

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

БІГДАН ОЛЕКСІЙ АНТОНОВИЧ

УДК 547.792.057:615.015.4

ДИСЕРТАЦІЯ

СИНТЕЗ, ХІМІЧНА МОДИФІКАЦІЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
3-, 4-, 5-ТРИЗАМІЩЕНИХ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ

15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук

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


Бігдан О. А.

Запоріжжя – 2022

АНОТАЦІЯ

Бігдан О. А. Синтез, хімічна модифікація та біологічні властивості 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.02 – фармацевтична хімія та фармакогнозія (226 – фармація, промислова фармація). – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2022.

Представлена дисертаційна робота є комплексним прикладним дослідженням. За результатами проведеного комплексного випробування, виявлено серію нових біологічно активних сполук серед неописаних раніше 3-, 4-, 5-три-заміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. Запропоновано нові, а іноді оптимізовано відомі умови перебігу ряду хімічних перетворень, досліджено фізико-хімічні властивості синтезованих речовин та виявлено ряд сполук з високими показниками біологічних властивостей.

Науково доведено, що вдаль обрання об'єкту дослідження є передумовою позитивного кінцевого результату щодо створення оригінальних ефективних та малотоксичних ліків. Слід зазначити, що на сьогодні в світі існує дуже багато наукових «шкіл», які займаються розв'язанням проблемних питань на шляху створення нових біологічно активних молекул різних класів органічних сполук. Світові досягнення науковців, які займаються моделюванням системи 1,2,4-триазолу, дослідження різних властивостей цього гетероциклу та створення на його основі перспективних «структур» сприяють подальшому пошукові нових молекул із рядом унікальних властивостей серед похідних 1,2,4-триазолу. Аналіз літературних джерел щодо дослідження фізико-хімічних та біологічних

властивостей похідних 1,2,4-триазолу переконливо доводить перспективність цієї гетероциклічної системи.

На нашу думку, оригінальними, науково обґрунтованими та перспективними залишаються наукові дослідження, пов'язані з синтезом, хімічною модифікацією та вивченням біологічних властивостей 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів.

Ретельний системний аналіз літературних джерел, в тому числі за останні роки дозволяє окреслити особливості гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу, цілеспрямовано та послідовно обрати напрямок подальших відповідних наукових випробувань з метою пошуку нових біологічно активних сполук та виявлення серед них найбільш перспективних для подальших поглиблених досліджень з метою створення оригінальних лікарських засобів.

Виконанню синтетичної частини дисертаційної роботи передувало прогнозування перспективного напрямку, це дало змогу цілеспрямовано отримати відповідні сполуки з високими показниками біологічної активності. Вперше проведено систематичне дослідження сольватаційних ефектів та їх впливу на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу та інші властивості 1,2,4-триазолів і їх тіоаналогів. Вперше здійснено реакції 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідрідами кислот. Для 2-((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів вперше вивчено відновлення кето-групи натрій боргідридом. Синтезовано ряд нових 2-((5-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетил-ацетатів. Отримано ряд нових 3-(R-дисульфаніл)-5-(4-R')-4-метил-4H-1,2,4-триазолів.

В ході виконання роботи доведено, що синтез відповідних сполук може відбуватися не при дуже низьких температурах та може бути покращений додаванням невеликої кількості триетиламіну для зв'язування гідроген хлориду.

Загальна стратегія синтезу несиметричних дисульфідів полягає в легкому отриманні реакцією окиснення 1,2,3-бензотриазолу з натрій гіпохлоритом – 1-хлорбензотриазолу. Останній вступає у взаємодію з тіолом з утворенням відповідного проміжного інтермедіату 1-((5-R-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1*H*-бензо[*d*][1,2,3]триазолу, який далі зазнає селективної нуклеофільної атаки наступного тіолу з отриманням вихідних несиметричних дисульфідів.

Синтезовано ряд неописаних в літературі 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот та їх солей з органічними та неорганічними основами. Етерифікацією 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти аліфатичними спиртами за наявності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти та дициклогексакарбодііміду (DCC) здійснено синтез відповідних естерів. Також естери синтезовано взаємодією відповідних 5-(арил)-4*R*-1,2,4-триазол-3-тіолів з естерами монохлорацетатної кислоти. Взаємодією метилового естеру 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти з амінами і гідразин гідратом синтезовано ряд амідів і гідразид. Аміді синтезовано також взаємодією відповідних тіолів з α -хлорацетамідом.

Взаємодією 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу з карбонільними сполуками синтезовано ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, низка з яких було піддано відновленню за допомогою натрій боргідриду. Використовуючи як вихіді сполуки відповідні 5-(2-,3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли, вперше здійснили дослідження їх циклізації за наявності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі POCl_3 . Синтезовано при цьому ряд проміжних продуктів та нових 3-(2-, 3-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів.

Доведено, що реакція між 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолами та відповідними бромацетопохідними за наявності ізопропанолу перебігає з утворенням 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6- R_2 -7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазинів. Вперше синтезовано ряд нових 4-аміно-2-((R_1, R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонів.

Будова синтезованих сполук у всіх випадках підтверджена за допомогою комплексного фізико-хімічного аналізу, іноді було застосовано зустрічний синтез. Індивідуальність сполук доведена хроматографічними методами.

Вперше для нових похідних 1,2,4-триазолу за допомогою комп'ютерних методів досліджено гостру токсичність та побудовано QSAR-моделі. Досліджено гостру токсичність 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, встановлено ряд закономірностей «будова-біологічна дія». Для нових фторфенільмісних 1,2,4-триазолів простудійовано протимікробну та протигрибкову активність. Виявлено «сполуку-лідера» яку рекомендовано для подальших поглиблених досліджень. Вивчено вплив «сполуки-лідера» на *Mycobacterium bovis* та *Mycobacterium fortuitum*.

В процесі виконання біологічної частини роботи досліджено діуретичну, актопротекторну та протисудомну активність ряду нових 3-, 4-, 5-тризаміщених 1,2,4-триазолів. Встановлено ряд закономірностей між будовою молекул сполук та показниками активностей. Для ряду водорозчинних похідних 1,2,4-триазолу досліджено протизапальну активність. Виявлено «сполуку-лідера», для якої вивчено протизапальну дію на моделі експериментального панкреатиту у щурів. Експериментально вивчено вплив морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтіо)ацетату на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового в польових умовах. Встановлено позитивний вплив сполуки на показники врожайності сорго зернового відповідно до контрольної групи.

Вперше проведено дослідження механізму електрохімічних перетворень з появою аналітичного сигналу, розробки математичних моделей і визначення стійкості системи. Доведено, що зазначені похідні 1,2,4-триазолу можуть бути використані для кількісного визначення штучних підсолоджувачів смаку, катіонів металів тощо.

Задля вирішення питання подальшого впровадження найбільш перспективних сполук у практику було досліджено параметри нешкідливості «сполук-лідерів»: морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину. Встановлено, що ЛД₅₀ морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**) для щурів самців склала 4667 мг/кг, для самок – 3333 мг/кг. Для мишей самців ЛД₅₀ дорівнювала 7000 мг/кг, для самок – 4000 мг/кг. Помітних змін з боку гістологічної структури досліджених внутрішніх органів на світлооптичному рівні порівняно з інтактним контролем на фоні введення морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**) не виявлено.

Доведено, що застосування 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) на мурчаках до 4-кратного введення впливало на біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів. Зазначені показники у тварин були в межах фізіологічного контролю інтактної групи, а підшкірне введення сполуки **4.66** в дозі 20 та 40 мг/кг маси тварини (двох та чотирьохкратна доза) призводить до відсутності неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках та міокарді.

Складовою частиною успішного подальшого більш поглибленого дослідження 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) є розробка ефективних, доступних та швидких комплексних методів контролю якості.

За результатами проведених досліджень здійснено підтвердження якості субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) відповідно до вимог ДФУ за допомогою аналітичних методик якісного та кількісного визначення. Для субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66) розроблено та затверджено у встановленому порядку технічні умови «3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин чистий» ТУ У 20.1-42067827-002:2021, лабораторна методика синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент виробництва субстанції.

Ключові слова: синтез, фізико-хімічні властивості, біологічна активність, 3-, 4-, 5-тризаміщені, 1,2,4-триазол-3-тіони.

ANNOTATION

Bigdan O. A. Synthesis, chemical modification and biological properties of 3-, 4, 5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thions. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of pharmaceutical sciences on a specialty 15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy (226 – pharmacy, industrial pharmacy). – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2022.

The presented dissertation work is a complex fundamental research. According to the results of a comprehensive test, a series of new biologically active compounds were identified among the new 3-, 4-, 5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thions. New, and sometimes optimized, known conditions for a number of chemical transformations have

been proposed, physicochemical properties of synthesized substances have been studied, and a number of compounds with high biological properties have been identified.

It has been scientifically proven that the successful selection of the object of study is a prerequisite for a positive end result in the creation of original effective and low-toxic drugs. It should be noted that today there are many scientific «schools» in the world that deal with problem-solving issues by creating new biologically active molecules of different classes of organic compounds. The world achievements of scientists involved in modeling the 1,2,4-triazole system, studying the various properties of this heterocycle and creating promising «structures» based on it, create favorable conditions for further search for new molecules with a number of unique properties among 1,2,4-triazole. Analysis of the literature on the study of physicochemical and biological properties of 1,2,4-triazole derivatives convincingly proves the viability of this heterocyclic system.

In our opinion, scientific, related to the synthesis, chemical modification and study of the biological properties of 3-, 4-, 5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thiones remain original, scientifically sound and promising.

Careful analysis of new literature allows us to outline certain features of the heterocyclic system 1,2,4-triazole, purposefully and consistently choose the direction of further research to find new biologically active compounds and identify among them the most promising for further in-depth research.

When performing the synthetic part of the dissertation, the forecasting of a promising synthetic direction and purposeful production of appropriate compounds were used. For the first time, a systematic study of solvation effects and their effect on tautomerism, acidity, geometry, electronic distribution characteristics and other properties of 1,2,4-triazoles and their thio analogues was conducted. Reactions of 3-, 4-, 5-trisubstituted-1,2,4-triazole-3-thiones with haloalkanes, haloaryls, dibromopropane, dibromobutane, halogen alcohols, acid chlorides were carried out for the first time. For 2-((4-R₁-5-(thiophen-3-ylmethyl)-1,2,4-triazol-3-yl)thio)-1-arylethanones, the

reduction of the keto group with sodium borohydride was studied for the first time. A number of new 2-((5-R₁-5-(thiophen-3-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)methyl-, ethyl-, arylethyl acetate have been synthesized. A number of new 3-(R-disulfanyl)-5-(4-R')-4-methyl-4*H*-1,2,4-triazoles have been obtained.

We have shown that the synthesis of the corresponding compounds can not take place at very low temperatures and can be improved by adding a small amount of triethylamine to bind hydrogen chloride. The general strategy for the synthesis of asymmetric disulfides is to easily obtain by the oxidation reaction of 1,2,3-benzotriazole with sodium hypochlorite-1-chlorobenzotriazole. The latter reacts with thiol to form the corresponding intermediate 1-((5-R-4-methyl-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)-1*H*-benzo[*d*][1,2,3]triazole, which is further subjected to selective nucleophilic attack of the next thiol to obtain the original asymmetric disulfides.

A number of new 2-[5-(2-,3-,4-fluorophenyl)-4-(methyl-, amino)-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetic acids and their salts with organic and inorganic were synthesized bases, esterification of 2-[5-(3-fluorophenyl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetic acid with aliphatic alcohols in the presence of a catalytic amount of concentrated sulfuric acid and in the presence of dicyclohexacarbodiimide (DCC) corresponding esters. Esters were also synthesized by reacting the corresponding 5-(aryl)-4*R*-1,2,4-triazol-3-ylthiols with esters of monochloroacetic acid. A number of amides and hydrazides were synthesized by the interaction of 2-(5-(5-(3-fluorophenyl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetic acid methyl ester with amines and hydrazine hydrate. Amides were also synthesized by the interaction of the corresponding thiols with α -chloroacetamide.

Interaction of 5-(2-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol and 5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiol with carbonyl compounds synthesized a number of new 5-(2-,3-fluorophenyl)-4-(aryl-, heterolyl) ylidene)amino-1,2,4-triazole-3-thiols, some of which were reduced with sodium borohydride. Using the corresponding 5-(2-,3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiols as starting compounds, their cyclization in the presence of the corresponding aryl-,

heterocylcarboxylic acids in POCl_3 medium was studied for the first time. A number of intermediates and new 3-(2-,3-fluorophenyl)-6- R_1 -[1,2,4]triazole[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazoles were synthesized.

It is proved that the reaction between 5-(2-,3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiols and the corresponding bromoaceto derivatives in the presence of isopropanol takes place with the formation of 3-(2-fluorophenyl, 3-fluorophenyl)-6- R_2 -7*H*[1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazines. For the first time, a number of new 4-amino-2-((R_1, R_2 -amino)methyl)-5-(2-(3-,4-fluorophenyl)-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazole-3-thiones). The structure of the synthesized compounds in all cases was confirmed by complex physicochemical analysis, sometimes counter-synthesis was used. The individuality of the compounds is proved by chromatographic methods.

For the first time, acute toxicity was investigated and new QSAR models were developed for new 1,2,4-triazole derivatives using computer methods. Acute toxicity of 3-(2-,3-fluorophenyl)-6-(aryl-, heteroyl)-[1,2,4]triazole[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazoles was studied, a number of regularities were established «Structure-action». Antimicrobial and antifungal activity was investigated for new fluorophenyl-containing 1,2,4-triazoles. A «leader compound» has been identified for further in-depth research. The effect of the «leader compound» on *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium fortuitum* has been studied.

The diuretic, actoprotective and anticonvulsant activity of a number of new 3-, 4-, 5-trisubstituted 1,2,4-triazoles was studied for the first time. A number of regularities between the structure of compound molecules and activity indicators have been established. Anti-inflammatory activity has been studied for a number of water-soluble 1,2,4-triazole derivatives. A «leader compound» was identified, for which the anti-inflammatory effect was studied in a model of experimental pancreatitis in rats. The effect of morpholine 2-((5-(3-fluorophenyl)-1,2,4-triazole-4-amino-3-ylthio)acetate on the growth, development and yield of grain sorghum in the field was experimentally studied grain sorghum yield indicators in relation to the control group.

For the first time a study of the mechanism of electrochemical transformations with the advent of the analytical signal, the development of mathematical models and determination of the stability of the system. It is proved that these 1,2,4-triazole derivatives can be used to quantify artificial flavor sweeteners, metal cations and the like.

To address the issue of further implementation of the most promising compounds in practice, we investigated some parameters of the safety of «leader compounds»: morpholine 2-(5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazol-3-ylthio)acetate and 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine. For the first time it was found that the LD50 morpholine of 2-(5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazol-3-ylthio)acetate (**3.13**) for male rats was 4667 mg/kg, for females – 3333 mg/kg. For male mice, the LD50 was 7000 mg/kg, for females – 4000 mg/kg. Significant changes in the histological structure of the studied internal organs at the optical level compared with intact control on the background of the introduction of morpholines 2-(5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazol-3-ylthio)acetate (**3.13**) not found.

The use of 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine has been shown (**4.66**) on ants before 4-fold introduction influenced the biochemical parameters and mass coefficients of internal organs. These values in animals were within the physiological control of the intact group, and subcutaneous administration of compound **4.66** at doses of 20 and 40 mg/kg body weight (two and four times the dose) resulted in no nonspecific manifestations of inflammation in the lungs, liver, kidneys and myocardium.

Quality control methods (QMS) – duly approved regulatory documentation that defines quality control methods for biologically active compounds (drugs), establishes qualitative and quantitative indicators of this compound or drug, respectively, and their permissible limits, packaging requirements, labeling, conditions storage, transportation, expiration date, which were approved during the state registration (re-registration) of the

medicinal product or the relevant biologically active compound. An integral part of a successful further in-depth study 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]-triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine (**4.66**) is the development of effective, affordable and fast integrated quality control methods (QMS).

According to the results of the research, the quality of the substance 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]-triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]-thiadiazine (**4.66**) in accordance with the requirements of the SPU using analytical methods of qualitative and quantitative determination. For the substance 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]-triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine (**4.66**) developed and approved in the prescribed manner technical conditions (TU) «3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7*H*-[1,2,4]-triazolo-[3,4-*b*][1,3,4]-thiadiazine pure» TU U 20.1-42067827-002: 2021, laboratory method of synthesis of intermediate product and final substance, as well as research and production technological regulation of substance production.

Key words: synthesis, physicochemical properties, biological activity, 3-, 4-, 5-tri-substituted, 1,2,4-triazole-3-thions.

Список публікацій здобувача

1. Дослідження реакції гетероциклізації 3-тіо- та 3-тіо-4-амінопохідних 1,2,4-тріазолу / Бігдан О. А., Панасенко О. І., Книш Є. Г., Парченко В. В. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2016. Т. 1. № 1. С. 90-98. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

2. Фармакологічні аспекти застосування фуранпохідних 1,2,4-тріазол-3-тіолів / Бігдан О. А., Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2016. № 3. С. 98-102. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

3. Бігдан О. А., Парченко В. В. Фізико-хімічні властивості-S-похідних 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10. № 2 (24). С. 135-140. (Здобувач провів синтетичні дослідження, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку)

4. Бігдан О. А., Парченко В. В. Синтез та фізико-хімічні властивості деяких похідних 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-тріазол-3-тіолу. *Фармацевтичний журнал*. 2017. № 2, С. 38-47. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

5. Бігдан О. А., Парченко В. В. Гостра токсичність 3-(2-,3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]тріазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10. № 3 (25). С. 316-319. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

6. Bihdan O. A., Parchenko V. V. 1,2,4-Triazole derivatives with halogen substituted fragments, their synthesis, modification and biological properties; review article. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (1). P. 22-29. (Здобувач провів синтетичні дослідження, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку) (WoS)

7. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Some aspects of synthesis 3-(2-florphenyl)-6-r1-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]thiadiazoleand-3-(2-,3-ftorphenyl)-6-r2-7h[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazines. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (3). P. 463-470. (Здобувач провів синтетичні дослідження, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку) (WoS)

8. Influence of 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7h-[1,2,4]-triazolo-[3,4-b][1,3,4]tiadiazin on the cultural properties of pathogenic mycobacterium bovis / Olexey Bihdan, Volodymyr Parchenko, Volodymyr Zazharskyi, Tetyana Fotina, Pavlo

Davydenko. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (6). P. 166-170. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, проаналізував результати біологічної дії, підготував статтю до друку) (WoS)

9. The theoretical description of sartan electrochemical determination, assisted by new triazoles, reinforced by a disulfonic organic acid / Volodymyr V. Tkach, Oleksiy A. Bigdan, Volodymyr V. Parchenko, Sílvio C. de Oliveira. *Applied Journal of Environmental Engineering Science*. 2018. № 4. P. 422-428. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

10. The theoretical description of cathodic pyrrole electrodeposition, assisted by a dichromate of a novel triazolic derivative / Volodymyr V. Tkach, Oleksiy A. Bigdan, Volodymyr V. Parchenko, Sílvio C. de Oliveira. *RHAZES: Green and Applied Chemistry*. 2018. Vol. 2, № 2. P. 1-5. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

11. Studying of physico-chemical properties of 5-(2-,3-fluorophenyl)-4-((aryl-, geteryl)yliden)amino-1,2,4-triazole-3-thiols and any of their retrieval products / Olexey Bihdan, Volodymyr Parchenko, Volodymyr Zazharskyi, Tetyana Fotina, Pavlo Davydenko. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2019. № 10 (1). P. 464-474. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку).

12. Influence of different determination of 1,2,4-triazols on the growth, development and yield of grain Sorghum / Olexey Bihdan, Volodymyr Parchenko, Andriy Gotsulya, Olexandr Izboldin. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2019. № 10 (2). P. 1156-1160. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, проаналізував результати біологічної дії, підготував статтю до друку)

13. Бігдан О. А. Фізико-хімічні властивості 2-((5-(3-,4-фторфеніл)-4-R₂-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів та їхній відновлених сиситем. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 116-122.

14. The theoretical evaluation of estradiol electrochemical determination, assisted by a new triazolic schiff bases / Bihdan O. A., Tkach V. V., Yagodynets P. I., Parchenko V. V. *Applied journal of Environmental engineering science*. 2019. № 5 (1). P. 1-7. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

15. The mathematical description for electrochemical determination and retention of heavy metal ions by electropolymeriation of schiff base complex / Volodymyr V. Tkach, Oleksiy A. Bigdan, Volodymyr V. Parchenko, Sílvio C. de Oliveira. *Applied journal of Environmental engineering science*. 2019. № 2. P. 113-118. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, узагальненні результатів, підготував статтю до друку)

16. The theoretical description of two heavy metal ions elimination by complex formation and polymeriazation by novel triazolic Schiff base / Volodymyr V. Tkach, Oleksiy A. Bigdan, Volodymyr V. Parchenko, Sílvio C. de Oliveira. *Applied journal of Environmental engineering science*. 2019. № 2. P. 162-168. (Здобувач провів частину синтетичних досліджень, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку)

17. Бігдан О. А. Протисудомна активність 2-((5-(3-,4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 3 (31). С. 260-265.

18. Бігдан О. А. Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолу. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75, № 3. С. 80-85.

19. Молекулярний докінг і біодоступність S-алкіл похідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромофуран-2-іл)- та 5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)метил)-4-метил-4H-1,2,4-триазолів in silico методами / Бігдан О. А., Карпун Є. О., Карпенко Ю. В., Парченко В. В. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1 (31). С. 38-45. (Здобувач провів

частину синтетичних досліджень, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку)

20. Бігдан О. А. Протимікробна та протигрибкова активність нових фторфенілвмісних 1,2,4-триазолів. *Фармацевтичний журнал*. 2021. Т. 76, № 2. С. 87-93.

21. Bigdan O. A. Toxicity of Substance ВКР-115 on Rats and Mice of Both Sexes at Long Term Intra gastric Introduction. *Archives of Pharmacy Practice*. 2021. Vol. 12, № 2. P. 6-11. (WoS)

22. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Chemical modification and Physicochemical properties of new derivatives 5-(thiophen-3-ilmethyl)-4-R1-1,2,4-triazole-3-thiol. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021. № 14 (9). P. 4621-9. (Здобувач провів частину синтетичних досліджень, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку) (Scopus)

23. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4-Triazoles / Volodymyr Zazharskyi, Oleksii Bigdan, Volodymyr Parchenko, Maryna Parchenko, Tatiana Fotina, Pavlo Davydenko, Oleh Kulishenko, Nadiia Zazharskaya, Iryna Borovik. *Archives Of Pharmacy Practice*. 2021. Vol. 12, № 2. P. 60-65. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, проаналізував результати біологічної дії, підготував статтю до друку) (WoS)

24. Бігдан О. А. Аналіз залежності між прогнозованою біологічною активністю та хімічною структурою S-похідних 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2 (36). С. 167-172.

25. Бігдан О. А., Аль Халаф Н. А. DFT-аналіз протолітичної рівноваги деяких 5-(арил)- 4-(метил,аміно)-1,2,4-триазол-3(2H)-тіонів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2022. Т. 15, № 2. С. 133-139. (Здобувач провів частину синтетичних досліджень, інтерпретував дані фізико-хімічних методів аналізу, підготував статтю до друку)

26. Test of antimicrobial activity of morpholine 2-(5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1,2,4-triazol-3-ylthio)acetate (BKP-115) by experimental model of pancreatitis in rats / Bihdan O. A., Parchenko V. V., Kyrychko B. P., Gutyj B. V., Kit L. P. *Ukrainian journal of Ecology*. 2020. № 10 (3). 2020. P. 201-207. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, проаналізував результати біологічної дії, підготував статтю до друку)

27. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of some 1,2,4-triazole derivatives with potential tuberculostatic and tuberculocidal ability in vitro / Zazharskyi V. V., Davydenko P. O., Kulishenko O. M., Gutyj B. V., Kit L. P. *Ukrainian journal of Ecology*. 2020. № 10 (6). P. 145-159. (Здобувач брав участь у плануванні дослідження, проаналізував результати біологічної дії, підготував статтю до друку)

28. Патент на винахід 120228 Україна, МПК C07D 249/00, C07D 285/00, A61K 31/00, A61P 31/06. 3-(3-Флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]гіадіазін, що проявляє протитуберкульозну активність / Зажарський В. В., Давиденко П. О., Кулішенко О. М. № а 2018 06789 ; заявл. 15.06.18 ; опубл. 25.10.19, Бюл. № 12. (Здобувачем особисто розроблено та проведено методи синтезу описаних речовин, інтерпретовано дані фізико-хімічних методів аналізу, оформлено заявку на патент)

29. Патент на корисну модель 136346 Україна, МПК C07D 249/00, C07D 285/00, A61K 31/00, A61P 31/06. Морфоліній 2-((5-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат, що проявляє рістстимулюючу активність / Бігдан О. А., Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. № а 2018 06789 ; заявл. 18.03.19 ; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15. (Здобувачем проведено синтез сполуки що заявляється, оформлено заявку на патент)

30. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі похідні 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу – основа пошуку біологічно активних сполук. *Теоретичні та прикладні аспекти розвитку науки* : III Міжнародна науково-практична

конференція, 6-7 груд. К., 2017. Частина 3. С. 10. (Здобувач розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, прийняв участь в оформленні тез)

31. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження синтезу та деяких біологічних властивостей нових біциклічних похідні 1,2,4-тріазолів із фторфенільними замісниками. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 30 трав. Запоріжжя, 2018. С. 114 (Здобувач розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

32. Бігдан О. А., Парченко В. В. Пошук біологічно активних сполук серед нових водорозчинних похідних 4-R-5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, 12-13 квіт. Х., 2018. С. 17. (Здобувач розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, прийняв участь в оформленні тез)

33. Volodymyr V. Tkach, Volodymyr V. Parchenko, Oleksiy A. Bigdan. The theoretical determination of chlorogenic acid on a novel triazolic derivative-modified electrode. *Актуальні Задачі Хімії* : II Всеукраїнська конференція з міжнародною участю. Житомир, 2018. С. 58-59.

34. Бігдан О. А., Парченко В. В. Нові 5-(2-, 3-,4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіопохідні–потенційні біологічно активні сполуки. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : VII науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю. Вип. 5. Х., 2018. С. 49-51. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

35. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі аспекти вивчення властивостей нових фторфенілпохідних 1,2,4-тріазолів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : науково-практична конференція з міжнародною участю молодих

вчених та студентів. 13-17 трав. Запоріжжя, 2019. С. 137-138. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

36. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей нових похідних 5-(2-,3-,4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолів. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : III міжнародна науково-практична конференція, 14-15 берез. Т. 2. Х., 2019. С. 49-50. (Здобувач розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, прийняв участь в оформленні тез)

37. Вивчення протитуберкульозної активності 5-(2-,3-фторфеніл)-4-((арил, гетери)ілліденов)аміно-1,2,4-тріазол-3тіолів / Бігдан О. А., Парченко В. В., Зажарский В. В., Давиденко П. І. *Fourth Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium*, 20-24 трав. К., 2019. С. 109. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

38. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження фізико-хімічних властивостей карбонільмісних похідних 1,2,4-тріазолу та відновлених систем. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України, 19-20 верес. Т. 1. Х., 2019. С. 20-21. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

39. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження ріст стимулюючих властивостей морфоліній 2-((5-(2-фторфеніл)-1,2,4-тріазол-4-аміно-3-ілтіо)-ацетату. *Сучасний рух науки* : VIII міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 3-4 жовт. Дніпро, 2019. Т. 1. С. 115-118. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез).

40. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічна модифікація та фізико-хімічні властивості 3,4,5-тризаміщених 1,2,4-тріазолів. *Проблеми та досягнення сучасної хімії* : XXI науково-молодіжна конференція, 7-8 трав. О., 2020. С. 11. (Здобувач

розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

41. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічні перетворення та біологічна активність 3-,4-,5-заміщених 1,2,4-триазолу. *Сучасний рух науки* : X міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 2-3 квіт. Дніпро, 2020. Т. 1. С.107-108. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

42. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі перетворення похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R1-1,2,4-триазол-3-тіолу, фізико-хімічні властивості сполук. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : IV міжнародна науково-практична конференція, 12-13 берез. Х., 2020. С. 137. (Здобувач розробив та виконав метод синтезу описаної речовини, прийняв участь в оформленні тез)

43. Бігдан О. А., Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості нових 5-гетерил-4-R-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи* : IV всеукраїнська наукова конференція, 29 квіт. Житомир, 2020. С. 167. (Здобувач провів синтез описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

44. Бігдан О. А., Парченко В. В. Фізико-хімічні та біологічні властивості деяких фторфеніл- та тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазолів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів* : V міжнародна дистанційна науково-практична конференція, 11-12 берез. Х., 2021. С. 233. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

45. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічна модифікація 1-r2-2-((4-r1-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанолів, фізико-хімічні властивості сполук. *Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines* : науково-практична конференція з міжнародною участю, 25-26 трав. Т., 2021. С.

18-19. (Здобувач провів синтез описаної речовини, приймав участь в оформленні тез)

46. Бігдан О. А. Пошук біологічно активних сполук серед нових 5-гетерил-вмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах* : II міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 3-4 черв. Дніпро, 2021. С. 178-179.

47. Бігдан О. А., Хільковець А. В. Перспективні аспекти пошуку нових біологічно активних молекул серед тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Розвиток освіти, науки та бізнесу: результати 2021* : міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 6-7 груд. Дніпро, 2021. С. 57-58. (Здобувач розробив та провів метод синтезу описаної речовини, приймав участь в оформленні тез).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	27
ВСТУП.....	29
РОЗДІЛ 1 СИНТЕЗ, ХІМІЧНА МОДИФІКАЦІЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 5-АРИЛ-, ГЕТЕРИЛ-4R-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	40
1.1 Синтез та хімічні перетворення 5-арил-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів.....	40
1.2 Синтез та хімічні перетворення 5-гетерил-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів	49
1.3 Особливості отримання та реакційної здатності флуоропохідних 5-арил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів.....	58
1.4 Біологічна активність похідних 5-арил-, гетерил-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів.....	68
РОЗДІЛ 2 ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ 3-, 4-, 5-ТРИЗАМІЩЕНИХ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ З ГАЛОГЕНПОХІДНИМИ СПОЛУКАМИ ТА ДЕЯКІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ПРОДУКТІВ РЕАКЦІЇ.....	80
2.1 Взаємодія 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами та галогенспиртами.....	83
2.2 Взаємодія 5-R ₁ -4-(метил-, етил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-тіолів з галогенкетонами, хлорангідрідами кислот та відновлення деяких 2-((5-R ₁ -4-R ₂ -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів.....	103
2.3 Деякі перетворення S-похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R ₁ -1,2,4-триазол-3-тіолів	110
2.4 Синтез несиметричних дисульфідів похідних 4-метил-4H-1,2,4-	

	23
триазолів.....	112
2.5 Опис експериментів.....	117
ВИСНОВКИ.....	133
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ 2-(5-(АРИЛ)-4-(МЕТИЛ-, АМІНО)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ПОХІДНИХ	134
3.1 Синтез кислот та солей 2-(5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтїо)ацетатних кислот	134
3.2 Синтез естерів 2-(5-(3-фторфенїл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтїо)ацетатної кислоти	139
3.3 Синтез амїдів та гїдразидів 2-(5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтїо)ацетатних кислот	144
3.4 Опис експериментів.....	147
ВИСНОВКИ.....	152
РОЗДІЛ 4 ПЕРЕТВОРЕННЯ В РЯДІ ПОХІДНИХ 5-(АРИЛ)-4-АМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ.....	154
4.1 Дослїдження фізико-хімічних властивостей нових 5-(2-, 3-фторфенїл)-4-((арил-, гетерил)їліден)амїно-1,2,4-триазол-3-тіолів та деяких продуктів їх відновлення	155
4.2 Синтез 3-(2-, 3-фторфенїл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадїазолів	160
4.3 Синтез 3-(2-фторфенїл, 3-фторфенїл)-6- R_3 -7H[1,2,4]триазоло[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадїазинів.....	165
4.4 Синтез основ Маннїха, похідних 4-амїно-1,2,4-триазол-3-тіонів з використанням захисту амїно-групи.....	168
4.5 Електрохімічні властивості деяких похідних 1,2,4-триазолу.....	171
4.6 Опис експериментів.....	181
ВИСНОВКИ.....	187

РОЗДІЛ 5 БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ТА ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ ВЛАСИВОСТІ	
3-, 4-, 5-ТРИЗАМІЩЕНИХ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ.....	189
5.1 Проведення прогнозування можливих видів біологічної активності синтезованих сполук.....	189
5.2 Обговорення гострої токсичності синтезованих сполук.....	200
5.2.1 Комп'ютерні методи дослідження гострої токсичності та побудова QSAR моделей для нових похідних 1,2,4-триазолу.....	200
5.2.2 Дослідження гострої токсичності похідних 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазолів....	211
5.3 Протимікробна та протигрибкова активність синтезованих сполук	213
5.3.1 Вплив 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину (4.66) на культуральні властивості патогенних <i>Mycobacterium bovis</i>	221
5.3.2 Визначення МІК (мінімальної інгібуючої концентрації) 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину (4.66) <i>in vitro</i>	225
5.3.3 Визначення IC50 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину (4.66) <i>in vitro</i>	235
5.4 Діуретична активність синтезованих сполук.....	237
5.5 Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- <i>R</i> ₁ -1,2,4-триазол-3-тіолу.....	242
5.6 Протисудомна активність 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- <i>R</i> ₂ -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів.....	246
5.7 Обговорення протизапальної дії деяких сполук.....	249
5.8 Вплив деяких похідних 1,2,4-триазолів на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового.....	269

5.9 Аналітичні аспекти визначення β -естрадіолу з використанням похідних 1,2,4-триазолу.....	272
ВИСНОВКИ.....	277
РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ МОРФОЛІНІЙ 2-(5-(3-ФТОР-ФЕНІЛ)-4-АМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)-АЦЕТАТУ ТА 3-(3-ФТОР-ФЕНІЛ)-6-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-ТРИАЗОЛО-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]ТІАДІАЗИНУ.....	279
6.1 Гостра токсичність морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (3.13).....	280
6.2 Дослідження гістоструктури внутрішніх органів на фоні введення морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (3.13).....	288
6.3 Вивчення безпечності 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину (4.66).....	298
6.4 Результати патогістологічних досліджень 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину (4.66).....	307
ВИСНОВКИ.....	320
РОЗДІЛ 7 ХІМІКО-ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВИГОТОВЛЕННЯ СУБСТАНЦІЇ 3-(3-ФТОРФЕНІЛ)-6-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-ТРИАЗОЛО-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]ТІАДІАЗИНУ.....	322
7.1 Методи контролю якості 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину.....	322
7.2 Деякі аспекти, щодо створення технічних умов, дослідно-виробничого технологічного регламенту та лабораторних методів синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину.....	331
ВИСНОВКИ.....	332

	26
.ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ.....	333
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	336
ДОДАТКИ (окремим томом).....	380

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АсАт	– аспаратамінотрансфераза;
АлАт	– аланінамінотрансфераза;
АФІ	– активний фармацевтичний інгредієнт;
ВГ	– відновлений глутатіон;
ВІЛ	– вірус імунодефіциту людини;
ГЕБ	– гематоенцефалічний бар'єр;
ГП	– гострий панкреатит;
ГР	– глутатіонредуктаза;
ДФУ	– державна фармакопея України;
ІЧ	– інфрачервоний;
Кат	– каталаза;
КМ	– коефіцієнт мас;
ЛП	– лікарський препарат;
ЛФ	– лужна фосфатаза;
МБ _ц К	– мінімальна бактерицидна концентрація;
МІК	– мінімальна інгібуюча концентрація;
МСМ	– молекули середньої маси;
МКЯ	– методи контролю якості;
МФК	– мінімальна фунгіцидна концентрація;
ПЗ	– паренхіма підшлункової залози;
ПОН	– поліорганна недостатність;
ПМР	– протонний магнітний резонанс;
ПОЛ	– перекисне окиснення ліпідів;
РЗ	– референс-зразок;
СГ-МІК	– середньгеометричне значення МІК;

СО	– слизова оболонка;
СОД	– супероксиддисмутаза;
ТБ	– туберкульоз;
ТБК	– тіобарбітурова кислота;
ТЗ	– тест-зразок;
ТУ	– технічні умови;
ЦК	– циркулюючі імунні комплекси;
DCC	– дициклогексакарбодіїмід;
ЯМР	– ядерний магнітний резонанс;
PASS	– (Prediction Activity Spectra for Substances).

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Сучасні тенденції розвитку фармацевтичної галузі України потребують впровадження нових високоефективних та малотоксичних ліків. Гетероциклічні сполуки є найпоширенішим класом органічних речовин. Деякі з них входять до складу природних сполук, а саме таких, як нуклеїнові кислоти, хлорофіл, гем крові, алкалоїди, пеніциліни, вітаміни. Гетероцикли включені в різноманітні метаболітичні шляхи перетворення, володіють високою біологічною активністю. Крім того, значна частина активних фармацевтичних інгредієнтів сучасних ліків у хімічному відношенні містить у своєму складі структуру гетероциклу.

Лідером серед різноманітної кількості біологічно активних речовин на сьогодні залишаються похідні 1,2,4-триазолу. Протягом багатьох десятиліть цей клас гетероциклічних сполук привертає увагу фахівців не лише фармацевтичної галузі. Загальновідомим фактом є висока біологічна активність сполук, утворених поєднанням ядра 1,2,4-триазолу та різних функціональних замісників. Незначна токсичність, реакційна здатність та висока біологічна активність похідних 1,2,4-триазолу робить цей клас сполук дуже привабливим. За останні п'ять років в Україні було зареєстровано цілу серію нових ліків та добрив, діючими речовинами яких є похідні 1,2,4-триазолу. Все це у комплексі вказує на те, що подальші дослідження нових заміщених 1,2,4-триазолу є перспективними як в теоретичному, так і в практичному плані.

Використовуючи як об'єкти подальших наукових досліджень 3-, 4-, 5-тризаміщені-1,2,4-триазол-3-тіони, можна отримати ряд нових унікальних сполук, перспективних для створення оригінальних лікарських препаратів. Також актуальність обраного напрямку досліджень підтверджується системним проведеним оглядом, в тому числі сучасної наукової літератури щодо нових похідних 1,2,4-триазолу.

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

Дисертаційна робота виконана відповідно до плану НДР Запорізького державного медичного університету за темою «Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3,4-дизаміщених 3(5)-тіо-1,2,4-триазолу з антиоксидантною, антигіпоксичною, антимікробною, кардіо- та гепатопротекторною дією» (№ держреєстрації 0118U007143) та плану держбюджетної НДР за темою «Синтез, модифікація та дослідження властивостей похідних 1,2,4-триазолу з метою створення антимікробного лікарського засобу» (№ держреєстрації 0120U101649) згідно з пріоритетним напрямком «Конструювання та технології створення нових лікарських засобів на основі спрямованого дизайну біологічно активних речовин та використання наноматеріалів».

Автором особисто проведено синтез сполук ряду 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, які містять як типові фармакофори залишки ароматичних, аліфатичних та гетероциклічних фрагментів, інтерпретовано та описано результати фізико-хімічних та біологічних досліджень.

Мета і завдання дослідження

Метою роботи є цілеспрямований пошук нових перспективних речовин – похідних 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, що містять як замісники аліфатичні, ароматичні та гетероциклічні фрагменти з різними видами біологічної активності, встановлення закономірностей між хімічною будовою і фармакологічною дією синтезованих сполук та впровадження в практику найбільш перспективних з них.

Для реалізації поставленої мети необхідно було реалізувати такі завдання:

1 – проаналізувати та узагальнити літературні і патентні джерела щодо методів синтезу, хімічних перетворень та біологічної активності 5-арил-, гетерил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів та флуоропохідних 5-арил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів;

2 – за допомогою комп'ютерного прогнозу обрати напрям синтетичних випробувань та прорахувати синтетичні можливості нових похідних 1,2,4-триазолу;

3 – провести систематичне дослідження сольватаційних ефектів та їх впливу на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу і інші властивості 1,2,4-триазолів та їх тіоаналогів. Здійснити реакції 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідридами кислот. Для 2-((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів дослідити відновлення кетогрупи;

4 – синтезувати ряд нових 2-((5-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетилацетатів та 3-(R-дисульфаніл)-5-(4-R₁)-4-метил-4H-1,2,4-триазолів, дослідити отримання ряду нових 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот, їх солей, амідів та гідразиду. Провести етерифікацію 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти різними методами;

5 – синтезувати ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, піддати їх подальшому відновленню. Провести циклізацію 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів при наявності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі POCl₃. Синтезувати ряд проміжних продуктів та нових 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-R₁-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів;

6 – отримати нові 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6-R₂-7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини та 4-аміно-2-((R₁,R₂-аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіони;

7 – будову всіх синтезованих сполук підтвердити за допомогою сучасних комплексних фізико-хімічних методів аналізу, а їх індивідуальність довести хроматографічно;

8 – провести комп'ютерне прогнозування перспективних видів біологічної активності 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, використовуючи SwissTargetPrediction, спрогнозувати спрямованість біологічної дії активних молекул, відповідних похідних 1,2,4-триазолу. За допомогою комп'ютерних методів дослідити гостру токсичність та побудувати QSAR-моделі;

9 – дослідити гостру токсичність 3-(2-,3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, встановити ряд закономірностей «будова-дія». Дослідити протимікробну та протигрибкову активність, виявити «сполуку-лідер» для подальших поглиблених досліджень;

10 – вивчити діуретичну, актопротекторну, протисудомну та протизапальну дію похідних 1,2,4-триазолу та виявити серед них «сполуку-лідер», для якої більш поглиблено дослідити протизапальну активність. Вивчити вплив водорозчинної сполуки на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового в польових умовах;

11 – для нових похідних 1,2,4-триазолу провести дослідження механізму електрохімічних перетворень та виявити появу аналітичного сигналу, розробити математичні моделі і визначити стійкість зазначеної системи задля визначення концентрації β -естрадіолу;

12 – задля вирішення питання подальшого впровадження найбільш перспективних сполук у практику дослідити деякі параметри нешкідливості «сполук-лідерів»: встановити LD_{50} , проаналізувати зміни з боку гістологічної структури внутрішніх органів, довести вплив сполуки на біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів тварин, для 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину розробити та затвердити методи контролю якості, технічні умови, лабораторні методи синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент виготовлення субстанції.

Об'єкт дослідження: розробка методів синтезу, дослідження реакційної здатності, хімічних, фізико-хімічних та біологічних властивостей 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів та продуктів їх хімічних перетворень.

Предмет дослідження: 3-,4-,5-тризаміщені-1,2,4-триазол-3-тіони, продукти їх хімічних перетворень.

Методи дослідження

Дослідження *in silico* проводилися з використанням програм та програмних пакетів: Discovery Studio 2021 Client, Padel Descriptor, Pharmaexpert/Prediction of Activity Spectra for Substances, SwissTargetPrediction, AutoDock 4.2, ISIS, ChemBioOffice, ACDLabs, BuildQSAR. Синтетична частина дисертаційної роботи була виконана з використанням класичних методів органічного синтезу (реакції алкілювання, відновлення, естерифікації, нейтралізації, гідразинолізу, нуклеофільного приєднання, циклізації тощо), для підтвердження структури, індивідуальності та чистоти синтезованих сполук використано сучасні фізико-хімічні методи (елементний аналіз, ІЧ-, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопія, хромато-мас-спектрометрія, тонкошарова хроматографія). Для визначення гострої токсичності та токсичності при тривалому введенні, вивчення протимікробної, протигрибкової, діуретичної, актопротекторної, протисудомної, протизапальної активності та біологічних і біоаналітичних досліджень застосовувався фармакологічний скринінг на основі методів *in vitro* та *in vivo*. Обробка отриманих результатів проведена методами математичної статистики з використанням персонального ПК та ліцензійного пакету MS Office 365 ProPlus та «Statistica® 6.0».

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше синтезовані нові біологічно активні речовини, які мають протимікробну, протигрибкову, діуретичну, актопротекторну, протисудомну, протизапальну активності, позитивно впливають на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового в польових умовах, проявляючи при цьому низьку токсичність.

При виконанні хімічної частини досліджень було одержано близько 250 нових сполук – похідних 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, будова та індивідуальність яких підтверджена сучасними фізико-хімічними методами аналізу.

Використовуючи комп'ютерний прогноз, обрано напрям синтетичних випробувань та прораховані синтетичні можливості нових похідних 1,2,4-триазолу. Дослідження сольватаційних ефектів похідних 1,2,4-триазолу дало змогу проаналізувати їх вплив на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу та інші властивості 1,2,4-триазолів та їх тіоаналогів. Здійснено реакції 3-,4-,5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галоген-алканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідрідами кислот, для 2-((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів вивчено відновлення кето-групи.

Синтезовано ряд нових 2-((5-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетилацетатів, 3-(*R*-дисульфаніл)-5-(4-R₁)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазолів, отримано неописані в літературі 2-[5-(2-,3-,4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатні кислоти, їх солі, естери, амідни та гідразид. Деякі 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли піддано відновленню. Вперше досліджено циклізацію 5-(2-,3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів при наявності арил-, гетерилкарбонових кислот, отримано ряд нових 3-(2-,3-фторфеніл)-6-R₁-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, 3-(2-фтор-феніл,3-фторфеніл)-6-R₂-7*H*[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів та 4-аміно-2-((R₁,R₂-аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонів. Будова та індивідуальність отриманих сполук у всіх випадках підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

Запропоновано дві «сполуки-лідери», для яких поглиблено досліджено параметри токсичності, протимікробної активності, проаналізовані

зміни з боку гістологічної структури внутрішніх органів, доведено позитивний вплив на біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів тварин.

Для 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*]-[1,3,4]-тіадіазину розроблено та затверджено проєкт методів контролю якості та технічні умови, що свідчить про новизну та пріоритет досліджень.

Наукова новизна дисертаційної роботи підтверджена 2 патентами України на біологічно активні речовини: патентом України на винахід «3-(3-Флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіаді-азін, що проявляє проти-туберкульозну активність» і патентом України на корисну модель «Морфоліній 2-((5-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат, що проявляє рістстимулюючу активність».

Практичне значення отриманих результатів

Розроблені препаративні методи синтезу 3-тіопохідних 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, синтезовано ряд нових 2-((5- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетилацетатів, 3-(R -дисульфаніл)-5-(4- R_1)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазолів, отримано нові 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатні кислоти, їх солі, естери, амідни та гідразид. Деякі 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли піддано відновленню. Досліджено циклізацію 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів при наявності арил-, гетерилкарбонових кислот, отримано ряд нових 3-(2-,3-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, 3-(2-фторфеніл, 3-фтор-феніл)-6- R_2 -7*H*[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів та 4-аміно-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-,3-,4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонів, які можуть бути використані розробниками лікарських препаратів та науковцями в галузі органічного синтезу і аналізу.

Результати біологічного скринінгу, закономірності зв'язку «будова-дія» та експериментально-теоретичні висновки використовуються в наукових дослідженнях та навчально-методичному процесі ряду медичних, фармацевтичного, ветеринарних закладів вищої освіти України: Національного фармацевтичного університету (м. Харків), ДНДКІ Ветеринарних препаратів та кормових добавок (м. Львів), Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету (м. Дніпро), Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнології ім. С. З. Гжицького (м. Львів), Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (м. Львів), Полтавської державної аграрної академії (м. Полтава) (дод. Б.1-Б.43, дод. В.1-В.8).

Розроблена та затверджена нормативно-технічна документація на 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин (МКЯ, ТУ У 20.1-42067827-002:2021, дослідно-виробничий технічний регламент, лабораторні методики синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції) передана НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних випробувань і включена до перспективного плану розвитку підприємства на 2022-2024 роки (дод. Д.1-Д.3).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею, яка містить наукові дослідження автора за період 2016-2022 років. Особисто автором визначена мета дослідження, шляхи її реалізації, проведено планування та виконана експериментальна частина роботи. Здійснена статистична обробка та узагальнення отриманих результатів, формування основних положень та висновків, що захищаються. Розроблені та визначені науково-методичні підходи щодо синтезу, встановлення будови та досліджень на біологічну активність нових 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. Автором зі співавторами розроблено технічні умови та проект МКЯ на субстанцію 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-

метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин. Дослідження фізико-хімічних властивостей сполук та їх біологічної дії були проведені спільно з науковцями кафедри аналітичної хімії (завідувач – д. фарм. н., проф. Васюк С. О.), технології ліків (завідувач – д. фарм. н., проф. Гладишев В. В.), мікробіології, вірусології та імунології (завідувач – к. мед. н., доц. Поліщук Н. М.) Запорізького державного медичного університету; кафедри епізоотології та інфекційних хвороб тварин (завідувач – к. вет. н., доц. Зажарський В. В.), кафедри рослинництва (завідувач – д. с-г. н., проф. Якунін О. П.) Дніпровського державного агро-економічного університету; кафедри хірургії та акушерства (завідувач – д. вет. н., проф. Киричко Б. П.) Полтавського державного аграрного університету. ¹H та ¹³C ЯМР-спектроскопія проведена на базі науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України (Науково-дослідне відділення хімії функціональних матеріалів, Департамент органічної та біоорганічної хімії, завідувач – д. х. н., проф. Десенко С. М.).

Співавторами наукових праць є науковці, разом з якими проводились спільні дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей синтезованих сполук.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на вітчизняних та закордонних науково-практичних конференціях різного рівня: III Міжнародна науково-практична конференція «Теоретичні та прикладні аспекти розвитку науки» (6-7 грудня 2017 року м. Київ), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (30 травня 2018 року м. Запоріжжя), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (12-13 квітня 2018 року м. Тернопіль), VII науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні досягнення фармацевтичної технології

і біотехнології» (23 листопада 2018 року м. Харків), Науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (13-17 травня 2019 року м. Запоріжжя), III міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (14-15 березня 2019 року м. Харків), Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України (19-20 вересня 2019 року м. Харків), XXI науково-молодіжна конференція «Проблеми та досягнення сучасної хімії» (7-8 травня 2020 року м. Одеса), V міжнародна дистанційна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів» (11-12 березня 2021 року м. Харків), Науково-практична конференція з міжнародною участю «Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines» (25-26 травня 2021 року м. Тернопіль), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум – 2022» (17–18 листопада 2022 року, м. Запоріжжя).

Апробацію дисертаційної роботи проведено на фаховому семінарі професорсько-викладацького складу кафедр Запорізького державного медичного університету 01 грудня 2022 року.

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 47 робіт, з яких 27 статей (25 – у наукових фахових виданнях, з них 6 – у виданнях, проіндексованих у базах даних Web of Science Core Collection та Scopus), 1 патент України на винахід, 1 патент на корисну модель та 18 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації

Дисертаційна робота викладена на 542 сторінках машинописного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, шести розділів експериментальних досліджень, висновків, списку використаних джерел та 6

додатків окремим томом (43 акти впроваджень). Обсяг основного тексту – 300 сторінок. Робота проілюстрована 48 таблицями, 168 рисунками. Бібліографія включає 399 джерел літератури, з яких 305 латиною.

РОЗДІЛ 1

СИНТЕЗ, ХІМІЧНА МОДИФІКАЦІЯ ТА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
5-АРИЛ-, ГЕТЕРИЛ-4R-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Синтез та хімічні перетворення 5-арил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів

Утворення гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу за допомогою двох фрагментів з $[3+2]$ гетероциклізацією. Найпоширенішим триатомним фрагментом є гідразид карбонової кислоти $RCONHNH_2$. Різноманітні трьохатомні фрагменти, що містять два атоми Нітрогену та один атом Карбону, достатньо легко вступають у різні реакції, утворюючи при цьому заміщені 1,2,4-триазоли. З метою розширення толерантності до функціональних груп були знайдені нові умови для конденсації S-метилізотіосечовини (**1.1**), отриманої алкілуванням заміщених тіосечовини з гідразидами (**1.2**) для одержання 3,4,5-тризаміщених триазоламінів (рис. 1.1) [1].

Для такої конденсації був застосований синтез, причому дві ключові стадії відбувалися *in situ*, включаючи S-алкілування тіосечовини 1,3-пропан-султоном і подальше замикання кільця, забезпечуючи велику різноманітність 1,2,4-триазолів (**1.3**).

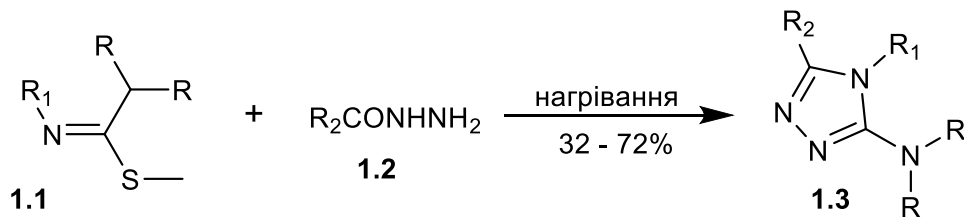


Рис. 1.1. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням S-алкіл тіосечовини

Конденсація гідразидів з ізотіоціанатами є добре відомим методом для отримання широкого спектра похідних 1,2,4-триазолу. Так, у роботі [2] наведено

синтез (рис. 1.2) 1,2,4-триазол-3-тіонів (**1.5**). Реакцію можна проводити при невеликих температурах у різноманітних евтектичних розчинниках на основі холін хлориду з додаванням сечовини. Нижчі температури дають проміжний продукт із відкритим ланцюгом (**1.4**), і розчинник найчастіше використовують кілька разів без впливу на проходження реакції. Повідомлялося про багато інших прикладів у більш класичних умовах [3–15], та 5-монозаміщені 1,2,4-триазол-3-тіони утворюються, коли замість ізотіоціанату використовується неорганічний тіоціанат [16–18]. Реакція також працює з метилізоціанатом, утворюючи 4-метил-1,2,4-триазол-3-они [19].

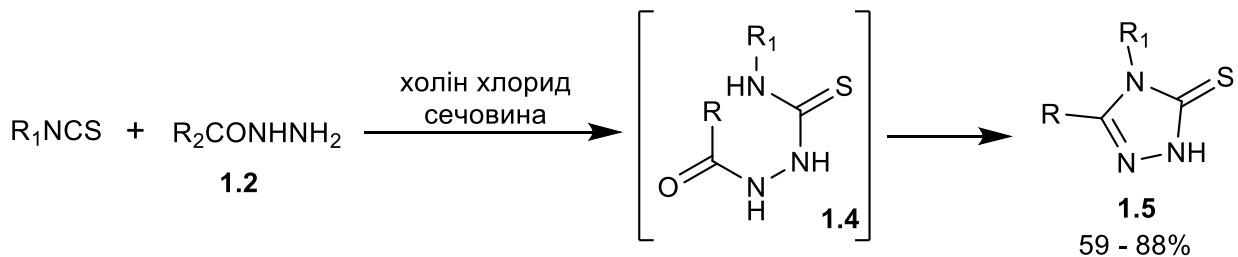


Рис. 1.2. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням холін хлориду

В реакцію конденсації вступають нітрили і ароматичні гідразиди в етанолі під впливом мікрохвильового опромінення (700 Вт) при наявності 30% 4-диметиламінопіридину (DMAP). Таким чином, були отримані чудові виходи 3,5-дизаміщених 1,2,4-триазолів (рис. 1.3) [20].

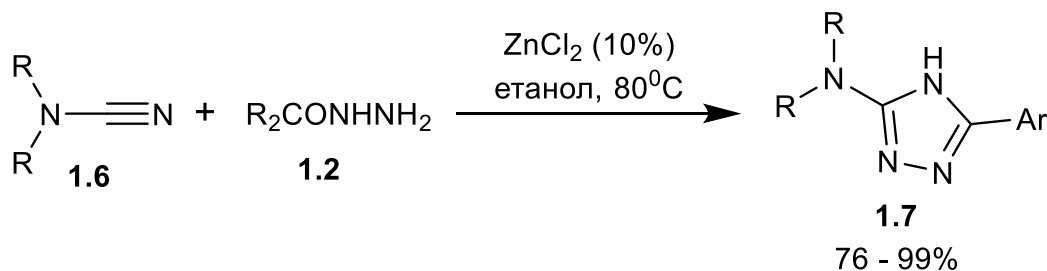


Рис. 1.3. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням діалкілціанамідів як прекурсорів

Реакцію між діалкілціанамідами (**1.6**) та арилгідрозидами проводили під час каталізу з $ZnCl_2$ при $80^\circ C$ в етанолі, щоб отримати хороші виходи 5-амінотриазолів (**1.7**) [21]. Для конденсації гідрозидів з бензоїлціанамідом як каталізатор в діоксані використовували бісацетилацетонат нікелю(II) $[Ni(acac)_2]$ [22].

Реакція двох молекул N-заміщених 2-фенілгідрозинкарботіоамідів з 1,2,3,5-тетрахлоро-1,4-бензохіноном (хлоранілом) при наявності трифенілфосфіну дає змогу отримати фенілазо-1,2,4-триазол (**1.9**) (рис. 1.4) [23]. Структура була підтверджена рентгеноструктурним аналізом двох аналогів триазолу.

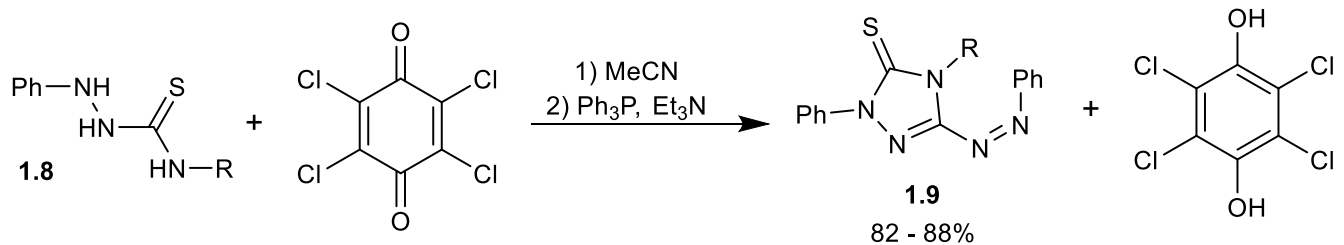


Рис. 1.4. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням окиснювальної гетероциклізації під дією хлорананілу

Тіосемикарбазон (**1.10**) є попередником іміноізотіоціанату (**1.12**), що утворюється після вивільнення НУ, який піддається циклопрієднанню до іміну з утворенням внутрішньої солі триазолінієвого тіону (**1.12**), в деяких випадках автори отримували ізомер (**1.14**) (рис. 1.5) [24].

N-(Феноксикарбоніл)гідрозони (**1.11**), отримані з альдегідів, також зазнавали аналогічного перетворення з одержанням триазолонів (**1.13**), які можна відновити до триазолідіонів (**1.15**).

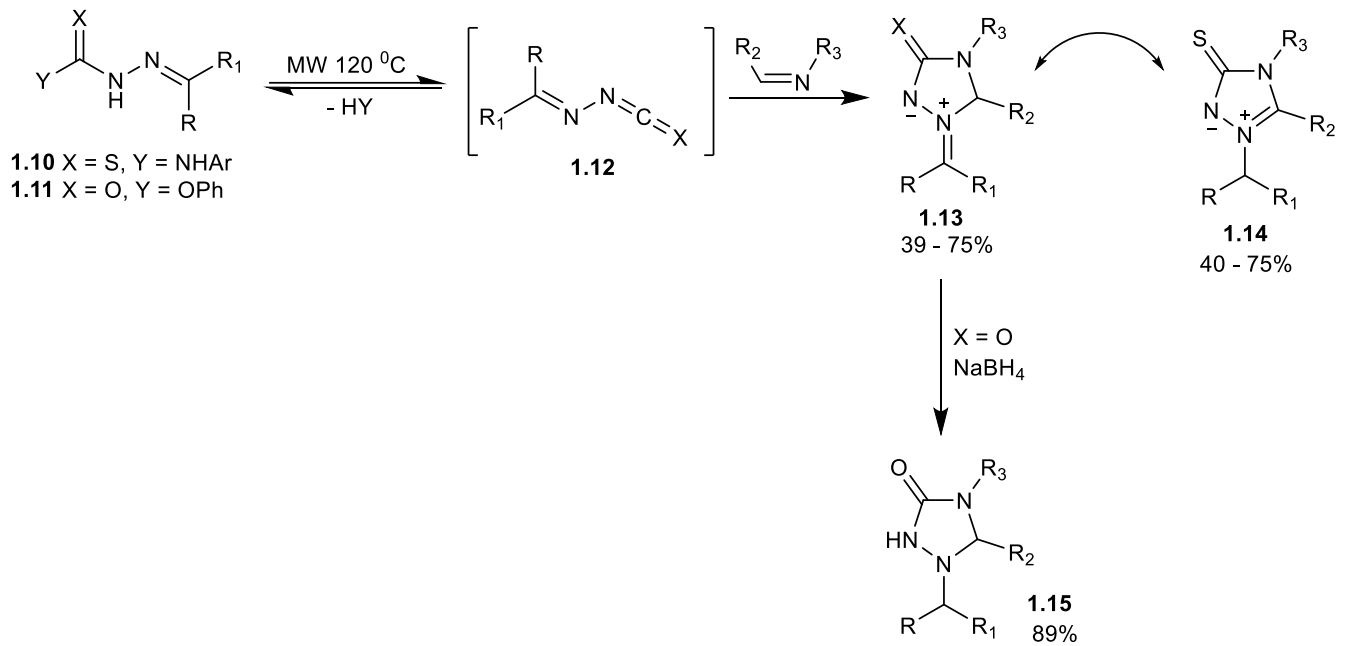


Рис. 1.5. Синтез похідних 1,2,4-триазолу на основі внутрішньої солі триазолінієвого тіону

Бромовання за допомогою NBS різноманітних *N,N*-дизаміщених гідразонів (**1.16**) та заміщення утвореного *in situ* гідразоноїлброміду натрій тіоціанатом дало внутрішню сіль 5-тіоксо-1,2,4-триазолію (**1.17**) [25], яка потім перегрупується в ізотіоціанат перед циклізацією. Такий же синтез можна також провести з амоній тіоціанатом при наявності амоній персульфату (рис. 1.6) [26].

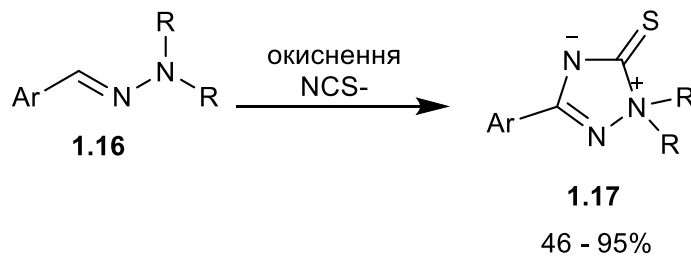


Рис. 1.6. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідразонів

Ароматичні альдегіди та тіосемікарбазиди були конденсовані з отриманням триазолідинтіонів (**1.18**) [27]. Цю реакцію також успішно проводили в середовищі PEG [28]. Аналогічно, семікарбазиди конденсували з ароматичними альдегідами в умовах гетерогенного наноцелюлозної гідроксилази з утворенням триазолідин-3-гідроксилідину з високими виходами (рис. 1.7) [29].

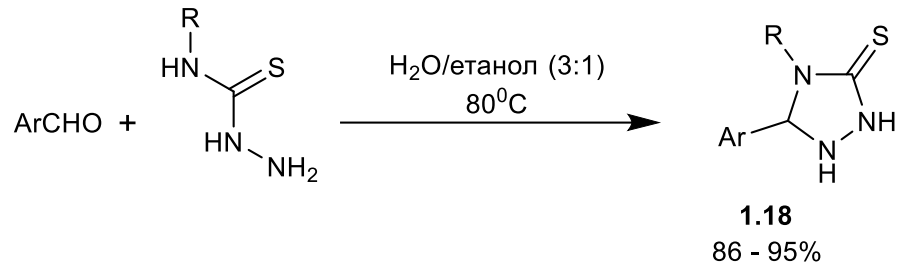


Рис. 1.7. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідразонів

Дві серії нових N^4 -арильних похідних 2-(4-етил-5-(3-хлорфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетаміду та 2-(4-феніл-5-(3-хлорфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетаміду були синтезовані шляхом [30] послідовних перетворень 3-хлоробензойної кислоти у її відповідний естер, потім гідразид, а в подальшому *N*-заміщені 1,2,4-триазоли відповідно (рис. 1.8).

Цільові сполуки отримували реакцією N^4 -заміщеного 1,2,4-триазолу з різними електрофілами у *N,N*-диметилформаміді (DMF) і натрій гідриду.

Синтезовані сполуки були оцінені на предмет їх інгібуючого потенціалу щодо ацетилхолінестерази (AChE) та бутирилхолінестерази (BChE), де ці сполуки показали помірну або хорошу активність щодо досліджуваних ферментів.

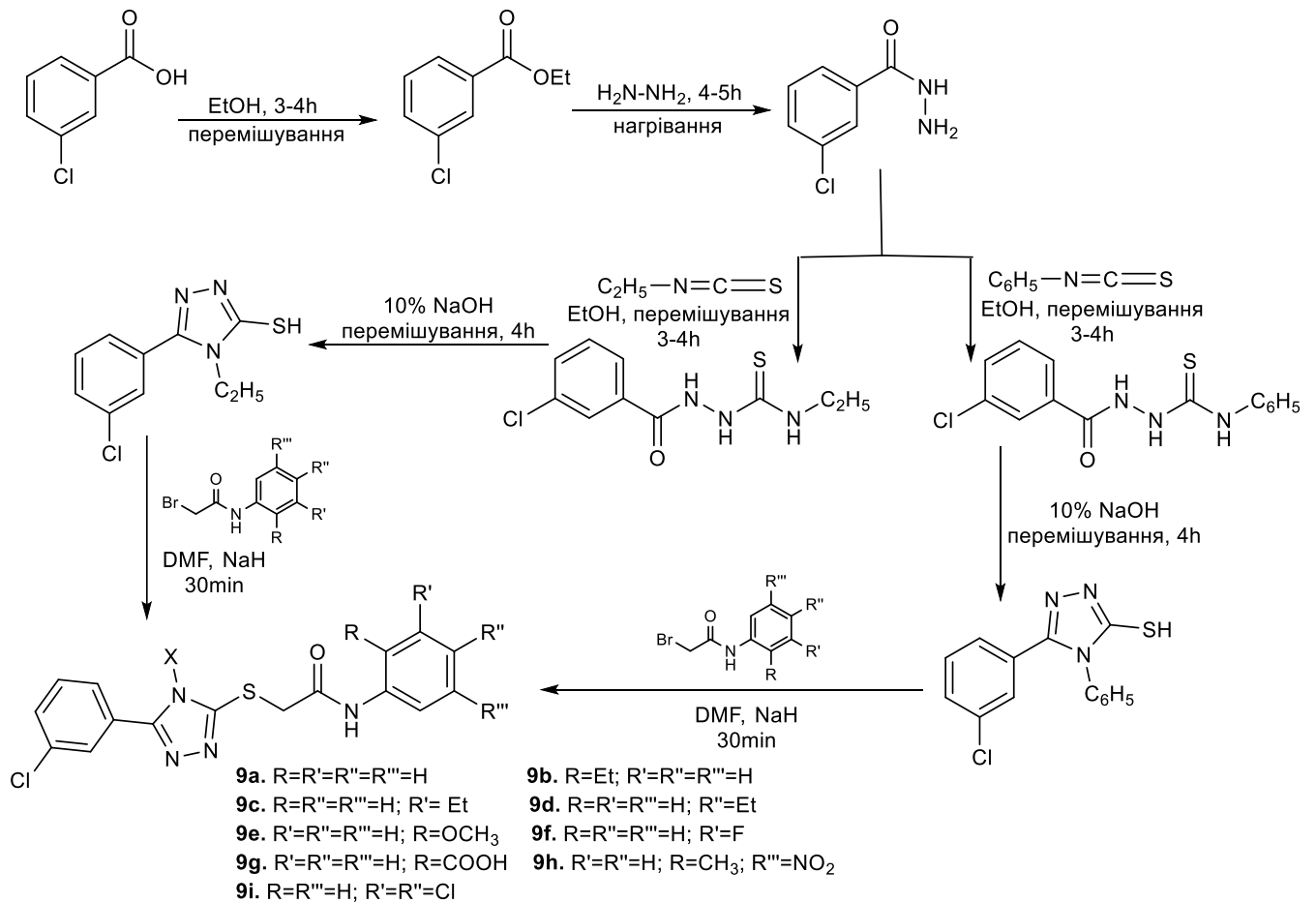


Рис. 1.8. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідрозонів

З метою розробки потенційних протимікробних засобів синтезовано деяку кількість 1,2,4-триазол-3-тіонів (рис. 1.9) за допомогою реакції гідрозидів з ізотіоціанатами в оптимізованих умовах у глибокоєвтектичному розчиннику калій карбонат-гліцерол (співвідношення 1:5) [31]. Від хороших до відмінних інгібуючих ефектів, особливо проти грибкових патогенів, спостерігали у всіх синтезованих сполуках. Основною причиною антигрибкової дії була акцепторна сила водневого зв'язку N-1 у 1,2,4-триазольних кільцях.

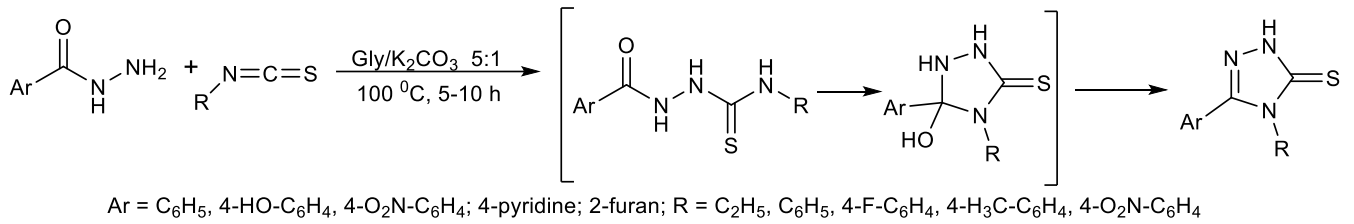


Рис. 1.9. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідразонів

Чотири нові основи Шиффа 4-(2,4-динітробензиліденаміно)-5-*m*-толіл-2*H*-1,2,4-триазол-3(4*H*)-тіон), 4-(2,4-динітробензиліденаміно)-5-(2-метокси-феніл)-2*H*-1,2,4-триазол-3(4*H*)-тіон), 4-(2,4-динітробензиліденаміно)-5-(3-метоксифеніл)-2*H*-1,2,4-триазол-3(4*H*)-тіон) і 4-(2,4-динітробензиліденаміно)-5-(4-метоксифеніл)-2*H*-1,2,4-триазол-3(4*H*)-тіон) були отримані як нові протигрибкові сполуки, що полягають у синтезі (рис. 1.10) 4-аміно-5-*R*-1,2,4-триазол-3-тіону і 2,4-динітробензальдегіду шляхом реакції конденсації в м'яких умовах з відмінними виходами [32]. Наведена сполука (EC₅₀=11,16 мг/л) є найбільш активною відповідно до гібереліни пшениці, навіть більш ефективною, ніж флуконазол (EC₅₀=16,03 мг/л) [32].

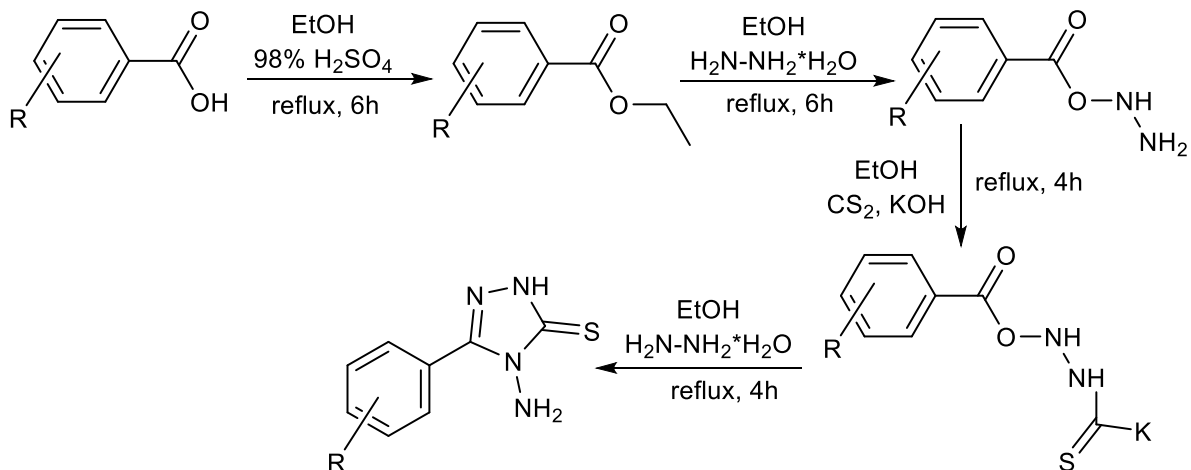


Рис. 1.10. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідразонів

Сірковуглець реагує з гідрозидами з утворенням дитіокарбаматів (**1.19**) [14], які можуть конденсуватися з гідразинном з утворенням N-амінозаміщених 1,2,4-триазол-3-тіонів (**1.20**) (рис. 1.11).

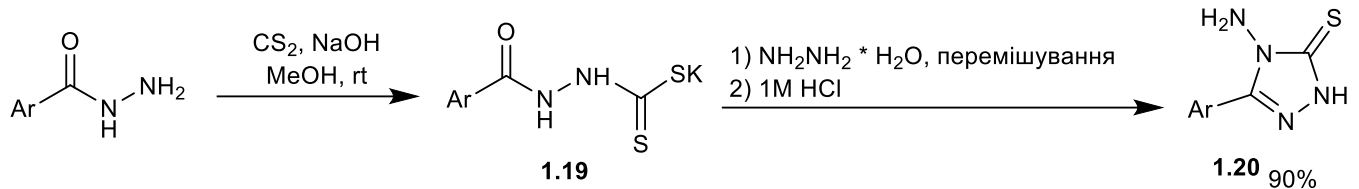


Рис. 1.11. Синтез похідних 1,2,4-триазолу окисненням *N,N*-дизаміщених гідрозонів

Один фрагмент, що вносить всі п'ять атомів у 1,2,4-триазольний фрагмент. Тіосемикарбазони (**1.22**) [22], отримані з ароматичних альдегідів, можуть зазнавати окисної гетероциклізації з утворенням 4,5-діарил-1,2,4-триазол-3-тіонів (**1.22**) [33] при наявності CuBr_2 як каталізатора. При тривалому нагріванні 5-незаміщені 3,4-діарилтриазоли (**1.23**) [23] можна отримати за допомогою *Cu*-опосередкованої десульфурації (рис. 1.12) [34].

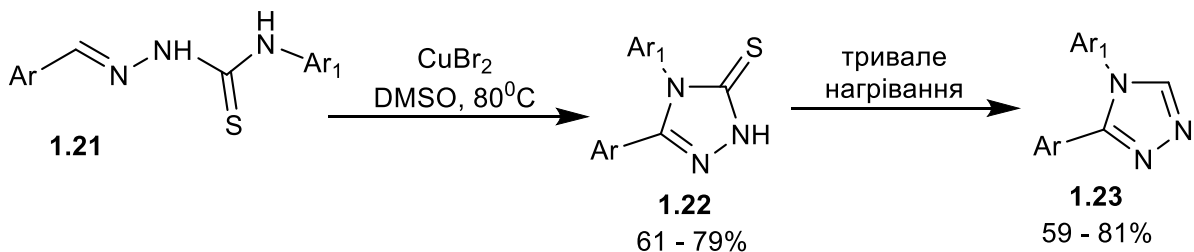


Рис. 1.12. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням прекурсорів тіосемикарбозонів

Утворення гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу за допомогою двох фрагментів з $[4+1]$ гетероциклізацією. Одним із перспективних шляхів

формування 1,2,4-триазольної системи є отримання основ Шиффа (**1.24**) взаємодією карбонової кислоти та тиосемікарбазиду. Кристалічні структури демонструють як між-, так і внутрішньомолекулярні взаємодії з утворенням водневих зв'язків, які відіграють важливу роль в утворенні багаточленних псевдохелатних угруповань [35]. Біологічна активність сполук показала чудову активність щодо гібереліни пшениці зі значенням $EC_{50}=2,864$ мг/л, що більше, ніж для флуконазолу ($EC_{50}=16,79$ мг/л).

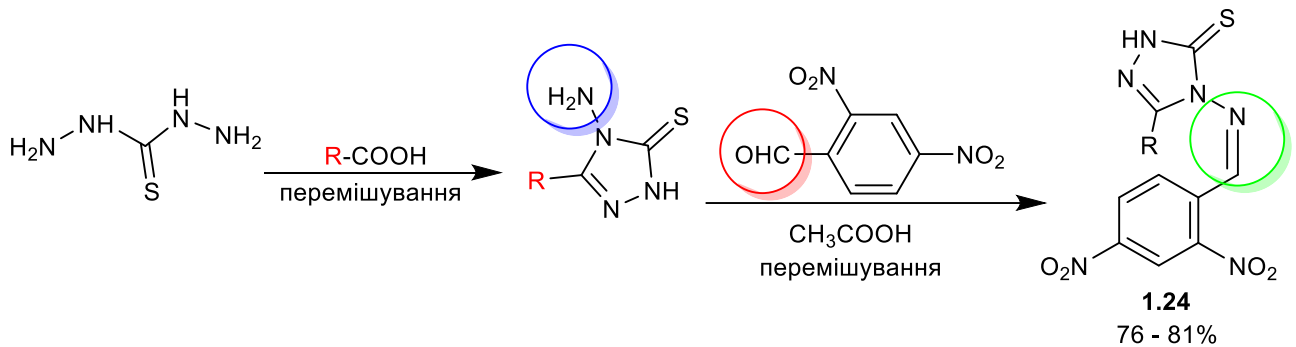


Рис. 1.13. Синтез похідних 1,2,4-триазолу з використанням [4+1] гетероциклізації

Утворення гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу за допомогою трьох фрагментів з [2+2+1] гетероциклізацією. Триазолідин-3-тіони (**1.23**) можна ефективно отримувати шляхом кислотної каталізації трикомпонентної конденсації кетонів або альдегідів, заміщених гідразинів і калій тiocіанату при кімнатній температурі (рис. 1.14) [36]. Зручно, що сполуки випадають в осад під час реакції і можуть бути видалені шляхом фільтрації.

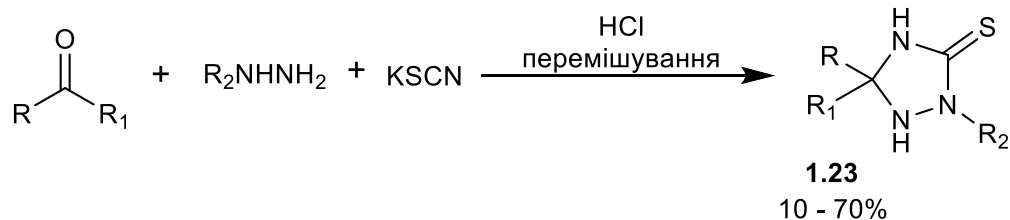


Рис. 1.14. Синтез похідних триазолідин-3-тіонів

Для легкого синтезу [37] 5-арил-4-феніл-1,2,4-триазолідин-3-тіонів з вихідних реагентів – фенілізотіоціанату, гідразин гідрату і різноманітних ароматичних альдегідів, циклічних кетонів, ізатинів було запропоновано високоефективний, однопотоковий, новий, екологічний і простий багатокomпонентний підхід (рис. 1.15). Синтез відбувався при наявності нового каталізатора, комбінованого кислотою Льюїса та поверхнево-активною речовиною. Високий вихід, використання температури навколишнього середовища та води як загальноприйнятого «зеленого» розчинника, проста процедура очистки, легка перекристалізація продукту, висока економія вихідних реагентів робить цей метод привабливим та економічним для багатьох дослідників.

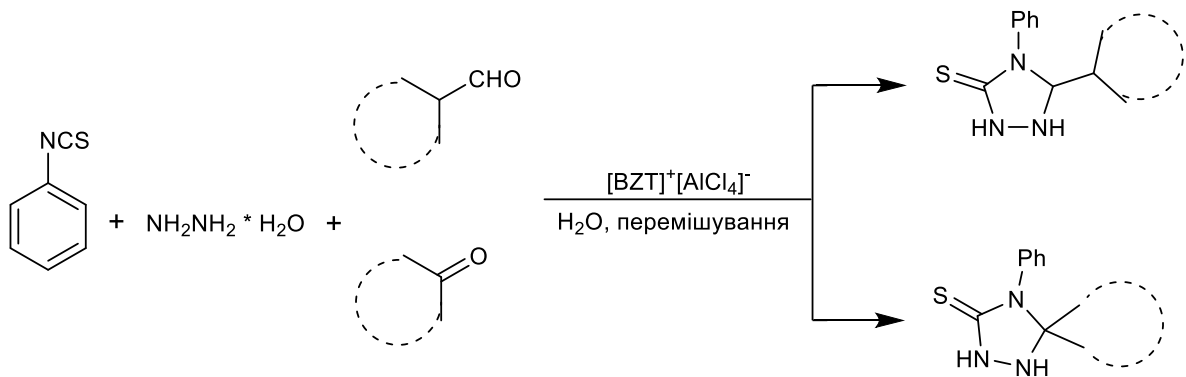


Рис. 1.15. Синтез 5-арил-4-феніл-1,2,4-триазолідин-3-тіонів і спіро-4-феніл-1,2,4-триазолідин-3-тіонів

1.2 Синтез та хімічні перетворення 5-гетерил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів

Утворення гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу за допомогою двох фрагментів з [3+2] гетероциклізацією. (3-Ізотіоціанато)оксиндоли реагували в асиметричному [3+2] циклоприєднанні з азодикарбоксилатами при наявності хірального бісцинхоноорганічного каталізатора гідрохінідину 1,4-фталазинділового дієстеру [38]. М'які умови реакції дали продукти з чудовими виходами з високою енантіоселективністю (до 98%) (рис. 1.16).

Розроблено, синтезовано [39] нові гібриди хіноліну/халкону, що містять 1,2,4-триазольний фрагмент, а їх структуру висвітлено та підтверджено різними спектроскопічними методами (рис. 1.17). Розроблені сполуки показали помірну або хорошу активність на різних клітинних лініях NCI 60 в аналізі однодозового лікування зі швидкістю інгібування росту в межах від 50% до 94%.

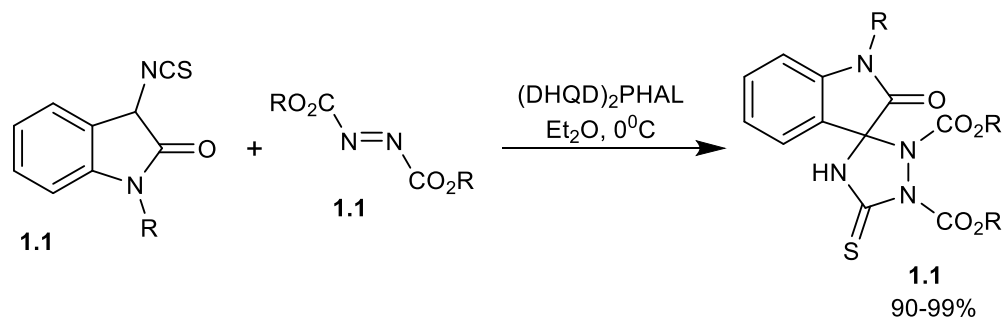


Рис. 1.16. Синтез 5-арил-4-феніл-1,2,4-триазолідин-3-тіонів і спіро-4-феніл-1,2,4-триазолідин-3-тіонів

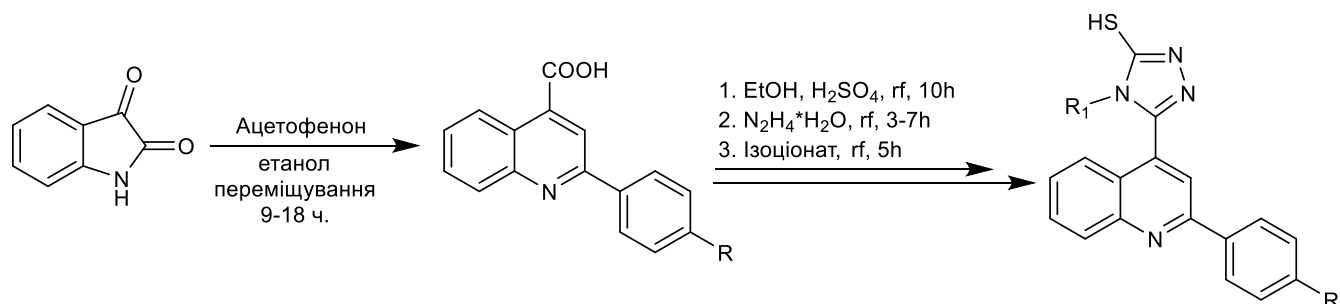


Рис. 1.17. Синтез нових 5-(2-фенілхінолін-4-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів

У цьому дослідженні [40] представлена серія нових N-алкільних/арилалкільних/арильних похідних 2-(4-феніл-5-(1-фенілкарбамоїл)-піперидин-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетаміду (рис. 1.18).

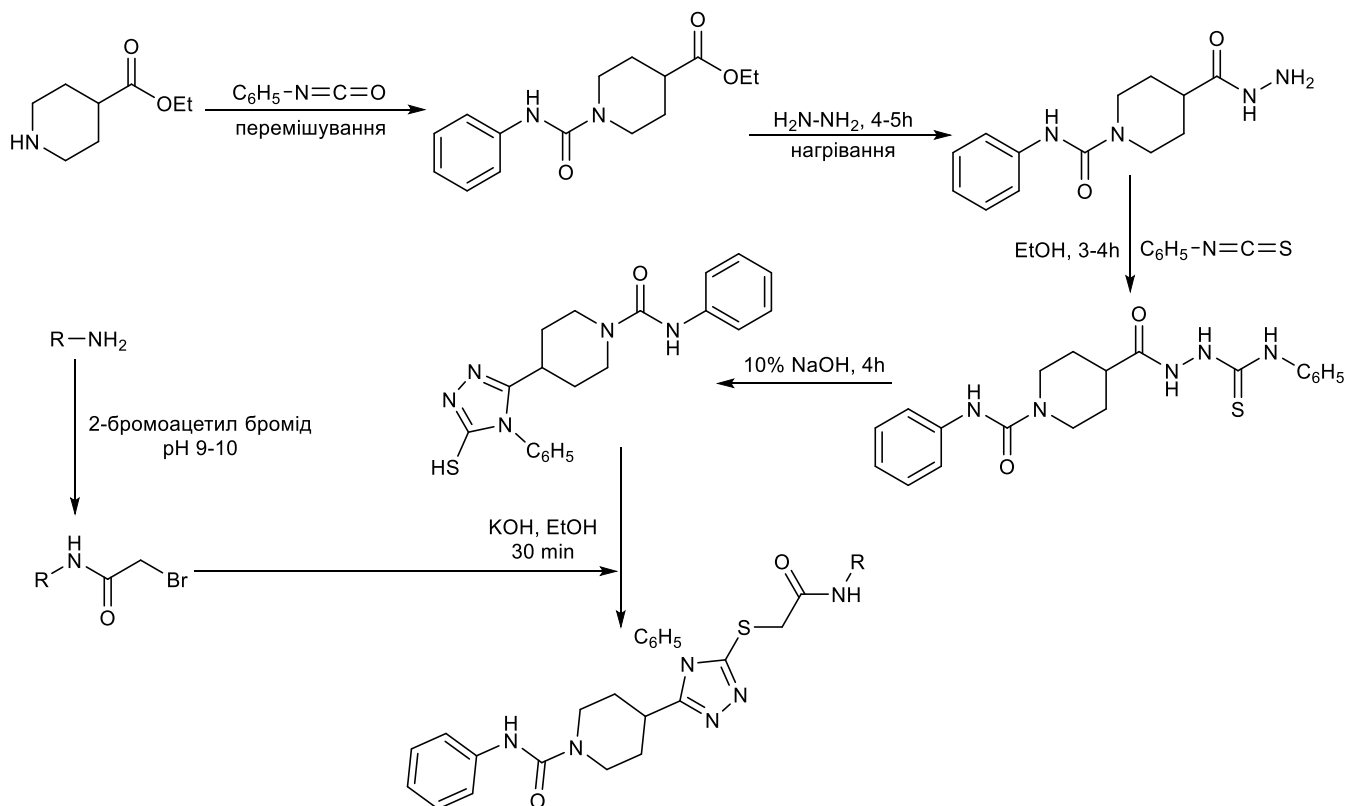


Рис. 1.18. Синтез нових похідних 2-(4-феніл-5-(1-фенілкарбамоїл) піперидин-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетаміду

Синтезовані сполуки перевірені на їх інгібуючий потенціал щодо ферменту 15-ліпоксигенази. Простий попередник етилпіперидин-4-карбоксилат послідовно перетворювався у похідне фенілкарбамоїлу, гідрозид, семікарбазид та N-феніл 5-(1-фенілкарбамоїл)піперидин-1,2,4-триазол, а потім у поєднанні з електрофілами шляхом подальшого багатоступеневого синтезу отримували кінцеві гібридні продукти. Ця робота виявляє можливість синтетичного підходу сполук щодо інгібування ліпоксигенази як потенційних модельних сполук (рис. 1.18).

У дослідженні [41] було синтезовано серію з одинадцяти біс-гетероциклічних сполук з похідним індолу (рис. 1.19), що містять 1,2,4-триазольний фрагмент, та оцінено їх інгібіторну активність *in vitro* α -амілази та α -глюкозидази.

В якості вихідної речовини етил 1-циклопропіл-5-(2-гідразиніл-2-оксоетокси)-2-метил-1*H*-індол-3-карбоксилат, який було перетворено у етил 1-циклопропіл-2-метил-5-((5-арил-1,2,4-триазол-3-іл)метокси)індол-3-карбоксилат за участю арилальдегіду та амоніаку у присутності амоній ацетату при нагріванні в середовищі етанолу протягом 20-24 годин. Продукти реакції були виділені з кількісними виходами. Структура одержаних речовин була підтверджена комплексом сучасних фізико-хімічних методів аналізу.

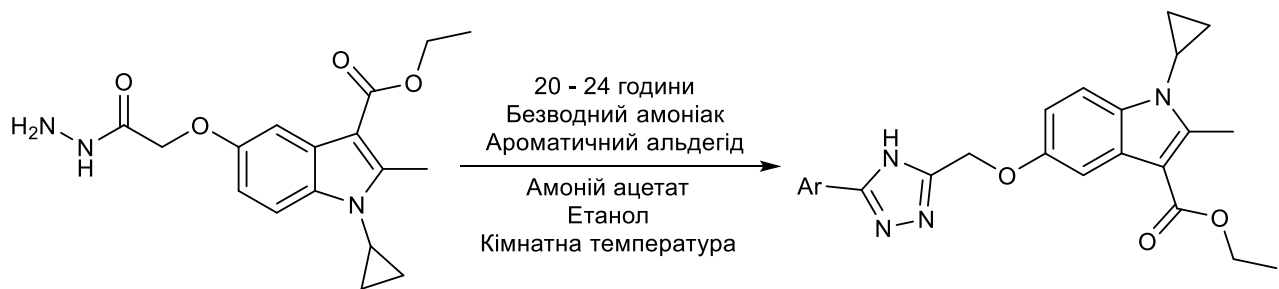


Рис. 1.19. Синтез нових похідних індолу, що містять 1,2,4-триазольний фрагмент

Було синтезовано [42] нову серію *S*-бензо[4,5]тіазоло[2,3-*c*][1,2,4]триазолів (рис. 1.20). Зв'язок структури та активності сполук вказував на сприятливі цитотоксичні результати щодо розкриття циклічного аміну та заміщення амініотіазоловим фрагментом.

У роботі [43] описано синтез серії нових 1,2,4-триазол-3-іл-тіоацетаміду і 5-піразин-2-іл-3*H*-[1,3,4]оксадіазол-2-тіонів (рис. 1.21).

Синтезовані сполуки були оцінені за допомогою α -дифторметилорнітину (DFMO) як контрольного препарату на предмет їх протитрипаносомної активності *in vitro* проти *Trypanosoma brucei*. Результати показали, що сполуки є більш потужними, ніж контрольний DFMO.

