62,5

Продовж. табл. А3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
2.36	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.37	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.38	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.39	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.40	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.41	125	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.42	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.43	125	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.44	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.45	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
2.46	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
2.47	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.48	125	250	62,5	125	62,5	125	62,5	125
2.49	62,5	62,5	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
2.50	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
2.51	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
2.52	62,5	125	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5
2.53	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	125	125
2.54	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	125	125
2.56	62,5	125	125	125	31,25	62,5	62,5	62,5
2.58	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	15,6	31,25
3.1	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.2	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.5	7,8	15,6	62,5	125	31,25	125	62,5	125
3.7	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	125

Продовж. табл. А3

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.8	62,5	125	15,6	31,25	31,25	62,5	62,5	125
3.10	62,5	125	62,5	125	31,25	125	62,5	125
3.12	62,5	125	62,5	125	31,25	125	31,25	31,25
3.13	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	125
3.15	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.16	125	125	62,5	125	31,25	62,5	3,9	7,8
3.17	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.18	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.19	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	15,6	15,6
3.20	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	15,6	15,6
3.21	62,5	125	125	125	62,5	125	62,5	125
3.22	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.24	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
3.26	62,5	125	62,5	125	31,25	125	31,25	31,25
3.28	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	62,5
3.29	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	62,5	62,5

Таблиця А4

Аналгетична активність похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-триазол-3-тіолу на моделі «оцтовокислих корчів»

№ з/п	Сполука	Кількість корчів	$M \pm m$	Аналгетична активність, %
1	2	3	4	5
1	Контроль	21	18,333±2,517	-
		18		
		16		
		18,3*		
2	2.16	11	11,333±2,517	38,25
		9		
		14		
		11,3*		
3	2.17	6	9,667±3,215	47,54
		12		
		11		
		9,6*		
4	2.20	9	8,657±3,512	53
		5		
		12		
		8,6*		
5	2.30	8	8,000±2,000	56,28
		6		
		10		
		8*		
6	3.13	5	6,667±3,786	63,93
		11		
		4		
		6,6*		

Продовж. табл. А4

1	2	3	4	5
7	3.16	3	3,333±0,578	81,96
		4		
		3		
		3,3*		
8	3.17	12	7,000±5,000	61,74
		7		
		2		
		7*		
9	3.18	14	10,667±3,055	42,07
		10		
		8		
		10,6*		
10	Натрій метамізол	8	9,333±1,528	49,18
		11		
		9		
		9,3*		

* - середнє значення

Додаток Б

Додаток Б.1

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та
інноваційної діяльностіДніпровського державного
аграрно-економічного університету

д. с.-г. наук, проф.

Юрій ТКАЛІЧ

2023 р.



Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** Синтез і молекулярний докінг деяких похідних 9-метилпіразоло[1,5-d][1,2,4]триазоло[3,4-f]-[1,2,4]триазин-3-тіолу.
2. **Ким запропоновано:** Дніпровським державним аграрно-економічним університетом, кафедрою інфекційних хвороб тварин; Запорізьким державним медичним університетом, кафедрою природничих дисциплін та токсикологічної хімії для іноземних здобувачів вищої освіти.
3. **Автор:** Федотов С.О., Гоцуля А.С., Заїка Є.О., Британова Т.С.
4. **Джерело інформації:** Fedotov, S. , Gotsulya, A. , Zaika, Y. & Brytanova, T. (2023). Design, synthesis and molecular docking of some derivatives of 9-methyl-pyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine-3-thiol. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47 (2), 3-3. doi: 10.33483/jfpau.1180794.
5. **Ким і коли впроваджено:** в науковий та учбовий процес кафедрою інфекційних хвороб тварин, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 1 від «30» серпня 2023 року.
6. **Зауваження та пропозиції:** продовжити роботу по синтезу похідних 9-метилпіразоло[1,5-d][1,2,4]триазоло[3,4-f]-[1,2,4]триазин-3-тіолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедрою інфекційних
хвороб тварин, к.вет.н., доцент

Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

Додаток Б.2

Державна служба України з питань
безпеки харчових продуктів
та захисту споживачів
Держпродспоживслужба