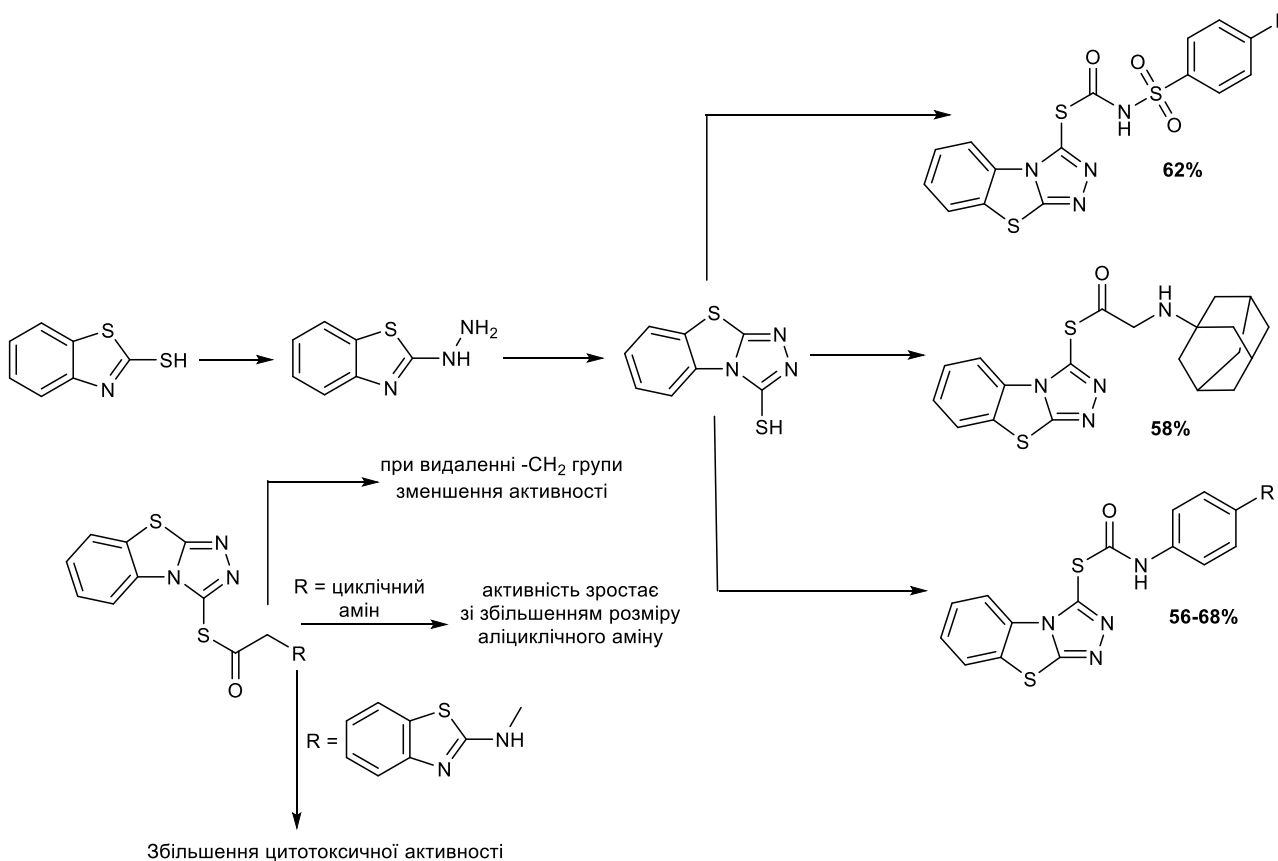


Рис. 1.20. Синтез нових S-бензо[4,5]тіазоло[2,3-с][1,2,4]триазолів

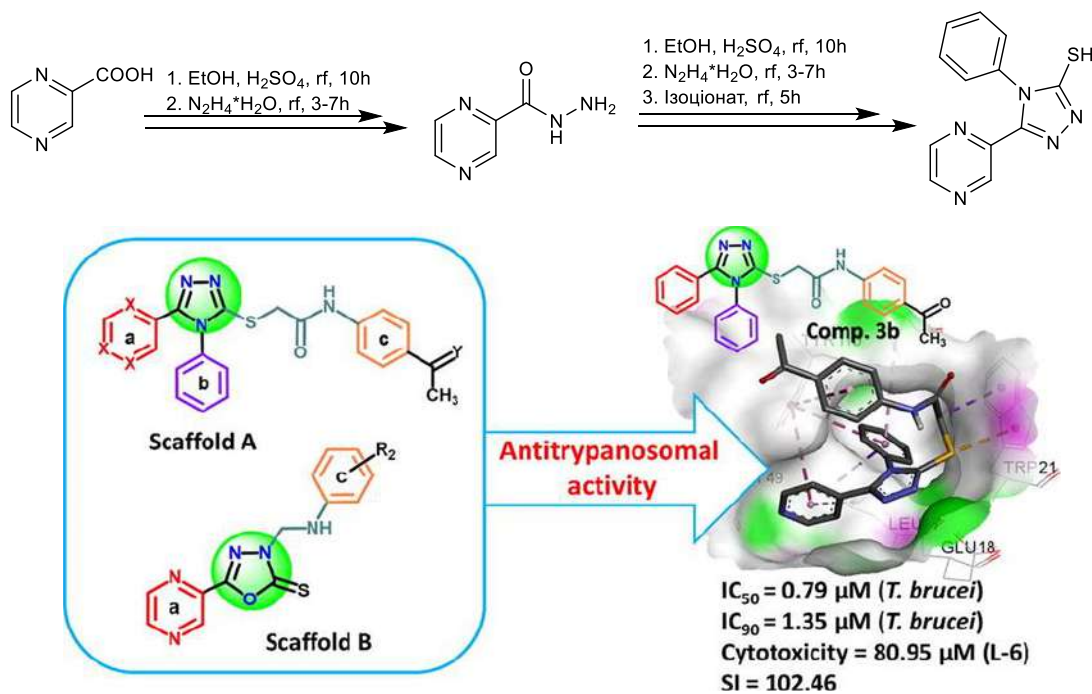
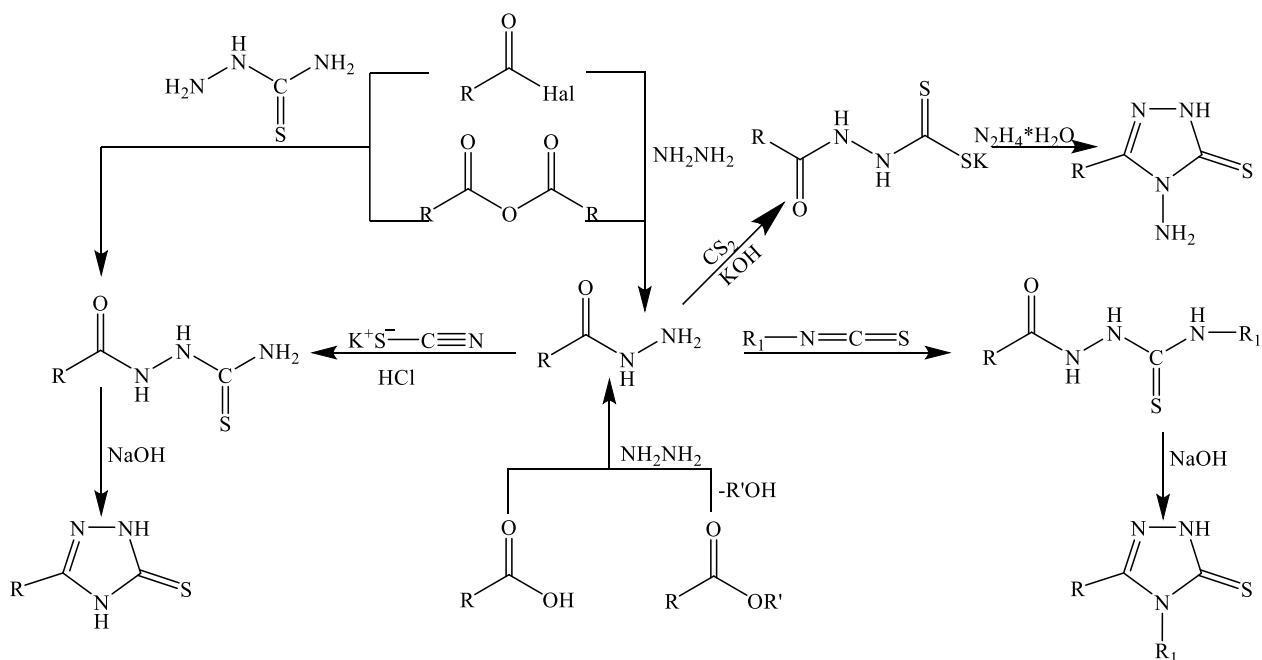


Рис. 1.21. Синтез нових 5-піразин-2-іл-3H-[1,3,4]оксадіазол-2-тіонів

Науковою школою Запорізького державного медичного університету синтезовано значний ряд похідних 1,2,4-триазолу [44–48] і розроблені різноманітні методи їх гетероциклізації (рис. 1.22). Отримані похідні мають найбільш активні фармакофорні групи, такі, як залишок адамантану, флуоро- та бромфенільні замісники, залишки 5-бромфурану, тіофену, піридину та інші. Синтез в основному розглядається як класична [3+2] гетероциклізація з отриманням широкого спектру, а також зустрічаються праці доволі авторських модифікацій методик з використанням POCl_3 , каталізаторів та інше.



R = Me, Ph, 2-F-C₆H₄, 3-F-C₆H₄, 4-F-C₆H₄, 2-Br-C₆H₄, 4-(t-Bu)-C₆H₄, Ad, 5-bromofuranyl-2, 2-Py, 3-Py, 4-Py, thienyl-2;
R₁ = Me, Et, Ph, 2-Br-C₆H₄, 2-Me-C₆H₄, 2-MeO-C₆H₄

Рис. 1.22. Синтез нових 1,2,4-триазол-3-тіонів з різними замісниками

Відома невелика бібліотека [49] 3-меркапто-1,2,4-триазолів на основі урсолової кислоти (рис. 1.23). Гідразиди, отримані з урсолової кислоти, були визначені як корисні прекурсори для розробленого синтезу. Гідразид урсолової кислоти для отримання структурно споріднених 3-меркапто-1,2,4-триазолів не був можливий для використання через стеричну перешкоду тритерпеноїду.

Ефір- і амідно-зв'язані гідразиди, що утворюються з етоксикарбонілметил-урсолату та амиду урсолової кислоти з метиловим β -аланінатом, слугували ключовими вихідними речовинами для віддалено пов'язаних меркапто- та аміноазолів. Нові гібридні гетероцикли з аміно- та меркаптозамінниками мають великий потенціал для подальшої дериватизації та є перспективними прекурсорами для синтезу аналогів тритерпеноїдів з хіміопрофілактичними та цитотоксичними властивостями.

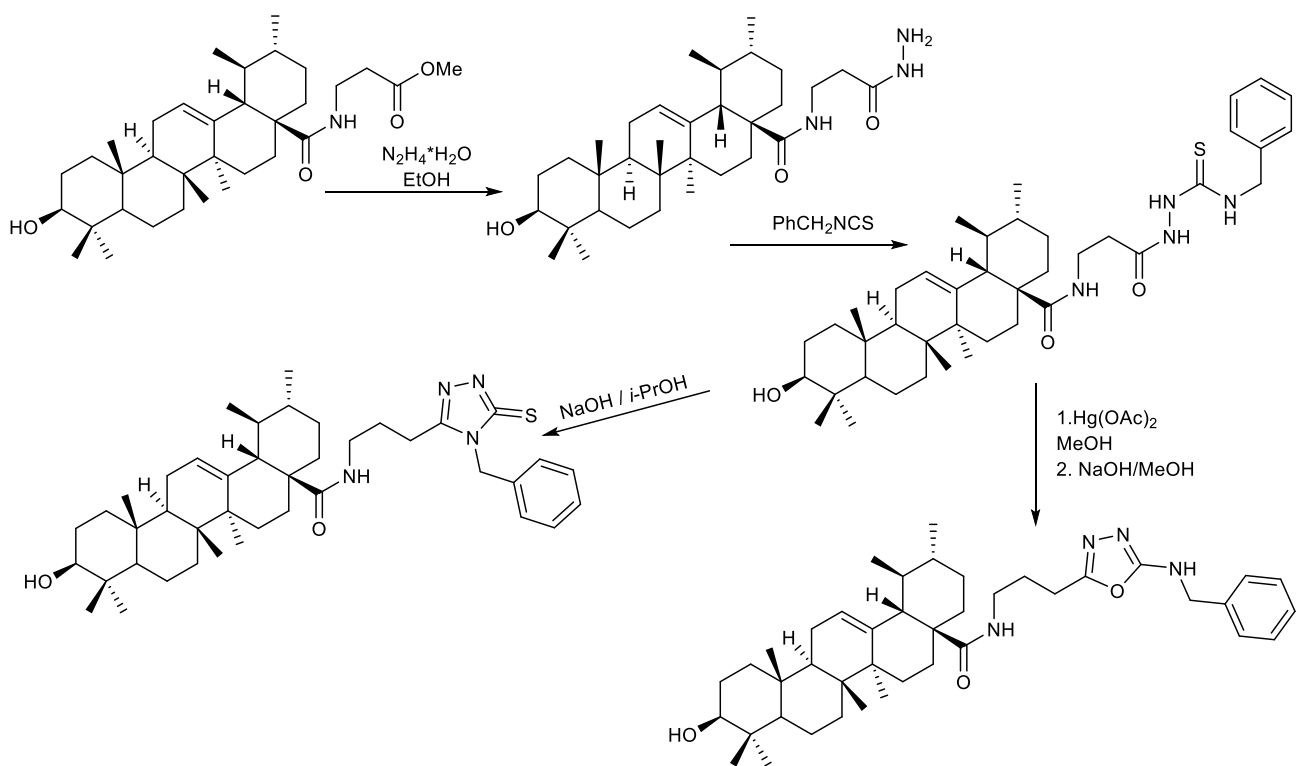


Рис. 1.23. Синтез нових 3-меркапто-1,2,4-триазолів та їх похідних

Серія гібридів 1,2,4-триазол-норфлорксацину була розроблена, синтезована та оцінена на антибактеріальну активність *in vitro* проти поширених патогенів (рис. 1.24).

Репрезентативні сполуки з кожної стадії синтезу були додатково охарактеризовані за допомогою рентгенівської кристалографії [50].

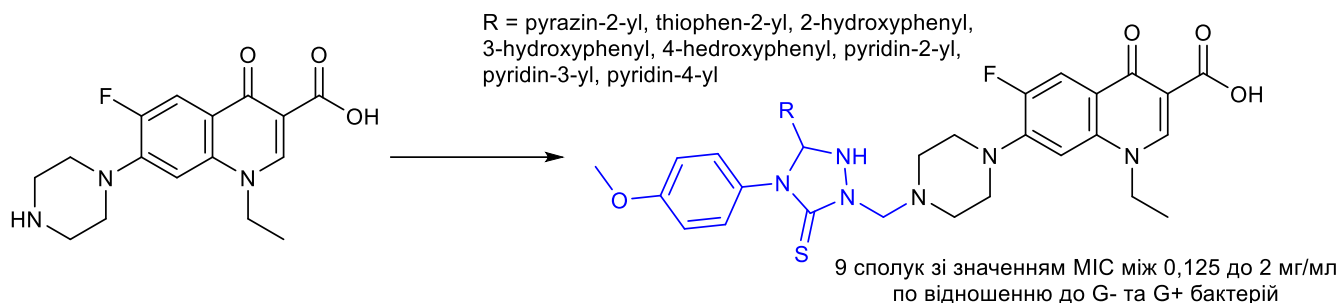


Рис. 1.24. Синтез нових гібридів 1,2,4-триазол-норфлоксацину

Утворення гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу за допомогою одного фрагмента з наступною гетероциклізацією.

Автори розробили синтез [51] сполук на основі каркаса 1,2,4-триазол-3-тіону, який оригінальним чином зв'язується з дицинковим каталітичним сайтом VIM і його перспективний потенціал для отримання інгібіторів широкого спектру дії.

Синтезована та охарактеризована серія сполук, які мають різноманітно функціоналізований алкільний ланцюг у 4-положенні гетероциклу.

Наявність карбонової групи на кінці алкільного ланцюга дає потужні інгібітори ферментів типу VIM зі значеннями K_i в діапазоні від мкМ до суб-мкМ, і що цей алкільний ланцюг повинен бути довшим або дорівнювати пропіловому ланцюгу (рис. 1.25).

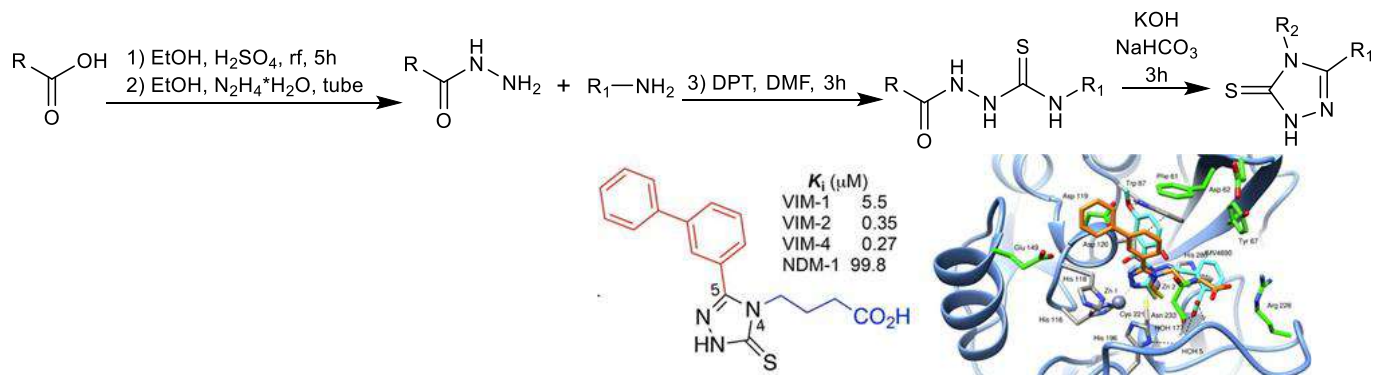


Рис. 1.25. Синтез нових 1,2,4-триазол-3-тіонів з різними замісниками

Були розроблені та синтезовані нові гібриди індоліл-1,2,4-триазолу як інгібітори кінази VEGFR-2 з потенційною протинирковою раковою активністю. Результати аналізу кінази *in vitro* показали, що всі цільові сполуки виявили субмікромолярне інгібування ферменту кінази VEGFR-2. Для синтезу цільових гібридів індоліл-1,2,4-триазолу синтезовано похідне амініотіону 3 з двох стадій реакцій, як проілюстровано на рис. 1.26 [52].

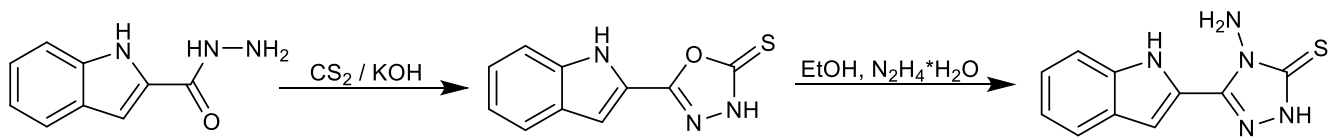


Рис. 1.26. Синтез нових 1,2,4-триазол-3-тіонів з різними замісниками

Отримано та охарактеризовано нові N-4-піперазинілципрофлоксацин-1,2,4-триазол гібриди (рис. 1.27) [53]. Антимікобактеріальна активність *in vitro* показала, що сполука має багатообіцяючу антимікобактеріальну активність проти *Mycobacterium smegmatis* порівняно з еталонним ізоніазидом (INH).

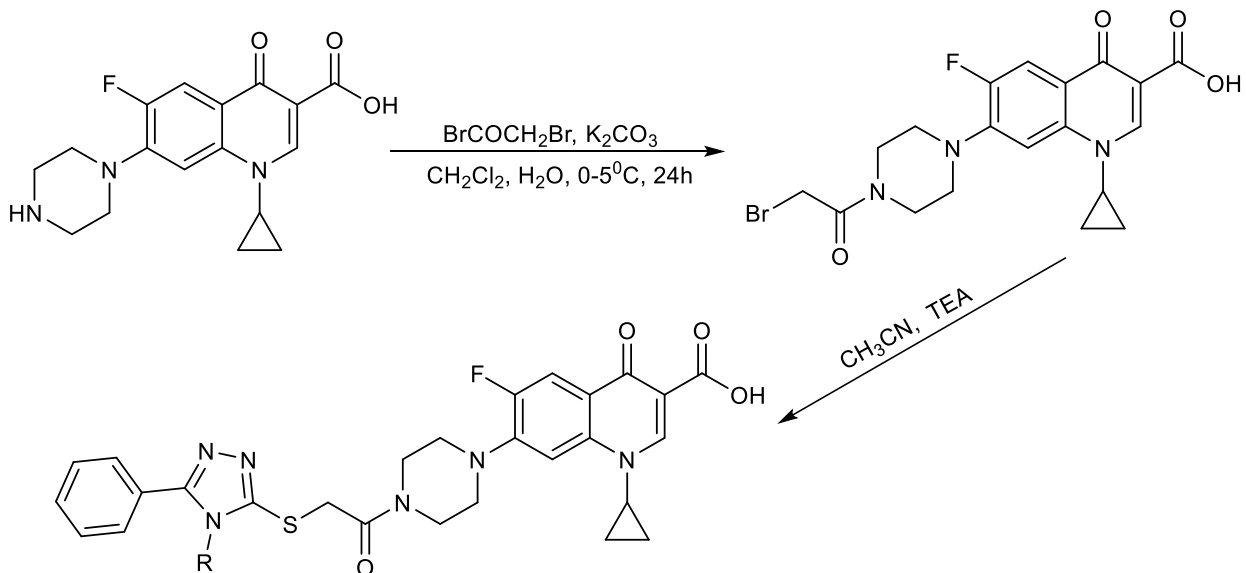


Рис. 1.27. Синтез нових N-4-піперазинілципрофлоксацин-1,2,4-триазолів

1.3 Особливості отримання та реакційної здатності флуоропохідних 5-арил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів

Конденсація двох або більше молекул зі специфічними функціональними групами є ключовим методом синтезу гетероциклічних сполук загалом. Цей підхід також широко практикується для синтезу гетероциклів з перфторалкільними групами [54], одного з найважливіших напрямків фторорганічної хімії. Гетероциклічні сполуки, що містять флуорозамісники, звертають на себе увагу завдяки своїй спрямованій біологічній активності, специфічній хімічній реакційній здатності та фізичним властивостям. Зокрема, перфторалкіловані п'ятичленні гетероцикли мають важливе застосування в медицині, сільськогосподарській, ветеринарній медицині і як специфічні барвники.

У роботі [55] автори пропонують синтез нових S-алкенільних похідних 5-(трифлуорометил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів шляхом реакції алкенілювання з різними алкенілгалогенідами. Варто відзначити, що реакція між отриманими продуктами алкілування перебігає регіоспецифічно з утворенням нових конденсованих флуоро- та йодовмісних [1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3]тіазинових гетероциклічних систем (рис. 1.28).

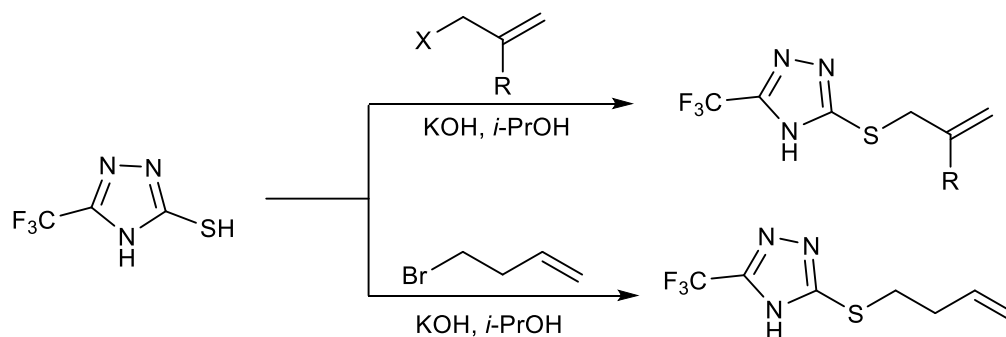


Рис. 1.28. Синтез S-алкенільних похідних 5-(трифлуорометил)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів

Командою науковців проведено дослідження [56] з мікрохвильового синтезу з принципами «зеленої» хімії (E)-4-((3,4-дифторбензиліден)аміно)-2,4-дигідро-5-метил-3H-1,2,4-триазол-3-тіону та його прототропної рівноваги. Молекула в твердому стані перебуває в екзо-тіоновій таутомерній формі. Одже, ймовірність виникнення прототропної тіон-тіольної таутомерії в газоподібній фазі через інтраміграцію одного протона та обміну подвійного переносу протонів, що самозбираються/витягують, була обчислена DFT. Високий ступінь узгодження математичних DFT-розрахунків було зафіксовано шляхом порівняння параметрів структури екзо-тіон-таутомеру з рентгенографічними дослідженнями. Докінгові дослідження авторів показали, що сполука є міцним гідрофобним кишеньково-зв'язувальним компонентом ДНК (рис. 1.29).

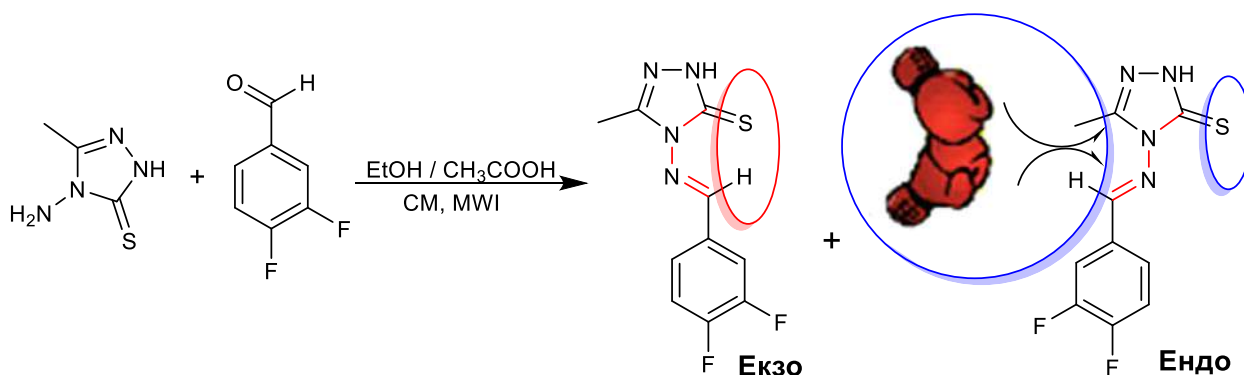


Рис. 1.29. Синтез (E)-4-((3,4-дифторбензиліден)аміно)-2,4-дигідро-5-метил-3H-1,2,4-триазол-3-тіону

Варто відзначити, авторами було виявлено, що особливості прототропної рівноваги обчислювальної таутомерії тіон-тіольної таутомерії відбуваються за допомогою самозбірного подвійного переносу протона і мають перевагу над процесом механізму інтраміграції одного протона.

За допомогою підходу молекулярної гібридизації авторами було розроблено та синтезовано серію нових похідних тiazоло[4,5-*d*]піримідинів з (1H-1,2,4)-триазолом з використанням тiazольного фрагмента, тiazолпіримідинового

фрагмента та фенільного радикала з атомами галогену [57]. Проведений аналіз впливу лінкерної групи та хімічної природи замісників, уведених у фенільне кільце, показав виражену залежність з протигрибкової активності сполук.

Похідні, що містили алкілпіперазиніловий лінкер, виявляли сильну протигрибкову дію *in vitro*, порівняну з флуконазолом, проти широкого спектра культур. Сполуки можна розташувати в наступному порядку зі збільшенням біологічної активності щодо більшості вивчених штамів грибів: метил-, хлоро- та флуоро-.

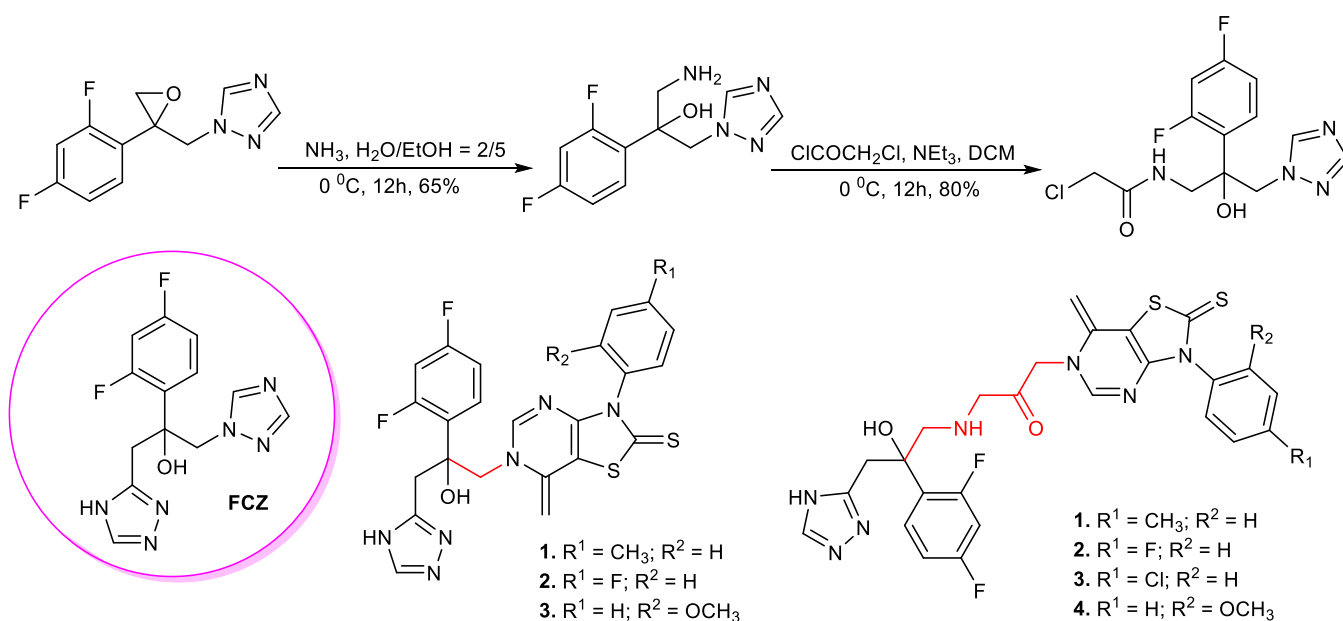


Рис. 1.30. Синтез тіазоло[4,5-*d*]піримідинів з (1*H*-1,2,4)-триазоловим фрагментом

Розроблено новий метод синтезу [58] 1,2,4-триазол-3-карбоксилатів з нітрилімінів шляхом двостадійних реакцій амінування та гетероциклізації (рис. 1.31). На основі дослідження SAR протизапальної активності більшість із цих сполук показали потенційну протизапальну активність щодо інгібування NO в клітинах порівняно з целекоксибом та індометацином.

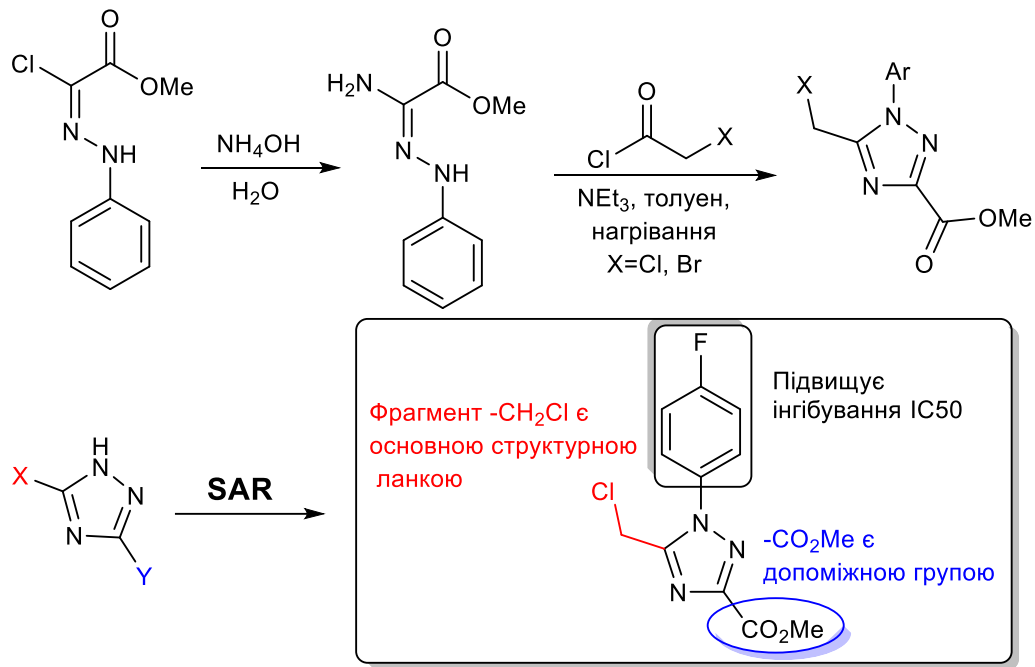


Рис. 1.31. Синтез 1,2,4-триазол-3-карбоксилатів з нітрилімінів

Вченими синтезовано серію аналогів топсентину на основі 1,2,4-триазолу, які були отримані [59] шляхом заміни імідазолової частини топсентину шляхом багатостадійного синтезу, починаючи з індолу.

Аналіз полімеризації мікротрубочок *in vitro* показав, що сполука порушує динаміку тубуліну, інгібуючи полімеризацію тубуліну з IC_{50} 3,89 мкМ порівняно зі стандартним нокодазолом (IC_{50} 2,49 мкМ).

Дослідження *in silico* виявили, що сполука синтезується на місці зв'язування колхіцину β -тубуліну.

Синтез заснований на взаємодії ізотіоціонатів з отриманням відповідних карбодіімідів і циклізації під дією лужних та кислотних агентів та отриманої похідних 1,2,4-триазолу або 1,3,4-оксадіазолу (рис. 1.32).

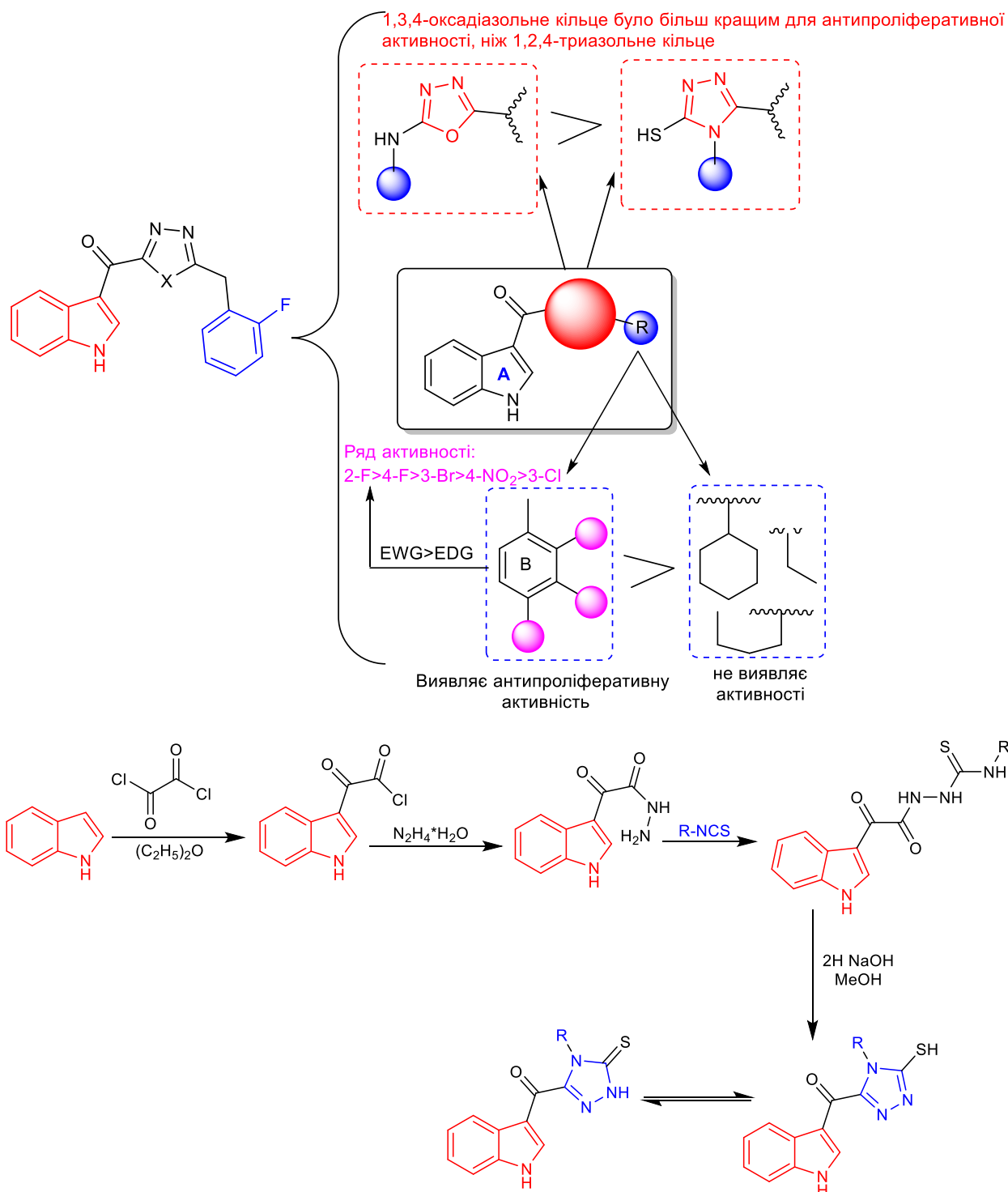


Рис. 1.32. Синтез аналогів топсентину на основі 1,2,4-триазолу

У дослідженні [60] 2,6-дифлуоробензогідразид і 4-флуорофенілізотіоціанат були використані як вихідні речовини для синтезу 5-(2,6-дифторфеніл)-N³-(4-фторфеніл)-4H-1,2,4-триазол-3,4-діамін з подальшою гетероциклізацією під дією

гідразин-гідрату в метанолі (рис. 1.33). Сполуки можуть бути потенційними протипухлинними засобами і тому вимагають подальших досліджень.

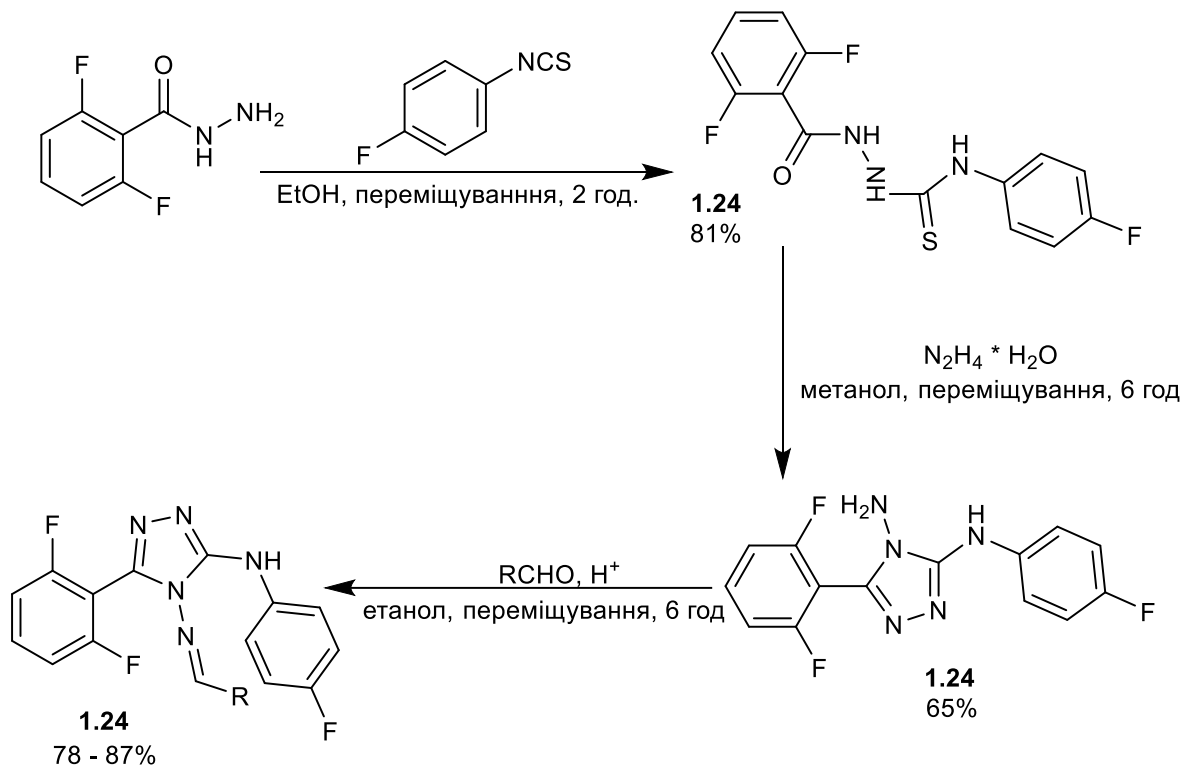


Рис. 1.33. Синтез 5-(2,6-дифторфеніл)-N³-(4-фторфеніл)-4H-1,2,4-триазол-3,4-діамінів

Нові похідні [9] N-(бензотіазол/оксазол-2-іл)-2-[(5-(феноксиметил)-4-арил-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо]ацетаміду були синтезовані та досліджені на протизапальну активність *in vitro*. Найактивніша сполука з інгібуванням набряку показала покращений профіль безпеки шлунково-кишкового тракту з нижчим індексом тяжкості виразки та потенціалом перекисного окислення ліпідів. В основі органічного синтезу лежить взаємодія гідразидів карбонових кислот з арил ізотіоціонатами та подальшою гетероциклізацією в розчині натрій гідроксиду (рис. 1.34).

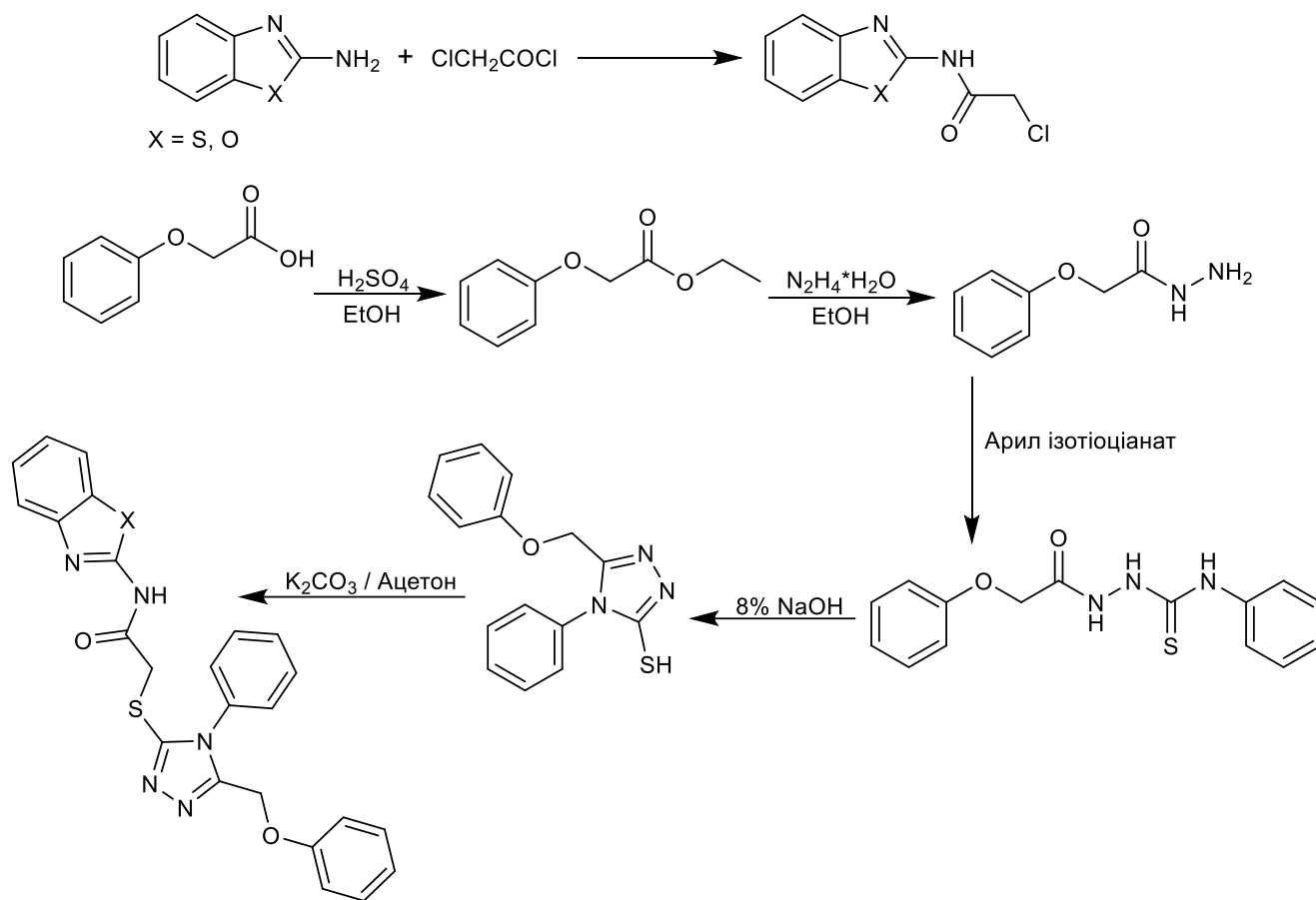


Рис. 1.34. Синтез N-(бензотіазол/оксазол-2-іл)-2-[(5-(феноксиметил)-4-арил-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо]ацетамідів

Привертає увагу новий синтез серії 3,5-дизаміщених 1,2,4-триазолів, який успішно розроблений в «одноколбовому» підході з високими виходами (рис. 1.35) [61]. Перетворення включає реакцію 1,3-дипольного циклоприєднання гідрохлоридів гідразоноїлу з проміжними оксимами, отриманими з альдегідів, і гідрохлоридом гідроксиламіну при наявності надлишкової кількості триетиламіну. У цій 1,3-дипольній реакції гідрохлориди гідразоноїлу розглядалися як замаскований 1,3-дипольний нітрилімін в основному середовищі. Розроблену методологію можна застосувати до різних альдегідних субстратів, включаючи аліфатичні, циклічні аліфатичні, ароматичні та гетероциклічні альдегіди.

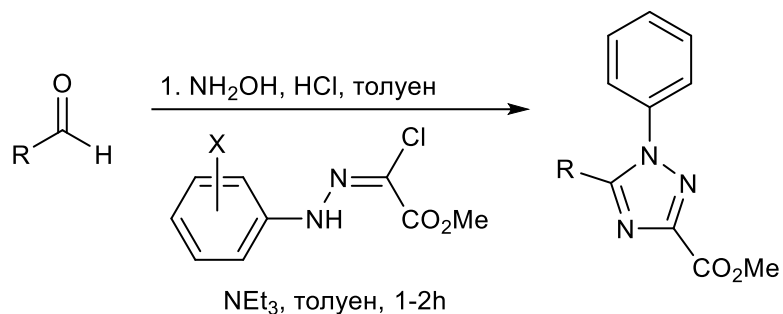


Рис. 1.35. Синтез 3,5-дизаміщених 1,2,4-триазолів

У подальшому автори для синтезу серії монофлуоро- і трифлуорометан-3,5-дизаміщених-1,2,4-триазолів застосували ефективний метод [62] 1,3-диполярного циклоприєднання. Цей метод циклоприєднання полягав у взаємодії гідрохлоридів гідразоноїлу з серією альдегідів при наявності NEt_3 як каталітичного основного агента з отриманням достатньо високих виходів. Результати інгібування росту протиракових клітин вказують на те, що деякі зі сполук, що містять фтор і трифторметан, можуть ефективно пригнічувати ріст NCI-H226 і клітин Т-клітинної лейкемії (Jurkat) (рис. 1.36). Серед сполук трифлуорометилвмісні 1,2,4-триазоли мали п'ятичленні кільцеві групи в положенні С-5 триазольного кільця, включаючи циклопентил, 3-фурил, 3-тієніл і 2-піроліл.

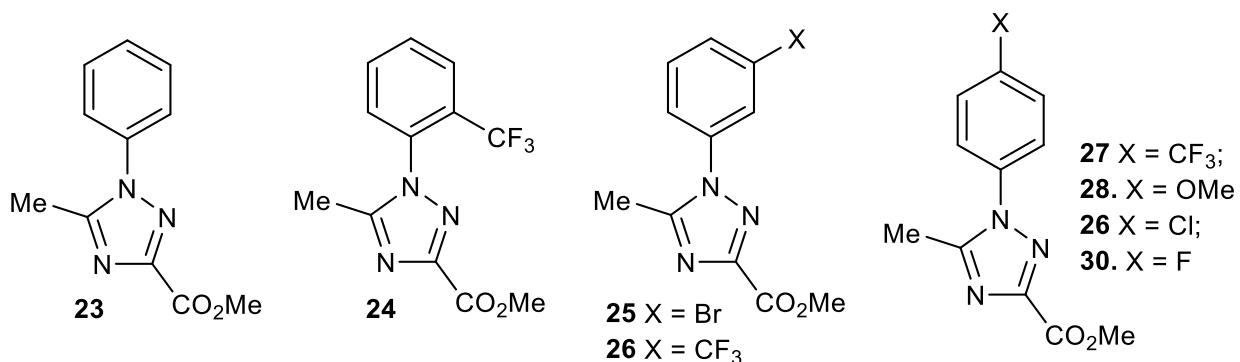


Рис. 1.36. Синтез монофлуоро- і трифлуорометан-3,5-дизаміщених-1,2,4-триазолів

Серія нових похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та біс(1,2,4-триазолтіону), що містять фенілпіразол і заміщені піперазинові частини, були зручно синтезовані [63] за допомогою реакції Манніха з використанням різних тіолів 1,2,4-триазолу, заміщених піперазинів і формальдегиду при кімнатній температурі за короткий час (рис. 1.37). Дослідження біологічної активності показали, що деякі з них мають певну гербіцидну дію проти *Echinochloa crusgalli* при концентрації 100 мкг/мл. Аналіз SAR засвідчив, що сполуки з двома групами CF_3 як на триазольному, так і на піразольному кільцях є більш ефективними, ніж сполуки з однією групою CF_3 або двома групами CH_3 згідно з даними їх фунгіцидної активності. Загалом, сполуки можуть бути використані як нові модельні структури для розробки та відкриття нових фунгіцидів.

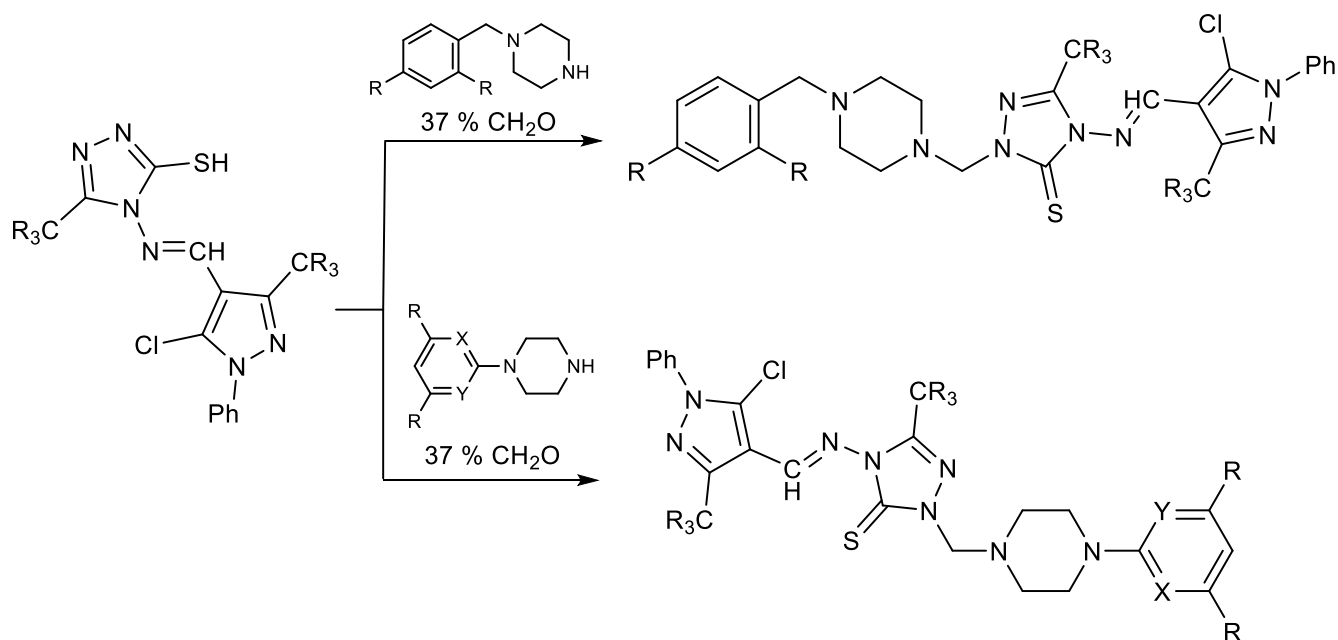


Рис. 1.37. Синтез похідних 1,2,4-триазол-3-тіону та біс(1,2,4-триазолтіону)

Аналогічно за реакцією Манніха [64] проміжних продуктів триазолу з формальдегідом і різними заміщеними піперазинами в м'яких умовах при нетривалому нагріванні з високими виходами було синтезовано ряд флуоро- та

піперазинвмісних похідних тіону 1,2,4-триазолу (рис. 1.38). Сполуки також проявляли слабку гербіцидну активність проти *B. campestris* та *E. crusgalli* при 100 мг/мл, деякі сполуки мали значну фунгіцидну дію.

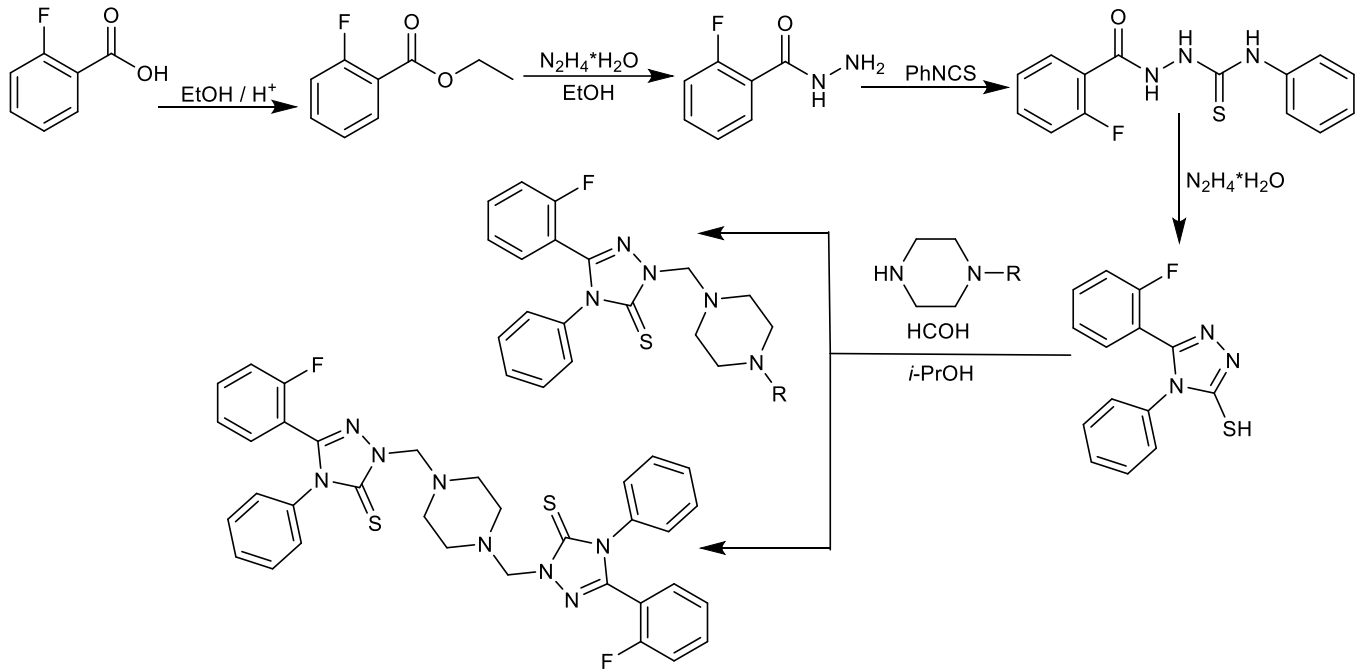


Рис. 1.38. Синтез флуоро- та піперазинвмісних похідних тіону 1,2,4-триазолу

Вищезазначений огляд свідчить про великий інтерес до розробки нових методів і підходів до синтезу флуоровмісних гетероциклічних сполук та особливо флуороароматичних сполук. Важливо, що ці підходи використовують доступні та недорогі вихідні матеріали. Останні розробки фторорганічної хімії сприяли до відкриття нових флуоровмісних гетероциклічних сполук з унікальною структурою, багато з яких виявляють специфічну біологічну активність та ефективність у медицині. Однією з проблем флуороорганічного синтезу є висока вартість включення фтору в органічні молекули.

1.4 Біологічна активність похідних 5-арил-, гетерил-4R-1,2,4-триазол-3-тіонів

Серед різноманітних азагетероциклічних систем азоли загалом і 1,2,4-три-азоли зокрема є в центрі поновлення інтересу серед хіміків-органіків та медичних хіміків, оскільки кілька нових гібридів з більш широким спектром були синтезовані на основі підходу молекулярної гібридизації [65]. 1,2,4-Триазол з молекулярною формулою $C_2H_3N_3$ діє як ізоестер аміду, естеру та карбонової кислоти. Він може бути формально отриманий з піразолу шляхом заміщення Карбону в положенні 4 атомом Нітрогену. 1,2,4-Триазол існує у двох таутомерних формах [66].

1,2,4-Триазоли діють як важливі фармакофори, взаємодіючи з біологічними рецепторами з високою спорідненістю через їх значний дипольний момент, здатність до утворення водневих зв'язків і високу розчинність в різноманітних розчинниках. Цей остов є невід'ємною частиною різноманітних препаратів, доступних у клінічній терапії, включаючи протигрибкові (флуконазол, ітраконазол, посаконазол, вориконазол, равуконазол), анксіолітичні, протисудомні та снодійні (естазолам, алпразолам), анксіолітичні та скелетні м'язові релаксанти (етізолам, ризатриптан), антитромбоцитарний (трапідил), антидепресант (тразодон), протипухлинний (анастрозол), інгібітор ароматази (летрозол), противірусний (рибавірин) та протисудомний засіб (лореклезол) (рис. 1.39) [68, 70].

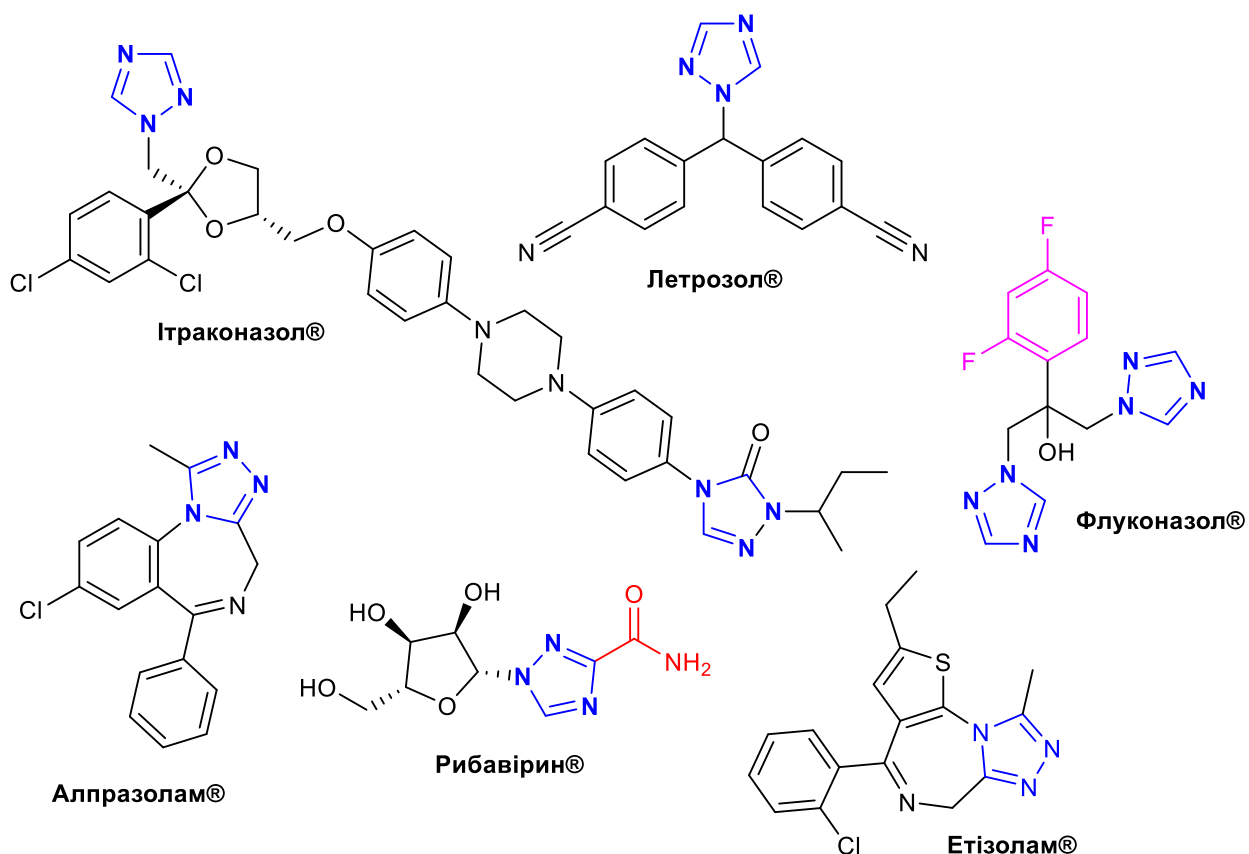


Рис. 1.39. Клінічні лікарські препарати на основі 1,2,4-триазолу

Деякі комерційні фунгіциди захисту рослин містять триазоловий фрагмент, наприклад, протиоконазол, тріадимефон, метконазол, пропіконазол, тебуконазол, епоксиконазол, тріадименол та ципроконазол [72]. Відомо також, що 1,2,4-триазоли та їх конденсовані гетероциклічні похідні володіють широким спектром біологічної активності, такі як нейропротекторна [74], антиоксидантна [76], протималарійна [78], протилейшманіальна [80], антиуреазна [82], протівірусна [84, 111], протисудомна [86], антагоністи канабіноїдного рецептора CB1 [89], інгібітори PDE4 [91] та g-аміномасляної кислоти-A [92]. Крім того, вони знаходять застосування в іонних рідинах, інгібіторах корозії, агрохімікатах, полімерах, супрамолекулярних і матеріалознавчих галузях [95, 96, 99, 101].

1,2,4-Триазол є привілейованим напрямком у медичній хімії і допоможе науковій спільноті в раціональній розробці нових, цільових, оптимізованих та

різноманітних препаратів на основі гетероциклу для лікування мультифакторних захворювань.

При огляді літературних джерел щодо біологічних та фармакологічних властивостей похідних 1,2,4-тріазолу було виявлено ряд робіт, які стосуються вивченню їх токсичності [102, 105, 106].

Епілепсія – це група тривалих неврологічних розладів, що характеризуються епілептичними випадками, які включають спонтанну, переривчасту, аномальну електричну активність мозку. Тому пошук нових протисудомних засобів завжди залишатиметься важливим і складним завданням для медичної хімії. Крім того, за останні двадцять років у клінічну практику впроваджуються нові протиепілептичні препарати. Було багато наукових досліджень про протисудомну дію 1,2,4-тріазол-3-тіонів [10, 67, 69, 71, 73, 75, 77].

Противірибкові засоби. Поява множинної лікарської стійкості патогенів спонукала дослідників розробити нові 1,2,4-тріазоли широкого спектру дії, які мають високий вплив, простоту введення та низьку токсичність, щоб подолати резистентність. Тріазолові противірибкові препарати проявляють високу фунгіцидну активність шляхом інгібування активності цитохрому Р450-залежного ферменту, ланостерол 14а-деметилази (СYP51), який є ключовим ферментом у біосинтезі ергостеролу грибів [114, 117].

Серед синтезованих хінолінових бензотіазоліл-1,2,4-тріазолів для R=галоген (рис. 1.1) був наступний порядок активності: -Br або -Cl > -F; 4-гало- та 3-галогенопохідні демонстрували більш високу дію, ніж 2-галогенопохідні. Заміщена бензильна група демонструвала кращу дію, ніж алкільна та циклоалкільна група. Сполуки (1.1) та (1.2) (МІК: 6,25 мг/мл) були в 2 рази більш ефективними, ніж стандартний флуконазол (МІК: 12,5 мг/мл) проти *S. albicans*, тоді як сполуки (1.1) та (1.2) (МІК: 6,25 мг/мл) мали високу активність проти *A. niger* і була рівносильна флуконазолу (МІК: 6,25 мг/мл) [118].

Лін та ін. повідомили про синтез та противірибкову активність *in vitro* серії

похідних миртеналу, які містять 1,2,4-триазоловий фрагмент (**1.3**) при 50 мг/мл [121]. Дослідження показало, що більшість сполук продемонстрували більшу активність, ніж миртенал. Це вказує на те, що включення 1,2,4-триазол-тіоефірного фрагмента в молекулу миртеналу було сприятливим для підвищення протигрибкової активності. Деякі зі сполук виявляли чудову активність проти *P. piricola* з інгібуючою швидкістю 90-98%, порівняною з комерційним фунгіцидом азоксистробіном – 96%.

Основи Шиффа 1,2,4-триазолу (EC_{50} : 0,0087-0,0309 г/л) виявляли більш високу протигрибкову активність, ніж тріадимефон (EC_{50} : 0,0195-0,0620 г/л) проти *Gibberlla nicotiancola sa* і *Gibberli* [79]. Зумпулакис та ін. повідомили про синтез та протигрибкову активність похідних сульфонамідів-1,2,4-триазолу (МІК: 0,01-0,27 ммоль/мл) проти кількох штамів грибів [81].

Антибактеріальні засоби. Більшість гібридів ципрофлоксацину-1,2,4-триазол-5(4Н)-тіону **1.9** (МІК: 0,046-3,11 мМ) були перевірені на групу патогенів і було виявлено, що вони мають вищу дію проти MRSA, ніж ванкоміцин (МІК: 0,68 мМ) і ципрофлоксацин (МІК: 2,96 мМ) [83, 85]. Аналіз SAR гібридів розкрив, що фенільні групи в положенні С-3 відіграють вирішальну роль у виявленні високої активності, а електронодонорні групи, зокрема еОН на фенільному кільці, сприяють цій активності; тоді як заміщена фенільна група в положенні N-4 1,2,4-триазол-5(4Н)-тіонової частини не була суттєвою для активності; довжина алкільного ланцюга в положенні N-4 впливала на активність, а довший алкільний ланцюг значно знижував активність.

Мермер та ін. синтезували нові гібриди хінолон-триазолу та оцінили їх антибактеріальну активність, інгібіторну активність ДНК-гірази та топоізомерази IV [87]. Серед них сполуки виявили найвищу антибактеріальну активність (МІК: 0,125-8 мг/мл) щодо *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* та *Acinelyticus haemobacter*.

Сполучені з 1,2,4-триазолом фторхінолони з функціональною частиною

Манніха в положенні С-8 проявляють значну антибактеріальну дію [88]. 1,2,4-Триазоло[3,4-*b*]1,3,4-тіадіазоли на основі налідиксової кислоти оцінювали на предмет їх антимікробної активності проти двох грампозитивних бактерій (*S. aureus* і *Bacillus subtilis*), трьох грамнегативних бактерій (*P. aeruginosa*, *E. coli* і *K. pneumoniae*) і двох грибів (*A. niger* і *F. oxysporum*) [90]. Дослідження SAR показало, що при порівнянні зі стрептоміцином (МІК: 2-15 мг/мл) проти всіх досліджуваних мікроорганізмів, тоді з нітро групою у фенільному фрагменті згубно впливає на активність.

Пракаш та ін. [93] було синтезовано дигідроіндол та індолено[1,2-*e*] [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадізидини та профільовано їхню антибактеріальну активність проти *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* та *P. aeruginosa* та протигрибкову активність проти двох штамів грибів, а саме, *A. niger* та *A. flavus*. Сполуки показали найпотужніший інгібуючий ефект (МІК: 2-32 мг/мл) на досліджувані бактерії. Крім того, сполуки мали більш потужну антибактеріальну активність.

1,2,4-Триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазидини були перевірені на їх антибактеріальну активність проти штамів бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *Bacillus cereus* [131]. Серед досліджених сполук (МІК: 3,125 мг/мл) показали прекрасну антибактеріальну активність щодо *E. coli* та *P. aeruginosa* відповідно. 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]похідні тіадіазину у концентрації 100 мг/мл виявляв від помірної до значної антибактеріальної активності проти чотирьох патогенних бактерій людини (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. dysenteriae* та *Shigella flexneri*) [132]. Серед них сполука із зоною інгібування більше, ніж стандартний неоміцин і дорівнювала стрептоміцину, продемонструвала потенційну інгібуючу активність проти всіх бактерій.

Антибактеріальна активність 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів вказувала на високу активність як щодо лікарськочутливих, так і резистентних до грампозитивних бактерій, яка була до 16 разів більшою, ніж ампіцилін [133]. Похідні тіоурацилу, що містять триазоло-тіадіазоловий фрагмент, виявляли

хорошу або потужну активність проти *Bacillus amyloliquefaciens*, *S. aureus* і *B. subtilis* [134]. Сполуки демонструють інгібіторну активність проти SecA-АТФази.

Повідомлено про синтез та антибактеріальну активність меркапто-1,2,4-триазолів, що містять дифенілсульфон, проти *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii* та *P. aeruginosa* [13]. Серед них одна зі сполук, що має бромдифенілсульфонову частину в положенні-3 і 3,4,5-триметоксифенільний фрагмент на атомі азоту N-4 триазольного кільця, виявила найсильнішу дію проти *B. cereus* (МІК: 8 мг/мл).

Серії основ Шиффа 1,2,4-триазолу були синтезовані та оцінені на предмет антимікробного потенціалу *in vitro* проти бактерій (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* та *P. aeruginosa*) та грибів (*C. albicans*) [135]. Усі синтезовані сполуки (МІК: 3,125 мг/мл) були рівносильними зі стандартним препаратом цефтриаксону проти *S. aureus*, тоді як були більш ефективними (МІК: 3,125 мг/мл), ніж цефтриаксон проти *C. albicans*.

Ян і Бао синтезували похідні 1,2,4-триазолу, що містять хіназолінілпіперидинільний фрагмент і N-(заміщений феніл)ацетамід (рис. 1.1), та оцінили їх на предмет їх антимікробної активності [136]. Сполуки (EC_{50} : 34,5-47,5 мг/мл) мали кращу бактерицидну дію, ніж контрольний бісмертіазол (85,6 мг/мл) проти фітопатогенної бактерії. Дослідження SAR представило значення сильно електроноакцепторних замісників (таких, як 2,4-di-F, 3-F, 3-NO₂, 3-COCH₃, 2-NO₂, 2-CF₃ і 4-COCH₃) та їх положення на бензольне кільце для посилення антибактеріальної активності. Гібриди 1,2,4-триазол-піримідин (МІК: 1,8-4,7 мМ) показали чудову активність проти *S. aureus* та *E. coli* [137]. Виявилось, що сполуки у 10-³-1600 разів ефективніші, ніж більшість клінічно використовуваних антибіотиків проти штаму MRSA.

Протиракові засоби. Протипухлинні хімотерапевтичні засоби можуть проявляти різноманітні механізми дії, такі як зупинка клітинного циклу, інгібітори ферментів, модулятори тубуліну, інгібітори ангиогенезу, інтеркалятори ДНК та

зв'язувальні речовини, регулятори транскрипції та генів тощо [94, 138]. Велика кількість хімічних речовин, що мають фрагменти 1,2,4-триазолу, виявилися перспективними протипухлинними засобами, а саме ворозол, летрозол та анастрозол.

Хан та ін. повідомили про синтез та антипроліферативну оцінку серії 1,2,4-триазолу, що містить гідразид-гідразони похідне (S)-напроксен [97]. Сполука показала найкращу активність зі значеннями $IC_{50}=26,0, 34,5$ і $48,8$ мМ проти клітинних ліній раку передміхурової залози PC-3, DU-145 і LNCaP, відповідно. Дослідження молекулярного докінгу на людському ферменті метіонін-амінопептидазі-2 підтвердили Н-зв'язки та взаємодії галогенів. Молекулярний механізм протипухлинного потенціалу в PC-3 клітині виявлено шляхом зниження EGFR, фосфорилування Akt і фосфорилування РІЗК.

Egile та ін. наводять дані про похідне триазолопіридазину, який сильно інгібував кіназну активність ферменту MET зі значенням $IC_{50} = 4,2$ нмоль/л, а також мутантів кіназного домену H із значеннями IC_{50} $1,5$ нмоль/л відповідно [139]. Він також інгібував ріст пухлини в моделі ксенотрансплантату, ампліфікованої MET, аутофосфорилування AXL та проліферацію клітин лінії клітин KM12, що надекспресує TPM-NTRK1, зі значеннями $IC_{50} = 110$ і 1400 нмоль/л відповідно.

Інгібітори тимідинфосфорилази. Шахзад та ін. синтезували серію аналогів 3-меркапто-1,2,4-триазолу і 3-меркапто-1,2,4-триазолкарбонових кислот як інгібітори тимідинфосфорилази (TP) [140]. Сполуки виявили позитивний інгібуючий потенціал з IC_{50} в діапазоні $43,86-163,43$ мМ, а ангіогенний потенціал сполуки був виявлений за допомогою аналізу хоріонічної алантоїсної мембрани (CAM) курчат.

Інгібітори карбоангідрази. Вивчали серії нових бензолсульфонамідів, що містять 1,2,4-триазольні каркаси та їх інгібіторну активність щодо чотирьох ізомерів а-класу карбоангідраз, що включають hCAs I та II (цитозольні, повсюдно

поширені ізоферменти) та hCAs IX та XII (трансмембранні ізоферменти, пов'язані з пухлиною) [138].

Сполуки демонстрували чудовий інгібуючий потенціал проти всіх чотирьох ізоферментів hCA I, II, IX і XII зі значеннями K_i в діапазоні 2,8-170 нМ, 1,3-132 нМ і 3-89 нМ, відповідно, навіть краще, ніж стандартний препарат ацетазоламід (K_i : 5,7-250 нМ).

Протисудомні засоби. Гібриди фенотоїн-1,2,4-триазолу були синтезовані та оцінені на предмет їх протисудомної активності за допомогою екранів MES та scPTZ у мишей [141]. Гібриди, що містять ароматичне кільце в положенні N-4 триазолу, показали вищий захист на екрані MES від електрично індукованих судом, ніж етилзаміщений аналог в дозі 100 мг/кг.

Кілька похідних 1,2,4-триазол-3-тіону, що мають 4-арильну групу і 4-алкільну групу, були оцінені на предмет їх протисудомної активності [10, 77]. Тести MES та нейротоксичності продемонстрували, що сполука з $ED_{50}=35,2$ мг/кг, $TD_{50}=136,7$ мг/кг і $PI=3,9$ володіє найбільш сильною активністю. Сполуки показали кращу активність порівняно зі стандартним препаратом вальпроат. Результати засвідчили, що подовження алкільного фрагмента від $-C_2H_5$ до $-C_4H_9$ у 4-положенні 1,2,4-триазолу збільшує активність приблизно в 4 рази (від 152 мг/кг до 38,5 мг/кг) за рахунок підвищення ліпофільності молекула. Хроматографічні тести підтвердили, що аналоги з алкільним ланцюгом C10 і C12 відповідно не мають протисудомної дії через нездатність долати ГЕБ.

Щоб отримати більше уявлень про SAR, Plech's та ін. синтезували кілька 4-алкіл-1,2,4-триазол-3-тіонів, замінивши 5-(3-хлорфенільну) групу на 5-(3-хлорбензил/2,3-дихлорфенільну). В аналогах, що містять 5-(3-хлорбензил) групу, наявність лінкера $-CH_2$ покращує потенціал, тимчасовий профіль та безпеку завдяки підвищенню гнучкості молекул [148]. Виходячи з профілю активності та токсичності, сполука показала найбільш перспективний потенціал як протисудомний засіб (ED_{50} : 72,1 мг/кг, TD_{50} : >1000 мг/кг і PI : >13,9 через 15 хв).

Аналіз зв'язування радіоліганду виявив, що ці сполуки виключають можливість прямої або алостеричної модуляції рецепторів GABA_A.

Протитуберкульозні засоби. Ізоніазид (гідрозид ізонікотинової кислоти) є найефективнішим протигрибковим препаратом, який використовується для лікування туберкульозу понад 5 десятиліть. На жаль, побічний ефект ізоніазиду та поява стійкості до ліків проти туберкульозу спровокували науковців розробляти і нові протитуберкульозні засоби. Було синтезовано декілька похідних 1,2,4-триазолу з метою дослідження нових протитуберкульозних препаратів.

Крішана та ін. повідомили про синтез серії дифеніламіну, що містить 1,2,4-триазоли та обстежили на види *Mycobacterium tuberculosis* H37RV (Mtb H37Rv) за допомогою стандартного аналізу на мікропланшет Alamar Blue (MABA) та методу розведення агару [154]. Серед досліджених сполук сполуки виявляли потужну антимікобактеріальну активність із значенням MIC у діапазоні 0,2-3,125 мМ. Сполука виявила більш значущу активність, порівняно зі стандартним препаратом ізоніазид. Дослідження SAR показало, що основи Манніха мають кращу активність порівняно з триазолохіназолінонами і триазолотіазолідінонами. Цитотоксичність найбільш активних сполук оцінювали щодо Vero (епітеліальні клітини нирок африканської зеленої мавпи) та клітинної лінії HepG2. Було помічено, що сполуки не були цитотоксичними.

Кастеліно та ін. повідомили про дизайн та синтез основ Шиффа 1,2,4-триазолвмісного галоаренового фрагмента та перевірено на протитуберкульозні властивості *in vitro* за допомогою методу дифузії диска та методу аналізу на мікропланшеті Alamar Blue (MABA) (тест MIC) щодо штаму Mtb H37Rv [98]. Встановлено, що сполуки, що мають два атоми флуоро в положеннях 2 і 4, виявляють найвищу активність для протитуберкульозного скринінгу, а також для перевірки функції нейтрофілів. Дослідження гострої пероральної токсичності показали, що деякі сполуки були безпечними навіть у дозі 2000 мг/кг маси тіла.

S-заміщений 4-алкіл-5-(3,5-динітрофеніл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіоли та їх

аналоги 3-нітро-5-(трифторметил)феніл (МІК: 0,03-2 мМ) були наділені чудовою та селективною антимікобактеріальною активністю проти штамів *Mtb*, включаючи клінічно виділені штами MDR [100]. Дослідження SAR виявили вирішальну роль положення 3,5-динітрофенільного фрагмента на протитуберкульозну активність.

Кілька гібридних триазолів були розроблені, синтезовані та оцінені [103] як інгібітор росту туберкульозу проти *Mtb* H37Rv та *M. smegmatis mc2155*. Фармакологічно активні сполуки були додатково перевірені на їх цитотоксичність щодо моноцитів людини для оцінки їх цитотоксичності *ex-vivo* щодо еукаріотичних клітин. Крім того, сполуки, які демонстрували більш високе інгібування та меншу токсичність, піддавали вторинній оцінці росту на *Mtb* H37Rv та синергічній дії з протитуберкульозними препаратами першої та другої лінії. Одна зі сполук, що має R=CH₃ і R₁=C₃H₇, виявила потужний інгібуючий ріст як *M. tuberculosis*, так і *M. smegmatis mc2155*.

Проти штаму *Mtb* H37Rv при МІК 4 мг/мл. Vonde та ін. звернули увагу, що серед десяти досліджених 1,2,4-триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів, що містять піразин-2-ілоксиметильну частину, дві сполуки, виявляли багатообіцяючу антимікобактеріальну активність проти штаму H37Rv [104].

Кілька триазолотіадіазолів і триазолотіадіазинів зі структурними модифікаціями в позиціях С-3 і С-6 гібридні системи було повідомлено, що вони інгібують ріст *Mtb* H37Rv, MDR-TB (резистентні до ізоніазиду та рифампіну штами) та DR-TB (штами, стійкі до рифампіну) [107, 108]. SAR виявив, що електроноакцепторні групи в пара-положенні фенільного кільця в положенні 3 і п-бромфеноксиметильна група в положенні 6 на триазолотіадіазолі демонструють значне підвищення ефективності. Дві високоактивні сполуки (МІК для H37Rv: 0,5 мг/мл; MDR-TB: 4,0 мг/мл; DR-TB: 0,5-1,0 мг/мл) також виявили потенційну інгібуючу активність щодо *M. tuberculosis shikimate dehydrogenase* (*Mtb* SD) зі значенням IC₅₀ = 6,82 мг/мл і 14,42 мг/мл відповідно. SAR триазолотіадіазинів щодо протитуберкульозної активності призвів до ідентифікації двох

високопотужних сполук (МІК для штамів Mtb H37Rv, DR-TB та MDR-TB: 0,25, 0,25 та 2,0 мг/мл) та (МІК для штамів Mtb H37Rv, DR-TB та MDR-TB: 1,0, 2,0 та 4,0 мг/мл), які були наділені потужними властивостями інгібування Mtb SD зі значеннями IC₅₀ 86,39 і 73,57 мг/мл відповідно. Триазолотіадіазол ІМВ-SD62, інгібітор Mtb SD, показав протитуберкульозну активність *in vivo* проти гострої інфекції Mtb H37Rv у мишей зі зменшенням кількості КУО в легенях на 1,7 log і біодоступністю при пероральному прийомі на 14% у попередньому дослідженні фармакокінетики [109].

Противірусні засоби. Goma'a та ін. розроблено та синтезовано декілька похідних 1,2,4-триазолу з етил 2-((5-аміно-1H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетатом як вихідною речовиною. Серед досліджуваних речовин сполуку було виявлено як найпотужнішу, яка може зменшити кількість вірусних бляшок на 50% у дозі 80 мМ проти вірусу простого герпесу-1 (HSV-1), вирощеного на клітинах нирок африканської зеленої мавпи Vero. Крім того, сполука мала вищу селективність, ніж ацикловір (>200 мМ проти 80 мМ) [110]. Дослідження докінгу показали, що сполука взаємодіяла з активним центром тимідинкінази HSV-1 головним чином шляхом створення багатьох водневих зв'язків.

Синтезовані 1,2,4-триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини та перевірили їх на їх противірусну активність проти вірусу японського енцефаліту (JEV) та HSV-1 [111]. Серед них сполука (ED₅₀=7,8 мг/мл) показала помірну анти-JEV активність із 50% інгібуванням і значенням терапевтичного індексу (ТІ) 32.

Zhan та ін. розробили та синтезували серію похідних 2-(2-(2,4-дихлорфеніл)-2H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)-N-арилацетаміду як потужних інгібіторів ВІЛ-1 [112]. Серед них шість сполук демонстрували краще інгібування дикого типу. Реплікація ВІЛ-1 (ПІВ) зі значенням ED₅₀ коливалась від 2,78 до 6,21 мМ ніж референтний препарат дидеоксиінозин. Сполука показала найбільш багатообіцяючу дію зі значенням EC₅₀=2,78 мМ і SI 67 проти ВІЛ-1(ПІВ) і значенням EC₅₀=7,42 мМ проти мутантного штаму K103N.

Серед кількох похідних триазолу сульфонамід, сполуки з IC_{50} 0,023 і 0,025 мг/мл, відповідно, проти хлорохін-резистентного штаму *P. falciparum*, були порівнянними з хлорохіном (IC_{50} : 0,020 мг/мл) і в 10 разів сильніше [113].

Франклім та ін. розроблено та синтезовано похідні 1,2,4-триазолу шляхом оптимізації раніше зареєстрованого N^4 -циклогексил-1,2,4-триазолу [12]. Дослідження показало, що S-алкіловані триазоли виявили значний трипаноцидний профіль зі значеннями IC_{50} = 3,18-3,52 і 3,61-4,15 ммоль/л проти епімастиготних і амастиготних форм *T. cruzi*, відповідно, порівняно зі сполуками плюмбуму [115].

Синтезовані похідні 1,2,4-триазолу на основі використання підходів біоізостеризму та молекулярної гібридизації як аналогів нітрофуразону продемонстрували селективність щодо внутрішньоклітинних амастигот штаму *T. cruzi* Y [116]. Сполука з IC_{50} =5,53 мМ і $SI>36$ була еквіпотенційною до препарату беннідазол, але виявляла меншу ефективність. Крім того, було виявлено, що в 26 разів більш потужний, ніж аналог, що підкреслює вплив нітрогрупи на антитрипаносомну активність.

Оцінка серії похідних 5-(піразин-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (IC_{50} : 79,0-382,4 мМ) для протилейшманіальної активності *in vitro* проти промастигот *L. donovani* робить сполуки найбільш перспективним протилейшманіозним засобом порівняно зі стандартним натрій стибоглюконатом [119].

Серед кумарин-триазолотіадіазинових гібридів продемонстрували найвище інгібування (IC_{50} : 0,89 мМ) *in vitro* проти промастиготної форми [120]. Сулейманоглу та ін. повідомляють, що похідне 4-аміно-1,2,4-триазолу показало антилейшманіальну активність із МІК 625 мг/мл у дослідженні *in vitro* проти *L. infantum* за допомогою аналізу бульйону на мікророзведення [122].

Знеболювальні і протизапальні агенти. В дослідженні хінолінові гібриди 1,2,4-триазол/оксиму виявили значну протизапальну активність порівняно з індометацином з % пригнічення набряку 100%, 101% і 111% відповідно [123].

Біологічний скринінг похідних основ Шиффа і Манніха 1,2,4-триазоли у дозі

20 мг/кг у щурів виявили, що сполуки характеризуються значною протизапальною активністю порівняно з індометацином, тоді як сполуки мають значний аналгетичний ефект [124].

Дві серії похідних бензотіазолу на основі 1,2,4-триазолу були синтезовані та оцінені на предмет їх протизапальної активності *in vitro* та інгібування р38а MAP кінази [9, 125]. Серед вибраних сполук для оцінки *in vivo*, сполуки виявилися найпотужнішими з інгібуванням набряку на 84,43% та 85,31% відповідно.

Ель Шехрі та ін. синтезували серії 3-(2,4-дихлорфенокси)метил)-1,2,4-триазоли (тіадіазоли і тіадіазини) та обстежили їхню протизапальну активність [126]. Серед них сполуки підтвердили 36-56% протизапальну активність порівняно зі стандартним індометацином.

Мадділа та ін. повідомили, що серед похідних триазоло[3,4-*b*]тіадіазолу, перевірені на їх протизапальний потенціал у тесті CPE при пероральній дозі 10 мг/кг, сполуки виявляли потужнішу протизапальну активність, ніж індометацин (81,55%) [127].

1,2,4-Триазоло[1,5-*a*]піримідин-7-он (WS-10) був ідентифікований як нетоксичний і селективний модулятор транспортера ABCB1, який відіграє ключову роль у розвитку мультирезистентності хіміотерапевтичних препаратів [128]. WS-10 посилює внутрішньоклітинне накопичення паклітакселу в клітинах SW620/Ad300, які були надмірно експресовані ABCB1, не впливаючи на експресію або локалізацію білка ABCB1.

Ель-Алеам та ін. повідомляють про бронходилататорну активність набору похідних 1,2,4-триазоло[1,5-*a*]піримідину як інгібіторів фосфодіестерази 4В [129]. Дослідження довело, що сполуки із значеннями EC_{50} 18,6 та 57,1 мМ відповідно демонстрували кращу бронходилататорну активність, ніж еталонний теофілін (EC_{50} : 425 мМ).

Привертає до себе увагу використання похідних 1,2,4-триазолу в електрохімічних аспектах, наприклад як високоефективних, нових перспективних

сполук для захисту металів та їх сплавів від корозії. Авторами [130] застосовувалися такі хімічні та електрохімічні методи тестування, як втрата ваги, електрохімічна спектроскопія імпедансу (EIS) та вимірювання потенціодинамічної поляризації (PDP), щоб оцінити ефективність інгібування та механізм адсорбції (Z)-4-((4-метоксибензиліден)аміно)-5-метил-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіону проти корозії вуглецевої сталі 1,0 М HCl. Досліджувана сполука була класифікована як інгібітор змішаного класу, що впливає як на анодну, так і на катодну реакції, тоді як її адсорбція відповідала ізотермі адсорбції Ленгмюра. Сканувальна електронна мікроскопія (SEM) виявляє покращену морфологію поверхні вуглецевої сталі після додавання досліджуваної сполуки до електроліту.

Сучасна медична хімія стикається з багатьма проблемами з кількох напрямків, включаючи потребу в ефективності та специфічності будь-якого терапевтичного засобу. Таким чином, у сучасній перспективі 1,2,4-триазол з широким біологічним профілем сформувався у незамінний гетероциклічний каркас. 1,2,4-Триазол привілейований каркас, наділений широким потенціалом терапевтичної корисності, крім застосування в інгібуванні корозії, полімерах, супрамолекулярній хімії та матеріалознавстві. Клінічні препарати, що містять ядро 1,2,4-триазолу, використовуються для лікування ряду захворювань. Розвиток резистентності до флуконазолу, найефективнішого комерційного препарату проти кандідозу, спонукав фармацевтів синтезувати триазолові спирти як аналоги флуконазолу для лікування стійких до флуконазолу штамів грибів. 1,2,4-Триазолний фрагмент через водневий зв'язок і дипольну взаємодію може покращити розчинність і спорідненість сполук з бімолекулярними мішенями.

Похідні 1,2,4-триазолу опосередковують лікувальні ефекти, діючи як перспективні селективні інгібітори білка/ферменту, модулятори та антагоністи рецепторів.

Одже, результати аналізу наукових праць щодо порушеної теми свідчать про відсутність систематичного вивчення фармакологічної активності похідних

1,2,4-триазолу. З огляду на актуальність пошуку нових ефективних і безпечних лікарських препаратів доречно провести синтез та скринінг фармакологічної активності із вираженими антиоксидантною, протизапальною, антигіпоксичною, діуретичною, анальгетичною та іншими видами фармакологічних активностей серед 3-, 4-, 5- 3-заміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, встановити в них закономірності зв'язку між хімічною будовою і біологічною дією та в перспективі створити оригінальний препарат.

РОЗДІЛ 2

ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ 3-, 4-, 5-ТРИЗАМІЩЕНИХ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ З ГАЛОГЕНПОХІДНИМИ СПОЛУКАМИ ТА ДЕЯКІ ПЕРЕТВОРЕННЯ ПРОДУКТІВ РЕАКЦІЇ

2.1 Взаємодія 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами та галогенспиртами

У фармацевтичному напрямку діяльності, пов'язаному з пошуком біологічно активних сполук та впровадженням їх у медичну або ветеринарну практику, загальновідомо, що вдале обрання об'єкту дослідження є передумовою позитивного кінцевого результату щодо створення оригінальних ефективних та малотоксичних ліків. Слід зазначити, що на сьогодні в світі існує дуже багато наукових «шкіл», які займаються розв'язанням проблемних питань на шляху створення нових біологічно активних молекул різних класів органічних сполук.

Світові досягнення науковців, які займаються моделюванням системи 1,2,4-триазолу, дослідженням різних властивостей цього гетероциклу та створенням на його основі перспективних «структур», спонукають до подальшого пошуку нових молекул із рядом унікальних властивостей серед похідних 1,2,4-триазолу [283]. Цікавим з наукової точки зору є поєднання різних ароматичних та молекулярних «залишків» із гетероциклічною системою 1,2,4-триазолу в одній молекулі [284].

Така синергія може бути цікавою не лише для хіміків-синтетиків, але й для фармакологів, біологів, фізіологів тощо [285]. Аналіз літературних джерел аргументовано доводить безперечну актуальність синтезу сполук, які будуть володіти новим спектром біологічної дії [286-288].

На першому етапі процесу створення нових молекул було доцільним проведення комп'ютерного прогнозування можливих видів біологічної активності

потенційних молекул з метою їх подальшого цілеспрямованого синтезу та скринінгового дослідження біологічних властивостей деяких з них. Результати подібних випробувань наведені далі в підрозд. 5.1, перспективними виявились деякі S-заміщені 1,2,4-триазол-3-тіонів.

Для гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу характерні ароматичні властивості, взаємодія атомів в молекулі виражена яскравіше, ніж в імідазолі, і це впливає на зниження основності системи 1,2,4-триазолу. Також відомо, що для 1,2,4-триазол-3-тіонів характерна наявність п'яти таутомерних форм, а для деяких заміщених можливе утворення двох таутомерів [283].

До особливостей 1,2,4-триазол-3-тіонів також можна віднести можливість існування переважно у тіонній формі [283]. Таким чином, теоретично алкілювання 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів може проходити як за атомом Нітрогену ядра 1,2,4-триазолу, так і за атомом Сульфуру з утворенням п'яти індивідуальних сполук або їх сумішей. Багаточисельні публікації іноземних та вітчизняних науковців свідчать, що саме ці реакції перебігають за атомом Сульфуру з утворенням відповідних індивідуальних речовин [289, 290].

Як вихідні сполуки для синтезу S-похідних 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів використовували 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.1**), 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.2**), 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.3**), 5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.4**), 5-(4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.5**), 5-(тіофен-3-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.6**), 5-(тіофен-3-іл)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.7**) та 5-(5-бромфуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (**2.8**).

Методики синтезу відповідних вихідних сполук **2.1-2.5**, **2.8** описані у працях [291-293], тому, посилаючись на відомі методи, було отримано для подальших синтезів ряд зазначених речовин [294-297]. Інші сполуки **2.6**, **2.7** було отримано вперше, використовуючи умови, аналогічні описаним у наукових дослідженнях [283, 289] (дод. А, табл. А.1).

При дії на відповідні карбонові кислоти етанолом за умови каталітичної кількості сульфатної кислоти, утворюються етилові естери відповідних кислот (рис. 2.1). Дією на етилові естери гідразину гідрату в середовищі етанолу отримують відповідні гідразиди [298, 299].

Останні вступають в реакцію з алкілізотіоцианатами в середовищі етанолу, утворюючи при цьому ряд відповідних 2-(R)-N-(алкіл)-1-гідразинокарботіоамідів (рис. 2.1). Замикання триазолового циклу відбувається в лужному середовищі, при цьому отримано ряд відповідних сполук (2.2, 2.4, 2.6-2.8, рис. 2.1) (дод. А, табл. А.1).

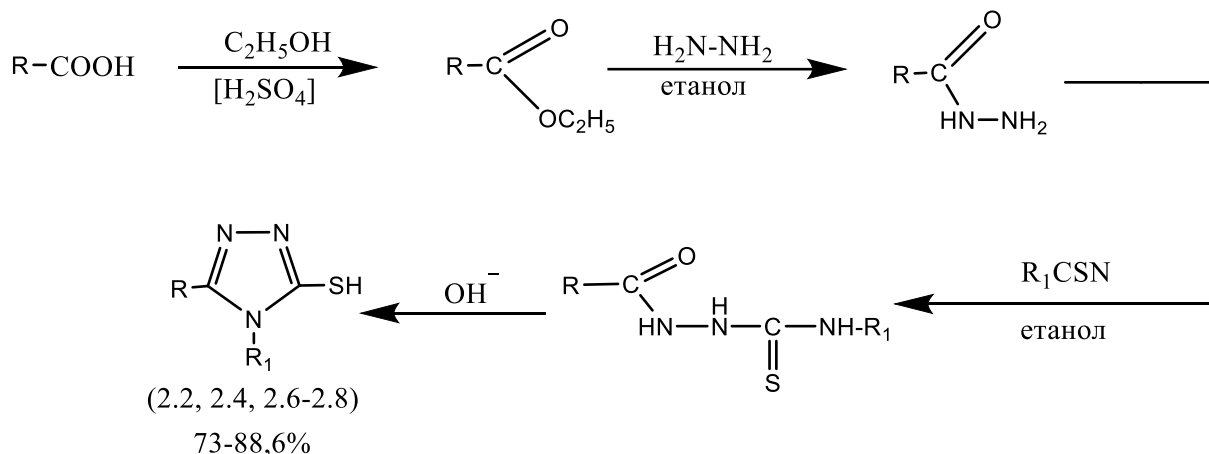


Рис. 2.1. Синтез 5-R-4R₁-1,2,4-триазол-3-тіолів (2.2, 2.4, 2.6-2.8)

5-(2-, 3-, 4-Фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли (2.1, 2.3, 2.5, рис. 2.2) (дод. А, табл. А.1) отримано через проміжну стадію синтезу відповідних калій гідразинокарбодитіоатів при дії карбон дисульфіді на відповідний гідразид в лужному середовищі бутанолу. Замикання триазолового циклу здійснюється в середовищі гідразин гідрату, при цьому маємо ряд індивідуальних сполук (дод. А, табл. А.1).

Ці речовини являють собою білі (2.1, 2.2, 2.4-2.8) або світло-жовті (2.3) (дод. А, табл. А.1) кристалічні речовини, розчинні в розчинах лугів, мінеральних

кислотах та органічних розчинниках. Будова отриманих сполук підтверджена за допомогою сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ІЧ-, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія, а їх індивідуальність хроматографічно (дод. А, табл. А.3) в різних системах розчинників (дод. А, табл. А.2).

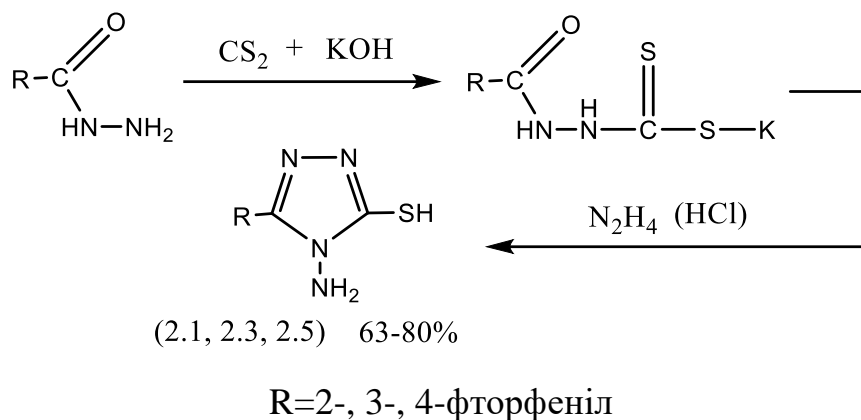


Рис. 2.2. Синтез 5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (2.1, 2.3, 2.5)

При розгляді ^1H ЯМР-спектрів синтезованих вихідних сполук (2.1-2.8) зазначаємо наявність чітких відмінностей між ними. Так, спектр сполуки 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.2, рис. 2.3) характеризується трипротонним синглетом метильної групи 1,2,4-триазолового ядра при 3,47 м.ч. Протони 3-фторфенільного радикала проявляються у вигляді розширеного двопротонного мультиплета при 7,35-7,53 м.ч., а протон -SH групи проявляється у слабкому полі як однопротонний розширений синглет при 13,89 м.ч.

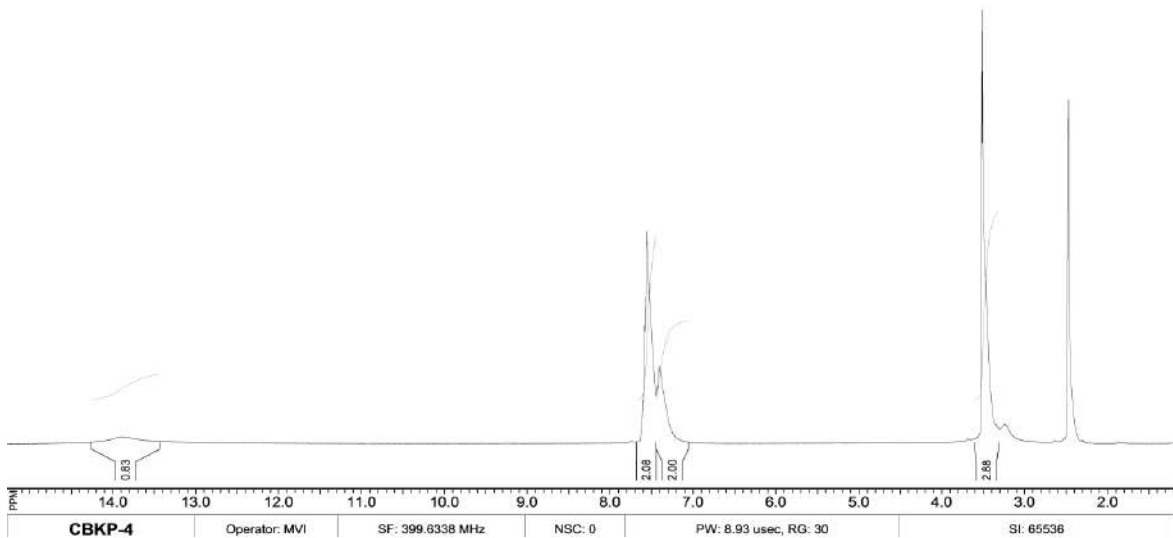


Рис. 2.3. ^1H ЯМР-спектр 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.2)

Створення потужного програмного забезпечення поряд із розвитком комп'ютерної техніки зумовили все зростаючий інтерес хіміків до квантово-хімічних розрахунків. Використання сучасних методів квантової хімії та системний аналіз їх результатів надзвичайно важливі для розуміння сутності відомих експериментальних даних, коректних прогнозів і кількісних оцінок реакційної здатності органічних сполук. Безсумнівно, теоретичні розрахунки виявляються корисними й у рішенні такого актуального завдання сучасної хімії, як порівняння будови і властивостей речовин в газовій фазі, розчинах і твердому стані.

1,2,4-Триазол входить до складу багатьох пурпурних кольорових компонентів і барвників, використовуються в органічному синтезі для отримання різноманітних речовин, але головне поле їх застосування знаходиться в галузі медицини й сільського господарства, де ці похідні виявили найрізноманітнішу активність – бактерицидну, інсектицидні, фунгіцидну, протипухлинну і психофармакологічні. Актуальність роботи визначає також дослідження властивостей досі маловивчених 1,2,4-триазол-3(2*H*)-тіонів, що характеризуються потенційною біологічною активністю.

Виявлення на теоретичному рівні і пояснення впливу розчинників на стійкість таутомерних форм гетеро-1,2,4-триазолів, їх кислотність, структурні характеристики, розподіл електронної щільності і інші властивості, порівняння і прогнози в зміні будови і реакційної здатності сполук при варіюванні входять до їх складу елементів VI групи.

Одночасно з цим вирішувались методичні завдання, пов'язані з виявленням впливу моделей сольватації, використовуваних методів відомих експериментальних даних, коректних прогнозів і кількісних оцінок реакційної здатності органічних сполук.

Безсумнівно, теоретичні розрахунки виявляються корисними й у розв'язанні такого актуального завдання сучасної хімії, як порівняння будови і властивостей речовин у газовій фазі, розчинах і твердому стані. Тому дослідження присвячене теоретичному вивченню впливу розчинників на таутомерну рівновагу і кислотно-основних властивостей 1,2,4-триазол-3(2*H*)-тіонів, цікавих як з теоретичної точки зору в якості об'єктів для вивчення явища прототропної таутомерії, так і знаходять широке практичне застосування у фармацевтичній промисловості.

Вперше проведено систематичне дослідження сольватаційних ефектів та їх впливу на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу та інші властивості 1,2,4-триазолів, їх тіоаналогів, важливих гетероциклічних сполук з широким спектром біологічної дії.

Вплив сольватаційних ефектів на таутомерію і кислотні властивості ізологічних 1,2,4-триазолів було вивчено на прикладі модельних сполук (рис. 2.4).

Як основні розчинники розглядалися найбільш часто використовувані в експериментальних дослідженнях протонодонорні – вода (як розчинник неорганічного походження) і метанол (як найпростіший зі спиртів), полярні апротонні розчинники – ацетонітрил і диметилсульфоксид; хлороформ, чотирьохлористий вуглець і циклогексан як малополярні апротонні розчинники.

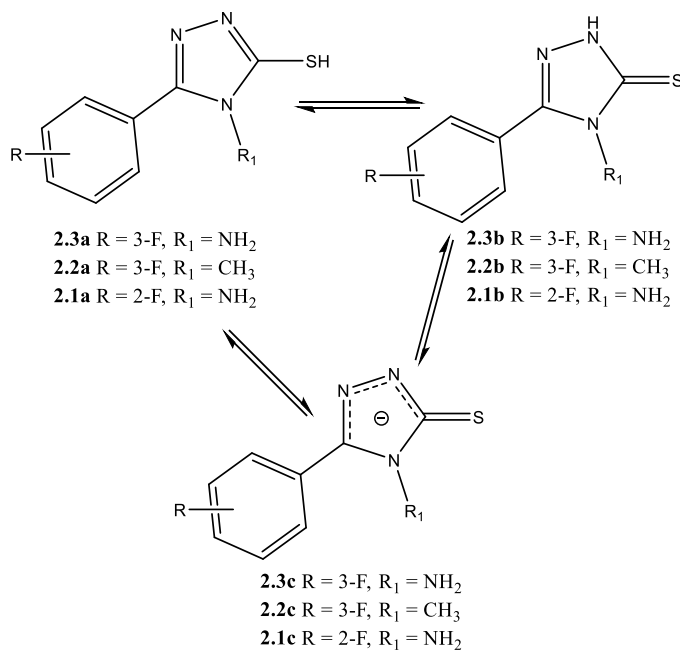


Рис. 2.4. Модельні похідні 5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3(2H)-тіонів

Всі розрахунки проводили за допомогою комп'ютерної програми візуалізації Gauss-View 5.0.8 [300] та програмних пакетів Gaussian 98, Gaussian 03 [301]. Просторові геометрії базисного стану були повністю оптимізовані, внаслідок використання найпопулярнішого методу B3LYP [302], застосування 6-31-G(d,p) [303] базисних множин. Частотні розрахунки сполук проводились після оптимізації геометрії.

Відповідні стаціонарні структури скориговані перевіркою всіх основних станів, які мають лише дійсні частоти, і всі перехідні стани мають тільки одну уявну частоту. Використовувався той самий метод і встановлений базис для оптимізації геометрії.

Розрахунки сольватації проводили в рамках континуальних моделей (D-PCM, C-PCM, IEF-PCM, IPCM, SCIPCM) дискретних і комбінованих моделей з використанням метода обмеження Хартрі-Фока, методу Moller-Plesset в іншому порядку теорії збуджень (MP2), ч методу теорії функціонала щільності B3LYP з

базисними наборами 6-31G (d), 6-31G (dp), 6-31G ++ (dp), cc-pVDZ, а також напівемпіричними методами PM3 і AM1 (пакет MOPAC6) [300, 301]. Наближення рівнянь поляризуючого континууму (IEEPCM) [301] було використано для врахування сольватаційних ефектів розчинника. Метод розрахунку зарядів атомів – напівемпіричний квантово-хімічний метод Хюккеля [302]. Дане прототропна рівновага чутлива до впливу різних чинників (середовище, температура, концентрація, природа замісників і їх положення в 1,2,4-триазоловому кільці). Вплив сольватаційних ефектів на таутомерію і кислотні властивості ізологічних 1,2,4-триазолів було простудійовано на прикладі модельних сполук – 4R₁-5R-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів, численні похідні яких знаходять широке практичне застосування. Квантово-хімічні розрахунки сольватаційних модельних сполук (2.1-2.3) проведені в рамках теорії самоузгодженого реакційного поля з використанням різних підходів і моделей, варіюванням базису в неемпіричних розрахунках, виявленням ролі ефектів електронної кореляції, способу оптимізації геометрії та ін.

Нашим завданням було порівняння тенденцій в зміні відносної стійкості таутомерних форм ізологічних 1,2,4-триазолів у газовій фазі і розчинниках і виявлення можливостей використання різних моделей і методів розрахунку для якісних прогнозів впливу сольватації на місце таутомерної рівноваги в сполуках даного класу.

Виявлено, що розчинники всіх типів за даними всіх використаних методів і континуальних моделей (D-PCM, C-PCM, IEF-PCM, IPCM, SCIPCM) зменшують різницю в стійкості таутомерних форм досліджених сполук в порівнянні з газовою фазою (табл. 2.1), при цьому найбільший стабілізаційний ефект спостерігається при сольватації NH-таутомерів ізологічних 1,2,4-триазолів (табл. 2.2).

Найбільш стійкими таутомерними формами в апротонних розчинниках, як і в газовій фазі, є SH-таутомер 1,2,4-триазола, при переході до полярних протонодонорних розчинників є NH-форма сполук.

Таблиця 2.1

Відносна стійкість таутомерів (2.1-2.3) у газовій фазі і розчинниках (ΔG_{298} , ккал/моль) за даними розрахунків з повною оптимізацією геометрії методом B3LYP / 6-31G (d,p). Модель PCM

Сполука	ΔG_{298}					
	газ	хлороформ	ацетонітрил	ДМСО	метанол	вода
1	2	3	4	5	6	7
2.1a	7.14	5.41	4.34	4.58	2.17	1.66
2.2a	7.76	3.96	1.91	2.14	0.00	0.00
2.3a	11.72	6.95	4.48	4.17	0.00	0.00
2.1b	5.89	5.19	4.51	4.71	4.12	3.32
2.2b	0.00	0.00	0.00	0.00	2.85	3.59
2.3b	0.00	0.00	0.00	0.00	1.26	2.99

Таблиця 2.2

Вільна енергія сольватації (ΔG_{solv} , ккал/моль) таутомерів за даними розрахунків з повною оптимізацією геометрії методом B3LYP/6-31G(d,p). Модель PCM

Сполука	$-\Delta G_{solv}$				
	хлороформ	ацетонітрил	ДМСО	метанол	вода
2.1a	5.03	4.56	7.24	15.57	16.87
2.2a	6.09	5.88	8.82	17.90	16.29
2.3a	3.96	4.48	6.42	15.57	17.87
2.1b	4.77	3.65	5.85	12.17	13.66
2.2b	2.29	0.23	3.20	6.55	8.68

Найбільші зміни у відносній стабільності таутомерів набуває перевагу з урахуванням ефектів електронної кореляції і додаванням дифузних функцій на важких атомах і атомі водню, тоді як використання поляризаційних функцій на атомах водню на додаток до поляризаційних функцій на важких атомах практично не впливає на таутомерну рівновагу.

Результати розрахунків з повною оптимізацією геометрії в неполярних апротонних розчинниках лише незначною мірою відрізняються від таких при переході до полярних і протонодонорним розчинників різниця в енергіях сольватації більш істотна і досягає 3 ккал/моль.

Вклади від енергії нульових коливань і термохімічних поправок не вносять принципових змін у відносну стійкість таутомерів [304].

Квантово-хімічні розрахунки 1,2,4-триазолу виявили ті ж тенденції у зміні відносної стійкості таутомерних форм під впливом розчинників, при цьому енергія сольватації таутомерів **2.2-2.3** виявилася трохи нижчою від значень, отриманих при розрахунку для сполуки **2.1**, в основному за рахунок неелектростатичних взаємодій (табл. 2.3-2.4).

Для оцінки ефектів специфічних взаємодій, а саме Н-комплексотворення ізологічних 1,2,4-триазолів з розчинниками, а також ефектів самоасоціації компонентів розчинів у відповідних розчинниках проведено квантово-хімічні розрахунки різноманітних Н-комплексів досліджених сполук (**2.1-2.3**) на різних рівнях теорії. Як розчинники обрані вода, метанол, диметилсульфоксид і хлороформ.

Таблиця 2.3

**Відносна стійкість (ΔG_{298} , ккал/моль) таутомерів
5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3(2H)-тіонів в газовій фазі і
розчинниках (IEF модель) за даними розрахунків з повною оптимізацією
геометрії методом B3LYP/6-31G(d,p)**

Сполука	ΔG_{298}				
	газ	хлороформ	ацетонітрил	ДМСО	вода
2.1a	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2.2a	7.16	5.31	5.78	3.90	4.07
2.3a	7.88	7.74	8.07	6.22	6.55
2.1b	2.14	0.85	0.21	1.74	2.20
2.2b	6.00	2.47	1.08	0.90	0.00
2.3b	0.00	0.00	0.00	0.00	3.28

Таблиця 2.4

**Складові енергії сольватації таутомерів (2.1-2.3a,b) і аніонів (2.1-2.3c)
у розчинниках (IEF модель) за даними розрахунків з повною оптимізацією
геометрії методом B3LYP/6-31G (dp)***

Сполука	$-\Delta G_{\text{solv}}^*$	$-\Delta G_{\text{pol.solute/solv}}$	ΔG_{cav}	$-\Delta G_{\text{disp}}$	ΔG_{rep}	$\Delta G_{\text{non/el}}$
1	2	3	4	5	6	7
хлороформ						
2.1a	3.30	3.55	10.0	12.3	2.22	-0.04
2.1c	43.3	44.5	9.62	12.3	2.58	-0.13
2.2a	2.87	3.63	16.3	19.7	3.55	0.21
2.2c	36.4	38.3	16.3	18.9	3.21	0.61

Продовж. табл. 2.4

1	2	3	4	5	6	7
ацетонітрил						
2.1a	2.10	5.01	11.9	12.0	2.63	2.46
2.1c	50.4	55.7	11.4	12.2	3.05	2.30
2.2a	0.69	5.23	19.4	19.4	4.23	4.23
2.2c	41.6	49.0	19.4	18.6	3.77	4.58
діметилсульфоксид						
2.1a	4.67	5.07	13.1	17.1	3.80	-0.19
2.1c	54.2	56.1	12.6	17.3	4.41	-0.25
2.2a	2.91	5.29	21.5	27.6	6.13	0.00
2.2c	46.0	49.4	21.5	26.4	5.46	0.49
вода						
2.1a	10.1	12.6	13.8	17.1	4.69	0.95
2.1c	65.5	70.4	13.2	17.3	4.94	0.87
2.2c	56.1	65.8	22.5	26.4	6.14	2.32

Примітка. $*\Delta G_{\text{pol.solute/solv}}$ – енергія взаємодії поляризованої розчиненої речовини з розчинником; ΔG_{cav} – енергія утворення порожнини; ΔG_{disp} – енергія дисперсійної взаємодії; $\Delta G_{\text{геп}}$ – енергія ядерного відштовхування; $\Delta G_{\text{non/el}}$ – сумарна енергія неелектростатичних взаємодій

З огляду на біфільність об'єктів і двох перших розчинників, а також здатність гетеро-1,2,4-триазолів утворювати Н-комплекси по різних центрах, розраховане велике число комплексів складу 1:1 в газовій фазі і в континуумі розчинника (комбінована модель) в припущенні, що «супермолекули» певною мірою моделюють першу сольватаційну оболонку. Структура Н-комплексів із

розчинниками стабілізує всі таутомерні форми ізологічних 1,2,4-триазолів (табл. 2.5).

У цілому відносна активність центрів Н-комплексоутворення збігається з відповідною активністю центрів протонування, розрахованих у газовій фазі. Для найбільш стійких форм у газовій фазі SH-1,2,4-триазолів вигідніше утворення Н-комплексів за атомом Нітрогену, відповідно до зміни зарядів на атомі Нітрогену внаслідок ефекту прямого полярного сполучення.

Таблиця 2.5

**Енергетичні характеристики деяких із можливих Н-комплексів
1,2,4-триазолів з водою складу 1: 1 за даними розрахунків
методом B3LYP/6-31G(d,p)**

Таутомер (центр Н-зв.)	$-\Delta G_{298(\text{comp})}$	$\Delta G_{298(\text{h-b})}$	$-\Delta E_{(\text{h-b})}$	$-\Delta H_{298(\text{h-b})}$	$-\Delta G_{\text{solv}(\text{comp})}$
2.1a	417.08996	1.75	6.99	7.39	11.89
2.2a	417.08659	3.24	5.08	5.39	11.65
2.3a	417.07925	0.70	6.55	6.47	13.67
2.1b	417.08448	-1.34	8.92	9.12	12.59
2.2b	417.08218	0.11	7.65	7.69	11.83
2.3b	740.05129	2.21	6.24	6.50	7.86

Найбільш активними протонодонорними центрами сполук **2.1-2.3** є протон при NH-формах тіо-1,2,4-триазолів. Енергії водневих зв'язків самоасоціатів 1,2,4-триазолів порівняно за величиною з енергіями Н-комплексів 1,2,4-триазолів з розчинниками (табл. 2.6).

**Енергетичні характеристики процесу Н-комплексоутворення між
SH-формою 1,2,4-триазолу і водою (1.1а) в газовій фазі за даними розрахунків
з повною оптимізацією геометрії**

Методи	$-\Delta E_{0(h-b)}$	$-\Delta H_{298(h-b)}$	$\Delta G_{298(h-b)}$
RHF / 6-31G (d)	4.84	5.10	3.30
RHF / 6-31G (d,p)	4.84	5.10	3.29
RHF / 6-311- + G (d,p)	2.94	4.61	3.09
MP2 / 6-31G (d,p)	6.91	7.26	1.97
B3LYP / 6-31G (d)	6.95	7.44	1.76
B3LYP / 6-31G (d, p)	6.99	7.39	1.75
B3LYP / 6-31++G (d,p)	3.95	4.23	4.05
B3LYP / EPR-II	5.66	6.01	2.70
B3LYP / SVP	8.19	8.76	0.69
B3LYP / cc-pVDZ	8.20	8.80	0.63

Важливо відмітити, що на якісному рівні вплив Н-комплексоутворення на відносну стійкість таутомерних форм досліджених сполук принципово однаково описується всіма енергетичними параметрами (ΔE_{tot} , ΔE_0 , ΔH_{298} , ΔG_{298}), які використовуються в літературі для характеристики таутомерії, і в тому числі напівемпіричними. Поправки на ангармонійність коливань також не вносить принципових змін до енергетичних характеристик Н-комплексів [303, 304]. Щодо абсолютних значень, то величина енергії водневого зв'язку, розрахована як різниця енергії комплексу і складових його компонентів, в цілому збільшується при дослідженні ефектів електронної кореляції. Значення енергії водневого зв'язку, розраховані як $\Delta E_{0(h-b)}$ і $\Delta H_{298(h-b)}$ на вищих рівнях теорії, виглядають дещо переоціненими в порівнянні з характерними для водневих зв'язків подібного типу

(зазвичай менше 4 ккал/моль). З іншого боку, $\Delta G_{298(h-b)}$ в більшості розрахунків позитивна, і навіть кращі методи забезпечують її значення близько -1 ккал/моль; можливо, зміщення рівноваги в бік вихідних компонентів пов'язано з недостатньою точністю розрахунку частотних характеристик.

Виходячи з вищенаведеного, для розуміння природи тіон-тіольної таутомерії, ми вважаємо є розрахунки спорідності до електронів атомів та перехід електронів на останньому енергетичному рівні [305, 306].

Енергетичні розрахунки молекулярних орбіталей дали змогу встановити, що обрані сполуки мають складних 367 LUMO (найнижча незайнята молекулярна орбіталь) та 428 НОМО молекулярних орбіталей (найвища зайнята молекулярна орбіталь). Різниця в енергії відповідних орбіталей дають розуміння про хімічний потенціал молекули і виявлення донорно-акцепторних властивостей, відповідно.

Відповідні орбіталі є важливі параметри для визначення молекулярних властивостей і їх різниця в енергії є енергія резонансу, яка вказує на хімічний потенціал молекули до транспорту електронів і відповідно прояву біологічної активності. У табл. 2.7 наведені значення енергії молекулярних орбіталей та їх різницям.

Таблиця 2.7

Показники енергії молекулярних орбіталей 4R₁-5R-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів

Сполука	Форма	E _{НОМО} , eV	E _{LUMO} , eV	ΔE
2.1b	тіона	-0,2074467120	-0,0596947620	0,14775195
2.1a	тіольна	-0,2069741580	-0,0584689021	0,1485052559
2.2 b	тіона	-0,2031253261	-0,0583123042	0,1448130219
2.2a	тіольна	-0,2026857416	-0,0570736249	0,1456121167

Щільність електронних станів основних молекулярних орбіталей в більшій мірі зосереджено на π-системі і на неподіленій парі електронів атому Сульфуру.

Розглядаючи електронні структурні формули 4R₁-5R-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів (рис. 2.5) та отримані результати зарядів атомів відповідної молекули, можна зазначити наступне, що через донорний вплив на атомі Сульфуру 1,2,4-триазольного кільця спостерігають надлишок електронної густини (-0,236). Це сприяє проведенню реакції алкілування (електрофільного заміщення). Високе негативне значення заряду незаміщених атомів Нітрогену 1,2,4-триазольного кільця сприяє проведенню реакцій електрофільного приєднання. Реакції ацилювання за атомом Нітрогену, що знаходиться ближче до сульфідної групи можливо проводити в тій формі.

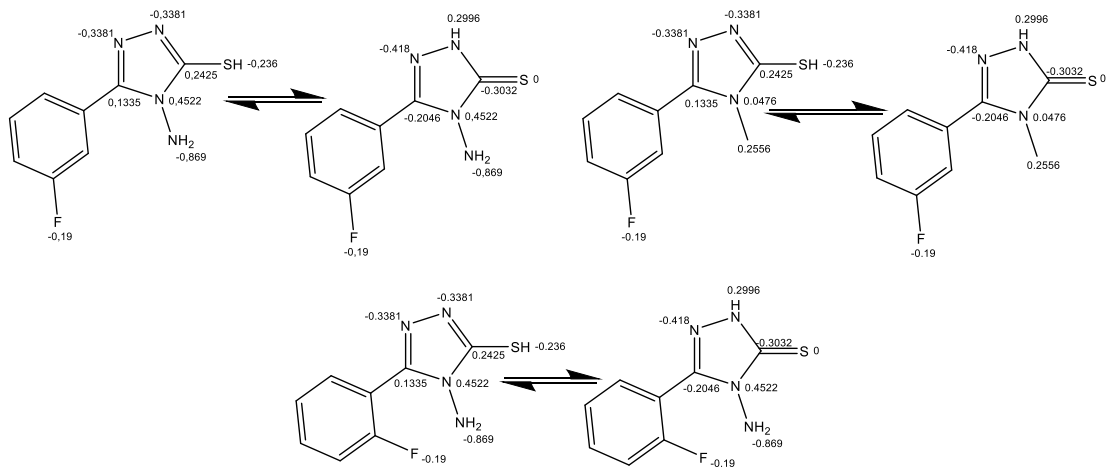


Рис. 2.5. Заряди атомів досліджувальних сполук при розгляданні факту тіон-тіольної таутомерії

Виходячи з вищенаведеного, можна резюмувати, що нові сполуки 4R₁-5R-4H-1,2,4-триазол-3-тіолів мають значний біологічний та фармакологічний інтерес. Вони можуть бути як БАР з широким спектром дії, так і застосовуваними в технічному колі для створення рідких кристалів, LEDs-світодіодів та OLEDs-технологій.

На підставі вперше проведених систематичних квантово-хімічних розрахунків сольватацій 5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3(2H)-тіонів виявлено, що розчинники всіх типів за відповідними даними використаних

методів зменшують різницю в стабільності відповідних таутомерних форм синтезованих сполук порівняно з газовою фазою. Найбільші зміни у відносній стабільності і властивості нейтральних форм і аніонів дають розрахунки з урахуванням ефектів електронної кореляції, введенням дифузних і поляризаційних функцій на атомі Гідрогену, додатковим розщепленням базису; термодинамічні поправки, поправки на енергію нульових коливань, оптимізація або відсутність додаткової оптимізації геометрій в розчинниках виявилися менш значимими. За даними континентальних розрахунків, найбільш стабільними таутомерними формами в апротонних розчинниках, як і в газовій фазі, є SH-таутомер; при переході до полярних розчинників NH-форма досліджених сполук переважає.

Вищенаведені дані свідчать про можливість проведення реакції S_E у вигляді аніону. На основі даних теоретичних розрахунків можна припустити, що реакції з галогенпохідними сполуками (галогеноспиртами, галогеноалканами, галогеноарилами) будуть проходити по меркапто-групі з утворенням відповідних S-похідних.

Сучасна фармація дуже широко використовує лікарські препарати, активні фармацевтичні інгредієнти які містять гетероциклічне ядро – 1,2,4-триазолу [307, 308]. Сьогодні сучасна тенденція багатьох світових вчених є оригінальна спроба поєднання гетероциклу 1,2,4-триазолу з різними фармакологічно активними фрагментами інших органічних молекул [309]. На основі літературного огляду цей напрям оригінальних досліджень є дуже перспективним [310].

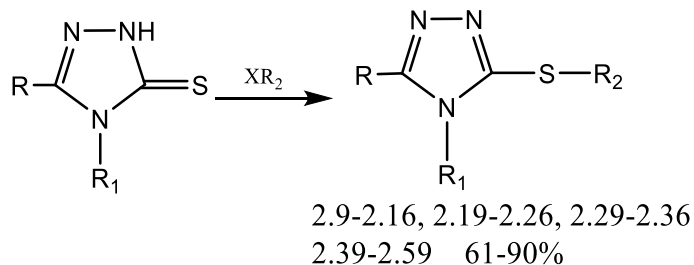
Нові гібридні молекули, утворені подібним чином, дозволяють виявити широкий спектр біологічних властивостей [311-313], можуть виступати як вихідні реагенти подальших перетворень для пошуку нових перспективних похідних [309]. Введення до заміщених 1,2,4-триазолу флуорофенільного радикалу приводить до отримання нових властивостей сполук [291-293], а це в свою чергу дає поштовх вченим для подальшого пошуку нових сполук саме в ряді зазначених похідних 1,2,4-триазол-3-тіолів.

Науковий інтерес, на нашу думку, викликає можливість поєднання в одній молекулі майбутніх сполук структурних флуорофенільних фрагментів, 1,2,4-триазолу, залишків фурану та тіофену, як фрагментів відомих лікарських препаратів [314, 315].

Було доцільним вивчити реакції нових 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів (**2.6**, **2.7**) та синтезованих раніше (**2.1-2.5**, **2.8**) з галогенпохідними сполуками з метою створення «бібліотек» нових молекул з потенційною фармакологічною активністю (дод. А, табл. А.1).

Алкилування 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів (**2.1-2.8**) галоїдними алканами, галогенспиртами, галогенарилами здійснювалось в середовищі метанолу, етанолу, пропанолу або суміші вказаних спиртів за наявності луку.

Після тригодинного нагрівання реакційну суміш фільтрують, розчинник випаровують, отримують сполуки **2.9-2.16**, **2.19-2.26**, **2.29-2.36**, **2.39-2.59** (рис. 2.6). Синтезовані сполуки являють собою жовті (**2.20**, **2.39**, **2.45**, **2.58**) або білі (**2.9-2.19**, **2.21-2.36**, **2.40-2.44**, **2.46-2.57**, **2.59**) кристалічні речовини, розчинні в органічних розчинниках, нерозчинні у воді.



X=Cl, Br; R=2-, 3-, 4-фторфеніл, тіофен-3-іл; R₁=CH₃, C₂H₅, NH₂;

R₂=C₂H₅, C₃H₇, n-C₄H₉, n-C₅H₁₁, n-C₆H₁₃, n-C₇H₁₅, n-C₈H₁₇, n-C₉H₁₉, n-C₁₀H₂₂,

(CH₂)₂-OH, бензил

Рис. 2.6. Взаємодія 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогенпохідними сполуками

Наступним етапом роботи було дослідити взаємодію 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-(метил, аміно)-1,2,4-триазол-3-тіолів (**2.1**, **2.2**, **2.3**) з дибромпропаном або дибромбутаном (рис. 2.7). В даному випадку реакцію приєднання галогеналканів проводили за відомою методикою. Умовою проходження реакції є додавання подвійного надлишку вихідних сполук в кожному випадку та NaOH.

За результатами експерименту отримано шість неописаних раніш у літературі індивідуальних сполук (**2.17**, **2.18**, **2.27**, **2.28**, **2.37**, **2.38**, рис. 2.7) білого кольору, розчинні в органічних розчинниках та нерозчинні у воді, перекристалізовано з пропан-2-олу.

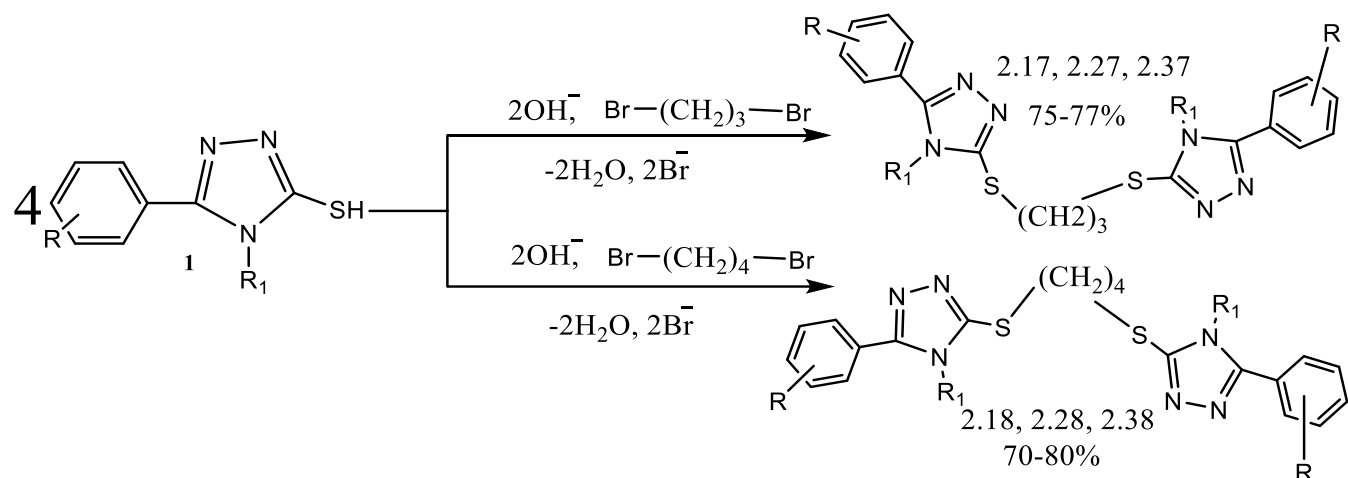


Рис. 2.7. Синтез 1,4-біс((5-(2-, 3-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропанів (**2.17**, **2.27**, **2.37**) та 1,4-біс((5-(2-, 3-фторфеніл)-4-метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)бутанів (**2.18**, **2.28**, **2.38**)

Для аналізу сполуки були очищені із різних розчинників: метанол, етанол, ізопропанол, 1,4-диоксан або водно-спиртова суміш. Після перекристалізації сполуки являють собою індивідуальні речовини, що підтверджено за допомогою тонкошарової хроматографії, значення R_f 100 синтезованих сполук наведені (дод. А, табл. А.3) в різних системах розчинників (дод. А, табл. А.2). Будова синтезованих сполук підтверджена сучасними фізико-хімічними методами.

Хроматографія сполук проводилась на пластинках силікагель 60 ALUGRAMSi11 G\UV254 (алюм. підкл. 10x20 та 20x20) (Махерей-Нагель).

ЯМР-спектр 3-пропілтіо-5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазолу (**2.19**, рис. 2.8) характеризується наявністю сигналів н-пропільного фрагменту у вигляді двох двопротонних триплетів (-CH₂- груп) при 1,70 та 3,13 м.ч. та одного трипротонного триплету метильної групи 0,99 м.ч. Особливістю спектрального дослідження є той факт, що не реєструється однопротонний сиглет меркапто-групи, що свідчить про однозначний перебіг реакції алкілування.

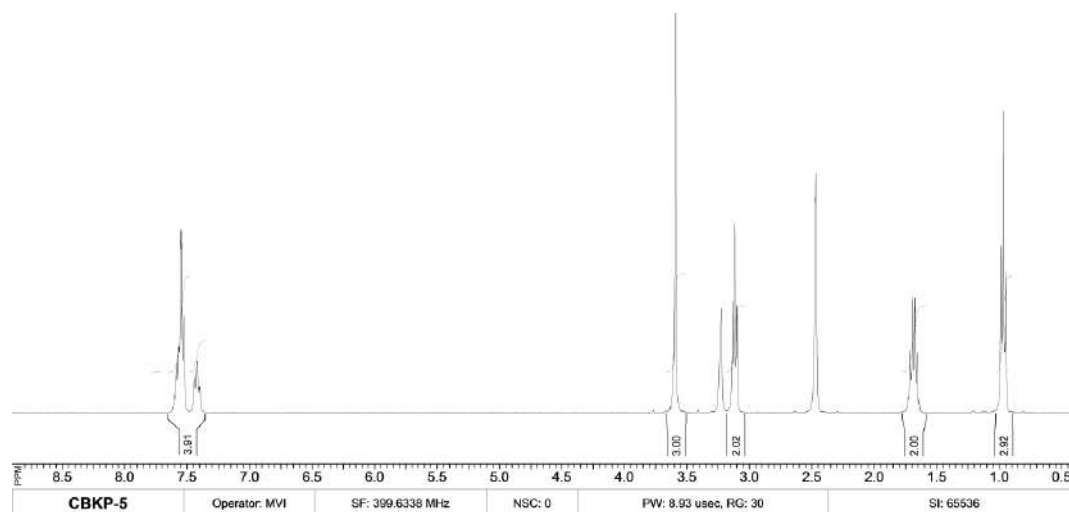


Рис. 2.8. ¹H ЯМР-спектр 3-пропілтіо-5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазолу (**2.19**)

За допомогою ЯМР дослідження доведено утворення саме 1,4-біс-похідних (**2.17**, **2.18**, **2.27**, **2.28**, **2.37**, **2.38**). На спектрі сполуки (**2.27**, рис. 2.9) відсутні сигнали синглетів тіо-групи (12,0-14,0 м.ч.), натомість резонують протони метиленових груп н-пропільного фрагменту мультиплетом при 2,12 м.ч. та двох екранованих двопротонних триплетів при 3,26 м.ч. Результати ¹H-ЯМР-спектрів синтезованих сполук наведені у додатках (дод. А, табл А.8), максимумами поглинання в ІЧ-спектрах синтезованих сполук цього ряду (дод. А, табл. А.9). Індивідуальність всіх синтезованих сполук підтверджена хроматографічно,

константи піків псевдомолекулярних йонів синтезованих сполук збігаються з вирахованими значеннями молекулярних мас.

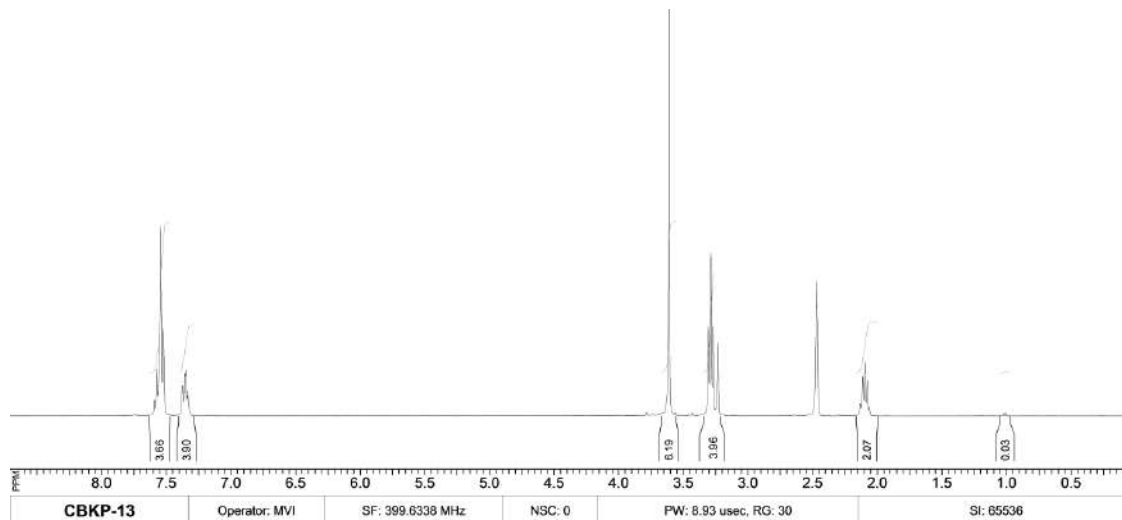


Рис. 2.9. ^1H ЯМР-спектр 1,4-біс((5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропану (2.27)

2.2 Взаємодія 5- R_1 -4-(метил-, етил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-тіолів з галогенкетонами, хлорангідрідами кислот та відновлення деяких 2-((5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів

Раніш нами повідомлялось, що введення до молекул похідних 1,2,4-триазолу фторфенільних замісників сприяє появі біологічної активності [296, 297]. Подальша хімічна модифікація фторфенілпохідних 1,2,4-триазолу сприяє розширенню арсеналу перспективних молекул. Відомим фактом на сьогодні також є те, що деякі фуранпохідні 1,2,4-триазолу є перспективним класом сполук, які виявляють різні види біологічної активності [283]. Окремо слід зазначити певні наукові успіхи поєднання фрагменту тіофену та ядра 1,2,4-триазолу, науковцями доведено перспективу подібних перетворень [289]. Аналізуючи літературні та патентні джерела, ми звернули увагу на можливість модифікації фторфеніл- та

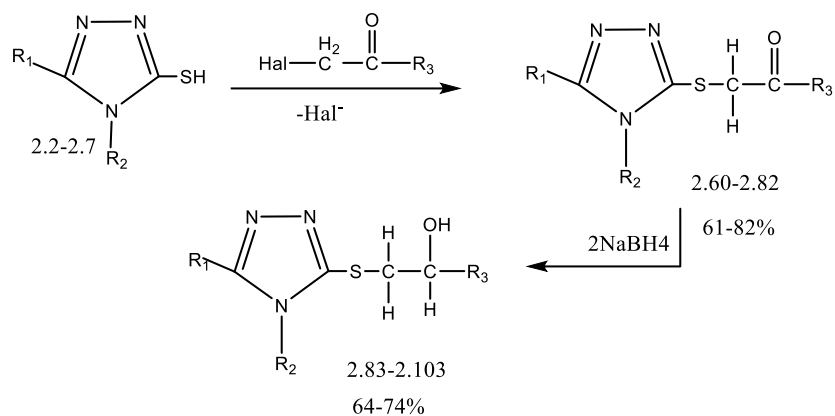
тіофенвмісних 1,2,4-триазолів, як перспективних агентів для подальших перетворень.

Перш за все необхідним було спрогнозувати можливі види біологічної активності відповідних карбонільвмісних похідних 1,2,4-триазолу. Як свідчать результати прогнозу, можливість прояву фармакологічної активності сполук даного класу досягає 85% (підрозд. 5.1).

Як вихідні сполук для синтезу відповідних 2-[5-R-4R₁-1,2,4-триазол-3-ілтіо]-1-арил-(алкіл)етанонів (**2.60-2.82**, рис. 2.8) використовували вихідні тіоли **2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7**. Реакцію алкілування проводили відповідними галогенопохідними – (бромацетон, 2-бром-1-(2-бромфеніл)етаноном, 2-бром-1-фенілетаноном, 2-бром-1-(2-, 3-, 4-фторфеніл)етаноном та 2-бром-1-(4-метоксифеніл)етаноном). Реакцію проводили за аналогічних умов класичної методики, яка добре відома та описана [283].

Синтез здійснено додаванням до відповідних вихідних тіолів еквівалентних кількостей відповідних бромацетону або 2-бром-1-фенілетанону або 2-бром-1-(2-бромфеніл)етанону або 2-бром-1-(2-, 3-, 4-фторфеніл)етанонів або 2-бром-1-(4-метоксифеніл)етанону в середовищі метанолу за наявності еквівалентної кількості натрій гідроксиду (рис. 2.8) [316, 318, 319]. Реакційну суміш кип'ятили протягом 2 год. З високими виходами отримували сполуки **2.60-2.82** (дод. А, табл. А.4). Як і в попередніх випадках, ймовірно, що реакція вихідних сполук з галогенкетонами перебігає за атомом Сульфуру (рис. 2.10).

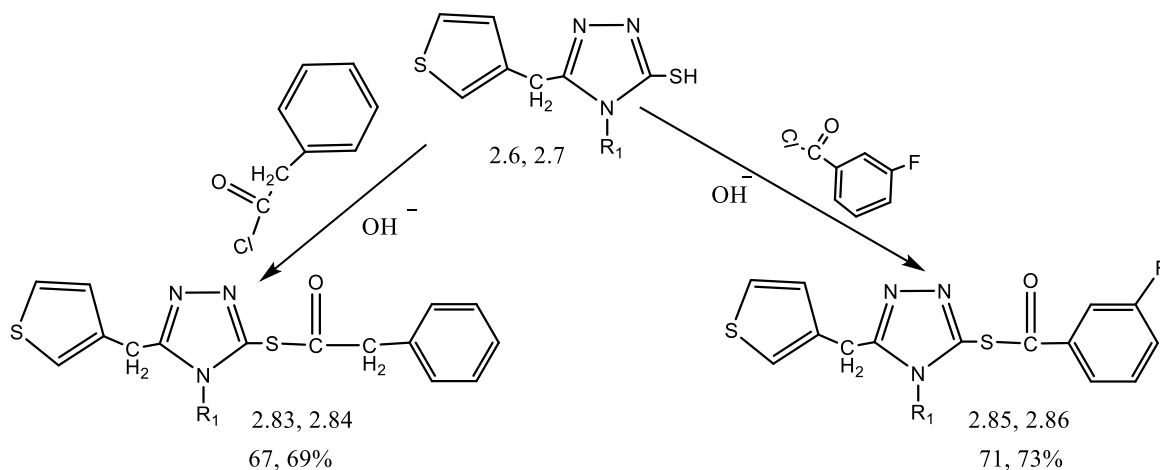
З метою розширення арсеналу потенційних біологічно активних сполук, було проведено реакцію 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолів (**2.6, 2.7**) з 2-фенілацетил хлоридом та 3-фторобензоїл хлоридом (рис. 2.11). Реакції проводили в лужному середовищі при наявності метанолу. У кожному випадку змішували еквівалентні кількості сполук. Суміш кип'ятили протягом 4 год, фільтрували, розчинник випаровували, отримували сполуки **2.83-2.86**, (рис. 2.11).

**2.87-2.107**

R₁=3-, 4-фторфеніл, тіофен-3-іл; R₂=CH₃, NH₂, C₂H₅;

R₃=CH₃, феніл, 2-, 3-, 4-фторфеніл, 2-бромфеніл, 4-метоксифеніл

Рис. 2.10. Схема синтезу 2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арил-(алкіл)етанонів та відновлення деяких з них



2.83 R₁=CH₃; **2.84** R₁=C₂H₅; **2.85** R₁=CH₃; **2.86** R₁=C₂H₅

Рис. 2.11. Схема синтезу тіопохідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолів

Наступним етапом роботи було дослідити реакції 2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів (**2.61-2.82**), 4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-

триазол-3-іл)-2-фенілетантіоатів (**2.83**, **2.84**) та 4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоатів (**2.85**, **2.86**) з натрій боргідридом (рис. 2.8, **2.10**). До відповідного 2-((5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанону або 4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-2-фенілетантіоату або 4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоату додавали подвійну кількість натрій боргідриду, еквівалентну кількість натрій гідроксиду у водному середовищі [317]. Суміш залишали при кімнатній температурі на 24 год. Потім розчин підкислювали оцтовою кислотою, осад відфільтровували. За цих умов було синтезовано серію нових сполук **2.87-2.107**, (рис. 2.10, дод. А, табл. А.5) та (**2.108-2.111**, рис. 2.12) [318-320].

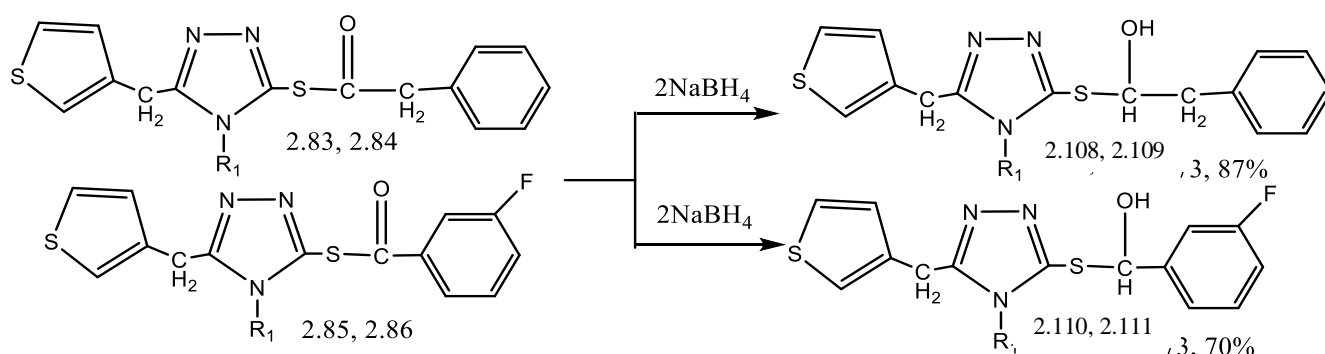


Рис. 2.12. Схема відновлення 2-((4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів

За результатами експерименту отримано ряд нових, неописаних раніше в літературі сполук (дод. А, табл. А.5), фізико-хімічні константи яких наведено в табл. А.8-А.10 (дод. А).

2-((5- R_1 -4- R_2 -1,2,4-Триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанони (**2.60-2.82**, рис. 2.8) являють собою кристалічні сполуки жовтого (**2.60-2.63**, **2.66**, **2.67**, **2.69**, **2.70**, **2.72**, **2.74**, **2.78**), світло-жовтого (**2.64**, **2.65**), помаранчевого (**2.68**, **2.71**, **2.73**, **2.79-2.82**) кольору, практично нерозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Для

аналізу 2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанони (**2.60-2.82**) було перекристалізовано з метанолу.

4-R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-2-фенілетантіоати (**2.83, 2.84**, рис. 2.9) представляють собою кристалічні сполуки жовтого кольору, нерозчинні у воді, для аналізу перекристалізовані з метанолу. 4-R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоати (**2.85, 2.86**, рис. 2.9) - це кристалічні сполуки помаранчевого кольору, нерозчинні у воді, для аналізу перекристалізовані з метанолу.

2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетаноли (**2.87-2.107**, дод. А, табл. А.5) являють собою кристалічні сполуки жовтого (**2.87-2.96, 2.98-2.102, 2.108-2.111**), та помаранчевого (**2.97, 2.103-2.107**) кольору, практично нерозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу всі сполуки було перекристалізовано з метанолу. Будова синтезованих сполук підтверджена за допомогою фізико-хімічних методів аналізу (елементним аналізом, ІЧ, ПМР-спектроскопією, мас-спектрометрією, а їх індивідуальність – хроматографічно (дод. А, табл. А.7).

Проаналізувавши ІЧ- та ¹Н ЯМР-спектри синтезованих сполук (**2.60-2.86**, дод. А, табл. А.10, А.8), можна зробити певні висновки: в ІЧ-спектрах цих сполук є чіткі смуги коливання СО-груп в межах 1680-1702 см⁻¹, груп CN- в межах 1640-1600 см⁻¹ та смуг коливання NH-груп в межах 3300-3500 см⁻¹. Крім того, є чіткі смуги коливання ароматичного кільця близько 3021-2999 см⁻¹, а також чіткі смуги коливання метиленових та метильних замісників при 1250-1175 см⁻¹ і 2950-2900 см⁻¹ відповідно.

¹Н ЯМР-спектри синтезованих сполук характеризуються наявністю сигналів протонів метильної групи ядра 1,2,4-триазолу (3.72 м.ч.), метиленової групи, зв'язаної з атомом Сульфуру (4.92 м. ч.), сигналів ароматичних протонів, які резонують у вигляді мультиплетів або дублетів при 6,82-6,85 м.ч та 7,11-7,20 м.ч.

Спектрам ^1H ЯМР тіофенвісних похідних (**2.78-2.82**) властиві сигнали тіофенового циклу, які спостерігаються в регіоні, типовому для ароматичних сполук у вигляді мультиплетів або дублетів при 6,94-7.10 м.ч та 7,25-7,85 м.ч, також у даній ділянці присутні сигнали фенільного радикала.

Синглетний сигнал метиленових спейсерів реєструється у слабкому полі. Метил при N^1 -атомі 1,2,4-триазольного гетероциклу реєструється у вигляді синглету, а етил у вигляді триплету і квінтету або складних мультиплетів (рис. 2.13).

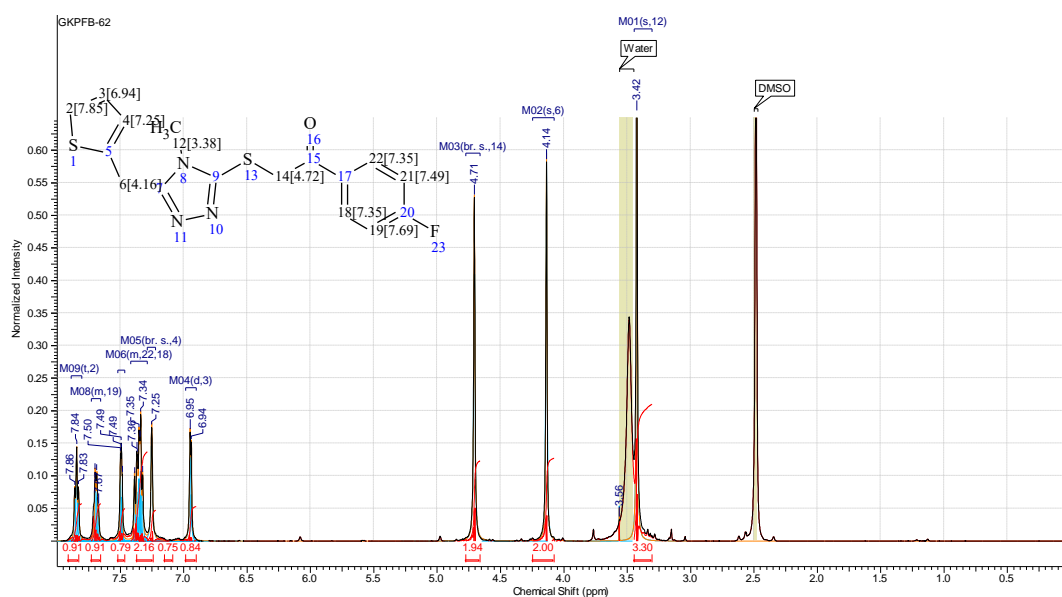


Рис 2.13. ^1H ЯМР- спектр 1-(4-фторфеніл)-2-((4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанону (**2.80**)

В ІЧ-спектрах синтезованих сполук (**2.87-2.107**) відсутні смуги коливання, характерні для карбонільних груп. Натомість присутні чіткі смуги коливання, характерні для групи R-OH $3591\text{-}3651\text{ cm}^{-1}$. Крім того наявні чіткі смуги коливання, характерні для метильних, метиленових радикалів та ароматичних структур. На відміну від ^1H ЯМР-спектрів 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів, ^1H ЯМР-спектри 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -

1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанолів характеризуються сигналами протонів характерних для спиртів (дод. А, табл. А.11).

Спектри ^1H ЯМР сполук (**2.108-2.111**) характеризуються синглетним сигналом метиленового лінкеру між тіофеновим та 1,2,4-триазольним гетероциклом у слабкому полі в ділянці 3.90-4.14 м.ч. Метил при N^1 -атомі 1,2,4-триазольного гетероциклу реєструється у вигляді синглету, а етил у вигляді триплету і квінтету або складних мультиплетів (рис. 2.14).

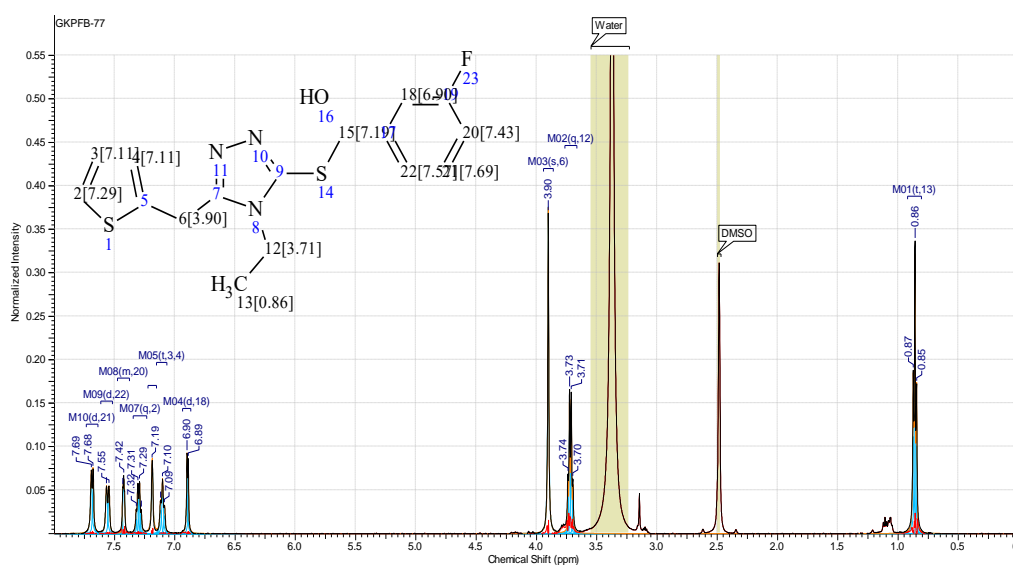


Рис. 2.14. ^1H ЯМР- спектр (3-фторофеніл)((4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метанолу (**2.111**)

Варто акцентувати увагу щодо ароматичної системи фенілу та його заміщених аналогів, які фактично резонують у вигляді дуплетів, триплетів та мультиплетів. Особливої уваги привертає константа спінової взаємодії для флуорозаміщених і бромозаміщених у фенільному кільці, так при атомі Флуору для атома Гідрогену вона найменша, а при атомі Бром у різко збільшується. Характерні сигнали тіофенового циклу, які спостерігаються в регіоні типовому для ароматичних сполук у вигляді мультиплетів або дублетів при 6,82-7.10 м.ч та

7,29-7,75 м.ч. У всіх випадках були отримані індивідуальні сполуки, що підтверджено хроматографічно (дод. А, табл. А.7).

2.3 Деякі перетворення S-похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолів

Відомо, що похідні 1,2,4-триазолу є об'єктом уваги науковців різних галузей завдяки багатьом унікальним властивостям цього гетероциклу. Постійно поповнюючись, «бібліотеки» оригінальних сполук створюють сприятливі умови для пошуку нових біологічно активних молекул, які в майбутньому можуть бути активними фармацевтичними інгредієнтами ліків, субстанціями регуляторів росту рослин тощо. Окремо слід відзначити певні наукові успіхи поєднання фрагменту тіофену та ядра 1,2,4-триазолу [289]. Науковцями доведено перспективу подібних перетворень. Таким чином, подальша хімічна модифікація похідних 1,2,4-триазолу за рахунок додаткового введення типового фармакофору тіофену та інших функціональних замісників є науково обґрунтованим та актуальним завданням і може допомогти на етапі впровадження у практичну діяльність нових малотоксичних сполук.

Проводячи порівняльний аналіз інформації наукових джерел, нашу увагу привернула можливість модифікації молекули тіопохідних 1,2,4-триазолу за рахунок додаткового введення функціональних замісників. Тому ми вважали за необхідне дослідити ацилювання деяких тіопохідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолів [317].

Використовуючи як вихідні речовини сполуки, які було синтезовано раніше (2.58, 2.59, дод. А, табл. А.1), а також (2.103-2.107, дод. А, табл. А.5) та (2.108-2.111), було проведено перетворення за схемою рис. 2.15. До відповідних сполук 2.58, 2.59 та 2.103-2.111 в кожному з випадків додають надлишок оцтового

ангідриду та нагрівають на водяній бані протягом 6 год до повного розчинення осадів, охолоджують, в кожному випадку додають воду, залишають на 24 год.

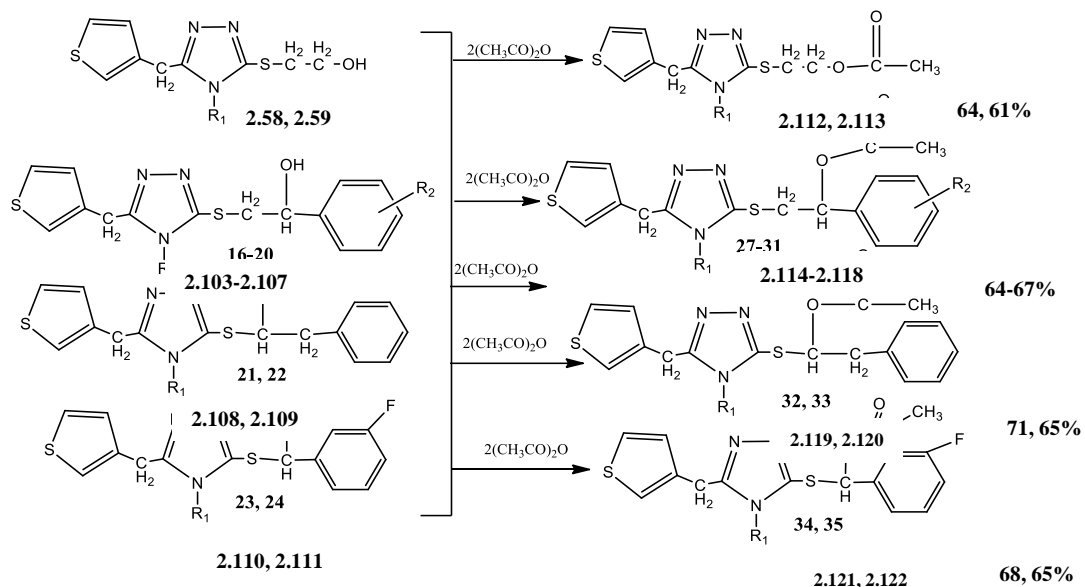


Рис. 2.15. Схема ацилування деяких тіпохідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолів

Осади, які при цьому утворюються, відфільтровують, кристалізують з оцтової кислоти, отримують індивідуальні кристалічні сполуки жовтого кольору (2.112-2.122, дод. А, табл. А.6).

Будова синтезованих сполук у всіх випадках підтверджена сучасними фізико-хімічними методами аналізу (дод. А, табл. А.8, А.12), а їх індивідуальність – хроматографічно (дод. А, табл. А.7).

Спектри ^1H ЯМР сполук продуктів ацилування деяких тіпохідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолів характеризуються синглетним сигналом ацильного метилу в ділянці 2,60-3,39 м.ч. За рахунок посилення акцепторного впливу ацильного радикалу майже всі сигнали сполук трохи зміщені

в більш слабке поле. Сигнал $-S-\underline{C}H-O-$ реєструється у вигляді уширеного синглету при 7,28-7,32 м.ч.

Характерні сигнали тіофенового та фенільного циклу, які спостерігаються в регіоні, типовому для ароматичних сполук у вигляді мультиплетів або дублетів при 6,82-7.10 м.ч та 7,29-7,75 м.ч. 1H ЯМР-спектр (3-фторофеніл)((4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метилацетату (**2.122**) наведено на рис. 2.16.

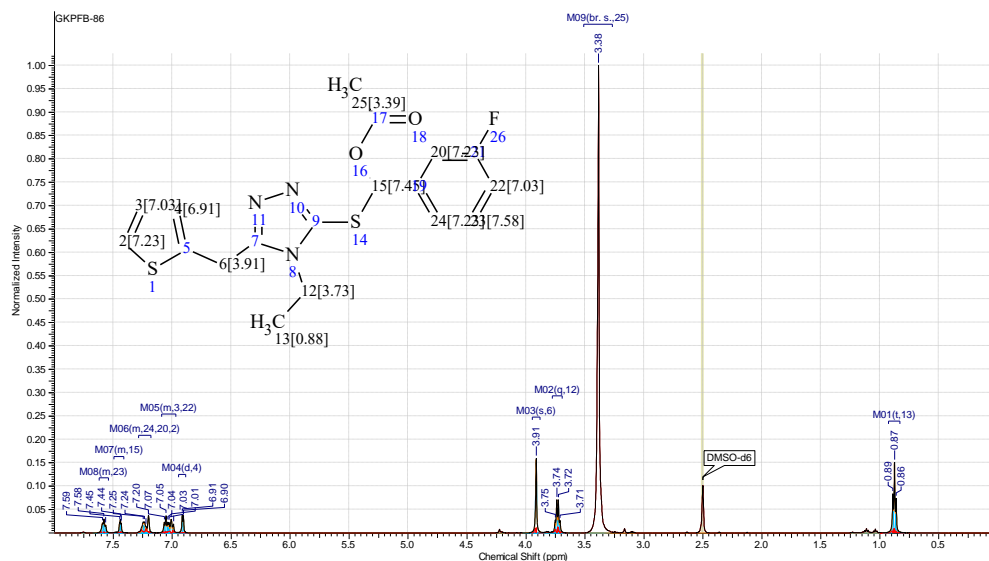


Рис. 2.16. 1H ЯМР- спектр (3-фторофеніл)((4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метилацетату (**2.122**)

2.4 Синтез несиметричних дисульфідів похідних 4-метил-4Н-1,2,4-триазолів

Синтез несиметричних дисульфідів є сучасною цілеспрямованою ділянкою драг-дизайну сполук у сучасних дослідженнях органічної і медичної хімії. На сьогоднішній час існує багато синтетичних методів отримання дисульфідних містків, хоча більшість із них мають значні недоліки, серед них - використання високотоксичних реагентів, таких як Br_2 , $SOCl_2$ та SO_2Cl_2 , та/або жорстких умов. Ці недоліки виникають через те, що найбільш поширений підхід до синтезу

дисульфідів включає отримання похідного сульфонілу на окремому етапі у вигляді проміжного продукту.

У розрізі медичної хімії можна стверджувати, що наявність дисульфідного зв'язку може привести до утворення потенційно нових протимікробних агентів. Прикладом такої гіпотези можна навести наприклад відомі сполуки, що містяться в часнику – S-алкілцистеїнсульфоксиди, діаллідисульфіди, аліцин.

Останнє дослідження [321] продемонстрували, що «поєднання короткого метаболічного шляху, високої реакційної здатності та не специфічності до певних білків є причинами, чому більшість бактеріальних мікроорганізмів не можуть отримати резистентність до дії аліцину та розробити ефективний захисний механізм». Автори даного дослідження стверджують, що «це може бути ключовим моментом до драг-дизайну ліків, що вирішує серйозні проблеми з підвищеним проявом бактеріальних штамів із множинною лікарською стійкістю».

Ще одним напрямком необхідності синтезу даних сполук стала зацікавленість в цілеспрямованому підвищенні антиоксидантного потенціалу (рис. 2.17). Нам відомо, що вітчизняний препарат «Тіотриазолін®» застосовується як кардіопротектор та гепатопротектор та має високу антиоксидантну дію [322].

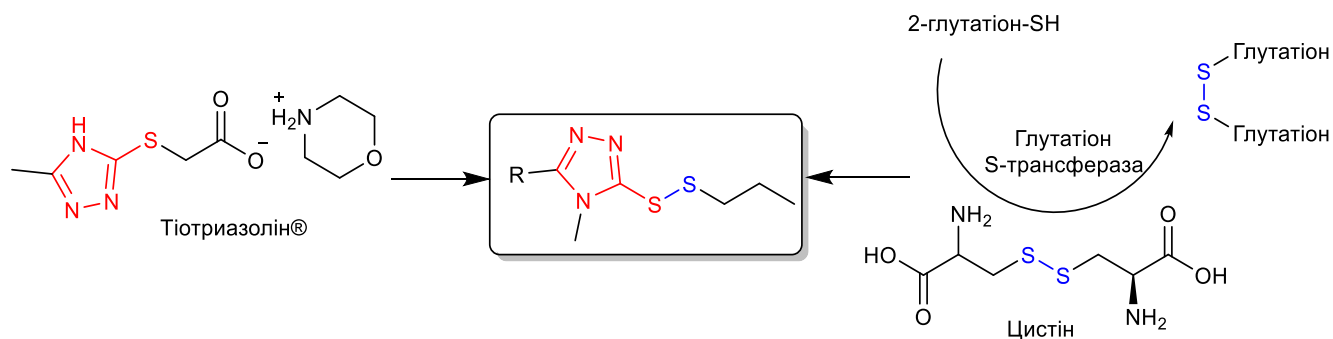


Рис. 2.17. Стратегія пошуку антиоксидантної активності дисульфідних похідних 4-метил-4H-1,2,4-триазолів

Потенційним синтезованим сполукам буде притаманний фрагмент сполуки 1,2,4-триазол-3(2H)-тіону і вони можуть володіти такими ж біологічними активностями. Своєю чергою, відома амінокислота цистин відіграє важливу роль у метаболізмі людини і є субстратом для отримання окисленого глутатіону. Роль глутатіону в метаболізмі [323] полягає в тому, що він є потужним відновником й легко окиснюється, подібно до цистеїну.

Взаємоперетворення окисненої та відновленої форм глутатіону каталізуються в організмі відповідним ферментом – глутатіон S-трансферазою. Цей фермент належить до сімейства оксидоредуктаз та має специфічну активність до донорної тіольної групи і акцепторного дисульфідного угруповання.

Виходячи з вищенаведеного, варто розробити стратегію синтезу класу даних сполук і отримати доволі перспективні сполуки. Для розробки стратегії синтезу було взято до уваги праці Abe [324] та Hunter [325]. У них продемонстровано, що N-хлоросукцинімід реагує з тіольною групою, утворюючи сульфенілхлорид, який при додаванні триетиламіну згодом реагує з побічним продуктом сукцинімідом, утворюючи N-сульфенілсукцинімід. З точки зору синтезу несиметричних дисульфідів, це напрямок запобігає побічній реакції реакційноздатного сульфенілхлориду з вихідним тіолом, що призводить до утворення гомодимерного дисульфідиду. Однак для подолання даної проблеми синтезу співавтори дослідження [325] запропонували 1-хлоробензотриазол як хлоруєчого агента, який перетворює тіол у похідне N-сульфенілу без проміжного продукту і дозволяє визначити експериментальні умови для хемоселективного утворення проміжного продукту N-сульфенілу без подальшої переважності тіолу з утворенням симетричного дисульфідиду. А відповідний проміжний інтермедіат повинен ефективно реагувати з наступним тіолом і дає змогу синтезувати бажаний несиметричний дисульфід.

Нами доведено, що синтез сполук відповідного ряду похідних 4-метил-4H-1,2,4-триазолів може відбуватися за не дуже низьких температурах та може бути покращений додаванням невеликої кількості триетиламіну для зв'язування

гідроген хлориду. Загальна стратегія синтезу (рис. 2.18) несиметричних дисульфідів полягає в легкому отриманні завдяки реакції окислення 1,2,3-бензотриазолу з натрій гіпохлоритом – 1-хлорбензотриазолу. Останній вступає у взаємодію з тіолом з утворенням відповідного проміжного інтермедіату 1-((5-R-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1H-бензо[d][1,2,3]триазолу, який далі зазнає селективної нуклеофільної атаки наступного тіолу з отриманням вихідних несиметричних дисульфідів.

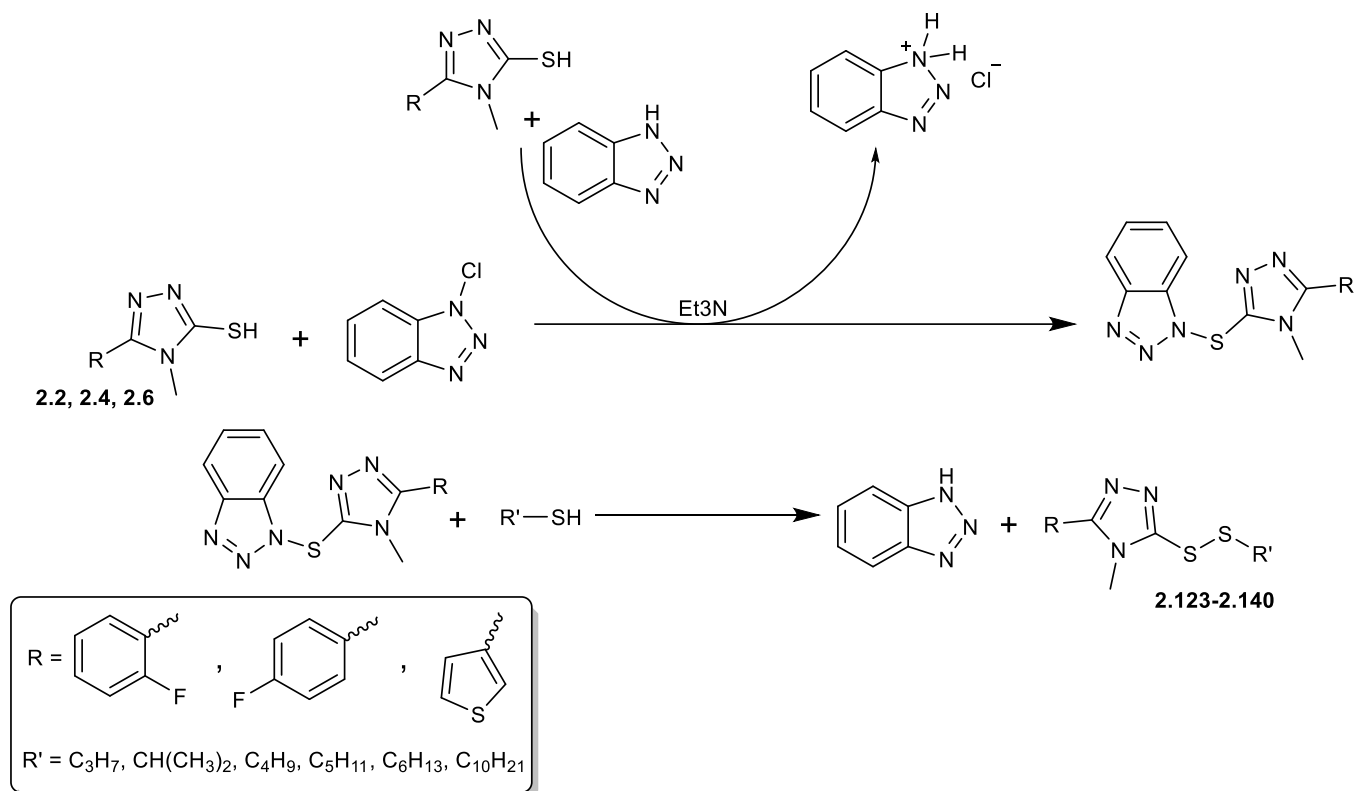


Рис. 2.18. Загальна стратегія синтезу несиметричних дисульфідів похідних 4-метил-4H-1,2,4-триазолів

Важливо, що не вдалося виявити значних кількостей гомодимерного дисульфиду. Даний факт досліджувався за допомогою ТШХ-хроматограми. ТШХ-моніторинг реакції виявив повне перетворення 5-R-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу на першому етапі з утворенням двох тісно розташованих полярних продуктів, які є ізомерними проміжними сполука за першим і другим атомом

Нітрогену 1,2,3-бензотриазолу. Реакцію кінетично зупиняли водним розчином натрій тіосульфату з натрій карбонатом для отримання несиметричного дисульфідного продукту. Особливість цього нового синтезу дисульфідів, з використанням триетиламіну полягає у сприянні стадії N-сульфенілування. Крім того, і що найважливіше, вихідний 1-хлоробензотриазол може надалі піддаватися лужному гідролізу і внаслідок цього отримувати вихідний 1,2,3-бензотриазол, який в загальному випадку виконує по суті роль каталізатора.

Про успішність перебігу реакції і утворення дисульфідних похідних свідчать результати ^1H ЯМР-спектроскопії (рис. 2.19).

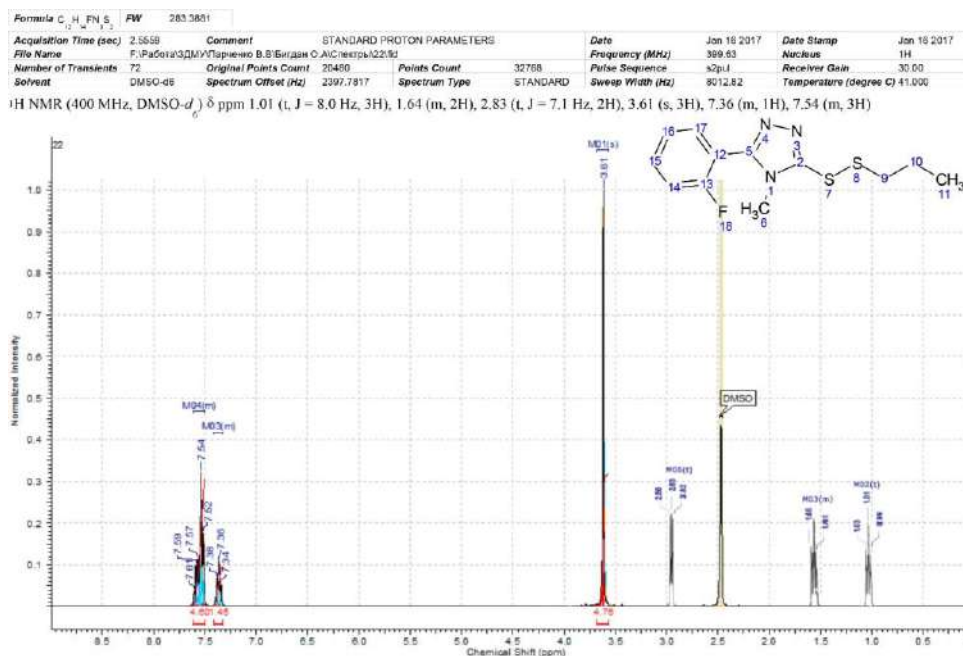


Рис. 2.19. ^1H ЯМР-спектр 3-(2-флуорофеніл)-4-метил-5-(пропїлдисульфанїл)-4Н-1,2,4-триазолу (**2.123**)

У спектрі спостерігається зміщення сигналів пропїлового залишку у більш в сильне поле, що свідчить про низький акцепторний вплив атому Сульфуру порівняно з тіоаналогом. Сигнал протонів метильної групи проявляється у вигляді трьохпротонного синглету з хїмічним зсувом при 3,61 м.ч. Вивчення значень

сигналів хімічних зсувів для фенільного кільця вказує на те, що атом Флуору проявляє акцепторний вплив та зміщує ароматичний діапазон сигналів у менш слабе поле.

Речовини є індивідуальними сполуками світло-жовтих **2.123**, **2.136**, **2.129** та червоних кольорів, не розчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Будова сполук доведена за допомогою спектральних методів аналізу, а їх індивідуальність – хроматографічно (дод. А, табл. А.3).

2.5 Опис експериментів

Хімічні назви побудовані згідно з номенклатурою IUPAC (1979, 1993 рік). Вивчення деяких фізико-хімічних властивостей синтезованих сполук проводили відповідно до методів, які наведені у Державній Фармакопеї України. Температуру плавлення визначили капілярним способом на приладі ПТП (М). Елементний склад нових сполук встановлено на елементному аналізаторі ELEMENTAR vario EL cube (стандарт – сульфаніламід). Принцип роботи аналізатора базується на високотемпературному спалюванні (1200°C). При спалюванні зразків в олов'яних капсулах відбувається виділення високої кількості тепла, за рахунок екзотермічної реакції окислення олова, що забезпечує повне згорання аналізованих елементів. Зразки подаються автоматично в зону спалювання за допомогою автосамплера, обладнаного кульковим краном. Гази, що утворилися в процесі високотемпературного спалювання, проходять через реактор відновлення, заповнений каталізатором. Гази, що при цьому утворилися в аналітичній формі N₂, H₂O, CO₂, SO₂, транспортуються газом-носієм до поглиначів, і послідовно вивільняються методом термопрограмованої десорбції. Азот разом з газом-носієм проходить через детектор, тоді як H₂O, CO₂, SO₂ поглинаються ловушкою. При ступінчатому нагріванні адсорбера відбувається послідовне виділення компонентів і відповідно їх детектування. Розділення

відбувається з високою ефективністю навіть при невеликих різницях концентрації компонентів. Кількісно визначаються компоненти на детекторі за теплопровідністю (TCD). Аналізатор повністю контролюється комп'ютером. Процентний вираз елементного складу розраховується за величиною відповідних сигналів детектора та калібрувальними кривими. Точність проведених досліджень відповідає стандартам України та сертифікована за встановленою формою. Свідоцтво про державну метрологічну атестацію № П-39-2019 від 09.08.2019 року. Відсоток похибки складає $\pm 0,3\%$.

ІЧ-спектри записувались у таблетках калію броміду (концентрація речовини 1%) на спектрофотометрі Specord M-80 в ділянці $4000-500 \text{ см}^{-1}$ (умови сканування: щільова програма 3.0, постійна часу – $\tau=3 \text{ с}$, час сканування 33 хв). Таблетки готувалися розтиранням 200 мг калію броміду з 2 мг досліджуваної сполуки з наступним пресуванням.

ПМР-спектри реєструвались на спектрофотометрі ядерного магнітного резонансу «Varian VXR-300», розчинник DMSO- D_6 , внутрішній стандарт – тетраметилсилан.

Розрахунки електронних структур молекул проводили напівемпіричним методом AM₁ (MOPAC 2000) з повною оптимізацією геометричної будови молекули для одержання значень енергій молекулярних орбіталей з використанням програми Hyper Chem® 6.0.

Хромато-мас-спектри реєстрували на спектрометрі Agilent 6890N/5973N/FID виробництва Agilent Technologies, з мікропотоковим перемикачем Діна. Колонка № 1 – кварцева капілярна HP-5MS 0.25 мм.х30 м., вихід колонки під'єднано до детектора іонізації в полум'ї, № 2 – кварцева капілярна DB-17MS 0.25 ммх30 м, кінець колонки безпосередньо входить в масспектрометр. Температура інжектора – 250°C, інтерфейса масспектрометра (Transfer line) – 280°C, джерела іонів – 230°C, квадруполя – 150°C. Режим іонізації – електронний удар, енергія електронів – 70 eV, напруга електропомножувача – на 200 В більша ніж при

Autotune (автоматичне налаштування шкали мас). Діапазон сканування 40-750 а. о. м., поріг – 110, швидкість сканування – 2.11 скан/с. Режим програмування температури термостата: 70°C – 2 хв, потім підйом до 210°C зі швидкістю – 45°C/хв, потім підйом до 310°C зі швидкістю – 06°C/хв, та витримування при цій температурі 18.22 хв. Тиск газу – носія (гелію) на вході в першу колонку – 26.00 psi, другу – 19.30 psi.

Мас-спектральні дослідження синтезованих сполук проводили на приладі Varian 1200L, іонізація здійснюється електронним ударом (70 eV) при прямому введенні зразка. Температура іонного джерела 200°C; нагрівання відбувається від 25°C до 390°C зі швидкістю 30°C/хв.

Хроматографію у тонкому шарі сорбенту проводили на пластинках силікагель 60 ALUGRAMSill G\UV254 (алюм. підкл. 10x20, 20x20) (Махерей-Нагель).

5-(2-Фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (2.1, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,268 кг (1 моль) калій 2-(2-фторфенілкарбоніл)гідразинокарбодитіоату, додають 0,3 кг гідразин гідрату. Суміші кип'ятять 3 год до повного розчинення осаду і видалення сірководню з реакційної суміші, охолоджують. До розчину додають 0,25 кг дистильованої води і нейтралізують 0,55 кг концентрованою хлоридною кислотою, осад відфільтровують. Вихід 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,176 кг (84%). Отримана при цьому біла кристалічна речовини з Т.пл.= 144-146°C. Для аналізу перекристалізовано із суміші 1,4-діоксан-вода=1:1, сполука важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксані. За даними [Deera Gupta, D. K. Jain. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives / Journal of Advanced Pharmaceutical & Research, Jul-Sep 2015, Vol. 6, P. 141-146] Т.пл.=145°C.

5-(3-Фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (2.2, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 227 г (1 моль) 2-(3-фторфеніл)-N-метил-1-

гідразинокарботіоаміду, 18,6 г (0,465 моль) натрій гідроксиду і 1 л дистильованої води. Суміш кип'яють до повного розчинення осаду, охолоджують, нейтралізують 800 г концентрованої ацетатної кислоти, осад відфільтровують. Вихід 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 184 г (88%). Біла кристалічна речовина з Т.пл.=151-153°C із ізопропанолу, важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксані. За даними [Deera Gupta, D. K. Jain. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives / Journal of Advanced Pharmaceutical & Research, Jul-Sep 2015, Vol. 6, P. 141-146] Т.пл.=152°C.

5-(3-Фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (2.3, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,268 кг (1 моль) калій 2-(3-фторфенілкарбоніл)гідразинокарбодитіоату, додають 0,3 кг гідразин гідрату. Суміші кип'яють 3 год до повного розчинення осаду і видалення сірководню з реакційної суміші, охолоджують. До розчину додають 0,25 кг дистильованої води і нейтралізують 0,55 кг концентрованою хлоридною кислотою, осад відфільтровують. Вихід 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,132 кг (63%). Отримана при цьому світло-жовта кристалічна речовина з Т.пл.=185-186°C. Для аналізу перекристалізовано з 1,4-діоксану, сполука важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО. За даними [Deera Gupta, D. K. Jain. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives / Journal of Advanced Pharmaceutical & Research, Jul-Sep 2015, Vol. 6, P. 141-146] Т.пл.=185°C.

5-(4-Фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (2.4, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,227 кг (1 моль) 2-(4-фторфеніл)-N-метил-1-гідразинокарботіоаміду, 0,0186 кг (0,465 моль) натрій гідроксиду і 1 кг дистильованої води. Суміш кип'яють до повного розчинення осаду, охолоджують, нейтралізують 0,8 кг концентрованої ацетатної кислоти, осад відфільтровують. Вихід 5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,163 кг (78%). Біла

кристалічна речовина з Т.пл.=233-235°C, для аналізу перекристалізовано з 1,4-діоксану, важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО. За даними [Deera Gupta, D. K. Jain. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives / Journal of Advanced Pharmaceutical & Research, Jul-Sep 2015, Vol. 6, P. 141-146] Т.пл.=234°C.

5-(4-Фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (2.5, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,268 кг (1 моль) калій 2-(4-фторфенілкарбоніл)гідразінокарбодитіоату, додають 0,3 кг гідразин гідрату. Суміші кип'ятять до повного розчинення осаду і видалення сірководню з реакційної суміші, охолоджують. До розчину додають 0,25 кг дистильованої води і нейтралізують 0,55 кг концентрованою хлоридною кислотою, осад відфільтровують. Вихід 5-(4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,168 кг (80%). Отримана при цьому біла кристалічна речовина з Т.пл.=226-228°C. Для аналізу перекристалізовано з 1,4-діоксану, сполука важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО. За даними [Deera Gupta, D. K. Jain. Synthesis, antifungal and antibacterial activity of novel 1,2,4-triazole derivatives / Journal of Advanced Pharmaceutical & Research, Jul-Sep 2015, Vol. 6, P. 141-146] Т.пл.=226°C.

5-(Тіофен-3-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (2.6, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,215 кг (1 моль) 2-(тіофен-3-іл)-N-метил-1-гідразінокарботіоаміду, 0,0186 кг (0,465 моль) натрій гідроксиду і 1 кг дистильованої води. Суміш кип'ятять до повного розчинення осаду, охолоджують, нейтралізують 0,8 кг концентрованої ацетатної кислоти, осад відфільтровують. Вихід 5-(тіофен-3-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,152 кг (77%). Біла кристалічна речовина з Т.пл.=180-182°C, для аналізу перекристалізовано з 1,4-діоксану, важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО.

5-(Тіофен-3-іл)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіол (2.7, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,229 кг (1 моль) 2-(тіофен-3-іл)-N-етил-1-гідразінокарботіоаміду, 0,0186 кг (0,465 моль) натрій гідроксиду і 1 кг

дистильованої води. Суміш кип'ятять до повного розчинення осаду, охолоджують, нейтралізують 0,8 кг концентрованої ацетатної кислоти, осад відфільтровують. Вихід 5-(тіофен-3-іл)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,173 кг (82%). Біла кристалічна речовина з Т.пл.=191-193°C, для аналізу перекристалізовано з 1,4-діоксану, важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО.

5-(5-Бромфуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіол (2.8, дод. А, табл. А.1). У дволітрову колбу завантажують 0,278 кг (1 моль) 2-(5-бромфуран-2-іл)-N-метил-1-гідразинокарботіоаміду, 0,0186 кг (0,465 моль) натрій гідроксиду і 1 кг дистильованої води. Суміш кип'ятять до повного розчинення осаду, охолоджують, нейтралізують 0,8 кг концентрованої ацетатної кислоти, осад відфільтровують. Вихід 5-(5-бромфуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу складає 0,190 кг (73%). Біла кристалічна речовина з Т.пл.=190-191°C, для аналізу перекристалізовано із ізопропанолу, важко розчинна у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО. За даними [Lu Lin, Hua Liu, Dun-Jia Wang and other. Synthesis and biological activities of 3,6-disubstituted-1,2,4-triazolo-1,3,4-thiadiazole derivatives / *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 2017, 31(3), 481-489] Т.пл.=191°C.

5-(R₁)-4-(метил-, аміно)-3-алкілтіо-1,2,4-триазоли (2.9-2.45, 2.48-2.56, дод. А, табл. А.1). До розчину 0,01 моль калій гідроксиду в 30 мл етанолу додають 0,01 моль відповідного 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1) або 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.2) або 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.3) або 5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.4) або 5-(4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.5) та 0,01 моль перегнаного алкілгалогеніду (бромистого етилу, бромистого пропілу, бромистого амілу, бромистого октилу, бромистого нонілу, бромистого децилу). Суміш кип'ятять до нейтральної реакції середовища 3 год, фільтрують, розчинник випаровують. Отримують білі (2.9-2.19, 2.21-2.36, 2.40-2.44, 2.48-2.56), жовті (2.20, 2.39, 2.45) кристалічні речовини, мало розчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках.

Для аналізу сполуки очищені із суміші метанол-вода=1:2 (**2.19-2.26**), 1,4-діоксану (**2.9-2.16**), ізопропанолу (**2.30-2.45**), із суміші ДМФА-вода, 1:1 (**2.48-2.56**).

1,4-Біс((5-(2-, 3-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропани (**2.17, 2.27, 2.37**). До розчину 0,02 моль натрій гідроксиду в 30 мл ізопропанолу додають 0,02 моль відповідного 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1**) або 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.2**) або 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.3**) та 0,01 моль перегнаного дибромпропану. Суміш кип'яють до нейтральної реакції середовища 4 год, фільтрують, розчинник випаровують. Отримують білі кристалічні речовини, мало розчинні у воді, розчинні в ДМФА, ДМСО. Для аналізу сполуки перекристалізовано з ізопропанолу.

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропану (**2.17**) складає 75 %. Т.пл.=192-194°C. Знайдено, %: С 49,18; Н 3,91; N 24,28; S 13,87. $C_{19}H_{18}F_2N_8S_2$ Вирахувано, %: С 49,55; Н 3,94; N 24,33; S 13,92. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 2,12 (m, 2H, CH_2), 3,26 (t, 4H, CH_2), 3,61 (t, 6H, CH_3), 7,35 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропану (**2.27**) складає 75 %. Т.пл.=162-164°C. Знайдено, %: С 54,46; Н 4,37; N 18,41; S 13,79. $C_{21}H_{20}F_2N_6S_2$ Вирахувано, %: С 55,00; Н 4,40; N 18,33; S 13,99. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 2,12 (m, 2H, CH_2), 3,26 (t, 4H, CH_2), 3,61 (t, 6H, CH_3), 7,35 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропану (**2.37**) складає 75 %. Т.пл.=201-203°C. Знайдено, %: С 49,26; Н 3,88; N 24,35; S 13,95. $C_{19}H_{18}F_2N_8S_2$ Вирахувано, %: С 49,55; Н 3,94; N 24,33; S 13,92. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 2,12 (m, 2H, CH_2), 3,26 (t, 4H, CH_2), 3,61 (t, 6H, CH_3), 7,35 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

1,4-Біс((5-(2-, 3-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)бутани (**2.18, 2.28, 2.38**). До розчину 0,02 моль натрій гідроксиду в 30 мл ізопропанолу

додають 0,02 моль відповідного 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1**) або 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.2**) або 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.3**) та 0,01 моль перегнаного дибромбутану в кожному випадку. Суміш кип'ятять до нейтральної реакції середовища 4 год, фільтрують, розчинник випаровують. Отримують білі кристалічні речовини, мало розчинні у воді, розчинні в ДМФА, ДМСО. Для аналізу сполуки перекристалізовано з ізопропанолу.

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)бутану (**2.18**) складає 76 %. Т.пл.=146-148°C. Знайдено, %: С 50,63; Н 4,19; N 23,57; S 13,33. $C_{20}H_{20}F_2N_8S_2$ Вирахувано, %: С 50,62; Н 4,25; N 23,61; S 13,31. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 1,83 (t, 4H, CH_2), 3,19 (t, 4H, CH_2), 3,59 (s, 6H, CH_3), 7,39 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)бутану (**2.28**) складає 70 %. Т.пл.=159-161°C. Знайдено, %: С 55,63; Н 4,65; N 17,84; S 13,61. $C_{22}H_{22}F_2N_6S_2$ Вирахувано, %: С 55,91; Н 4,69; N 17,78; S 13,57. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 1,83 (t, 4H, CH_2), 3,19 (t, 4H, CH_2), 3,59 (s, 6H, CH_3), 7,39 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

Вихід продукту реакції 1,4-біс((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)бутану (**2.38**) складає 80 %. Т.пл.=196-199°C. Знайдено, %: С 50,55; Н 4,21; N 23,64; S 13,31. $C_{20}H_{20}F_2N_8S_2$ Вирахувано, %: С 50,62; Н 4,25; N 23,61; S 13,31. 1H (500 MHz, DMSO- d_6): 1,83 (t, 4H, CH_2), 3,19 (t, 4H, CH_2), 3,59 (s, 6H, CH_3), 7,39 (m, 2H, Ar-H), 7,54 (m, 6H, Ar-H).

1-((5-(3-фторфеніл)-4-метил-4Н-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)пропан-2-он (**2.60**, дод. А, табл. А.1). До розчину 0,01 моль натрій гідроксиду в 3 мл води додають 30 мл етанолу, 0,01 моль 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.2**) 0,01 моль 1-бромпропан-2-ону. Суміш кип'ятять до нейтрального середовища, фільтрують, розчинник випаровують. Отримують жовту кристалічну речовину,

важко розчинну у воді, розчинна в ДМФА, ДМСО. Для аналізу сполуку очищено із ізопропанолу.

2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-Триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанони (2.61-2.82, дод. А, табл. А.1). До розчину 0,01 моль натрій гідроксиду в 3 мл води додають 30 мл етанолу, 0,01 моль 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.2) або 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.3) або 5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.4) або 5-(4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.5) або 5-(тіофен-3-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.6) або 5-(тіофен-3-іл)-4-етил-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.7), 0,01 моль відповідного 2-бром-1-арилетанону (2-бром-1-фенілетанону, 2-бром-1-(2-бромфеніл)-етанону, 2-бром-1-(2-фторфеніл)-етанону, 2-бром-1-(3-фторфеніл)-етанону, 2-бром-1-(4-фторфеніл)-етанону, 2-бром-1-(4-метоксифеніл)-етанону) в кожному окремому випадку. Суміш кип'ятять до нейтрального середовища, фільтрують, розчинник випаровують.

Отримують сполуки жовтого (2.61-2.63, 2.66, 2.67, 2.69, 2.70, 2.72, 2.74, 2.78), світло-жовтого (2.64, 2.65), помаранчевого (2.68, 2.71, 2.73, 2.79-2.82) кольорів, практично нерозчинні у воді, розчинні в ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксану. Для аналізу сполуку очищено із метанолу.

2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-Триазол-3-іл)тіо)-1-арилетаноли (2.87-2.107, дод. А, табл. А.1). До розчину 0,01 моль натрію гідроксиду в 30 мл етанолу додають 0,01 моль відповідного 2-((5-R₁-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанону (2.61-2.82) або 4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-2-фенілетантіоату (2.83, 2.84) або 4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоату (2.85, 2.86), після чого краплями протягом 1 год додають розчин 0,02 моль натрій боргідрид в 15 мл води. Суміш залишають при кімнатній температурі на 24 год, нейтралізують ацетатною кислотою, додають 70 мл води, осад відфільтровують.

Отримують кристалічні речовини жовтого (2.87-2.96, 2.98-2.102, 2.108-2.111) та помаранчевого (2.97, 2.103-2.107) кольору, важко розчинні у воді, розчинні в розчинах лугів, ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксану.

Вихід продукту реакції 4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-2-фенілетантіоату (**2.83**) складає 67%. Т.пл.=111-115°C. Знайдено, %: С 58,05; Н 4,49; N 12,75; S 19,37. C₁₆H₁₅N₃OS₂ Вирахувано, %: С 58,53; Н 4,52; N 12,73; S 19,42. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 2.28 (s, 3 H), 3.33 (br. s., 2 H), 4.09 (s, 2 H), 7.20-7.36 (m, 5 H), 6.99 (d, J=4.39 Hz, 1 H) 7.20 - 7.36 (m, 1 H) 7.52 (dd, J=4.94, 2.74 Hz, 1 H).

Вихід продукту реакції 4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-2-фенілетантіоату (**2.84**) складає 71%. Т.пл.=123-125°C. Знайдено, %: С 59,56; Н 4,98; N 12,20; S 18,70. C₁₇H₁₇N₃OS₂ Вирахувано, %: С 59,45; Н 4,99; N 12,29; S 18,67. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 0.95 (t, J=6.86 Hz, 3 H) 3.88 (q, J=6.77 Hz, 2 H), 3.54 (s, 2 H), 4.10 (s, 2 H), 7.19 - 7.39 (m, 5 H), 6.97 (d, J=4.39 Hz, 1 H) 7.19-7.39 (m, 1 H), 7.47-7.53 (m, 1 H).

Вихід продукту реакції 4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоату (**2.85**) складає 69 %. Т.пл.=121-123°C. Знайдено, %: С 55,20; Н 4,07; N 5,48; S 18,42. C₁₅H₁₂FN₃OS₂ Вирахувано, %: С 55,31; Н 4,06; N 5,47; S 18,46. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 3.35 (с, 3H), 4.78 (br. s., 2 H), 4.12 (s, 2 H), 7.83 (q, J=7.9, 7.4 Hz, 1H), , 7.64-7.41 (m, 3H), 6.93 (ddt, J = 19.5, 14.8, 6.3 Hz, 1H), 7.28-7.19 (m, 1H), 7.75 (dd, J=24.2, 15.5 Hz, 1H).

Вихід продукту реакції 4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)-3-фторобензотіоату (**2.86**) складає 73%. Т.пл.=116-118°C. Знайдено, %: С 54,13; Н 3,64; N 12,57; S 19,20. C₁₆H₁₄FN₃OS₂ Вирахувано, %: С 54,04; Н 3,63; N 12,60; S 19,29. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 0.95 (t, J=6.86 Hz, 3 H) 3.88 (d, J=6.59 Hz, 2 H), 4.11 (br. s., 2 H), 7.35 (br. s., 1 H) 7.50 (d, J=2.74 Hz, 1 H) 7.62 (d, J=4.94 Hz, 1 H) 7.80-7.89 (m, 1 H), 6.97 (d, J=4.39 Hz, 1 H) 7.24-7.33 (m, 2 H).

Вихід продукту реакції 1-((4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-2-фенілетанолу (**2.108**) складає 87%. Т.пл.=104-106°C. Знайдено, %: С 58,00; Н 5,18; N 12,65; S 19,31. C₁₆H₁₇N₃OS₂ Вирахувано, %: С 57,98; Н 5,17; N 12,68; S 19,35. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 3.54 (s, 3H), 3.11 (ddt, J = 6.8, 2.1, 1.0 Hz,

2H), 4.13 (с, 2H), 7.33-7.14 (m, 5H), 7.33-7.14 (m, 1H), 6.97-6.87 (m, 2H), 6.03 (d, J=7.2 Hz, 1H).

Вихід продукту реакції 1-((4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-2-фенілетанолу (**2.109**) складає 73%. Т.пл.=113-115°C. Знайдено, %: С 59,00; Н 5,55; N 12,13; S 18,52. C₁₇H₁₉N₃OS₂ Вирахувано, %: С 59,10; Н 5,54; N 12,16; S 18,56. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 0.84 - 0.98 (m, 3 H), 3.75-3.90 (m, 2 H), 3.23 (s, 2 H), 4.02 (s, 2 H), 6.94 (d, J=4.39 Hz, 2 H), 7.15-7.22 (m, 1 H), 7.43-7.52 (m, 2 H), 7.09 (d, J=6.59 Hz, 1 H) 7.15-7.22 (m, 1 H) 7.43-7.52 (m, 1 H), 7.29 (br. s., 1 H).