State Service for Food Safety and
Consumer Protection
of Ukraine
SSUFSCP

ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНИХ
ПРЕПАРАТІВ ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК

вул. Донешька, 11, м. Львів, 79019
тел.: (032) 252 33 72; факс: (032) 252 27 78
e-mail: secretar@scivp.lviv.ua www.scivp.lviv.ua
ЄДРПОУ 00485670

STATE SCIENTIFIC RESEARCH CONTROL
INSTITUTE OF VETERINARY MEDICAL
PRODUCTS AND FEED ADDITIVES

Donetska str., 11, Lviv, 79019, Ukraine
tel.: +38 032 252 33 72; fax: +380 32 252 27 78
e-mail: secretar@scivp.lviv.ua www.scivp.lviv.ua
EDRPOU 00485670

№ 218-Дж від «30» 2023 р.

на № від « » 20 р.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. директора ДНДКІ ветеринарних
препаратів та кормових добавок, к.вет.н.,
Андрій Остап'юк
2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: 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.

Установа розробник: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26; кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.

Автори: Fedotov S. O., Gotsulya A. S., Zaika Ye., Brytanova T. S.

Джерело інформації: Fedotov, S. , Gotsulya, A. , Zaika, Y. & Brytanova, T. (2023). 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. Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University, 47 (2), 3-3. doi: 10.33483/jfpau.1180794.

Де та коли впроваджено: В науково-дослідний процес ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, (протокол засідання Вченої ради: № 1 від 23.02.2023).

Зауваження та пропозиції: Продовжити подальшу роботу щодо синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивчення їх фармако-токсикологічних властивостей.

Заступника директора Інституту
з наукової роботи, д. вет. н., професор

Віктор МУЗИКА

Вик.: вчений секретар Інституту,
д.вет.н., проф. Брезвин О. М. тел.: (032) 252-83-33.

Додаток Б.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. ректора Полтавського державного
аграрного університету, професор
Аранчій В.І.
« 19 » березня 2023 р.



Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: 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.

2. Ким запропоновано: Запорізьким державним медичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.

3. Автор: Fedotov S. O., Gotsulya A. S., Zaika Ye., Brytanova T. S.

4. Джерело інформації: Fedotov, S. , Gotsulya, A. , Zaika, Y. & Brytanova, T. (2023). Design, synthesis and molecular docking of some derivatives of 9-methyl-pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine-3-thiol. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47 (2), 3-3. doi: 10.33483/jfpa.1180794.

5. Ким і коли впроваджено: в науковий та учбовий процес кафедрою хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 7 від «16» березня 2023 року.

6. Зауваження та пропозиції: продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри хірургії та акушерства
доктор ветеринарних наук, професор

Киричко Б.П.

Додаток Б.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медико-фармацевтичного
університету,

д. мед. н., професор

Валерій ТУМАНСЬКИЙ

» 15.03.23 2023 р.

1. **Найменування 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. **Ким запропоновано:** Запорізьким державним медико-фармацевтичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.
3. **Автори:** Y. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets, Y. Karpenko, V. Parchenko, Y. Klochkova, Y. Bila, I. Lukina, N. Nahorna, V. Nahorny.
4. **Джерело інформації:** Karpun Y., Fedotov S., Khilkovets A., Karpenko Y., Parchenko V., Klochkova Y., Bila Y., Lukina I., Nahorna N., Nahorny V. (2023). 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. *Pharmacia* 70(1): 139–153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>.
5. **Ким і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедрою фармацевтичної, органічної і біоорганічної хімії ЗДМФУ, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 5 від «11» січня 2023 року.
6. **Термін впровадження:** з 01.03.2023 року до 01.09.2023 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

д. фарм. н., професорка,
завідувачка кафедри
фармацевтичної, органічної
і біоорганічної хімії ЗДМФУ

Людмила КУЧЕРЕНКО

Додаток Б.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Запорізького державного
 медико-фармацевтичного
 університету,
 д. мед. н., професор
 Валерій ТУМАНСЬКИЙ
 _____ вересня _____ 2023 р.



Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** 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.
2. **Ким запропоновано:** Запорізьким державним медико-фармацевтичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.
3. **Автори:** Fedotov S. O., Gotsulya A. S., Zaika Ye. O., Brytanova T. S.
4. **Джерело інформації:** Fedotov S., Gotsulya A., Zaika Y. & Brytanova T. (2023). 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. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47 (2): 336-348. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1180794>.
5. **Ким і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедрою фізколоїдної хімії ЗДМФУ, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 1 від «25» серпня 2023 року.
6. **Термін впровадження:** з 01.09.2023 року.
7. **Зауваження та пропозиції:** продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

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



Андрій КАПЛАУШЕНКО

Додаток Б.6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного
медико-фармацевтичного
університету,

д. мед. н., професор

Валерій ТУМАНСЬКИЙ



Вірема 2023 р.

Акт впровадження

- 1. Найменування 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. Ким запропоновано:** Запорізьким державним медико-фармацевтичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.
- 3. Автори:** Y. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets, Y. Karpenko, V. Parchenko, Y. Klochkova, Y. Bila, I. Lukina, N. Nahorna, V. Nahorny.
- 4. Джерело інформації:** Karpun Y., Fedotov S., Khilkovets A., Karpenko Y., Parchenko V., Klochkova Y., Bila Y., Lukina I., Nahorna N., Nahorny V. (2023). 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. *Pharmacia* 70(1): 139–153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>.
- 5. Ким і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедрою біологічної хімії ЗДМФУ, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 1 від «18» серпня 2023 року.
- 6. Зауваження та пропозиції:** продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

д. фарм. н., професор,
в. о. завідувача кафедри
біологічної хімії ЗДМФУ



Дмитро ІВАНЧЕНКО

Додаток Б.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та
інноваційної діяльностіДніпровського державного
аграрно-економічного університету

д. с.-г. наук, проф.

Юрій ТКАЛІЧ

_____ 2023 р.



Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: Дослідження *in silico* похідних 1,2,4-триазолу як потенційних антиоксидантів з використанням молекулярного докінгу, моделювання MD, розрахунків вільної енергії MM-PBSA та прогнозів ADME.

2. Ким запропоновано: Дніпровським державним аграрно-економічним університетом, кафедрою інфекційних хвороб тварин; Запорізьким державним медичним університетом, кафедрою природничих дисциплін та токсикологічної хімії для іноземних здобувачів вищої освіти.

3. Автор: Федотов С.О., Карпун Є.О., Хільковець А.В., Карпенко Ю.В., Парченко В.В., Клочкова Ю.В., Біла Ю.О., Лукіна І.В., Нагорна Н.В., Нагорний В.В.

4. Джерело інформації: : Karpun Y, Fedotov S, Khilkovets A, Karpenko Y, Parchenko V, Klochkova Y, Bila Y, Lukina I, Nahorna N, Nahorny V (2023) 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. *Pharmacia* 70(1): 139–153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>.

5. Ким і коли впроваджено: в науковий та навчальний процес кафедрою інфекційних хвороб тварин, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 1 від «30» серпня 2023 року.

6. Зауваження та пропозиції: продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедрою інфекційних
хвороб тварин, к.вет.н., доцент

Володимир ЗАЖАРСЬКИЙ

Додаток Б.8

Акт впровадження

1. Найменування для впровадження: 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

2. Ким запропоновано: Запорізьким державним медичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.

3. Автор: Fedotov S. O., Gotsulya A. S., Zaika Ye., Brytanova T. S.

4. Джерело інформації: Fedotov, S. , Gotsulya, A. , Zaika, Y. & Brytanova, T. (2023). 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. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47 (2), 3-3. doi: 10.33483/jfpau.1180794.

5. Ким і коли впроваджено: в науковий та учбовий процес кафедрою гігієни, санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М. В. Демчука Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2023 рік, протокол засідання кафедри №2 від «07» вересня 2023 року.