Вихід продукту реакції (3-фторофеніл)-((4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метанолу (**2.110**) складає 70%. Т.пл.=109-110°C. Знайдено, %: С 53,61; Н 4,29; N 12,51; S 19,15. C₁₅H₁₄FN₃OS₂ Вирахувано, %: С 53,71; Н 4,21; N 12,53; S 19,12. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 1.77 (s, 3 H), 4.13 (s, 2 H), 6.90-6.98 (m, 1 H), 7.45-7.63 (m, 2 H), 7.84 (d, J=7.68 Hz, 1 H), 7.45 - 7.63 (m, 2 H) 7.77 (d, J=9.88 Hz, 1 H), 4.82 - 4.89 (m, 1 H), 7.28 (br. s., 1 H).

Вихід продукту реакції (3-фторофеніл)-((4-етил-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метанолу (**2.111**) складає 73 %. Т.пл.=115-117°C. Знайдено, %: С 54,87; Н 4,63; N 12,05; S 18,31. C₁₆H₁₆FN₃OS₂ Вирахувано, %: С 54,99; Н 4,62; N 12,02; S 18,35. ¹H (500 MHz, DMSO-d₆): 0.86 (t, J=6.86 Hz, 3 H) 3.72 (q, J=6.59 Hz, 2 H), 3.90 (s, 2 H), 6.89 (d, J=4.94 Hz, 1 H) 7.38 - 7.48 (m, 1 H) 7.56 (d, J=9.88 Hz, 1 H) 7.68 (d, J=7.14 Hz, 1 H), 7.10 (t, J=7.96 Hz, 2 H) 7.30 (q, J=7.14 Hz, 1 H), 7.19 (br. s., 1 H).

2-((5-R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етил ацетати (**2.112, 2.113**, дод. А, табл. А.6). До 0,01 моль 2-((4-метил-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етан-1-олів (**2.58, 2.59**) в кожному з випадків додають надлишок (20 мл) оцтового ангідриду та нагрівають на водяній бані протягом 6 годин до повного розчинення осадів, охолоджують, в кожному випадку додають 20 мл води, залишають на 24 год. Осади, які при цьому утворюються, відфільтровують,

кристалізують з оцтової кислоти, отримують індивідуальні кристалічні сполуки жовтого кольору.

2-((4-R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетил ацетати (2.114-2.118, дод. А, табл. А.6). До 0,01 моль відповідних 2-((4R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетан-1-олів (2.103-2.107) в кожному з випадків додають надлишок (15 мл) оцтового ангідриду та нагрівають на водяній бані протягом 6 год до повного розчинення осадів, охолоджують, в кожному випадку додають воду, залишають на 24 год. Осади, які при цьому утворюються, відфільтровують, кристалізують з оцтової кислоти, отримують індивідуальні кристалічні сполуки жовтого кольору.

2-((4-R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-2-фенілетил ацетати (2.119, 2.120, дод. А, табл. А.6). До 0,01 моль відповідних 2-((4R₁-5-(Тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-2-фенілетан-1-олів (2.108, 2.109) в кожному з випадків додають надлишок (15 мл) оцтового ангідриду та нагрівають на водяній бані протягом 6 год до повного розчинення осадів, охолоджують, в кожному випадку додають воду, залишають на 24 год. Осади, які при цьому утворюються, відфільтровують, кристалізують з оцтової кислоти, отримують індивідуальні кристалічні сполуки жовтого кольору.

(3-Фторфеніл)((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил ацетати (2.121, 2.122, дод. А, табл. А.6). До 0,01 моль відповідних (3-фторфеніл)((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метанолів (2.110, 2.111) в кожному з випадків додають надлишок (15 мл) оцтового ангідриду та нагрівають на водяній бані протягом 6 год до повного розчинення осадів, охолоджують, в кожному випадку додають воду, залишають на 24 год. Осади, які при цьому утворюються відфільтровують, кристалізують з оцтової кислоти, отримують індивідуальні кристалічні сполуки жовтого кольору.

3-(R-Дисульфаніл)-5-(4-R')-4-метил-4H-1,2,4-триазоли (2.123-2.140). До розчину 1-хлоробензотриазолу (0,61 г, 4 ммоль) і 1,2,3-бензотриазолу (0,32 г,

0,7 ммоль) з триетиламіном (0,03 г, 0,3 ммоль) в дихлорометані, при охолодженні до -25°C у термостаті додавали по краплях розчин 5-*R*-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолу (2,7 ммоль) у дихлорометані (2 мл). Розчин залишали перемішуватися протягом 2 год при повільному нагріванні до -10°C . Потім повільно додавали 1-пропантіол чи інший алкілтіол (4 ммоль) у дихлорометані з наступним перемішуванням при 0°C протягом 30 хв. Потім реакцію кінетично зупиняли розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,45 г у 10 мл води) разом із насиченим водним розчином NaHCO_3 (10 мл) при швидкому перемішуванні протягом 20 хв. В подальшому екстрагували дихлорометаном (3×100 мл). Органічний екстракт сушили над безводним магній сульфатом, фільтрували та упарювали. Очищували та перекристалізували з гексану.

3-(2-Флуорофеніл)-4-метил-5-(пропілдисульфаніл)-4*H*-1,2,4-триазол (**2.123**). Вихід 65%, жовта пластична олія, Т.розкл. $167-168^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,54 (m, 3H), 7,36 (m, 1H), 3,61 (s, 3H), 2,83 (t, $J=7,1$ Hz, 2H), 1,64 (m, 2H), 1,01 (t, $J=8,0$ Hz, 3H). Знайдено, %: C 50,81; H 4,95; N 14,84; S 22,65. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{S}_2$. Розраховано, %: C 50,86; H 4,98; N 14,83; S 22,63.

3-(2-Флуорофеніл)-5-(ізопропілдисульфаніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (**2.124**). Вихід 56%, жовта пластична олія, Т.розкл. $184-185^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.89 (ddd, $J=7.3, 5.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.41 (tdd, $J = 7.4, 4.9, 1.6$ Hz, 1H), 7.34 (td, $J=7.4, 1.6$ Hz, 1H), 7.25 (ddd, $J=8.1, 7.4, 1.7$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.49 (hept, $J=6.8$ Hz, 1H), 1.32 (d, $J=6.8$ Hz, 6H). Знайдено, %: C 50,81; H 5,01; N 14,85; S 22,65. $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{FN}_3\text{S}_2$. Розраховано, %: C 50,86; H 4,98; N 14,83; S 22,63.

3-(Бутилдисульфаніл)-5-(2-флуорофеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (**2.125**). Вихід 53%, жовта пластична олія, Т.розкл. $172-173^{\circ}\text{C}$. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.90 (ddd, $J=7.5, 5.0, 1.5$ Hz, 1H), 7.49 (tdd, $J=7.5, 5.0, 1.6$ Hz, 1H), 7.34 (td, $J=7.5, 1.5$ Hz, 1H), 7.27 (ddd, $J=8.0, 7.4, 1.6$ Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.90 (t, $J=7.1$ Hz, 2H), 1.64 (pd, $J=7.0, 0.6$ Hz, 2H), 1.53-1.39 (m, 2H), 0.94 (t, $J=8.0$ Hz, 3H). Знайдено,

%, С 52,51; Н 5,40; N 14,16; S 21,67. $C_{13}H_{16}FN_3S_2$. Розраховано, %: С 52,50; Н 5,42; N 14,13; S 21,56.

3-(2-Флуорофеніл)-4-метил-5-(пентилдисульфаніл)-4*H*-1,2,4-триазол (**2.126**). Вихід 61%, жовта пластична олія, Т.розкл. 154-155°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.93-7.85 (m, 1H), 7.54-7.45 (m, 1H), 7.38-7.28 (m, 2H), 3.71 (s, 3H), 2.91 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.69-1.55 (m, 2H), 1.44-1.29 (m, 4H), 0.96-0.83 (m, 3H). Знайдено, %: С 53,45; Н 5,67; N 13,38; S 20,49. $C_{14}H_{18}FN_3S_2$. Розраховано, %: С 53,99; Н 5,83; N 13,49; S 20,59.

3-(2-Флуорофеніл)-5-(гексилдисульфаніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (**2.127**). Вихід 46%, жовта пластична олія, Т.розкл. 148-150°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.87 (ddd, J=7.4, 5.1, 1.6 Hz, 1H), 7.53 (tdd, J=7.5, 5.0, 1.5 Hz, 1H), 7.33 (tdd, J=8.1, 5.6, 1.5 Hz, 2H), 3.71 (s, 3H), 3.00-2.83 (m, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.47-1.34 (m, 2H), 1.38-1.25 (m, 4H), 0.96-0.82 (m, 3H). Знайдено, %: С 55,32; Н 6,23; N 12,98; S 19,56. $C_{15}H_{20}FN_3S_2$. Розраховано, %: С 55,36; Н 6,19; N 12,91; S 19,70.

3-(Бецилдисульфаніл)-5-(2-флуорофеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (**2.128**). Вихід 74%, червона пластична олія, Т.розкл. 125-127°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.90 (ddd, J=7.5, 5.0, 1.5 Hz, 1H), 7.57 (tdd, J=7.5, 5.0, 1.5 Hz, 1H), 7.38 (td, J=7.5, 1.5 Hz, 1H), 7.31 (ddd, J=8.0, 7.5, 1.5 Hz, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.89 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.48-1.20 (m, 15H), 0.95-0.82 (m, 3H). Знайдено, %: С 59,76; Н 7,34; N 11,16; S 16,56. $C_{19}H_{28}FN_3S_2$. Розраховано, %: С 59,81; Н 7,40; N 11,01; S 16,80.

3-(4-Флуорофеніл)-4-метил-5-(пропілдисульфаніл)-4*H*-1,2,4-триазол (**2.129**). Вихід 51%, жовта пластична олія, Т.розкл. 168-170 °C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7.93-7.85 (m, 2H), 7.30-7.20 (m, 2H), 3.72 (s, 3H), 2.83 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.64 (dtd, J=15.1, 7.9, 7.0 Hz, 2H), 1.01 (t, J=8.0 Hz, 3H). Знайдено, %: С 50,76; Н 4,92; N 14,92; S 22,78. $C_{12}H_{14}FN_3S_2$. Розраховано, %: С 50,86; Н 4,98; N 14,83; S 22,63.

3-(4-Флуорофеніл)-5-(ізопропілдисульфаніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (2.130). Вихід 42%, жовта пластична олія, Т.розкл. 148-150 °С. ¹Н ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.93-7.85 (m, 2H), 7.30-7.20 (m, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.49 (hept, J=6.8 Hz, 1H), 1.32 (d, J=6.8 Hz, 6H). Знайдено, %: С 50,44; Н 5,06; N 14,85; S 22,57. C₁₂H₁₄FN₃S₂. Розраховано, %: С 50,86; Н 4,98; N 14,83; S 22,63.

3-(Бутилдисульфаніл)-5-(4-флуорофеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (2.131). Вихід 63%, жовта пластична олія, Т.розкл. 142-143 °С. ¹Н ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.94-7.86 (m, 2H), 7.29-7.20 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.90 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.64 (pd, J=7.0, 0.6 Hz, 2H), 1.53-1.39 (m, 2H), 0.94 (t, J=8.0 Hz, 3H). Знайдено, %: С 52,56; Н 5,48; N 14,11; S 21,50. C₁₃H₁₆FN₃S₂. Розраховано, %: С 52,50; Н 5,42; N 14,13; S 21,56.

3-(4-Флуорофеніл)-4-метил-5-(пентилдисульфаніл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.132). Вихід 58%, жовта пластична олія, т. розкл. 144-145 °С. ¹Н ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.93-7.85 (m, 2H), 7.29-7.20 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 2.91 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.68-1.55 (m, 2H), 1.44-1.29 (m, 4H), 0.95-0.83 (m, 3H). Знайдено, %: С 53,89; Н 5,89; N 13,44; S 20,52. C₁₄H₁₈FN₃S₂. Розраховано, %: С 53,99; Н 5,83; N 13,49; S 20,59.

3-(4-Флуорофеніл)-5-(гексилдисульфаніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (2.133). Вихід 49%, жовта пластична олія, Т.розкл. 136-137 °С. ¹Н ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.92-7.83 (m, 2H), 7.33-7.24 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 3.00-2.83 (m, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.47-1.34 (m, 2H), 1.38-1.26 (m, 4H), 0.96-0.82 (m, 3H). Знайдено, %: С 55,32; Н 6,12; N 12,99; S 19,78. C₁₅H₂₀FN₃S₂. Розраховано, %: С 55,36; Н 6,19; N 12,91; S 19,70.

3-(Децилдисульфаніл)-5-(4-флуорофеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол (2.134). Вихід 45%, червона олія, Т.розкл. 118-120 °С. ¹Н ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.95-7.86 (m, 2H), 7.33-7.24 (m, 2H), 3.77 (s, 3H), 2.89 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.48-1.20 (m, 14H), 0.95-0.83 (m, 3H). Знайдено, %: С 59,88; Н 7,36; N 11,12; S 16,83. C₁₉H₂₈FN₃S₂. Розраховано, %: С 59,81; Н 7,40; N 11,01; S 16,80.

4-Метил-3-(пропілдисульфаніл)-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.135).

Вихід 41%, жовта пластична олія, Т.розкл. 136-138 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.53-7.44 (m, 2H), 7.32 (dd, J=2.6, 1.6 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.83 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.63 (qt, J=7.9, 6.9 Hz, 2H), 1.00 (t, J=8.0 Hz, 3H). Знайдено, %: С 44,21; Н 4,86; N 15,41; S 35,41. C₁₀H₁₃N₃S₃. Розраховано, %: С 44,25; Н 4,83; N 15,48; S 35,44.

3-(Ізопропілдисульфаніл)-4-метил-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.136).

Вихід 43%, жовта пластична олія, Т.розкл. 143-145 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.53-7.44 (m, 2H), 7.32 (dd, J=2.6, 1.7 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 3.49 (hept, J=6.8 Hz, 1H), 1.31 (d, J=6.8 Hz, 6H). Знайдено, %: С 44,29; Н 4,86; N 15,41; S 35,42. C₁₀H₁₃N₃S₃. Розраховано, %: С 44,25; Н 4,83; N 15,48; S 35,44.

3-(Бутилдисульфаніл)-4-метил-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.137).

Вихід 44%, жовта пластична олія, Т.розкл. 128-130 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.53-7.43 (m, 2H), 7.32 (dd, J=2.6, 1.7 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.95 (dt, J=12.7, 7.0 Hz, 1H), 2.87 (dt, J=12.7, 7.1 Hz, 1H), 1.64 (pd, J=7.0, 0.6 Hz, 2H), 1.5-1.39 (m, 2H), 0.94 (t, J=7.9 Hz, 3H). Знайдено, %: С 46,21; Н 5,34; N 14,78; S 33,65. C₁₁H₁₅N₃S₃. Розраховано, %: С 46,29; Н 5,30; N 14,72; S 33,70.

4-Метил-3-(пентилдисульфаніл)-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.138).

Вихід 38%, жовта пластична олія, Т.розкл. 127-129 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.53-7.43 (m, 2H), 7.34 (dd, J=2.5, 1.7 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.91 (t, J=7.0 Hz, 2H), 1.68-1.57 (m, 2H), 1.45-1.29 (m, 4H), 0.95-0.82 (m, 3H). Знайдено, %: С 48,18; Н 5,67; N 14,11; S 32,09. C₁₂H₁₇N₃S₃. Розраховано, %: С 48,13; Н 5,72; N 14,03; S 32,12.

3-(Гексилдисульфаніл)-4-метил-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.139).

Вихід 38%, червона пластична олія, Т.розкл. 125-126 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.48 (dd, J=2.1, 0.9 Hz, 2H), 7.34 (dd, J=2.5, 1.8 Hz, 1H), 3.69 (s, 3H), 2.91 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.47-1.36 (m, 2H), 1.39-1.26 (m, 4H), 0.95-0.82 (m, 3H). Знайдено, %: С 49,84; Н 6,08; N 13,45; S 30,62. C₁₃H₁₉N₃S₃. Розраховано, %: С 49,81; Н 6,11; N 13,40; S 30,68.

3-(Децилдисульфаніл)-4-метил-5-(тіофен-3-іл)-4*H*-1,2,4-триазол (2.140).
 Вихід 34%, червона пластична олія, Т.розкл. 116-117 °С. ¹H ЯМР-спектр, δ, м. ч. (J, Гц): 7.54-7.44 (m, 2H), 7.35 (dd, J=2.7, 1.6 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 2.90 (t, J=7.1 Hz, 2H), 1.62 (pd, J=7.0, 0.5 Hz, 2H), 1.48-1.29 (m, 4H), 1.34-1.20 (m, 10H), 0.95-0.83 (m, 3H). Знайдено, %: С 55,28; Н 7,32; N 11,34; S 26,12. C₁₇H₂₇N₃S₃. Розраховано, %: С 55,24; Н 7,36; N 11,37; S 26,02.

ВИСНОВКИ

1. Вперше за результатами комп'ютерного прогнозу цілеспрямовано було обрано напрям синтетичних випробувань та прорахувати синтетичні можливості отримання ряду нових похідних 1,2,4-триазолу.

2. Теоретично досліджено тіон-тіольну таутомерію та вплив розчинника, характеристики електронного розподілу і інші властивості 1,2,4-триазолів та їх тіоаналогів. Вперше здійснено реакції 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з галогеналканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідридами кислот.

3. Дослідження арилетанонів дало змогу вперше вивчити відновлення кетогрупи натрій боргідридом для цього класу сполук.

4. Вперше синтезовано ряд нових 2-((5-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетилацетатів та ряд нових 3-(R-дисульфаніл)-5-(4-R₁)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазолів.

5. Будова синтезованих сполук у всіх випадках підтверджена за допомогою комплексного фізико-хімічного аналізу, а їх індивідуальність хроматографічними методами.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [291-299, 314-320].

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ 2-[5-(АРИЛ)-4-(МЕТИЛ-, АМІНО)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО]АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ ТА ЇХ ПОХІДНИХ

3.1 Синтез кислот та солей 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтїо]ацетатних кислот

Серед багатьох гетероциклічних сполук похідні 1,2,4-триазолу займають гідне місце, створюючи науковцям різних галузей сприятливі умови для наукового пошуку. На сьогодні накопичилась інформація про похідні 1,2,4-триазолу як дуже перспективного класу органічних речовин [326]. Серед них знайдено сполуки, які володіють різними видами біологічної дії, властивостями фотополімерів, пластифікатори пластмас, антикорозійні засоби, регулятори росту рослин тощо.

Галузь застосування зазначених сполук розширюється через низку унікальних властивостей гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу. Насамперед, це низька токсичність і висока біологічна активність, а також досить різноманітна реакційна здатність системи 1,2,4-триазолу, що дозволяє модифікувати ядро гетероциклу, «додаючи» різні функціональні замісники. Багато лікарських препаратів мають як активний фармацевтичний інгредієнт речовини - похідні 1,2,4-триазолу. Серед ветеринарних фахівців набуває популярності новий оригінальний ветеринарний препарат «Трифузол-Нео», який застосовується як з профілактичною метою, так і як засіб для лікуванні різних патологічних станів тварин. Заслуговує на увагу оригінальний препарат «Триазолам», АФІ якого належить до похідних 8-хлоро-6-(2-хлорофеніл)-1-метил-4*H*-[1,2,4]триазол[4,3-*a*][1,4]бензодіазепіну [327]. «Триазолам» володіє вираженою снодійною дією. Окремо слід зазначити досягнення науковців Запорізького державного університету щодо впровадження в практику нових регуляторів росту рослин [328].

Вітчизняний продукт під торговою маркою «Фортіс Комбі» застосовується як дуже ефективно добриво для різних груп рослин. Польові випробування довели його ефективність за різних схем застосування та підвищення врожайності від 15% до 25%.

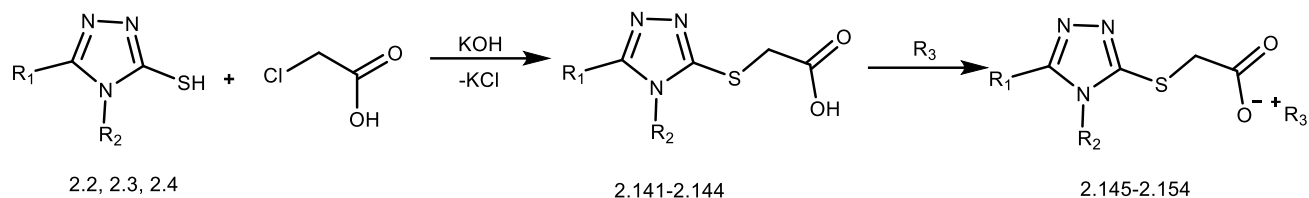
Відомим фактом на сьогодні є те, що більшість 1,2,4-триазолвмісних карбонових кислот проявляють високу біологічну активність [283]. Літературні джерела доводять, що введення карбоксильної групи до структури 1,2,4-триазолу значно підвищує біологічну активність сполук [290]. Окремо слід зазначити, що 1,2,4-триазол-3-тіокарбонові кислоти проявляють високу противірусну, антиоксидантну, імуностимулюючу, протизапальну активність [283]. На сьогодні існує багато різноманітних методик синтезу 1,2,4-триазолвмісних карбонових кислот.

Однак, незважаючи на це, синтез нових 1,2,4-триазол-3-тіокарбонових кислот з прогнозованими видами біологічної активності залишається актуальним, має теоретичну і практичну значимість. Розширюючи арсенал потенційних фармакологічно активних речовин синтезовані нові 2-((2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-іл)тіоацетатні кислоти (**3.1-3.4**) (дод. А, табл. А.14) [329].

Реакцію проводили за схемою рис. 3.1, використовуючи як вихідні тіоли сполуки **2.1-2.4** (дод. А, табл. А.1). Будова синтезованих сполук підтверджена спектрально (дод. А, табл. А.15, А.20), а їх індивідуальність хроматографічно (дод. А, табл. А.16).

В ІЧ-спектрах синтезованих кислот (**3.1-3.4**, дод. А, табл. А.20) виявлено чіткі смуги коливань NH_2 -групи в межах $3450\text{-}3350\text{ см}^{-1}$, груп CN у межах $1620\text{-}1598\text{ см}^{-1}$.

Є чіткі смуги коливання ароматичного кільця близько $3021\text{-}2999\text{ см}^{-1}$ Смуги коливань в межах $1758\text{-}1769\text{ см}^{-1}$ свідчать про наявність карбоксильних груп. Крім того виявлено чіткі смуги коливання метильних радикалів (**3.2, 3.4**).



R_1 =2-фторфеніл, 3-фторфеніл, 4-фторфеніл; R_2 =CH₃, NH₂; R_3 =Me, NH₄, H₃NC₂H₅, H₂N(CH₃)₂, H₂N(CH₂)₂CH₃; H₂N(CH₂)₂OH, морфоліній, піперидиній

Рис. 3.1. Синтез кислот (3.1-3.4) та солей 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілітіо]ацетатних кислот (3.5-3.14)

У спектрах ¹H ЯМР сполук класу 2-[5-(Арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілітіо]етанових кислот (дод. А, табл. А.15) наявні сигнали фенільного циклу, які спостерігаються в характерній для ароматичних сполук в ділянці у вигляді мультиплетів або дублетів при 6,94-7.10 м.ч та 7,25-7,85 м.ч, також в даній ділянці присутні сигнали аміно-групи 1,2,4-триазольного кільця. Синглетний сигнал тіометиленових спейсерів реєструється у слабкому полі при 4.00 м.ч. Метил при N¹-атомі 1,2,4-триазольного гетероциклу реєструється у вигляді синглету (рис. 3.2).

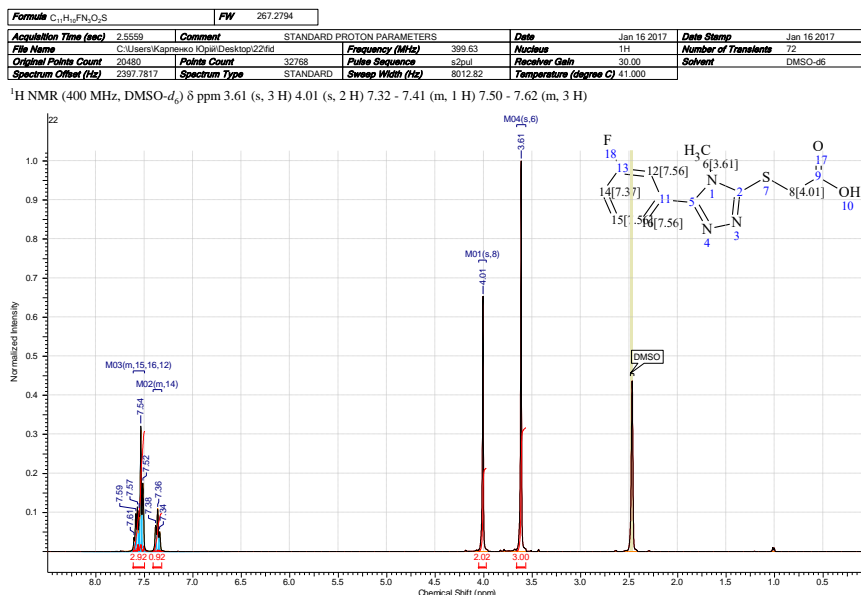


Рис. 3.2 ЯМР-спектр сполуки 2-((5-(3-флуорофеніл)-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-ілітіо)етанової кислоти (3.2)

Фармакокінетичні і фармакодинамічні показники лікарських препаратів залежать від екзогенних й ендогенних факторів. До екзогенних чинників можна віднести хімічну будову молекули АФІ та фізико-хімічні властивості препаратів, а також лікарську форму та шляхи її введення, дози ліків, режим харчування і склад їжі, фактори зовнішнього середовища, зокрема метеорологічні, вплив часу доби тощо [330]. Ендогенними факторами, що можуть вплинути на дію ліків, можна вважати стать, менструальний цикл, вагітність, наявність тих чи інших патологічних станів. Хімічна будова, а також фізико-хімічні властивості лікарських препаратів впливають на біологічну дію. Лікарська форма і шляхи введення препаратів є факторами, які можуть вплинути на біодоступність ліків у цілому. Біодоступність — це комплекс процесів фармакокінетичного характеру, завдяки яким у ділянці відповідних рецепторів створюється ефективна концентрація будь-якого лікарського засобу. Щоб досягти такої концентрації крім дози лікарської форми і шляхів введення ліків, важливе значення має інтенсивність і повнота всмоктування лікарського засобу, розподілення в організмі, метаболізм і екскреція його. Важливим фактором підвищення біодоступності є розчинність субстанції активного фармацевтичного інгредієнта [321].

1,2,4-Триазолвмісні карбонові кислоти в більшості практично нерозчинні у воді, тому для отримання водорозчинних речовин синтезовані солі 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот (**3.5-3.14**, рис. 3.1) з органічними та неорганічними основами [329]. Особливістю дії водорозчинних сполук йонної будови є те, що їх фармакологічна активність складається з дії неорганічного або органічного катіону та органічного аніону, а це, в свою чергу, збільшує біологічну доступність. Відомо, що солі 1,2,4-триазол-3-тіоацетатних кислот виявляють незначну токсичність та різні види біологічної дії [283]. Реакцію солеутворення на основі 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот проводили у водному середовищі або у присутності

метанолу, етанолу, пропанолу або ізопропанолу. Після додавання еквівалентної кількості неорганічної (натрій гідроксид, калій гідроксид, водний розчин амоніаку, магній оксид) або органічної (водний розчин етиламіну, диетиламіну, пропиламіну, аміноетанолу, морфоліну, піперидину) основ до відповідної кислоти в середовищі спирту або води, суміш підігрівають на водяній бані до розчинення осаду. Розчин фільтрують, фільтрат залишають на 24 год, випадає осад, розчин фільтрують, або після фільтрації випаровують, отримуючи при цьому відповідні сполуки (3.5-3.14, рис. 3.1). Синтезовані речовини являють собою білі кристалічні сполуки, розчинні у воді і органічних розчинниках. Для аналізу сполуки були очищені із різних розчинників: метанол, етанол, пропанол, і-пропанол та водно-спиртова суміш. Будова синтезованих сполук була підтверджена сучасними комплексними фізико-хімічними методами (елементний аналіз, ІЧ-спектроскопія, ПМР-, мас-спектрометрія), а їх індивідуальність хроматографічно (дод. А, табл. А.16). Результати дослідження ПМР-спектрів синтезованих солей наведені в табл. А.15 (дод. А).

Фрагмент морфоліну часто можна зустріти в структурі біологічно активних молекул, наприклад, дев'ятнадцять лікарських препаратів, що схвалені FDA, містять цей залишок. Висока популярність морфолінового фрагмента обумовлена кількома факторами. По-перше, атом Оксигену в ядрі морфоліну може брати участь у взаємодіях донорноакцепторного типу з відповідним рецептором, збільшуючи тим самим спорідненість сполуки до зв'язування. По-друге, електронегативний ефект атома Оксигену зменшує основність атома Нітрогену в порівнянні з Нітрогеном, наприклад, піперидину, що часто сприятливо впливає на фармакологічні властивості біологічно активної сполуки. І, нарешті, приєднання фрагмента морфоліну до ліпофільних каркасів часто призводить до поліпшення розчинності у воді, що є важливим фактором для пероральних фармацевтичних препаратів. Тому не дивно, що в сучасному дизайні лікарських препаратів заміщені похідні морфоліну користуються великим попитом і знаходять широке

використання. Отже, розробка синтетичних підходів, спрямованих на практичний і швидкий доступ до нових аналогів низькомолекулярних морфолінів, безперечно, має практичне значення.

Отриманий ЯМР-спектр сполуки морфолін-4-іум 2-((4-аміно-5-(3-флуорофеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетат (**3.13**) свідчить про іонізований тип зв'язку з кислотою. Даний синглет реєструється у вигляді складного пінтету при 9.72 м.ч. Сигнали алкільних ланцюжків резонують у слабкому полі при 3.78-3.84 м.ч. у вигляді дублетів.

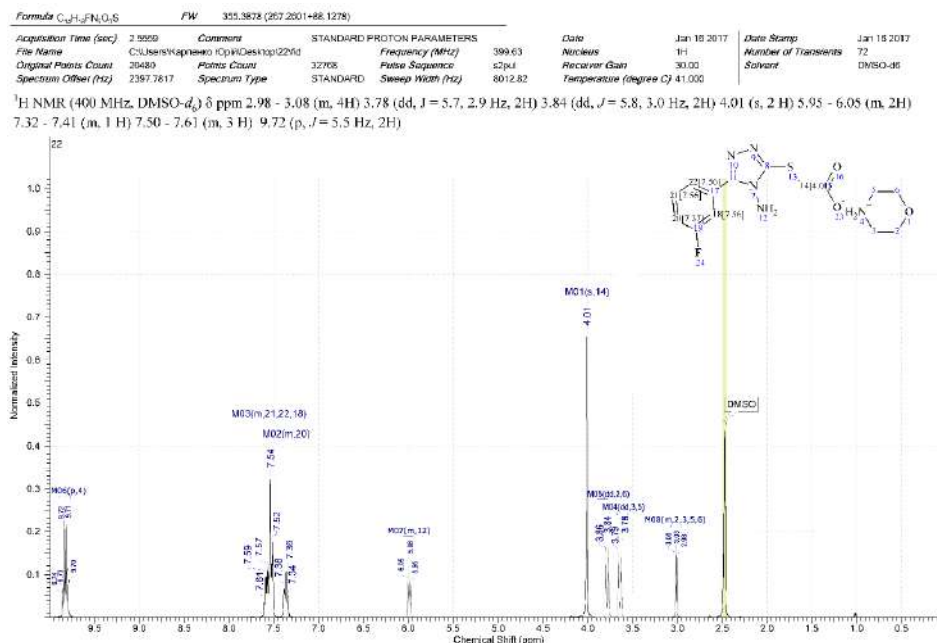


Рис. 3.3. ЯМР-спектр сполуки морфолін-4-іум 2-((4-аміно-5-(3-флуорофеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату (**3.13**)

3.2 Синтез естерів 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти

Не викликає жодних сумнівів актуальність питання своєчасного впровадження нових біологічно активних сполук у практичну діяльність. Сучасна

українська фармацевтична та хімічна промисловість може лише частково задовільнити потребу ринку в якісних лікарських субстанціях. Повністю перейти на імпорتنі субстанції є недоцільним, а в перспективі це може бути економічно не вигідним процесом.

Тому розробка нових оригінальних вітчизняних молекул шляхом хімічного моделювання з подальшим дослідженням властивостей синтезованих речовин є пріоритетним завданням нашої держави. Раніше науковцями повідомлялось, що поєднання в одній молекулі різних структурних фрагментів разом з 1,2,4-триазолом призводить до утворення сполук з високими показниками фармакологічної активності [330, 331].

Синтетичні біологічно активні сполуки є АФІ різних лікарських препаратів, які широко використовуються як у гуманній, так і у ветеринарній медицині. Особливої уваги заслуговують S-похідні 1,2,4-триазолу [313]. Існує багато думок щодо доцільності використання синтетичних лікарських засобів у практиці, однак, незважаючи на це, саме останні залишаються першорядними при боротьбі з різними патологічними станами.

Автором роботи [332] науково доведено протигрибкову ефективність нової сполуки ряду похідних 1,2,4-триазолу – 4-((5-децилтіо)-4-метил-4H-1,2,4-триазол-3-іл)метил)морфоліну у вигляді лініменту щодо *A. niger*, *C. albicans*, *Microsporum*, *Trichophyton*. Крім цього, ця субстанція володіє протимікробними (*St. aureus*), ранозагоювальними та протисвербіжними властивостями.

Користується популярністю оригінальний метод введення до складу молекул типових фармакофорних замісників [308]. Авторами виявлено та встановлено ряд закономірностей «будова-біологічна дія» в зазначеному ряді сполук. Крім того, естери знаходять своє застосування як розчинники у харчовій промисловості, косметиці, медицині, як пластифікатори та інгібітори корозії металів, як біологічно активні сполуки тощо.

Таким чином, на нашу думку, синтез нових естерів 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти може бути перспективним не лише як об'єктів для пошуку біологічно активних молекул, але і як проміжних продуктів для подальших хімічних перетворень.

Розширюючи «бібліотеку» потенційних біологічно активних молекул, а також створюючи сприятливі умови для подальшого синтезу нових сполук, ми синтезували нові естери 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти (**3.15-3.21**) (дод. А, табл. А.17). Естери 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти одержано трьома методами. Сполуки, які одержано за трьома методами, не дають депресії температури плавлення, що в комплексі з іншими фізико-хімічними методами аналізу однозначно доводить будову синтезованих речовин.

Перший метод передбачає естерифікацію вказаних вище кислот метиловим, етиловим, н-пропиловим, н-бутиловим та і-пропиловим і і-бутиловим спиртами при наявності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти (рис. 3.4).

Другий метод передбачає взаємодію 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.2**) з н-пропіловим естером монохлорацетатної кислоти або н-бутиловим естером монохлорацетатної кислоти у присутності еквімолекулярної кількості натрій гідроксиду в середовищі і-пропанолу (рис. 3.4).

Третій метод полягає у використанні дициклогексакарбодіїміду (DCC) для проведення естерифікації Steglich [333]. Це м'яка реакція, яка дозволяє перетворювати стерично вимогливі та нестійкі до кислот субстрати. Цей метод дуже зручний для утворення трет-бутилових естерів, оскільки t-BuOH має тенденцію до утворення карбокатионів та ізобутену після подальшої елімінації за умов, які застосовуються при естерифікації Фішера.

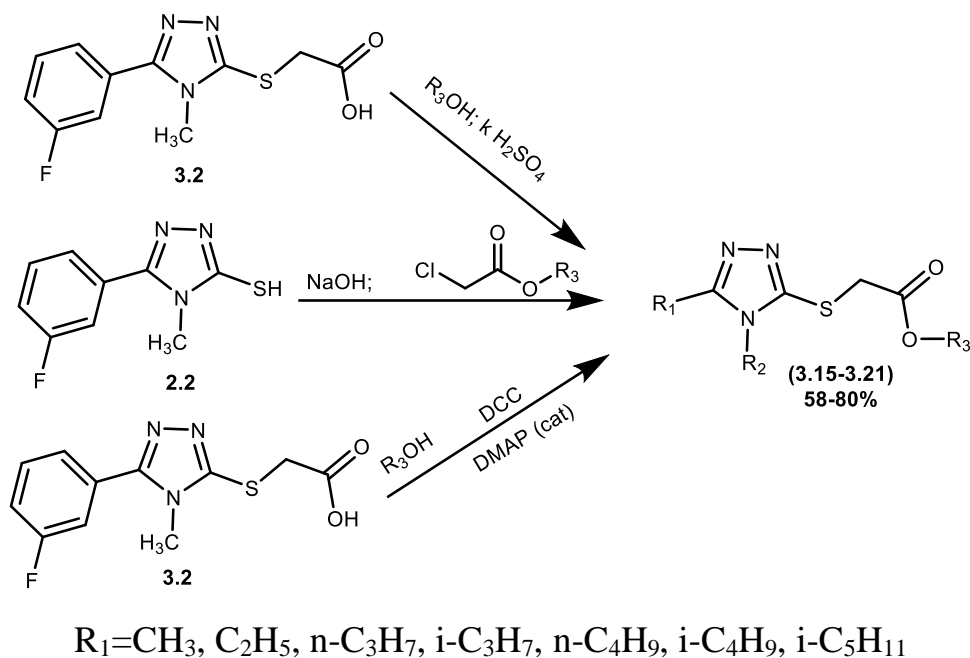


Рис. 3.4. Синтез естерів 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти (3.15-3.21)

Після закінчення реакції за першим методом надлишок спирту випаровують на водяному нагрівачі, залишок обробляють водним розчином натрій гідрогенкарбонату, випадає осад, його відфільтровують, промивають водою і висушують. Після проходження реакції за другим методом розчин фільтрують, фільтрат випаровують. За третім методом після додавання всіх необхідних компонентів розчин підігривають на водяній бані протягом 1 год, додають каталізатор (DMAP), інтенсивно перемішують, додають воду, випадає осад, який відфільтровують.

Одержані за першим, другим та третім методами сполуки являють собою білі (3.14-3.21, дод. А, табл. А.17) кристалічні речовини, важко розчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Для аналізу сполуки очищені з водно-спиртової суміші: метанол:вода – 1:1

Будова синтезованих сполук підтверджена комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ІЧ-спектроскопія,

ПМР-, мас-спектрометрія). Індивідуальність синтезованих естерів підтверджена за допомогою тонкошарової хроматографії (дод. А, табл. А.18).

Для ІЧ-спектрів естерів 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти (**3.15-3.21**, рис. 3.5) характерні чіткі смуги коливання насичених аліфатичних естерів ($-\text{CH}_2\text{-COOR}$) при ($1736\text{-}1749\text{ см}^{-1}$) (дод. А, табл. А.21).

Розрахункові значення сигналів протонів функціональних груп при дослідженні ПМР-спектрів синтезованих речовин наведені в табл. А.19 (дод. А).

^1H ПМР-спектр пропіл 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетату (**3.17**, дод. А, табл. А.19) характеризується сигналами триплету трьох протонів (0,94 ppm) та синглетом трьох протонів (2,00 ppm) метильної групи, двопротонним мультиплетом при 1,77 ppm та чотирипротонним триплетом при 4,16 ppm метиленової групи, а також однопротонним триплетом при 6,11 ppm. Крім цього, спостерігаються двопротонний мультиплет (7,33 ppm) та однопротонний дублет (7,52 ppm) залишків ароматичної групи (рис. 3.5).

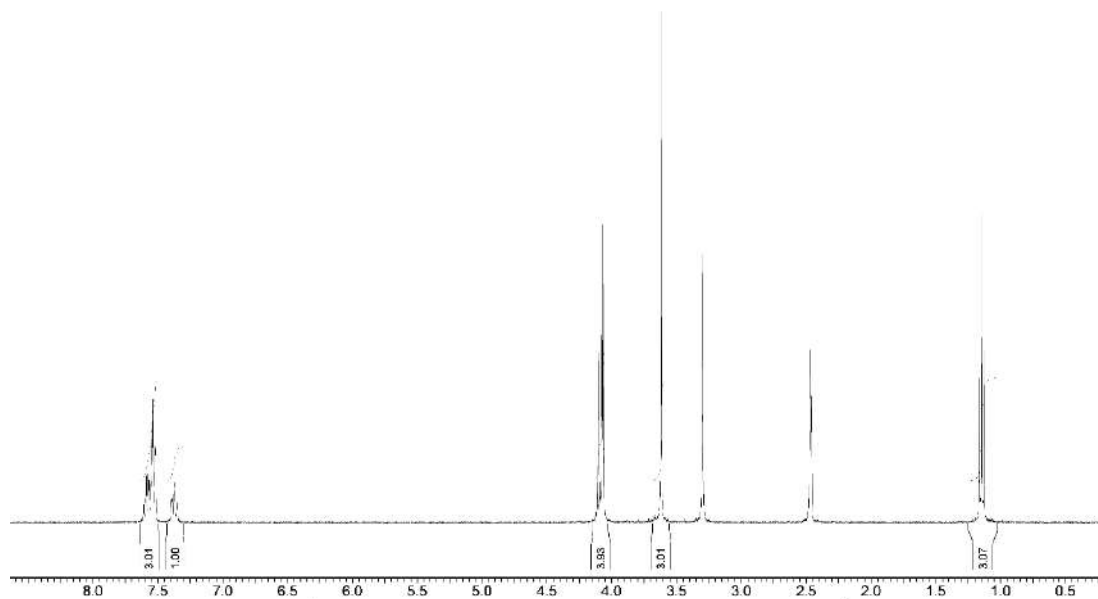


Рис. 3.5. ^1H ПМР-спектр етил 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетату (**3.16**)

3.3 Синтез амідів та гідрозидів 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтїо]ацетатних кислот

Разом зі складними естерами, важливим класом похідних карбонових кислот є амідні, вони також дуже широко поширені в природі. Наприклад, пептиди і білки в своїй структурі містять багаточисельні амідні угруповання. Залежно від ступеня заміщення біля атому Нітрогену амідні можуть бути монозаміщені і дизаміщені. Амідна група являє собою p, π -супряжену систему, в якій неподілена пара електронів атому Нітрогену пов'язана з π -електронами зв'язку $C=O$. Внаслідок сильного $+M$ -ефекту аміногрупи частковий позитивний заряд на карбонільному атомі Карбону амідів менше, ніж у інших функціональних похідних кислот. Тому амідні гідролізуються набагато важче, ніж інші похідні кислот і важче вступають у реакції нуклеофільного заміщення [334].

Амідні незаміщених аліфатичних карбонових кислот знайшли широке застосування як проміжні продукти різних органічних синтезів, стабілізатори, пластифікатори, поверхнево-активні речовини та флюїди для пайки. Замищені амідні типу диметилформаміду і диметилацетаміду мають властивості розчинників.

Деякі ненасичені аліфатичні амідні, типу акриламіду, є реактивними мономерами, використовуються в синтезі полімерів. Акриламід також використовується для синтезу барвників, клеїв, для грунтовки паперу і тканини, обробки стічних вод і відходів [335].

Він використовується в металургії для обробки руди і в будівництві для спорудження тунелів і фундаментів дамб.

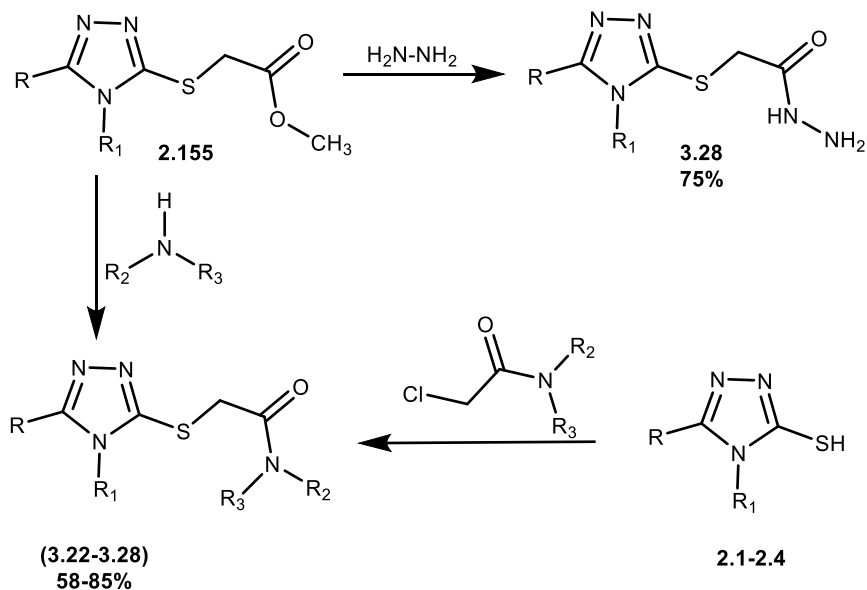
Поліакриламідні знаходять широке застосування у водоочисних спорудах і як зміцнювальні засоби в целюлозно-паперовій промисловості.

Ароматичні сполуки амідів є важливими проміжними продуктами при виробництві барвників і субстанцій ліків. Деякі з них мають властивості

відлякувати комах, інші знаходять своє застосування в техніці (синтетичні поліаміди - капрон, нейлон тощо) [336].

Аналіз літературних джерел доводить, що гідразиди карбонових кислот та їх похідні володіють високою біологічною активністю, використовуються для лікування туберкульозу, вірусних інфекцій тощо [283]. Тому доцільно було синтезувати амідів і гідразиди деяких кислот (рис. 3.6).

Для синтезу гідразиду 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтю]ацетатної кислот (**3.29**, рис. 3.6) використовували його метиловий естер (**3.15**, дод. А, табл. А.17), який було синтезовано раніше.



R=2-фторфеніл, 3-фторфеніл, 4-фторфеніл, R₁=CH₃, NH₂, R₂=R₃=H, Alk

Рис. 3.6. Синтез амідів 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтю]ацетатних кислот (**3.22-3.28**) та гідразиду 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтю]ацетатної кислоти (**3.29**)

Гідразид 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтю]ацетатної кислоти (**3.29**, рис. 3.6) синтезовано взаємодією етилового естеру 2-[5-(3-фторфеніл)-4-

метил-1,2,4-триазол-3-ілітіо]ацетатної кислоти (**3.15**) з гідразин гідратом у середовищі етанолу. Умови проходження цієї реакції аналогічні умовам, описаним авторами у праці [283]. Гідразид **3.29** являє собою кристалічну сполуку білого кольору, важко розчинну у воді і розчинну в органічних розчинниках. Для аналізу сполука очищена з етанолу.

Аміди 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілітіо]ацетатних кислот (**3.22-3.28**, рис. 3.6) одержано двома методами. Перший метод передбачає взаємодію відповідного 5-(арил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1-2.4**) з α -хлор-ацетамідом у середовищі етанолу при наявності еквімолекулярної кількості луку (рис. 3.6). Отримані сполуки **3.22-3.25**.

Другий метод передбачає взаємодію метилового естеру 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілітіо]ацетатної кислоти (**3.15**) з еквівалентною кількістю аміну (водний розчин амоніаку, етиламіну, пропиламіну, диетиламіну) в середовищі етанолу (рис. 3.6). Одержані за першим і другим методом сполуки (**3.23, 3.26-3.28**) являють собою білі кристалічні речовини, важко розчинні у воді і спиртах. Для аналізу сполуки очищені із етанолу.

Одержані за першим і другим методом аміди не дають депресії температури плавлення, що в комплексі з іншими фізико-хімічними методами аналізу доводить будову отриманих молекул (дод. А, табл. А.22).

В ІЧ-спектрах сполук **3.22-3.28** наявні смуги «Амід І» в межах 1690-1680 см^{-1} , що характеризують С=О-групи, подвійні смуги «Амід ІІ» в межах 1650-1590 см^{-1} , що характеризують коливання NH- і CN-груп, а також ароматичного атому флуору – 1100-1078 см^{-1} (дод. А табл. А.22).

Для гідразиду **3.29** виявлені коливання властиві для вільної NH₂-групи у межах 3495-3512 см^{-1} (дод. А, табл. А.22).

Аналізуючи результати сигналів протонів функціональних груп ПМР-спектрів амідів і гідразидів (**3.22-3.29**) слід зазначити, що дані сполуки не мають сигналу протону SH-групи, натомість для них характерні двопротонні синглети

метиленових груп, пов'язаних з атомом Сульфуру (4,14 ppm) (3,47), (4,18 ppm) (3,48), також двопротонні синглети амідних (7,16 ppm) (3,47) і однопротонні синглети гідразидних (8,02 ppm) (3,56) радикалів. Крім вище вказаних методів аналізу, будова амідів підтверджена зустрічним синтезом (рис. 3.6).

Також слід відмітити, що реакція відповідних тіонів (**2.1-2.4**) з еквівалентними кількостями α -хлорацетаміду супроводжується більш високими (на 10-15%) виходами цільових продуктів.

3.4 Опис експериментів

2-((5-(Арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтію))ацетати (**3.1-3.4**, дод. А, табл. А.14). До розчину 0,01 моль натрій гідроксиду в 30 мл води додають 0,01 моль відповідного тіолу 5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1-2.4**) і в кожному випадку додають 0,01 моль монохлорацетатної кислоти в 20 мл води. Кип'ятять 2 год, охолоджують. Осад сполук (**3.1-3.4**) відфільтровують, промивають водою і висушують. Отримують при цьому білі кристалічні речовини, практично не розчинні у воді, розчинні в розчинах лугів і карбонатів лужних металів, а також в ДМФА, ДМСО та розчинах мінеральних кислот. Для аналізу сполука перекристалізована із ізопропанолу.

Солі 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатних кислот з органічними основами (**3.9-3.14**, дод. А, табл. А.14). Суміш 0,01 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (**3.3**), 30 мл етанолу та 0,01 моль відповідної органічної основи (морфолін, піперидин, водний розчин етиламіну, пропиламіну, етаноламіну) нагрівають на водяній бані до розчинення осаду, розчин фільтрують, фільтрат залишають на 24 год, випадає осад. Осад відфільтровують, отримують білі кристалічні сполуки, розчинні у воді, мало розчинні в ефірі, хлороформі. Для аналізу сполуки перекристалізовані з метанолу.

Амоній 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетат (3.8, дод. А, табл. А.14). Розчин 0,01 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.3) в 30 мл 25% розчину амоніаку випаровують. Отримують сполуку у вигляді білого кристалічного порошку, легкорозчинного у воді, важкорозчинного у етанолі. Для аналізу сполуку перекристалізовано із метанолу.

Натрій і калій 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетати (3.5, 3.6, дод. А, табл. А.14). Суміш 0,01 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.3) і 0,01 моль калій або натрій гідроксиду в 30 мл води випаровують на водяній бані. Сухий залишок кристалізують із метанолу. Отримують білі кристалічні речовини, легко розчинні у воді, важко розчинні в пропан-2-олі, гексані.

Магній 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетат (3.7, дод. А, табл. А.14). Суміш 0,02 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.3) і 0,01 моль магній карбонату в 40 мл води кип'ятять до повного розчинення осаду, фільтрують, розчинник випаровують. Отримують білі кристали, важкорозчинні у воді і пропан-2-олі. Для аналізу сполука перекристалізована із суміші метанол:вода – 1:1.

Естери 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.15-3.21, дод. А, табл. А.17).

А. Суміш 0,01 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.2), 30 мл відповідного спирту (метанол, етанол, н-пропанол, і-пропанол, н-бутанол, і-бутанол, і-пентанол) і 1 мл концентрованої сульфатної кислоти кип'ятять протягом 10 год, розчинник випаровують, залишок нейтралізують розчином натрій гідрокарбонату, фільтрують. Отримують білі (3.15-3.21) кристалічні речовини, важко розчинні у воді, розчинні в органічних

розчинниках. Для аналізу сполуки очищені з водно спиртової суміші: метанол:вода – 1:1.

В. Суміш 0,01 моль 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.2**), 0,01 моль натрій гідроксиду у 3 мл води та 30 мл і-пропанолу розчиняють при нагріванні на водяній бані. До розчину додають 0,01 моль метилового або етилового або н-пропілового або і-пропілового або н-бутилового або і-бутилового або і-амілового естеру монохлорацетатної кислоти. Суміш кип'яють до нейтрального середовища, розчин фільтрують, фільтрат випаровують. Отримують сполуки (**3.15-3.21**).

С. Суміш 0,01 моль 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти (**3.2**), 30 мл відповідного спирту (метанол, етанол, н-пропанол, і-пропанол, н-бутанол, і-бутанол, і-пентанол) і 0,01 моль дициклогексакарбодііміду (DCC) підігривають на водяній бані протягом 1 години, до розчину додають каталізатор (DMAP), інтенсивно перемішують, додають воду, випадає осад, який відфільтровують. Отримують білі кристалічні сполуки (**3.15-3.21**). Одержані за методом *А*, *В* і *С* естери не дають депресії температури плавлення.

Аміди 2-[5-(арил)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатних кислот (**3.22-3.28**).

А. Суміш 0,01 моль метилового естеру 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти (**3.15**), 0,01 моль водного розчину амоніаку або етиламіну або пропиламіну або диетиламіну в 20 мл етанолу кип'яють на водяній бані 1,5 години, розчинник випаровують. Отримують білі (**3.23, 3.26, 3.27, 3.28**) кристалічні речовини, важко розчинні у воді і спиртах. Для аналізу сполуки очищені із етанолу

В. До розчину 0,01 моль натрій гідроксиду в 30 мл етанолу додають 0,01 моль відповідного 5-(арил)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1-2.4**) та 0,01 моль

α -хлорацетаміду. Суміш кип'ять до нейтрального середовища, розчин фільтрують, фільтрат випаровують. Отримують сполуки (3.22-3.25). Сполуки, отримані за методом *A* та *B* не дають депресії температури плавлення.

Вихід 2-((4-аміно-5-(2-фторфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (3.22) складає 75%, Т.пл. 215-217°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1604 (C=N цикл.), 1690 (Амід I), 1650 (Амід II), 1100 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): 4,09 (s, 2H, CH₂), 7,22 (m, 2H CONH₂), 6,07-6,14 (m, 2H NH₂), 7,28 (t, 1H Ar-H), 7,49 (m, 6H Ar-H), 7,72 (m, 2H Ar-H). Мас-спектр, m/z (I_{отн.}, %) 267 [M]⁺ (100). Знайдено, %: C 44,55; H 3,75; N 26,25, S 11,78. C₁₀H₁₀FN₅OS. Розраховано, %: C 44,94; H 3,77; N 26,20, S 11,99.

Вихід 2-((4-метил-5-(3-фторфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (3.23) складає 70%, Т.пл. 202-205°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1607 (C=N цикл.), 1685 (Амід I), 1647 (Амід II), 1095 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): 4,07 (s, 2H, CH₂), 7,18 (m, 2H CONH₂), 3,35 (m, 3H CH₃), 7,28 (t, 1H Ar-H), 7,49 (m, 6H Ar-H), 7,72 (m, 2H Ar-H). Мас-спектр, m/z (I_{отн.}, %) 266 [M]⁺ (100). Знайдено, %: C 49,45; H 4,11; N 21,15, S 12,08. C₁₁H₁₁FN₄OS. Розраховано, %: C 49,61; H 4,16; N 21,04, S 12,04.

Вихід 2-((4-аміно-5-(3-фторфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (3.24) складає 77%, Т.пл. 198-200°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1607 (C=N цикл.), 1685 (Амід I), 1647 (Амід II), 1095 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): 4,07 (s, 2H, CH₂), 7,25 (m, 2H CONH₂), 6,08-6,12 (m, 2H NH₂), 7,28 (t, 1H Ar-H), 7,49 (m, 6H Ar-H), 7,72 (m, 2H Ar-H). Мас-спектр, m/z (I_{отн.}, %) 267 [M]⁺ (100). Знайдено, %: C 44,64; H 3,79; N 26,18, S 11,69. C₁₀H₁₀FN₅OS. Розраховано, %: C 44,94; H 3,77; N 26,20, S 11,99.

Вихід 2-((4-метил-5-(4-фторфеніл)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (3.25) складає 70%, Т.пл.221-223°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1607 (C=N цикл.), 1685 (Амід I), 1647 (Амід II), 1095 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): 4,07 (s, 2H, CH₂), 7,18 (m, 2H CONH₂), 3,35 (m, 3H CH₃), 7,28 (t, 1H Ar-H), 7,49 (m,

6H Ar-H), 7,72 (m, 2H Ar-H). Мас-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %) 266 $[M]^+$ (100). Знайдено, %: C 49,53; H 4,09; N 21,11, S 12,12. $C_{11}H_{11}FN_4OS$. Розраховано, %: C 49,61; H 4,16; N 21,04, S 12,04.

Вихід N-етил-2-((5-(3-фторфеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (**3.26**) складає 80%, Т.пл. 184-186°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1605 (C=N цикл.), 1682 (Амід I), 1654 (Амід II), 1110 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): δ 7.79 (ddd, J=8.2, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 7.72 (t, J=2.2 Hz, 1H), 7.67 (t, J=6.3 Hz, 1H), 7.52 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.21 (ddd, J=7.8, 2.3, 1.2 Hz, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.71 (s, 2H), 3.11 (p, J=6.1 Hz, 2H), 1.07 (t, J=6.0 Hz, 3H). Мас-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %) 294 $[M]^+$ (100). Знайдено, %: C 52,85; H 5,08; N 18,95, S 10,84. $C_{13}H_{15}FN_4OS$. Розраховано, %: C 53,05; H 5,14; N 19,03, S 10,89.

Вихід 2-((5-(3-фторфеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-N-пропил-ацетаміду (**3.27**) складає 85%, Т.пл. 174-176°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1605 (C=N цикл.), 1682 (Амід I), 1654 (Амід II), 1110 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): δ 7.80 (ddd, J=8.0, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J=2.2 Hz, 1H), 7.66 (t, J=6.2 Hz, 1H), 7.52 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.25 (ddd, J=7.8, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 3.85 (s, 1H), 3.68 (s, 2H), 3.09 (td, J=9.1, 6.3 Hz, 2H), 1.47 (tq, J=9.1, 5.1 Hz, 2H), 0.83 (t, J=5.0 Hz, 3H). Мас-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %) 308 $[M]^+$ (100). Знайдено, %: C 54,26; H 5,51; N 18,12, S 10,33. $C_{14}H_{17}FN_4OS$. Розраховано, %: C 54,53; H 5,56; N 18,17, S 10,40.

Вихід N,N-діетил-2-((5-(3-фторфеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетаміду (**3.28**) складає 76%, Т.пл. 195-197°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1605 (C=N цикл.), 1682 (Амід I), 1654 (Амід II), 1110 (F), відсутні смуги (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): δ 7.80 (ddd, J=8.0, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 7.71 (t, J=2.2 Hz, 1H), 7.52 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.20 (ddd, J=7.8, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 4.10 (s, 1H), 3.68 (s, 2H), 3.41 (q, J=4.8 Hz, 4H), 1.18 (t, J=4.8 Hz, 6H). Мас-спектр, m/z ($I_{\text{отн}}$, %) 322 $[M]^+$ (100). Знайдено, %: C 55,66; H 5,87; N 17,32, S 9,91. $C_{15}H_{19}FN_4OS$. Розраховано, %: C 55,88; H 5,94; N 17,38, S 9,94.

Гідрозид 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти (3.29). 0,01 Моль відповідного естеру (3.15) розчиняють у 20 мл етанолу, додають 5 мл гідрозин гідрату і кип'ячать на водяній бані 2 год. Розчин випаровують. Отримують білу кристалічну речовину, важко розчинну у воді і розчинні ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксані. Для аналізу сполуку очищено з етанолу.

Вихід 2-((5-(3-фторфеніл)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тію)ацето-гідрозиду (3.29) складає 75%, Т.пл. 122-124°C. ІЧ-спектр, ν , cm^{-1} : 1605 (C=N цикл.), 1682 (Амід I), 1654 (Амід II), 1110 (F), 3250 (NHNH₂). ЯМР ¹H-спектр, δ , м.ч. (J, Гц): δ 9.02 (t, J=4.8 Hz, 1H), 7.78 (ddd, J=8.0, 2.2, 1.2 Hz, 1H), 7.72 (t, J=2.1 Hz, 1H), 7.52 (t, J=8.0 Hz, 1H), 7.24 (ddd, J=7.8, 2.3, 1.2 Hz, 1H), 4.09 (d, J=4.7 Hz, 2H), 3.88 (s, 1H), 3.71 (s, 2H). Мас-спектр, m/z (I_{отн}, %) 281 [M]⁺ (100). Знайдено, %: C 46,85; H 4,25; N 24,82, S 11,33. C₁₁H₁₂FN₅OS. Розраховано, %: C 46,97; H 4,30; N 24,90, S 11,40.

ВИСНОВКИ

1. Вперше за допомогою комп'ютерної програми здійснено прогнозування біологічної активності сполук дослідженого ряду. Вперше синтезовано ряд нових 2-[5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатних кислот та їх солей з органічними та неорганічними основами, етерифікацією 2-[5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-ілтію]ацетатної кислоти аліфатичними спиртами за присутності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти та за наявності дициклогексакарбодіміду (DCC) здійснено синтез відповідних естерів. Також естери синтезовано взаємодією відповідних 5-(арил)-4*R*-1,2,4-триазол-3-ілтіолів з естерами монохлорацетатної кислоти.

2. Вперше досліджено взаємодію з амінами і гідрозин гідратом, що дало змогу синтезувати ряд амідів і гідрозидів 2 методами.

3. Будова синтезованих сполук підтверджена за допомогою елементного аналізу, ІЧ-спектроскопії, ПМР-, мас-спектрометрії, зустрічним синтезом, а їх індивідуальність хроматографічними методами.

За матеріалами розділу опубліковано наукові праці [329, 330, 331].

РОЗДІЛ 4
ПЕРЕТВОРЕННЯ В РЯДІ ПОХІДНИХ
5-(АРИЛ)-4-АМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ

Потреба у високоефективних та малотоксичних ліках постійно зростає в сучасному світі. Тому створення нових оригінальних молекул, які можуть за нетривалий час перетворитись на ефективні біологічно активні сполуки, а потім у сучасні ефективні ліки, є актуальною проблемою вітчизняної фармацевтичної та медичної галузей.

Аналізуючи наукові досягнення, слід відмітити особливу роль нітрогенвмісних гетероциклічних систем, які дуже широко представлені у сучасній органічній хімії [285, 286]. Особливої уваги заслуговують сполуки, що містять гетероциклічну систему 1,2,4-триазолу у своєму складі [287], оскільки це дуже велика група речовин, яка протягом багатьох років приваблює учених різних напрямів наукової діяльності. Сучасним трендом залишається можливість поєднання 1,2,4-триазолу та різноманітних представників фармакофорних замісників, які орієнтовані за різними положеннями цього гетероциклу. Науковці впевнено та аргументовано доводять таку доцільність [280].

Яскравим прикладом успішного впровадження похідних 1,2,4-триазолу є досягнення учених Запорізького державного медичного університету [283]. У липні 2018 року був зареєстрований ветеринарний препарат «Трифузол-Нео 1%» (РП № АВ-07793-01-18 від 27.07.2018 року), інша водорозчинна сполука входить до складу ефективного добрива «Фортіс Комбі».

Також заслуговують на увагу похідні 1,2,4-триазолу, що містять у своєму складі фторфенільні фрагменти у комбінації з іншими реакційноздатними замісниками [337]. Відомо, що таке поєднання є перспективним у різних наукових аспектах та, безумовно, створює сприятливі умови на шляху пошуку нових біологічно активних сполук [332].

Ретельний аналіз результатів комп'ютерного прогнозу свідчить про те, що похідні ряду 4-аміно-, 4-аміно-3-тіо-1,2,4-триазолів можуть проявляти високу біологічну активність (підрозд. 5.1).

Ученими науково доведено, що додаткове введення до структури похідних 1,2,4-триазолу різних фармакофорних фрагментів може впливати на показники токсичності синтезованих речовин [290, 332]. Введення аміногрупи до структури 1,2,4-триазолу підвищує фармакологічну активність і знижує токсичність, тому поєднання в одній молекулі 1,2,4-триазолу та NH_2 -групи може призвести до появи перспективних речовин як в біологічному плані, так і при створенні напівпродуктів органічного синтезу.

4.1 Дослідження фізико-хімічних властивостей нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів та продуктів їх відновлення

Вивчення реакцій перетворення різних похідних 4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіонів є пріоритетним напрямом для деяких наукових шкіл [118, 120, 338]. Відомо, що реакції за участю 4-аміно-1,2,4-триазолів та карбонільних сполук здійснюються за механізмом нуклеофільного приєднання [339]. Сполуки, утворені подібним шляхом, виявляють високу спазмолітичну, антиоксидантну активність, деякі з них знайшли застосування в синтетичній і аналітичній хімії, а також як ініціатори полімеризації, пластифікаторів і стабілізаторів полімерів. З метою створення потенційних перспективних субстанцій було синтезовано ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (**4.1-4.29**, рис. 4.1), (дод. А, табл. А.23). Відомо, що для підвищення швидкості цієї реакції необхідна наявність каталізатора. Перша стадія цієї реакції – приєднання по карбонілу відбувається швидко, друга стадія – дегідратація каталізується кислотами [339]. Проводили реакцію в розчині концентрованої ацетатної кислоти, тому додавання каталізатора було непотрібним.

Як вихідні сполуки було використано 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (2.1) та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (2.3), фізико-хімічні властивості яких досліджено раніше. Використовуючи загальновідому методику [283], було отримано ряд нових альдімінів (4.1-4.29, рис. 4.1), деякі з них в подальшому було піддано відновленню. При цьому отримано сполуки 4.30-4.38 (рис. 4.1).

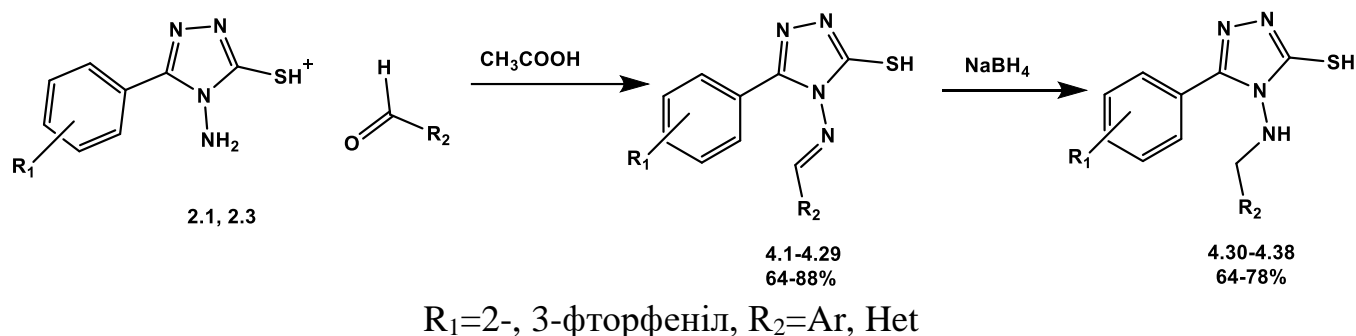


Рис. 4.1. Синтез 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів та відновлення деяких з них

Синтезовані сполуки 4.1-4.29 (дод. А, табл. А.23) та 4.30-4.38 (дод. А, табл. А.24) являють собою індивідуальні кристалічні речовини білого (4.1, 4.3, 4.4, 4.6, 4.16, 4.20, 4.21, 4.29), світло-жовтого (4.2, 4.5, 4.7-4.12, 4.15, 4.17, 4.19, 4.22, 4.24), жовтого (4.23, 4.25-4.28, 4.30-4.38), помаранчевого (4.14, 4.18) та коричневого (4.13) кольорів, розчинні в органічних розчинниках, нерозчинні у воді. Для аналізу сполуки було перекристалізовано з бутан-1-олу.

В ІЧ-спектрах 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (4.1-4.29, дод. А, табл. А.27) наявні смуги коливання груп, характерних для ядра 1,2,4-триазолу: $\text{C}=\text{N}$ –1690-1600 cm^{-1} . Також присутні смуги коливань груп $\text{C}-\text{S}$ – при 705-570 cm^{-1} . Наявні смуги коливання, характерні для групи $-\text{SH}$ в межах 2592-2353 cm^{-1} . Наявність характерних смуг коливань функціональних груп відповідних 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів можна простежити на прикладі

ІЧ-спектра 5-(3-фторфеніл)-4-((2,4-диметилфеніл)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**4.24**, рис. 4.2).

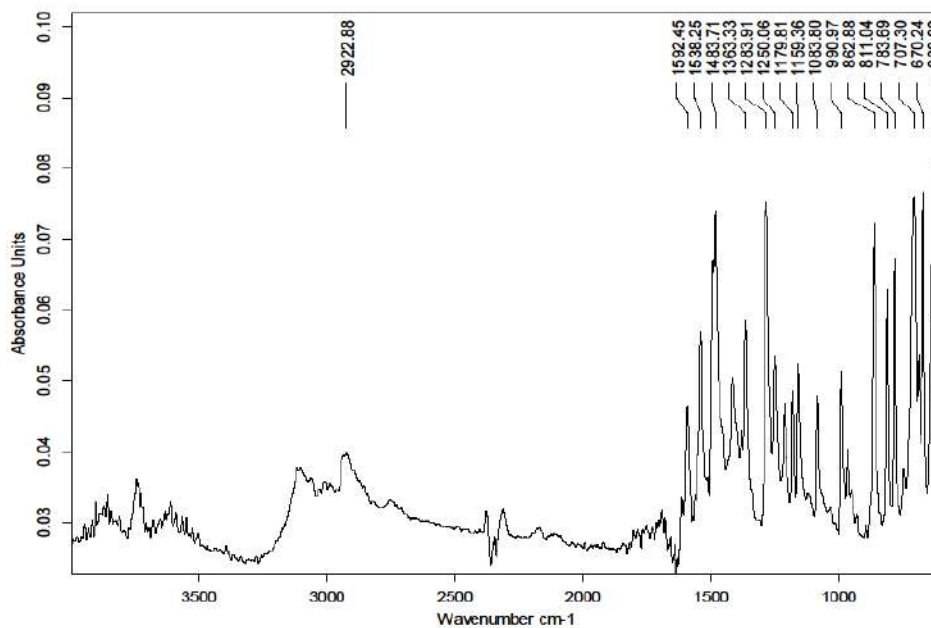


Рис. 4.2. ІЧ-спектр 5-(3-фторфеніл)-4-((2,4-диметилфеніл)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**4.24**)

Будова молекул всіх синтезованих сполук була доведена із використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ^1H ЯМР-спектроскопія, хромато-мас спектрометрія), а їх індивідуальність підтверджена хроматографічно. Фізико-хімічні константи нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (**4.1-4.29**, рис. 4.1) наведено в табл. А.26-А.28 (дод. А).

Ретельний аналіз ^1H ЯМР-спектрів синтезованих сполук (**4.1-4.29**, дод. А, табл. А.26) свідчить про перебіг реакції та утворення ряду нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів. Протони метокси-груп резонують у сильній частині поля при 3.85 та 3.89 м.ч., утворюючи синглети, розташовані поряд (**4.12**).

Аналіз сигналів в спектрах ЯМР ^1H в ділянці ароматичних протонів дозволив зробити висновок про присутність в молекулах **4.11-4.13** двох фрагментів заміщеного фенільного радикала. Протони 3,4-метоксифенільного замісника утворюють набір сигналів у вигляді дублету та мультиплетів при 6.90 м.ч, 7.27-7.30 м.ч. та при 7.35-7.38 м.ч. відповідно. Протони 3-флуорфенільного замісника утворюють триплет при 7.52-7.55 м.ч., дублети в області 7.19-7.21 м.ч., 7.70 м.ч. та 8.03-8.05 м.ч.

Необхідно відзначити присутність синглету протона азаметинового фрагмента, який формує характерний синглетний сигнал, наприклад, при 9.90 м.ч. (**4.24**). Протон тіольного замісника формує синглет у слабкій частині спектра при 14.3 м.ч. (**4.24**) (рис. 4.3).

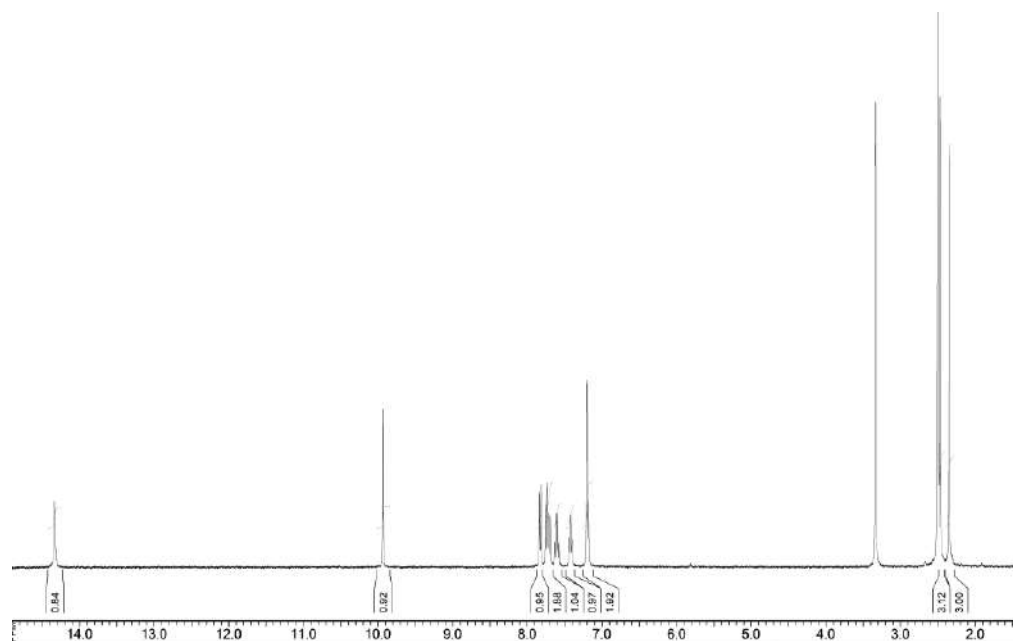


Рис. 4.3. ^1H ЯМР спектр 4-(2,4-диметилбензиліденаміно)-5-(3-флуорофеніл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (**4.24**)

Щодо аналізу ^1H ЯМР-спектрів 4-(R_2 -аміно)-5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-3-тіолів (**4.30-4.38**, дод. А, табл А.26.), слід зазначити присутність особливостей у сигналах відповідних протонів. В ^1H ЯМР спектрі сполуки **4.35** протони ароматичних замісників проявляються в ділянці 7.50-6.45 м.ч., а саме: протони

3-флуорфенільного замісника формують трипротонний мультиплет при 7.50-7.39 м.ч. та триплет при 7.27-7.24 м.ч.; ароматичні протони 2,4-диметилфенільного замісника в положеннях 5 та 6 формують зону мультиплету при 6.81-6.73 м.ч. Протон $-SH$ групи є уширеним синглетом при 14.03 м.ч. Виражений двопротонний синглет $-CH_2-$ фрагмента при 4.15 м.ч. підтверджує успішний перебіг відновлення азометинової групи до азометиленової. Наявність двох метильних замісників підтверджена синглетними сигналами при 2.12 м.ч. та при 2.00 м.ч. (рис. 4.4).

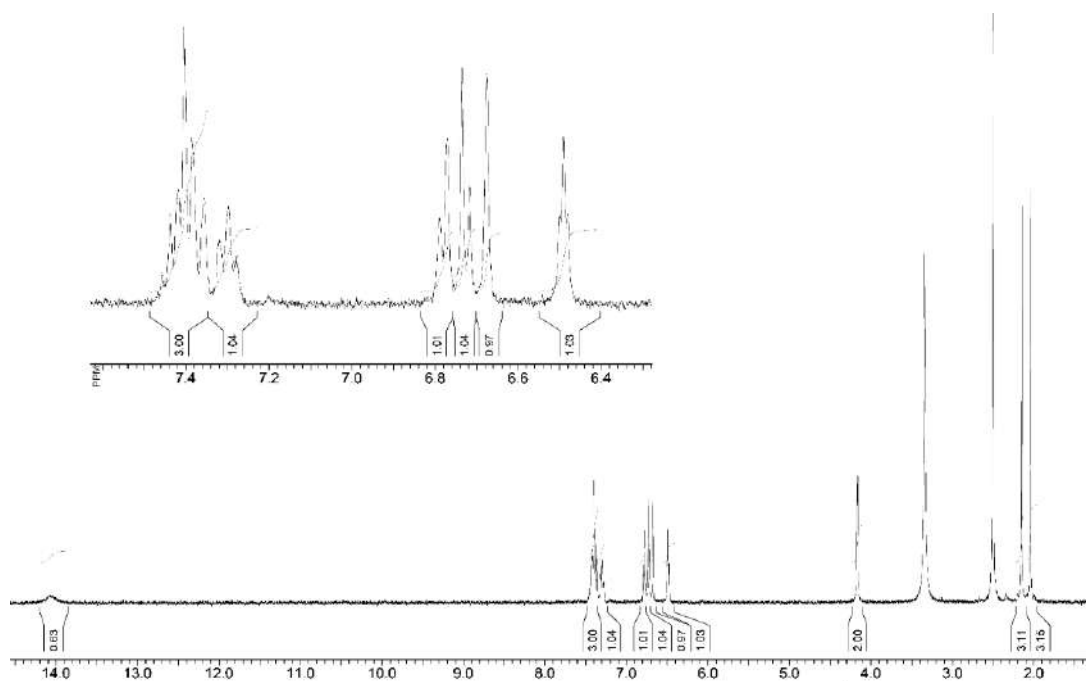


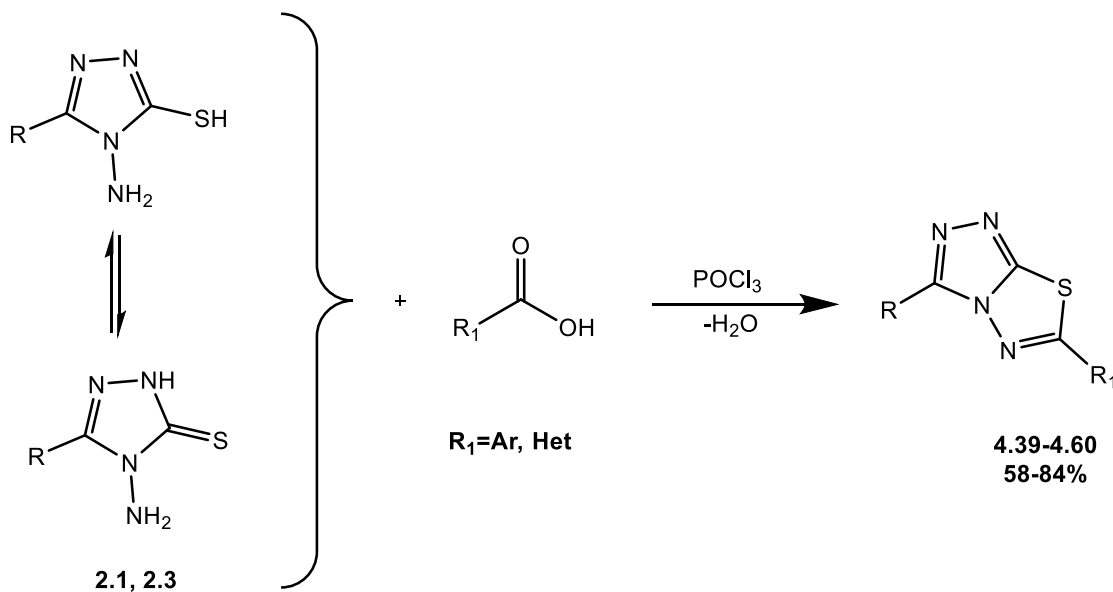
Рис. 4.4. 1H ЯМР спектр 4-((2,4-диметилбензиламіно)-5-(3-флуорофеніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу (**4.35**)

В ІЧ-спектрах 4-(R_2 -аміно)-5-(3-фторфеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіолів (**4.30-4.38**, дод. А, табл. А.27) наявні смуги коливання характерні для $C=N$ у циклі, $C=C$ -груп в межах $1571-1606\text{ cm}^{-1}$ та смуг коливання NH -груп в межах $3213-3393\text{ cm}^{-1}$. Особливістю є факт відсутності смуг коливання, які характерні для $C=N$ -групи.

4.2 Синтез 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів

Вітчизняна школа хіміків-органіків при Запорізькому державному медичному університеті є Флагманом сучасної фармацевтичної науки на шляху впровадження нових біологічно активних сполук у практику.

Подальші синтетичні дослідження були присвячені реакції циклізації 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1**, **2.3**) у присутності похідних карбонових кислот у середовищі POCl_3 (рис. 4.5). Можна припустити існування для 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу двох таутомерних форм (рис. 4.5). Циклізацію проводили при наявності еквівалентних кількостей вихідних сполук з надлишком POCl_3 і 3 год кип'ятіння реакційної суміші. Кінцевий продукт отримували шляхом додавання розчину амоніаку до нейтрального середовища після виливання суміші на лід [291].



R=2-фторфеніл, 3-фторфеніл

Рис. 4.5. Синтез 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів

Загальновідомо, що проходження гетероциклізації в даному випадку здійснюється через проміжну стадію ацилювання 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1**) в напрямі реакції «а» і утворенні сполук **4.39***, **4.43***, **4.48***, які можуть існувати у вигляді двох таутомерних форм – «NH» та «OH» (рис. 4.6).

Подальше нагрівання сполук **4.39***, **4.43***, **4.48*** у середовищі POCl_3 ініціює перебіг реакції «с» (рис. 4.6) та утворення відповідних 3-(2-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (**4.39-4.50**, рис. 4.6). Також досліджено можливість проходження гетероциклізації за схемою реакції «b» з утворенням ряду відповідних 3-(2-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (**4.39-4.50**, рис. 4.6) в одну стадію.

Доведено, що особливістю проходження реакцій «а», «b», «с» (рис. 4.6) є той факт, що у кожному з випадків різні умови проведення реакції. Якщо проводити реакцію при наявності надлишку POCl_3 у м'яких умовах, тобто нагрівання реакційної суміші на водяній бані до розчинення компонентів із наступним виділенням продуктів за загальновідомою методикою, процес перебігає за схемою реакції «а».

У даному випадку при змішуванні вихідних компонентів утворюється відповідний хлорангідрид карбонової кислоти, який в подальшому виконує функцію ацилюючого агенту, призводячи до утворення проміжних продуктів (**4.39***, **4.43***, **4.48***, рис. 4.6), які при подальшому 3-х год кип'ятінні в надлишку POCl_3 перетворюються на біциклічні похідні (**4.39-4.50**, рис. 4.6), виконуючи вимоги перебігу реакції «с». Циклізація при цьому супроводжується дегідратацією однієї молекули води.

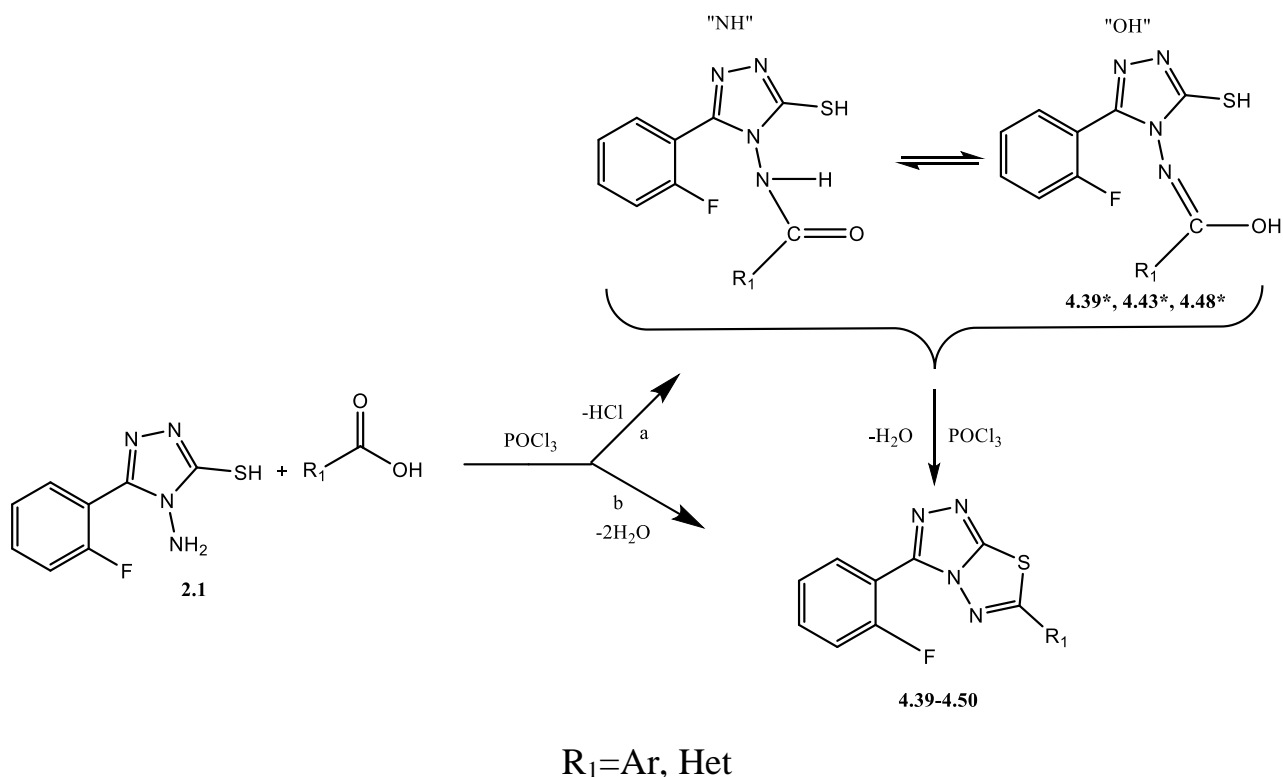


Рис. 4.6. Синтез 3-(2-фторфеніл)-6-R₁-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів

Проведення реакції вихідної сполуки (**2.1**) та відповідних карбонових кислот у середовищі надлишку POCl₃ у більш жорстких умовах, тобто при 3-х год кип'ятінні компонентів із наступним виділенням продуктів за загальновідомою методикою [291, 341], орієнтує проходження циклізації одностадійно за схемою «b» (рис. 4.6). Хімічний процес у даному випадку супроводжується дегідратацією двох молекул води. Сполуки, отримані за двома методами «b» і «c», не дають депресії температури плавлення, що в комплексі з іншими фізико-хімічними методами підтверджує будову отриманих речовин.

Щодо сполук **4.39***, **4.43***, **4.48*** (рис. 4.6), то вони становлять собою індивідуальні кристалічні речовини світло-жовтого кольору, які розчинні в органічних розчинниках, нерозчинні у воді. Для фізико-хімічного аналізу сполуки **4.39***, **4.43***, **4.48*** перекристалізовано із 1,4-діоксану.

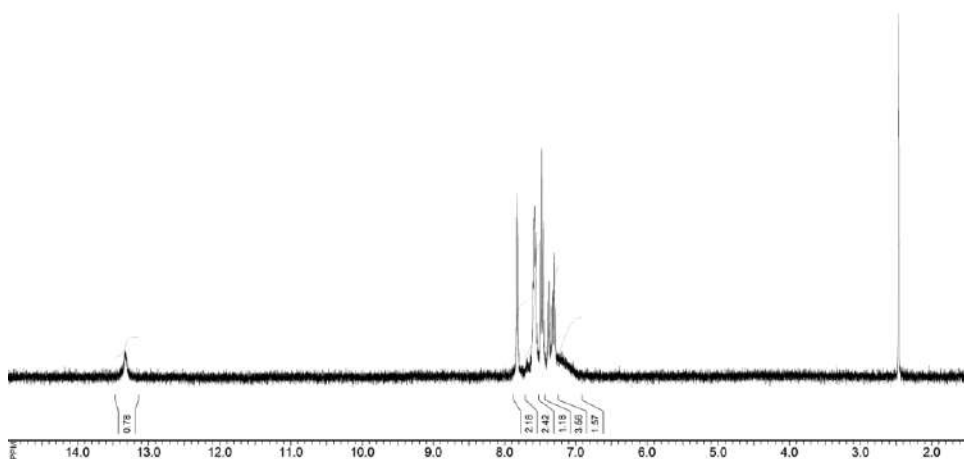


Рис. 4.7. ^1H ЯМР спектр N-(3-(2-фторфеніл)-5-меркапто-4H-1,2,4-триазол-4-іл)бензімідної кислоти (**4.39***)

В ^1H ЯМР спектрі N-(3-(2-фторфеніл)-5-меркапто-4H-1,2,4-триазол-4-іл)бензімідної кислоти (**4.39***) наявні сигнали протонів ароматичного циклу, які фіксуються у вигляді двох триплетів при 7,29 (2H), 7,37 (3H) мультиплету 7,54 (2H), дублету 7,83 (2H), сигнали протону SH-групи реєструються у вигляді синглету при 13,31 (1H).

Сполуки (**4.39-4.50**, дод. А, табл. А.29) є індивідуальними кристалічними речовинами, світло-жовтого (**4.39**, **4.41**, **4.44-4.50**), білого (**4.40**, **4.42**), жовтого (**4.43**) кольору, розчинні в органічних розчинниках, нерозчинні у воді. Для фізико-хімічного аналізу сполуки перекристалізовано з ізопропанолу.

Будова молекул всіх синтезованих 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів була доведена із використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ^1H ЯМР-спектроскопія, хромато-мас спектрометрія), а їх індивідуальність підтверджена хроматографічно (дод. А, табл. А.30). Фізико-хімічні константи синтезованих 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів представлено (дод. А, табл. А.32-А.33).

Сигнали ароматичних протонів 3-(3-фторфеніл)-6-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазолу (**4.51**, рис. 4.8) в ^1H ЯМР-спектрі реєструвались у вигляді дуплетів, триплету та мультиплетів з відповідними хімічними зсувами. Так, сигнали протонів 3-фторфенільного радикала фіксувались у більш сильному полі як триплет при 7,18 м.ч. та мультиплет при 7,00-7,07 м.ч. Інші сигнали протонів 3-фторфенільного радикала спостерігались у більш слабкому полі та створювали мультиплет з сигналами протонів фенільного радикала при 7,35-7,42 м.ч.

Протони у *para*-положеннях фенільного та 3-фторфенільного радикалів резонували у вигляді дублетів при 7,88 м.ч. та при 8,05 м.ч. Крім того, на спектрі відсутні сигнали NH_2 - та SH -груп, що підтверджує напрямок хімічного перетворення.

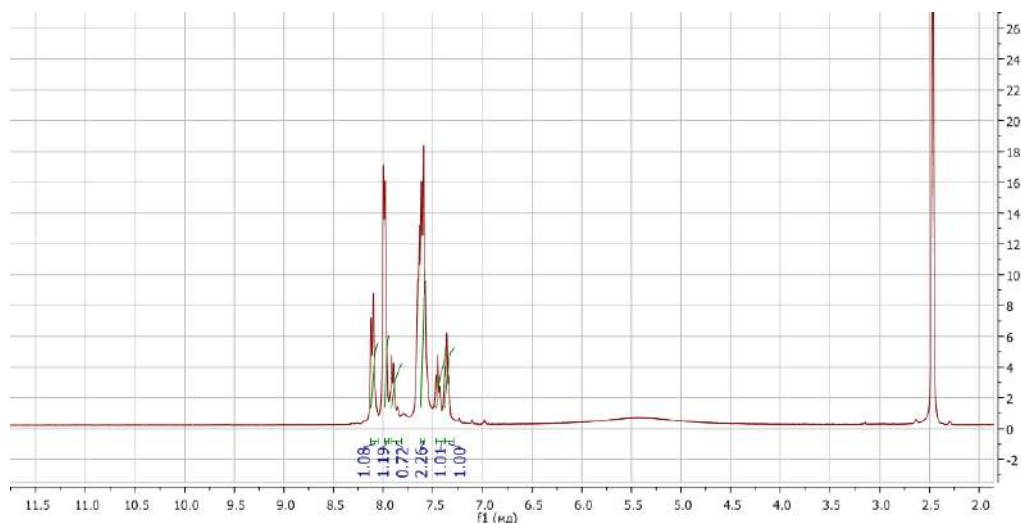


Рис. 4.8. ^1H ЯМР-спектр 3-(3-фторфеніл)-6-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазолу (**4.51**)

Для підтвердження формування структурного фрагменту [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолу було застосовано метод ^{13}C ЯМР-спектроскопії (рис. 4.9). На спектрі досліджуваної сполуки (**4.39**) можемо спостерігати сигнали 5 атома Карбону тіадіазольного гетероциклу при 171,94 м.ч. в слабкому полі.

В ароматичному полі при 129.33-131.46 м.ч. реєструються сигнали 2 фенільних замісників. Варто відмити, що атом Карбону, біля якого знаходиться замісник Флуор, резонує в слабкому полі при 159,33 м.ч., а конденсованого атому Карбону при 158,85 м.ч. [340, 341].

^{13}C NMR (100 MHz, DEUTERIUM OXIDE) δ ppm 171.94 (s, 1 C), 158.85 (s, 1 C), 145.12 (s, 1 C), 131.46 (s, 1 C), 131.40 (s, 1 C), 130.69 (s, 1 C), 130.42 (s, 1 C), 130.06 (s, 1 C), 130.02 (s, 1 C), 129.64 (s, 1 C), 129.48 (s, 1 C), 129.33 (s, 1 C), 123.57 (s, 1 C), 119.91 (s, 1 C).

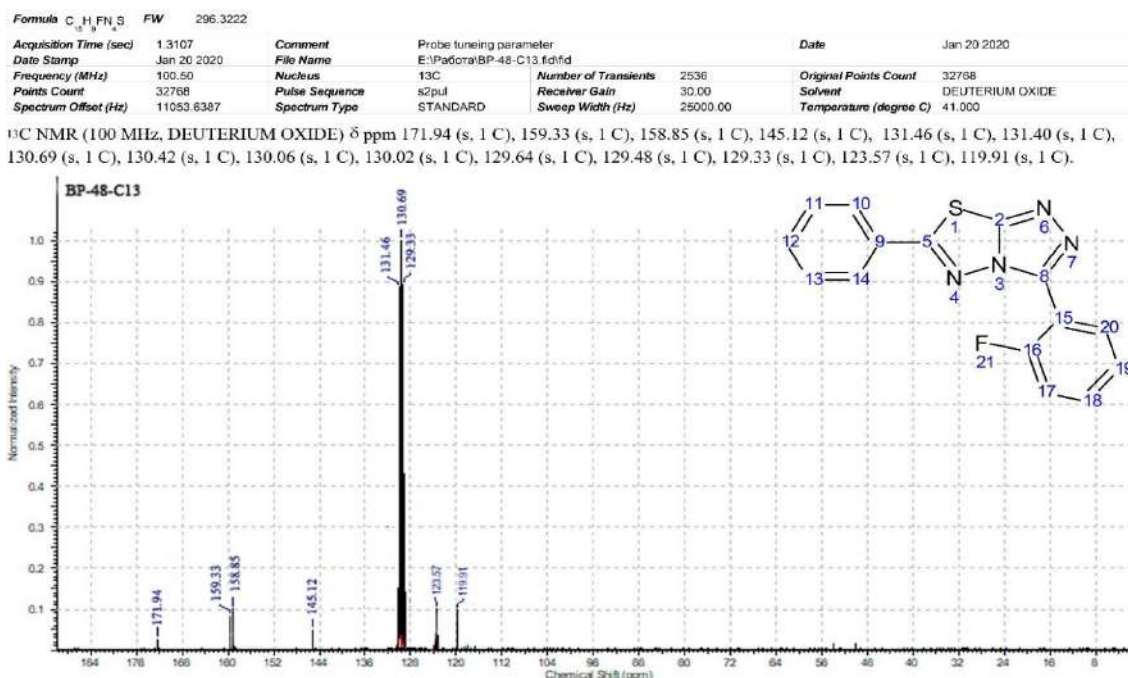


Рис. 4.9. ^{13}C ЯМР-спектр 3-(2-фторфеніл)-6-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазолу (**4.39**)

4.3 Синтез 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6- R_3 -7*H*[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів

Наукові публікації останніх років переконливо доводять перспективність пошуку біологічно активних сполук серед синтетичних похідних 1,2,4-триазолу.

Фармацевтична наука активно рухається вперед, використовуючи різні сучасні інструменти на шляху впровадження у практику найперспективніших речовин.

Методи синтезу 1,2,4-триазоло-[3,4-*b*]-[1,3,4]тіадіазинів, які добре описані в літературі, засновані переважно на утворенні C-N і C-S зв'язків на заключній стадії гетероциклізації при взаємодії вихідних 4-аміно-3-меркапто-1,2,4-триазолів з біфункціональними реагентами [283]. На відміну від похідних N-аміно-2-меркаптоімідазолів, поліциклічні системи на основі аміомеркаптотриазолів вивчені не так глибоко. Відомо, що похідні аміомеркаптотриазолів виявляють широкий спектр антивірусної активності, зокрема є інгібіторами реплікації ВІЛ.

Наступним етапом наших пошукових досліджень було провести реакцію 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1) та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.3) з еквівалентною кількістю відповідних 2-бром-1-арилетанонів та 1-бромпропан-2-ону в середовищі ізопропанолу (рис. 4.10). Реакцію проводили за умов, описаних у дисертації [283]. Кінцеві продукти (4.61-4.66, дод. А, табл. А.31) отримували додаванням водного розчину натрій гідрогенкарбонату (рис. 4.10).

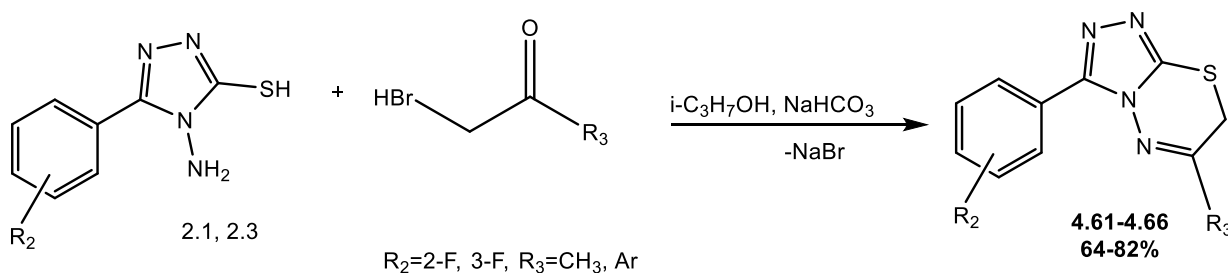


Рис. 4.10. Синтез 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6- R_3 -7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів

У всіх випадках отримано нові індивідуальні кристалічні сполуки світло-жовтого (4.61, 4.62, 4.66), жовтого (4.63), білого (4.65), помаранчевого (4.64) кольорів, які розчинні в органічних розчинниках, нерозчинні у воді.

Для фізико-хімічного аналізу 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6-R₃-7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини перекристалізовано з ізопропанолу [340, 341].

Так, в ІЧ-спектрах 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6-R₃-7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів відсутні смуги поглинання карбонільної групи, що в комплексі з іншими фізико-хімічними методами аналізу підтверджує проходження реакції циклізації, наявні смуги поглинання ароматичних структур.

Про успішність проведення реакції гетероциклізації свідчить ¹³C ЯМР-спектри відповідних похідних. Так, на спектрі 3-(2-флуорофеніл)-6-феніл-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.62**) фрагмент тіадіазинового циклу реєструється у вигляді -CH₂- групи при 33,41 м.ч., що остаточно доводить отримання відповідної сполуки (рис. 4.11).

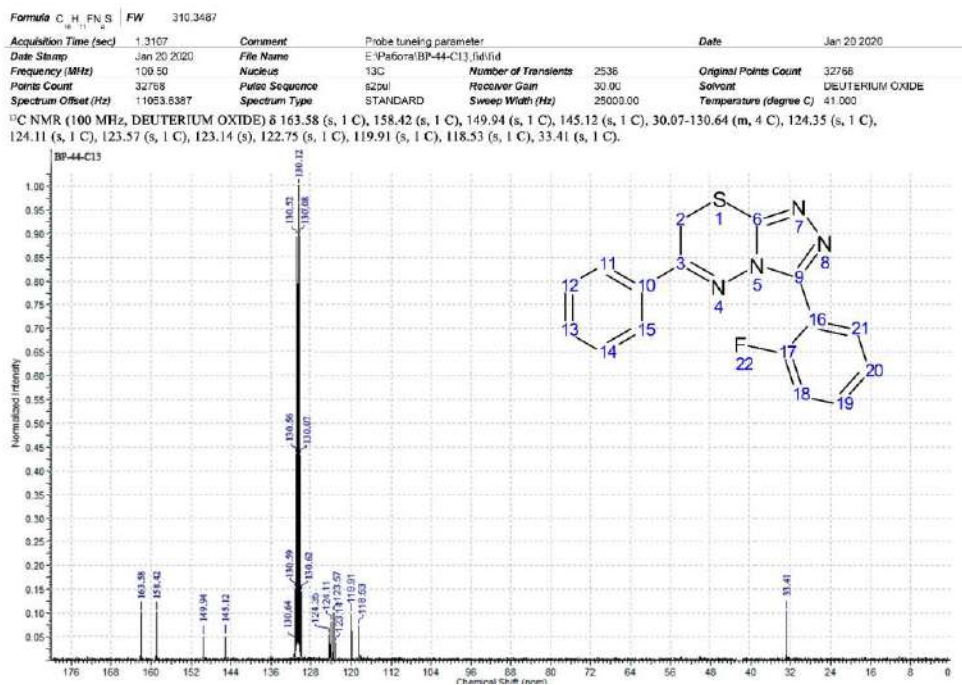


Рис. 4.11. ¹³C ЯМР-спектр Синтез 3-(2-фторфеніл)-6-феніл-7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.62**)

Також спостерігається сигнал 3 атому Карбону тіадіазинового гетероциклу при 171,94 м.ч. у слабкому полі. Ароматичний сигнал 2-х фенільних замісників проявляється при 129.33-131.46 м.ч. Атом Флуору фенільного радикала згідно з отриманим спектром впливає на ароматичне поле і дробить сигнали при 118,53 м.ч. до 131.46 м.ч., а 17 атом Карбону резонує при 158.42 м.ч.

^{13}C NMR (100 MHz, DEUTERIUM OXIDE) δ 163.58 (s), 158.42 (s), 149.94 (s), 145.12 (s), 30.07-130.64 (m), 124.35 (s), 124.11 (s), 123.57 (s), 123.14 (s), 122.75 (s), 119.91 (m), 118.53 (m), 33.41 (s).

4.4 Синтез основ Манніха, похідних 4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіонів з використанням захисту аміно-групи

Аміни є дуже важливими функціональними фармакофорними фрагментами в медичній хімії і присутні в багатьох лікарських препаратах [342]. Вони можуть брати участь в утворенні водневих зв'язків з цільовими сайтами зв'язування, бути як акцепторами, так і донорами водневого зв'язку. У багатьох випадках амін може бути протонованим і проявляти сильну іонну взаємодію з електронно-негативною частиною в місці зв'язування. Тому аліфатичний амін, особливо третинний аліфатичний амін, є однією з найпопулярніших функціональних груп у фармацевтичних препаратах. Незважаючи на їх важливість, сучасні методи синтезу амінів все ще обмежені.

Розробка м'якого, модульного та ефективного синтезу похідних амінів все ще залишається гострою потребою в медичній та органічній хімії на шляху створення перспективних сполук з унікальними властивостями. Задля розширення синтетичної спроможності 1,2,4-триазольного гетероциклу та отримання перспективних похідних амінів було синтезовано основи Манніха, відповідні β -кетоаміни, продукти амінометилування 1,2,4-триазол-3(2*H*)-тіонів шляхом конденсації з формальдегідом та різноманітними амінами.

Реакція Манніха є трьохкомпонентною реакцією конденсації, в яку вступає 1,2,4-триазол-3(2*H*)-тіон, що містить активний водень в другому положенні, метаналь і первинний або вторинний амін і має препаративне значення для синтезу і модифікації біологічно активних сполук.

З урахуванням цього було розроблено нову стратегію синтезу основ Манніха на базі нових 4-аміно-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонів та підтверджено їх будову. Як вихідні сполуки було використано синтезовані раніш вихідні речовини **2.1**, **2.3**, **2.5** (рис. 4.12).

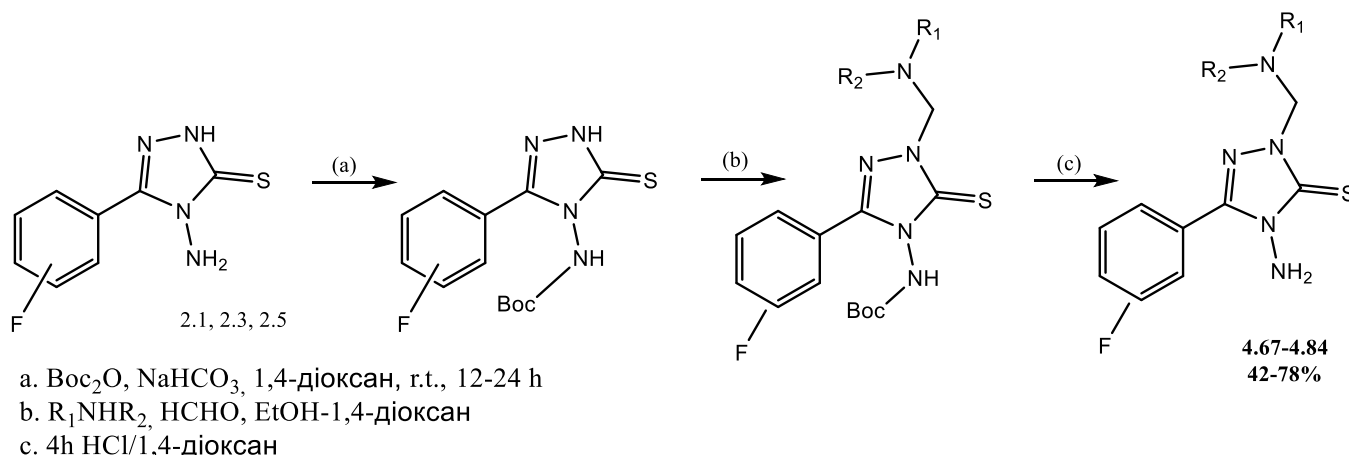


Рис. 4.12. Синтез основ Манніха, похідних 4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіонів з використанням захисту аміно-групи

Було обговорено, досліджено по продуктам реакції та запропоновано потенційний механізм реакції (рис. 4.13). Механізм реакції Манніха починається з утворення іона імінію з аміну та формальдегіду. Механізм реакції починається з нуклеофільної атаки атома Нітрогену на карбонільний Карбон з утворенням проміжної основи Шиффа, яка діє як електрофіл і реагує з 1,2,4-триазольним гетероциклом та призводить до отримання продукту Манніха завдяки елегантній та потужній трансформації (рис. 4.13).

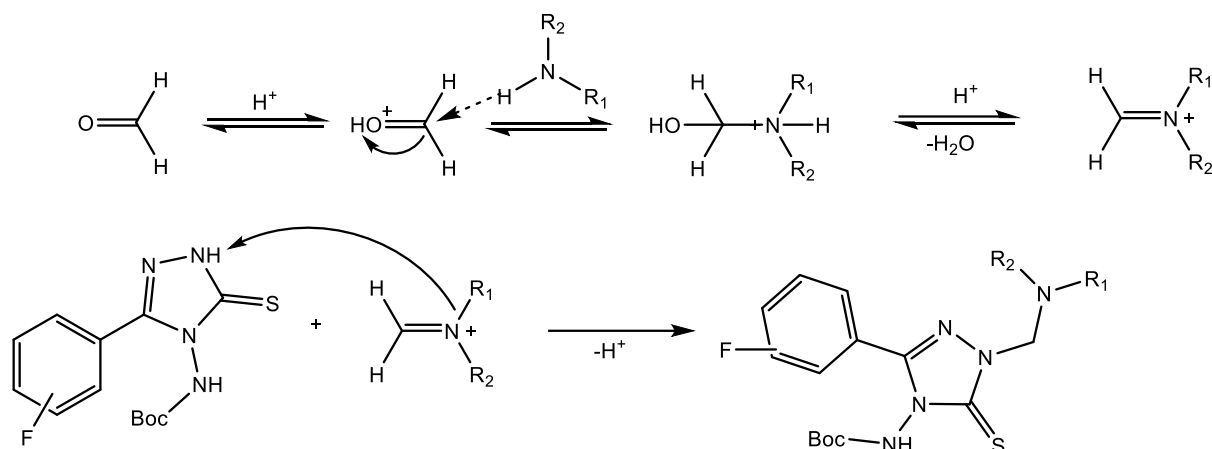


Рис. 4.13. Потенційний механізм реакції Манніха в ряду 4-аміно-2-((R₁, R₂-аміно)метил)-5-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіонів

Про успішність перебігу реакції і утворення основ Манніха свідчать результати ¹H ЯМР-спектроскопії (рис. 4.14).

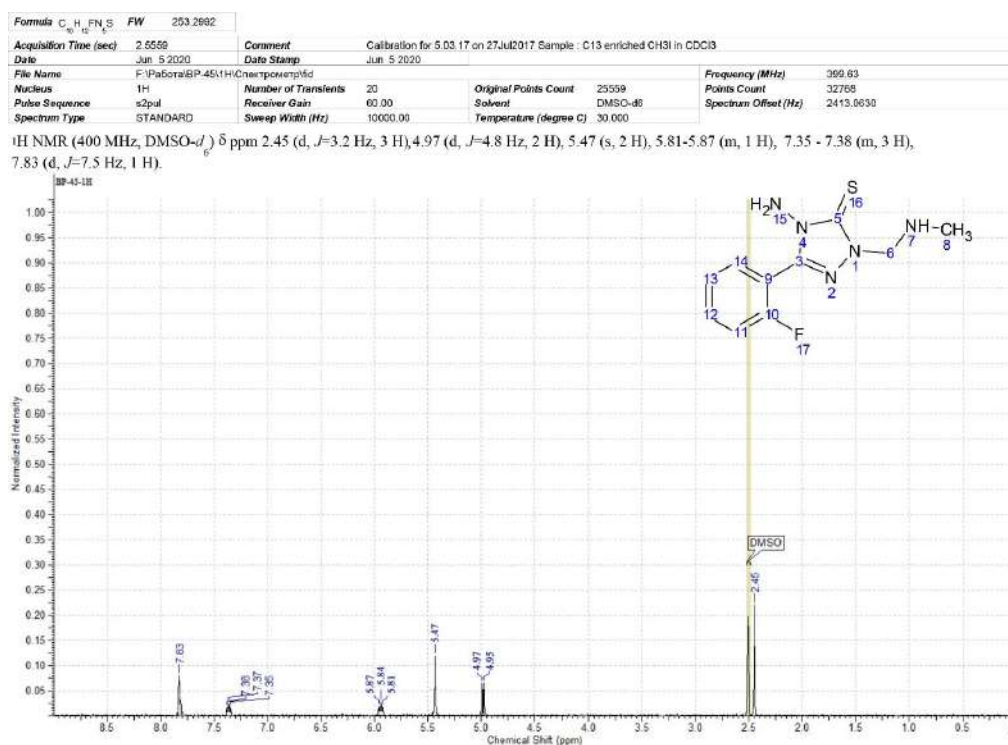


Рис. 4.14. ¹H ЯМР-спектр 4-аміно-5-(2-флуорофеніл)-2-((метиламіно)метил)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіону (**4.67**).

У спектрі спостерігаються характерні сигнали метильного залишку аліфатичного аміну в сильному полі при 2,49 м.ч. Сигнал протонів вторинної аміно-групи реєструється складним мультиплетом при 5,87-5,81 м.ч. Сигнал метиленової групи від формальдегіду в основі Манніха резонує при 4,97 м.ч. у вигляді дуплету. Вивчення значень сигналів хімічних зсувів для фенільного кільця вказує на те, що атом Флуору проявляє акцепторний вплив та зміщує ароматичний діапазон сигналів в слабше поле у вигляді дуплетів та мультиплетів.

Речовини є індивідуальними кристалічними сполуками білого або жовтого кольорів, нерозчинні у воді, розчинні в органічних розчинниках. Будова сполук доведена за допомогою спектральних методів аналізу, а їх індивідуальність – хроматографічно.

4.5 Електрохімічні властивості похідних 1,2,4-триазолу

Іонометрія є передовим сучасним напрямом потенціометричного методу аналізу. Головна задача полягає в розробці, вивченні та застосуванні різноманітних іоноселективних електродів (ІСЕ), оборотних і селективних до різних катіонів і аніоном. Отримані електроди дають багато інформації про хімічну активність іонів в розчині аналізованого об'єкта і функціонують за механізмом переносу іонів, а значну селективність електрода забезпечує проникність мембрани для одного або обмеженого числа іонів за рахунок введення електродно активної сполуки [379]. Внаслідок різних властивостей аніонів створення іоноселективних сенсорів для їх визначення вельми актуальна. Вдалим її рішенням може стати використання в якості активних компонентів мембрани гетероциклічних сполук, таких як 1,2,4-триазоли, 1,3,4-оксадіазоли та інші [380].

Існує багато похідних 1,2,4-триазолу, які використовуються як інгібітор корозії для інгібування корозії сталі та міді [380, 381]. У деяких з наших останніх

публікацій ми теоретично описували можливість використання похідних 1,2,4-триазолу як електродно активних сполук [382-385]. Триазоли можуть бути в різних таутомерних формах, вплив таких таутомерних форм на електрохімічні властивості може бути значним. Використання похідних 1,2,4-триазолу як електродноактивного компонента мембран ІСЕ – нове і перспективне завдання [386–389].

β -Естрадіол є відомим стероїдним гормоном і основним жіночим статевим гормоном. Естрадіол відповідає за розвиток вторинних статевих ознак у жінок, таких як груди, розширення стегон і асоційована з жінками модель розподілу жиру. Він також важливий у розвитку та підтримці жіночих репродуктивних тканин, таких як молочні залози, матка та піхва під час статевого дозрівання, дорослого віку та вагітності [390].

При порівнянні рівня естрадіолу чоловіків з жінками він набагато нижчий, але виконує дуже багато різноманітних функцій. Крім людей та інших ссавців, естрадіол також зустрічається у більшості хребетних і ракоподібних, комах, риб та інших видів тварин.

Естрадіол використовується в фармації як ліки, наприклад, у гормонотерапії менопаузи та фемінізуючої гормонотерапії для трансгендерних жінок [391].

На даний момент вже розроблено деякі методи електрохімічного визначення стероїдних гормонів [392-394]. Більше того, за його хімічним складом можна припустити, що його можна було б визначити за допомогою електродів, використовуючи основи Шиффа та їх комплекси, дуже популярні в електроаналітиці [395, 396].

Метою подальшої роботи було створення і вивчення електрохімічних характеристик іоноселективного електрода з пластифікованою мембраною на основі 5-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіону з ліпофільними іоногенними добавками різної природи – тетраоктиламмоній бромід (ТОАВr) і натрій тетрафенілборату ($\text{NaB}(\text{C}_6\text{H}_5)_4$, NaBPh).

Матеріали і методи. 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіол був синтезований попередньо і його фізико-хімічні властивості описані раніш, інші реагенти у тому числі 2-гідрокси-5-(фенілдіазеніл)бензальдегід, β -естрадіол (E8875-250MG) були придбані у Sigma Aldrich (Німеччина) та використані без подальшого очищення. ^1H ЯМР-спектр був записаний в «Enamine» (Київ, Україна) на спектрометрі Varian Mercury 400 (400 МГц) у ДМСО- d_6 (рис. 1.1). Досліджувальний препарат – «Гуна-бета-естрадіол краплі ор. по 30 мл во флак.-крап.» (Одеса, Україна), був придбаний в роздрібній аптечній мережі.

Суміш 0,57 г (0,0025 моль) 2-гідрокси-5-(фенілдіазеніл)бензальдегіду з 0,53 г (0,0025 моль) 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу в 20 мл *n*-бутанолу кип'ятять із зворотним холодильником протягом 2 год. Реакційну суміш витримували при кімнатній температурі протягом 12 год (рис. 5.27). Осад відфільтровували і промивали диетиловим етером, одержуючи 0,43 г основи Шиффа (Т.пл. $>250^\circ\text{C}$, кристалізована з ДМФА). Знайдено: С: 60,56%, Н: 3,43%; N: 20,04%; $\text{C}_{21}\text{H}_{15}\text{FN}_6\text{OS}$. Розраховано: С: 60,42%, Н: 3,38%; N: 20,13%.

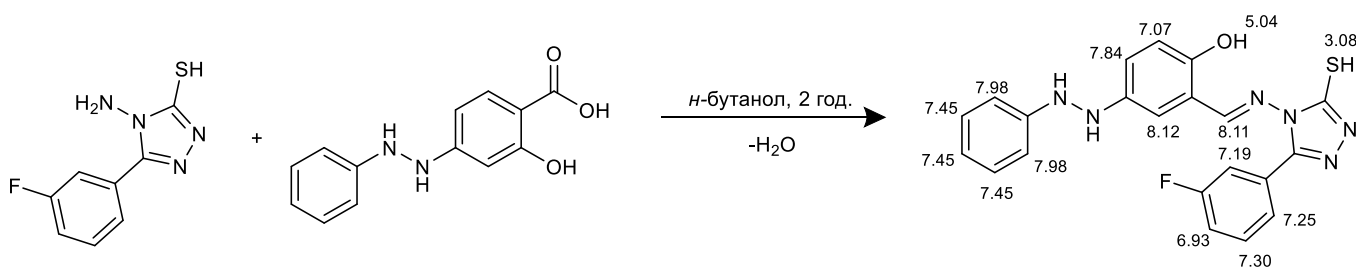


Рис. 5.27. Отримання основи Шиффа методом конденсації

Теоретичне обґрунтування можливості використання електродноактивних сполук похідних 1,2,4-триазолу та електрохімічні реакції. Рідкі мембрани це розчин електродно-активної речовини в органічному розчиннику, що не змішується з водою, і утримується пористою мембраною. На відміну від твердих мембран, де активні центри закріплені в просторі кристалічною ґраткою, в рідких мембранах органофільні активні компоненти рухливі в мембранній фазі.

Спорідненими до рідких є пластифіковані мембрани, отримані в результаті введення електродно-активних компонентів в інертну матрицю, наприклад, полівінілхлориду. Її еластичність і механічна міцність обумовлена присутністю пластифікаторів – естерів фосфорної, фталевої та інших кислот. Використання пластифікованої мембрани дозволяє повністю відмовитися від внутрішнього рідинного електрода порівняння. Тому платиновий або срібний дріт покривається плівкою полівінілхлориду, що містить АК-мембрани і пластифікатор. Отримані таким чином ІСЕ, в конструкції яких відсутня рідинна система електрода порівняння, називаються твердо-контактними. Важливу роль у формуванні потенціалу таких електродів відіграє матеріал струмовідводу. Перевагою подібних датчиків є мініатюрність і, отже, можливість аналізу малих об'ємів рідин (близько 0,1 мл).

Використання принципово нового модифікатора електродів вимагає апріорного механістичного теоретичного аналізу електроаналітичної системи. Це допоможе нам вирішити такі проблеми, як:

- нестабільність у взаємодії електрода з аналітом та щодо його ролі в електроаналітичній системі;
- можливість появи електрохімічних нестабільностей у подібних системах з електроокисленням різних органічних молекул, у тому числі з електрохімічною полімеризацією.

Теоретичне дослідження дає можливість вирішити зазначені проблеми при розробці іон-селективного електрода. Дослідження включає розробку та аналіз математичної моделі, здатної адекватно описати електроаналітичну систему.

Оскільки сполука містить два електрохімічних центра – діазогрупу та «Шиффовий зв'язок», електроаналітичний процес може відбуватися за двома паралельними механізмами з використанням азогрупи (рис. 5.28), в якому «Estr» означає окислений фрагмент β-естрадіолу або через азометиновий фрагмент (рис. 5.29).

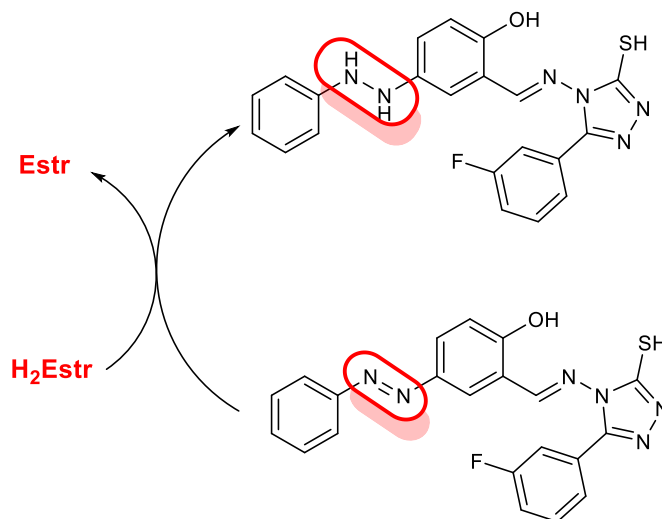


Рис. 5.28. Схема електроаналітичного процесу за участю азогрупи

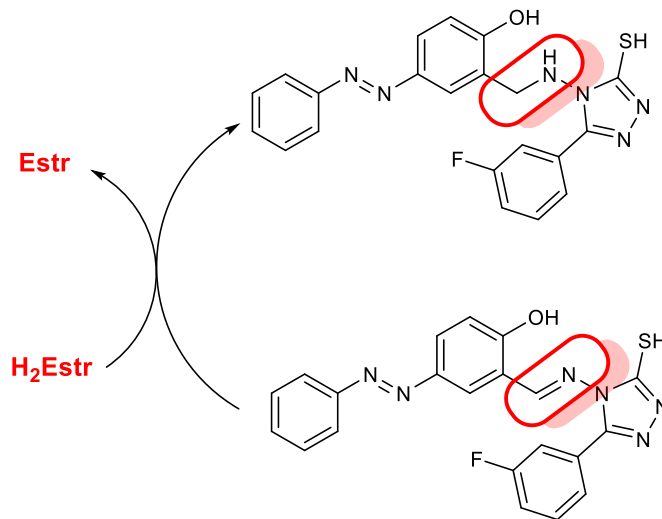


Рис. 5.29. Схема електроаналітичного процесу за участю азометинового фрагмента

В обох випадках вихідна основа Шиффа відновлюється на електрохімічній стадії. Отже, беручи до уваги вищезгадані твердження, щоб теоретично описати поведінку системи, вводимо три перемінних:

c – концентрація естрадіолу в передповерхневому шарі;

θ_4 – ступінь покриття анодом продуктом відновлення на рис. 5.27;

θ_5 – ступінь покриття анодом продуктом відновлення на рис. 5.28.

Для спрощення моделювання припустимо, що реактор інтенсивно переміщується, тому конвекційним потоком можна знехтувати. Також ми припускаємо, що фоновий електроліт в надлишку, тому міграційним потоком можна знехтувати. Товщина передповерхневого шару вважається постійною, рівною δ , а профіль концентрації аналіту та лугу – лінійним. Можна показати, що поведінка системи буде описуватися наступною триватною системою:

$$\begin{cases} \frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{\Delta}{\delta} (c_0 - c) - r_{41} - r_{51} \right) \\ \frac{d\theta_4}{dt} = \frac{1}{G_4} (r_{41} - r_{42}) \\ \frac{d\theta_5}{dt} = \frac{1}{G_5} (r_{51} - r_{52}) \end{cases}$$

де c_0 – молярна концентрація естрадіолу;

Δ – коефіцієнт дифузії;

θ_4 і θ_5 – максимальні концентрації продуктів відновлення;

r – швидкості відповідних хімічних та електрохімічних стадій, пов'язані з рис. 1.2-1.3, які можна описати так:

$$\begin{aligned} r_{41} &= k_{41} c (1 - \theta_4 - \theta_5) \\ r_{51} &= k_{51} c (1 - \theta_4 - \theta_5) \\ r_{42} &= k_{42} \theta_4 \exp\left(\frac{2F\phi_0}{RT}\right) \\ r_{52} &= k_{52} \theta_5 \exp\left(\frac{2F\phi_0}{RT}\right) \end{aligned}$$

де k – відповідні константи швидкості;

F – число Фарадея;

ϕ_0 – нахил потенціалу, пов'язаний з потенціалом нульового заряду;

R – універсальна газова постійна;

T – абсолютна температура.

Хоча в порівнянні з простим випадком поведінка в цьому електроаналітичному процесі буде ефективною. Щоб дослідити поведінку електроаналітичного процесу визначення естрадіолу за допомогою нової основи Шиффа, аналізуємо набір рівнянь за допомогою теорії лінійної стабільності. Члени функціональної матриці Якобі в стаціонарному стані будуть описані так:

$$\begin{aligned}
 a_{11} &= \frac{2}{\delta} \left(-\frac{A}{\delta} - k_{41}(1 - \theta_4 - \theta_5) - k_{51}c(1 - \theta_4 - \theta_5) \right) \\
 a_{12} &= \frac{2}{\delta} (k_{41}c + k_{51}c) \\
 a_{13} &= \frac{2}{\delta} (k_{41}c + k_{51}c) \\
 a_{21} &= \frac{1}{G_4} (k_{41}(1 - \theta_4 - \theta_5)) \\
 a_{22} &= \frac{1}{G_4} \left(-k_{41}c - k_{42} \exp\left(\frac{2F\varphi_0}{RT}\right) - jk_{42} \theta_4 \exp\left(\frac{2F\varphi_0}{RT}\right) \right) \\
 a_{23} &= \frac{1}{G_4} (-k_{41}c) \\
 a_{31} &= \frac{1}{G_5} (k_{51}(1 - \theta_4 - \theta_5))
 \end{aligned}$$

Враховуючи вирази, можна побачити, що головна діагональ матриці Якобі містить два елементи, здатні бути додатними, і, як наслідок, описують позитивний зворотний виклик. Це відрізняє цю систему від подібних для яких може бути можливий лише один позитивний елемент.

Стаціонарним критерієм стійкості для динамічних систем є так званий критерій Раута-Гурвіца. Розкриваючи прямі дужки визначника, застосовуючи до нього нерівність, що впливає з критерію, і беручи до уваги, що $V+W=\Pi$, можемо отримати умову стійкості стаціонарного режиму:

$$-\kappa_1(\Omega W + VK + \Omega K) - \varepsilon(\Omega W + \Omega K - WK) - \Lambda(VK + \Omega K - \Omega V) < 0$$

яку гарантовано буде задоволено, якщо параметри j і v додатні (що реалізується в більшості випадків). Отже, стаціонарний стан стабільний у відносно великій топологічній області параметрів, що з електроаналітичної точки зору буде означати, що система є електроаналітично ефективною, оскільки залежність між електрохімічним параметром (у даному випадку струмом) і концентрацією естрадіолу є лінійним, і аналітичний сигнал легко інтерпретувати.

Електроаналітичний процес у цьому випадку переважно керується кінетично, будучи дифузійно керованим за допомогою відносно великих робочих електродів.

Межа виявлення визначається реалізацією монотонної нестійкості, відповідної біфуркації сідло-вузол, що розділяє стійкі стаціонарні та нестійкі стани.

Умова його появи:

$$-k_1(\Omega W + VK + \Omega K) - E(\Omega W + \Omega K - WK) - A(VK + \Omega K - \Omega V) = 0$$

Поведінка цієї системи буде значно менш динамічною, якщо основу Шиффа ввести в провідний полімер у складі макромолекули. Таким чином, у відновлених макромолекулах будуть присутні обидві відновлені форми, що дозволить зменшити кількість змінних до двох.

Теоретичний аналіз електрохімічного визначення естрадіолу за допомогою нової основи Шиффа дозволяє зробити висновок, що:

- це може бути чудовим модифікатором електродів для кількісної оцінки естрадіолу. Система є електроаналітично ефективною, оскільки стабільність у стаціонарному режимі легко отримати та підтримувати;

- електроаналітичний процес здебільшого керується реакцією, будучи керованим дифузійно, якщо робочий електрод відносно великий;

- можлива коливальна поведінка в цій системі, викликана впливом двох електрохімічних ступенів на подвійний електричний шар;

- реалізація коливальної поведінки відбувається за межею виявлення.

Розробка та приготування електроду. Підсумкова маса отриманої мембрани складала 0,2 г, вміст електродно-активного компонента (2-(((3-(3-флуорофеніл)-5-меркапто-4Н-1,2,4-триазол-4-іл)іміно)метил)-4-(фенілдіазеніл)-фенол) складало 2 мас.%, іоногенної добавки – 0,5 мас.%, 1/3 від загальної маси складала кількість полівінілхлориду (ПВХ) і 2/3 – о-нітрофенілоктилового етеру в ролі пластифікатора.

Компонент мембрани розчиняли в тетрагідрофурані при постійному

перемішуванні і залишали до повного випаровування розчинника. Як іоногенну добавку – іоно-обмінника, в мембранну композицію були введені аніоногенна добавка натрій тетрафенілборат, а також катіоногенна добавка – іонна рідина тетраоктиламмонію бромід. Отриману мембрану закріпили за допомогою спеціального наконечника і накидної гайки до циліндричного тefлонового корпусу електрода (рис. 5.30). Робоча поверхня мембрани складала приблизно $0,5 \text{ см}^2$.

Потенціометричні вимірювання проводили при температурі $20\text{-}25^\circ\text{C}$ на лабораторному приладі Ezodo PL-700PV, відносно хлоридсрібного електроду. Потенціометрична комірка мала наступний вигляд: $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ нас./досл.рн//мембрана//внутр.р-н/ AgCl/Ag . Внутрішнім розчином слугувала суміш 10^{-5} моль/л за аналітом та 1 моль/л за KCl .

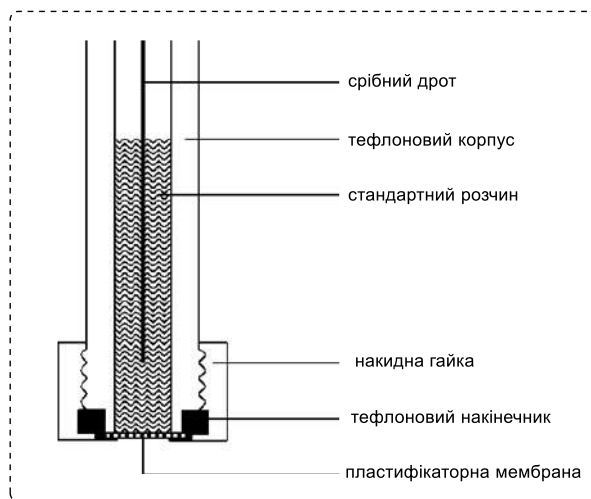


Рис. 5.30. Схема будови рідинного електрода

У потенціометричну комірку, оснащену іон-селективним електродом, електродом порівняння та магнітною мішалкою поміщали аліквотну частину (5-50 мл) розбавленого ($10^{-3}\text{-}10^{-4}$ моль/л) розчину аналіту і при постійному перемішуванні приливали 10^{-3} (або 10^{-2}) моль/л розчин титранту (2-((3-(3-флуорофеніл)-5-меркапто-4H-1,2,4-триазол-4-іл)іміно)метил)-4-(фенілдіазеніл)-

фенолу) (порціями по 0,2-0,5 мл неперервно з регульованою швидкістю) при одночасній автоматичній реєстрації ЕРС комірки за допомогою комп'ютера. Принципова схема експериментальної установки для проведення досліджень зображена на рис. 5.31. Вимірювання рН розчинів проводили скляним рН електродом.

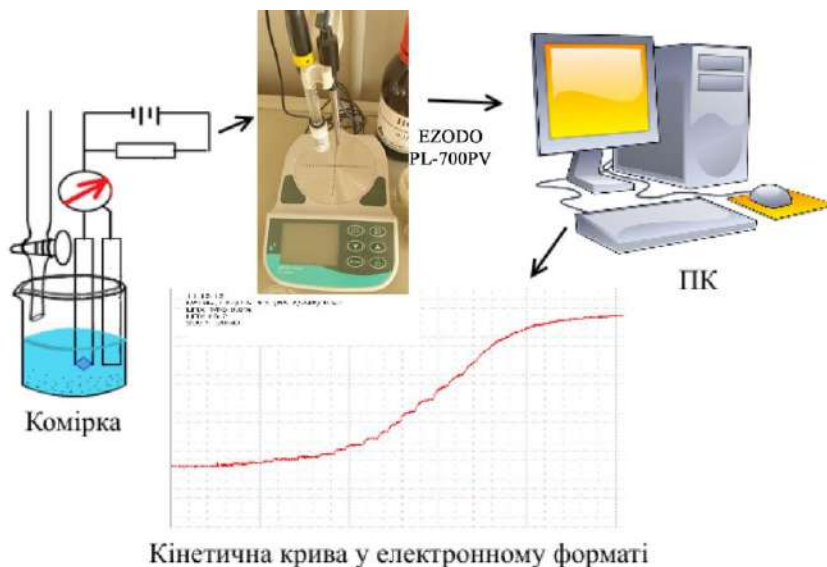


Рис. 5.31. Схема апаратного оформлення

Послідовність роботи з експериментальним іон-селективним електродом:

1. За допомогою послідовного розведення з готового еталонного розчину з концентрацією 0,1 М або 1000 ppm готуємо три еталонних розчину. Еталонні розчини β -естрадіолу повинні мати концентрації 10^{-2} М, 10^{-3} М і 10^{-4} М або 1000, 100 і 10 ppm.

2. В мензурку об'ємом 150 мл наливаємо найбільш розведений розчин (10^{-4} М або 10 ppm), поміщаємо його на магнітну мішалку і починаємо перемішування на постійній швидкості. Переконавшись, що лабораторний прилад EZODO PL-700PV працює, опускаємо наконечник електрода в розчин. Коли показання встановлюються, записуємо значення напруги, що відображається на цифровому дисплеї. З іншими концентраціями розчину β -естрадіолу повторюємо аналогічні маніпуляції.

3. Отмуємо графік залежності значень напруги від концентрації. Необхідно перевіряти калібрувальну криву кожні 2 год.

4.6 Опис експериментів

5-(2-, 3-Фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли (4.1- 4.29, дод. А, табл. А.23). 0,01 Моль 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.1) або 0,01 моль 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (2.3) розчиняють у 20 мл ацетатної кислоти, додають по 0,01 моль відповідного альдегіду (бензальдегід, 2-гідроксибензальдегід, 4-гідроксибензальдегід, 4-бром-бензальдегід, 3-фторбензальдегід, 4-фторбензальдегід, 4-метоксибензальдегід, 2-нітробензальдегід, 3-нітробензальдегід, 3-метоксибензальдегід, 4-диметил-амінобензальдегід, 2,3-диметоксибензальдегід, 3,4-диметоксибензальдегід, 3,5-диметоксибензальдегід, 5-нітрофуран-2-альдегід, піридин-2-альдегід, піридин-3-альдегід, тіофен-2-альдегід), перемішують до повного розчинення. Суміш залишають на 24 год. Осад, який при цьому випадає, відфільтровують. Отримані сполуки являють собою кристалічні речовини білого (4.1, 4.3, 4.4, 4.6, 4.16, 4.20, 4.21, 4.29), світло-жовтого (4.2, 4.5, 4.7-4.12, 4.15, 4.17, 4.19, 4.22, 4.24), жовтого (4.23, 4.25-4.28), помаранчевого (4.14, 4.18) та коричневого (4.13) кольорів, розчинні в ДМФА, ДМСО, 1,4-діоксані, нерозчинні у воді. Для аналізу сполуки було перекристалізовано з бутан-1-олу.

4-(R₂-Аміно)-5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-3-тіоли (4.30-4.38, дод. А, табл. А24). До 0,01 моль відповідних 5-(3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (4.21-4.29) в кожному окремому випадку додають 20 мл метанолу, підігрівають до повного розчинення і поступово при перемішуванні додають по 0,02 моль кристалічного натрій боргідриду. Розчин перемішують протягом години, залишають на 24 год, розчинник випаровують, до осаду додають 50 мл води, фільтрують. Осад кристалізують з пропан-2-олу.

3-(2-, 3-Фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазоли (4.39-4.60, дод. А, табл. А29.). До 0,01 моль 5-(2-, 3-Фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів (**2.1**, **2.3**) в кожному окремому випадку додають по 0,01 моль ароматичних або гетероциклічних карбонових кислоти, 20 мл POCl₃. Реакційну суміш кип'яють 3 години, охолоджують, виливають на лід та додають розчин амоніаку до нейтрального середовища. Осад відфільтровують, сушать. Для аналізу сполуки перекристалізовано з ізопропанолу.

Вихід продукту реакції для сполуки **4.39***, де **R₁=феніл**, складає 53%. Т.пл.=115-117°C. Знайдено, %: С 56,95; Н 3,49; N 17,78; S 10,17. C₁₅H₁₁FN₄OS. Вирахувано, %: С 57,31; Н 3,53; N 17,82; S 10,20. Константи ¹H ЯМР-спектру сполуки 1.1: 7,29 (t, 2H, Ar), 7,37 (t, 3H, Ar), 7,54 (m, 2H, Ar), 7,83 (d, 2H, Ar), 13,31 (s, 1H, SH). Вихід продукту реакції для сполуки **4.43***, де **R₁=2-метоксифеніл**, складає 61%. Т.пл.=102-104°C. Знайдено, %: С 55,66; Н 3,77; N 16,31; S 9,29. C₁₆H₁₃FN₄O₂S. Вирахувано, %: С 55,80; Н 3,81; N 16,27; S 9,31. Константи ¹H ЯМР-спектру сполуки 1.2: 3,88 (s, 3H, O-CH₃), 7,18 (t, 2H, Ar), 7,36 (m, 4H, Ar), 7,55 (m, 2H, Ar), 13,35 (s, 1H, SH).

Вихід продукту реакції для сполуки **4.48***, де **R₁=фуран-2-іл**, складає 67%. Т.пл.=157-159°C. Знайдено, %: С 51,22; Н 2,95; N 18,37; S 10,58. C₁₃H₉FN₄O₂S. Вирахувано, %: С 51,31; Н 2,98; N 18,41; S 10,54. Константи ¹H ЯМР-спектру сполуки 1.3: 6,52 (t, 1H, Fur), 7,12 (d, 1H, Fur), 7,29 (t, 1H, Ar), 7,32 (t, 1H, Ar), 7,74 (m, 2H, Ar, 1H, Fur), 13,48 (1H, s, SH).

3-(2-Фторфеніл, 3-фторфеніл)-6-R₃-7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазини (4.61-4.66, дод. А, табл. А.31). До 0,01 моль 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1**) або 0,01 моль 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.3**) додають 40 мл і-пропанолу і в кожному випадку додають 2-бром-1-фенілетанон або 2-бром-1-(4-фторфеніл)етанон або 2-бром-1-(4-метоксифеніл)етанон або бромацетон. Суміш кип'яють 5 год, охолоджують, осад, який при цьому випадає, відфільтровують. Отримані речовини обробляють

надлишком 5% водного розчину натрій гідрокарбонату. Суміш фільтрують, отримують кристалічні речовини важко розчинні у воді і гексані. Для аналізу речовини перекристалізовано з пропан-2-олу.

Трет-бутил (3-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-5-тіоксо-1,5-дигідро-4H-1,2,4-триазол-4-іл)карбамати. Відповідного 4-аміно-5-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-4H-1,2,4-триазол-3-тіолу (**2.1, 2.3, 2.5**) (100 ммоль) розчиняли у воді (100 мл) і діоксані (200 мл) при 0°C. Потім до розчину додавали Wos_2O (1,2 екв.) і NaHCO_3 (2,5 екв.) і перемішували при кімнатній температурі протягом 12-24 год. Після видалення діоксану за допомогою ротаційного випарювача водний розчин промивали діетиловим ефіром. Суспензію екстрагували етилацетатом. Отриману сполуку з заблокованою аміно-групою використовували для наступного етапу без додаткового очищення, з упарюванням попередньо розчинника.

Трет-бутил (1-((R₁,R₂-аміно)метил)-3-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-5-тіоксо-1,5-дигідро-4H-1,2,4-триазол-4-іл)карбамати. Розчиняли відповідний трет-бутил (3-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-5-тіоксо-1,5-дигідро-4H-1,2,4-триазол-4-іл)карбамат (0,01 моль) в суміші етанол-діоксану (1:1, 20 мл) додавали формальдегід (40%, 0,05 моль) і перемішували до розчинення компонентів. Потім додавали відповідний амін (0,01 моль) в етанолі (10 мл) і реакційну суміш перемішували протягом доби. Отриману основу Манніха відфільтровували і сушили. Перекристалізацію проводили із суміші етанол-ДМФА (1:1).

4-Аміно-2-((R₁,R₂-аміно)метил)-5-((2,3,4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіони (**4.67-4.84**). 10 ммоль захищеного трет-бутил (1-((R₁, R₂-аміно)метил)-3-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-5-тіоксо-1,5-дигідро-4H-1,2,4-триазол-4-іл)карбамату розчиняли у розчині діоксану з 4 М хлоридною кислотою (1,25 екв.) та перемішували при кімнатній температурі протягом 2 год. Відганяли розчинник у роторному випарювачі, промивали водою та перекристалізували з метанолу.

4-аміно-5-(2-флуорофеніл)-2-((метиламіно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.67**). Вихід 63%, жовта крист. сполука, Т.пл. 143-145°C. ¹H ЯМР-

спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,83 (d, J=7,5, 1H), 7,38-7,35 (m, 3H), 5,87-5,81 (m, 1H), 5,47 (s, 2H), 4,97 (d, J=4,8, 2H), 2,45 (d, J=3,2, 3H). Знайдено, %: C 47,46; H 4,72; N 27,63; S 12,64. $C_{10}H_{12}FN_5S$. Розраховано, %: C 47,42; H 4,78; N 27,65; S 12,66.

4-аміно-2-((етиламіно)метил)-5-(2-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.68**). Вихід 52%, жовта крист. сполука, Т.пл. 144-146°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,89 (dd, J=7,5, 1,6, 1H), 7,35-7,20 (m, 3H), 5,84-5,73 (m, 1H), 5,47 (s, 2H), 5,23 (d, J=6,7, 2H), 2,92-2,84 (m, 2H), 1,15 (t, J=5,4, 3H). Знайдено, %: C 49,40; H 5,25; N 26,24; S 11,97. $C_{11}H_{14}FN_5S$. Розраховано, %: C 49,42; H 5,28; N 26,20; S 11,99.

4-аміно-2-((діетиламіно)метил)-5-(2-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.69**). Вихід 59%, жовта крист. сполука, Т.пл. 138-140°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,90 (dd, J=7,6, 1,5, 1H), 7,54-7,35 (m, 3H), 5,50 (s, 2H), 4,98 (s, 2H), 2,80-2,74 (m, 4H), 1,14 (t, J=4,1, 6H). Знайдено, %: C 52,83; H 6,11; N 23,76; S 10,87. $C_{13}H_{18}FN_5S$. Розраховано, %: C 52,86; H 6,14; N 23,71; S 10,85.

4-аміно-5-(2-флуорофеніл)-2-(((2-гідроксиетил)аміно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.70**). Вихід 57%, жовта крист. сполука, Т.пл. 125-127°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,90 (dd, J=7,5, 1,6, 1H), 7,48-7,21 (m, 3H), 5,84-5,76 (m, 1H), 5,50 (s, 2H), 5,28 (d, J=6,2, 2H), 4,67 (t, J=6.3, 1H), 3,72-3,64 (m, 2H), 3,01 (q, J=7,2, 2H). Знайдено, %: C 46,66; H 4,91; N 24,77; S 11,30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Розраховано, %: C 46,63; H 4,98; N 24,72; S 11,32.

4-аміно-2-((біс(2-гідроксиетил)аміно)метил)-5-(2-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.71**). Вихід 51%, жовта крист. сполука, Т.пл. 145-147°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,82-7,57 (m, 4H), 5,48 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,49 (t, J=7.5 Hz, 2H), 3,74-3,66 (m, 4H), 2,78 (t, J=6.6, 4H). Знайдено, %: C 47,64; H 5,51; N 21,41; S 9,74. $C_{13}H_{18}FN_5O_2S$. Розраховано, %: C 47,69; H 5,54; N 21,39; S 9,79.

4-аміно-5-(2-флуорофеніл)-2-(морфолінометил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.72**). Вихід 42%, біла крист. сполука, Т.пл. 126-128°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,54-7,24 (m, 4H), 5,49 (s, 2H), 5,09 (s, 2H), 3,59 (dd, J=7,4,

4,7, 4H), 2,76 (dd, J=7,5, 4,8, 4H). Знайдено, %: С 50,41; Н 5,24; N 22,68; S 10,32. $C_{13}H_{16}FN_5OS$. Розраховано, %: С 50,47; Н 5,21; N 22,64; S 10,36.

4-аміно-5-(3-флуорофеніл)-2-((метиламіно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.73**). Вихід 59%, жовта крист. сполука, Т.пл. 150-152°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,72-7,65 (m, 2H), 7,50-7,42 (m, 1H), 7,34-7,25 (m, 1H), 6,02-5,95 (m, 1H), 5,46 (s, 2H), 4,97 (d, J=4,9, 2H), 2,49 (d, J=3,2, 3H). Знайдено, %: С 47,48; Н 4,72; N 27,61; S 12,63. $C_{10}H_{12}FN_5S$. Розраховано, %: С 47,42; Н 4,78; N 27,65; S 12,66.

4-аміно-2-((етиламіно)метил)-5-(3-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.74**). Вихід 63%, жовта крист. сполука, Т.пл. 154-156°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,78-7,70 (m, 2H), 7,65 (t, J=2,1 Hz, 1H), 7,46-7,36 (m, 1H), 6,20-6,09 (m, 2H), 5,46 (s, 2H), 5,23 (d, J=6,8, 2H), 2,99-2,91 (m, 2H), 1,15 (t, J=5,4, 3H). Знайдено, %: С 49,40; Н 5,33; N 26,21; S 11,92. $C_{11}H_{14}FN_5S$. Розраховано, %: С 49,42; Н 5,28; N 26,20; S 11,99.

4-аміно-2-((діетиламіно)метил)-5-(3-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.75**). Вихід 68%, жовта крист. сполука, Т.пл. 158-160°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,72-7,64 (m, 2H), 7,51-7,47 (m, 1H), 7,34-7,27 (m, 1H), 5,49 (s, 2H), 4,97 (s, 2H), 2,74 (q, J=4,2, 4H), 1,14 (t, J=4,1, 6H). Знайдено, %: С 52,89; Н 6,11; N 23,73; S 10,81. $C_{13}H_{18}FN_5S$. Розраховано, %: С 52,86; Н 6,14; N 23,71; S 10,85.

4-аміно-5-(3-флуорофеніл)-2-(((2-гідроксиетил)аміно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.76**). Вихід 58%, жовта крист. сполука, Т.пл. 188-190°C. 1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,72-7,64 (m, 2H), 7,52-7,46 (m, 1H), 7,34-7,26 (m, 1H), 6,33-6,29 (m, 1H), 5,50 (s, 2H), 5,28 (d, J=6,2, 2H), 4,67 (t, J=6,3, 1H), 3,64 (t, J=7,3, 2H), 3,09-3,01 (m, 2H). Знайдено, %: С 46,67; Н 4,93; N 24,77; S 11,30. $C_{11}H_{14}FN_5OS$. Розраховано, %: С 46,63; Н 4,98; N 24,72; S 11,32.

4-аміно-2-((біс(2-гідроксиетил)аміно)метил)-5-(3-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.77**). Вихід 55%, жовта крист. сполука, Т.пл. 186-188°C.

^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,73-7,64 (m, 2H), 7,48-7,41 (m, 1H), 7,33-7,26 (m, 1H), 5,46 (s, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,49 (t, J=7,5, 2H), 3,66 (t, J=7,7, 4H), 2,78 (t, J=6,6 Hz, 4H). Знайдено, %: C 47,75; H 5,61; N 15,42; S 9,72. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$. Розраховано, %: C 47,69; H 5,54; N 15,48; S 9,79.

4-аміно-5-(3-флуорофеніл)-2-(морфолінометил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.78**). Вихід 46%, біла крист. сполука, Т.пл. 168-170°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,73-7,65 (m, 2H), 7,52-7,44 (m, 1H), 7,27-7,30 (m, 1H), 5,46 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,59 (dd, J=7,4, 4,7, 4H), 2,76 (dd, J=7,5, 4,8, 4H). Знайдено, %: C 50,43; H 5,26; N 22,61; S 10,32. $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{FN}_5\text{OS}$. Розраховано, %: C 50,47; H 5,21; N 22,64; S 10,36.

4-аміно-5-(4-флуорофеніл)-2-((метиламіно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.79**). Вихід 67%, жовта крист. сполука, Т.пл. 185-187°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,95-7,87 (m, 2H), 7,27-7,19 (m, 2H), 5,95 (m, 1H), 5,47 (s, 2H), 4,97 (d, J=4,9, 2H), 2,49 (t, J=3.2, 3H). Знайдено, %: C 47,48; H 4,72; N 27,69; S 12,64. $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{FN}_5\text{S}$. Розраховано, %: C 47,42; H 4,78; N 27,65; S 12,66.

4-аміно-2-((етиламіно)метил)-5-(4-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.80**). Вихід 77%, жовта крист. сполука, Т.пл. 184-186°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 8,00-7,93 (m, 2H), 7,27-7,19 (m, 2H), 6,20-6,09 (m, 2H), 5,47 (s, 2H), 5,23 (d, J=6,8, 2H), 2,92 (d, J=6,3, 2H), 1,15 (t, J=5,4, 3H). Знайдено, %: C 49,44; H 5,29; N 26,16; S 11,93. $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{FN}_5\text{S}$. Розраховано, %: C 49,42; H 5,28; N 26,20; S 11,99.

4-аміно-2-((діетиламіно)метил)-5-(4-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.81**). Вихід 56%, жовта крист. сполука, Т.пл. 178-180°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 8,00-7,92 (m, 2H), 7,30-7,22 (m, 2H), 5,50 (s, 2H), 4,95 (s, 2H), 2,74 (q, J=4,2, 4H), 1,14 (t, J=4,1, 6H). Знайдено, %: C 52,83; H 6,11; N 23,79; S 10,84. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{S}$. Розраховано, %: C 52,86; H 6,14; N 23,71; S 10,85.

4-аміно-5-(4-флуорофеніл)-2-(((2-гідроксиетил)аміно)метил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.82**). Вихід 66%, жовта крист. сполука, Т.пл. 188-190°C.

^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 8,00-7,93 (m, 2H), 7,28-7,20 (m, 2H), 6,29 (m, 1H), 5,50 (s, 2H), 5,28 (d, J=6,2 Hz, 2H), 4,67 (t, J=6,3, 1H), 3,64 (t, J=7,3, 2H), 3,01 (q, J=7,2, 2H). Знайдено, %: C 46,61; H 5,02; N 24,76; S 11,30. $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{FN}_5\text{OS}$. Розраховано, %: C 46,63; H 4,98; N 24,72; S 11,32.

4-аміно-2-((біс(2-гідроксиетил)аміно)метил)-5-(4-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.83**). Вихід 78%, жовта крист. сполука, Т.пл. 186-187°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,90-7,83 (m, 2H), 7,30-7,22 (m, 2H), 5,53-5,41 (m, 2H), 5,05 (s, 2H), 4,49 (t, J=7,5, 2H), 3,66 (t, J=7,7, 4H), 2,78 (t, J=6,6, 4H). Знайдено, %: C 47,67; H 5,51; N 21,43; S 10,09. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{FN}_5\text{O}_2\text{S}$. Розраховано, %: C 47,69; H 5,54; N 21,39; S 9,79.

4-аміно-5-(4-флуорофеніл)-2-(морфолінометил)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіон (**4.84**). Вихід 76%, біла крист. сполука, Т.пл. 178-180°C. ^1H ЯМР-спектр, δ , м. ч. (J, Гц): 7,91-7,83 (m, 2H), 7,29-7,21 (m, 2H), 5,46 (s, 2H), 5,08 (s, 2H), 3,59 (dd, J=7,4, 4,7, 4H), 2,76 (dd, J=7,5, 4,8, 4H). Знайдено, %: C 50,43; H 5,29; N 21,98; S 10,22. $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{FN}_5\text{OS}$. Розраховано, %: C 50,47; H 5,21; N 22,64; S 10,36.

ВИСНОВКИ

1. Взаємодією 5-(2-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу та 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу з карбонільними сполуками синтезовано ряд нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, деякі з яких було піддано відновленню за допомогою натрій боргідриду.

2. Використовуючи як вихідні сполуки відповідні 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіоли, вперше досліджено їх циклізацію при наявності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі POCl_3 . Синтезовано при цьому ряд проміжних продуктів та нових 3-(2-, 3-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів.

3. Доведено, що реакція між 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолами (2.1, 2.3) та відповідними бромацетопохідними при наявності ізопропанолу перебігає з утворенням 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6- R_2 -7H[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинів. Вперше синтезовано ряд нових 4-аміно-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3H-1,2,4-триазол-3-тіонів.

4. Будова синтезованих сполук у всіх випадках підтверджена комплексним використанням сучасних фізико-хімічних методів аналізу (елементний аналіз, ІЧ-спектроскопія, ЯМР-, мас-спектрометрія), а їх індивідуальність хроматографічно.

5. Досліджуючи електрохімічні властивості похідних 1,2,4-триазолу, вперше науково обґрунтовано доцільність створення іоноселективного електроду на основі 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу.

За матеріалами розділу опубліковано наукові праці [291, 339, 340, 341].

РОЗДІЛ 5

БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ ТА ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 3-, 4-, 5-ТРИЗАМІЩЕНИХ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТІОНІВ

Гетероциклічна система 1,2,4-триазолу входить до складу молекул багатьох лікарських препаратів. Відомі лікарські препарати, наприклад, протівірусної дії (рибавірин, вірамідін), протигрибкової (флуконазол), снодійної (триазолам). Для похідних 1,2,4-триазолу характерний широкий спектр біологічної активності [283]. На сьогодні детально вивчено хімічні властивості і фізіологічна активність азотовмісних гетероциклічних сполук на основі різних функціональних похідних [120]. Особливості біологічної дії похідних 1,2,4-триазолу пов'язані з наявністю каркасного ядра та різних функціональних фармакофорних замісників, які в комплексі визначають можливість безпосередньої взаємодії молекули з біологічними мембранами клітин [262]. Деякі похідні 1,2,4-триазолу знаходять застосування як комплексоутворювачі з катіонами різних металів, оригінальних пластифікаторів, антикорозійних засобів тощо.

5.1 Проведення прогнозування можливих видів біологічної активності синтезованих сполук

Вітчизняна фармацевтична галузь займає значний сегмент в економіці України, визначаючи при цьому національну і оборонну безпеку країни [343]. Протягом останніх років ця галузь демонструє стійку тенденцію до зростання в грошовому вираженні [343, 344].

Розробка нових ефективних синтетичних лікарських засобів вітчизняного виробництва є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки. Кількість нових синтетичних молекул з кожним роком росте. Найбільшої уваги серед величезної кількості нових сполук заслуговують нітрогенвмісні гетероциклічні

системи, а саме – похідні 1,2,4-триазолу. Спектр біологічної активності похідних 1,2,4-триазолу надзвичайно великий, тому нові молекули можуть проявляти дуже різні види активності, володіючи при цьому незначною токсичністю [283]. Послідовно, якісно і цілеспрямовано дослідити кожен вид біологічної активності експериментальним шляхом практично неможливо або дуже складно. Таким чином, раціональним, на нашу думку, було проведення прогнозування біологічної активності нових сполук. Завдяки прогнозуванню мінімізуються матеріальні затрати на проведення будь-яких скринінгових досліджень та можна максимально наблизитись до об'єктивних показників щодо біологічної активності нових молекул [345, 346]. Таким чином, метою нашого подальшого дослідження було прогнозування спектру біологічної активності деяких похідних 1,2,4-триазолу.

1,2,4-Триазоли – перспективний клас гетероциклічних сполук. Цьому твердженню є аргументоване пояснення у вигляді різних наукових публікацій [115, 117, 125]. Похідні 1,2,4-триазолу активно застосовуються як компоненти при створенні нових ліків, засобів захисту рослин, полімерних матеріалів, антикорозійних засобів тощо. Хімічне моделювання заміщених 1,2,4-триазолу за рахунок введення до структури різних фармакофорів користується великою популярністю серед науковців різних напрямів. Така стратегія створює сприятливі умови на шляху цілеспрямованого пошуку біологічно активних молекул з найменшими показниками токсичності, а впровадження в практику найперспективніших сполук однозначно доводить пріоритетність саме 1,2,4-триазолів у цьому напрямі. На сьогодні відомо, що деякі S-похідні 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів володіють протимікробною активністю та нескладні в синтезі [347]. Було дуже цікаво науково довести можливість існування інших видів біологічної активності у похідних 1,2,4-триазолу, а також встановити певні закономірності між хімічною структурою та біологічною активністю. Тому подальша роботи була орієнована на аналіз залежності між прогнозованою

біологічною активністю та хімічною структурою S-похідних 1,2,4-триазол-3-тіонів.

Комп'ютерний віртуальний скринінг сполук проведено за допомогою онлайн-сервісу Way2Drug та SwissTargetPrediction – це швейцарський веб-інструмент, який працює з 2014 року і дає можливість прогнозувати найбільш ймовірні білкові мішені для малих молекул. Прогнози виконуються шляхом пошуку подібних молекул, у просторових конформаціях на розширеному наборі 3068 високомолекулярних білкових мішеней. Отримана сумісність дозволяє з високою точністю прямо прогнозувати будь-яку вхідну молекулу до проектування лікарських засобів за допомогою даного методу, розробленого Швейцарським інститутом біоінформатики SIB.

Стратегія аналізу прогнозування можливих видів біологічної активності вперше синтезованих 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів та їх похідних полягала в профеденні ADME-фільтрів і відокремили сполуки, що за критеріями Ліпінського (Lipinski «rule of 5») та інших чотирьох фільтрів дозволило обрати близько 275 сполук. На сучасному етапі є немало основних синтетичних підходів до синтезу 1,2,4-триазолу, який проявляє високу біологічну активність: антибактеріальну, фунгіцидну, протизапальну, протиракову, противірусну, протималарійну тощо [283].

Комп'ютерний прогноз біологічної активності за допомогою онлайн-версії програми Way2Drug показав, що більш перспективні тіопохідні 4-R-5-R₁-1,2,4-триазол-3-тіонів [345, 346]. Синтез, фізико-хімічні властивості деяких 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів та їх похідних описано авторами у роботі [348, 349]. Тому нами ці сполуки було ресинтезовано за відомою методикою з метою їх подальшого біологічного випробування.

На основі даних комп'ютерного прогнозу є ймовірність прояву противірусної, антибактеріальної, діуретичної, актопротекторної та антиоксидантної активності. Результати комп'ютерного прогнозу біологічної

активності серед 4-R-5-R₁-1,2,4-триазол-3-тіонів та їх похідних наведено в табл. 5.1.

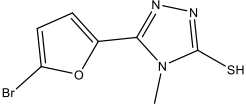

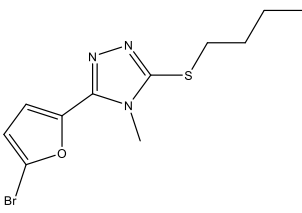

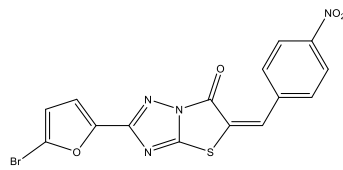
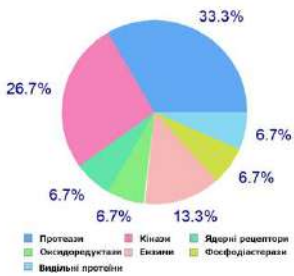
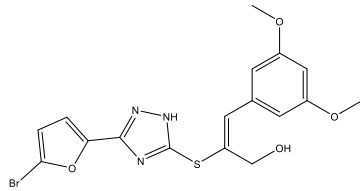
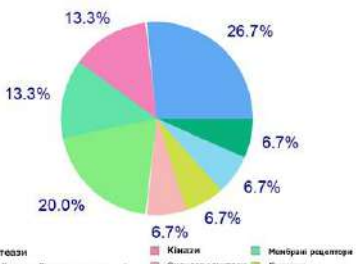
Таблиця 5.1

**Діапазон прогнозованої біологічної активності серед
4-R-5-R₁-1,2,4-триазол-3-тіонів**

Біологічна активність	Кількість сполук	Межі вірогідності наявності дії, P _a	Межі вірогідності відсутності дії, P _i
Протипухлинна	156	0,592-0,913	0,001-0,124
Антибактеріальна	206	0,414-0,912	0,003-0,088
Актопротекторна	77	0,568-0,626	0,004-0,124
Антиоксидатна	63	0,540-0,630	0,023-0,063
Фунгіцидна	195	0,432-0,688	0,006-0,062
Діуретична	98	0,304-0,593	0,011-0,047

Використання SwissTargetPrediction дозволило сформувавши мету пошука біологічної активності в ряду 5-(5-бромофуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів на основі комбінації просторових показників подібності з відомими лігандами. Прогнозування відбувалось на мішенях людського організму та різноманітними ферментами. Комп'ютерний прогноз активності у SwissTargetPrediction серед похідних 4-R-5-R₁-1,2,4-триазол-3-тіонів вказує на перспективність 5-(5-бромуфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів та їх заміщених. Деякі результати прогнозованої активності наведено в табл. 5.2.

Біологічна активність 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів

Сполука	Загальна структура сполук, класи сполук	Діаграма цільових класів похідних
5.1		
5.2		
5.3		
5.4		

Аналізуючи прогноз біологічної активності на білкові мішені з групи ферментів, можна сказати що похідні 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-триазол-3-тіолів активні до групи оксидоредуктаз (мітохондріальна глутатіонредуктаза; циклооксигеназа-2; фактор пролілгідроксилази-2), що каталізують реакції

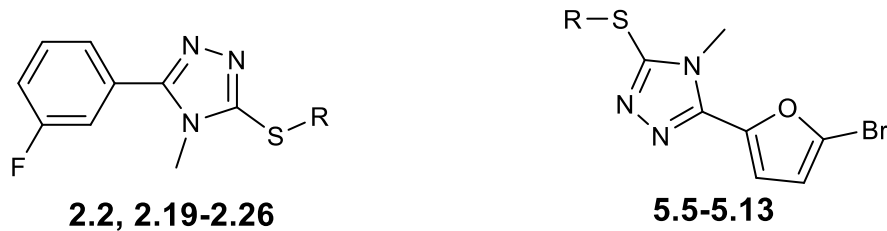
окиснення. Потенційно дані сполуки можуть проявляти антиоксидантну активність, антигіпоксичну та інші. Варто відмітити також, що активність сполуки може каталізуватися ферментом цитохром Р450, до якого проявляють активність сполуки, і складати основу окисного гідроксилювання багатьох гідрофобних субстратів екзогенного та ендogenousного походження (мікросомальне окиснення). Також сполуки проявляють активність до інгібування ангіотензинперетворювального ферменту, який є важливим елементом ренін-ангіотензинової системи – регулятора артеріального тиску в кровеносній судині ссавців, зокрема людини.

1,2,4-Триазол метаболістично стійкий і є важливим фармакофором, що підвищує розчинність та покращує фармакокінетику та фармакодинаміку [332, 348, 349]. Фермент гістидин-кіназа займає вирішальне місце для вірулентності грибкових штамів, що є причиною виникнення кандидозу у людей. В людському організмі відсутня дана двокомпонентна система і тому вона мішень для протимікробних препаратів при лікуванні кандидозу.

Метою подальшої роботи було провести молекулярний докінг та оцінити біодоступність на прикладі деяких S-алкілпохідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромфуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолів *in silico* методами, перспективних як об'єктів досліджень біологічних властивостей щодо інгібіторів «ЕС 2.7.13.3 Histidine kinase» [345, 346]. Як об'єкти дослідження було обрано ряд похідних **2.2**, **2.19-2.26** та деякі похідні, які містять фрагмент бромфурану (**5.5-5.13**, рис. 5.1).

Полярне ядро 1,2,4-триазолу підвищує розчинність лігандів і покращує фармакокінетичний та фармакодинамічний профіль лікарських препаратів [346]. Двокомпонентна регуляторна система (TCS) складається з сенсорного білка (рецептор) і білка регулятора відповіді (ефектор). Домен гістидин кінази може бути активований на відповідь при зв'язуванні з рецепторним доменом. Фосфат в

ефекторному білку переноситься з рецептора на аспарагін (Asp) для активації регулятора реакції (рис. 5.2).



2.2 R = H; **5.6** R = C₂H₅; **5.5** R = CH₃; **2.19** R = C₃H₇; **2.20, 5.7** R = C₄H₉;
2.21, 5.8 R = C₅H₁₁; **2.22, 5.9** R = C₆H₁₃; **2.23, 5.10** R = C₇H₁₅; **2.24, 5.11** R = C₈H₁₇;
2.25, 5.12 R = C₉H₁₉; **2.26, 5.13** R = C₁₀H₂₁;

Рис. 5.1. Хімічна структура досліджуваних сполук

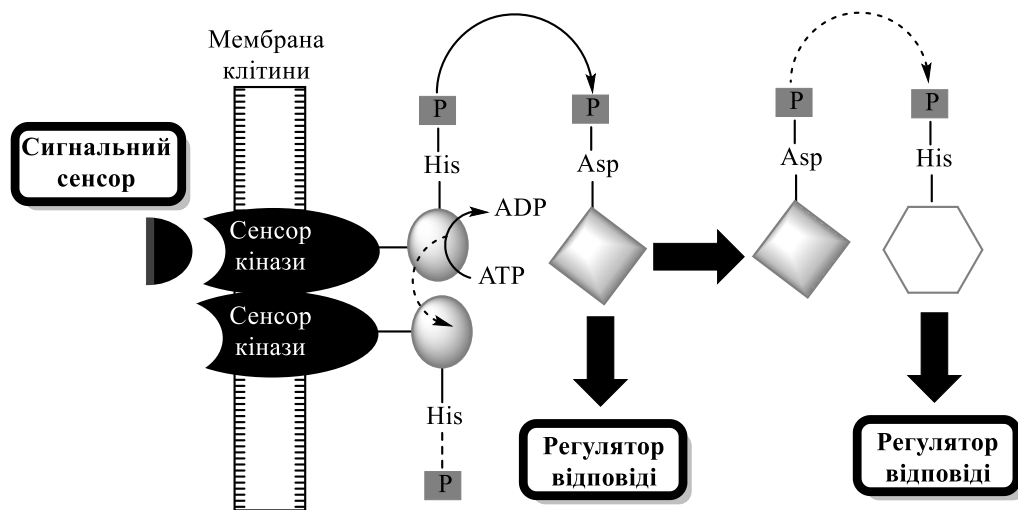


Рис. 5.2. TCS для аутофосфорилювання трансмембранної «ЕС 2.7.13.3 Histidine kinase»

Тому предметом подальших досліджень стали S-алкілпохідні 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромофуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіоли, як найперспективніших у цьому ряді. Синтез сполук здійснено нами за загальновідомою методикою в рамках виконання представленої роботи.

Синтез, фізико-хімічні властивості деяких S-похідних 5-(5-бромофуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолів було описано науковцями у працях [348, 349].

Нами було ці сполуки ресинтезовано з метою їх подальшого біологічного дослідження. Структура синтезованих сполук наведена на рис. 5.1.

Комп'ютерне моделювання було проведено на ферменті «ЕС 2.7.13.3 Histidine kinase» (код : 1A0B). Сітка поля охоплювала всю ділянку ферменту.

Біодоступність. ADME дослідження проведені за допомогою SwissADME. Діапазон молекулярних дескрипторів адаптованими за характеристиками і зображеними як рожева зона, в якій радіолокаційна ділянку молекули повина потрапляти по периметру. Попередня оцінка біологічного потенціалу синтезованих сполук наведені у вигляді гістограми (рис. 5.3).

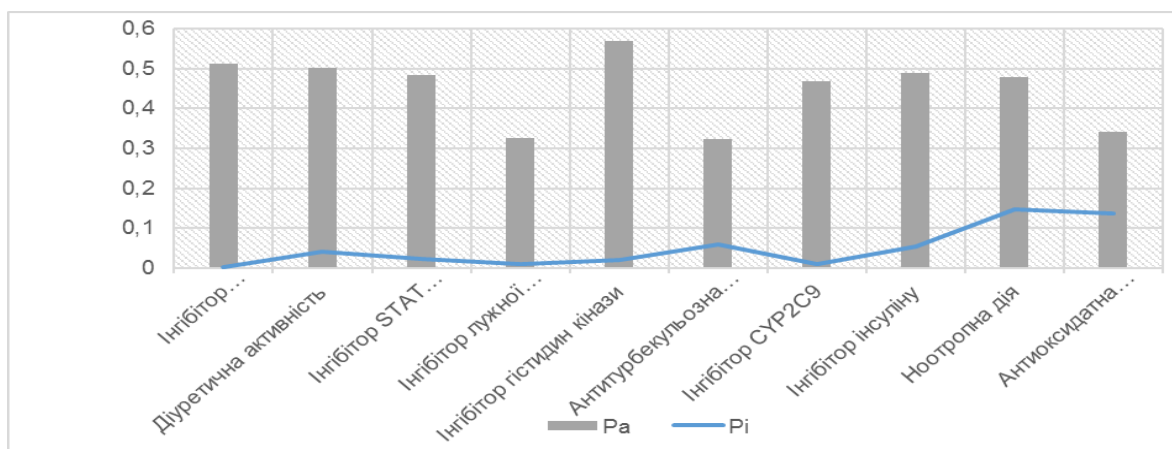


Рис. 5.3. Результати прогнозу біологічної активності S-алкілпохідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромофуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолів

Комбінуючий підхід з використанням віртуального скринінгу і досліджень *in silico* дозволило спрогнозувати просторові особливості ліганду до зв'язування в активному центрі ферменту. Отримані результати комбінованого підходу обраних сполук на активном центрі ферменту гістидин-кінази наведено на рис. 5.4.

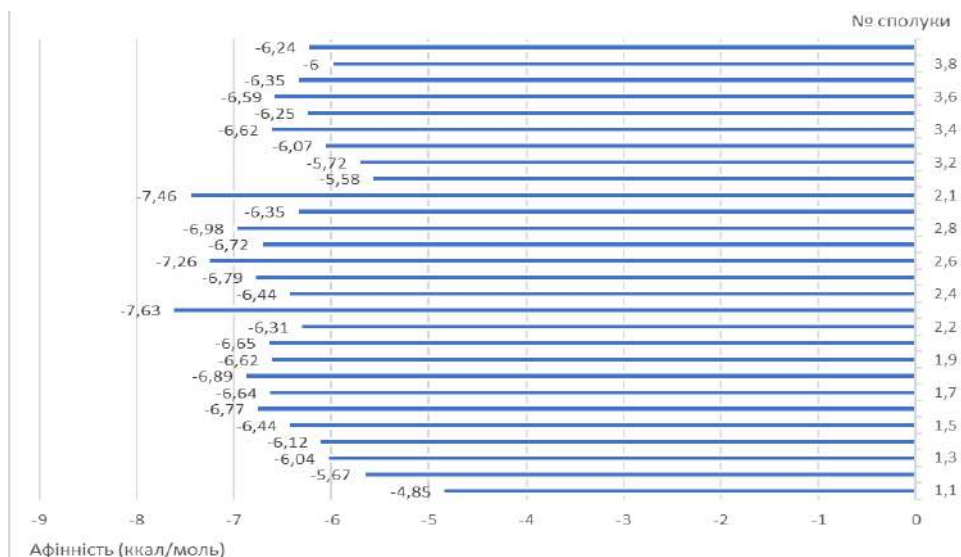


Рис. 5.4. Спорідненість S-алкілпохідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромофуран-2-іл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-тіолів до ферменту «EC 2.7.13.3 Histidine kinase»

Висока афінність сполук проявляється до ферменту гістидин-кінази, а сполуки **2.25** (-6.89 ккал/моль), **5.8** (-6.62 ккал/моль) проявили найбільшу спорідненість до нього. Результати молекулярного докінгу наведені у табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Результати молекулярного докінгу отриманих в програмі Autodock 4.2.6

Сполука	Афінність (ккал/моль)	Кількість водневих зв'язків	Водневі зв'язки	Гідрофобні зв'язки
2.25	-6.89	0	—	VAL A:765; MET A:755; HIS A:761; ARG A:760, 727; LEU A:662, 726, 732, 729
5.8	-6.62	0	—	PHE A:687; GLU A:758; HIS A:761; LEU A:662, 726; ALA A:720

Ліганд з активним центром взаємодії складно та зв'язок забезпечен міжмолекулярними взаємодіями з молекулами води та амінокислотними залишками ферменту. Важливою особливістю зв'язку з ферментом є наявність атому Сульфуру при 1,2,4-триазолі, які утворюють водневі зв'язки з НОН А:816 в активному місці ферменту з достатньо високою спорідненістю і є найкращою конформацією молекулярного докінгу (рис. 5.5).

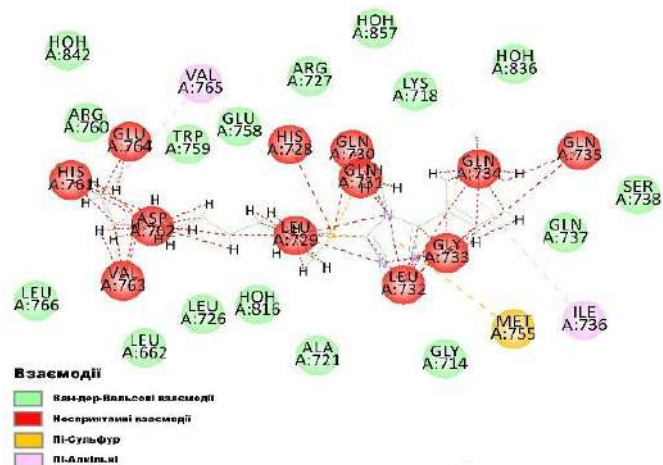
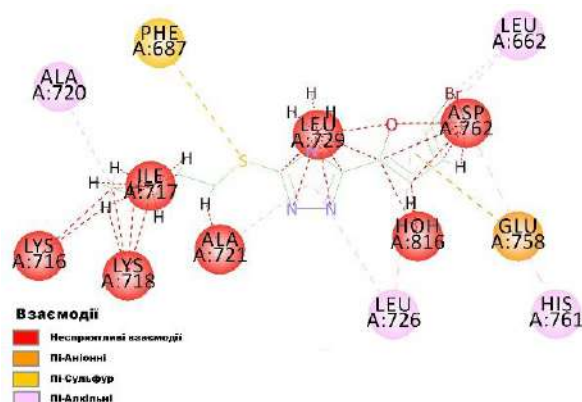
сполука **2.25**сполука **5.8**

Рис. 5.5. Мережа взаємодії між ферментом «EC 2.7.13.3 Histidine kinase» та обраними сполуками

Візуалізація 3D структури комплексу «ліганд-фермент» наведена на рис. 5.6.

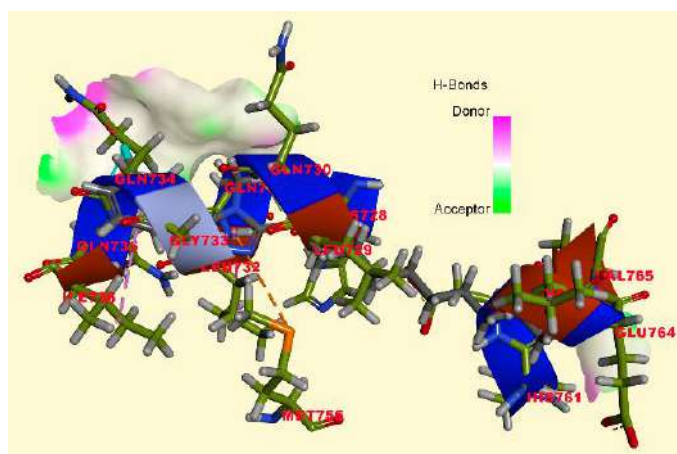
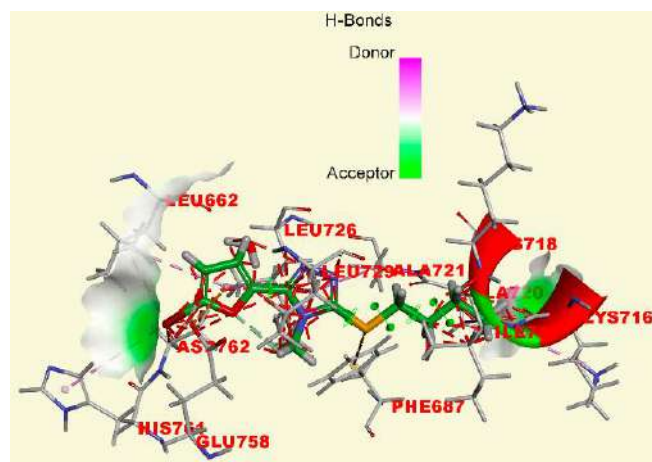
сполука **2.25**сполука **5.8**

Рис. 5.6. Візуалізація 3D структури комплексу «ліганд-фермент»

Біодоступність сполук показана на рис. 5.7, де сіра зона представляє оптимальний діапазон для кожної сполуки для прояву біологічної активності. Діапазони визначені молекулярними дескрипторами у сірій зоні, в якій ділянка молекули повинна повністю потрапляти в периметр.

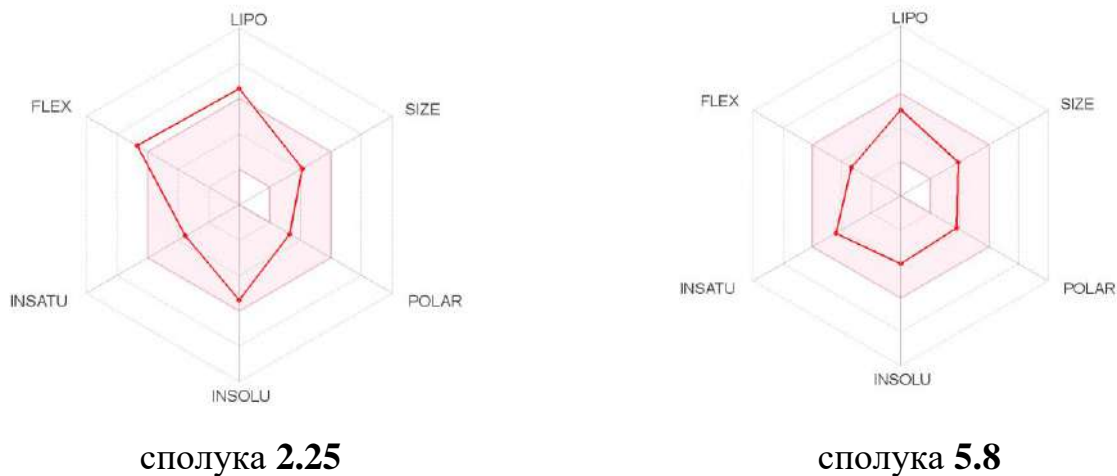


Рис. 5.7. Профіль біодоступності сполук

Найбільш оптимальними для прояву біологічної активності на основі дескрипторів володіють сполуки **2.25** та **5.8**.

Комп'ютерний прогноз демонструє перспективність пошуку ноотропної дії та діуретичної, антитурбекульозної активності у ряду даних сполук. Важливим фактором досліджуваних сполук є відсутність у них високої токсичності, терато-, канцеро-, мутагенності та ембріотоксичності. У сполук спостерігається більш направлена дія – інгібітор гістидин кінази та діуретична дія. За рахунок зміни у S-положенні 1,2,4-триазольного ядра замісника прогнозується збільшення активності інгібування гістидин кінази та поява індивідуальних видів активностей.

На рис. 5.5 видно, що атоми у бічних замісниках 1,2,4-триазолу приймають участь у взаємодії з ферментом. Поверхня донора Н-зв'язку навколо активного центр є комплементарною акцепторної / донорної області водневого зв'язку активного сайту, таким чином, що основним структурним елементом є кільце

1,2,4-триазолу та бічний алкільний радикал. На основі отриманих даних, необхідна структурна модифікація 1,2,4-триазолу за положенням атому Сульфуру.

5.2 Обговорення гострої токсичності синтезованих сполук

Поєднання гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу та флуорофенільних замісників створює сприятливі умови для пошуку нових цікавих молекул [341]. Окрім цього, також відомо, що додаткове введення аміногрупи може позитивно впливати на властивості фторфенілпохідних 1,2,4-триазолу [291], а заміна ароматичних фрагментів на гетероциклічні (тіофен або бромфуран) позитивно впливає на розчинність, зменшує токсичність та потенційно може збільшувати види фармакологічної активності нових молекул [345, 346, 350].

5.2.1 Комп'ютерні методи дослідження гострої токсичності та побудова QSAR-моделей для нових похідних 1,2,4-триазолу. Кількісне прогнозування токсичності за допомогою відношень кількісної структурної активності (QSAR) за останні роки розвинулось до такої міри, що передбачення можна використовувати для визначення відсутніх значень порівняння в базі даних речовини. Загалом, чим менше значення LD_{50} , тим токсичніша хімічна речовина, і чим більше значення LD_{50} , тим нижча токсичність. Актуальність дослідження залежності «структура – гостра токсичність» у рядах новосинтезованих похідних 1,2,4-триазолу обумовлена синтезом потенційних низькомолекулярних активних фармацевтичних субстанцій, пошуком молекулярних дескрипторів їх структури, важливих для встановлення закономірностей «структура – гостра токсичність», як системи оцінки біологічних ефектів сполук. Тому стратегічно та економічно обґрунтованим є першочергове прогнозоване дослідження саме гострої токсичності синтезованих сполук.

Комп'ютерні методи дослідження гострої токсичності та побудова QSAR-моделей. Віртуальне оцінювання проводили QSAR-аналізом за допомогою

регресійного аналізу. Для виконання окремих етапів QSAR-аналізу було використано ряд програмних засобів, таких як: PaDEL-Descriptor (програмне забезпечення для розрахунку 1875 молекулярних дескрипторів; геометрії 3D-стану були повністю оптимізовані, використовуючи напівемпіричний квантово-хімічний метод MM2) та BuildQSAR (побудова регресійних QSAR-моделей на основі розрахованих дескрипторів та експериментальних даних). У QSAR-моделях використовувалось 906 дескрипторів, що мали не нульові значення та були взаємно корельованими.

Використання сторонніх програм GUSAR дозволило також побудувати моделі «структура – токсичність» та спрогнозувати LD₅₀. В програмі кожна сполука представлена у вигляді дескрипторів MNA, що використовуються в якості вхідних параметрів [345]. T.E.S.T. оцінює токсичність з використанням різноманітних методологій QSAR, таких як ієрархічна кластеризація, MDL FDA, найближчий сусід і консенсусна модель, яка є просто середнім значенням прогнозованої токсичності з інших методологій [345]. Необхідні дескриптори обчислюються без використання будь-яких зовнішніх програм. Структуру хімічної речовини можна просто ввести за допомогою кількох інструментів, включаючи вікно хімічного ескізу, текстовий файл, що містить позначення SMILES, або імпортуючи його з бази даних структур. Після введення в структуру токсичність хімічної речовини можна оцінити за допомогою однієї з кількох передових методологій. T.E.S.T. 5.3.1 містить значення LD₅₀ з 7420 хімічних речовин.

Проведений QSAR-аналіз гострої токсичності сполук похідних 1,2,4-триазолу за допомогою регресійної моделі будувався на експериментально досліджених сполуках ряду 3-(2-, 3-флуорофеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів [353]. Трипараметричні математичні QSAR-моделі було побудовано за методикою систематичного пошуку з

використанням програми BuildQSAR. Найкращі статистичні QSAR-моделі для гострої токсичності, що мають високу достовірність, наведено нижче:

$$\text{LD50} = -422,2471 (\pm 62,6040) \text{VR3_Dze} + 3421,7658 (\pm 644,5727) \text{SpMin8_Bhv} + 11750,3490 (\pm 2131,1317) \text{SpMin2_Bhi} - 18556,5840 (\pm 3498,2723) \text{ (Модель 1)}$$

$$\text{LD50} = +39551,7273 (\pm 7436,0335) \text{AATSC7e} + 395,6349 (\pm 174,9008) \text{minsF} + 3111,5617 (\pm 478,1675) \text{MLogP} - 11391,2211 (\pm 2825,1086) \text{ (Модель 2)}$$

$$\text{LD50} = +37465,5679 (\pm 7713,9179) \text{AATSC7e} + 2004,6652 (\pm 978,6401) \text{GATS6i} + 3103,9085 (\pm 510,0381) \text{MLogP} - 7937,7630 (\pm 1632,4251) \text{ (Модель 3)}$$

Проведений багатофакторний лінійний регресійний аналіз засвідчив, що молекулярними дескрипторами похідних 1,2,4-триазолу для прояву токсичності сполуки здійснюється комбінацією 2D-дескрипторів, а саме, що характеризують когерентний коефіцієнт по молекулярній масі (GATS6i), ліпофільність молекул (MLogP, ALogp2), просторових автокореляційних параметрів (AATSC7e, SpMin8_Bhv, SpMin2_Bhi), електротопологічного стану (VR3_Dze) та наявності в сполуках атому Флуору (minsF). Даний набір дескрипторів демонструє доволі складні зв'язки в молекулах та наявність певних специфічних угруповань, що призводять до підвищення токсичності.

Оцінювали регресійні QSAR-моделі за коефіцієнтом перехресної оцінки q^2 . Для кожної моделі отримано також середньоквадратичну помилку прогнозу (SPress), похибку стандартного відхилення в прогнозуванні (SDEP) і квадрат коефіцієнта кореляції (R^2). Ефективна QSAR-модель була при значенні $R^2 > 0,6$ та $q^2 > 0,5$ для прогнозування гострої токсичності нових сполук.

Таким чином, на основі статистичних параметрів, представлених нами для індивідуальних прогнозуючих QSAR-моделей у табл. 5.4, можна зробити висновок про їх доцільність використання для визначення гострої токсичності потенційно нових похідних 1,2,4-триазолу.

Даний висновок підтверджується високим показником коефіцієнта перехресної оцінки – q^2 , який визначений для всіх моделей у межах 0,891-0,945 та статистичної значущості отриманих моделей.

Таблиця 5.4

Статистичні показники моделей гострої токсичності LD₅₀ сполук

Моделі	Статистичні показники					
	¹ q ²	² R ²	³ SPress	⁴ SDEP	⁵ p	⁶ F
Модель 1	0,945	0,984	92,774	82,980	< 0,0001	119,560
Модель 2	0,893	0,972	129,891	116,178	< 0,0001	68,329
Модель 3	0,891	0,968	130,752	116,948	< 0,0001	59,616

Примітка. ¹q² – коефіцієнт перехресної оцінки; ²R² – квадрат коефіцієнта кореляції; ³SPress – середньоквадратична помилка прогнозу; ⁴SDEP – похибка стандартного відхилення в прогнозуванні; ⁵p – статистична значущість; ⁶F – критерій Фішера

Цей висновок підтверджує і графічний результат (рис. 5.8) встановленого співвідношення експериментальних значень LD₅₀ (мг/кг) та передбачених значень LD₅₀ (мг/кг) гострої токсичності в QSAR-моделі № 1, значення якого для більшості сполук (95%) знаходиться в межах лінії тренду.

Варто зазначити, що на рис. 5.9 представлена залежність вибірки експериментальної (тренінгової, N training) та прогнозованої (тестової, N test), які ідентично співвідносяться між собою.

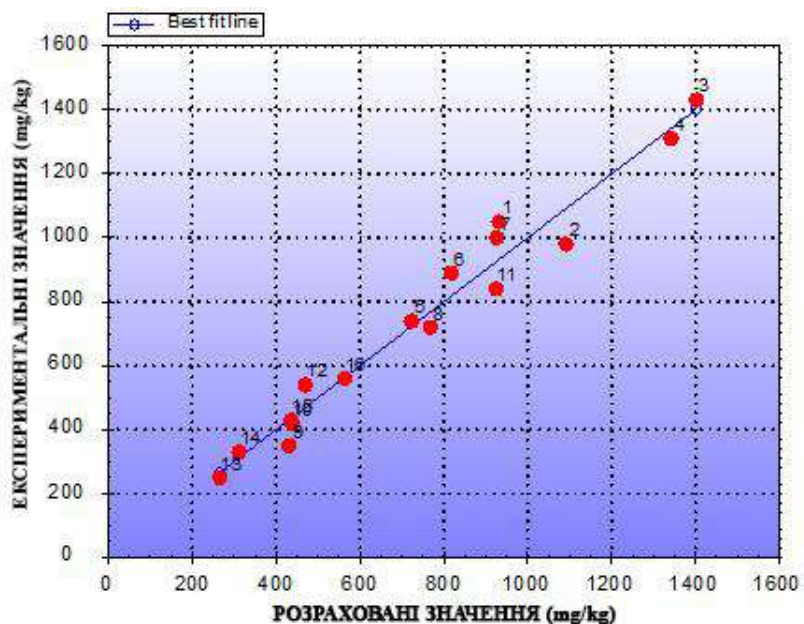


Рис. 5.8. Кореляційна залежність значення LD_{50} між розрахованими та експериментальними значеннями в QSAR-моделі № 1



Рис. 5.9. Кореляційна залежність експериментальної та розрахованої вибірки при використанні QSAR-методу

Можна стверджувати, що спостерігається незначна різниця між показниками гострої токсичності, які одержано як позаекспериментальним, так і експериментальним методами. Даний факт говорить про перспективність використання комп'ютерного аналізу гострої токсичності методом QSAR при подальших дослідженнях та дизайні нових біологічно активних сполук в ряду

похідних 1,2,4-триазолу. Отримані значення показників гострої токсичності наведені у табл. 5.5, розраховані різними комп'ютерними методами.

Таблиця 5.5

Статистичні показники моделей гострої токсичності LD₅₀ сполук

Сполуки	Розраховані значення гострої токсичності різними прогностичними методами, LD ₅₀ (мг/кг)		
	QSAR	Gusar	T.E.S.T. (Oral)
1	2	3	4
2.9	504,3	435,5	724,66
2.10	719,1	601,3	499,13
2.11	1605,2	647,6	567,66
2.12	1628,6	579,7	526,84
2.13	1849,6	621,1	1130,48
2.14	1826,1	591,9	1131,25
2.15	1564,1	591,5	1056,06
2.16	1624,8	549,6	1023,06
2.19	393,3	352	515,81
2.20	596,4	464,7	714,2
2.21	1720,8	875,1	635,08
2.22	1945,6	1204	865,7
2.39	367,6	342,5	432,25
2.60	1342,0	527,9	350,58
2.61	2417,4	636	478,54
2.62	2215,2	677,7	309,31
2.68	1779,8	807,4	514,51
2.69	1330,0	732,2	481,88

1	2	3	4
2.70	1492,3	932,2	517,65
2.87	1463,4	347	453,65
2.88	1920,6	1412	0
2.89	2058,1	427,6	530,18
2.90	2152,5	458,2	534,05
2.93	2560,5	351,4	623,34
2.94	1769,6	733,6	0
2.95	2207,7	365,3	576,68
2.96	1540,0	293,9	620,31
2.112	406,3	1115	1069,24
2.113	644,0	1184	1355,97
2.114	83,6	816,8	1303,62
2.115	25,0	404,7	935,82
2.116	120,3	589,9	917,78
2.117	585,2	1029	1692,66
2.118	807,9	1296	856,39
2.119	462,9	485,8	1338,29
2.120	1181,9	913	1250,68
2.121	432,8	385,8	1589,27
2.122	894,3	666,6	1481,48
2.123	560,2	293,8	–
2.125	684,2	616,7	–
2.128	827,2	600,8	–
2.132	1558,4	829,4	–
2.135	725,0	382,4	–

1	2	3	4
2.140	1133,3	468,5	–
3.9	1561,3	327,4	–
3.10	1561,3	341,4	–
3.11	1561,3	329,4	–
3.12	1561,3	355,4	–
3.13	1561,3	355,4	–
3.14	1561,3	353,4	–
3.15	1049,5	797,6	496,64
3.16	124,2	1212	764,92
3.17	808,8	785,1	808,74
3.18	937,4	482,9	739,34
3.19	655,2	1017	998,58
3.20	1060,2	546,1	1037,3
3.21	1135,5	647,7	1268,74
4.1	2191,4	847,5	–
4.2	1701,4	1928	–
4.3	1954,6	1106	–
4.4	1877,1	590,7	–
4.6	2027,2	848	–
4.7	1746,6	606	–
4.8	1773,6	690,5	–
4.9	2412,3	877,9	–
4.10	1624,8	827,6	–
4.11	1935,3	1090	–

1	2	3	4
4.12	1931,9	1067	–
4.32	1916,2	589,3	–
4.33	2177,7	615,7	–
4.34	1415,7	930,1	–
4.35	1405,8	986,6	–
4.61	283,5	554,6	615,31
4.62	1999,5	1020	804,82
4.63	1980,8	854,5	614,25
4.64	2041,7	902,1	733,49
4.65	347,6	807,7	535,43
4.66	1943,9	681,5	981,05
4.67	488,5	619,5	–
4.68	469,1	558,7	–

Наступним кроком було дослідження кореляційної залежності між різними моделями гострої токсичності та молекулярної маси. Було обрано дескриптор молекулярну масу, бо він є дуже важливим критерієм у будь-яких аспектах сполуки, в тому числі при розрахунку дози токсичності. Статистичні показники отриманих моделей представлено в табл. 5.6, відповідні графічні зображення на рис. 5.10. Виходячи з отриманих моделей і статистичних показників, можна стверджувати про кореляційну залежність між молекулярною масою та моделлю LD50_Model (QSAR), що розрахована і запропонована.