6. Зауваження та пропозиції: продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

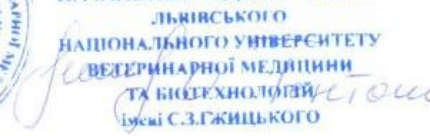
Завідувач кафедри гігієни, санітарії та загальної ветеринарної профілактики імені М. В. Демчука Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, д. вет. н., професор



Б. В. Гутий

**ВІРНО**

НАЧАЛЬНИК ВІДДІЛУ КАДРІВ
Львівського
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ
ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО



Додаток Б.9

Державна служба України з питань
безпеки харчових продуктів
та захисту споживачів
Держпродспоживслужба



State Service for Food Safety and
Consumer Protection
of Ukraine
SSUFSCP

ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
КОНТРОЛЬНИЙ ІНСТИТУТ ВЕТЕРИНАРНИХ
ПРЕПАРАТІВ ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК

STATE SCIENTIFIC RESEARCH CONTROL
INSTITUTE OF VETERINARY MEDICAL
PRODUCTS AND FEED ADDITIVES

вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019
тел.: (032) 252 33 72; факс: (032) 252 27 78
e-mail: secretar@scivp.lviv.ua www.scivp.lviv.ua
ЄДРПОУ 00485670

Donetska str., 11, Lviv, 79019, Ukraine
tel.: +38 032 252 33 72; fax: +380 32 252 27 78
e-mail: secretar@scivp.lviv.ua www.scivp.lviv.ua
EDRPOU 00485670

№ 218-1101/18 від «30» 03 2023 р.

на № _____ від « _____ » _____ 20 _____ р.



«ЗАТВЕРДЖУЮ»
В.о. директора ДНДКІ ветеринарних
препаратів та кормових добавок, к.вет.н.,
Андрій Остап'юк
» _____ 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва 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.

Установа розробник: Запорізький державний медичний університет, 69035, м. Запоріжжя, проспект Маяковського, 26; кафедра природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.

Автори: Y. Karpun, S. Fedotov, A. Khilkovets, Y. Karpenko, V. Parchenko, Y. Klochkova, Y. Bila, I. Lukina, N. Nahorna, V. Nahorni.

Джерело інформації: Karpun Y, Fedotov S, Khilkovets A, Karpenko Y, Parchenko V, Klochkova Y, Bila Y, Lukina I, Nahorna N, Nahorni V. 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 / Pharmacia, (2023) – 70(1): 139-153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>.

Де та коли впроваджено: В науково-дослідний процес ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, (протокол засідання Вченої ради: № 1 від 23.02.2023).

Зауваження та пропозиції: Продовжити подальшу роботу щодо синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивчення їх фармако-токсикологічних властивостей.

Заступника директора Інституту
з наукової роботи, д. вет. н., професор

Віктор МУЗИКА

Вик.: вчений секретар Інституту,
д.вет.н., проф. Брезвин О. М. тел.: (032) 252-83-33.

Додаток Б.10

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 Запорізького державного
 медико-фармацевтичного
 університету,
 д. мед. н., професор
 Валерій ТУМАНСЬКИЙ
 травня 2023 р.



Акт впровадження

1. **Найменування для впровадження:** 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.
2. **Ким запропоновано:** Запорізьким державним медико-фармацевтичним університетом, кафедрою природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії.
3. **Автори:** Fedotov S. O., Gotsulya A. S., Zaika Ye. O., Brytanova T. S.
4. **Джерело інформації:** Fedotov S., Gotsulya A., Zaika Y. & Brytanova T. (2023). 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. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 47 (2): 336-348. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1180794>.
5. **Ким і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедрою аналітичної хімії ЗДМФУ, 2023 рік, протокол засідання кафедри № 2 від «28» серпня 2023 року.
6. **Зауваження та пропозиції:** продовжити роботу по синтезу похідних 1,2,4-триазолу та вивченню їх властивостей.