Статистичні показники кореляцій моделей гострої токсичності LD₅₀ сполук з їх молекулярними масами

Моделі	Статистичні показники			
	¹ χ ²	² R ²	³ t	⁴ probit
LD50_Model (QSAR)	0,11008	0,01212	1,42902	82,980
LD50_Model Gusar	0,22033	0,04855	1,99495	0,04954
LD50_Model T.E.S.T.	0,18118	0,03283	0,35272	0,72525

Примітка. ¹χ² – критерій узгодженості Пірсона; ²R² – квадрат коефіцієнта кореляції; ³t – t-критерій Стьюдента; ⁴SDEP – пробіт-аналіз, квантильна функція, пов'язана зі стандартним нормальним розподілом

Отримані експериментальні дані також мають однакову залежність з молекулярною масою. На жаль, інші моделі мають меншу статистичну значущість, але на відміну від нашої моделі мають більш широке застосування. На нашу думку QSAR-моделі необхідні для ефективного створення цілеспрямованих моделей, що враховують особливості даного класу та їх відповідні залежності. Отже, можна стверджувати, що QSAR-модель № 1 має високі статистичні дані та може бути використана для розрахунку гострої токсичності в даних рядах похідних 1,2,4-триазолу і в подальших дослідженнях.

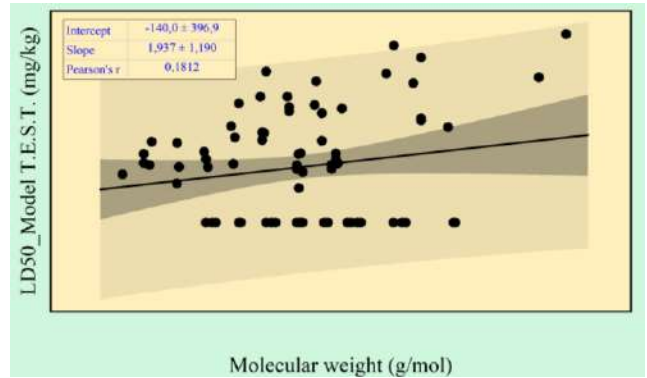
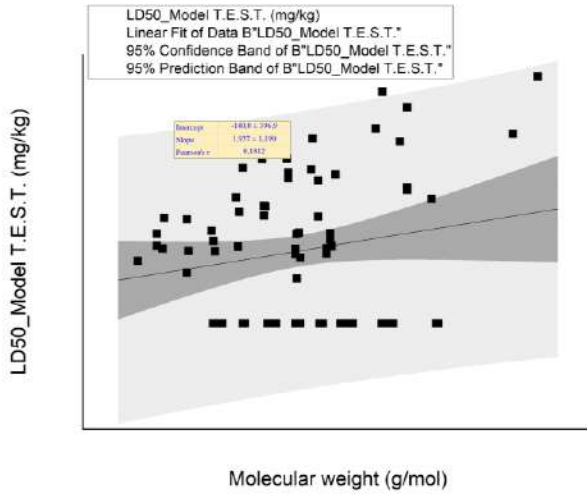
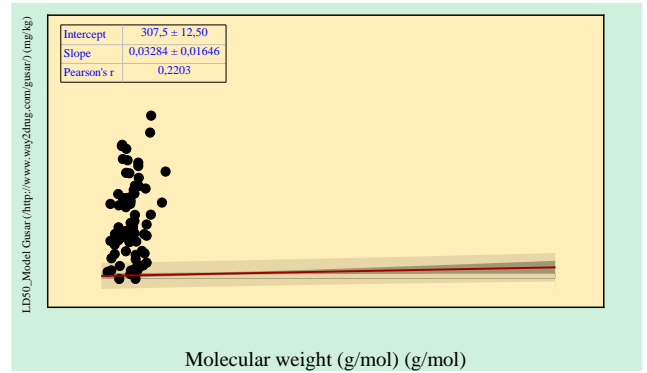
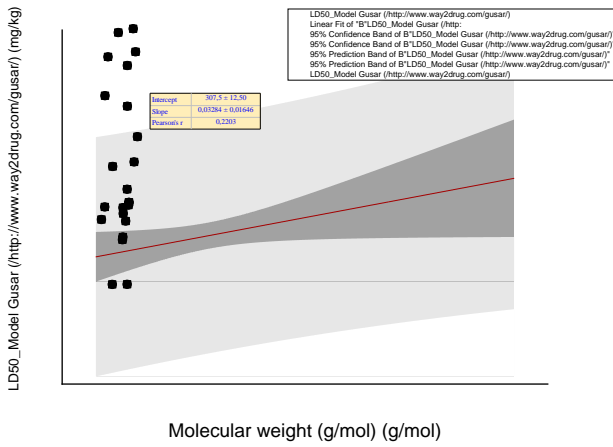
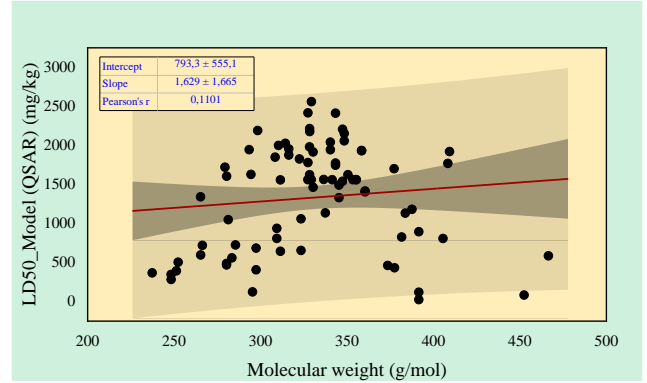
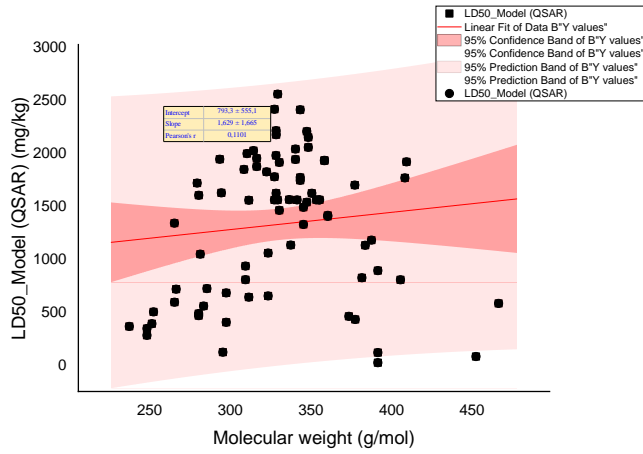


Рис. 5.10. Графіки кореляцій моделей гострої токсичності LD₅₀ сполук з їх молекулярними масами

5.2.2 Дослідження гострої токсичності похідних 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів. Метою подальшої роботи було вивчення гострої токсичності ряду нових похідних 1,2,4-триазолу з залишками фторфенільних, тіофен- та бромфуранвмісних фрагментів, встановлення деяких закономірностей між будовою сполук та показниками їх токсичності, а також впливу різних фрагментів відповідних молекул на показники токсичності. Дослідження, щодо токсичності були проведені на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д.вет.н., професора Киричка Б. П.

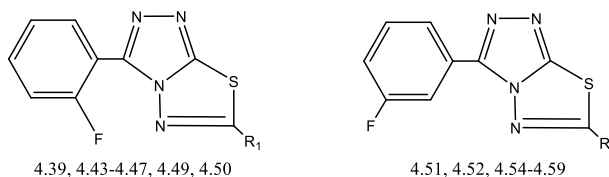
При дослідженні гострої токсичності були використані вперше синтезовані похідні 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів (табл. 4.5). Оцінка параметрів гострої токсичності нами була проведена на білих щурах масою 170-220 г, яким одноразово внутрішньоочеревинно вводили досліджувані сполуки. Щури отримані з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Тварини утримувалися на стандартному раціоні харчування, при природному світловому режимі «день-ніч» [353]. Дослідження проводили з урахуванням «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)». При дослідженні гострої токсичності кожної сполуки вивчали в діапазоні чотирьох доз, кожну з яких випробовували на 2-х тваринах. Наступне спостереження складало 14 діб, при якому аналізували характер і тривалість інтоксикації і кількість загиблих тварин.

Аналізуючи результати проведеного експериментального дослідження гострої токсичності 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів (табл. 5.7), встановлено, що найтоксичнішою сполукою серед відповідних 1,2,4-триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів виявилась сполука **4.58**, LD₅₀ якої становить 250 мг/кг, що належить до IV класу токсичності сполук, можливо це пов'язано із наявністю нітрофенільного замісника. Найменший показник

гострої токсичності виявився у сполуки **4.43**, LD₅₀ якої дорівнює 1430 мг/кг. Перехід від 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів до 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів істотно впливає на показники гострої токсичності в бік їх збільшення (**4.49**, **4.50**, **4.59**). Найбільші залежності між будовою синтезованих сполук та показниками їх токсичності пов'язані із наявністю структурних залишків при тіадіазоловому «ядрі».

Таблиця 5.7

Гостра токсичність 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-R₁-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів



Сполука	LD ₅₀ ±S _{LD50} , МГ/КГ	Сполука	LD ₅₀ ±S _{LD50} , МГ/КГ
4.39	1050±65	4.51	980±53
4.43	1430±65	4.52	1310±75
4.44	740±54	4.54	890±74
4.45	1000±47	4.55	720±95
4.46	350±35	4.56	420±54
4.47	840±40	4.57	540±34
4.49	250±23	4.58	330±42
4.50	430±25	4.59	560±46

Якщо розглядати окремо ряд 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів можна встановити певні закономірності. По-перше, введення до молекул 2-метоксифенільного замісника призводить до зменшення гострої

токсичності (**4.43**, **4.52**) і цей показник суттєво не змінюється при переході від 3-(2-фторфеніл)-6-(2-метоксифеніл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.43**) до 3-(3-фторфеніл)-6-(2-метоксифеніл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.52**). Низькі показники токсичності також притаманні 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(феніл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолам (**4.39**, **4.51**), тобто введення фенільного радикалу не підвищує токсичності сполук, цей показник знаходиться в межі 960-1050 мг/кг.

Ситуація змінюється при хімічній модифікації ароматичного замісника при тіадіазоловому «ядрі». Додаткове введення атомів Бром та Фтору призводить до різкого збільшення токсичності (**4.44**, **4.54**), а заміна атому Фтору на нітрогрупу ще більш впливає на збільшення токсичності (**4.46**, **4.56**).

Окрема модифікація 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів за рахунок одночасного приєднання метоксифенільної групи та атому Брому незначно зменшує гостру токсичність речовин (**4.47**, **4.57**). Аналіз показників гострої токсичності 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів не виявив суттєвих впливів замісників на ці результати.

Однак, перехід від 3-(2-фторфеніл)-6-(піридин-4-іл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.50**) до 3-(3-фторфеніл)-6-(піридин-4-іл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.59**) дещо зменшує гостру токсичність, але цей показник входить в межі статистичних відхилень.

Цікава закономірність простежується при переході від 3-(2-фторфеніл)-6-(2-хлор-4-нітрофеніл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.45**) до 3-(2-фторфеніл)-6-(2-хлор-5-нітрофеніл)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолу (**4.46**), можливо це пов'язано із «переміщенням» нітрогрупи від четвертого до п'ятого положення фенільного радикалу при тіадіазоловому фрагменті.

5.3 Протимікробна та протигрибкова активність синтезованих сполук

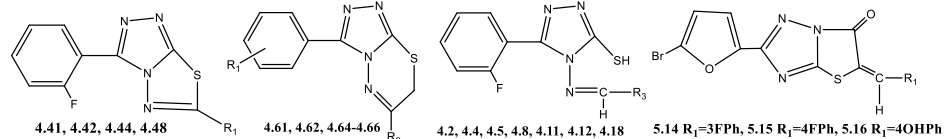
Значна частина АФІ сучасних ліків у хімічному відношенні містить у своєму складі структуру 1,2,4-триазолу. Попередні результати прогнозу свідчать, що саме фторфенілвмісні 1,2,4-триазолу, а також деякі заміщені 1,2,4-триазолу із фрагментами бромфурану (табл. 5.5) можуть бути найперспективнішими для подібного пошуку. Тому подальші дослідження були орієнтовані саме на дослідженні протимікробної та протигрибкової активності ряду нових фторфенілвмісних похідних 1,2,4-триазолу та ресинтезованих похідних 5- R_2 -2-(5-бромфуран-2-іл)тіазоло[3,2-*b*][1,2,4]триазол-4(5*H*)-онів (5.14-5.16, табл. 5.5). Фізико-хімічні константи зазначених похідних наведені в літературі [348, 349], ми їх ресинтезували для вивчення протимікробної активності [347].

Протимікробну та протигрибкову активність вивчали на кафедрі мікробіології і вірусології Запорізького державного медичного університету, в лабораторії мікробіологічних випробувань Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок (м. Львів) та кафедри епізотології та інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного агро-економічного університету під керівництвом завідувача, к. вет. н., доцента Зажарського В. В. Чутливість нових флуорофенілвмісних похідних 1,2,4-триазолу досліджували методом серійних розведень [354]. Результати дослідження чутливості ряду флуорофенілвмісних похідних 1,2,4-триазолу представлені в табл. 5.8. Сполуки проявляють помірну протимікробну активність та досить високі показники щодо фунгіцидної активності. Аналізуючи результати вивчення чутливості речовин до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, слід відзначити, що практично всі сполуки виявились активними до бактерій. Потрібно зазначити, що сполуки **4.2**, **4.5**, **4.18**, **4.66** виявились найбільш активними щодо *S. aureus*, а 5-(2-фторфеніл)-4-(((5-нітрофуран-2-іл)метиленаміно)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіол (**4.18**) взагалі перевищив в декілька разів показники активності препарату порівняння

(МІК 1,95 мкг/мл, МБЦК 3,9 мкг/мл) щодо *S. aureus*. Більшість сполук виявились досить активними до *C. albicans*.

Таблиця 5.8

Результати протимікробної та протигрибкової активності фторфенілвмісних 1,2,4-триазолів



Сполука	Результати досліджень							
	Протимікробна активність						Противгрибкова активність	
	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosae</i>		<i>C. albicans</i>	
	МІК, кг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБЦК мкг/мл	МІК, мкг/мл	МБЦК мкг/мл
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Хлор-гексидин	62,5	125	62,5	125	62,5	125	62,5	62,5
4.41	62,5	125	31,25	31,25	31,25	62,5	15,6	31,25
4.42	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	31,25	31,25
4.44	62,5	125	15,6	31,25	31,25	62,5	1,95	1,95
4.48	62,5	125	62,5	125	31,25	62,5	125	250
4.61	62,5	125	31,25	31,25	31,25	62,5	7,8	7,8
4.62	62,5	125	31,25	31,25	31,25	62,5	1,95	1,95
4.64	62,5	125	31,25	31,25	31,25	62,5	1,95	1,95
4.65	62,5	125	15,6	31,25	31,25	62,5	1,95	1,95
4.66	31,25	62,5	7,8	31,25	31,25	31,25	1,95	1,95

Продовж. табл. 5.8

1	2	3	4	5	6	7	8	9
4.2	62,5	125	15,6	31,25	31,25	62,5	1,95	1,95
4.4	62,5	125	31,25	31,25	31,25	62,5	31,25	31,25
4.5	62,5	125	7,8	15,6	31,25	62,5	7,8	15,6
4.8	31,25	62,5	31,25	31,25	31,25	62,5	3,9	3,9
4.11	62,5	125	31,25	62,5	31,25	62,5	1,95	1,95
4.12	62,5	125	31,25	31,25	31,5	62,5	1,95	3,8
4.18	62,5	125	1,95	3,9	31,25	62,5	7,8	15,6
5.14	31,25	62,5	15,6	31,25	31,5	31,25	–	–
5.15	62,5	62,5	31,25	15,6	31,5	62,5	–	–
5.16	62,5	125	31,25	31,25	31,5	31,25	–	–

Серед відповідних 5-(2-фторфеніл)-4-((арил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів найбільшу активність щодо *C. Albicans* проявляють 5-(2-фторфеніл)-4-((4-бромфеніл)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (**4.2**) та 5-(2-фторфеніл)-4-((2,3-диметоксифеніл)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіол (**4.5**). Заміщення ароматичних фрагментів по четвертому положенню 1,2,4-триазолу на гетероциклічний призводить до незначного зниження активності – сполука (**4.18**). Слід звернути увагу на сполуку **4.66** – 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-тріазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин, яка виявилась найбільш активна щодо основних штамів мікроорганізмів та грибів.

Додатково сполуки **5.14-5.16** було досліджено на штаммах мікроорганізмів: *Enterococcus faecalis* ATCC No. 19433, *Proteus vulgaris* НХ 19 No. 222, *Serratia marcescens* 1, *Klebsiella pneumoniae* К-56 No. 3534/51, *Salmonella typhimurium* 144, *Salmonella adobracо* 1. Аналізуючи ефективність впливу сполук **5.14-5.16** на

Enterococcus faecalis ATCC No. 19433 з'ясовано коливання зони затримки росту більше 10 мм в усіх групах

Схожа тенденція виявлялась при вивченні впливу сполук на *Klebsiella pneumoniae* K-56 No. 3534/51, *Salmonella typhimurium* 144 та *Salmonella adobraco* I: виявлено помірно чутливе пригнічення росту *Klebsiella pneumoniae* під впливом 1% концентрації сполук (зона затримки росту в межах 13,1–14,4 мм), а також *Salmonella typhimurium* (1,0% сполук – зона затримки росту складала 14,2 мм). Коли розведення сполук складає 0,1% (зона затримки росту на *Salmonella typhimurium* була від 8 мм до відсутності) в інших групах цей показник вище 10 мм і коливається у межах: для 0,1% концентрації сполук від 10,2 мм до 12,6 мм, для 1% – від 10,4 мм до 12,7 мм. Вплив сполук на *Salmonella adobraco* був недостовірно нижчим контролю на 17,9; 16,6 і 17,2% відповідно [354].

Резюмуючи все вищенаведене, ми вважали за доцільне більш детально дослідити сполуку **4.66** на інших штаммах грибів та на культуральні властивості патогенного штаму *Mycobacterium bovis* [355].

В експерименті було використано штами: *Candida albicans* ATCC 885-653, *C. albicans* – 2 типових клінічних ізоляти (з харкотиння), один з яких зі псевдоміцелієм, *C. tropicalis* клінічний ізолят (з харкотиння), *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*) – клінічний ізолят (з фекаліїв). Визначання активності субстанції сполуки 4.66 проводили стандартним методом двократних розведень у рідкому поживному середовищі (макрометод). Середовище – м'ясо-пептонний агар з глюкозою. Використовували 3 варіанти середовища з різним вмістом глюкози, а саме: (а) – 10 г/л, (попередні дослідження), (б) – 20 г/л (наближено до чинних стандартів EUCAST), (в) – 40 г/л (стандартний вміст глюкози в бульйоні Сабуро).

Загальний об'єм середовища в пробірці – 2 мл. Інокулят: кінцева концентрація клітин *Candida* становила близько 5×10^5 колонієутворюючих

одиниць у 1 мл. Посіви інкубували у термостаті без перемішування за температури 37°C. Облік результатів проводили за 18, 24 та 48 год.

За мінімальну інгібуючу концентрацію приймали концентрацію сполуки **4.66** в останній (за зменшенням концентрації) пробірці послідовного ряду розведень, у якій був відсутній видимий ріст культури за 48 год.

На першому етапі визначили активність сполуки **4.66** щодо *Candida albicans* ATCC 885-653 при культивуванні на середовищах з різним вмістом глюкози (табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Фунгіцидна активність сполуки 4.66 щодо еталонного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653 при використанні бульйону з різним вмістом глюкози (результати трьох повторностей)

Вміст глюкози, г/л	Межі значень МІК, мг/л	СГ-МІК, мг/л
10,0	0,75-1,3	0,9
20,0	1,3-2,5	2,0
40,0	2,5-5,0	4,0

Виявлено, що збільшення вмісту глюкози в ростовому середовищі призводило до збільшення значень МІК сполуки **4.66**. Необхідно враховувати виявлену високу залежність значення МІК сполуки **4.66** від вмісту цукру при співставленні результатів, одержаних з використанням різних варіантів середовища.

Наступним етапом роботи було порівняння активності сполуки **4.66** щодо *Candida* різних видів (табл. 5.10). Було використано середовище з вмістом глюкози 40 г/л.

Антифунгальна активність сполуки 4.66 щодо клінічних ізолятів представників різних видів роду *Candida* (результати трьох повторностей)

Мікроорганізми	Межі значень МІК, мг/л	СГ-МІК, мг/л
<i>C. albicans</i>	2,5-5,0	4,0
<i>C. albicans</i> з псевдоміцелієм	1,3-2,5	2,0
<i>C. tropicalis</i>	1,3-5,0	2,5
<i>C. glabrata</i>	5,0	5,0
<i>C. albicans</i> ATCC 885-653 (контроль)	2,5-5,0	4,0

Зважаючи на одержані результати проведених випробувань можна вважати, що субстанція сполуки **4.66** має фунгіцидну активність щодо грибів роду *Candida*.

Наступним етапом роботи було визначення рівень фунгіцидної активності сполуки **4.66** щодо еталонного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653. Визначення активності препарату проводили стандартним методом двократних розведень у рідкому поживному середовищі (макрометод). Середовище: м'ясо-пептонний агар з 40 г/л глюкози. Загальний об'єм середовища в пробірці – 2 мл. Інокулянт: кінцева концентрація клітин близько 5×10^5 (КУО) у 1 мл. Умови інкубації культури такі ж, як у попередньому досліді. Посіви інкубували у термостаті без перемішування за температури 37°C. Облік результатів проводили через 24 та 48 год.

За мінімальну інгібуючу концентрацію приймали таку концентрацію сполуки **4.66** в останній (за зменшенням) пробірці ряду, в якій був відсутній видимий ріст тест-культури через 48 год. Через 48 год культивування з кожної пробірки ряду розведення, в яких не було видимого росту, відбирали по 20 мкл культуральної рідини і проводили прямий висів на агаризоване середовище

Сабуро (зі 40 г/л глюкози); посіви інкубували за температури 37°C. Число колоній підраховували через 48 год.

За мінімальну фунгіцидну концентрацію сполуки **4.66** приймали таку концентрацію в останній (за зменшенням концентрації) пробірці ряду розведень, при висіві з якої кількість КУО культури *C. albicans* ATCC 885-653 у 1 мл становила менше 0,1% від вихідної кількості клітин до обробки досліджуваною субстанцією сполуки **4.66**. Як контроль, паралельно визначали антифунгальну активність ністатину (табл. 5.11-5.12).

Згідно з одержаними результатами, фунгістатична дія сполуки 4.66 співставна з активністю ністатину.

Таблиця 5.11

Порівняння МІК сполуки 4.66 та ністатину при тестуванні їх активності щодо еталонного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653

Сполука	Межі значень МІК, мг/л	СГ-МІК, мг/л
4.66	2,5-5,0	3,3
Ністатин	1,3-5,0	2,2

Таблиця 5.12

Фунгіцидна активність сполуки 4.66 та ністатину щодо еталонного штаму *Candida albicans* ATCC 885-653

Сполука	Межі значень МФК, мг/л	СГ-МФК, мг/л
4.66	20,0-40,0	26,4
Ністатин	10,0-20,0	11,5

5.3.1 Вплив 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) на культуральні властивості патогенних *Mycobacterium bovis*. Слід відмітити наявність у деяких заміщених 1,2,4-триазолу здатності пригнічувати ріст мікобактерій [356]. Аналіз літературних джерел чітко вказує на деякі закономірності та особливості будови сполук, які мають зазначені біологічні властивості [357]. Результати попередніх досліджень аргументовано доводять вплив не лише окремих функціональних замісників на протитуберкульозну активність, а також різні концентрації, температурні режими, значення рН середовища тощо. Продовжуючи дослідження перспективної сполуки **4.66**, було проаналізовано її вплив на культуральні властивості патогенних *Mycobacterium bovis* [355, 356].

На першому етапі досліджень було проведено культивування патогенних штамів *M. bovis* за температури 37°C на середовищі з рН 6,5 та 7,1, що додатково містить 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин у масових концентраціях 0,1; 0,5; 1,0%. Культивування та накопичення біомаси досліджуваних штамів *M. bovis* проводили на яєчному живильному середовищі, яке за складом було ідентичним стандартному, виготовленому ДП «Ветеринарна медицина» (м. Харків, Україна). Дослідження проведені на кафедрі епізотології та інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного агро-економічного університету під керівництвом завідувача, к. вет. н., доцента Зажарського В. В.

До середовища додавали 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин для отримання концентрацій 0,1%; 0,5%; 1%. У виділених та накопичених мікобактерій вивчали різноманітні морфологічні ознаки : довжина, товщина, форма, характер кінців клітин, зернистість та розташування. Гравіметричні вимірювання виконували на лабораторних електронних аналітичних вагах моделі ESJ-200-4 (США).

У табл. 5.13 систематизовано дані про культуральні властивості *M. bovis*, що містить 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин у трьох концентраціях.

Таблиця 5.13

Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, культивованих на середовищі з рН 7,1 за температури 37°C

Характеристики	Культуральні властивості при концентрації:		
	0,1%	0,5%	1%
1	2	3	4
7-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Шорсткий наліт	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
14-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Шорсткий наліт та поодинокі білі колонії за лінією посіву	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
30-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> -[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	без змін	без змін	без змін

1	2	3	4
60-а доба дослідю			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Гладенькі, дрібні колонії білуватого кольору	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
90-а доба дослідю			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній

Результати, наведені в табл. 5.13, засвідчили відсутність росту культури *M. bovis* 100 пасажу за усіх (0,1, 0,5 та 1%) концентрацій субстанції впродовж усього періоду спостереження (90 діб), що свідчить про туберкулостатичну дію сполуки.

У табл. 5.14 систематизовано дані щодо культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу, який культивували на середовищі з рН 6,5, яке додатково містило зазначену субстанцію у трьох концентраціях. До 7-ї доби дослідю ріст культури 100 пасажу *M. bovis* на середовищі з рН 6,5 за температури 37°C не відмічався.

За результатами дослідю встановлено, що дія 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66) за різних концентрацій на середовищі з рН 6,5 не відрізняється від рН 7,1. За всіма дослідними (0,1, 0,5 та 1,0%) концентраціями нами відмічена відсутність росту патогенного штаму *M. bovis* 100 пасажу протягом всього періоду спостереження (90 діб).

**Характеристика культуральних властивостей *M. bovis* 100 пасажу,
культивованих на середовищі з рН 6,5 за температури 37°C**

Характеристики	Культуральні властивості при концентрації:		
	0,1%	0,5%	1%
1	2	3	4
7-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> - [1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Поодинокі колонії за лінією посіву	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
14-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> - [1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
30-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> - [1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
60-а доба дослідів			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7 <i>H</i> - [1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній

1	2	3	4
90-а доба досліду			
Контроль	3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин		
Суцільний ріст. Колонії дрібні, білі, гладенькі	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній

При 0,1, 0,5% та 1,0% концентрації 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин впливає на культуральні властивості *M. bovis*, і володіє туберкулостатичною дією.

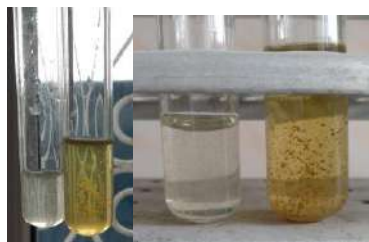
5.3.2 Визначення МІК (мінімальної інгібуючої концентрації) 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазину (**4.66**) *in vitro*. Проблема туберкульозної інфекції, спричиненої мультирезистентними штамми, стає все більш актуальною у світі. Грампозитивна паличка *Mycobacterium tuberculosis* – є основним патогеном людини і збудником туберкульозу. Це інфекційне захворювання являє собою глобальний ризик для здоров'я з рівнем захворюваності у 8,8 млн. випадків і летальним наслідком в 1,4 млн. Коінфекція вірусом імунодефіциту людини збільшує число випадків туберкульозу і розвиток активного туберкульозу. Тому пошук речовин з потенційною протитуберкульозною активністю є перспективним напрямком вирішення цієї проблеми. Попередні ґрунтовні дослідження доводять певну перспективність подальшого вивчення 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) як потенційного протитуберкульозного засобу [357]. Таким чином, наступні дослідження були орієнтовані на вивчення туберкулоцидних, туберкулостатичних властивостей, а також МІК (мінімально інгубуючої концентрації) по відношенню до мікобактерій

зазначеної перспективної сполуки – 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) [356].

Роботу проводили протягом 2019-2020 рр. на базі навчально-дослідної лабораторії кафедри епізоотології та інфекційних хвороб ДДАЕУ (м. Дніпро). Як досліджувані види мікобактерій було обрано *M. bovis* та *M. fortuitum* [358]. Для посіву на рідкі поживні середовища готували завись з розрахунку 1 мг бактеріальної культури на 1 мл фізіологічного розчину. Завись готували в асептичних умовах боксу, за допомогою стерильної фарфорової ступки та товкачика і засівали на рідкі поживні середовища для культивування мікобактерій (середовище Моделя та Сотона) і відповідно модифікації цих двох середовищ у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату та розчином фульвокислот. Середовище Моделя готували за наступним прописом: на 40 пробірок 200 мл середовища (1 штатив) відважували за допомогою аналітичних електронних вагів AXIS AN 200 (виробництво Польща) калій фосфорнокислий двозаміщений – 1,0 г; амоній щавелевокислий – 1,0 г; залізо сірчанокисле – 0,01 г; магній сірчанокислий – 0,1 г; гліцерин х/ч – 10 см³ та вода дистильована до 200 см³. Середовища Сотона готували за наступним прописом: L-аспарагін – 0,8 г; кислота лимонна х/ч – 0,4 г; калій фосфорнокислий двозаміщений – 0,1 г; магній сірчанокислий – 0,1 г; цитрат аміачного заліза – 0,01 г та вода дистильована до 200 мл. Середовища поміщені у 250 мл колби автоклавували (автоклав лабораторний ВК-75 виробництва РФ) протягом 30 хв тиск 1,5 атм. Модифікацію середовищ Моделя та Сотона готували за допомогою додавання до колб з середовищами відповідно 0,125% розчин гідрогумату та 0,125% розчином фульвокислот в об'ємі 20 см³. Визначання МІК здійснювали методом серійних розведень. Визначали МІК для ізоніазиду та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**), як контроль використовували середовища без додавання речовин. Розчини ізоніазиду та сполуки **4.66** виготовляли наступним чином: готували розчин у об'ємі 5 мл у концентрації 100 мкг/мл. Далі у асептичних умовах боксу за

допомогою автоматичної одноканальної піпетки-дозатора зі зйомними насадками Ленпіпет Блек (0,5-5 мл) вносили 2,5 мл розчину сполук до 5 мл живильного розчину декілька разів барботували, потім відбирали 2,5 мл вносили у іншу пробірку і так до 9 пробірки у кожному ряду штатива і останні 2,5 мл зливали у сторону. Остання десята пробірка була контрольна без додавання туберкулоцидних речовин. Утворювалися відповідно пробірки з середовищами Моделя та Сотона та Моделя і Сотона у комбінації з 0,125% розчинами гідрогумату та фульвокислот і відповідно у кожному ряду концентрація ізоніазиду, сполука **4.66** 50 мкг/мл; 25 мкг/мл; 12,5 мкг/мл; 6,25 мкг/мл; 3,12 мкг/мл; 1,56 мкг/мл; 0,78 мкг/мл; 0,39 мкг/мл; 0,19 мкг/мл. Остання пробірка контрольна без додавання туберкулостатику. Після посіву пробірки поміщали у термостат ТСО-80/1 та культивували за температури 37°C протягом 90 діб з фіксацією початку терміну росту культур, їх кольору та консистенції. Посіви з культурами оглядали кожної доби перші 10 діб та через 5 діб у наступні 80. За результатами досліджень МІК для ізоніазиду, сполуки 4.66 було встановлено, що ріст культури *M. fortuitum* почався відповідно на 12 та 14 добу на середовищах Сотона та Моделя у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату, а на середовищах Сотона та Моделя – відповідно на 25 та 28 добу. Можна зробити висновок, що модифікація середовищ Сотона та Моделя 0,125% розчином гідрогумату дозволяє у 2 рази пришвидшити ріст колоній *M. fortuitum*.

Для ізоніазиду, на середовищі Сотона, МІК по відношенню до *M. fortuitum* було визначено, як відсутній тому, що ріст спостерігався навіть у пробірці з концентрацією 50 мкг/мл. Для сполуки **4.66**, на середовищі Сотона, МІК по відношенню до *M. fortuitum* було визначено, як 25 мкг/мл. Вже у наступних пробірках від 12,5 до 0,19 мкг/мл ріст характеризувався від поодиноких пластівців матового кольору до інтенсивного росту з косами та джгутами матового кольору, які добре видно при струшуванні. Відповідно у контролі відбувався інтенсивний ріст з утворенням кіс, джгутів та пластівців матового кольору (рис. 5.11).



а б

Рис. 5.11. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Сотона сполука **4.66** (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

На середовищі Моделя МІК для ізоніазиду по відношенню до *M. fortuitum* був визначений, як відсутній, тому що у пробірці навіть з концентрацією 50 мкг/мл був присутній ріст у вигляді поодиноких пластівців (рис. 5.12).



а б

Рис. 5.12. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Сотона ізоніазид (а – ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

Сполука **4.66** володіє туберкулостатичною дією при МІК 50 мкг/мл. В подальшому розведенні – за МІК 25 мкг/мл спостерігали появу поодиноких колоній (рис. 5.13).

На середовищі Сотона у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату, МІК для ізоніазиду по відношенню до *M. fortuitum* був встановлений, як відсутній або перевищуючий 50 мкг/мл (рис. 5.14).

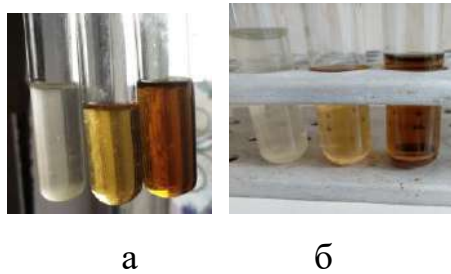


Рис. 5.13. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Моделя сполука 4.66 (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та сполука **4.66** в концентрації 6,25 мкг/мл, ріст у вигляді дрібних поодиноких пластівців)

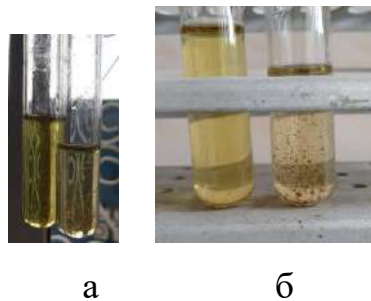


Рис. 5.14. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Сотона + гідрогумат ізоніазид (а – ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

МІК для сполуки **4.66** на середовищі Сотона у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату по відношенню до *M. fortuitum* був встановлений, як 50 мкг/мл (рис. 5.15).

На середовищі Моделя в комбінації з 0,125% розчином гідрогумату, МІК для ізоніазиду по відношенню до *M. fortuitum* був встановлений як відсутній або перевищуючий 50 мкг/мл (рис. 5.16).

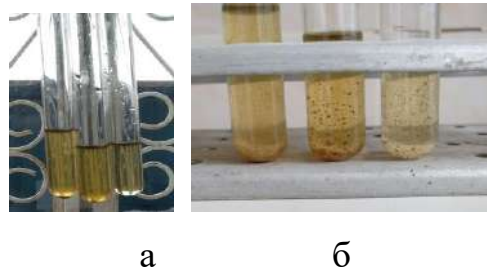


Рис. 5.15. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Сотона+гідрогумат сполука **4.66** (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців)

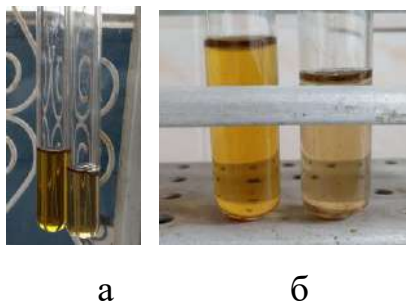


Рис. 5.16. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Моделя + гідрогумат ізоніазид (а – ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

МІК для сполуки **4.66** на середовищі Моделя у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату по відношенню до *M. fortuitum* був встановлений як 50 мкг/мл (рис. 5.17).

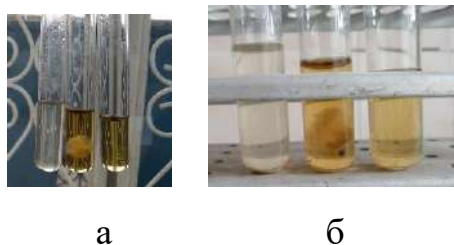


Рис. 5.17. Ріст *M. fortuitum* на середовищі Моделя + гідрогумат сполука **4.66** (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та зі сполукою **4.66** в концентрації 6,25 мкг/мл, ріст у вигляді дрібних поодиноких пластівців)

Для ізоніазиду на середовищі Сотона МІК по відношенню до *M. bovis* було визначено як 50 мкг/мл. У наступних концентраціях 25 та 12,5 мкг/мл спостерігався ріст колоній (рис. 5.18).

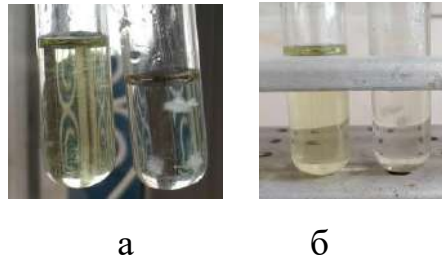


Рис. 5.18. Ріст *M. bovis* на середовищі Сотона ізоніазид (а – ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

МІК для сполуки **4.66** на середовищі Сотона по відношенню до *M. bovis* був встановлений, як 12,5 мкг/мл. У наступних концентраціях ріст був присутній (рис. 5.19).

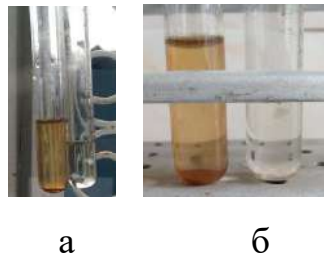


Рис. 5.19. Ріст *M. bovis* на середовищі Сотона сполука **4.66** (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

На середовищі Моделя МІК для ізоніазиду по відношенню до *M. bovis* був визначений як відсутній, тому що у пробірці навіть з концентрацією 50 мкг/мл був присутній ріст у вигляді поодиноких пластівців (рис. 5.20).

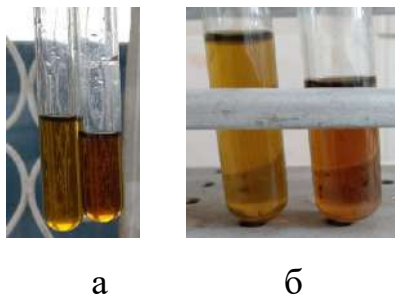


Рис. 5.20. Ріст *M. bovis* на середовищі Моделя ізоніазид (а – ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

Для сполуки **4.66** МІК на середовищі Моделя для *M. bovis* була визначена як 50 мкг/мл у наступній пробірці 25 мкг/мл були відмічені поодинокі колонії, у контролі – інтенсивний ріст (рис. 5.21).

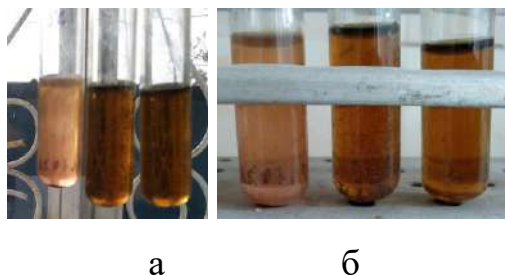


Рис. 5.21. Ріст *M. bovis* на середовищі Моделя сполука **4.66** (а – сполука **4.66** в концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та зі сполукою **4.66** у концентрації 3,1 мкг/мл ріст у вигляді дрібних поодиноких пластівців)

На середовищі Сотона у комбінації з 0,125% розчином гідрогумату МІК для ізоніазиду по відношенню до *M. bovis* був встановлений, як відсутній або перевищуючий 50 мкг/мл (рис. 5.22).



а б

Рис. 5.22. Ріст *M. bovis* на середовищі Сотона+гідрогумат ізоніазид (а – препарат ізоніазид у концентрації 50 мкг/мл МІК відсутній ріст, б – контроль, ріст у вигляді інтенсивних пластівців та джгутів)

Якщо порівнювати інтенсивність росту колоній *M. bovis* на середовищах Сотона та Моделя у модифікації з розчинами гідрогумату та фульвокислот 0,125%, то відзначено, що ріст мікобактерій з фульвокислотами у 2 рази інтенсивніший, ніж з гідрогуматом.

Результати визначення МІК для *M. Fortuitum* при дії 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) наведені в табл. 5.15. Було визначено туберкулоцидну здатність сполуки **4.66** для *M. fortuitum* на середовищі Сотона (МІК 25,0 мкг/мл), Моделя (50,0 мкг/мл), Сотона з гідрогуматом (50,0 мкг/мл) та Моделя з додаванням гідрогумату (50,0 мкг/мл).

Таблиця 5.15

Визначення МІК для сполуки 4.66 *M. fortuitum* in vitro

Назва середовища	Вид туберкулоциду	Концентрація, мкг/мл									Контроль
		50	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,78	0,39	0,19	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Сотона	ізоніазид	-	+	+	+	++	++	+++	+++	+++	+++
	4.66	-	-	+	+	+	+	+	++	++	+++
Моделя	ізоніазид	+	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
	4.66	-	+	+	+	+	+	++	++	++	+++

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Сотона + гідрогумат	ізоніазид	+/-	+	+	++	++	++	++	+++	+++	+++
	4.66	-	-	-	+	+	+	+	+	++	+++
Сотона + фульво- кислоти	ізоніазид	+/-	+	+	+	+	++	++	++	+++	+++
	4.66	-	-	-	+	+	+	+	+	++	+++
Моделя + гідрогумат	ізоніазид	+	+	+	+	+	++	++	++	++	+++
	4.66	-	-	-	+	+	+	+	+	++	+++
Моделя + фульво- кислоти	ізоніазид	+	+	+	+	+	++	++	+++	+++	+++
	4.66	-	-	+	+	+	+	+	+	++	+++

Примітка. «-» відсутній ріст; «+» поодинокі колонії; «++» середньої інтенсивності ріст з утворенням кіс та джгутів; «+++» висока інтенсивність росту з утворенням великої кількості пластівців та кіс

5.3.3 Визначення IC_{50} 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) *in vitro*. IC_{50} являє собою концентрацію, при якій речовина виявляє половину максимального інгібуючого ефекту і використовується для характеристики антагоніста біологічного процесу [359]. У фармакології це важливий показник потенціалу для даного лікарського засобу. Була побудована логістична регресія з чотирма параметрами експериментальної вибірки % інгібування *M. bovis in vitro* в залежності від концентрації сполуки (рис. 5.23).

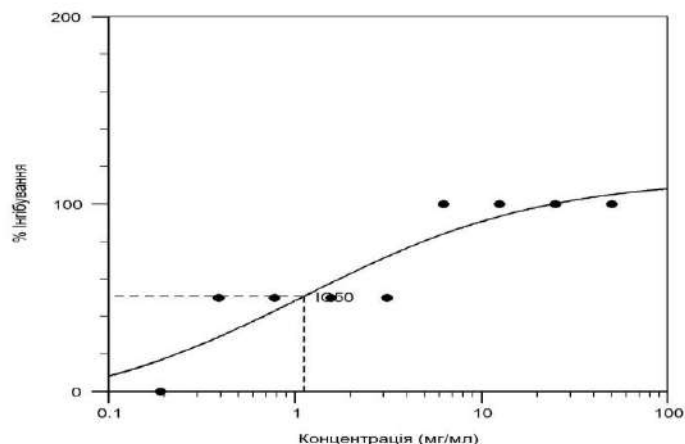


Рис. 5.23. Графічне зображення логістичної регресії з чотирма параметрами експериментальної вибірки

Отримане значення IC_{50} для сполуки 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадізину (**4.66**) встановлено на основі розрахунків 1,120 мг/мл, що майже в 10 разів перевищує значення ізоніазиду згідно літератури [360, 361] та експериментальних досліджень, як референс-препарату (рис. 5.24).

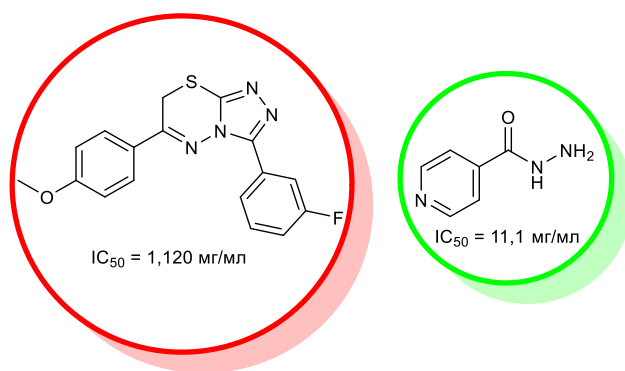


Рис. 5.24. Графічне зображення логістичної регресії з чотирма параметрами експериментальної вибірки

5.4 Діуретична активність синтезованих сполук

Сучасні тенденції розвитку фармацевтичної галузі України потребують впровадження нових високоефективних та малотоксичних ліків. Лідером серед різноманітної кількості біологічно активних речовин на сьогодні залишаються похідні 1,2,4-триазолу. Протягом багатьох десятиліть цей клас гетероциклічних сполук привертає увагу фахівців не лише фармацевтичної галузі. Загальновідомим фактом є висока біологічна активність сполук, утворених поєднанням ядра 1,2,4-триазолу та різних функціональних замісників, незначна токсичність, висока реакційна здатність.

За останні п'ять років в Україні було зареєстровано цілу серію нових ветеринарних препаратів та добрив, діючими речовинами яких є похідні 1,2,4-триазолу. 1,2,4-Триазольний цикл має унікальні властивості, що робить його досить привабливою мішенню для досліджень [88-92].

Численні публікації різних наукових колективів з усього світу продемонстрували високу реакційну здатність похідних 1,2,4-триазолу, а також низьку токсичність зазначених похідних, а також широкий спектр можливостей щодо використання їх як потенційних біологічно активних сполук. Перспективні властивості деяких похідних 1,2,4-триазолу, які використовуються як ефективні регулятори росту рослин, були описані в роботах [328]. Варто підкреслити можливість застосування похідних 1,2,4-триазолу як субстанції ветеринарних препаратів.

Зокрема, у ветеринарній медицині широко використовується препарат «Трифузол-Нео», який за останній час набув популярності завдяки ефективності. На етапі реєстрації знаходиться новий оригінальний протигрибковий ветеринарний препарат у вигляді лініменту «ВетМікоДерм». Тому продовження досліджень, пов'язаних з синтезом нових похідних 1,2,4-триазолу, а також вивченням фармакологічних властивостей нових похідних є важливим науково

привабливим напрямом, який, безсумніву, пропонує перспективні можливості в різних аспектах людського життя.

Попередній прогноз переконливо доводить можливість прояву діуретичної активності у деяких сполук цього ряду. Крім того, актуальним залишається впровадження діуретичних засобів. Відомо також, похідні 1,2,4-триазолу володіють високою діуретичною активністю [283]. Тому наступним етапом роботи було дослідити показники діуретичної активності нових заміщених 1,2,4-триазол-3-тіолів. Дослідження проведені на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д. вет. н., професора Киричка Б. П.

Попередньо було проведено дослідження щодо визначення дози синтезованих сполук, також було вивчено загальнотоксичну дію та гостру токсичність зазначених похідних. Дослідження проведені за відомим експрес-методом В. Б. Прозоровського, а оцінка ступені токсичності була визначена за К. К. Сидоровим. Тварини утримувалися на стандартному раціоні харчування, при природному світловому режимі «день-ніч».

Подальші дослідження проводили з урахуванням «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)». Дослідження гострої токсичності кожної сполуки вивчали в діапазоні чотирьох доз, кожна з яких випробовували на 2-х тваринах. Наступне спостереження складало 14 діб, при якому аналізували характер і тривалість інтоксикації і кількість загиблих тварин.

Дослідження проводили відповідно до національних «Загально етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1985). На діуретичну активність було досліджено 28 нових сполук ряду заміщених 1,2,4-триазол-3-тіолів, які за хімічною будовою належать до різних класів сполук (рис. 5.25).

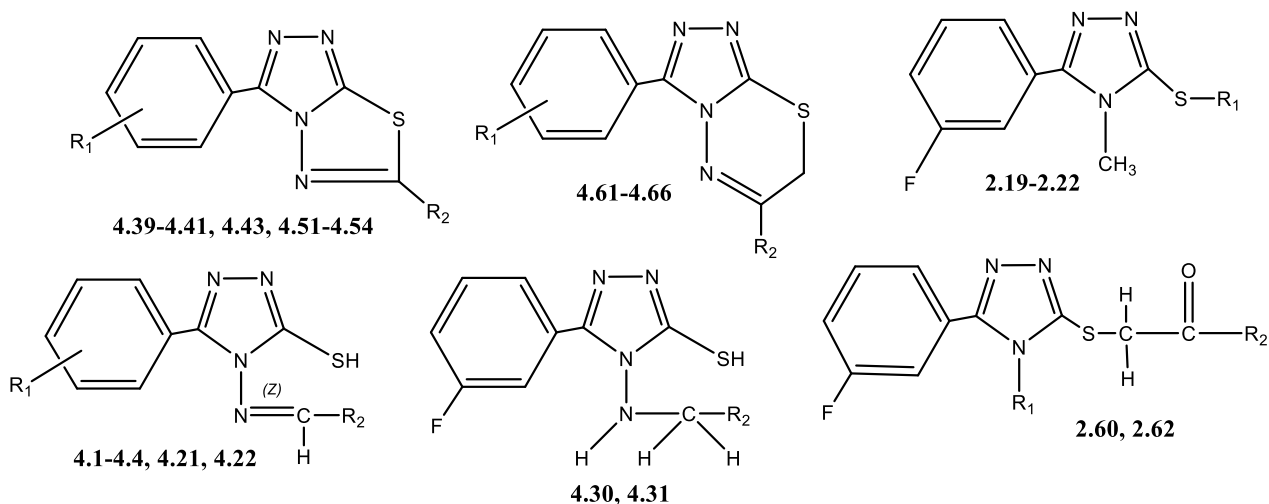


Рис. 5.25. Будова деяких заміщених 1,2,4-триазол-3-тіолів, які були дослідженні на діуретичну активність

Для діуретичної активності використано 6 груп тварин по 7 щурів в кожній. Аналіз отриманих даних проводили у порівнянні з еталонними препаратами: гіпотіазидом та фуросемідом.

Серед синтезованих 3-алкілтіо-5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазолів (2.19-2.22), 2-((4-R₁-5-(3-фторофеніл)-1,2,4-триазол-3-іл)тіонів (2.60, 2.62), 5-(3-арил)-4-((3-метилариліден)аміно)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолів (4.1-4.4, 4.21, 4.22), 5-(3-арил)-4-((3-метиленарил)аміно)-4*H*-1,2,4-триазол-3-тіолів (4.30, 4.31), 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів (4.39-4.41, 4.43, 4.51-4.54) та 3-арил-6-(арил-, гетерил)-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазинів (4.61-4.66) виявлені три сполуки, які незначно перевищують еталонний діуретик гіпотіазид (2.19, 4.1, 4.2, табл. 5.17). Заслужують на особливу увагу 3-(2-фторфеніл)-6-феніл-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазол (4.39, табл. 5.17) та 3-(3-фторофеніл)-6-феніл-7*H*-[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин (4.63, табл. 5.17), які за показниками діуретичної активності наближаються до фуросеміду.

Аналізуючі дані, які були одержанні під час дослідження діуретичної активності, можна з певною вірогідністю допустити, що їх активність залежить від ряду особливостей. Так введення до складу молекули 3-фторфенільного або

4-фторфенільного замісника призводить до підвищення діуретичної активності. Особливої уваги в якості джерел одержання біологічно активної субстанції з діуретичною дією заслуговують конденсовані [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолові та [1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинові системи.

Отримані дані оброблено статистично за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Office 2007 та «STATISTICA® for Windows 6.0». Достовірність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента. Рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень – $p < 0,01$.

Аналізуючи результати проведеного експерименту було встановлено, що деякі сполуки, які було піддано дослідженню в ряді нових похідних 1,2,4-триазол-3-тіолу, володіють діуретичною активністю (табл. 5.17).

Таблиця 5.17

**Результати вивчення діуретичної активності деяких заміщених
1,2,4-триазол-3-тіолів**

Сполука	120 хв, M±m, мл	Δ % до контролю	240 хв, M±m, мл	Δ % до контролю
1	2	3	4	5
Контроль	1,33±0,113	–	2,13±0,117	–
Фуросемід	4,08±0,0352*	186,07	6,05±0,028*	188,77
Гіпотіазид	2,71±0,332*	83,12	3,61±0,312*	77,18
2.19	3,66±0,438*	96,08	6,11±0,366*	137,18
2.20	2,77±0,074*	72,54	5,59±0,310*	94,33
2.21	2,09±0,166	33,45	3,21±0,208*	32,32
2.22	2,23±0,484	54,17	4,87±0,458*	96,28

Продовж. табл. 5.17

1	2	3	4	5
Контроль	1,63±0,159	–	2,74±0,265	–
2.60	2,84±0,088*	72,44	5,78±0,209*	94,18
2.62	2,72±0,187	73,22	5,75±0,187	95,11
4.1	3,18±0,344	96,09	6,17±0,456	138,19
4.2	3,15±0,445	96,12	6,13±0,413	139,32
4.3	2,12±0,222	17,17	3,28±0,216	63,16
Контроль	1,33±0,088	–	2,21±0,249	–
4.4	2,13±0,212*	43,77	4,21±0,26*	73,13
4.21	1,54±0,133*	3,35	3,11±0,228	17,74
4.22	1,57±0,214	15,54	2,42±0,115	40,65
4.30	1,87±0,175	33,54	3,30±0,211*	31,55
4.31	3,24±0,155	30,07	5,18±0,319	69,21
4.39	4,11±0,113	160,23	7,56±0,221	162,16
Контроль	1,35±0,172	–	2,52±0,115	–
4.40	2,38±0,609	53,85	4,75±0,563	95,62
4.41	1,87±0,254	21,66	4,15±0,432	98,28
4.43	2,69±0,255	23,27	4,33±0,417	100,15
4.51	2,22±0,114	21,31	4,42±0,113	96,41
4.52	1,45±0,211	17,31	2,72±0,477	12,63
4.53	2,12±0,274*	47,87	4,72±0,236*	124,11
4.54	2,62±0,133*	46,46	4,38±0,221	126,15
4.61	1,21±0,019	11,18	3,23±0,409	51,23
4.62	1,44±0,113	12,19	3,77±0,509	52,13
4.63	3,68±0,0312*	182,02	5,47±0,016*	186,25
4.64	2,63±0,262	64,52	4,66±0,233*	65,13

Продовж. табл. 5.17

1	2	3	4	5
4.65	2,46±0,218	62,11	4,52±0,142	61,09
4.66	1,55±0,172	7,63	3,05±0,175	19,66

Примітка. * – $p < 0,05$ по відношенню до контролю

5.5 Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолу

Щодо актопротекторної дії деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолу, дослідження були проведені на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д. вет. н., професора Киричка Б. П.

Аналізуючи попередні результати комп'ютерного прогнозу, можна зробити висновок щодо перспективності саме деяких тіофенвмісних похідних 1,2,4-триазолу. Також заслуговує на увагу інформація щодо натрій 2-((4-метил-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)ацетату, який за своїм фармако-логічним ефектом перевищує препарат порівняння рибоксин майже в 5 разів та підвищує показник витривалості на 169,04% [289]. Тому цікавими та перспективними об'єктами подібного пошуку можуть бути нові похідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолу, які мають у своєму складі фармакофорні фрагменти та володіють низькою токсичністю.

Таким чином, подальшої нашої роботою було дослідити актопротекторну активність нових похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолу та встановити певні закономірності між хімічною будовою та фармакологічною активністю досліджених сполук.

У дослідженнях були використані нові похідні 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолу (рис. 5.26).

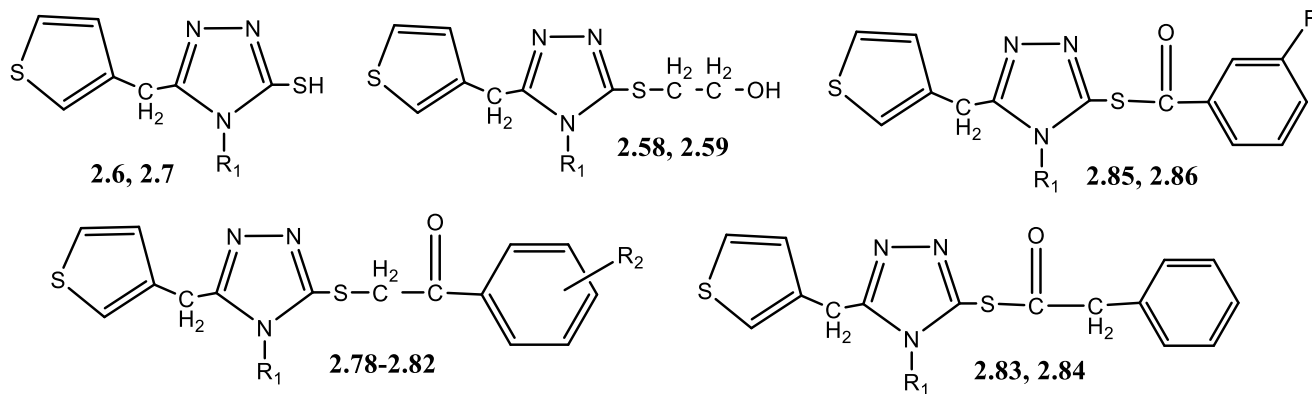


Рис. 5.26. Будова деяких тіопохідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолів

Попередні дослідження щодо визначення дози синтезованих сполук були орієновані на вивчення загальнотоксичної дії та гострої токсичності зазначених похідних. Дослідження проведені за відомим експрес-методом В. Б. Прозоровського, а оцінка ступені токсичності була визначена за К. К. Сидоровим. Тварини утримувалися на стандартному раціоні харчування, при природному світловому режимі «день-ніч». Дослідження проводили з урахуванням «Правил доклінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)». При дослідженні гострої токсичності кожної сполуки вивчали в діапазоні чотирьох доз, кожна з яких випробовували на 2-х тваринах. Наступне спостереження складало 14 діб, при якому аналізували характер і тривалість інтоксикації і кількість загиблих тварин. Дослідження проводили відповідно до національних «Загально етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1985).

Досліди були проведені на групі білих нелінійних щурів вагою 230-245 г. При вивченні актопротекторної активності був використаний метод примусового занурення у воду з навантаженням 10% від ваги щура. Навантаження фіксували у основи хвоста тварин. Плавання виконували до виснаження, яке фіксували після 10-ти секундного занурення лабораторних тварин під воду. Щурів занурювали поодиноці у ємність з шаром води 60 см. Температура води складала 24-27°C.

Обрані синтетичні сполуки, а також еталон порівняння – рибоксин за 20 хв до початку занурення тварин вводили внутрішньочеревно в дозі 100 мг/кг. Час запливу реєстрували в секундах. Для порівняння використовували також контрольну групу тварин внутрішньоочеревно вводили фізіологічний розчин за 20 хв до занурення.

Статистично результати оброблено за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Office 2007 та «STATISTICA® for Windows 6.0». За допомогою t-критерію Стьюдента встановлена достовірність міжгрупових відмінностей ($p < 0,01$). На основі результатів проведеного скринінгу було встановлено, що в ряді нових похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-триазол-3-тіолу, володіють вираженою актопротекторною дією.

Сполуки **2.78-2.81** (табл. 5.18) проявляють активність, що перевищує активність рибоксину. Слід також відмітити сполуку **2.82**, яка за силою активності також перевищує препарат порівняння. Результати досліджень вищевказаних сполук були статистично значимими по відношенню до контрольної групи, які отримували фізіологічний розчин ($p < 0,001$).

Також варто відзначити сполуки **2.58**, **2.59**, **2.86**, що за активністю наближаються до препарату порівняння. Актопротекторна дія добре виражена в ряду 1- R_2 -2-((4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів, де замісниками ароматичного фрагменту є різні фармакофори.

Сполуки **2.7**, **2.83** та **2.85** проявили найменшу здатність щодо проявлення зазначеного виду активності.

Введення до структури сполуки ароматичних фармакофорів з атомом Брому або Флюору в ряду 1-R₂-2-((4-R₁-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанонів позитивно впливає на формування актопротекторної активності синтезованих сполук.

Таблиця 5.18

**Актопротекторна активність похідних
5-(тіофен-3-ілметил)-4-R₁-1,2,4-триазол-3-тіолу**

Група (n)	Середня тривалість примусового плавання щурів, M±m	p	Співвідношення до порівнянню з контрольною групою, Δ%
1	2	3	4
2.6	299,43±9,858	0,33803	4,02
2.7	261,13±8,121	0,025567	-9,29
2.58	317,57±6,904	0,011697	10,32
2.59	318,14±12,086	0,056137	10,52
Рибоксин	350,00±17,166	0,010666	21,59
Контроль	133,00±5,057	–	100
2.78	247,00±17,664	0,000443	85,71
2.79	176,86±10,927	0,005963	35,23
2.80	256,57±18,761	0,000382	92,91
2.81	254,57±17,157	0,000254	91,41
Рибоксин	174,14±14,165	0,029106	30,93
Контроль	180,29±12,726	–	100
2.82	263,86±22,062	0,0134	46,35
2.83	153,14±12,326	0,169361	-15,06
2.84	186±23,788	0,814	3,65

1	2	3	4
Рибоксин	236,00±9,695	0,010231	30,90
Контроль	183,00±10,819	–	100
2.85	173,57±4,242	0,443868	-5,15
2.86	204,57±5,353	0,117	11,79
Рибоксин	226,43±11,150	0,026704	23,73
Контроль	287,71±8,692	–	100

Примітка. $\Delta\%$ – дані достовірні по відношенню до контрольної групи, $p < 0,01$; n – кількість щурів в групі

5.6 Протисудомна активність 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів

1,2,4-Триазольне ядро впродовж багатьох десятиліть залишається об'єктом пильної уваги науковців різних напрямів, як перспективний фармакофор для прояву біологічної активності [15-20]. Перспективним шляхом хімічної модифікації похідних 1,2,4-триазолу є синтетичні випробування в ряді 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)ліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів і її відновлених сполук, а також 3-(2-фторфеніл)-6- R_1 -[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів і 3-(2-, 3-фторфеніл)-6- R_2 -7H[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазинів. Відповідні хімічні модифікації в даних рядах створюють передумови до появи речовин із високою біологічною активністю.

Крім того, аналіз результатів прогнозування щодо протисудомної активності похідних 1,2,4-триазолу свідчить, що перспективними виявились похідні ряду 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів, тому саме в цьому напрямі були зосереджені наші подальші дослідження [364].

Інші синтетичні дослідження доводять можливість отримання з високими виходами сполук – 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів [318]. Встановлено, що 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанони добре розчинні в органічних розчинниках, практично нерозчинні у воді.

Дослідження протисудомної активності в ряду 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів проведено по тесту взаємодії з засобами, які збуджують центральну нервову систему [364]. Досліди виконувались на інтактних білих щурах лінії «Вістар» вагою 160-190 г, по п'ять тварин у кожній групі на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д. вет. н., професора Киричка Б. П. В якості досліджуваної моделі було обрано коразол-індуковані судоми, що полягали у підшкірному введенні «Коразолу» в дозі 100 мк/кг. В подальшому тварин розташовували в індивідуальні плексиглазові прозорі камери і спостерігали за ними впродовж 1 год. Реєстрували 6 ознак судом: летальність та тривалість життя, латентний період, кількість тварин з генералізованими клонічними або тоніко-клонічними судомами в групі, кількість тварин з тонічною екстензією.

Обрані синтетичні сполуки вводили внутрішньоочередно у вигляді 3-5% водної суспензії стабілізованої твіном-80 за 30 хв до введення коразолу. Зміни латентного періоду початку судом та їх тривалість слугувало оцінкою протисудомної активності. Препаратами-порівняння слугували мідокалм та фенобарбітал (табл. 5.19).

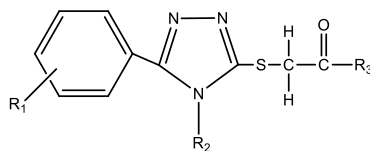
Встановлено, що сполуки **2.65**, **2.66**, **2.70** виявляють високу протисудомну активність. Так, на фоні введення 2-((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(3-фторфенілетанону) (**2.65**), 2-((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(4-фторфенілетанону) (**2.66**) та 2-((5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(4-фторфенілетанону) (**2.70**), латентний період появи коразолових судом підвищується на 57,1%, 67,3% та 28,6% ($p < 0,05$), а тривалість судом зменшується на 33,4%, 31,5% та 38,9% ($p < 0,05$), що свідчить про

нейропротективну та мембраностабілізуючу дію в ряду 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів. Мідокалм та фенобарбітал відповідно збільшують латентний період при порівнянні на 51% і 34,7% (p<0,05), а тривалість судом зменшується на 20,4% і 14,9% при (p<0,05) відповідно. Зміна 3-флуорофенацильного або 4-флуорофенацильного радикалу при атомі сульфуру 1,2,4-триазолового ядра на фенацильний та заміною замісника при четвертому положенні 1,2,4-триазолу аміногрупи на метильну призводить до зменшення протисудомної активності (**2.61**, **2.62**).

Додавання 4-метоксифенацильного замісника не надає збільшення протисудомного ефекту, а навпаки понижує латентний період коразолових судом та подовжує їх в часі (**2.67**). Виходячи з вищезазначеного, три сполуки проявили високу активність: 2-((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(3-фторфенілетанон) (**2.65**), 2-((5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(4-фторфенілетанон) (**2.66**) та 2-((5-(4-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-(4-фторфенілетанон) (**2.70**), а сполука **2.66** на відміну препарату порівняння мідокалму перевищує на 10% протисудомну активність.

Таблиця 5.19

Значення ефектів протисудомної активності в ряду 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4-R₂-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів



Сполука	Доза, мг/кг	Коразол, 100 мк/кг			
		Латентний період, хв	Тривалість судом, хв	Ефект взаємодії	% померлих
1	2	3	4	5	6
2.61	10,3	3,3±0,23	7,2±0,22	--	40

Продовж. табл. 5.19

1	2	3	4	5	6
2.62	10,8	4,4±0,28	3,7±0,29	+	20
2.63	11,4	5,3±0,21	3,4±0,16	+	20
2.64	11,3	3,5±0,33	7,6±0,15	-	20
2.65	11,6	7,7±0,26	3,6±0,26	+++	0
2.66	12,7	8,2±0,74	3,7±0,13	+++	0
2.67	13,2	3,7±0,33	8,2±0,26	--	40
2.68	10,5	5,7±0,27	3,9±0,21	+	20
2.69	11,2	4,3±0,24	4,2±0,17	+	20
2.70	12,3	6,3±0,23	3,3±0,24	+++	0
2.71	13,6	5,5±0,54	3,6±0,12	+	0
Мідокалм	10,0	7,4±0,31	4,3±0,08	+++	0
Фенобарбітал	10,0	6,6±0,25	4,6±0,11	+++	0
Контроль	–	4,9±0,17	5,4±0,17	---	60

Примітка. «+» слабкий ефект, «++» протисудомна дія, «+++» виражені протисудомні дії, «-» відсутність протисудомної дії, «--» клонічні судоми, «---» виражені клоніко-тонічні судоми з падінням тварин на бік та чіткою фазою екстензії.

5.7 Обговорення протизапальної дії деяких сполук

Дослідження щодо комп'ютерного прогнозу біологічної активності 3-, 4-, 5-тризаміщених 1,2,4-триазол-3-тіонів свідчить про певні перспективи використання нових водорозчинних сполук в якості потенційних протизапальних засобів.

Попередні дослідження науковців теж свідчать про перспективність пошуку саме в цьому напрямі [283].

Дослідження антиексудативної активності нових похідних 1,2,4-триазолу проводилось при використанні експериментальних моделей ексудативного асептичного запалення на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д. вет. н., професора Киричка Б. П. Екссудативне асептичне запалення викликали у білих щурів лінії Вістар введенням під апоневроз долонної поверхні задніх кінцівок розчину формаліну. Реєстрація набряку здійснювалася онкометричним методом. Вимір об'єму кінцівки проводилися за 2 год до ін'єкції флогогену. Контролем служили інтактні тварини і тварини, яким за год до введення флогогену вводили у шлунок бутадіон у дозі 100 мг/кг. Для співставлення і вірогідності результатів у всіх випадках для досліджуваних сполук використовували як еталон порівняння (диклофенак). Всі сполуки, які було піддано випробуванню, застосовувалися у дозі 1/10 від LD₅₀.

Чітких закономірностей впливу в даному випадку виявлено не було, але встановлено, що активність сполуки **3.13** – морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату, в порівнянні з іншими сполуками, перевищує показник еталону порівняння (табл. 5.20).

На сьогодні відомим фактом є висока біологічна активність похідних 1,2,4-триазолу, яка обумовлює підвищену увагу до цієї гетероциклічної системи. Серед похідних 1,2,4-триазолу знайдено серію сполук, які володіють антиоксидантними, гепатопротекторними, імуномодельючими властивостями, деякі з них широко використовуються у ветеринарній медицині. В більшості похідні 1,2,4-триазолу належать до малотоксичних або практично нетоксичних сполук. Також відома інформація щодо деяких похідних 1,2,4-триазолу, які можуть бути рекомендовані для лікування і профілактики панкреатиту [365]. Результати попередніх досліджень свідчать про те, що морфоліній 2-(5-(3-фтор-

феніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетат (**3.13**) є малотоксичною сполукою, яка за результатами комп'ютерного прогнозування і попередніх скринінгових досліджень виявляє досить високі показники протизапальної активності.

Таблиця 5.20

Результати вивчення протизапальної дії деяких сполук

Шифр	Середнє значення набряку лапки, $M \pm m$	Зменшення набряку, %
Контроль	0,52±0,207	0
Диклофенак	0,29±0,104	-45,08
3.5	1,07±0,249	164,79
3.6	0,63±0,240	57,35
3.9	0,57±0,123	8,74
3.10	0,77±0,233	47,27
3.11	0,51±0,160	-2,46
3.12	0,38±0,157	-27,05
3.13	0,49±0,096	-48,66
3.14	0,44±0,121	-15,03

Проводячи порівняльний аналіз захворювань черевної порожнини, гострий панкреатит займає особливе місце у зв'язку з його природою, тяжкістю, певними особливостями та продовжує залишатись актуальною проблемою в гастроентерології та хірургії. За різними даними в Україні захворюваність на ГП становить 5,2-6,7 випадків на 10 тис. населення. Більше ніж 55,5-70% хворих на ГП це особи працездатного віку. Близько 75-90% пацієнтів з ГП мають достатньо сприятливий клінічний перебіг, який добре піддається консервативному лікуванню. Тоді як у 10-15%, а за даними інших авторів у 25% пацієнтів, захворювання має тяжкий та дуже тяжкий перебіг й потребує комплексного,

тривалого та високовартісного лікування [366]. Загальна летальність при ГП становить 5-15%, при деструктивних формах – 15-75%, а при ускладнених деструктивних формах – 54-97% [367]. Незважаючи на значний прогрес, досягнутий протягом останніх десятиліть, проблема лікування ГП залишається невирішеною, і на даний час не існує спеціальних методів лікування, які можуть змінити перебіг захворювання. Незадовільні результати лікування та високий рівень летальності при тяжких формах ГП в основному пояснюються складністю механізму розвитку цього захворювання [368-371]. Патоморфологічні процеси, що перебігають при ГП як у ПЗ, так і навколишніх тканинах і в організмі у цілому, супроводжуються тяжким ендотоксикозом, розвитком поліорганної недостатності і гнійно-некротичних ускладнень на відповідних стадіях процесу. Дані сучасних публікацій вказують на те, що, поряд з різноманітним причин виникнення, патогенетичні механізми розвитку ГП перебігають однотипово, в три фази [372]: 1) пошкодження тканин активованими панкреатичними ферментами; 2) ексудація з розвитком асептичного парапанкреатиту, яка зумовлює вираженість синдрому ендогенної інтоксикації, поліорганної недостатності, імунодефіциту і ризик розвитку інфікованого панкреонекрозу; 3) власне, запальна реакція.

За сучасними уявленнями, первинним активатором каскаду тяжких патобіохімічних реакцій є трипсин, а вираженість патологічних реакцій пояснюється дією інтегральної сукупності всіх ферментних систем ПЗ (трипсину, хімотрипсину, ліпази, фосфоліпази А, еластази, карбоксипептидази, колагенази та ін.) [373]. Прогноз при ГП залежить як від обсягу ураження ПЗ, так і від поширеності гнійно-некротичного процесу в самому органі та оточуючих тканинах [374, 375]. Доведена важлива роль посилення процесів ПОЛ та недостатності АОС в патогенезі розвитку ГП, обумовлює доцільність включення у комплексну терапію захворювання препаратів з вираженою антиоксидантною дією, що здатні переривати каскад вільно-радикальних процесів.

Таким чином, метою даного подальшого дослідження стало вивчення проти-запальних властивостей морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**) при внутрішньом'язовому та внутрішньошлунковому введенні на моделі експериментального панкреатиту у щурів [331]. Цей факт було аргументовано тим, що попередні випробування цієї сполуки виявились перспективними.

Всі представлені дослідження проводили відповідно до національних «Загально етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1985), а також згідно з директивою Ради ЄС. Визначення протизапальної активності субстанції морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**) проведено на 68 щурах самцях з вихідною масою 180-200 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Оскільки основним ланцюгом патогенезу ГП є активація та вплив протеолітичних ферментів ПЗ, обрано токсико-інфекційну модель – введення трипсину у тканину ПЗ, яка добре відпрацьована і має 100% відтвореність. Фермент трипсин є сериною протеїназою з властивостями естеропротеази. При локальному введенні в ПЗ трипсин активує не тільки усі зимогенні ферменти ПЗ (еластазу, карбоксипептидазу тощо), але й лізосомальні ферменти та протеїнази, що сприяє протеолітичному порушенню тканини ПЗ та призводить до розвитку геморагічного панкреонекрозу.

Крім того, трипсин активує пускові реакції протеолітичних каскадних систем крові. В цілому введення трипсину зумовлює розвиток необоротного гемодинамічного шоку, геморагічний панкреонекроз, формування синдрому ДВЗ крові і ПОН з можливим летальним кінцем. Тест зразки (ТЗ) та референт-зразок (РЗ) вводили у профілактичному режимі протягом 7 діб до моделювання панкреатиту. Тварин наркотизували тіопенталом натрію у дозі 40 мг/кг внутрішньоочеревинно. Розтинали черевну порожнину і в ПЗ уздовж загального панкреатобіліарного протоку з боку його входження в дванадцятипалу кишку

вводили розчин трипсину у дозі 50 мг/кг. Рану пошарово зашивали. Досліджувані ТЗ та РЗ вводили протягом 5 діб. На 6 добу тварин знеживлювали, отримували сироватку, вилучали печінку та ПЗ, зразки якої піддавали морфологічному дослідженню. Печінку зважували, розраховували відносну масу органу (коефіцієнт маси, КМ) у відсотках за формулою:

$$KM_{\text{органу}} = \frac{m_{\text{органа}}}{M_{\text{тварини}}} \times 100\%$$

Оцінку фармакотерапевтичної дії субстанцій проводили за виживанням, відотною масою печінки, біохімічними показниками, які визначали у сироватці крові та у гомогенатах печінки. В сироватці визначали активність аспартат- та аланін-трансаміназ, лужної фосфатази, циркулюючих імунних комплексів (ЦІК, Інструкція до набору для визначення ЦІК, Фирма «Гранум», г. Харьков), молекул середньої маси, загального та прямого білірубину (за методом Єндрашика) за допомогою діагностичних наборів «Філісіт», «Гранум», «Pliva-Lachema». Про/антиоксидантний статус тварин та вплив на нього субстанцій оцінювали за основними показниками у сироватці крові та біологічному субстраті (тканинах печінки): визначали вміст вторинних продуктів ПОЛ – ТБК-активних продуктів (ТБК-Р – продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, активність супероксиддисмутази та каталази. У тканинах печінки – вміст ТБК-Р, відновленого глутатіону та активність СОД і Кат. Вміст ТБК-Р визначали колориметричним методом, який ґрунтується на здатності суми цих сполук утворювати у кислому середовищі забарвлені триметинові комплекси з ТБК, що мають максимум поглинання при 532 нм.

Вміст ВГ визначали за здатністю низькомолекулярних тіолових сполук утворювати забарвлену сполуку з 5,5'-дитіо-біс-2-нітробензоатом, водний розчин якої має максимум поглинання при 412 нм. Активність Кат визначали за зменшенням в інкубаційному середовищі вмісту гідрогену пероксиду. Метод визначення активності Кат базується на здатності гідрогену пероксиду

взаємодіяти з солями амонію і утворювати стійкі забарвлені екстракти, які мають максимум поглинання при 410 нм. СОД визначали спектрофотометрично за величиною оптичної густини при довжині хвилі 347 нм протягом 3 хв за реакцією автоокиснення адреналіну в лужному середовищі. Активність СОД оцінювали за ступенем інгібування автоокиснення адреналіну в дослідній та контрольній пробах та виражали у відсотках. Розраховували за формулою:

$$\% \text{ СОД} = (1 - A_{\text{дослід}} / A_{\text{контроль}}) \times 100\%,$$

де $A_{\text{дослід}}$ і $A_{\text{контроль}}$ – швидкість реакції аутоокиснення адреналіну в присутності дослідної сироватки ($A_{\text{дослід}}$) або за її відсутності ($A_{\text{контроль}}$) в од. екстинкції за 1 хв

Одразу після введення ТЗ та щоденно реєстрували можливі прояви інтоксикації: порушення рухової активності, дихання, наявність та виразність судом, офтальмологічних, серцево-судинних симптомів, саливації, пілоерекції. Спостерігали за тонусом м'язів, станом екскрементів. До їжі тварин допускали через 2-3 год, доступ до води був вільний. У випадку загибелі тварин піддавали розтину та проводили макроскопічний огляд внутрішніх органів з метою виключення маніпуляційної помилки та встановлення вірогідної причини загибелі. Стан фізіології тварин оцінювали за зміною маси тіла, яку реєстрували на початку експерименту (до введення ТЗ), на 3, 7 і 14 добу після введення ТЗ. Після спостереження, тварин розтинали і проводили макроскопічне обстеження – зовнішній огляд, огляд внутрішніх органів грудної порожнини (серця, тимусу, легенів) і черевної порожнини (печінки, селезінки, сім'яників), а також нирок і наднирників. Органи зважували і розраховували відносну масу (КМ, %) за вищенаведеною формулою.

Відповідно до отриманих даних, введення трипсину призводило до підвищення рівня молекул середньої маси, циркулюючих імунних комплексів та

активності лужної фосфатази (табл. 5.21). Поряд з цим реєстрували значну активацію процесів ПОЛ та зниження потужності антиоксидантного захисту. У щурів на тлі панкреатиту статистично значуще, майже у 3 рази підвищувався рівень ТБК-Р та знижувалася активність СОД, але не каталази (табл. 5.22).

При введенні в підшлункову залозу щурів трипсин активує ферменти ПЗ, лізосомальні ферменти та протеїнази, пускові реакції протеолітичних каскадних систем крові, що призводить до порушення тканини ПЗ та розвитку геморагічного панкреонекрозу. Хімотрипсин і еластаза, подібно трипсину, при ізольованій дії викликають набряк, геморагії та обмежений некроз. У той же час ліполітичні ферменти викликають інтенсивні некрози ПЗ і пошкодження прилеглих тканин. Фосфоліпаза А₂ з притаманними їй вираженими цитолітичними властивостями пошкоджує клітинні мембрани, вивільняючи лизолецитин, що має цитотоксичну дію. Активація еластази веде до руйнування еластичних компонентів судин, сприяючи розвитку внутрішньопанкреатичних крововиливів.

При цьому утворюються проміжні продукти розпаду мембранних структур клітин та міжклітинного матріксу, що є токсичними субстратами. Ці компоненти клітинної дезорганізації, неповного розпаду високомолекулярних білкових сполук і є молекулами середньої маси. Накопичення МСМ є маркером ендогенної інтоксикації. В подальшому вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, впливаючи на життєдіяльність усіх систем і органів. Незважаючи на велику кількість робіт, остаточно пул МСМ не ідентифіковано, однак, точно встановлено, що склад МСМ включає в себе компоненти пептидної природи, а також похідні олігоспиртів і глюкуронової кислоти. На сьогодні неспецифічними ознаками ендотоксикозу вважають також й підвищення в сироватці крові вмісту продуктів ПОЛ. Показано, що продукти розпаду ліпідів (альдегіди, диальдегіди, епоксиди) пошкоджують білки, нуклеїнові кислоти та різні структури клітини, отже, є ендопатогенами. Пероксидне

пошкодження білкових речовин призводить до їх деградації і утворення токсичних фрагментів, в тому числі, МСМ та ЦК.

У тварин позитивного контролю спостерігали значне підвищення вмісту білірубину у сироватці крові. Підвищення вмісту загального білірубину відбувається як за рахунок підвищення його непрямой, токсичної фракції, так і прямої. Проте, найбільш виразно підвищується вміст прямого білірубину, що вказує на погіршення функції гепатоцитів внаслідок запального процесу, обумовленого розвитком панкреатиту. Відомо, що ураження підшлункової залози призводить у кінцевому рахунку до порушення функціонального стану печінки та інших органів. При запальних процесах у печінці гепатоцити зморщуються, між ними утворюються широкі проміжки, крізь жовч потрапляє у кров'яне русло. Такому переміщенню жовчі сприяє підвищення тиску у жовчних ходах, внаслідок набряку сполучної тканини та/або внаслідок обструкції жовчовидільних протоків та через гемодинамічні розлади, що розвиваються у процесі ендогенної інтоксикації. Вищенаведена динаміка вмісту білірубину тісно корелює з результатами визначення печінкових трансаміназ. У досліді спостерігали статистично значуще зменшення активності АлАт, що також свідчить про порушення внутрішньоклітинного метаболізму гепатоцитів. Активність АсАт знижувалася тенденційно, але ці зміни не мали статистичної значущості щодо значень інтактних тварин (табл. 5.23).

Отже, у результаті введення трипсіну у тварин розвивається панкреатит, який характеризується ендогенною інтоксикацією, розвитком запалення та супроводжується порушенням функціонального стану печінки. Як наслідок у групі позитивного контролю загинула одна тварина (табл. 5.24).

Профілактичне введення сполуки **3.13** сприяло статистично значущому зниженню вмісту МСМ, ЦК не тільки у порівнянні з позитивним контролем, а й зі значеннями інтактних тварин (табл. 5.21), що свідчить про детоксикаційні властивості досліджуваного зразка.

**Вплив морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату (3.13)
та препарату порівняння «Контривен» на біохімічні маркери запалення
в сироватці крові щурів за умови експериментального панкреатиту**

Показники	Групи тварин					
	Інтактний контроль	Негативний контроль (псевдооперовані тварини)	Позитивний контроль (трипсин)	3.13, 6 мг/кг (в/м) + трипсин	3.13, 6 мг/кг (в/ш) + трипсин	«Контривен», 28330 Од/кг + трипсин
1	2	3	4	5	6	7
МСМ, ум. од. (критерій LSD)	0,047±0,003	0,051±0,004	0,058±0,003 p ₁ =0,0548 p ₃ =0,0000	0,056±0,003 p ₄ =0,0000	0,035±0,002 p ₁ =0,0368 p ₁ /p _{по} =0,00068 p ₂ =0,0000 p ₃ =0,0047	0,023±0,003 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0001 p ₂ =0,0000
ЦК, ум.од. (критерій LSD)	0,079±0,011	0,070±0,005	0,116±0,007 p ₁ =0,0012 p ₁ /p _{по} =0,0006	0,088±0,006 p ₂ =0,0006 p ₃ =0,0005 p ₄ =0,0019	0,061±0,004 p ₁ =0,0436 p ₂ =0,0000	0,054±0,004 p ₁ =0,0135 p ₂ =0,0000

Продовж. табл. 5.21

1	2	3	4	5	6	7
ЛФ, мккат/(с·л) (критерій Манна-Уїтні)	5,61±0,32	7,02±0,54 p ₁ =0,0649	6,42±0,21 p ₁ =0,0575	6,51±0,32 p ₁ =0,0187 p ₃ =0,0086	6,17±0,42	5,81±0,20 p ₁ /p _{по} =0,0239

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою критеріїв LSD або Манна-Уїтні, $p < 0,05$; $p_1/p_{по}$ – рівень статистичної значущості відносно інтактного та негативного контролів; p_2 – рівень статистичної значущості відносно позитивного контролю; p_3 – рівень статистичної значущості відносно препарату «Контривен»; p_4 – рівень статистичної значущості відносно сполуки **3.13** (в/ш)

**Вплив морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату (3.13)
та препарату порівняння «Контривен» на показники ПОЛ/АОС
в сироватці крові щурів за умови експериментального панкреатиту**

Показники	Групи тварин					
	Інтактний контроль	Негативний контроль (псевдооперовані тварини)	Позитивний контроль (трипсин)	3.13 , 6 мг/кг (в/м) + трипсин	3.13 , 6 мг/кг (в/ш) + трипсин	«Контривен», 28330 Од/кг + трипсин
1	2	3	4	5	6	7
ТБК-Р, мкмоль/л (критерій М-У)	0,23±0,01	0,69±0,04 p ₁ =0,0019	0,62±0,02 p ₁ =0,0001	1,04±0,05 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0089 p ₂ =0,0063 p ₃ =0,0484	1,03±0,04 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0010 p ₂ =0,0076 p ₃ =0,0255	1,19±0,06 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0018
СОД, % (критерій М-У)	24,47±0,42	24,27±0,52	18,55±0,51 p ₁ =0,0000 p ₁ /p _{по} =0,0001	22,68±0,47 p ₂ =0,0000 p ₄ =0,0004	25,58±0,61 p ₂ =0,0000	23,55±0,74 p ₂ =0,0000

Продовж. табл. 5.21

1	2	3	4	5	6	7
Каталаза, мкмоль/(хв·л) (критерій LSD)	17,71±1,05	19,15±1,04	19,44±1,13	18,77±0,76	17,39±0,68	17,47±0,86
К (ПОЛ/АОС)	1,0	1,0	1,5	1,3	1,4	1,6

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою критеріїв LSD або Манна-Уїтні, $p < 0,05$; $p_1/p_{по}$ – рівень статистичної значущості відносно інтактного та негативного контролів; p_2 – рівень статистичної значущості відносно позитивного контролю; p_3 – рівень статистичної значущості відносно препарату «Контривен»; p_4 – рівень статистичної значущості відносно сполуки **3.13** (в/ш)

Таблиця 5.23

Вплив морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату (3.13) та препарату порівняння «Контривен» на біохімічні показники в сироватці крові щурів за умови експериментального панкреатиту

Показники	Групи тварин					
	Інтактний контроль	Негативний контроль (псевдооперовані тварини)	Позитивний контроль (трипсин)	3.13, 6 мг/кг (в/м) + трипсин	3.13, 6 мг/кг (в/ш) + трипсин	«Контривен», 28330 Од/кг + трипсин
1	2	3	4	5	6	7
Загальний білірубін, мкмоль/л (критерій М-У)	3,07±0,42	4,44±0,41 p ₁ =0,0417	7,66±0,62 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0006	4,55±0,31 p ₁ =0,0179 p ₂ =0,0000 p ₃ =0,0000 p ₄ =0,0052	2,62±0,51 p ₁ /p _{по} =0,0263 p ₂ =0,0000	1,81±0,19 p ₁ =0,0092 p ₁ /p _{по} =0,0001 p ₂ =0,0000
Прямий білірубін, мкмоль/л (критерій М-У)	0,63±0,11	1,07±0,13 p ₁ =0,0652	2,88±0,13 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0001	0,77±0,06 p ₂ =0,0000 p ₄ =0,0155	1,78±0,33 p ₁ =0,0162 p ₂ =0,0049 p ₃ =0,0317	0,91±0,09 p ₁ =0,1805 p ₂ =0,0001

1	2	3	4	5	6	7
Непрямий білірубін, мкмоль/л (критерій М-У)	2,38±0,43	3,35±0,41	4,55±0,51 p ₁ =0,0218	3,65±0,28 p ₁ =0,0421 p ₃ =0,0000 p ₄ =0,0000	0,88±0,25 p ₁ =0,0067 p ₁ /p _{по} =0,0005 p ₂ =0,0000	0,94±0,17 p ₁ =0,0071 p ₁ /p _{по} =0,0005 p ₂ =0,0000
АлАт, мккат/л (критерій LSD)	0,49±0,03	0,44±0,03 p ₁ =0,0111	0,45±0,03 p ₁ =0,0079	0,45±0,02 p ₁ =0,0115	0,43±0,02 p ₁ =0,0007 p ₃ =0,0094	0,49±0,03
АсАт мккат/л (критерій М-У)	0,77±0,03	0,82±0,03	0,77±0,02 p ₁ /p _{по} =0,0127	0,75±0,02	0,73±0,02	0,74±0,03
КМ печінки, % (критерій М-У)	3,72±0,13	3,49±0,11	3,85±0,12	4,22±0,13 p ₁ =0,0411 p ₂ =0,0452 p ₃ =0,0054 p ₄ =0,0022	3,51±0,07 p ₂ =0,0238	3,66±0,07 p ₂ =0,0289

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою критеріїв LSD або Манна-Уїтні, $p < 0,05$; $p_1/p_{по}$ – рівень статистичної значущості відносно інтактного та негативного контролів; p_2 – рівень статистичної значущості відносно позитивного контролю; p_3 – рівень статистичної значущості відносно препарату «Контривен»; p_4 – рівень статистичної значущості відносно сполуки **3.13** (в/ш)

Вплив сполуки морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату (3.13) та препарату порівняння «Контривен» на летальність щурів за умови експериментального панкреатиту

Групи тварин	Летальність тварин, (загибель/кількість тварин у групі)
Інтактний контроль	0/6
Негативний контроль (псевдооперовані тварини)	0/6
Позитивний контроль (трипсин)	1/14
Сполука 3.13 , 6 мг/кг (в/м) + трипсин	1/14
Сполука 3.13 , 6 мг/кг (в/шл) + трипсин	0/14
Препарат «Контривен», 28330 Од/кг (в/оч) + трипсин	2/14

Найбільшу ефективність субстанція виявила при внутрішньошлунковому введенні. Значення показників у тварин цієї групи були на рівні тварин, яким вводили препарат порівняння відомий інгібітор протеолітичних ферментів «Контривен». Слід зазначити, що за застосування досліджуваної сполуки спостерігалось статистично значуще підвищення у сироватці крові рівня ТБК-Р, яке супроводжувалося незначним, окрім групи тварин, яким вводили сполуку **3.13** внутрішньошлунково, підвищенням активності СОД (табл. 5.22).

За в/ш введення активність СОД підвищувалася до рівня інтактних тварин та статистично значуще переважала таку у групі ПК (табл. 5.22). Проте активність ЛФ в усіх досліджуваних групах залишалася на рівні ПК (табл. 5.21).

Зниження рівня ендогенної інтоксикації за застосування досліджуваних засобів позитивно позначилося й на функціональному стані ПЗ та печінки. Вміст

всіх фракцій білірубіну статистично значуще знижувався у порівнянні з позитивним контролем, але найбільшу ефективність щодо цього показника встановлено на тлі внутрішньошлункового введення сполуки **3.13**, яка за виразністю не поступалася препарату порівняння «Контривен». За в/м введення сполуки **3.13** вміст загального та непрямого білірубіну залишався на рівні значень тварин з групи ПК, що свідчить про меншу ефективність засобу, ніж при в/ш введенні та препарату порівняння «Контривен». За застосування сполуки **3.13** як в/м, так і в/ш, але не препарату порівняння «Контривен», активність АЛат також була зниженою у порівнянні з інтактним контролем, але активність АсАт залишалася на фізіологічному рівні (табл. 5.23).

Визначення відносної маси печінки показало відсутність істотних змін за умови панкреатиту, що ймовірно пов'язано з коротким терміном дослідження (всього 6 діб, табл. 5.23). Проте спостерігали порушення балансу у системі ПОЛ/АОС: у гомогенатах печінки статистично значуще підвищувався вміст ТБК-Р та знижувалася активність антиоксидантів ферментної ланки – СОД та каталази (табл. 5.25). Слід відмітити невиразне, але статистично значуще підвищення пулу ВГ, що можна пояснити компенсаторною активацією антиоксидантів, що синтезуються у печінці (табл. 5.25).

На тлі внутрішньошлункового введення сполуки **3.13** та препарату порівняння відносна маса печінки також не змінювалася. Проте за застосування внутрішньом'язового введення сполуки **3.13** спостерігали значне збільшення відносної маси, що може свідчити про функціональну напругу цього органу (табл. 5.25). Значно менше зниження загального та непрямого білірубіну, ніж у групах тварин, яким вводили сполуку **3.13** внутрішньошлунково та «Контривен», служить на користь цього припущення (табл. 5.22). Про відновлення функціонального стану печінки також свідчить й збереження балансу про/антиоксидантних процесів: у гомогенатах печінки тварин, яким вводили досліджувану субстанцію, вміст вторинних продуктів ПОЛ знижувався. Проте динаміка антиоксидантних

ферментів була не однозначною. За внутрішньом'язового введення засобу активність як СОД, так й каталази була зниженою та не відрізнялася від значень позитивного контролю, але за внутрішньошлункового введення активність СОД наближалася до рівня інтактних тварин (табл. 5.25). Проте активність каталази залишалася зниженою. За застосування препарату порівняння «Контривен» відмічали дисбаланс у про/антиокисних процесах – підвищений рівень ТБК-Р супроводжувався зниженням активності СОД та каталази (табл. 5.24). Слід зазначити, що в усіх досліджуваних групах вміст відновленого глутатіону був вищим за значення інтактних тварин. Підвищення пулу ВГ у тварин, яким у лікувально-профілактичному режимі вводили досліджувану субстанцію та препарат порівняння, ймовірно пояснюється активацією глюкоз-6-фосфатдегідрогенази – ферменту пентозофосфатного циклу, що відновлює НАДФ до НАДФН і є необхідним для переходу глутатіону з окисленої форми у відновлену у тканині печінки.

Таким чином, введення трипсину у ПЗ викликало пошкодження тканин, що призводило до розвитку ендогенної інтоксикації та запалення, порушення функціонального стану печінки та дисбалансу у системі ПОЛ/АОС. Профілактично-лікувальне введення сполуки **3.13** сприяло зниженню рівня ендогенної інтоксикації, запалення та порушення функціонального стану ПЗ і печінки. Встановлені антиоксидантні властивості сполуки **3.13**. У цілому ефективність досліджуваної субстанції при в/ш введенні не поступалася препарату порівняння «Контривен», а за здатністю гальмувати надлишкові процеси ліпопероксидації переважали його. Сполука **3.13** при в/м введенні суттєво поступалася як при в/ш введенні, так і препарату порівняння «Контривен».

**Вплив морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату 3.13 та препарату порівняння
«Контривен» на біохімічні показники в гомогенаті печінки щурів
за умови експериментального панкреатиту**

Показники	Групи тварин					
	Інтактний контроль	Негативний контроль (псевдооперовані тварини)	Позитивний контроль (трипсин)	3.13 , 6 мг/кг (в/м) + трипсин	3.13 , 6 мг/кг (в/ш) + трипсин	«Контривен», 28330 Од/кг + трипсин
1	2	3	4	5	6	7
ТБК-Р, мкмоль/г (критерій LSD)	56,92±3,27	64,65±2,92	88,94±3,05 p ₁ =0,0000 p ₁ /p _{по} =0,0001	57,55±2,27 p ₂ =0,0000 p ₃ =0,0008	63,62±4,79 p ₂ =0,0000 p ₃ =0,0108	80,75±3,44 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0112
СОД, % (критерій LSD)	25,95±2,46	29,33±3,57	20,75±2,25 p ₁ /p _{по} =0,0342	19,12±3,07 p ₁ =0,0815 p ₁ /p _{по} =0,0128 p ₂ =0,0579	26,68±1,58	22,11±2,56 p ₁ /p _{по} =0,0735

Продовж. табл. 5.25

1	2	3	4	5	6	7
Каталаза, ммоль/л(хв·л) (критерій М-У)	2,77±0,02	1,88±0,12 p ₁ =0,0652	1,86±0,07 p ₁ =0,0016	1,69±0,06 p ₁ =0,0002 p ₁ /p _{по} =0,0612 p ₃ =0,0043 p ₄ =0,0036	1,92±0,03 p ₁ =0,0002	1,86±0,02 p ₁ =0,0001
ВГ, мкмоль/г (критерій LSD)	2,07±0,08	2,28±0,13 p ₁ =0,0579	2,49±0,07 p ₁ =0,0001 p ₁ /p _{по} =0,0557	2,63±0,06 p ₁ =0,0000 p ₁ /p _{по} =0,0062	2,59±0,06 p ₁ =0,0000 p ₁ /p _{по} =0,0117	2,48±0,02 p ₁ =0,0033

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою критеріїв LSD або Манна-Уїтні, $p < 0,05$; $p_1/p_{по}$ – рівень статистичної значущості відносно інтактного та негативного контролів; p_2 – рівень статистичної значущості відносно позитивного контролю; p_3 – рівень статистичної значущості відносно препарату «Контривен»; p_4 – рівень статистичної значущості відносно субстанції **3.13** (в/ш)

Резюмуючи вищенаведене, слід зазначити, що профілактичне в/ш та в/м введення сполуки **3.13** сприяло значущому зниженню вмісту МСМ, ЦК щодо значень груп позитивного контролю і інтактних тварин, що свідчить про зниження рівня ендогенної інтоксикації та детоксикаційні властивості досліджуваної сполуки. Найбільшу ефективність сполука **3.13** виявила при внутрішньошлунковому введенні. Значення майже всіх досліджуваних показників у тварин цієї групи були на рівні тварин, яким вводили препарат порівняння «Контривен» та інтактного контролю. Сполука **3.13** за внутрішньом'язового введення також виявила позитивний вплив на експериментальний панкреатит та ендогенну інтоксикацію, але була менш ефективною ніж при в/ш введенні та поступалася за виразністю дії препарату порівняння «Контривен».

5.8 Вплив деяких похідних 1,2,4-триазолів на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового

Публікаційна активність науковців практично у всьому світі щодо властивостей похідних 1,2,4-триазолу дозволяє з упевненістю стверджувати, що цей клас гетероциклічних систем дуже перспективний.

1,2,4-Триазоли зарекомендували себе як біологічно активні сполуки, регулятори росту рослин, антикорозійні засоби, пластифікатори пластмас, тощо. Крім цього вони практично нетоксичні та дуже реакційноздатні за рахунок наявності у їх складі реакційних центрів.

Ядро 1,2,4-триазолу є базисним остовом для отримання широко спектру щодо пошуку нових біологічно активних молекул [55-60]. Специфічні властивості, які притаманні похідним 1,2,4-триазолу, дозволяють отримати дуже привабливі біологічно активні сполуки. Вітчизняним прикладом є зареєстровані ліки та добрива, діючою речовиною яких є похідні 1,2,4-триазолу.

Окремої уваги заслуговують наукові дослідження, присвячені пошуку сполук серед похідних 1,2,4-триазолу, які підвищують врожайність сільськогосподарських культур [328]. Слід відзначити, що на сьогодні існує багато інформації з різних джерел, яка стосується наявності рістстимулюючих властивостей у заміщених 1,2,4-триазолу.

Автори доводять ефективність застосування похідних 1,2,4-триазолу на різних рослинах. Дослідження впливу деяких похідних 1,2,4-триазолів на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового було проведено на кафедрі рослинництва Дніпровського державного агроекономічного університету під керівництвом завідувача, д.с.-г.н., професора Якуніна О. П. та доцента, к.с.-г.н. Іжболдіна О. О. Особливістю подібного застосування є той факт, що сполуки виявляються активними у мінімальних концентраціях, підвищуючи показники якості рослин на 5-20% за різних схем обробці [328].

Відомо, що найбільші показники рістстимулюючої активності притаманні водорозчинним похідним 1,2,4-триазолу [283]. Використовуючи попередні дослідження щодо токсичності та беручи до уваги результати комп'ютерного прогнозу наявності біологічних властивостей, ми вважали за доцільне дослідити наявність рістстимулюючої активності у морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**). Тому метою нашої подальшої роботи було дослідити вплив цієї сполуки на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового [376].

Досліди закладали в сівозміні кафедри рослинництва Дніпровського державного агроекономічного університету. Попередником був льон олійний. Після збирання врожаю поле луцили на 6-8 см, при з'явленні бур'янів луцення повторювали на глибину 8-10 см. Відповідно до схеми дослідів у кінці вересня – початку жовтня проводили зяблеву оранку на 20-22 см. Навесні, при фізичній стиглості ґрунту проводили боронування важкими зубовими боронами та дві культивації.

Друга культивація – передпосівна, її проводили на глибину 6–8 см. Сіяли сорго сівалкою СУПН-8 на глибину 5-6 см. Програмою досліджень не

передбачалося вивчення впливу забур'яненості на врожай зерна сорго. Тому поле підтримували в чистому стані. Перший міжрядний обробіток проводили на глибину 8-10 см у фазі 6-8 листків, другий (з окучуванням) – на глибину 6-8 см. Біологічну та господарську урожайність визначали з кожної ділянки окремо з наступним зважуванням і відбором проб, його вологості, маси 1000 зерен тощо.

Програмою досліджень було закладено двофакторний дослід з визначення зернової продуктивності гібридів сорго Кейрас і Фулгус залежно від обробки (позакореневе підживлення рослин у період вегетації у дозі 20 г/га). Перший фактор (А) – гібриди сорго: «Кейрас» і «Фулгус». Другий фактор (Б) – досліджувані сполука **3.13** – морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтіо)ацетат.

Дослідження проводилися у різних умовах ґрунта та клімату і дозволи встановити достатній вплив сполуки **3.13** на рістстимулюючу активність до сорго зернового. У наших дослідженнях, проведених у 2018 році, позакореневе внесення посилювало ріст і розвиток рослин сорго зернового. Врожайність зерна гібридів «Кейрас» і «Фулгус» було отримано наступні результати (табл. 5.26).

Таблиця 5.26

Вплив позакореневого внесення морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтіо)ацетату (3.13) на урожайність зерна гібридів сорго

Гібрид	Варіант	Урожайність, т/га	Приріст до контролю	
			т/га	%
«Кейрас»	без внесення (контроль)	3,28	–	–
	сполука 3.13	3,43	0,15	4,62
«Фулгус»	без внесення (контроль)	3,35	–	–
	сполука 3.13	3,54	0,20	5,85

З наведених даних видно, що дещо змінювалася індивідуальна продуктивність рослин. На її показники впливало позакореневе внесення морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтію)ацетату (**3.13**) при вирощуванні гібриду «Фулгус». Так, приріст урожайності порівняно з контролем за результатами досліджень становив 0,2 т/га [378].

5.9 Аналітичні аспекти визначення β -естрадіолу з використанням похідних 1,2,4-триазолу

Дослідження, щодо створення іонселективного електроду на основі 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу було проведено на кафедрі природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету, під керівництвом завідувача, д. фарм. н., професора Панасенка О. І.

В залежності від типу речовини з електродною активністю розрізняють аніонні, катіонні і нейтральні рідкі мембрани. Якщо використовувати активні групи з позитивним зарядом, то можна отримати селективні електроди з аніонною функцією. На відміну від електродів з катіонною селективністю, майже всі аніоно-селективні електроди отримані на основі солей амінів і четвертинних амонієвих основ, які є типовими рідкими аніоно-обмінниками. Можливість виготовлення електродів визначається тим, в якій мірі екстрагуються органічні сполуки органічною фазою. Існує кілька різновидів електродів з рідким аніоном – перхлорат-селективний електрод, фосфат-селективний електрод, тетрафторборат-селективний електрод.

Коефіцієнт селективності визначається відносною ефективністю взаємодії основного і стороннього іонів з компонентами мембрани (чим менше концентрація «вільного» іона, тим вище ефективність взаємодії) і ліпофільністю цих іонів. Особливо слід підкреслити, що необхідною умовою коректного визначення коефіцієнтів селективності є наявність нернстовського відгуку іон- селективного електрода в розчинах не тільки основного, але і

стороннього іонів. Це можливо в тому випадку, коли всі обмінні центри у зовнішньому шарі мембрани зайняті даними іоном. Час відгуку – це час досягнення стаціонарного потенціалу. Зазвичай для відносно концентрованих розчинів (10^{-4} - 10^{-2} М) час відгуку не перевищує 10-15 с, але для розбавлених розчинів (10^{-5} М) може досягати декількох хв. Найпростіший спосіб визначення часу відгуку макро-електродів полягає у вимірі часу, що протікає з моменту перенесення іон-селективного електроду з розчину, в якому він зберігається, в досліджуваний розчин.

Швидкість перенесення іона з аналізованого розчину в мембрану істотно впливає на час відгуку мембранних іон-селективних електродів на основі нейтральних переносників.

Вивчення потенціометричного відгуку мембран. Для вивчення електрохімічних характеристик іон-селективних електродів були виміряні електрорушійні сили систем, що містять розчини з різною концентрацією β -естрадіолу (рис. 5.32).

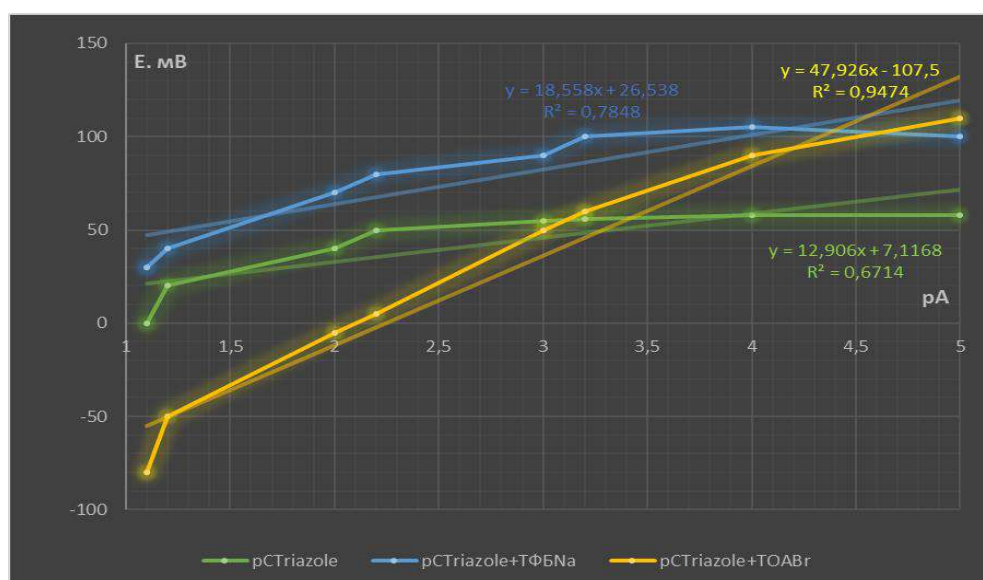


Рис. 5.32. Електродна функція мембран в розчинах β -естрадіолу

Розраховані електрохімічні характеристики представлені в табл. 5.27. Значними характеристиками володіє мембрана, що містить pCTriazole та тетраоктиламоній бромід, як іоногенної добавки, крутизна електродної

функції складала 48 ± 1 в широкому інтервалі концентрацій, межа виявлення покращалась ($0,8 \cdot 10^{-5}$ М), порівняно з мембраною без іоногенної добавки ($S = 13 \pm 1$ мВ/дек, $C = 4,5 \cdot 10^{-3}$ М).

Покращення характеристик сенсора – пониження межі виявлення і підвищення чутливості відгуку, обумовлене зниженням електричного опору мембрани при введенні ліпофільної іоногенної добавки. Введення іоногенної добавки ТОАВr покращує властивості іон-селективного електроду побічно вказує на те, що основа Шиффа функціонує у мембрані за механізмом нейтрального переносника.

На основі органічної основи Шиффа і аніоногенної добавки ТФБNa не отримуємо істотного поліпшення електрохімічних характеристик в порівнянні з мембраною: $S = 19 \pm 1$ мВ/дек, $C = 9,1 \cdot 10^{-4}$ М.

Таблиця 5.27

Електродні характеристики мембран ($n = 3$, $P = 0,95$)

Мембрани	Крутизна, мВ/дек	Межа виявлення, М	Інтервал лінійності, М
pCTriazole	13 ± 1	$4,5 \cdot 10^{-3}$	$1,4 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-1}$
pCTriazole+ТФБNa	19 ± 1	$9,1 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-3} - 1 \cdot 10^{-1}$
pCTriazole+ТОАВr	48 ± 1	$0,8 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4} - 1 \cdot 10^{-1}$

Визначення часу відгуку іон-селективного електрода. Для визначення часу відгуку електрода на основі мембран була отримана кінетична крива в розчині β -естрадіолу концентрації $1 \cdot 10^{-2}$ і $1 \cdot 10^{-4}$. Для цього потенціал досліджуваного розчину фіксували через рівні проміжки часу (10 с). Отримані дані подані на рис. 5.33. Результати експерименту свідчать про те, що іон-селективні електроди на основі мембран мали малий час відгуку навіть у розведених розчинах.

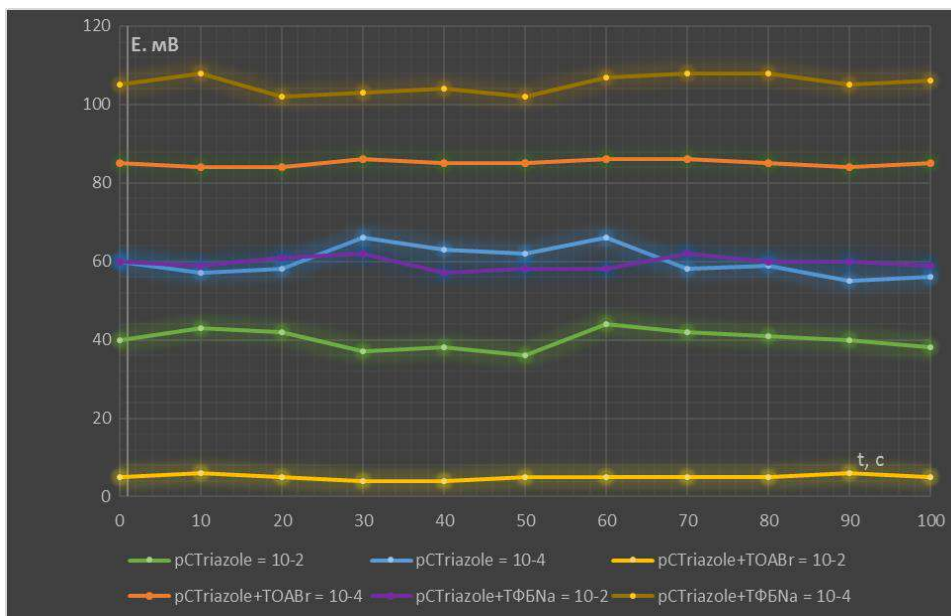


Рис. 5.33. Залежність потенціалу електрода від часу

Потенціометричне титрування лікарського препарату «Гуна-бета-естрадиол капли ор. по 30 мл во флак.-кап.». У результаті дослідження побудовано інтегральну криву титрування (рис. 5.34) та диференційну криву залежності $\Delta pH/\Delta V$ від об'єму титранту (рис. 5.35).

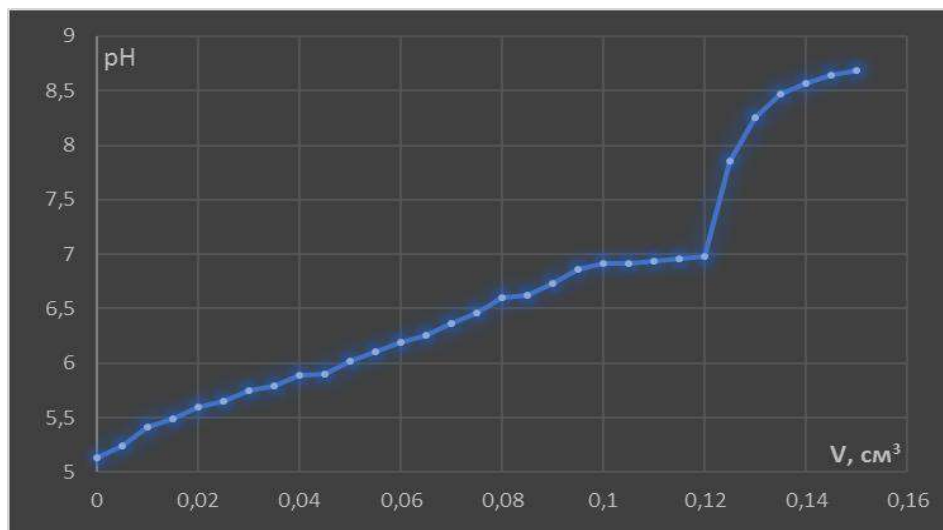


Рис. 5.34. Інтегральна крива залежності рН від об'єму титранту

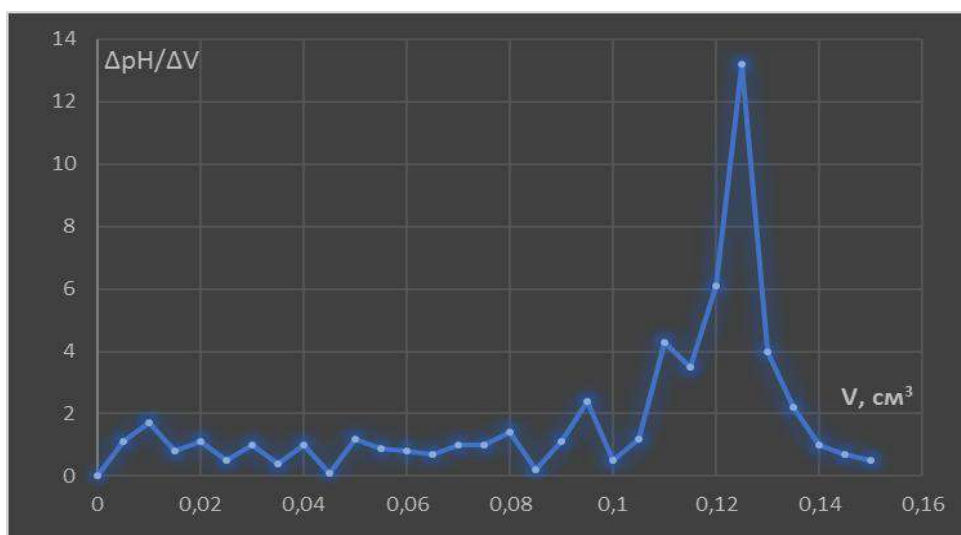


Рис. 5.35. Диференційна крива залежності $\Delta pH/\Delta V$ від об'єму титранту

Концентрацію β -естрадіолу можна обчислити за формулою:

$$C_n (\beta\text{-естрадіол}) = \frac{C_n(\text{пох. триазолу}) \cdot V_{\text{екв.}}(\text{пох. триазолу})}{V(\beta\text{-естрадіол})}$$

де $C_n(\text{пох. триазолу})$ – концентрація титранту 2-((3-(3-флуорофеніл)-5-меркапто-4Н-1,2,4-триазол-4-іл)іміно)метил)-4-(фенілдіазеніл)фенолу, $V_{\text{екв.}}(\text{NaOH})$ – об'єм розчину титранту, cm^3 ;

$V(\beta\text{-естрадіол})$ – об'єм аліквоти розчину лікарського препарату «Гуна-бета-естрадіол капли ор. по 30 мл во флак.-кап.», взятий для аналізу, cm^3 ;

$$m_e (\beta\text{-естрадіол}) = M/2,$$

де M – молярна маса β -естрадіолу, г/моль.

2 – β -естрадіол веде себе як двохкислотна основа, тому фактор евівалентності $f_{\text{екв}} = 1/2$.

Вміст β -естрадіолу в розчині лікарського препарату «Гуна-бета-естрадіол капли ор. по 30 мл во флак.-кап.» становив:

$$m(\beta\text{-естрадіолу}) = \frac{C_{\text{н(дох. триазолу)}} \cdot V_{\text{екв. (дох. триазолу)}} \cdot 2 \cdot M_{\text{екв}(\beta\text{-естрадіолу})}{V(\beta\text{-естрадіол})}$$

$$m(\beta\text{-естрадіолу}) = \frac{0,000294 \cdot 0,125 \cdot 2 \cdot 272380}{10} = 2 \text{ мг.}$$

Розроблений естрадіол-селективний електрод може виявити β -естрадіол та дати можливість становити його концентрацію, що є дуже важливим аналітичним фактором. Розроблений електрод дає можливість експресного визначення β -естрадіолу у лікарських препаратах та стандартизації даних розчинів. При стандартному використанні в лабораторії термін служби електрода складе шість місяців. Коли виконання калібрування стане скрутним, необхідно замінити електрод.

Встановлено, що кращими властивостями володіє іон-селективний електрод з мембраною на основі рCTriazole+TOABr в якості ліпофільної катіоногенної добавки.

Електродна функція до аналіту β -естрадіолу характеризується максимально наближеною теоретичною крутизною електродної функції ($47,9 \pm 1$ мВ/дек) в широкому діапазоні концентрацій і низькою межею виявлення ($C_{\text{мін}} = 1,5 \cdot 10^{-5}$ М). Час відгуку отриманих електродів не перевищує 10 с навіть в розбавлених розчинах.

Виходячи з вищенаведеного встановлено, що для всіх мембран спостерігається антигофмейстерська селективність до β -естрадіолу, що вказує на те, що реалізуються специфічні взаємодії визначуваного іона з електродноактивним компонентом мембрани. Введення в мембранну композицію іоногенних ліпофільних добавок підвищує селективність до β -естрадіолу в присутності гідрофільних аніонів.

ВИСНОВКИ

1. Прогноз біологічної активності 3-, 4-, 5-тризаміщених 1,2,4-триазол-3-тіонів показав, що саме тіопохідні найбільш перспективні. Використання

SwissTargetPrediction дозволило точно спрогнозувати цілі біологічно активних молекул похідних 1,2,4-триазолу.

2. Вперше для нових похідних 1,2,4-триазолу за допомогою комп'ютерних методів досліджено гостру токсичності та побудовано QSAR-моделі. Досліджено гостру токсичність 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів, встановлено ряд закономірностей «будова-дія».

3. Вперше для ряду флуорофенілвмісних 1,2,4-триазолів досліджено протимікробну та протигрибкову активність. Результатом комплексних біологічних досліджень стало можливим виявлення «сполуку-лідер» – 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-в][1,3,4]тіадіазин та її подальші поглибленні дослідження щодо *M. bovis* та *M. fortuitum*.

4. Вперше досліджено діуретичну, актопротекторну та протисудомну активність ряду нових 3-, 4-, 5-тризаміщених 1,2,4-триазолів. Встановлено ряд закономірностей між будовою молекул сполук та показниками активностей.

5. Для ряду водорозчинних похідних 1,2,4-триазолу вперше досліджено протизапальну активність. Виявлено «сполуку-лідер», для якої вивчено протизапальну дію на моделі експериментального панкреатиту у щурів.

6. Вперше був проаналізований вплив морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтію)ацетату на рістстимулюючу активність сорго зернового у польових умовах. Спостерігався позитивний вплив сполуки по відношенню до контрольної групи на показники врожайності сорго зернового.

7. Вперше створено мембраний іоноселективний електрод на основі 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолу, що дало змогу визначити концентрацію β -естрадіолу в зразках лікарських препаратів.

За матеріалами розділу опубліковано роботи [341, 345-347, 350-358, 362, 364, 376-378, 379, 380, 383-386].

РОЗДІЛ 6
ДОСЛІДЖЕННЯ НЕШКІДЛИВОСТІ
МОРФОЛІНІЙ 2-(5-(3-ФТОРФЕНІЛ)-4-АМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТУ ТА 3-(3-ФТОРФЕНІЛ)-6-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-7H-[1,2,4]-ТРИАЗОЛО-[3,4-*b*][1,3,4]ТІАДІАЗИНУ

У науковому світі за останні роки спостерігається тенденція до збільшення кількості публікацій, які стосуються вивчення властивостей гетероциклічної системи 1,2,4-триазолу та її похідних [5, 8, 13]. Зацікавленість до даних сполук проявляють не лише науковці, які займаються органічним синтезом, але і фармакологи, біологи, фахівці в галузі ветеринарної медицини, фармації та агрономії. Такій пильній увазі з боку широкого кола наукової спільноти до похідних 1,2,4-триазолу є аргументоване пояснення, по-перше, 1,2,4-триазол та його заміщені дуже реакційно здатні, по-друге, їх незначна токсичність та висока фармакологічна активність цілеспрямовано створює умови для перспективного пошуку потенційних біологічно активних сполук.

Слід зазначити, що на сьогодні існує багато інформації, яка підтверджує факт найперспективнішого пошуку субстанцій потенційних ліків саме серед водорозчинних похідних 1,2,4-триазолу [283, 289]. На першому етапі практичного впровадження необхідною умовою є дослідження гострої токсичності сполуки. Попередньо, за допомогою комп'ютерного прогнозування було проаналізовано ряд нових сполук на різні види фармакологічної активності. З високою ймовірністю прояву видів біологічної активності результати вказують саме на водорозчинні речовини в ряді похідних 1,2,4-триазолу. Також доведено, що сполука **3.13** – морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат володіє протизапальною активністю і в порівнянні з іншими сполуками перевищує показник еталону порівняння (диклофенак).

Крім того, цю сполуку було обрано як «сполуку-лідера» і досліджено її протизапальну дію на моделі експериментального панкреатиту [331].

Попередні дослідження 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) виявили ефективність цієї сполуки щодо мікобактерій. Тому подальші випробування були орієнтовані на вивчення безпечності цієї речовини та патогістологічних досліджень на фоні введення 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**).

Таким чином, метою подальшої роботи було дослідження токсичності субстанції сполук **3.13** та **4.66** на щурах та мишах обох статей при внутрішньошлунковому введенні, а також макроскопічне та гістоструктурне дослідження внутрішніх органів.

Дослідження нешкідливості «сполук-лідерів» було проведено на кафедрі хірургії та акушерства Полтавського державного аграрного університету під керівництвом завідувача, д. вет. н., професора Киричка Б. П. та кафедри епізотології та інфекційних хвороб тварин Дніпровського державного агроєкономічного університету під керівництвом завідувача, к.вет.н., доцента Зажарського В.В.

6.1 Гостра токсичність морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**)

Дослідження проводили відповідно до національних «Загально етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, Франція, 1985), а також згідно з директивою Ради ЄС. Дослідження гострої токсичності водорозчинної сполуки було проведено згідно з рекомендаціями Стефанова О. В., а статистична обробка результатів дослідження за Прозоровським В. Б. Дослідження гострої токсичності субстанції **3.13** було проведено на щурах та мишах обох статей при використанні внутрішньошлунковому шляху введення у діапазоні доз, що подані у табл. 6.1.

**Динаміка летальності тварин при внутрішньошлунковому введенні
субстанції сполуки 3.13 залежності від досліджуваних доз**

Дози, мг/кг	Самці	Самки
щурі		
1000	–	0/6
2000	–	2/6
3000	0/6	2/6
4000	3/6	3/6
5000	5/6	6/6
6000	3/6	–
7000	6/6	–
миші		
2000	–	0/6
3000	–	1/6
4000	–	3/6
5000	0/6	5/6
6000	5/6	6/6
7000	2/6	–
8000	4/6	–
10000	6/6	–

Примітка. «–»– дози не вивчались

Оскільки динаміка загибелі тварин не мала суворої лінійної залежності, середньолетальну дозу розраховували за методом Кербера. Для щурів самців ЛД₅₀ склала 4667 мг/кг, для самок – 3333 мг/кг. Для мишей самців ЛД₅₀ дорівнювала 7000 мг/кг, для самок – 4000 мг/кг (табл. 6.2). Встановлено, що

при внутрішньошлунковому введенні субстанція сполуки **3.13** викликає загибель тварин, яка збільшується з підвищенням дози (табл. 6.1) [330].

Таблиця 6.2

**LD₅₀ та клас токсичності субстанції сполуки 3.13
при внутрішньошлунковому введенні**

Вид тварин	Стать тварин	Шлях введення	LD ₅₀ , мг/кг	Клас токсичності
Щурі	самці	внутрішньо-шлунковий	4670	IV клас, малотоксичні речовини (500–5000 мг/кг)
	самки		3333	
Миші	самці		7000	V клас, практично нетоксичні речовини (5000–15000 мг/кг)
Миші	самки		4000	IV клас, малотоксичні речовини (500–5000 мг/кг)

Спостереження за станом тварин показало, що через 5-10 хв після внутрішньошлункового введення мінімальних доз як у щурів, так і мишей виникало пригнічення рухової активності, сповільнене дихання. При найнижчих дозах вказані симптоми інтоксикації тривали у тварин протягом 1-2 год, при вищих дозах цей період був коротшим – 30-60 хв. Загибель тварин фіксували у першу добу після введення субстанції. Подальший стан тварин, що вижили, нормалізувався і не відрізнявся від такого інтактних тварин. Макроскопічні дослідження щурів, що загинули, не виявили видимих патологічних змін, слизова оболонка шлунка та кишечника без особливих змін, паренхіматозні органи в черевній та грудній порожнинах були кровонаповненими.

На підставі отриманих середньолетальних доз можливо зробити висновок про статеву чутливість тварин обох досліджуваних видів до дії сполуки **3.13**. Найбільш чутливими до дії сполуки виявилися самки як щурів, так і мишей.

Якщо у самців щурів загибель починалася при застосуванні доз 4000-7000 мг/кг, то самки щурів гинули при введенні сполуки у дозах 2000-5000 мг/кг. Динаміку маси щурів та мишей, що вижили, наведено в табл. 6.3-6.6 відповідно.

Таблиця 6.3

**Динаміка маси (г) тіла самців щурів
при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13, $M \pm m$**

Групи тварин	Термін спостереження			
	вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактний контроль	159±6,6	159±6,9	166±6,6	175±6,8
3.13, 3000 мг/кг	163±9,1	162±9,8	165±10,0	168±12,4
3.13, 4000 мг/кг	164±12,6	158±1,7	167±3,3	172±3,3
3.13, 5000 мг/кг	158±3,6	140±0,0	140±0,0	140±0,0
3.13, 6000 мг/кг	157±8,4	168±14,5	172±15,9	178±22,0
3.13, 7000 мг/кг	160±8,8	—	—	—

Таблиця 6.4

**Динаміка маси (г) тіла самок щурів
при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13, $M \pm m$**

Групи тварин	Термін спостереження			
	вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактний контроль	159±3,5	162±4,0	163±3,6	165±5,9
3.13, 1000 мг/кг	163±8,8	164±9,6	166±10,8	172±13,5
3.13, 2000 мг/кг	161±5,2	148±4,3	148±4,8	154±5,5
3.13, 3000 мг/кг	160±6,6	154±7,5	151±8,5	151±8,5
3.13, 4000 мг/кг	163±14,4	148±18,8	152±18,8	155±16,1
3.13, 5000 мг/кг	163±8,7	—	—	—

Маса тварин варіювала в межах значень групи ІК (інтактний контроль), приріст маси тіла достовірних значень не мав, окрім самців мишей у групі ІК (табл. 6.5).

Таблиця 6.5

**Динаміка маси (г) тіла самців мишей
при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13, $M \pm m$**

Групи тварин	Термін спостереження			
	вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактний контроль	21,5±0,43	21,6±0,20	22,2±0,31	22,7±0,20 $p_1=0,0391$
ТЗ, 5000 мг/кг	21,5±0,69	22,0±0,60	22,3±0,63	22,6±0,63
ТЗ, 6000 мг/кг	21,8±0,20	26,1	26,2	26,3
ТЗ, 7000 мг/кг	21,8±0,70	22,8±0,97	22,9±0,97	23,5±0,80
ТЗ, 8000 мг/кг	21,4±0,51	21,2±1,80	21,3±1,95	21,9±1,60
ТЗ, 10000 мг/кг	21,7±0,44	–	–	–

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою дисперсійного аналізу та критерію Ньюмена-Кейлса, $p < 0,05$; p_1 – рівень статистичної значущості щодо вихідних значень

Таблиця 6.6

**Динаміка маси (г) тіла самок мишей
при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13, $M \pm m$**

Групи тварин	Термін спостереження			
	вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
1	2	3	4	5
Інтактний контроль	21,1±0,27	22,4±0,93	22,8±0,31	23,1±0,30
3.13 , 2000 мг/кг	22,7±1,02	23,0±0,89	23,2±1,15	23,7±1,09

Продовж. табл. 6.6

1	2	3	4	5
3.13 , 3000 мг/кг	22,5±1,12	22,12±1,03	21,7±1,06	22,4±0,92
3.13 , 4000 мг/кг	21,9±0,63	21,8±0,90	22,4±0,87	22,9±0,90
3.13 , 5000 мг/кг	21,5±0,67	23,1	21,0	21,3
3.13 , 6000 мг/кг	21,0±0,89	–	–	–

Коефіцієнти мас окремих внутрішніх органів щурів (табл. 6.7-6.8) мали достовірні відмінності щодо групи інтактного контролю як в групах самців, так і в самок.

Таблиця 6.7

Результати визначення КМ (коефіцієнту мас) внутрішніх органів (%) при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13 щурам самцям

Показники	Групи тварин				
	інтактний контроль	3000 мг/кг (n=6)	4000 мг/кг (n=3)	5000 мг/кг (n=1)	6000 мг/кг (n=3)
1	2	3	4	5	6
Печінка	3,61 (3,49÷3,83)	3,88 (3,25÷4,98)	3,03 (2,93÷3,11) p1=0,024	4,74 p1=0,044	4,14 (3,79÷4,81)
Нирки	0,63 (0,57÷0,67)	0,69 (0,62÷0,85)	0,63 (0,61÷0,65)	0,64	0,64 (0,60÷0,69)
Серце	0,32 (0,31÷0,34)	0,36 (0,33÷0,38) p1=0,009	0,32 (0,31÷0,33)	0,36 p1=0,044	0,39 (0,32÷0,45)
Легені	0,71 (0,60÷0,79)	0,73 (0,58÷0,95)	0,79 (0,69÷0,93)	0,84 p1=0,044	0,74 (0,62÷0,83)

Продовж. табл. 6.7

1	2	3	4	5	6
Селезінка	0,42 (0,28÷0,62)	0,37 (0,33÷0,38)	0,54 (0,46÷0,59)	0,54	0,41 (0,36÷0,50)
Наднирники	0,025 (0,019÷0,035)	0,027 (0,021÷0,032)	0,027 (0,026÷0,028)	0,032	0,022 (0,020÷0,025)
Тимус	0,150 (0,115÷0,172)	0,141 (0,117÷0,159)	0,136 (0,128÷0,150)	0,216 p1=0,044	0,166 (0,124÷0,216)
Сім'яники	1,66 (1,41÷2,05)	1,76 (1,51÷2,18)	1,70 (1,57÷1,85)	1,84	1,60 (1,34÷1,78)

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою тесту Манна-Уїтні; p₁ – рівень статистичної значущості щодо значень інтактного контролю

Таблиця 6.8

Результати визначення КМ (коефіцієнту мас) внутрішніх органів (%) при внутрішньошлунковому введенні субстанції 3.13 щурам самкам

Показ- ники	Групи тварин				
	інтактний контроль	1000 мг/кг (n=6)	2000 мг/кг (n=4)	3000 мг/кг (n=4)	4000 мг/кг (n=3)
1	2	3	4	5	6
Печінка	3,60 (3,14÷4,00)	3,69 (3,30÷4,17)	3,34 (3,05÷3,61)	3,54 (3,19÷3,96)	4,41 (3,83÷4,91)
Нирки	0,61 (0,59÷0,65)	0,69 (0,62÷0,85) p1=0,041	0,61 (0,60÷0,64)	0,63 (0,58÷0,69)	0,67 (0,65÷0,71) p1=0,048
Серце	0,35 (0,33÷0,37)	0,31 (0,27÷0,34) p1=0,015	0,39 (0,30÷0,56)	0,37 (0,34÷0,39)	0,40 (0,38÷0,42) p1=0,024

1	2	3	4	5	6
Легені	0,73 (0,62÷0,96)	0,68 (0,57÷0,92)	0,82 (0,68÷0,95)	0,71 (0,65÷0,78)	0,82 (0,69÷0,94)
Селезінка	0,45 (0,35÷0,49)	0,51 (0,42÷0,64)	0,39 (0,31÷0,44)	0,57 (0,48÷0,76) p1=0,019	0,45 (0,42÷0,48)
Надир- ники	0,041 (0,035÷0,049)	0,028 (0,019÷0,033) p1=0,002	0,030 (0,029÷0,031) p1=0,010	0,040 (0,033÷0,050)	0,044 (0,038÷0,050)
Тимус	0,247 (0,189÷0,283)	0,239 (0,159÷0,311)	0,253 (0,234÷0,293)	0,229 (0,192÷0,259)	0,239 (0,230÷0,247)

Примітка. Міжгрупові порівняння проведені за допомогою тесту Манна-Уїтні; p_1 – рівень статистичної значущості щодо значень інтактного контролю

Отримані дані дають підставу для висновку, що при передозуванні дослідженої субстанції **3.13** у самців органами мішенями є печінка та серце і в меншому ступені – легені та тимус, у самок це нирки, серце, надирники та в меншому ступені – селезінка.

У щурів, що вижили після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13**, на 14 день спостереження візуально стан шерстного покриву нормальний, виділення з природних отворів відсутні. Помітних порушень макроскопічного стану і топографії внутрішніх органів не виявлено. Не відмічено гіпо- чи гіпертрофії органів, ознак запалення, порушень кровообігу, пухлинного росту. Листки плеври, перикарда, очеревини тонкі, блискучі, гладенькі. Тимус білувато-сіруватого відтінку, помірно щільної консистенції. М'яз серця помірно щільний, рівномірно коричнюватого кольору. У порожнинах серця містилася невелика кількість рідкої крові. Поверхня легень мала однорідну блідо-рожеву

забарвленість. Слизова оболонка шлунка блискуча, гладенька, рожева, без ознак подразнення. Просвіт шлунка заповнено хімусом. Просвіт тонких та товстих кишок не змінено, слизова оболонка звичайна за кольором, вміст відповідає відділам. Поверхня печінки гладка, однорідна, темно-червона. Капсула печінки тонка, прозора. Консистенція органа звичайної щільності. Підшлункова залоза візуально не змінена. Поверхня селезінки однорідного темно-вишневого відтінку. Консистенція селезінки помірно щільна. Капсула нирок легко знімалася. Поверхня органа гладка, однорідного коричнювато-сіруватого кольору. На розрізі органа кіркова і мозкова речовина добре розрізнялася. Консистенція нирок помірно щільна. Наднирники без особливостей. Сечовий міхур заповнено прозорою, світлою сечею.

Макроскопічний огляд внутрішніх органів щурів, що вижили, патологічних змін не виявило. Відповідно до Наказу № 944 ДЕЦ МОЗ від 14.12.2009 року для гістологічного дослідження були обрані зразки тканин щурів, що отримували максимальну дозу: для самців це доза 6000 мг/кг, для самок – 4000 мг/кг. Досліджені на світлооптичному рівні зразки серця, легень, печінки, тимусу, селезінки, нирок, наднирників, підшлункової залози, шлунка, порожньої та прямої кишки, яєчок, яєчників щурів, які вижили після одноразового внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** у дозі 4000 мг/кг – самки та 6000 мг/кг – самці. Як контроль досліджували зразки аналогічних органів та тканин інтактних щурів обох статей. Зразки для подальшого дослідження вилучали на 14 день після одноразового введення дослідженої субстанції **3.13**.

6.2 Дослідження гістоструктури внутрішніх органів на фоні введення морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (**3.13**)

Печінка. Гістологічна структура органа у всіх щурів, що вижили в експерименті після введення досліджуваної субстанції як у дозі 6000 мг/кг (самці), так і 4000 мг/кг (самки), не змінена порівняно з інтактним контролем.

Межа між часточками не чітка, що притаманно щурам, зони порталних трактів вузькі. Радіальна спрямованість гепатоцитів простежується. Ознак, що характерні для напруги, активації або пригнічення функції гепатоцитів, не виявлено. Процеси місцевої мікроциркуляції у більшості щурів, що вижили, не порушені. Проте, у одного самця щура відмічена вогнищева підвищена повнокровність синусоїдальних капілярів. У всіх щурів у цитоплазмі клітин спостерігали різні за розміром оптичні порожняви. Ядро локалізації не змінювало (рис. 6.1(1)-6.1(2)). Такі порожняви пов'язані з розчиненням водорозчинної фракції глікогену при підготовці зразків до світлооптичного дослідження.

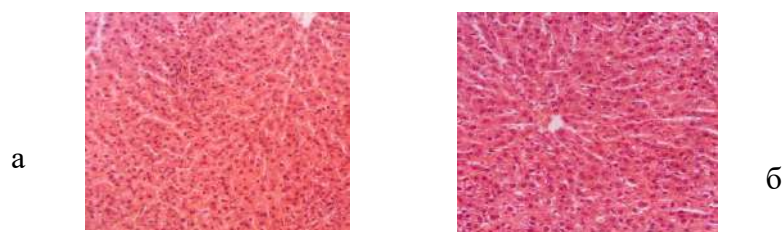


Рис. 6.1(1). Печінка щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) Гістологічна структура печінкової паренхіми не змінена. Гематоксилін-еозин. x200



Рис. 6.1(2). Печінка інтактних щурів (в – самець, г – самка). Гістологічна структура печінкової паренхіми не змінена. Гематоксилін-еозин. x200

Нирки за станом клубочків, тубулярної системи нефронів звичайні у самців і самок щурів, що вижили після введення субстанції **3.13** у дозах 6000 мг/кг та 4000 мг/кг відповідно. Клубочки помірно варіювали за розміром, щільністю розташування. Ядерна насиченість, чіткість рисунка гломерулярних

петель звичайні. Рівень розпушення апікальних відділів нефроцитів звивистих каналців не перевищував інтактний. Канальці мозкового шару без особливостей (рис. 6.2).

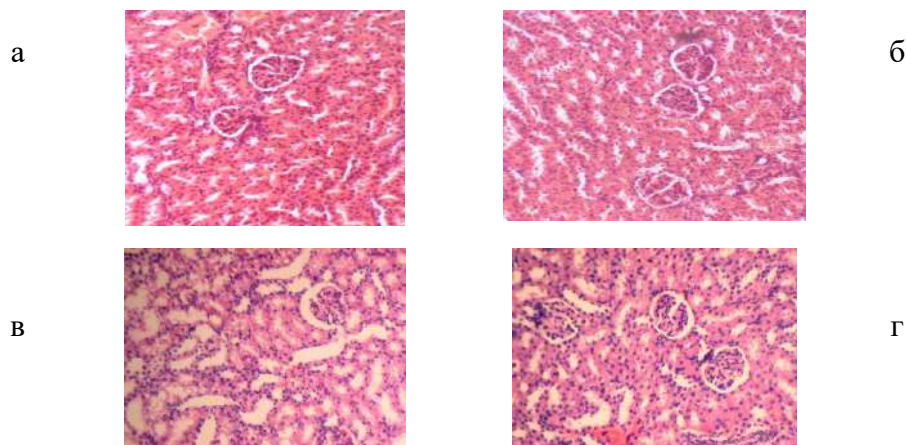


Рис. 6.2. Нирка щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Нормальний стан клубочків та каналців нефронів. Гематоксилін-еозин. х200

Міокард щурів як самців, так і самок після введення дослідженої субстанції в указаних дозах зберігав звичайну гістологічну будову. Серцево-м'язові волокна рівномірно пофарбовані, достатньо щільно розташовані. Поперечна посмугованість міофібрил простежується. Виразність ендомізію та перимізію звичайні. Судини венозного типу повнокровні, стромальна клітинна реакція не виявлена (рис. 6.3).

У респіраторному відділі легень всіх дослідних та інтактних щурів альвеолярний рисунок достатньо чіткий. Ознак альвеолярного набряку, збільшення клітинної насиченості між альвеолярних перегородок не помічено. Лімфоцитарна реакція у стромі бронхіального дерева виражена помірно. Епітелій бронхів та бронхіол без ознак ушкоджень (рис. 6.4).

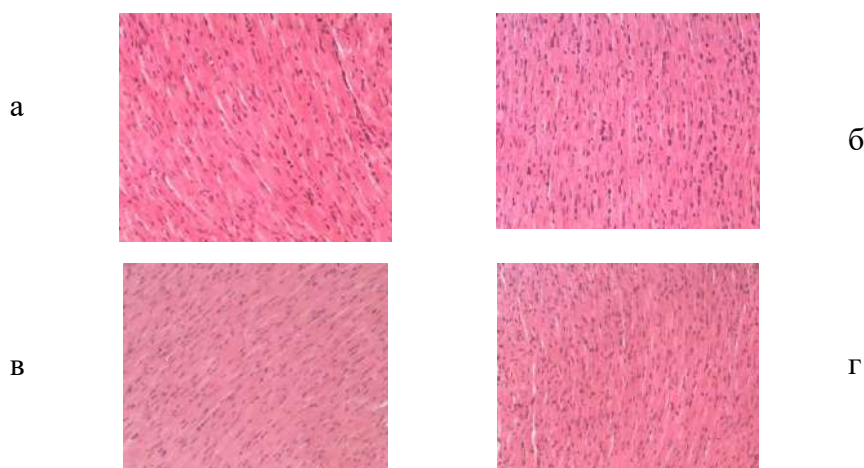


Рис. 6.3. Міокард щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Серцево-м'язові волокна без змін. Гематоксилін-еозин. x200

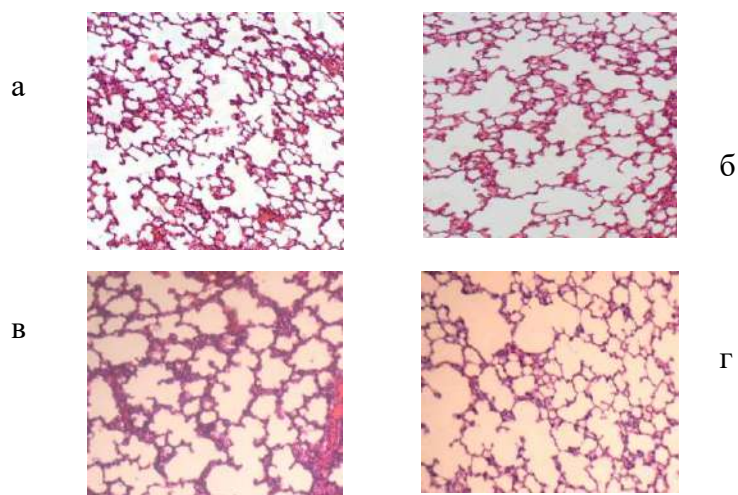


Рис. 6.4. Легені щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Альвеолярний рисунок тканини не змінено. Гематоксилін-еозин. x100

У всіх щурів часточки тимусу звичайні за розміром, з чітким розподілом на кору та медулу. Щільність розташування лімфоцитів в обох шарах нормальна. Тимічні тільця звичайного виду. У всіх тварин видно помірну картину «зоряного неба» (рис. 6.5).

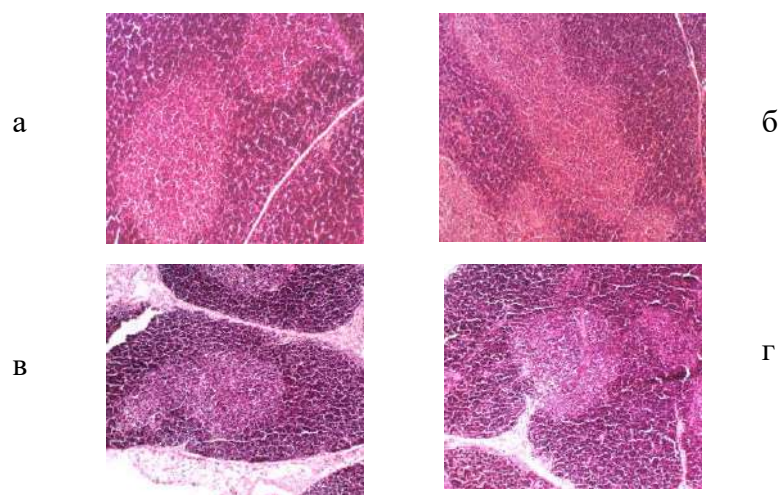


Рис. 6.5. Тимус щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг). Співвідношення кори та медули не змінено, щільність розташування тимоцитів звичайна. Тимус інтактних щурів (в – самець, г – самка). Співвідношення кори та медули не змінено, щільність розташування тимоцитів звичайна. Гематоксилін-еозин. x100

В селезінці лімфоїдні вузлики звичайні за розміром та чисельністю. У них чітко видні периартеріальні Т-залежна, В-залежна маргінальна зони, гермінативний центр. У червоній пульпі багато еритроцитів, видні ядерні форми клітин. Ознак патології імунної відповіді після введення субстанції **3.13** не виявлено (рис. 6.6).

У наднирниках щурів гістологічних ознак, що свідчать про зміни продукції мінерало-і глюкокортикоїдів, не помічено. Функціональний стан хромафінних клітин помірно варіює у фізіологічних межах (рис. 6.7).

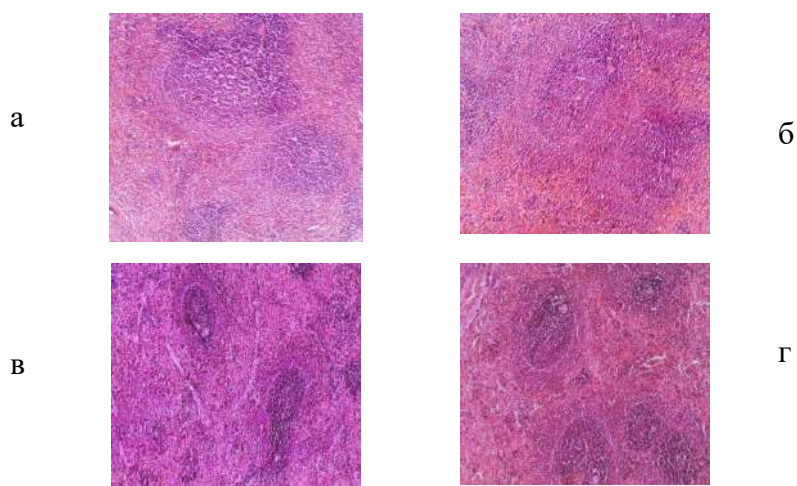


Рис. 6.6. Селезінка щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг). Стан білої і червоної пульпи не змінено. Селезінка інтактних щурів (в – самець, г – самка). Стан білої і червоної пульпи не змінено. Гематоксилин-еозин. x100

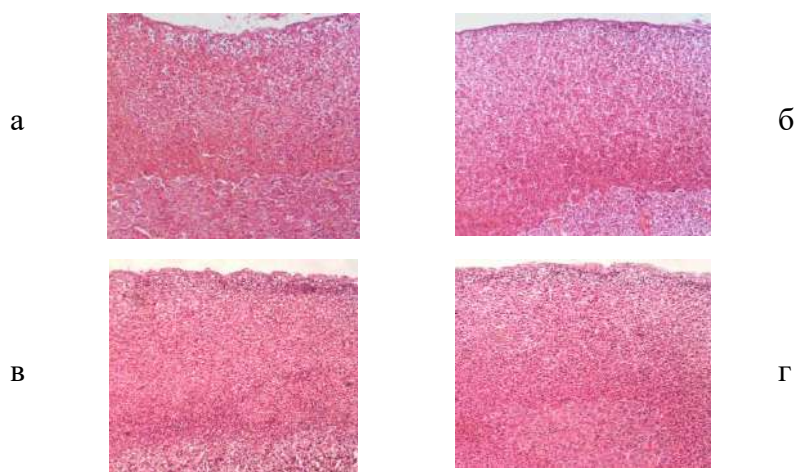


Рис. 6.7. Наднирник щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Стан адренкортикоцитів кіркової речовини і хромафінних клітин мозкової речовини у межах фізіологічної норми. Гематоксилін-еозин. x100

У підшлунковій залозі всіх дослідних та інтактних щурів чітко розрізняються екзокринна та ендокринна частини. Панкреацити ацинусів з типовою двузональною за фарбою цитоплазмою, рисунок ацинусів не змінено.

Панкреатичні островці за формою та варіацією розміру відповідають нормі. Інсуліноцити візуально не змінені (рис. 6.8).

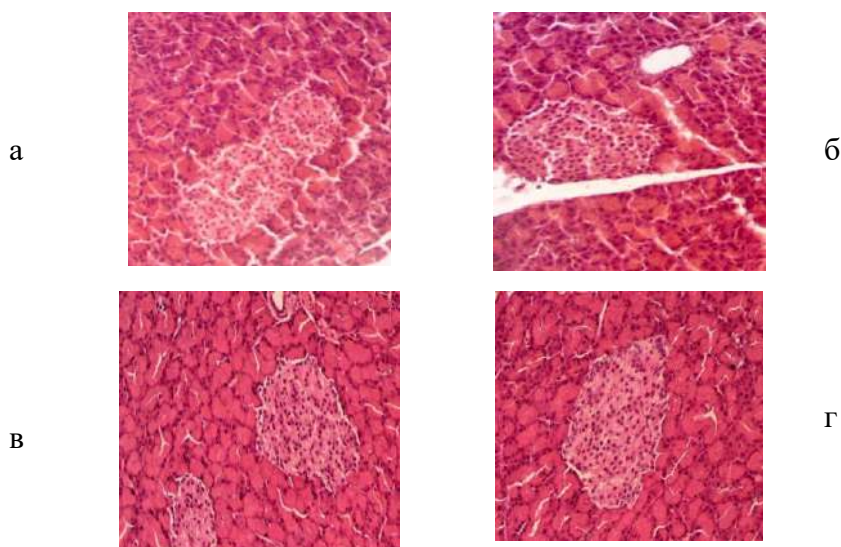


Рис. 6.8. Підшлункова залоза щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, 6000 мг/кг; б – самка, 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Стан ендокринної та екзокринної складової залозистої тканини не змінено. Гематоксилін-еозин. х200

Яєчки самців, що вижили після введення субстанції **3.13**, без патології. Стрічка сперматогенного епітелію достатньо широка, містить весь пул статевих клітин. Статеві клітини розташовані концентричними шарами згідно зі стадіями сперматогенезу. Клітини Лейдіга та Сертолі без патологічних змін (рис. 6.9а). У самок щурів у яєчниках чітко видні різні за ступенем розвитку яйцеві фолікули, жовті тіла різних циклів. На погляд рівень атрезії фолікулів відповідає нормальному (рис. 6.9б).

Мікроскопічне дослідження слизової оболонки шлунка всіх щурів не виявило десквамативних процесів у покривному епітелії, змін морфологічних характеристик залозистих клітин власних та пілоричних залоз. Мікроциркуляторні процеси у стромі звичайні (рис. 6.10).

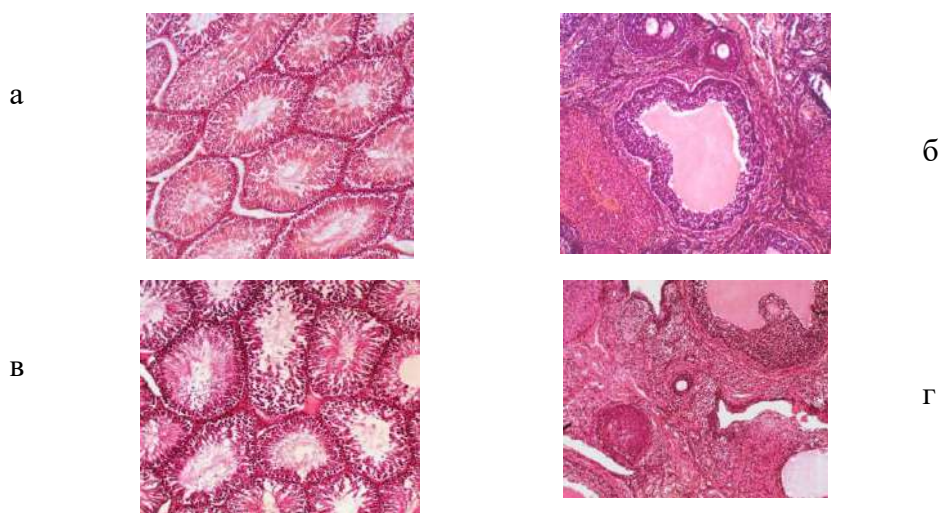


Рис. 6.9. Яечко та яєчник щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Змін патологічного характеру у тестикулярній тканині не виявлено. Гематоксилін-еозин. x100

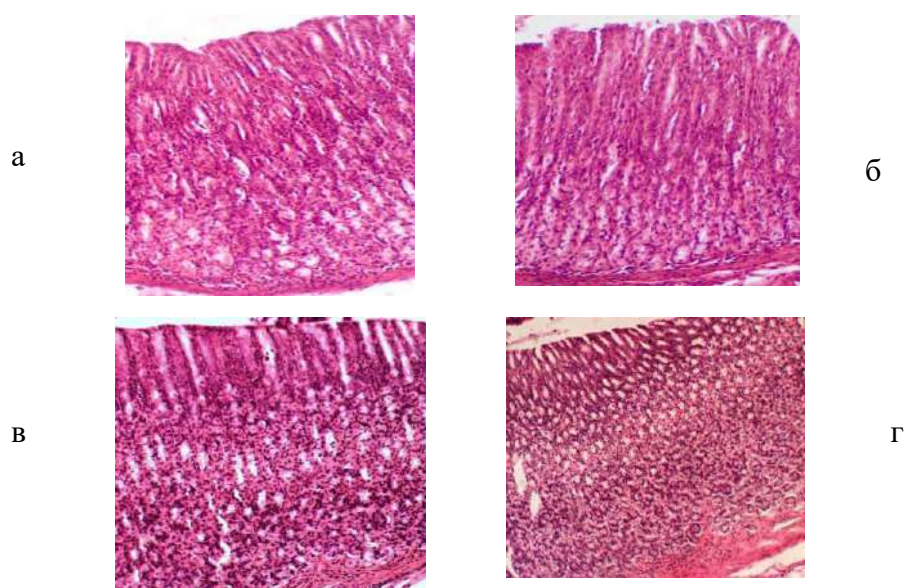


Рис. 6.10. Шлунок щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг). Нормальний стан слизової оболонки. Гематоксилін-еозин. x200. Шлунок інтактних щурів (в – самець, г – самка). Нормальний стан слизової оболонки. Гематоксилін-еозин. x200

У порожній кишці візуально стан ворсинок слизової оболонки звичайний. Епітеліоцити ворсинок та кишкових крипт не змінені. Келихоподібні клітини достатні за чисельністю. Строма слизової оболонки звичайного виду (рис. 6.11).

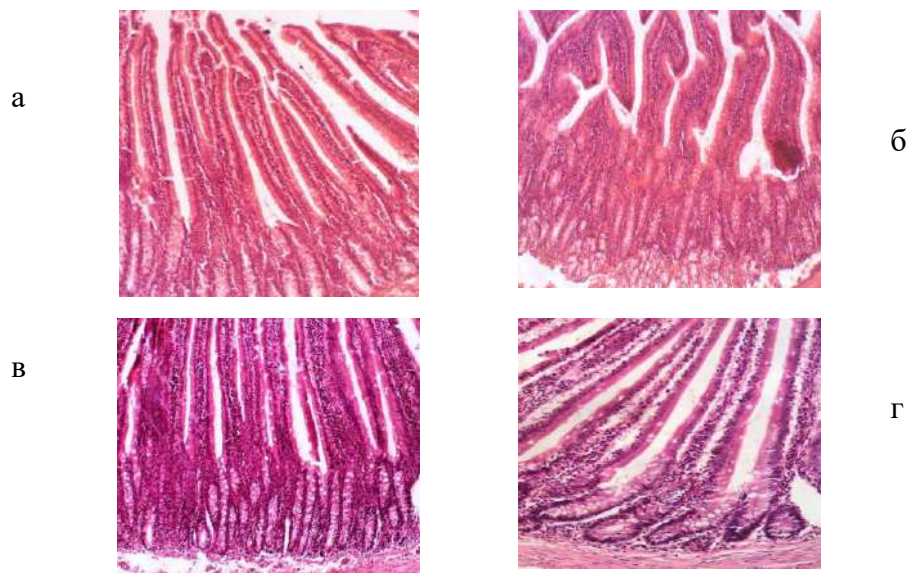


Рис. 6.11. Порожня кишка щурів після внутрішньошлункового введення субстанції **3.13** (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Ворсинки слизової оболонки та крипти не змінені. Гематоксилін-еозин. 200

Слизова оболонка прямої кишки всіх досліджених щурів вистелена кубічним одношаровим епітелієм з чіткою кутикулярною облямівкою, значним вмістом келихоподібних клітин. Кишкові крипти помірно глибокі, лімфоїдна насиченість стромы також помірна (рис. 6.12).

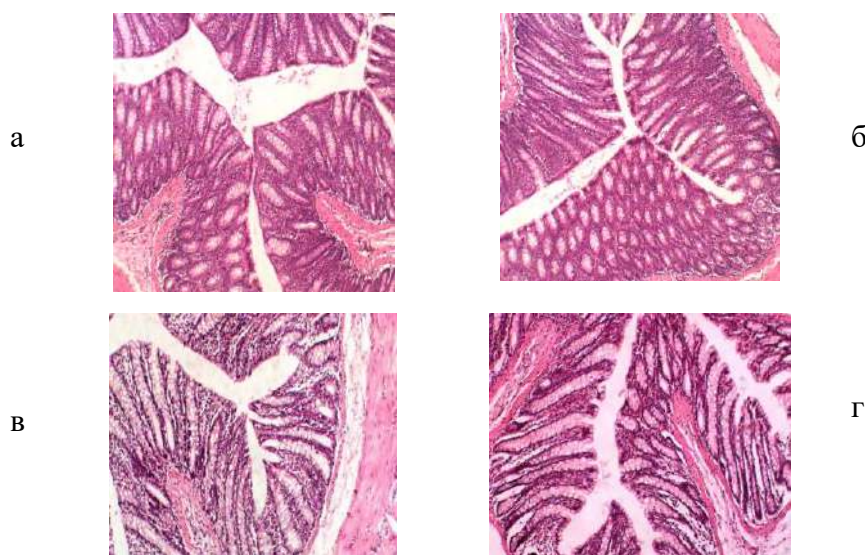


Рис. 6.12. Пряма кишка щурів після внутрішньошлункового введення субстанції 3.13 (а – самець, доза 6000 мг/кг; б – самка, доза 4000 мг/кг) та інтактних щурів (в – самець, г – самка). Структура слизової оболонки не змінена. Гематоксилін-еозин. 200

Таким чином, відповідно до класифікації речовин за токсичністю субстанція морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (3.13) при внутрішньошлунковому введенні належить:

- для щурів (самців та самок) – до IV класу ($1000 < \text{ЛД}_{50} < 5000$ мг/кг);
- для самців мишей – до V класу ($5000 < \text{ЛД}_{50} < 15000$ мг/кг);
- для самок мишей – IV класу ($1000 < \text{ЛД}_{50} < 5000$ мг/кг).

На підставі отриманих даних можна зробити висновок про те, що у самців щурів, які вижили після одноразового внутрішньошлункового введення субстанції морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату (3.13) у дозі 6000 мг/кг, та у самок щурів, що вижили після введення субстанції у дозі 4000 мг/кг, на 14 день досліду помітних на світлооптичному рівні змін гістологічної структури досліджених внутрішніх органів порівняно з інтактним контролем не виявлено.

6.3 Вивчення безпечності 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66)

Подальшими дослідженнями встановлена відсутність токсичної дії після одноразового підшкірного введення мурчакам в дозі 40 мг/кг 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66). Результати макро- та мікроскопічних досліджень внутрішніх органів через 14 днів після одноразового підшкірного введення у дозі 20, 40 мг/кг показали відсутність будь-яких анатомічних та морфологічних порушень у тканинних структурах мурчаків. Розраховане значення сполуки свідчить про високий ступінь її безпечності та перспективності для ветеринарної практики як ефективного та безпечного туберкулоцидного засобу.

Гостру токсичність визначали на 12 нелінійних мурчаках обох статей середньою масою 250 г. Було сформовано 4 групи тварин по 3 тварини в кожній групі: 1-а група: підшкірно введення сполуки в дозі 20 мг/кг маси тварини – подвійна доза туберкульозу при лікуванні цим препаратом; 2-а група: в дозі 40 мг/кг маси тварини; 3-я група: застосування сполуки в дозі 80 мг/кг маси тварини;

Контрольна група: клінічно здорові тварини (Кзд) – підшкірне введення ізотонічного розчину натрію хлориду (6 мл/кг). Оцінювання дії сполуки, що досліджували, здійснили за такими показниками:

- а) летальність (терміни загибелі тварин у кожній групі, щодня);
- б) оцінювання проявів токсичності (щодня), включаючи оцінювання зовнішнього вигляду ділянки введення (наявність подразнення, гіперемії, набряку);
- в) динаміка зміни маси тіла (у вихідному стані на 4, 7 і 14 добу після введення);
- г) макроскопія внутрішніх органів, масові коефіцієнти внутрішніх органів у мурчаків (14 доба).

Хронічну токсичність сполуки визначали на 12 морських свинках середньою вагою 250 г. Було сформовано 4 групи тварин по 3 тварини в кожній групі, яким повторно вводили сполуку в дозах, як при експерименті, вивчаючи гостру токсичність протягом 3 місяців. Токсичність сполуки вивчали за показниками подразнювальної дії, емоційно-поведінкових реакцій лабораторних тварин та визначали коефіцієнти маси внутрішніх органів за тривалого введення препарату.

Тварин утримували в стандартних умовах. Експерименти, проведені на живих хребетних, відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

У сироватці крові досліджували вміст загального білка біуретовим методом, концентрацію альбумінів – за методикою В. Doumas et al., вміст залишкового азоту – за кольоровою реакцією з реактивом Неслера, концентрацію азоту вільних амінокислот – за методом Г. А. Узбекова в модифікації З. С. Чулкової, вміст сечовини – за Маршем, концентрацію креатиніну – за методом Поппера, активність АЛАТ і АсАТ – за Райтманом і Френкелем. Дані в табл. подані у вигляді $x \pm 1,96 \cdot SD$.

Після введення сполуки за тваринами спостерігали протягом 14 днів та оцінювали їхній загальний стан, летальність, динаміку маси тіла. Показники гострої токсичності при підшкірному введенні мурчакам у різних дозах подані в табл. 6.9.

У підсумку дослідження встановили, що після одноразового підшкірного введення тваринам дослідних груп зміни поведінки та життєдіяльності не відбувалися. Також ознак інтоксикації та загибелі тварин не спостерігали, крім III групи – 1 загинула.

Таким чином, LD_{50} для 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазину (**4.66**) у фазі гострої токсичності визначений 40,0 мг/кг ваги тварини.

Показники гострої токсичності 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66), n=10

Група тварин	Доза, мг/кг	Число тварин, що загинули	Число тварин, що вижили	Летальність, %
I	20,0	0	3	0
II	40,0	0	3	0
III	80,0	1	2	33,3
Контроль	–	0	3	0

Відповідно до методу вивчення гострої токсичності для оцінювання токсичного впливу потенційних лікарських засобів на організм ссавців досліджували динаміку маси тіла тварин усіх груп (табл. 6.10).

Таблиця 6.10

Динаміка маси тіла тварин

Група тварин	Дні спостереження / маса тіла, г		
	1	7	14
I	261,6±7,1	273,6±12,4*	315,7±14,2**
II	260,7±10,9	274,1±11,1	314,8±10,2
III	262,5±11,8	280,5±11,7***	353,7±14,1***
Контроль	263,8±8,9	277,2±11,7	322,3±13,1***

Примітка. * (p<0,05); ** (p<0,01); *** (p<0,001)

Визначено, що тварини в I та II групах на 7-й день спостереження не відрізнялися від контролю, а на 14-й день незначно відставали в масі тіла на 6,6 та 7,5 г відповідно. У тварин III групи навпаки, маса тіла на 7-й день спостереження була вищою від контролю на 3,3; а 14-й день – на 31,4 г (p<0,05)

відповідно. На 14-й день спостереження всі тварини мали охайний шерстний покрив, незмінені слизові оболонки природних отворів. Підшкірні лімфовузли звичайні за розміром та на дотик. Вивчення морфо-біохімічних показників крові мурчаків за тривалого введення 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (4.66) наведені в табл. 6.11-6.12.

Таблиця 6.11

**Біохімічних показники крові мурчаків
за тривалого введення сполуки 4.66 (n=10)**

Показники	Група тварин							
	I		II		III		контроль	
	до	після	до	після	до	після	до	після
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Загальний білок, г/л	54,0± 2,9	56,3± 3,4	53,8± 3,9	1,2± 3,5	4,9± 3,3	63,1± 4,1	4,4± 3,1	58,1± 2,5
Альбуміни, г/л	33,2± 3,1	35,2± 2,7	33,1± 3,4	31,4± 3,6	32,9± 2,8	36,2± 3,7	3,0± 3,3	35,1± 4,1
Глобуліни, г/л	21,1± 1,4	21,2± 1,8	21,0± 3,2	19,6± 2,8	21,3± 3,7	27,3± 4,1	1,8± 3,4	23,2± 2,9
Білковий коефіцієнт, од.	1,6± 0,34	1,7± 0,29	1,6± 0,21	1,6± 0,42	1,5± 0,33	1,3± 0,25	1,5± 0,18	1,5± 0,37
Сечовина, ммоль/л	4,8± 0,37	3,9± 0,92	3,8± 0,46	3,5± 0,54	3,8± 0,29	3,4± 0,55	3,8± 0,48	4,0± 0,82
Азот сечовини, мг%	6,5± 0,94	6,7± 1,4	6,2± 0,77	6,3± 1,25	6,4± 0,67	6,5± 1,3	6,5± 0,82	6,7± 0,88
Креатинін, мкмоль/л	67,1± 3,2	79,0± 4,3*	65,6± 6,3	93,2± 9,6*	63,9± 5,4	204,0± 11,4***	61,2± 3,9	79,2± 6,5*

1	2	3	4	5	6	7	8	9
АСТ, Од/л	78,7±	101,4±	82,6±	58,2±	79,5±	104,9±	79,1±	57,5±
	7,4	6,8*	8,1*	7,8	5,8	8,4*	6,1*	7,3
АЛТ, Од/л	80,1±	47,6±	74,6±	41,8±	75,3±	131,2±	72,7±	39,6±
	5,7	6,3**	7,2	6,9**	6,8***	5,4	6,9	8,1**
Індекс де Рітіса (АСТ/АЛТ), од.	1,0± 0,23***	2,1± 0,29	1,1± 0,17	1,4± 0,41	1,1± 0,17	0,8± 0,58	1,1± 0,18	1,5± 0,18
Лужна фосфатаза, Од/л	186,6±	88,3±	214,8±	136,5±	240,1±	406,9±	200,6±	140,5±
	14,2	15,9***	12,4	12,9***	13,4***	21,7	11,7	14,6**
Білірубін загальний, мкмоль/л	3,4±	2,2±	3,5±	4,4±	3,5±	9,8±	3,4±	4,0±
	0,62	0,39	0,57	2,2	0,55	1,6**	0,48	1,4
Глюкоза, ммоль/л	4,8±	1,6±	5,5±	2,2±	6,0±	4,0±	5,8±	2,0±
	0,56	0,72**	0,68	1,1*	0,88	0,82	0,76	1,3*
Кальцій, ммоль/л	3,2±	2,9±	3,1±	3,3±	3,2±	2,1±	3,3±	3,0±
	0,62	0,43	0,39	0,44	0,62	0,39	0,54	0,29
Неорганіч- ний фосфор, ммоль/л	3,9±	4,5±	3,6±	4,3±	3,8±	2,7±	3,7±	4,4±
	0,38	0,64	0,71	0,42	0,28	0,57	0,48	0,32
Са/Р, ед	0,8±	0,6±	0,9±	0,8±	0,8±	0,8±	0,9±	0,7±
	0,19	0,17	0,15	0,17	0,24	0,18	0,27	0,17
Холестерин, ммоль/л	1,6±	1,6±	1,5±	1,4±	1,6±	0,9±	1,5±	1,9±
	0,33	0,42	0,37	0,45	0,38	0,28	0,28	0,19

Примітка. * (p<0,05); ** (p<0,01); *** (p<0,001)

Більшість білків плазми синтезуються печінкою. Відзначаємо підвищення загального білка в III дослідній групі після застосування препарату у порівнянні з I, II та інтактною групою тварин на 10,8; 18,9 ($p < 0,05$) та 7,9% за рахунок глобулінів на 22,3 ($p < 0,05$); 28,2 ($p < 0,05$) та 15,0% ($p < 0,05$) відповідно. Також відзначається різке зменшення білкового коефіцієнта в III дослідній групі на 30,8% ($p < 0,05$), ніж у тварин I; 23,1% ($p < 0,05$) – II групи та 15,4 % у контролю.

АСТ у тварин III дослідної групи за тривалого введення сполуки перевищував інтактних мурчаків в 1,8 рази ($p < 0,05$). Аспартатамінотрансфераза каталізує утворення глютамінової кислоти з 2-оксоглютарата за допомогою перенесення аміногрупи. АСТ в максимальній концентрації знаходиться в печінці, серцевих і скелетних м'язах. Підвищення вмісту сироваткової концентрації АСТ у тварин III групи у 3,3 рази ($p < 0,05$) пов'язане з дизфункційними змінами печінки. Після застосування дослідної сполуки (4.66) у мурчаків III групи відзначається збільшення лужної фосфатази у 1,7 разів ($p < 0,01$), що в 4,6 ($p < 0,01$); 11,1 ($p < 0,001$) та 2,9 разів вище, ніж в I, II та контролі відповідно. Лужна фосфатаза каталізує гідроліз органічних фосфатних моноєфірів у лужному середовищі. Фермент присутній практично у всіх тканинах організму, особливо в клітинних мембранах, і зустрічається в особливо високих концентраціях в плаценті, епітелії кишечника, ниркових каналцях, остеобластів і печінки. Підвищення вмісту лужної фосфатази в III групі може бути пов'язане з порушенням гепатобіліарної системи – гепатотоксичністю, викликаною сполукою. Сечовина синтезується в печінці як побічний продукт у реакції дезамінування амінокислот. Її елімінація в сечу є головним шляхом виведення азоту. Зменшена концентрація сечовини в плазмі мурчаків III групи є наслідком зниження білкового катаболізму і слабкої дегідратації. Цей показник вищий I, II групи та інтактних тварин на 11,8; 2,9 та 17,6% ($p < 0,05$) відповідно. Показник концентрації креатиніну в плазмі крові визначає швидкість клубочкової фільтрації – інтегрального показника видільної функції нирок. Відзначаємо збільшення кількості креатиніну у тварин в III дослідній групі у порівнянні з мурчаками I, II та інтактними тваринами у 2,6

($p < 0,05$); 3,2 ($p < 0,01$) та 2,6 рази ($p < 0,05$) відповідно. Підвищення даного показника свідчить про наявність запальної реакції в організмі мурчаків III групи. Біохімічні показники крові у тварин I та II дослідних груп знаходяться у межах фізіологічної норми.

Таблиця 6.12

**Морфологічні показники крові мурчаків
за тривалого введення сполуки 4.66 (n=10)**

Показники	Група тварин							
	I		II		III		контроль	
	до	після	до	після	до	після	до	після
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Гемоглобін, г/л	118,5± 8,6	112,4± 12,3	109,4± 9,5	82,3± 12,5	115,3± 9,7	151,8± 8,7	118,9± 11,4	122,3± 9,3
Гематокрит, %	37,8± 4,4	37,5± 5,2	36,0± 3,9	28,1± 3,3	36,9± 3,5	46,9± 4,8	36,5± 3,7	39,9± 4,2
Еритроцити, 10 ¹² /л	4,5± 0,3	3,5± 0,4	4,6± 0,6	2,7± 0,4	4,2± 0,5	4,5± 0,4	3,9± 0,1	4,1± 0,6
ШОЕ, мм/Г	1,0± 0,1	0,96± 0,1	1,0± 0,1	0,91± 0,1	1,0± 0,1	0,9± 0,1	1,0± 0,1	1,0± 0,1
Тромбоцити, 10 ⁹ /л	280,1± 13,2***	380,1± 21,3	283,6± 14,7	240,6± 14,3	281,3± 12,7***	490,7± 12,3	268,9± 13,5	279,0± 13,4
Лейкоцити, 10 ⁹ /л	5,5± 0,24	3,9± 0,18***	4,9± 0,44	5,1± 0,28	4,8± 0,34**	7,5± 0,19	4,9± 0,37	5,2± 0,18
Лейкоцитарна формула, %								
Базофіли	0	0	0	0	0	0	0	0
Еозинофіли	0±0	1,0± 0,1	1,0± 0,1	2,0± 0,1	1,0± 0,1	1,0± 0,1	0±0	0±0

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Нейтрофіли:								
Мієлоцити	0	0	0	0	0	0	0	0
Юні	0	0	0	0	0	1	0	0
Паличко- ядерні	1,6± 0,14	1,5± 0,1	1,7± 0,19	1,6± 0,26	1,5± 0,1***	3,0± 0,22	1,6± 0,14	1,5± 0,15
Сегменто- ядерні	35,6± 4,7	27,0± 2,7	36,0± 3,6	30,0± 4,6	36,1± 4,7	34,0± 5,1	35,3± 3,4	24,0± 4,3
Лімфоцити	75,3± 6,4	81,0± 7,2	76,5± 5,8	75,0± 10,5	70,8± 8,4	35,0± 8,6	74,0± 7,5	71,3± 6,7
Моноцити	5,1± 0,34	2,1± 0,38***	5,0± 0,42	3,2± 0,36***	5,5± 0,41***	7,0± 0,18	5,3± 0,36	3,5± 1,4***

Аналізуючи морфологічні показники крові мурчаків за тривалого введення сполуки **4.66**, відзначено збільшення кількості лейкоцитів у тварин III групи у порівнянні з I, II та інтактними мурчакми в 1,9; 1,5 та 1,4 рази за рахунок паличкоядерних нейтрофілів в 2,0 ($p<0,05$); 1,9 ($p<0,05$) та 2,0 рази ($p<0,05$) на тлі зменшення лімфоцитів у 2,3 ($p<0,05$); 2,1 ($p<0,05$) та 2,0 ($p<0,05$) разів відповідно. Також виявлено і зменшення кількості моноцитів у 3,3 ($p<0,05$); 2,2 ($p<0,05$) та 2,0 ($p<0,05$) рази відповідно. Масові коефіцієнти внутрішніх органів мурчаків за тривалого введення сполуки **4.66** наведений в табл. 6.13. Масовий коефіцієнт (МК) – процентне відношення маси органу до маси тіла, інтегральний показник, який використовували для оцінки стану внутрішніх органів. Розрахунок масових коефіцієнтів визначали за формулою:

$$\text{МК} = \text{Маса органу (г)} / \text{маса тіла (г)} \cdot 100\%$$

**Масові коефіцієнти внутрішніх органів мурчаків
за тривалого введення сполуки 4,66, г, М±m**

Показ- ники	Група тварин							
	I		II		III		контроль	
	маса органу	масовий коєфі- цієнт	маса органу	масовий коєфі- цієнт	маса органу	масовий коєфі- цієнт	маса органу	масовий коєфі- цієнт
Маса тіла	315,7± 14,6	—	314,8± 10,5	—	353,7± 12,1***	—	322,3± 11,4**	—
Серце	1,31± 0,14	0,41± 0,01	1,42± 0,21	0,45± 0,042	1,6± 0,13	0,45± 0,01	1,41± 0,33	0,44± 0,05
Легені	3,69± 0,26	1,17± 0,02	4,20± 0,34	1,30± 0,022	4,42± 0,31	1,16± 0,03	4,11± 0,42	1,28± 0,06
Печінка	16,3± 2,05	5,19± 0,32	17,21± 3,16	5,46± 0,71	21,04± 3,42	5,94± 0,54	17,41± 2,43	5,40± 0,54
Селезін- ка	0,63± 0,14	0,2± 0,014	0,65± 0,16	0,21± 0,03	1,03± 0,11**	0,29± 0,01*	0,66± 0,21	0,20± 0,03
Нирки	2,78± 0,16	0,8± 0,01	2,93± 0,52	0,93± 0,14	3,31± 0,42	0,94± 0,06	2,95± 0,51	0,92± 0,11

Примітка. * (p<0,05); ** (p<0,01); *** (p<0,001)

Визначено збільшення всіх показників внутрішніх органів у тварин III дослідної групи у порівнянні з мурчакми I, II групи та контролем, особливо масовий коефіцієнт печінки вищий на 12,6; 8,1 та 9,1%, а також селезінки – на 31,0 (p<0,05); 27,6 (p<0,05) та 31,0% (p<0,05) відповідно. Аналіз даного показника при токсикологічних дослідженнях дає можливість виявлення органу-мішені токсиканту, виявити ознаки ендокринно-пов'язаних ефектів.

Таким чином, визначена безпечність застосування сполуки **4.66** на мурчаках до 4-кратного введення. При цьому біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів у тварин були в межах фізіологічного контролю інтактної групи. Таким чином, 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин (**4.66**) можна використовувати як туберкулоцид з рівнем безпечності до 4-кратної дози.

6.4 Результати патогістологічних досліджень 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**4.66**)

Дослідження виконані в лабораторії гістології, імуноцитохімії та патоморфології НДЦ біобезпеки та екологічного контролю ресурсів АПК Дніпровського державного аграрно-економічного університету та навчально-науковій лабораторії з вивчення епізоотології та інфекційного процесу туберкульозу та мікобактеріозів тварин ДДАЕУ (м. Дніпро). Для експерименту взяли 12 нелінійних мурчаків середньою вагою 250 г, яким вводили сполуку **4.66** протягом трьох місяців. Було сформовано 4 групи із трьох тварин.

1-а група: підшкірне введення сполуки **4.66** в дозі 20 мг/кг маси тварини – подвійна доза при лікуванні туберкульозу тварин; 2-а група: в дозі 40 мг/кг маси тварини; 3-я група: застосування сполуки **4.66** в дозі 80 мг/кг маси тварини; контрольна група: клінічно здорові тварини (Кзд) – підшкірне введення ізотонічного розчину натрію хлориду (6 мл/кг). Тварин утримували в стандартних умовах. Експерименти, проведені на живих хребетних, відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986).

Патологоанатомічний розтин проводили методом повної евісцерації за Г. В. Шором. Для патогістологічного дослідження матеріал відбирали одразу після розтину. Для гістологічного дослідження у кожній свинки брали регіонарні до місця введення лімфовузли, шматочки легень, селезінки, серця, печінки, а також нирку та поміщали їх у 10% розчин формаліну. Основні етапи

гістологічної обробки: фіксація біоптатів (час фіксації тканин 1–2 доби); дегідратація (зневоднення об'єктів у абсолютизованому ізопропанолі) і заливка в парапласт; приготування зрізів товщиною 4-5 мкм. Патогістологічні дослідження проводили методом забарвлення гематоксиліном та еозином. Отримані гістопрепарати досліджували за допомогою мікроскопу Zeiss «Primo Star». Фотофіксація гістопрепаратів проводилась цифровою фотокамерою Leica DCM 500.

Позитивні результати отримані після застосування сполуки **4.66** дослідним тваринам I та II груп. Відзначаємо за результатами вивчення гістологічних показників органів і тканин мурчаків за тривалого введення препарату відсутність дегенеративних змін.

У легенях тварини I дослідної групи при гістологічному дослідженні відзначалися порушення кровообігу у вигляді венозного повнокров'я, стазів, аж до наявності червоних тромбів у просвіті судин з лімфоїдною інфільтрацією навколо (рис. 6.13а). Зазначалося чергування ділянок дистелектазів та емфіземи, нерівномірно виражений проміжний набряк у вигляді потовщення міжальвеолярних перегородок. Мала місце нерівномірна, дифузна та осередкова запальна інфільтрація, виявлена незначна осередкова периваскулярна інфільтрація (рис. 6.13б).

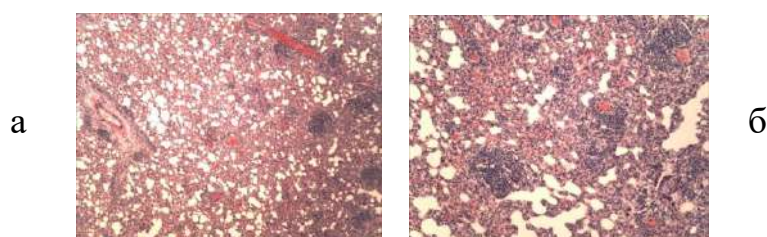


Рис. 6.13. Легені (сполука **4.66** 20 мг/кг маси тварини): а – стази, червоні тромби у просвіті судин з лімфоїдною інфільтрацією навколо, набряк. Гематоксилін-еозин, $\times 40$; б – незначна осередкова периваскулярна інфільтрація. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Запальний інфільтрат представлений переважно лімфоцитами з домішками макрофагів. У селезінці виявлялося помірне повнокров'я, лімфоїдні фолікули гіперплазовані, з розширеними центрами розмноження (рис. 6.14).

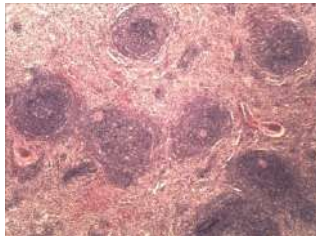


Рис. 6.14. Селезінка (20 мг/кг маси тварини). Гіперплазовані лімфоїдні фолікули з розширеними центрами розмноження. Гематоксилін-еозин, $\times 40$

У лімфовузлах виявлялося помірне повнокров'я, реактивні зміни елементів ретикуло-ендотеліальної тканини, гіперплазія лімфоїдних фолікулів із розширенням центрів розмноження (рис. 6.15).

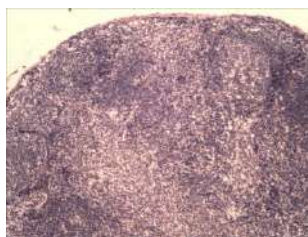


Рис. 6.15. Лімфовузол (20 мг/кг маси тварини). Гіперплазовані лімфоїдні фолікули зі світлими розширеними центрами розмноження. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

У серці спостерігалася зерниста дистрофія міокардіоцитів, помірний проміжний набряк, зустрічалися осередки проміжного міокардиту. Запальний інфільтрат представлений макрофагами з домішкою лімфоцитів (рис. 6.16).

У печінці патологічних змін не виявлялося. Відзначалося помірне повнокров'я, балкова структура печінкових часточок не порушена, цитоплазма гепатоцитів була багата на глікоген (рис. 6.17).

Нирки мали звичайну будову, відзначалося помірне повнокров'я, зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію каналців (рис. 6.18).

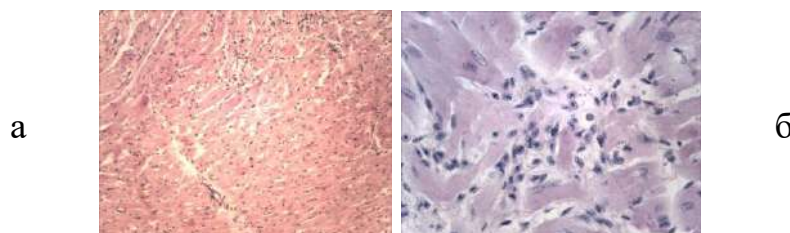


Рис. 6.16. Міокард (20 мг/кг маси тварини): а – помірний проміжний набряк, осередковий проміжний міокардит. Гематоксилін-еозин, $\times 100$; б – запальний інфільтрат представлений макрофагами з домішкою лімфоцитів. Гематоксилін-еозин, $\times 400$



Рис. 6.17. Печінка (20 мг/кг маси тварини). Цитоплазма гепатоцитів містить глікоген. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

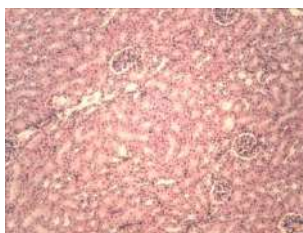


Рис. 6.18. Нирки (20 мг/кг маси тварини). Зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію каналців. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

При застосуванні сполуки **4.66** протягом 90 діб тваринам II дослідної групи за гістологічного дослідження у легенях мурчаків відзначалися порушення кровообігу у вигляді венозного повнокров'я та стазу. Відзначалося набухання ендотелію судин, периваскулярна лімфоїдна інфільтрація (рис.

6.19а). Мав місце нерівномірно виражений проміжний набряк, потовщення міжальвеолярних перегородок з лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією, формувалися поодинокі гранульомоподібні осередкові лімфоїдні інфільтрати (рис. 6.19б).

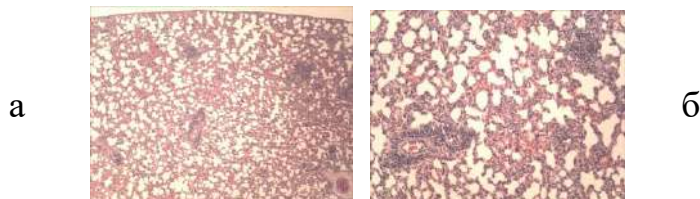


Рис. 6.19. Легені (40 мг/кг маси тварини): а – стаз, незначна периваскулярна лімфоїдна інфільтрація. Гематоксилін-еозин, $\times 40$; б – гранульомоподібні осередкові лімфоїдні інфільтрати. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

У селезінці виявлялося помірне повнокров'я, лімфоїдні фолікули були нерівномірно гіперплазовані, з центрами розмноження різної величини (рис. 6.20).

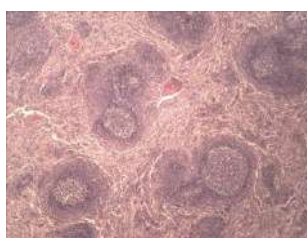


Рис. 6.20. Селезінка (40 мг/кг маси тварини). Нерівномірно гіперплазовані лімфоїдні фолікули. Гематоксилін-еозин, $\times 40$

У лімфовузлах спостерігалось нерівномірне розширення синусів, гіперплазія лімфоїдних фолікулів (рис. 6.21).

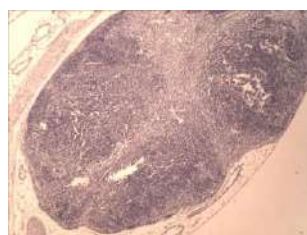


Рис. 6.21. Лімфовузол (40 мг/кг маси тварини). Гіперплазовані лімфоїдні фолікули. Гематоксилін-еозин, $\times 40$

У серці відзначалась зерниста дистрофія міокардіоцитів, помірний проміжний набряк, зустрічалися осередки проміжного міокардиту. Запальний інфільтрат складався з лімфоцитів та макрофагів (рис. 6.22а, б).

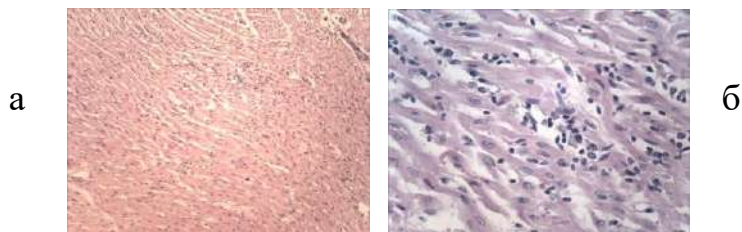


Рис. 6.22. Міокард (40 мг/кг маси тварини): а – помірний проміжний набряк, осередковий проміжний міокардит. Гематоксилін-еозин, $\times 100$; б – лімфоїдно-макрофагальний запальний інфільтрат. Гематоксилін-еозин, $\times 400$

У печінці відзначалося помірне повнокров'я, нерівномірне набухання ендотелію синусоїдальних капілярів, малянок балочної структури печінкових часточок був дещо стертий. Відбулася зерниста дистрофія гепатоцитів, кількість глікогену в цитоплазмі гепатоцитів нерівномірно знижена (рис. 6.23).



Рис. 6.23. Печінка (40 мг/кг маси тварини). Зерниста дистрофія гепатоцитів, нерівномірне набухання ендотелію синусоїдальних капілярів. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Нирки мали звичайну будову, відзначалося помірне повнокров'я, зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію канальців (рис. 6.24).

За результатами спостереження протягом 90 діб за підшкірного введення препарату в дозі 80 мг/кг маси тварини у легенях III дослідної групи відзначалися порушення кровообігу у вигляді венозного повнокров'я та стазу.

Виявляли набухання ендотелію, набряк та потовщення стінок судин, периваскулярну лімфоїдну інфільтрацію (рис. 6.25а). Зазначалося чергування ділянок дистелектазу, ділянок підвищеної та значно зниженої легкості.

Мав місце нерівномірно виражений проміжний набряк, потовщення міжальвеолярних перегородок з лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією, формуванням ділянок зливної проміжної пневмонії. Були також гранулоподібні осередкові лімфоїдні інфільтрати (рис. 6.25б).

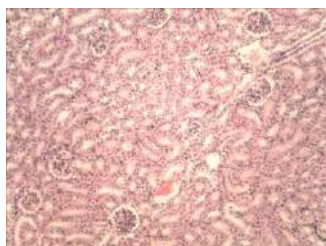


Рис. 6.24. Нирки (40 мг/кг маси тварини). Зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію каналців. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

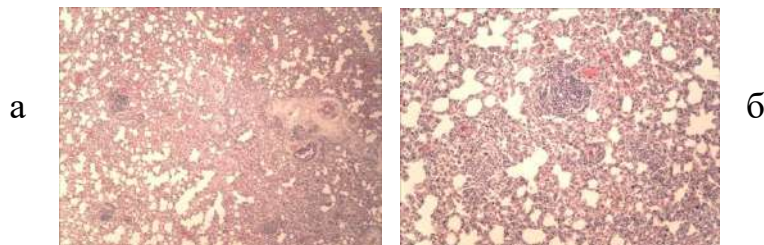


Рис. 6.25. Легені (80 мг/кг маси тварини): а – стаз, периваскулярна лімфоїдна інфільтрація, ділянки проміжної пневмонії. Гематоксилін-еозин, $\times 40$; б – гранулоподібні осередкові лімфоїдні інфільтрати. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Серед запального інфільтрату відзначалися великі макрофаги, серед яких виявлялися клітини з великими поліморфними ядрами та багатоядерні клітини різної форми та розмірів (рис. 6.26).

У селезінці виявлялося помірне повнокров'я, лімфоїдні фолікули гіперплазовані, з розширеними центрами розмноження (рис. 6.27).

У лімфовузлах виявлялося нерівномірне розширення синусів, лімфоїдні фолікули були гіперплазовані (рис. 6.28).

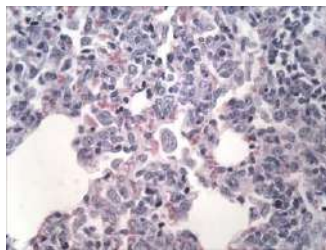


Рис. 6.26. Легені (80 мг/кг маси тварини). Великі макрофаги, клітини з великими поліморфними ядрами. Гематоксилін-еозин, $\times 400$

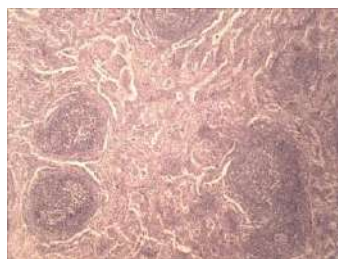


Рис. 6.27. Селезінка (80 мг/кг маси тварини). Гіперплазовані лімфоїдні фолікули із розширеними центрами розмноження. Гематоксилін-еозин, $\times 40$

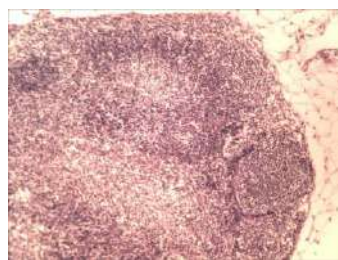


Рис. 6.28. Лімфовузол (80 мг/кг маси тварини). Гіперплазовані лімфоїдні фолікули, синуси розширені. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

У серці спостерігалася зерниста дистрофія міокардіоцитів, помірний проміжний набряк, набухання ендотелію капілярів. Навколо деяких судин була мізерна лімфоїдно-макрофагальна інфільтрація (рис. 6.29).

У печінці відзначалося помірне повнокров'я, набухання ендотелію синусоїдальних капілярів, малюнок балочної структури печінкових часточок був кілька стертий. Відбулася зерниста дистрофія гепатоцитів, кількість глікогену в цитоплазмі гепатоцитів нерівномірно знижена (рис. 6.30).