Відповідальний за впровадження

д. фарм. н., професорка,
 завідувачка кафедри
 аналітичної хімії ЗДМФУ



Світлана ВАСІЮК

Додаток В

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2021). Synthesis and properties of *S*-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 14(3), 268-274. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176>
2. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S., Panasenko, O. I. (2022). Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazoles. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(2), 117-122. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.2.259227>
3. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2022). 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. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 15(3), 227-234. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.263994>
4. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of *S*-alkyl 4-amino-5-(5-(3-fluorophenyl)pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(1), 5-11. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273461>
5. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1*H*-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5*H*-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*]-[1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 16(2), 121-129. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460>
6. Fedotov, S., Gotsulya, A., Zaika, Y., Brytanova, T. (2023). 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. *J. Fac. Pharm. Ankara*. 47(2), 336-348. <https://doi.org/10.33483/jfpau.1180794>

Продовж. дод. В

7. Karpun, Y., Fedotov, S., Khilkovets, A., Karpenko, Y., Parchenko, V., Klochkova, Y., Bila, Y., Lukina, I., Nahorna, N., Nahorni, V. (2023). 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. *Pharmacia*. 70(1), 139-153. <https://doi.org/10.3897/pharmacia.70.e90783>
8. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Sythesis and research of biological properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали VI Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф.* (с. 10-12). 11-12 листопада, 2021, Харків, Україна: НФаУ.
9. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. (2021). Sythesis and properties a some derivatives of 4-amino-5-(5-R-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol. *Запорізький фармацевтичний форум – 2021 : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* (с. 6). 25-26 листопада, 2021, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ
10. Fedotov, S. O. (2022). Synthesis and properties of 3-alkylthio derivatives of 9-methylpyrazolo[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine. *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки – 2022 : матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції студентів та молодих вчених* (с. 81). 04 лютого, 2022, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.
11. Fedotov, S. O. (2022). Synthesis and biological properties of 9-R-3-(methylthio)pyrazole[1,5-d][1,2,4]triazolo[3,4-f][1,2,4]triazine. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2022 : матеріали 82 Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю молодих вчених та студентів* (с. 59). 17 травня, 2022, Запоріжжя, Україна : ЗДМУ.

Продовж. дод. В

12. Fedotov, S. O. (2022). 9-R-3-(methylthio)pyrazolo[1,5-*d*][1,2,4]-triazolo[3,4-*f*][1,2,4]triazine and its derivatives: synthesis and properties. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : матеріали ІХ наук.-практ. конф. з міжнар. участю* (с. 21-22). 22-23 вересня, 2022, Тернопіль, Україна : ТНМУ.

13. Fedotov, S. O., Gotsulya, A. S. Synthesis and properties of some 3-(5-(4-methoxyphenyl)pyrazol-3-yl)-6-R-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazole. *Запорізький фармацевтичний форум – 2022: матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю* (с. 120). 17-18 листопада, 2022, Запоріжжя, Україна: ЗДМУ.

14. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості *N*-(3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол-6-іл)бензаміду та його похідних. *Хімічні Каразінські читання – 2023 : матеріали XV Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів* (с. 12-14). 24-26 квітня, 2023, Харків, Україна.

15. Fedotov, S. O. (2023). Synthesis and study of physico-chemical properties of derivative analysis of (6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methylpyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazin-7-yl)(R)methanone. *Modern chemistry of medicines : матеріали міжнародної Internet-конференції* (с. 33). 18 травня, 2023, Харків, Україна : НФаУ.

16. Федотов, С. О. (2023). Синтез та властивості деяких 6-(2,6-дихлорфеніл)-7-R-3-(3-метил-1*H*-піразол-5-іл)-6,7-дигідро-5*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазинів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації – 2023 : матеріали 83 Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю* (с. 111). 25-26 травня, 2023, Запоріжжя, Україна: ЗДМФУ.

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: №05/02/02-1424 від 05.04.2016;
Цілісність даних: не порушена;



Підпис № 1 (реквізити підписувача та дані сертифіката)
Підписувач: ФЕДОТОВ СЕРГІЙ ОЛЕГОВИЧ 3577101432;
Належність до Юридічної особи: ФІЗИЧНА ОСОБА;
Код юридичної особи в ЄДР: 3577101432;
Серійний номер кваліфікованого сертифіката: 5E984D526F82F38F04000000A15B38012509A704;
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): 14:45 18.12.2023;
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для підпису від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)
Час та дата підпису (позначка часу для даних): 14:45 18.12.2023;
Чинний на момент підпису. Підтверджено позначкою часу для даних від АЦСК (кваліфікованого надавача електронних довірчих послуг)