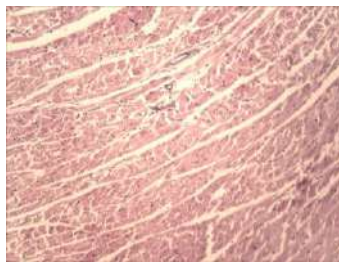


Рис. 6.29. Міокард (80 мг/кг маси тварини). Помірний проміжний набряк. Убога периваскулярна лімфоїдно-макрофагальна інфільтрація. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

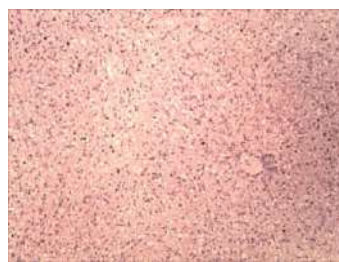


Рис. 6.30. Печінка (80 мг/кг маси тварини). Зерниста дистрофія гепатоцитів, нерівномірне набухання ендотелію синусоїдальних капілярів. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Нирки мали звичайну будову, відзначалося помірне повнокров'я, набухання ендотелію капілярів, зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію каналців (рис. 6.31).

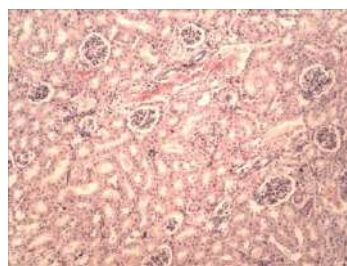


Рис. 6.31. Нирки (80 мг/кг маси тварини). Зерниста дистрофія та набухання цитоплазми епітелію каналців. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

У легенях тварин контрольної групи (клінічно здорові тварини, яким підшкірно вводили ізотонічний розчин натрію хлориду в дозі 6 мл/кг маси) відмічається помірне повнокров'я, альвеоли мають приблизно однакову

повітряність, розділені сполучнотканинними перегородками, в яких проходять кровоносні капіляри (рис. 6.32).

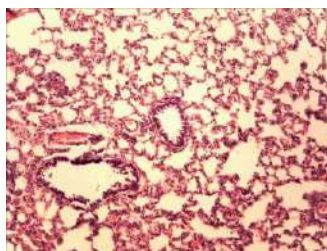


Рис. 6.32. Легені (контроль, клінічно здорові тварини). Помірне повнокров'я. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

При гістологічному дослідженні селезінки спостерігається її помірне повнокров'я, лімфатичні фолікули мають приблизно однаковий розмір, без ознак гіперплазії. Біла пульпа являє собою сукупність лімфоїдної тканини, розташованої в адвентиції її артерій у вигляді кулястих скупчень або вузликів, які являють собою наявність Т- і В-лімфоцитів, плазмоцитів та макрофагів (рис. 6.33).

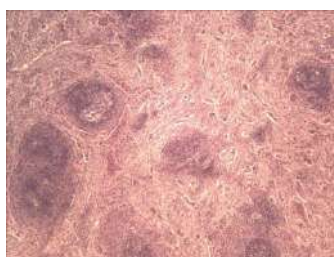


Рис. 6.33. Селезінка (контроль, клінічно здорові тварини). Помірне повнокров'я, лімфатичні фолікули без ознак гіперплазії. Гематоксилін-еозин, $\times 40$

Лімфовузли укриті сполучнотканинною капсулою, від якої всередину вузла відходять капсульні трабекули. Строма утворена ретикулярною сполучною тканиною, в петлях якої знаходяться клітини крові, головним чином лімфоцити. Ретикулярна тканина і клітини, що лежать в її петлях, складають паренхіму вузла, яку поділяють на кіркову і мозкову речовини. У кірковій

речовині розташовуються лімфатичні фолікули, що містять переважно В-лімфоцити.

Лімфатичні фолікули мали приблизно однаковий розмір. Мозкова речовина представлена м'якушевими тяжами, які є зоною скупчення В-лімфоцитів. Між капсулою трабекул і паренхімою розташовані лімфатичні синуси, за якими тече лімфа. Крайовий синус, в який відкриваються вхідні лімфатичні судини, знаходиться під капсулою вузла. Далі лімфа проникає в синуси кіркової і мозкової речовини, а потім у ворітний синус і з нього в вихідні лімфатичні судини (рис. 6.34).



Рис. 6.34. Лімфовузол (контроль, клінічно здорові тварини). Лімфатичні фолікули приблизно однакового розміру. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

При дослідженні серця тварин контрольної групи виявлена зерниста дистрофія кардіоміоцитів та незначний проміжний набряк. Між кардіоміоцитами розташовуються прошарки пухкої сполучної тканини, судини, нервові волокна (рис. 6.35).

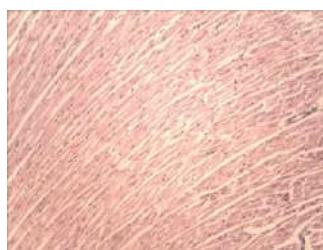


Рис. 6.35. Міокард (контроль, клінічно здорові тварини). Зерниста дистрофія кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

При дослідженні паренхіми печінки зустрічаються печінкові часточки, що сформовані балкоподібними структурами з гепатоцитів, які покриті плоскими ендотеліоцитами і розсіяними між ними зірчастими макрофагами. Гепатоцити тісно прилягають один до одного, цитоплазма має просвітлення за рахунок наявності глікогена. У зразку препарату печінки мурчаків виявлено помірне повнокров'я, зерниста дистрофія гепатоцитів, незначні лімфоцитогістіоцитарні інфільтрати поблизу портальних трактів. У стромі проходять кровоносні судини і жовчні протоки (рис. 6.36).

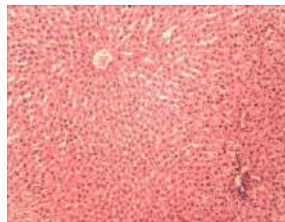


Рис. 6.36. Печінка (контроль, клінічно здорові тварини). Помірне повнокров'я, зерниста дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін-еозин, $\times 100$

Нирки інтактних тварин вкриті сполучнотканинною капсулою. Паренхіма нирок представлена епітеліальними нирковими каналцями, а ниркові клубочки – клубками капілярів з наявністю помірної кількості мезангіоцитів між капілярними петлями.

Проксимальні відділи ниркових каналців вистелені кубічним епітелієм з еозинофільної, злегка зернистою цитоплазмою, а дистальні – однорядним епітелієм циліндричної форми з базально розташованим ядром і базофільною пофарбованою цитоплазмою. Гістоструктура органу відповідає фізіологічним змінам (рис. 6.37).

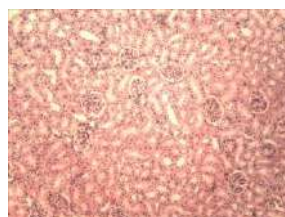


Рис. 6.37. Нирки (контроль, клінічно здорові тварини). Патологічних змін не виявлено Гематоксилін-еозин, $\times 100$

У легенях тварин усіх експериментальних груп зміни мали неспецифічний характер. Реакції гіперчутливості негайного типу виявлялися розладами кровообігу від венозного повнокров'я, стазів до наявності червоних тромбів у просвіті судин, нерівномірним проміжним набряком. Реакції гіперчутливості уповільненого типу виявлялися формуванням дрібно- та великовогнищевих запальних інфільтратів, у тому числі й гранулеподібних інфільтратів із лімфоцитів та макрофагів. У тварин III дослідної групи при застосуванні 8-кратної дози сполуки **4.66** (80 мг/кг маси тварини) мала місце дифузна проміжна пневмонія у вигляді потовщення міжальвеолярних перегородок з лімфоїдно-макрофагальною інфільтрацією, формуванням ділянок зливної проміжної пневмонії. Гранулеподібні осередкові та периваскулярні лімфоїдні інфільтрати формувалися у тварин всіх груп з найбільшою кількістю у групі III. Також у мурчаків III дослідної групи серед клітин запального інфільтрату виявлялися гігантські багатоядерні клітини різної форми та розмірів, що може свідчити про недостатню ефективність клітинної фази. У лімфовузлах та селезінці тварин усіх експериментальних груп виявлялося помірне повнокров'я, реактивні зміни елементів ретикуло-ендотеліальної тканини. У селезінці тварин III групи лімфоїдні фолікули мали ознаки гіперплазії у вигляді збільшення розмірів за рахунок розширення центрів розмноження, що може свідчити про напруженість клітинної фази імунної відповіді.

При застосуванні 8-кратної дози сполуки **4.66** тваринам виявлено, що лімфоїдні фолікули селезінки гіперплазовані нерівномірно, це може вказувати на більш високу ефективність імунної відповіді клітинного типу. У серці тварин всіх експериментальних груп були ознаки проміжного міокардиту у вигляді поодиноких вогнищ лімфоїдно-макрофагальної інфільтрації. У печінці тварин III групи найбільш вираженим відзначалося зниження кількості глікогену в гепатоцитах та ознаки ендотеліальної дисфункції у вигляді набухання ендотелію синусоїдальних капілярів. У нирках тварин усіх експериментальних груп спостерігалися явища незначного нефрозонофриту у

вигляді набухання цитоплазми епітелію каналців. Але у тварин III дослідної грпки відзначено набухання ендотелію капілярів у стромі паренхіми нирок.

Проаналізувавши все вищенаведене, зазначаємо, що при збільшенні дози сполуки до 80 мг/кг маси тварини у мурчаків відзначалися зміни внутрішніх органів, це свідчить про їх функціональну напругу з ознаками початку виснаження та ендотеліальної дисфункції. Наведені приклади представляють результати порівняльного аналізу вивчення хронічної токсичності на основі гістологічних досліджень ознак неспецифічних змін в органах морських свинок за тривалого введення сполуки **4.66**.

Встановлено, що підшкірне введення сполуки **4.66** в дозі 20 та 40 мг/кг маси тварини (двох та чотирьохкратна доза) призводить до відсутності неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках та міокарді. Таким чином, 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин (**4.66**) можна використовувати як туберкулоцид з рівнем безпечності до 4-кратної дози.

ВИСНОВКИ

Задля вирішення проблеми подальшого впровадження найбільш перспективних сполук у практику досліджено деякі параметри нешкідливості «сполук-лідерів»: морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату та 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину.

1. Вперше встановлено, що ЛД₅₀ морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату (**3.13**) для щурів самців склала 4667 мг/кг, для самок – 3333 мг/кг. Для мишей самців ЛД₅₀ дорівнювала 7000 мг/кг, для самок – 4000 мг/кг.

2. Помітних змін з боку гістологічної структури досліджених внутрішніх органів на світлооптичному рівні порівняно з інтактним контролем на фоні

введення морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)ацетату **(3.13)** не виявлено.

3. Вперше доведено, що застосування 3-(3-фторфеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину **(4.66)** на мурчаках до 4-кратного введення впливало на біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів. Зазначені показники у тварин були в межах фізіологічного контролю інтактної групи, а підшкірне введення сполуки **4.66** в дозі 20 та 40 мг/кг маси тварини (двох та чотирьохкратна доза) призводить до відсутності неспецифічних проявів запалення в легенях, печінці, нирках та міокарді.

За матеріалами розділу опубліковано наукові праці [330, 331].

РОЗДІЛ 7

ХІМІКО-ТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ВИГОТОВЛЕННЯ СУБСТАНЦІЇ
3-(3-ФТОРФЕНІЛ)-6-(4-МЕТОКСИФЕНІЛ)-7H-[1,2,4]-ТРИАЗОЛО-[3,4-
b][1,3,4]ТІАДІАЗИНУ

7.1 Методи контролю якості 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазину

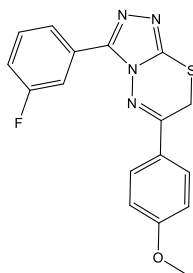
Методи контролю якості – комплексна, затверджена в установленому порядку нормативна документація, яка визначає методики контролю якості біологічно активних сполук (лікарських засобів), встановлює якісні і кількісні показники цієї сполуки або лікарського засобу відповідно та їх допустимі межі, вимоги до упаковки, маркування, умов зберігання, транспортування, терміну придатності, що були затверджені при державній реєстрації (перереєстрації) лікарського засобу або відповідної біологічно активної сполуки [397].

Подальше впровадження перспективних сполук у практичну діяльність потребує ретельного підходу. Попередньо доведено, що 3-(3-флуоро-феніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазин (4.66) є перспективною сполукою, яка виявляє досить високі показники протитуберкульозної активності, є малотоксичною.

Складовою частиною успішного подальшого поглибленого дослідження цієї речовини є розробка ефективних, доступних та швидких комплексних методів контролю якості.

За результатами проведених досліджень здійснено підтвердження якості субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-b][1,3,4]тіадіазину (4.66) відповідно до вимог ДФУ за допомогою аналітичних методик якісного та кількісного визначення (табл. 7.1).

3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин



Молекулярна формула: C₁₇H₁₃FN₄OS

Відносна молекулярна маса: М. м. 340,4

Таблиця 7.1

Специфікація на субстанцію 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину

Найменування показника	Допустимі межі	Методи контролю
1	2	3
Опис	Кристалічний порошок світло-жовтого кольору	п. 1 візуально
Розчинність	Мало розчинний у воді Р, етанолі Р, хлороформі Р, практично нерозчинний у діетиловому ефірі Р, легко розчинний у ізопропіловому спирті Р та диметилсульфоксиді Р	п. 2 ДФУ, 1.4
Ідентифікація	1. ІЧ-спектр поглинання субстанції має відповідати спектру робочого стандартного зразка 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазину 2. Позитивна реакція на 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4- <i>b</i>][1,3,4]тіадіазин з розчином калію йодвісмутату, утворюється кристалічний осад буро-оранжевого кольору	п. 3.1 ДФУ 2.2.24 п. 3.2 якісна реакція ДФУ 2.3.1

1	2	3
Прозорість розчину	Розчин 1,5 г субстанції в 10 мл ізопропілового спирту має бути прозорим	п. 4 ДФУ 2.2.1
Кольоровість розчину	Забарвлення розчину 1,5 г субстанції в 10 мл ізопропілового спирту має бути не інтенсивнішим за еталон Y ₆	п. 5 ДФУ 2.2.2
Температура плавлення	Від 163 °С до 165°С	п. 6 ДФУ 2.2.14
Супутні домішки: 3-(3-флуоро-феніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-5-тіол	Не більше 0,78%	п. 7 ДФУ 2.2.29
Залишкові розчинники: пропан-2-ол	Не більше 5000 ppm	п. 8 ДФУ 2.2.28
Мікро-біологічна чистота	В субстанції допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10 ² мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно) в 1 г; не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г; не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г; не допускається наявність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г	п. 12, ДФУ ^N , 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4 категорія 2

1	2	3
Кількісне визначення $C_{17}H_{13}FN_4OS$	Від 99,22% до 99,95% у перерахунок на суху речовину	п. 13, неводне титрування, ДФУ 2.2.20

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

на субстанцію 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину

1. Опис. Кристалічний порошок світло-жовтого кольору.

2. Розчинність. Мало розчинний у воді Р, етанолі Р, хлороформі Р, практично нерозчинний у діетиловому ефірі Р, легко розчинний у ізопропіловому спирті Р та диметилсульфоксиді Р. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ 1.4 «Розчинність».

3. Ідентифікація. 3.1. Інфрачервоний спектр поглинання субстанції, попередньо висушений в умовах, що наведені у розділі «Втрата в масі при висушиванні», одержаний пресуванням з калію бромідом Р (5 мг субстанції у 400 мг калію броміду Р) в області від 4000 см^{-1} до 600 см^{-1} повинен мати повне співпадання положення смуг поглинання з положенням смуг поглинання спектру, що додається (ДФУ 2.2.24).

3.2. 1 г субстанції розчиняють у 20 мл води Р. До 1 мл одержаного розчину 1 додають краплю розчину калію йодвісмутату, збовтують. Утворюється кристалічний осад буро-оранжевого кольору.

4. Прозорість розчину. Розчин 1,5 г субстанції в 10 мл ізопропілового спирту має бути прозорим (ДФУ 2.2.1).

5. Кольоровість розчину. Забарвлення розчину, приготовленому для випробування «Прозорість розчину» має бути не інтенсивнішим за еталон Y_6 (ДФУ 2.2.2).

6. Температура плавлення. Температура плавлення 163-165°C. Тонко роздріблену субстанцію сушать при температурі від 100 °С до 105 °С.(ДФУ 2.2.14).

7. Супутні домішки. Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29)

Приготування досліджуваного розчину. Близько 100 мг (точна наважка) досліджуваного зразка субстанції до мірної колби місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 мл ДМСО, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та ретельно перемішують.

Приготування розчину робочого стандартного зразка. Близько 100 мг (точна наважка) робочого стандартного зразка 3-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-5-тіолу вносять до мірної колби місткістю 100,0 мл, розчиняють у 10 мл ДМСО, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та ретельно перемішують.

Розчини викорстовують свіжоприготовлені.

Хроматографують кожні з розчинів не менше 3 разів.

Приготування розчину для перевірки придатності хроматографічної системи. 100 мг стандартного зразка субстанціївносять до мірної колби місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 мл суміші ДМСО, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та ретельно перемішують.

Умови хроматографування:

- колонка – $\varnothing 4,6 \times 50$ мм, RX-SIL, 1,8 мкм;
- температура колонки – 40°C;
- рухома фаза А – H_2O – 0,1% HCOOH;
- рухома фаза В – CH_3CN – 0,1% HCOOH;
- потік – 400 мкл/хв;
- ізократичний режим – рухома фаза А – рухома фаза В (20:80);

- об'єм проби – 1 мкл;
- детектор – діодно-матричний ($\lambda = 254$ нм (АФІ));

Приготування рухомої фази А. 1,00 мл кислоти метанової вносять до мірної колби місткістю 1000,0 мл, розчиняють у 100 мл води високоочищеної, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та перемішують.

Приготування рухомої фази В. 1,00 мл кислоти форміатної вносять до мірної колби місткістю 1000,0 мл, розчиняють у 100 мл ацетонітрилу, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та перемішують.

Вміст домішки в субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину X , %, визначають за формулою:

$$X = \frac{S_x \times m_{st} \times P \times 100}{S_{st} \times m_x}$$

де S_x – середнє значення площі піку субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину для хроматограм досліджуваного розчину;

S_{st} – середнє значення площі піку домішки 3-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-5-тіолу для хроматограм розчину стандартного зразка;

m_{st} – маса наважки стандартного зразка 3-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-5-тіолу, г;

m_x – маса наважки досліджуваного зразка субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, г;

P – вміст основної речовини в робочому стандартному зразку, 3-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-5-тіолу, %;

X – вміст води в субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину, %

8. Залишкові розчинники. Випробування проводять методом газової хроматографії (ДФУ 2.2.28).

Приготування випробовуваного розчину. Близько 500 мг субстанції поміщають в колбу на 20 мл, додають 2 мл *N,N*-диметилформаміду Р, закривають і використовують для ін'єкції. Готується даний розчин у подвійній кількості.

Приготування стандартного розчину. Поміщають близько 35 мг ізопропанолу, робочого стандартного зразку, у мірну колбу об'ємом 25 мл, що містить 10 мл *N,N*-диметилформаміду і доводять до об'єму *N,N*-диметилформамідом, добре перемішують.

5 мл приготованого розчину переносять у мірну колбу об'ємом 25 мл і доводять до мітки *N,N*-диметилформамідом. 2 мл приготованого розчину переносять у два флакон об'ємом 20 мл, закривають і використовують для ін'єкції. Готується даний розчин у подвійній кількості.

Приготування контрольного розчину. 2 мл *N,N*-диметилформаміду переносять у флакон об'ємом 20 мл, закривають пробкою з бутилкаучука і використовують для ін'єкції.

Вводять контрольний розчин, і досліджують хроматограму контрольного розчину на будь-які сторонні піки. Не повинно бути ніякого впливу контрольного розчину під час утримування досліджуваних піків на хроматограмі стандартного і випробовуваного розчинів.

Розмістити запечатані флакони із стандартним і випробовуваним розчином в автосамплері, виконати аналіз згідно з даними хроматографічних умов. Проводять запис хроматограм.

Апаратура: відповідний газовий хроматограф, обладнаний полум'яно-іонізаційним детектором. Обчислювальний інтегратор і капілярна колонка – DB-624, 30 м × 0.32 мм × 1.8 мкм.

Реактиви: ізопропанол (ч.д.а.) і *N,N*-диметилформамід (ч.д.а.).

Умови хроматографування:

- колонка: DB-624, 30 м × 0.32 мм × 1.8 мкм;
- газ-носії: азот;
- детектор: полум'яно-іонізаційний (FID);
- початкова температура: 50°C (протягом 25 хв);

- швидкість нагрівання: 40°C/хв;
- завершальна температура: 250°C (протягом 5 хв);
- температура інжектора: 200°C;
- температура детектора: 250°C;
- швидкість потоку: 0,60 0,1 мл/хв;
- спосіб ін'єкції: розділення;
- коефіцієнт розділення: 1:20;
- час хроматографування: 35 хв.

HSS умова :

- температура флакона: 90°C;
- температура шприца: 95°C;
- час умови: 40 хв;
- час аналізу: 45 хв;
- об'єм ін'єкції: 1,0 мл.

Час утримування (RT) і відносний час утримування (RRT) розчинників представлений нижче:

Назва розчинника	RT (хв)	RRT
Ізопропанол	близько 6,2	близько 1,00

Визначають площі основних піків на хроматограмах стандартного і випробовуваного розчинів і обчислюють вміст залишкових розчинників відповідно до наступної формули:

$$\text{Ізопропанол (ppm)} = \frac{AT}{AS} \times \frac{DS}{DT} \times P \times 10^4,$$

де AT – площа піка ізопропанолу на хроматограмі випробовуваного розчину;

AS – площа піка ізопропанолу на хроматограмі стандартного розчину;

DS – коефіцієнт розведення стандартного розчину;

DT – коефіцієнт розведення випробовуваного розчину;

P – вміст основної речовини у робочому стандартному зразку, %.

9. Втрата в масі при висушуванні. Близько 1,0000 г субстанції сушать при температурі від 100°C до 105°C до постійної маси. Втрата в масі при висушуванні не має перевищувати 1 % (ДФУ 2.2.32).

10. Мікробіологічна чистота. В субстанції допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10^2 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно) в 1 г. Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г. Не допускається наявність *Staphylococcus aureus* в 1 г. Не допускається наявність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

11. Кількісне визначення. Близько 0,25 г субстанції поміщають в колбу місткістю 100 мл, додають 25 мл оцтової кислоти безводної Р та нагрівають на горячій водяній бані (80-90°C) до повного розчинення. Одержаний розчин охолоджують і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти до зеленого забарвлення (індикатор 0,05 мл розчину кристалічного фіолетового). Паралельно проводять контрольний дослід. 1 мл 0,1 М розчину хлорної кислоти відповідає 34,1 мг $C_{17}H_{13}FN_4OS$.

Вміст $C_{17}H_{13}FN_4OS$ (3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину) в субстанції має бути від 99,22% до 99,95% у перерахунок на суху речовину.

Реактиви, титровані розчини та індикатори, наведені в МКЯ, описані у відповідних розділах загальної статті 4 «Реактиви», ДФУ

Упаковка. Субстанцію упаковують в поліетиленовий мішок (НМ-НДРЕ) - 24"×36"×300 або поліетиленовий мішок (Білий - НМ-НДРЕ) 24"×36"×300 та у пластмасовий барабан (ГМ-НДРЕ)-10 л (PSD1).

Маркування. На етикетці вказують назву виробника субстанції, його товарний знак, назву субстанції, кількість, номер серії, умови зберігання, термін придатності, штрих-код.

Умови зберігання. При температурі не вище 25°C у щільно закритій тарі.

Термін придатності. 2 роки.

7.2 Деякі аспекти, щодо створення технічних умов, дослідно-виробничого технологічного регламенту та лабораторних методів синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину

При серійному виробництві продукції або наданні послуг підприємству необхідно мати документ, що встановлює вимоги до виробництва і продукції. Існують стандарти, розроблені державою – ГОСТ, ДСТУ, ГСТУ, які можуть використовуватися будь-яким виробником на території України. Якщо ж на продукцію відповідного стандарту немає або продукція за термінами зберігання, за сировиною, упаковкою не зовсім потрапляє під дію стандарту, необхідно розробляти власний нормативний документ – Технічні умови [398].

У технічних умовах, які є окремим документом, має бути повний комплекс вимог до продукції, її виготовлення, контролювання, приймання та постачання. Наявність технічних умов підтверджує, що продукція виготовлена виробником відповідно до тих показників, відповідає вимогам щодо безпеки та охорони навколишнього природного середовища, наведеним у документі [399].

Розроблені та затверджені технічні умови на «3-(3-Флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин чистий», лабораторні методи синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент доводять можливість виробництва цієї сполуки як фармацевтичного інгредієнта зацікавленими підприємствами України, також речовина може бути використана в хімічному і фармацевтичному аналізі як реактив для проведення якісного та кількісного визначення активно діючих сполук та допоміжних компонентів (рис. 7.1).

Для подальших біологічних та хіміко-технологічних випробувань 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину розроблена документація передана авторами НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» (дод. Д.3).

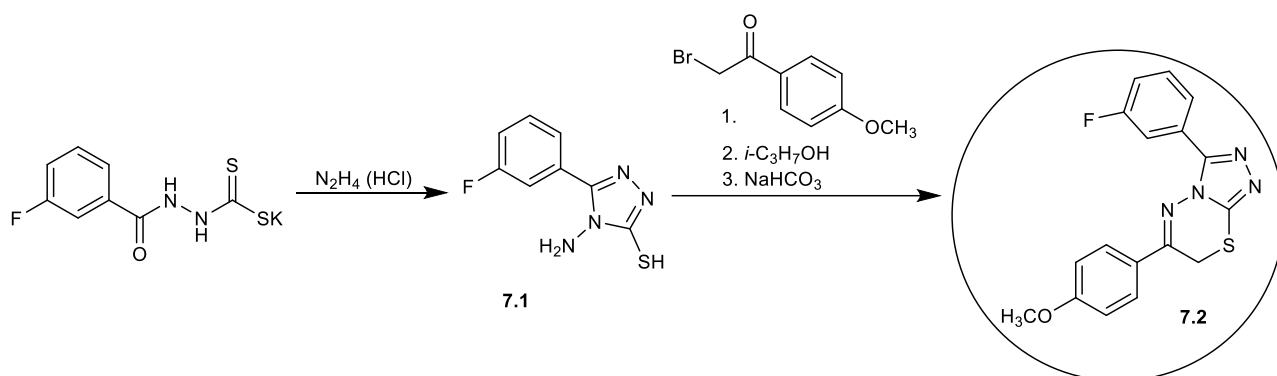


Рис. 7.1. Схема синтезу напівпродукту **7.1** та кінцевої субстанції 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину (**7.2**)

ВИСНОВКИ

Впроваджуючи у практику новий потенційний протитуберкульозний лікарський засіб, автором зі співавторами розроблено технічні умови (ТУ У 20.1-42067827-002:2021), методи контролю якості на субстанцію 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин, лабораторні методи синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент виробництва зазначеної сполуки. Нормативно-технічна документація на 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин передана авторами НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних досліджень.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертації представлено теоретичне та експериментальне обґрунтування необхідності вивчення властивостей нових 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів. Практично вирішена наукова проблема щодо пошуку нових біологічно активних речовин і створенню на їх основі потенційного лікарського засобу протитуберкульозної дії та оригінального протизапального препарату. Синтезовано ряд 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, для яких встановлена будова, фізико-хімічні, біологічні властивості, досліджено деякі параметри безпечності та нешкідливості. Здійснено аналіз залежності біологічної дії синтезованих сполук від їх будови, що в комплексі дозволило виявити та рекомендувати найбільш перспективні сполуки: 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин та морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат для подальших поглиблених досліджень. Розроблена нормативно-технічна документація на 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7*H*-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин (МКЯ, ТУ У 20.1-42067827-002:2021, лабораторні методики синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, дослідно-виробничий технологічний регламент виготовлення субстанції) передана авторами НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних досліджень.

1. Проаналізовано та узагальнено літературні і патентні джерела щодо методів синтезу, хімічних перетворень та біологічної активності 5-арил-, гетерил-4*R*-1,2,4-триазол-3-тіонів та флуоропохідних 5-арил-4*R*-1,2,4-триазол-3-тіонів. За допомогою комп'ютерного прогнозу обрано напрям синтетичних випробувань та прораховані синтетичні можливості нових похідних 1,2,4-триазолу.

2. Вперше проведено систематичне дослідження сольватаційних ефектів та їх впливу на таутомерію, кислотність, геометрію, характеристики електронного розподілу та інші властивості нових 1,2,4-триазолів та їх тіоаналогів. Здійснено реакції 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів з

галогеналканами, галогенарилами, дибромпропаном, дибромбутаном, галогенспиртами, хлорангідрідами кислот. Для 2-((4- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів вивчено відновлення кето-групи.

3. Вперше синтезовано ряд нових 2-((5- R_1 -5-(тіофен-3-ілметил)-4*H*-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)метил-, етил-, арилетилацетатів та 3-(R -дисульфаніл)-5-(4- R_1)-4-метил-4*H*-1,2,4-триазолів.

4. Вперше отримано ряд нових 2-(5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-4-(метил-, аміно)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатних кислот, їх солей, амідів та гідразиду, отримано ряд нових естерів різними методами.

5. Вивчено отримання ряду нових 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-((арил-, гетерил)іліден)аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів, деякі з яких піддано відновленню. Досліджено циклізацію 5-(2-, 3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів у присутності відповідних арил-, гетерилкарбонових кислот у середовищі $POCl_3$.

6. Вперше синтезовано нові 3-(2-фторфеніл, 3-фторфеніл)-6- R_2 -7*H*[1,2,4]триазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазини та 4-аміно-2-((R_1 , R_2 -аміно)метил)-5-((2-, 3-, 4)-флуорофеніл)-2,4-дигідро-3*H*-1,2,4-триазол-3-тіони.

7. Будову всіх синтезованих сполук було підтверджено за допомогою сучасних комплексних фізико-хімічних методів аналізу, а їх індивідуальність доведено хроматографічно.

8. Проведено комп'ютерне прогнозування перспективних видів біологічної активності 3-, 4-, 5-тризаміщених-1,2,4-триазол-3-тіонів, використовуючи SwissTargetPrediction, спрогнозовано мету біологічно активних молекул відповідних похідних 1,2,4-триазолу. За допомогою комп'ютерних методів досліджено гостру токсичність та побудовані QSAR моделі.

9. Вперше досліджено гостру токсичність 3-(2-, 3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]триазол[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазолів, встановлено ряд закономірностей «будова-дія». Вивчено протимікробну та протигрибкову активність та виявлено «сполуку-лідер» для подальших поглиблених досліджень.

10. Вивчено діуретичну, актопротекторну, протисудомну та протизапальну дію похідних 1,2,4-триазолу та виявлено серед них «сполук-лідер», для якої більш поглиблено досліджено протизапальну активність на моделі гострого панкреатиту. Для морфоліній 2-(5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетату вперше вивчено вплив на ріст, розвиток та врожайність сорго зернового у польових умовах.

11. Для нових похідних 1,2,4-триазолу вперше проведено дослідження механізму електрохімічних перетворень та виявлено появу аналітичного сигналу. Вперше розроблено іоноселективний електрод на основі 5-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-тіону задля визначення концентрації β -естрадіолу.

12. Вперше було досліджено параметри нешкідливості та безпечності «сполук-лідерів»: встановлено LD_{50} , проаналізовано зміни з боку гістологічної структури внутрішніх органів, доведено вплив сполук на біохімічні показники і масові коефіцієнти внутрішніх органів тварин. Для 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазину – перспективної сполуки, яка володіє високою протитуберкульозною активністю розроблено та затверджено методи контролю якості (МКЯ), технічні умови (ТУ У 20.1-42067827-002:2021), лабораторні методи синтезу напівпродукту та кінцевої субстанції, а також дослідно-виробничий технологічний регламент. Нормативно-технічна документація на 3-(3-флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7H-[1,2,4]-триазоло-[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин передана авторами НВФ ТОВ «БРОВАФАРМА» для подальших доклінічних досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. A convenient synthesis of highly substituted 3-N,N-dialkylamino-1,2,4-triazoles / Batchelor D. V. et al. *Synlett*. 2008. № 16. С. 2421–2424.
2. Molnar M., Periš I., Komar M. Choline Chloride Based Deep Eutectic Solvents as a Tuneable Medium for Synthesis of Coumarinyl 1,2,4-Triazoles: Effect of Solvent Type and Temperature. *European Journal of Organic Chemistry*. 2019. Vol. 2019, № 15. С. 2688–2694.
3. Synthesis, cytotoxicity and effects of some 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives on immunocompetent cells / Mavrova A. T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, № 1. С. 63–69.
4. Eswaran S., Adhikari A. V., Shetty N. S. Synthesis and antimicrobial activities of novel quinoline derivatives carrying 1,2,4-triazole moiety. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, № 11. С. 4637–4647.
5. 1,3,4-Oxadiazole/thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives of biphenyl-4-yloxy acetic acid: synthesis and preliminary evaluation of biological properties / Kumar H. et al. *European journal of medicinal chemistry*. 2008. Vol. 43, № 12. С. 2688–2698.
6. Fragment-based drug discovery of triazole inhibitors to block PDE δ -RAS protein-protein interaction / Chen D. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 163. С. 597–609.
7. Synthesis of GABAA Receptor Agonists and Evaluation of their α -Subunit Selectivity and Orientation in the GABA Binding Site / Jansen M. et al. *Journal of medicinal chemistry*. 2008. Vol. 51, № 15. С. 4430.
8. Synthesis of some new 1,2,4-triazoles, their Mannich and Schiff bases and evaluation of their antimicrobial activities / Bayrak H. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2009. Vol. 44, № 3. С. 1057–1066.
9. 1,2,4-Triazole-based benzothiazole/benzoxazole derivatives: Design, synthesis, p38 α MAP kinase inhibition, anti-inflammatory activity and molecular docking studies / Tariq S. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2018. Vol. 81. С. 630–641.

10. Synthesis, characterization and preliminary anticonvulsant evaluation of some 4-alkyl-1,2,4-triazoles / Plech T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 60. C. 208–215.

11. Synthesis, antioxidant activities and urease inhibition of some new 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole derivatives / Khan I. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 45, № 11. C. 5200–5207.

12. Design, Synthesis and Trypanocidal Evaluation of Novel 1,2,4-Triazoles-3-thiones Derived from Natural Piperine / Franklim T. N. et al. *Molecules* 2013, Vol. 18, Pages 6366-6382. 2013. Vol. 18, № 6. C. 6366–6382.

13. New heterocyclic compounds from 1,2,4-triazole and 1,3,4-thiadiazole class bearing diphenylsulfone moieties. Synthesis, characterization and antimicrobial activity evaluation / Barbuceanu S. F. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 49. C. 417–423.

14. Nonclassical antifolates, part 4. 5-(2-Aminothiazol-4-yl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiols as a new class of DHFR inhibitors: Synthesis, biological evaluation and molecular modeling study / Hassan G. S. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 66. C. 135–145.

15. Synthesis and antiproliferative evaluation of novel 2-(4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetamide derivatives as inducers of apoptosis in cancer cells / Kulabaş N. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 121. C. 58–70.

16. Triazolylthioacetamide: A Valid Scaffold for the Development of New Delhi Metallo- β -Lactmase-1 (NDM-1) Inhibitors / Zhai L. et al. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2016. Vol. 7, № 4. C. 413–417.

17. Regioselective synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of S-glycosides and S,N-diglycosides of 1,2-Dihydro-5-(1H-indol-2-yl)-1,2,4-triazole-3-thione / Ashry E. S. H. El et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 66. C. 106–113.

18. Synthesis and antitumoral activity of novel 3-(2-substituted-1,3,4-oxadiazol-5-yl) and 3-(5-substituted-1,2,4-triazol-3-yl) β -carboline derivatives / Formagio A. S. N. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 16, № 22.

C. 9660–9667.

19. Discovery of triazolinone non-nucleoside inhibitors of HIV reverse transcriptase / Sweeney Z. K. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2008. Vol. 18, № 15. C. 4348–4351.

20. Synthesis, docking and ADMET prediction of novel 5-((5-substituted-1-H-1,2,4-triazol-3-yl) methyl)-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridine as antifungal agents / Sangshetti J. N. et al. *Chinese Chemical Letters*. 2014. Vol. 25, № 7. C. 1033–1038.

21. 3-dialkylamino-1,2,4-triazoles via ZnII-catalyzed acyl hydrazide-dialkylcyanamide coupling / Yunusova S. N. et al. *ACS Omega*. 2018. Vol. 3, № 7. C. 7224–7234.

22. A new synthesis of 2-(aminoalkyl)-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidines / Prezent M. A. et al. *Mendeleev Communications*. 2017. Vol. 27, № 2. C. 169–171.

23. Eschenmoser-Coupling Reaction Furnishes Diazenyl-1,2,4-triazole-5(4H)-thione Derivatives / Hassan A. A. et al. *ChemistrySelect*. 2019. Vol. 4, № 2. C. 465–468.

24. Synthesis of Cyclic Azomethine Imines by Cycloaddition Reactions of N-Isocyanates and N-Isothiocyanates / Bongers, A., Ranasinghe, I., Lemire, P., та ін. et al. *Organic Letters*. 2016. Vol. 18, № 15. C. 3778–3781.

25. Thiocyanation of N,N-Dialkylhydrazonoyl Bromides: An Entry to Sulfur-Containing 1,2,4-Triazole Derivatives / Prieto A. et al. *European Journal of Organic Chemistry*. 2017. Vol. 2017, № 28. C. 4201–4204.

26. Mondal S., Samanta S., Hajra A. Synthesis of Triazolium Inner Salts by Thiocyanation of Aldehyde-Derived Hydrazones. *European Journal of Organic Chemistry*. 2018. Vol. 2018, № 8. C. 1060–1066.

27. Ramesh R., Lalitha A. Facile and Green Chemistry Access to 5-aryl-1,2,4-Triazolidine-3-thiones in Aqueous Medium. *ChemistrySelect*. 2016. Vol. 1, № 9. C. 2085–2089.

28. Ramesh R., Lalitha A. PEG-assisted two-component approach for the facile synthesis of 5-aryl-1,2,4-triazolidine-3-thiones under catalyst-free conditions. *RSC*

Advances. 2015. Vol. 5, № 63. C. 51188–51192.

29. Synthesis of triazolidine-3-one derivatives through the nanocellulose/hydroxyapatite-catalyzed reaction of aldehydes and semicarbazide / Moodley V. et al. *New Journal of Chemistry*. 2017. Vol. 41, № 14. C. 6455–6463.

30. New synthetic 1,2,4-triazole derivatives: Cholinesterase inhibition and molecular docking studies / Riaz N. et al. *Results in Chemistry*. 2020. Vol. 2. C. 100041.

31. Synthesis, antimicrobial and antioxidant evaluation, and molecular docking study of 4,5-disubstituted 1,2,4-triazole-3-thiones / Beyzaei H. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2020. Vol. 1215. C. 128273.

32. Investigation on 4-amino-5-substituent-1,2,4-triazole-3-thione Schiff bases as an antifungal drug by characterization (spectroscopic, XRD), biological activities, molecular docking studies and electrostatic potential (ESP) / Wu S. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2019. Vol. 1197. C. 171–182.

33. Reagent/Substituent Switching Approach for the Synthesis of Substituted 1,3,4-Oxadiazole/1,3,4-Oxadiazoline and 1,2,4-Triazole Derivatives from N-Substituted Hydrazides / Kotipalli T. et al. *Advanced Synthesis & Catalysis*. 2016. Vol. 358, № 16. C. 2652–2660.

34. Synthesis of 1,2,4-Triazoles via Oxidative Heterocyclization: Selective C-N Bond over C-S Bond Formation / Gogoi A. et al. *Journal of Organic Chemistry*. 2015. Vol. 80, № 18. C. 9016–9027.

35. 1,2,4-triazole-3-thione Schiff bases compounds: Crystal structure, hirshfeld surface analysis, DFT studies and biological evaluation / Wu S. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2020. Vol. 1219. C. 128591.

36. 1,2,4-Triazolidine-3-thiones as narrow spectrum antibiotics against multidrug-resistant acinetobacter baumannii / Huggins W. M. et al. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. 2017. Vol. 8, № 1. C. 27–31.

37. Novel, green and sustainable route for synthesis of 5-aryl-4-phenyl-1,2,4-triazolidine-3-thiones / Patil M. et al. *Tetrahedron Letters*. 2020. Vol. 61, № 25. C. 152015.

38. Enantioselective Synthesis of Spirooxindoles: Asymmetric [3+2] Cycloaddition of (3-Isothiocyanato)oxindoles with Azodicarboxylates / Jiang Y. et al. *European Journal of Organic Chemistry*. 2013. Vol. 2013, № 35. C. 7895–7901.

39. Design and synthesis of novel quinoline/chalcone/1,2,4-triazole hybrids as potent antiproliferative agent targeting EGFR and BRAFV600E kinases / Mohassab A. M. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2021. Vol. 106. C. 104510.

40. Probing phenylcarbamoylazinane-1,2,4-triazole amides derivatives as lipooxygenase inhibitors along with cytotoxic, ADME and molecular docking studies / Muzaffar S. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2021. Vol. 107. C. 104525.

41. Synthesis of novel indole, 1,2,4-triazole derivatives as potential glucosidase inhibitors / Gani R. S. et al. *Journal of King Saud University - Science*. 2020. Vol. 32, № 8. C. 3388–3399.

42. Synthesis, biological evaluation and kinase profiling of novel S-benzo[4,5]thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazole derivatives as cytotoxic agents with apoptosis-inducing activity / Abdelazeem A. H. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2020. Vol. 1219. C. 128567.

43. Design, synthesis and antitrypanosomal activity of heteroaryl-based 1,2,4-triazole and 1,3,4-oxadiazole derivatives / Shaykoon M. S. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 100. C. 103933.

44. Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-thiols / Zazharskyi V. et al. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2020. Vol. 6. C. 50–58.

45. Synthesis, structure, physicochemical properties and antibacterial activity of 1,2,4-triazoles-3-thiols and furan derivatives / Zazharskyi V. et al. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2019. Vol. 2019, № 6. C. 74–82.

46. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Chemical modification and Physicochemical properties of new derivatives 5-(thiophen-3-ilmethyl)-4-R1-1,2,4-triazole-3-thiol. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021. Vol. 14, № 9. C. 4621–4629.

47. The investigation of antimicrobial activity of some s-substituted bis-1,2,4-

triazole-3-thiones / Karpun Y. et al. *Pharmacia*. 2021. Vol. 68 (4), № 4. C. 797.

48. Synthesis and biological activity of 6-ylidenethiazolidino[3,2-c]-1,2,4-triazol-5-ones / Knysh E. G. et al. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 1984. Vol. 18, № 11. C. 765–767.

49. Synthesis of cytotoxic urs-12-ene- and 28-norurs-12-ene- type conjugates with amino- and mercapto-1,3,4-oxadiazoles and mercapto-1,2,4-triazoles / Popov S. A. et al. *Steroids*. 2020. Vol. 153. C. 108524.

50. Synthesis, molecular docking, and evaluation of antibacterial activity of 1,2,4-triazole-norfloxacin hybrids / Yang P. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2021. Vol. 115. C. 105270.

51. 4-Alkyl-1,2,4-triazole-3-thione analogues as metallo- β -lactamase inhibitors / Gavara L. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2021. Vol. 113. C. 105024.

52. Discovery of novel indolyl-1,2,4-triazole hybrids as potent vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) inhibitors with potential anti-renal cancer activity / Al-Hussain S. A. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 105. C. 104330.

53. Design, synthesis and molecular docking of new N-4-piperazinyl ciprofloxacin-triazole hybrids with potential antimicrobial activity / Mohammed H. H. H. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 88. C. 102952.

54. Furin G. G. Fluorine-Containing Heterocycles. Part II. Synthesis of Perfluoroalkyl Heterocycles from Carbonyl Compounds. *Advances in Heterocyclic Chemistry*. 2004. Vol. 87. C. 273–383.

55. Synthesis of novel fluorine- and iodine-containing [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3]thiazines based 3-(alkenylthio)-5-(trifluoromethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiols / Il'Inykh E. S. et al. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2013. Vol. 149. C. 24–29.

56. Hydrophobic pocket docking, double-proton prototropic tautomerism in contradiction to single-proton transfer in thione \rightleftharpoons thiol Schiff base with triazole-thione moiety: Green synthesis, XRD and DFT-analysis / Aouad M. R. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2019. Vol. 1180. C. 455–461.

57. Synthesis and antifungal activity of new hybrids thiazolo[4,5-d]pyrimidines

with (1H-1,2,4)triazole / Blokhina S. V. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2021. Vol. 40. C. 127944.

58. New methyl 5-(halomethyl)-1-aryl-1H-1,2,4-triazole-3-carboxylates as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents: Design, synthesis, biological evaluation, and docking study / Li S. M. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 104. C. 104333.

59. Design and synthesis of newer 1,3,4-oxadiazole and 1,2,4-triazole based Topsentin analogues as anti-proliferative agent targeting tubulin / Naaz F. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2020. Vol. 95. C. 103519.

60. Prasanna Kumar B. N., Mohana K. N., Mallesha L. Synthesis and antiproliferative activity of some new fluorinated Schiff bases derived from 1,2,4-triazoles. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2013. Vol. 156. C. 15–20.

61. ‘One-flask’ synthesis to 3,5-disubstituted 1,2,4-triazoles from aldehydes with hydrazonoyl hydrochlorides via 1,3-dipolar cycloaddition / Tseng W. C. et al. *Tetrahedron*. 2011. Vol. 67, № 29. C. 5339–5345.

62. Synthesis and antiproliferative evaluation of 3,5-disubstituted 1,2,4-triazoles containing fluorenyl and trifluoromethanophenyl moieties / Wang L. Y. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2011. Vol. 21, № 18. C. 5358–5362.

63. Synthesis and biological activities of novel 1,2,4-triazole thiones and bis(1,2,4-triazole thiones) containing phenylpyrazole and piperazine moieties / Wang B. L. et al. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2016. Vol. 184. C. 36–44.

64. Synthesis and biological activities of some fluorine- and piperazine-containing 1,2,4-triazole thione derivatives / Zhang L. Y. et al. *Chinese Chemical Letters*. 2016. Vol. 27, № 1. C. 163–167.

65. Fan Y. L., Ke X., Liu M. Coumarin–triazole Hybrids and Their Biological Activities / *HeteroCorporation*, 2018. 791–802 p.

66. Tautomerism of 1,2,3- and 1,2,4-triazole in the gas phase and in aqueous solution: a combined ab initio quantum mechanics and free energy perturbation study / Cox J. R. et al. *Journal of Physical Chemistry*. 2002. Vol. 94, № 14. C. 5499–

5501.

67. Küçükgül G., Çikla-Süzgün P. Recent advances bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 97, № 1. C. 830–870.

68. -H. Zhou C., Wang Y. Recent Researches in Triazole Compounds as Medicinal Drugs. *Current Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 19, № 2. C. 239–280.

69. Synthesis and anticonvulsant activity of new 2-substituted-5-[2-(2-fluorophenoxy)phenyl]-1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles / Almasirad A. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2004. Vol. 14, № 24. C. 6057–6059.

70. Peyton L. R., Gallagher S., Hashemzadeh M. Triazole antifungals: A review. *Prous Science*, 2015. 705–718 p.

71. Siddiqui N., Alam M. S., Ahsan W. Synthesis, anticonvulsant and toxicity evaluation of 2-(1H-indol-3-yl) acetyl-N-(substituted phenyl)hydrazine carbothioamides and their related heterocyclic derivatives. *Acta Pharmaceutica*. 2008. Vol. 58, № 4. C. 445–454.

72. Russell P. E. A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science*. 2005. Vol. 143, № 1. C. 11–25.

73. Łuszczki J. J., Plech T., Wujec M. Influence of 5-(3-chlorophenyl)-4-(4-methylphenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione on the anticonvulsant action of 4 classical antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *Pharmacological Reports*. 2012. Vol. 64, № 4. C. 970–978.

74. Synthesis and biological evaluation of 1,2,4-triazole derivatives as potential neuroprotectant against ischemic brain injury / Liao L. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 190. C. 112114.

75. Łuszczki J. J., Plech T., Wujec M. Effect of 4-(4-bromophenyl)-5-(3-chlorophenyl)-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione on the anticonvulsant action of different classical antiepileptic drugs in the mouse maximal electroshock-induced seizure model. *European Journal of Pharmacology*. 2012. Vol. 690, № 1–3. C. 99–106.

76. Insights on the Antioxidant Potential of 1, 2, 4-Triazoles: Synthesis,

Screening & QSAR Studies / Pokuri S. et al. *Current Drug Metabolism*. 2014. Vol. 15, № 4. C. 389–397.

77. Studies on the Anticonvulsant Activity and Influence on GABA-ergic Neurotransmission of 1,2,4-Triazole-3-thione- Based Compounds / Plech T. et al. *Molecules*. 2014, Vol. 19, P. 11279-11299.

78. Triazole derivatives and their antiplasmodial and antimalarial activities / Chu X. M. et al. *Elsevier Masson SAS*. 2019. 206–223 p.

79. Design, synthesis, biological activities and DFT calculation of novel 1,2,4-triazole Schiff base derivatives / Jin R. Y. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2018. Vol. 80. C. 253–260.

80. Green synthesis, antileishmanial activity evaluation, and in silico studies of new amino acid-coupled 1,2,4-triazoles / El-Saghier A. M. et al. *Medicinal Chemistry Research*. 2019. Vol. 28, № 2. C. 169–181.

81. Synthesis of novel sulfonamide-1,2,4-triazoles, 1,3,4-thiadiazoles and 1,3,4-oxadiazoles, as potential antibacterial and antifungal agents. Biological evaluation and conformational analysis studies / Zoumpoulakis P. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 20, № 4. C. 1569–1583.

82. Synthesis of Some New 1,2,4-Triazole Derivatives Starting from 3-(4-Chlorophenyl)-5-(4-methoxybenzyl)-4H-1,2,4-triazol with Anti-Lipase and Anti-Urease Activities / Bekircan O. et al. *Archiv der Pharmazie*. 2014. Vol. 347, № 6. C. 387–397.

83. Synthesis and in vitro activity of 1,2,4-triazole-ciprofloxacin hybrids against drug-susceptible and drug-resistant bacteria / Plech T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 60. C. 128–134.

84. Asymmetric synthesis of novel triazole derivatives and their in vitro antiviral activity and mechanism of action / Cao X. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 139. C. 718–725.

85. Search for factors affecting antibacterial activity and toxicity of 1,2,4-triazole-ciprofloxacin hybrids / Plech T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 97. C. 94–103.

86. 1,2,4-Triazole-based anticonvulsant agents with additional ROS scavenging activity are effective in a model of pharmacoresistant epilepsy / Kaproń B. et al. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 35, № 1. C. 993–1002.

87. Piperazine-azole-fluoroquinolone hybrids: Conventional and microwave irradiated synthesis, biological activity screening and molecular docking studies / Mermer A. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 85. C. 308–318.

88. Synthesis and antibacterial activity of novel [1,2,4]triazolo[3,4-h][1,8]naphthyridine-7-carboxylic acid derivatives / Gao L. Z. et al. *Chinese Chemical Letters*. 2015. Vol. 26, № 1. C. 149–151.

89. Design, synthesis, biological evaluation, and comparative docking study of 1,2,4-triazolones as CB1 receptor selective antagonists / Han S. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 74. C. 73–84.

90. Synthesis, antimicrobial evaluation and QSAR analysis of novel nalidixic acid based 1,2,4-triazole derivatives / Aggarwal N. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, № 9. C. 4089–4099.

91. Synthesis and bioactivity of pyrazole and triazole derivatives as potential PDE4 inhibitors / Li Y. S. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2016. Vol. 26, № 15. C. 3632–3635.

92. 3-Phenyl-6-(2-pyridyl)methoxy-1,2,4-triazolo[3,4-a]phthalazines and Analogues: High-Affinity γ -Aminobutyric Acid-A Benzodiazepine Receptor Ligands with α_2 , α_3 , and α_5 -Subtype Binding Selectivity over α_1 / Carling R. W. et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004. Vol. 47, № 7. C. 1807–1822.

93. Synthesis and biological evaluation of dihydroindeno and indeno [1,2-e] [1,2,4]triazolo [3,4-b] [1,3,4]thiadiazines as antimicrobial agents / Prakash O. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, № 10. C. 5065–5073.

94. Nam N.-H., Parang K. Current Targets for Anticancer Drug Discovery. *Current Drug Targets*. 2005. Vol. 4, № 2. C. 159–179.

95. Zhang W., Yuan J. Poly(1-Vinyl-1,2,4-triazolium) Poly(Ionic Liquid)s: Synthesis and the Unique Behavior in Loading Metal Ions. *Macromolecular Rapid*

Communications. 2016. Vol. 37, № 14. C. 1124–1129.

96. Coordination Polymers Containing 1,3-Phenylenebis-((1H-1,2,4-triazol-1-yl)methanone) Ligand: Synthesis and ϵ -Caprolactone Polymerization Behavior / Bello-Vieda N. J. et al. *Molecules*. 2017. Vol. 22, № 11. C. 1860.

97. Synthesis, molecular modeling, in vivo study, and anticancer activity of 1,2,4-triazole containing hydrazide–hydrazones derived from (S)-naproxen / Han M. et al. *Archiv der Pharmazie*. 2019. Vol. 352, № 6. C. 1800365.

98. Some novel Schiff bases of [1,2,4]triazole bearing haloarene moiety - Synthesis and evaluation of antituberculosis properties and neutrophil function test / Castelino P. A. et al. *Medicinal Chemistry Research*. 2016. Vol. 25, № 1. C. 83–93.

99. Optical waveguides from 4-aryl-4H-1,2,4-triazole-based supramolecular structures / Cáceres D. et al. *Chemical Communications*. 2013. Vol. 49, № 6. C. 621–623.

100. Development of 3,5-Dinitrophenyl-Containing 1,2,4-Triazoles and Their Trifluoromethyl Analogues as Highly Efficient Antitubercular Agents Inhibiting Decaprenylphosphoryl- β -d-ribofuranose 2'-Oxidase / Karabanovich G. et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 62, № 17. C. 8115–8139.

101. 1,2,3/1,2,4-Triazole containing liquid crystalline materials: An up-to-date review of their synthetic design and mesomorphic behavior / Rodrigues L. D. et al. *Journal of Molecular Liquids*. 2020. Vol. 297. C. 111909.

102. A comprehensive review of 1,2,4-triazole fungicide toxicity in zebrafish (*Danio rerio*): A mitochondrial and metabolic perspective / Huang T. et al. *Science of The Total Environment*. 2021. C. 151177.

103. Dixit P. P., Dixit P. P., Thore S. N. Hybrid triazoles: Design and synthesis as potential dual inhibitor of growth and efflux inhibition in tuberculosis. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 107. C. 38–47.

104. Bonde C. G., Peepliwal A., Aikwad N. J. Synthesis and antimycobacterial activity of azetidine-, quinazoline-, and triazolo-thiadiazole-containing pyrazines. *Archiv der Pharmazie*. 2010. Vol. 343, № 4. C. 228–236.

105. QSAR models for the acute toxicity of 1,2,4-triazole fungicides to

zebrafish (*Danio rerio*) embryos / Qiao K. et al. *Environmental Pollution*. 2020. Vol. 265. C. 114837.

106. Search for factors affecting antibacterial activity and toxicity of 1,2,4-triazole-ciprofloxacin hybrids / Plech T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 97. C. 94–103.

107. Preliminary SAR and biological evaluation of antitubercular triazolothiadiazine derivatives against drug-susceptible and drug-resistant Mtb strains / Li Z. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 25, № 1. C. 213–220.

108. SAR studies on 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles as inhibitors of Mtb shikimate dehydrogenase for the development of novel antitubercular agents / Li Z. et al. *RSC Advances*. 2015. Vol. 5, № 118. C. 97089–97101.

109. IMB-SD62, a triazolothiadiazoles derivative with promising action against tuberculosis / Deng Q. et al. *Tuberculosis*. 2018. Vol. 112. C. 37–44.

110. Synthesis, Biological Evaluation and In Silico Studies of 1,2,4-Triazole and 1,3,4-Thiadiazole Derivatives as Antiherpetic Agents / Goma'a H. A. M. et al. *ChemistrySelect*. 2019. Vol. 4, № 21. C. 6421–6428.

111. Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel 5-[(3-Aralkyl Amido/Imidoalkyl) Phenyl]-1,2,4-Triazolo[3,4-b]-1,3,4-Thiadiazines as Antiviral Agents / Pandey V. K. et al. *ISRN Organic Chemistry*. 2012. Vol. 2012. C. 1–7.

112. Arylazolythioacetanilide. Part 8☆: Design, synthesis and biological evaluation of Novel 2-(2-(2,4-Dichlorophenyl)-2H-1,2,4-triazol-3-ylthio)-N-arylamides As Potent HIV-1 inhibitors / Zhan P. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, № 10. C. 5039–5045.

113. Mistry B. D., Desai K. R., Intwala S. M. Synthesis of novel sulfonamides as potential antibacterial, antifungal and antimalarial agents. *Indian Journal of Chemistry - Section B Organic and Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 54B, № 1. C. 128–134.

114. Campoy S., Adrio J. L. Antifungals. *Biochemical Pharmacology*. 2017. Vol. 133. C. 86–96.

115. Design, synthesis, trypanocidal activity, and studies on human albumin

interaction of novel s-alkyl-1,2,4-triazoles / Franklim T. N. et al. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2019. Vol. 30, № 7. C. 1378–1394.

116. Design, synthesis and antitrypanosomal activity of some nitrofurazone 1,2,4-triazolic bioisosteric analogues / Silva F. T. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 121. C. 553–560.

117. Peyton L. R., Gallagher S., Hashemzadeh M. Triazole antifungals: A review. *Drugs of Today*. 2015. Vol. 51, № 12. C. 705–718.

118. Patel R. V., Park S. W. Access to a new class of biologically active quinoline based 1,2,4-triazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 71. C. 24–30.

119. Antileishmanial potential of fused 5-(pyrazin-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiols: Synthesis, biological evaluations and computational studies / Patil S. R. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2017. Vol. 27, № 16. C. 3845–3850.

120. Unraveling the Alkaline Phosphatase Inhibition, Anticancer, and Antileishmanial Potential of Coumarin–Triazolothiadiazine Hybrids: Design, Synthesis, and Molecular Docking Analysis / Ibrar A. et al. *Archiv der Pharmazie*. 2016. Vol. 349, № 7. C. 553–565.

121. Dielectric Characterizations and Microwave Heating Behavior of Zinc Compound in Microwave Field / Lin G. et al. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 2018. Vol. 43, № 5. C. 2329–2338.

122. Antileishmanial activity study and theoretical calculations for 4-amino-1,2,4-triazole derivatives / Süleymanoğlu N. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2017. Vol. 1144. C. 80–86.

123. Novel quinoline incorporating 1,2,4-triazole/oxime hybrids: Synthesis, molecular docking, anti-inflammatory, COX inhibition, ulcerogenicity and histopathological investigations / Mohassab A. M. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2017. Vol. 75. C. 242–259.

124. Synthesis, characterization and pharmacological activity of 4-[[1-substituted aminomethyl-4-arylideneamino-5-sulfanyl-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazol-3-yl]methyl]-2H-1,4-benzothiazin-3(4H)-ones / Gowda J. et al. *European*

Journal of Medicinal Chemistry. 2011. Vol. 46, № 9. C. 4100–4106.

125. Tariq S., Alam O., Amir M. Synthesis, p38 α MAP kinase inhibition, anti-inflammatory activity, and molecular docking studies of 1,2,4-triazole-based benzothiazole-2-amines. *Archiv der Pharmazie*. 2018. Vol. 351, № 3–4. C. 1700304.

126. Shehry M. F. El, Abu-Hashem A. A., El-Telbani E. M. Synthesis of 3-((2,4-dichlorophenoxy)methyl)-1,2,4-triazolo(thiadiazoles and thiadiazines) as anti-inflammatory and molluscicidal agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 45, № 5. C. 1906–1911.

127. Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of Fused 1,2,4-triazolo-[3,4-b][1,3,4]thiadiazole Derivatives of Phenothiazine / Maddila S. et al. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2013. Vol. 10, № 10. C. 977–983.

128. Discovery of a non-toxic [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-one (WS-10) that modulates ABCB1-mediated multidrug resistance (MDR) / Chang L. et al. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2018. Vol. 26, № 18. C. 5006–5017.

129. Design and synthesis of 1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidine derivatives as PDE 4B inhibitors endowed with bronchodilator activity / Abd El-Aleam R. H. et al. *Archiv der Pharmazie*. 2019. Vol. 352, № 8. C. 1900002.

130. Adsorption and inhibition mechanism of (Z)-4-((4-methoxybenzylidene)amino)-5-methyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione on carbon steel corrosion in HCl: Experimental and theoretical insights / Merimi I. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2021. Vol. 1231. C. 129901.

131. Facile synthesis, cytotoxic and antimicrobial activity studies of a new group of 6-aryl-3-[4-(methylsulfonyl)benzyl]-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines / Sumangala V. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 54. C. 59–64.

132. Nitric oxide releasing acridone carboxamide derivatives as reverters of doxorubicin resistance in MCF7/Dx cancer cells / Rajendra Prasad V. V. S. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2016. Vol. 64. C. 51–58.

133. Studies on the synthesis and antibacterial activity of 3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b]1,3,4-thiadiazoles / Plech T. et al. *European Journal of*

Medicinal Chemistry. 2012. Vol. 47, № 1. C. 580–584.

134. Design, synthesis and antimicrobial activities of thiouracil derivatives containing triazolo-thiadiazole as SecA inhibitors / Cui P. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2017. Vol. 127. C. 159–165.

135. Synthesis of some novel 2-substituted-5-[isopropylthiazole] clubbed 1,2,4-triazole and 1,3,4-oxadiazoles as potential antimicrobial and antitubercular agents / Suresh Kumar G. V. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2010. Vol. 45, № 5. C. 2063–2074.

136. Yang L., Bao X. P. Synthesis of novel 1,2,4-triazole derivatives containing the quinazolinyloxy piperidinyloxy moiety and: N -(substituted phenyl)acetamide group as efficient bactericides against the phytopathogenic bacterium *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, № 54. C. 34005–34011.

137. Design, Synthesis and Evaluation of Triazole-Pyrimidine Analogues as SecA Inhibitors / Cui J. et al. *ChemMedChem*. 2016. Vol. 11, № 1. C. 43–56.

138. Benzenesulfonamide bearing 1,2,4-triazole scaffolds as potent inhibitors of tumor associated carbonic anhydrase isoforms hCA IX and hCA XII / Sitaram Celik G. et al. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2014. Vol. 22, № 6. C. 1873–1882.

139. The selective intravenous inhibitor of the MET tyrosine kinase SAR125844 inhibits tumor growth in MET-amplified cancer / Egile C. et al. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2015. Vol. 14, № 2. C. 384–394.

140. Identification of 1,2,4-triazoles as new thymidine phosphorylase inhibitors: Future anti-tumor drugs / Shahzad S. A. et al. *Bioorganic Chemistry*. 2019. Vol. 85. C. 209–220.

141. Synthesis and anticonvulsant activity of new phenytoin derivatives / Botros S. et al. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 60. C. 57–63.

142. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности. *Журнал АН СССР*. 1979. Т. 247, № 6. С. 1513–1516.

143. Саліонов В. О. Протигрибкова та протимікробна активність 3-алкілтіо-4-R-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-тріазолів. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук* : матеріали III регіональної наук.-практ. конф. студентів, аспірантів та молодих учених з всеукр. участю. Запоріжжя, 2014. С. 201–202.

144. Саліонов В. О. Синтез, фізико-хімічні властивості та дослідження гострої токсичності похідних 1,2,4-тріазолу, які містять ядро тіофену. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2015. Т. 19, № 3. С. 19–24.

145. Саліонов В. О. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 5-тієніл-4-(алкіл,-арил)-1,2,4-тріазол-3-тіонів. : дис. ... канд. фарм. наук. Запоріжжя, 2016. 312 с.

146. Саліонов В. О., Пругло Є. С. Дослідження аналгетичної активності нових похідних 5-(тіофен-2-іл)-(4-R-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2015* : збірка тез всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 14-15 трав. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 163.

147. Саліонов В. О., Пругло Є. С. Дослідження гіпоглікемічної активності солей 2-(5-(тіофен-2-іл)-4-R-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот. *Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та в країнах ближнього зарубіжжя* : збірник матеріалів міжнародної наук.-практ. конф., 30 лист.-1 груд. 2012 р. К., 2012. С. 94–95.

148. Саліонов В. О., Пругло Є. С. Дослідження гострої токсичності натрій 2-(5-(тіофен-2-іл)-4-R-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату, що проявляє актопротекторну дію. *Сучасні аспекти медицини і фармації – 2014* : збірка тез всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 15-16 трав. 2014 р. Запоріжжя, 2014. С. 191.

149. Саліонов В. О., Пругло Є. С., Вовнянко О. І. Дослідження аналгетичної активності похідних 2-(4-R-5-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот. *Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони*

здоров'я : всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, 26-27 берез. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 91–92.

150. Самелюк Ю. Г., Каплаушенко А. Г. Гостра токсичність 5-(2-, 3-, 4-метоксифеніл, (3,4,5-триметоксифеніл)-)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2015. № 3 (19). С. 57–60.

151. Самелюк Ю. Г., Каплаушенко А. Г. Синтез та фізико-хімічні дослідження гідразидів та іліденгідразидів 2-(5-(4-метоксифеніл),(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот. *Фармац. журн.* 2013. № 4. С. 66–71.

152. Самелюк Ю. Г., Каплаушенко А. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(5-(метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіо)ацетатних кислот та їх естерів. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2013. № 2 (12). С. 125–128.

153. Самелюк Ю. Г., Каплаушенко А. Г., Пругло Є. С. Синтез та актопротекторна активність солей 2-(5-(4-метоксифеніл-(3,4,5-триметоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот. *Запорож. мед. журн.* 2014. № 2. С. 107–111.

154. Сандаков Д. Б. Методика и методология физиологического эксперимента. Материалы для спецкурса : учеб.-метод. пособие для студ. каф. физиологии человека и животных біолог. факультета БГУ. Минск. : БГУ, 2007. 70 с.

155. Саноцкий И. В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. *Медицина*. 1975. 343 с.

156. Сафонов А. А., Книш Є. Г., Панасенко О. І. Протимікробна та протигрибкова дія S-похідних 5-гетерил-4-(R-аміно)-1,2,4,-тріазол-3-тіолів. *Медицина та фармація XXI століття - крок у майбутнє* : тези доп. 72 Всеукр. наук.-практ. конф. Запоріжжя. 2012. С. 221.

157. Сафонов А. А. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 5-гетерил-4R-аміно-1,2,4-триазол-3-тіолів : дис. ... канд. фарм. наук. Запоріжжя, 2014. 195 с.

158. Сафонов А. А., Авраменко А. І. Дослідження фізико-хімічних властивостей солей 1,2,4-триазол-3-ілтїоацетатних кислот. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики*. 2011. Вип. 24, № 2, додаток. С. 184–185.

159. Сафонов А. А., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-герил-4-(арил-, гетериламіно)-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Ліки-людині* : матеріали XXVIII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Х., 2011. С. 126–127.

160. Сафонов А. А., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-R-4-(R1-аміно)-1,2,4-триазол-3-тіолів. *Achievement of High School – 2011* : матеріали за 7-а междунар. научна практична конф., 17-25 Nov. 2011. Софія : «БялГРАД-БГ»ООД, 2011. Т. 28. С. 41–42.

161. Серба П. В., Блинов Ю. Ф., Мирошніченко С. П. Квантово-хімічні розрахунки в програмі Gaussian : учеб. пособие. Таганрог : Изд-во ТТИ ЮФУ, 2012. 100 с.

162. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых пром. веществ*. М., 1973. Вып. 13. С. 45–71.

163. Синтез біологічно активних речовин на основі 5-R-4-R1-1,2,4-триазол-3-тіону та 4-аміно-1,2,4-триазолу / Т. В. Панасенко та ін. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії* : збірка матеріалів міжнар. конф. Запоріжжя, 2007. С. 558–559.

164. Синтез и антидепрессивная активность эфиров 2-(2-бром-1,2,4-триазолил-5-тио)уксусных кислот, содержащих тиэтановый цикл / Э. Е. Клен и др. *Башкирский хим. журн.* 2008. Т. 15, № 4. С. 21–22.

165. Синтез та актопротекторна активність похідних 2-(4-R-3-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-триазол-3-ілтїо)ацетатної кислоти / Саліонов В. О. та ін. *Хімія*

природних сполук : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф., 30-31 жовт. Т., 2012. С. 167.

166. Синтез та біологічна активність іліденгідрозидів 2-(5-R-4(2-метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-іліто)ацетатних кислот / А. С. Гоцуля та ін. *Молодь та перспективи сучасної медичної науки* : матеріали IV міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених. Вінниця, 2007. С. 153.

167. Синтез та біологічна активність похідних 2-(5-R-4-R1-1,2,4-тріазол-3-ілітіо)-ацетальдегіду / Р. О. Щербина та ін. *Сучасні проблеми біології, екології та хімії* : зб. матеріалів II міжнар. конф. Запоріжжя, 2009. С. 164.

168. Синтез та біологічні властивості 4-R-5-R1-4H-1,2,4-тріазол-3-ілітіоацетатних кислот та їх солей / Сафонов А. А. та ін. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики*. 2013. № 2, додаток. С. 236.

169. Синтез та вивчення біологічних властивостей S-похідних 5-R-4-R1-1,2,4-тріазол-3-тіолів / В. Є. Єрохін та ін. *Сучасні аспекти медицини і фармації* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф., 13-14 трав. 2010 р. Запоріжжя, 2010. С. 103.

170. Синтез та вивчення біологічних властивостей S-похідних 5-R-4-R1-1,2,4-тріазол-3-тіону / Р. О. Щербина та ін. *Хімічні проблеми сьогодення* : тези II Всеукр. наук. конф. студентів, аспірантів і молодих учених. Донецьк, 2008. С. 94.

171. Синтез та гепатопротекторна активність похідних 3,5-R-4-((5-нітрофуран-2-іл)метиленаміно- та 3,5-R-4-((5-нітрофуран-2-іл)аліліденаміно)-1-R1-4H-1,2,4-тріазолій галогенідів / Т. С. Британова та ін. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2012. № 2. С. 178–179.

172. Синтез та дослідження в ряду алкіл- та арилсульфонів 5-((індол-3-іл)метил)-4-метил-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолів / Гоцуля А. С. та ін. *Хімія природних сполук* : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф., 30-31 жовт. Т., 2012. С. 155.

173. Синтез фізико-хімічні та біологічні властивості 5-R-1,2,4-тріазол-3-тіону, 4-феніл-5-R-1,2,4-тріазол-3-тіону, 3-моно-(3,5-дибром)-1,2,4-тріазолу та

їх похідних / С. М. Куліш та ін. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики.*, 2006. Вип. XVII. С. 220.

174. Синтез, біологічна активність та фізико-хімічні властивості похідних 2-(4-R-3-(тіофен-2-іл)-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот / В. О. Саліонов та ін. *Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації* : матеріали всеукр. наук.-практ. конф. з міжнародною участю, 25-26 жовт. 2012 р. Луганськ, 2012. С. 353.

175. Синтез, перетворення та фармакологічна активність 4-моно-4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіону / С. М. Куліш та ін. *Лекарства – человеку. Современные проблемы создания, исследования и апробации лекарственных средств* : матеріали конф., 23 мар. 2007 г. Х. : изд-во НФаУ, 2007. С 47–48.

176. Синтез, перетворення, фізико-хімічні властивості 4-алкіл, арил- та 4-амінопохідних 1,2,4-тріазол-3-тіолів із залишками фрагментів фурану / В. В. Парченко та ін. *Запорож. мед. журн.* 2010. Т. 12, № 4. С. 83–87.

177. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості S-заміщених 1,2,4-тріазолу / Р. О. Щербина та ін. *80 Ювілейна наук.-практ. конф. студентів і молодих учених за участю міжнар. спеціалістів.* Івано-Франківськ, 2011. С. 252–253.

178. Синтез, фармакологічні властивості та фізико-хімічні показники аміно- і тіопохідних 1,2,4-тріазолу / С. М. Куліш та ін. *Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів* : тези доп. Л., 2008. С. 78.

179. Синтез, физико-химические и фармакологические свойства 2-(5-R-4-(1-арилметиленденамино)-4H-1,2,4-тріазол-3-ил)тиоуксусных кислот / Н. Б. Саидов та ін. *Науч. ведомости. Сер. Медицина. Фармация.* 2012. № 10 (129). С. 29–33.

180. Синтез, физико-химические свойства и биологическая активность производных 5-R1-4-R2-1,2,4-тріазол-3-тіонов / А. И. Панасенко та ін. *Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю.* Х., 2007. С. 81.

181. Синтез, фізико-хімічні властивості та біологічна активність S-похідних 4-(2-метоксифеніл)-5-метил-1,2,4-тріазол-3-тіону / Ю. М. Кучерявий та ін. *Сучасні та практичні аспекти клінічної медицини* : тези доп. О., 2012. С. 104.

182. Синтез, фізико-хімічні властивості та біологічна активність похідних 5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіонів / О. І. Панасенко та ін. *Хімічні проблеми сьогодення* : тези доп. Донецьк, 2012. С. 100.

183. Синтез, фізико-хімічні властивості та гостра токсичність 2-[5-R-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]-1-арилетанолів / Гоцуля А. С. та ін. *Фармац. журн.* 2010. № 6. С. 32–35.

184. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 3-тіо- і 4-амінопохідних 1,2,4-тріазолу / А. Г. Каплаушенко та ін. *XIV Міжнар. мед. конгрес студентів та молодих вчених.* Т., 2010. С. 291.

185. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіону / В. В. Парченко та ін. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. Х. : НФаУ, 2011. С. 23.

186. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-R-4-R₁-1,2,4-тріазол-3-тіону / Р. О. Щербина та ін. *Фармація України. Погляд у майбутнє* : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України. Х., 2010. Т. 1. С. 119.

187. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / И. В. Воскобойникова и др. *Хим.-фармац. журн.* 2005. Т. 39, № 1. С. 22–28.

188. Тихонов А. И., Ярных Т. Г. Технология лекарств : учеб. для фармац. вузов и ф-тов ; под ред. А. И. Тихонова. Х. : Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2002. 704 с.

189. Фармакологическая коррекция утомления / Ю. Г. Бобков и др. М. : Медицина, 1984. 208 с.

190. Фармакологічна активність бензиліденових похідних 1-ацетат-4-аміно- та 1-ацетат-3,5-диметил-4-аміно-1,2,4-триазолію / Панасенко О. І. та ін. *Ліки*. 1998. № 6. С. 73–75.

191. Фармакологічний скринінг солей 2-(5-R-4-R2-1,2,4-триазоліл-3-тіо)ацетатних кислотна моделі гострогіпоксичного синдрому / В. Д. Лук'янчук, та ін. *Запорозж. мед. журн.* 2008. № 4. С. 127–130.

192. Цирельсон, В. Г. Квантовая химия. Молекулы, молекулярные системы и твердые тела. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. 469 с.

193. Цышевский Р. В., Гарифзянова Г. Г., Храпковский Г. М. Квантово-химические расчеты механизмов химических реакций : учеб.-метод. пособие / Казань : Изд-во КНИТУ, 2012. 88 с.

194. Чернышев В. М., Земляков Н. Д., Таранушич В. А. Синтез 3,5-диалкиламино-1,2,4-триазолов и их 1-ацилпроизводных – потенциальных противораковых препаратов. *Студенческая научная весна - 2004* : материалы науч.-технич. конф. студентов и аспирантов ЮРГТУ (НПИ). Новочеркасск : Изд-во НПО «Темп», 2004. С. 156–157.

195. Щербина Р. О. Аналіз фармакологічної активності похідних 1,2,4-тріазолу. *Фармац. часопис*. 2014. № 4 (32). С. 145–149.

196. Щербина Р. О., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Дослідження протимікробної та протигрибкової активності в ряду S-похідних 3-(морфолінометилен)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-5-тіолів. *Проблеми військової охорони здоров'я* : зб. наук. праць Укр. військово-мед. академії. 2014. № 42. С. 491–495.

197. 1,2,4-Triazole and 1,3,4-oxadiazole analogues: Synthesis, MO studies, in silico molecular docking studies, antimalarial as DHFR inhibitor and antimicrobial activities / Thakkar et. al. *Bioorganic and Medicinal Chem.* 2017. Vol. 25, № 15. P. 4064–075.

198. 1,2,4-triazole derivatives containing 1,4-benzodioxane, and preparation method and antibacterial activity thereof. Patent; Nanjing University; Zhu Hailiang et. al. CN103664910; (2017); (B) Chinese 2017-07-04 2012-09-14 Applicant(s): UNIV NANJING A61P31/04; C07D405/04

199. 1,2,4-triazole thione derivatives and preparation method and application containing (hetero) aryl group and piperazine. Patent; Nankai University; Zhang et. al. CN105330651; (2016); (A) Chinese 2018-05-01 2015-09-17 Applicant(s):NANKAI UNIVERSITY, A01N43/653; A01P3/00; C07D401/14; C07D403/12; C07D405/04; C07D405/14

200. 5-HT₂ ligands in the treatment of anxiety and depression / Gaeil Quesseveur et. al. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. 2012. Vol. 21 (11). P. 1701–25.

201. 5-HT_{2C} receptor agonists and antagonists in animal models of anxiety / Martin G. R. et al. *Eur. Neuropharmacol.* 1995. Vol. 5. P. 209.

202. Al Abdullah E. S. Synthesis and biological testing of new 1-adamantyl derivatives: Submitted in Patrial Fulfillment of the Requirements fort he Ph. D. Degreein Pharmaceutical Sciences «Pharmaceutical Chemistry» in the College of Pharmacy, King Saud University. Riyadh, 2007. 147 p.

203. Alkylated Piperazines and Piperazine-Azole Hybrids as Antifungal Agents. Thamban Chandrika et. al. *J. of Medicinal Chem.* 2018. Vol. 61, № 1. P. 158–173.

204. Ames B. N., Shigenega M. K., Hagen T. M. Oxidants and the degenerative diseases of ageing. *Proc. Nati Acad Sci.* 1993. Vol. 90. P. 7915–7922.

205. Ashok Kumar Singh, Khem Raj Kandel. Synthesis of Triazole derivative: [4-(benzylideneamino)-5-phenyl-4H-1,2,4 – triazole-3-thiol]. *J. Nepal Chem. Soc.* 2012. Vol. 30. P. 174–177.

206. Becke A. D. J. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *Chem. Phys.* 1993. Vol. 98. P. 5648.

207. Berski S., Ciunik L. The mechanism of the formation of the hemiaminal and Schiff base from the benzaldehyde and triazole studied by means of the topological analysis of electron localisation function and catastrophe theory. *Mol. Phys.* 2015. Vol. 113. P. 765–781.

208. Chea B., Giorgi M. Trazodone: A Review of Its Pharmacological Properties and Its Off-Label Use in Dogs and Cats. *American J. of Animal and Veterinary Sciences*. 2017. Vol. 12, is. 4. P. 188–194.

209. Clinical characteristics and pain management among patients with painful peripheral neuropathic disorders in general practice settings / Gore M. Dukes E. et al. *Eur. J. Pain*. 2007. Vol. 11 (6). P. 652–664.

210. Clubbed thiazoles by MAOS: A novel approach to cyclin-dependent kinase 5/p25 inhibitors as a potential treatment for Alzheimer's disease. Shiradkar et. al. *Bioorganic and Medicinal Chem*. 2007. Vol. 15, № 7. P. 2601–2610.

211. Design and synthesis of some new theophylline derivatives with bronchodilator and antibacterial activities. Hayallah et. al. *Archives of Pharmacal Research*. 2011. Vol. 34, № 1. P. 3–21.

212. Design, synthesis and antibacterial activities of 5-(pyrazin-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives containing Schiff base formation as FabH inhibitory. Zhang Fei et. al. *Bioorganic and Medicinal Chem. Letters*. 2014. Vol. 24, № 1. P. 90–95.

213. Devasagayam T. P., Kesavan P. C. Radioprotective and antioxidant action of caffeine: mechanistic considerations. *Indian J. Exp Biology*. 1996. Vol. 34 (4). P. 291–297.

214. Efficient synthesis and insecticidal activity of novel pyridine-3-yl-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles / Qun Qian et al. *Monatsh. Chem*. 2013. Vol. 144, is. 2. P. 231–136.

215. El Shehry M. F., Abu-Hashem A. A., El-Telbani E. M. Synthesis of 3-((2,4-dichlorophenoxy)methyl)-1,2,4-triazolo(thiadiazoles and thiadiazines) as anti-inflammatory and molluscicidal agents. *Eur. J. Med. Chem*. 2010. № 45. P. 1906–1911.

216. Evans P., Halliwall B. Free radicals and hearing *Ann N Y Acad Sci*. 1999. Vol. 28 (884). P. 19–40.

217. Facile synthesis of some novel triazolo[3,4-b]thiadiazines and triazolo[4,3-b]tetrazines. Abdelrazek Fathy M. et. al. *Synthetic Communications*. 2018. Vol. 48, № 1. P. 32–37.

218. Facile synthesis, characterization and pharmacological activities of 3,6-disubstituted 1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles and 5,6-dihydro-3,6-disubstituted-1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazoles. Chidananda et. al. *Europ. J. of Medicinal Chem.* 2012. Vol. 51. P. 124–136.

219. Fatih Islamoglu, Bahittin Kahveci. Determination of the pKa of Some Triazole Derivatives by the Potentiometric Method in Dioxan-Water Mixtures. *Oriental J. of Chem.* 2011. Vol. 27, № 4. P. 1451–1456.

220. Favre Henri A., Powell Warren H. Nomenclature of Organic Chemistry. IUPAC Recommendations and Preferred Name 2013. Cambridge, UK : The Royal Society of Chemistry, 2013. 1568 p.

221. Flyer vario EL cube [Электронный ресурс]. Режим доступа : https://www.elementar.de/fileadmin/user_upload/Elementar_Website/Downloads/Flyer/Flyer-vario-EL-cube-EN.pdf

222. Fragment-Based Discovery of Dual JC Virus and BK Virus Helicase Inhibitors / Bonafoux Dominique et al. *J. of Medicinal Chem.* 2016. Vol. 59, № 15. P. 7138–7151.

223. George B., Parimelazhagan T., Saravanan S. Anti-inflammatory, Analgesic and Antipyretic Properties of *Rubus niveus* Thunb. *Chandran. Pharmacologia*. 2013. Vol. 4 (3). P. 228–235.

224. Green synthesis and evaluation of the antitumor activity of a novel series of 3-[4-bis-(4-fluorophenyl)methylpiperazinyl]-4-amino-5-thione-1,2,4-triazole Schiff bases / Yong Ding et al. *Res. Chem. Intermed.* 2015. Vol. 42, № 4. P. 3105–3116.

225. Haggam R. A. Heterocyclization and functionalization of 1,2-bis-(4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl)benzene [Электронный ресурс]. *Res. Chem. Intermed.* Режим доступа : <http://link.springer.com/article/10.1007/s11164-013-1259-0>.

226. Haggam R. A. Heterocyclization and functionalization of 1,2-bis(4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl)benzene. *Res. Chem. Intermed.* 2015. Vol. 41, is. 2. P. 1135–1148.

227. Haggam R. A. Synthesis and cyclization of some 1,2-bis-(4-amino-5-mercapto-1,2,4-triazol-3-yl)-ethane derivatives under conventional and microwave conditions: antimicrobial activity. *Res. Chem. Intermediates.* 2016. Vol. 42, is. 10. P. 7313–7328.

228. Herchel Radovan, Pavelek Lubomir, Travnicek Zdenek. Synthesis, Antimicrobial and Pharmacological Evaluation of Thioureaderivatives of 4H-1,2,4-triazole. *Dalton Transactions.* 2011. Vol. 40, № 44. P. 11896–11903.

229. Hinojosa-Laborde Carmen, Jespersen Brian, Shade Robert. Physiology Lab Demonstration: Glomerular Filtration Rate in a Rat. *J. of Visualized Experiments.* 2015. Vol. 101. P. 52425.

230. Hoggarth E. 2-Benzoyldithiocarbazine acid and related compounds. *J. of the Chemical Society.* 1952. P. 4811–4817.

231. Holm M., Schollmeyer D., Laufer S. 3-(2-Fluorophenyl)-6-(phenoxy-methyl)-1,2,4-triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole. *Acta Crystallographica Section E.* 2008. Vol. 12 (Pt 4). P. o700.

232. Kamble Udaykumar V., Patil Sangamesh A., Badami Prema S. DNA cleavage and antimicrobial studies of 17-membered schiff base macrocyclic triazoles: synthesis and spectroscopic approach. *J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chem.* 2010. Vol. 68, № 3-4. P. 347–358.

233. Khalil Nasser S. A. M. Efficient synthesis, structure and antimicrobial activity of some novel N- and S- β -d-glucosides of 5-pyridin-3-yl-1,2,4-triazoles. *Carbohydr. Res.* 2006. Vol. 341, № 13. P. 2187–2199.

234. Klevens H. B., Plat J. R. Spectral resemblances of catacondensed hydrocarbons. *J. Chem. Phys.* 1949. Vol. 17, № 5. P. 470–481.

235. Kovacic P., Abadjian M.-C. Z. Mechanism of Antifungal Triazoles and Related Drugs: Electron Transfer, Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress. *SOJ Microbiology & Infectious Diseases.* 2017. № 5 (5). P. 1–9.

236. Kovacic P., Somanathan R., Abadjian M-CZ. Naturalmonophenols as therapeutics, antioxidants and toxins;electron transfer, radicals and oxidative stress. *NatProducts J.* 2015. Vol. 5. P. 142–151.

237. Lee C., Yang W., Parr R. G. Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density. *Phys. Rev.* 1988. Vol. 37. P. 785.

238. Liu X.-H., Weng J.-Q., Tan Ch.-X. Synthesis, Crystal Structure, and Fungicidal Activity of 5-(4-cyclopropyl-5-((3-Fluorobenzyl) thio)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)-4-methyl-1,2,3-thiadiazole. *J. Chem.* 2013. Vol. 28. P. 1–5.

239. Lokesh Kumar, Aeshna Amin, Arvind Bansal. Salt selection in drug development. *Pharmaceutical Technology.* 2008. March. P. 128–146.

240. Material safety data sheet [электронный ресурс]. Режим доступа : <https://www.caymanchem.com/msdss/70680m.pdf>

241. Megally Abdo N. Y., Kamel M. M. Synthesis and Anticancer Evaluation of 1,3,4-Oxadiazoles, 1,3,4-Thiadiazoles,1,2,4-Triazoles and Mannich Bases. *Chem. Pharm. Bull.* 2015. Vol. 63, № 5. P. 369–376.

242. Microbiologically active Mannich bases derived from 1,2,4-triazoles. The effect of C-5 substituent on antibacterial activity / T. Plech et al. *Med. Chem. Res.* 2012. № 22. P. 2531–2537.

243. Microwave-assisted synthesis and antibacterial activity of derivatives of 3-[1-(4-fluorobenzyl)-1*H*-indol-3-yl]-5-(4-fluorobenzylthio)-4*H*-1,2,4-triazol-4-amine/ Yong-Le Peng et al. *Chem. Papers.* 2014. Vol. 68 (3). P. 401–408.

244. Microwave-assisted synthesis and biological activity of new Schiff bases derived from dimers of 4-amino-3-[3-(1-benzyl)indole]-5-thiomethyl-1,2,3-triazole / Yongle Peng et al. *Res. Chem. Intermed.* 2013. № 39. P. 1897–1905.

245. Nephroprotective action of tocotrienol-rich fraction (TRF) from palm oil against potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)-induced acute renal injury in rats / Mohd. Rashid Khanet. et. al. *Chemico-Biological Interactions.* 2010. Vol. 186, is. 2. P. 228–238.

246. New 6-amino-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines and [1,2,4]triazolo[3,4-b] [1,3,4]thiadiazin-6-ones: Synthesis, characterization and antibacterial activity evaluation. Almajan Gabriela Laura et. al. *Eur. J. of Medicinal Chem.* 2010. Vol. 45, № 7. P. 3191–3195.

247. New pyrazole derivatives containing 1,2,4-triazoles and benzoxazoles as potent antimicrobial and analgesic agents / Vijesh et. al. *Eur. J. of Medicinal Chem.* 2013. Vol. 62. P. 410–415.

248. Novel triazole alcohol antifungals derived from fluconazole: design, synthesis, and biological activity / S. M. Hashemi et al. *Mol. Divers.* 2015. Vol. 19 (1). P. 15–27.

249. Odyntsova V. M., Pruglo Ye. S. Synthesis, physico-chemical properties and the study of anti-hypoxemic activity of alkylderivatives 5-(adamantane-1-yl)-4-R-1,2,4-triazole-3-thion. *Запорож. мед. журн.* 2015. № 2. С. 93–96.

250. One-pot synthesis of novel isoindoline-1,3-dione derivatives bearing 1,2,4-triazole moiety and their preliminary biological evaluation / Zhao Pei-Lianget. al. *Eur. J. of Medicinal Chemistry.* 2012. Vol. 54. P. 813–822.

251. Parchenko V. V., Panasenko O. I., Knysh E. G. Synthesis, physical and chemical properties of some derivatives 1,2,4-triazolo-(3,4-b)-1,3,4-thiodiazine with residue of fragments of furan. *Intellectual Arch.* 2012. Vol. 1, № 7. P. 63–72.

252. Parker R. S. Dietary and biochemical aspects of Vitamin E. *Adv food nutr res.*, 1980. Vol. 33. P. 157–232.

253. Pat. US20120148463A1, B01D53/40; C09K3/00. Absorbent solution containing a degradation inhibitor derived from a triazole or from a tetrazole and method of absorbing acid compounds contained in a gaseous effluent Abstract. заявл. 31.07.09 ; опубл. 14.06.12.

254. Pat. WO2010149758 A1, IPCA01N43/653, A61K31/4196, A61P35/00, A61P31/12, C07D249/12, A61P31/10. Antifungal 1, 2, 4-triazolyl derivatives / J. Dietz et al. PCT/EP2010/059037 ; заявл. 24.06.10 ; опубл. 29.12.10.

255. Patil S., Jolly C. I., Narayanan S. Free radical scavenging activity of acacia catechu and *Rotula aquatica*: implications in cancer therapy. *Indian drugs*. 2003. Vol. 40. P. 328–332.

256. Peterhans E. Oxidants and antioxidants in viral diseases; disease mechanisms and metabolic regulation. *J. Nutr.* 1997. Vol. 127. P. 962–965.

257. Planning, synthesis, and pharmacological activity of alkyl derivatives of 3-mercapto-4-phenyl-5-arylamino-methyl-1,2,4-triazole-(4H) / N. B. Saidov et al. *Pharm. Chem. J.* 2014. Vol. 47, № 11. P. 581–585.

258. Porsolt R. D., Berlin A., Jalfre M. Behavioural despair in mice: A primary screening test for antidepressants. *Arch. Intern. Pharmacodyn. Ther.* 1977. Vol. 229. P. 327–336.

259. Pruglo Ye. S. Synthesis, physical and chemical properties and anxiolytic activity of 2-(4-(R-arylideneamino)-5-methyl-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acids and their salts. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2018. №3 (13). P. 19-25.

260. Radwan A. A., elTahir K. E. H. Synthesis and in-silico studies of some diaryltriazole derivatives as potential cyclooxygenase inhibitors. *Arch. Pharm. Res.* 2013. N 36. P. 553–563.

261. Rajesh D. H., Satyanarayana D. One pot synthesis of 3-(substituted phenoxy-methyl)-6-phenyl/substituted phenoxy-methyl-1,2,4-triazolo[3,4-B][1,3,4]-thiadiazole derivatives as antimicrobial agents. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2012. № 3 (4). P. 183–192.

262. Ramaprasad G. C., Balakrishna Kalluraya, Sunil Kumar B. Microwave-assisted synthesis of triazolothiadiazole analogs as anticancer agents. *Med. Chem. Res.* 2014. № 23. P. 3644–3651.

263. Regioselective reaction: Synthesis, characterization and pharmacological activity of some new Mannich and Schiff bases containing sydnone / Nithinchandra et. al. *Eur. J. of Medicinal Chem.* 2012. Vol. 54. P. 597–604.

264. Reid Jack R., Heindel Ned D. Improved syntheses of 5-substituted-4-amino-3-mercapto-(4H)-1,2,4-triazoles. *J. of Heterocyclic Chem.* 1976. Vol. 13, is. 4. P. 925–926.

265. Sahu J. K., Ganguly S., Kaushik A. Triazoles: A valuable insight into recent developments and biological activities. *Chinese J. of Natural Medicines*. 2013. Vol. 11 (5). P. 456–465.

266. Shenoy R., Shirwaikar A. Anti-inflammatory and free radical scavenging studies of *Hyptis suaveolens* (labiateae). *Indian drugs*. 2002. Vol. 39. P. 574–577.

267. Shrestha Sanjib K., Garzan Atefeh, Garneau-Tsodikova Sylvie. Novel alkylated azoles as potent antifungals. *Eur. J. of Medicinal Chem.* 2017. Vol. 133. P. 309–318.

268. Siddiqui Shadab Miyan, Salahuddin Attar, Azam Amir. Thiosemicarbazone fragment embedded within 1,2,4-triazole ring as inhibitors of *Entamoeba histolytica*. *Bioorg. and Medic. Chem. Letters*. 2012. Vol. 22, № 8. P. 2768–2771.

269. Sies H., Stahl W. Withania somnifera, vitamin E and C, [beta]-carotene and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin nutr.* 1995. Vol. 62. P. 1315–1321.

270. Some novel Schiff bases of [1,2,4]triazole bearing haloarene moiety-synthesis and evaluation of antituberculosis properties and neutrophil function test / Castelino Prakash Anil et. al. *Medicinal Chem. Research*. 2016. Vol. 25, № 1. P. 83–93.

271. SOMP: web server for in silico prediction of sites of metabolism for drug-like compounds / A. Rudiket. al. *Bioinformatics*. 2015. Vol. 31, is. 12. P. 2046–2048.

272. Stereoselective synthesis of novel thioglycosyl heterocycles / El Ashry El Sayed H. et. al. *J. of Molecular Structure*. 2018. Vol. 1152. P. 87–95.

273. Studying synergism of methyl linked cyclohexyl thiophenes with triazole: Synthesis and their cdk5/p25 inhibition activity / Shiradkar Mahendraet. al. *Eur. J. of Medicinal Chemistry*. 2011. Vol. 46, № 6. P. 2066–2074.

274. Synthesis and Antibacterial Activity of 3,6-Diaryl-7H-[1,2,4]Triazolo[3,4-b][1,3,4]Thiadiazines / M. A. Iradyan al. *Pharm. Chem. J.* 2016. Vol. 50, № 1. P. 10–15.

275. Synthesis and antibacterial activity of 5-Thiomethylfuran-2-carboxylic acid derivatives / M. A. Iradyan et al. *Pharm. Chem. J.* 2014. Vol. 48, № 3. P. 153–154.

276. Synthesis and Antibacterial Activity of Novel 5,5'-(Pyridine-2,6,-Diyl)bis(4-Arylideneamino-3-Mercapto-1,2,4-Triazole) Derivatives / Haihua Xiao et al. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2013. № 172. P. 2188–2196.

277. Synthesis and antibacterial activity of some new pyridinyl/quinazoliny/azetidiny/thiazolidinonyltriazoles / Indi Singh et al. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2010. Vol. 1, № 1. P. 1–17.

278. Synthesis and Anticonvulsant Activities of Some Triazolothiadiazole Derivatives / Deng Xian-Qing et. al. *Archiv der Pharmazie.* 2012. Vol. 345, № 7. P. 565–573.

279. Synthesis and Anticonvulsant Activity Evaluation of 6-phenyl-7H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazines / Song Ming-Xia et. al. *Letters in Drug Design and Discovery.* 2011. Vol. 8, № 9. P. 769–773.

280. Synthesis and antifungal potential of 1,2,3-triazole and 1,2,4-triazole thiol substituted strobilurin derivatives / Preeti M. Chaudhary et al. *Ind. J. Chem.* 2015. Vol. 54 B. P. 908–911.

281. Synthesis and Anti-HIV Evaluation of Novel 1,2,4-triazole Derivatives as Potential Non-nucleoside HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors / Li Zhenyue et. al. *Letters in Drug Design & Discovery.* 2013. Vol. 10, № 1. P. 27–34.

282. Synthesis and anti-inflammatory activity, and QSAR study of some Schiff bases derived from 5-mercapto-3-(4'-pyridyl)-4H-1,2,4-triazol-4-yl-thiosemicarbazide / Harshita Sachdeva et al. *Med. Chem. Res.* 2013. Vol. 22, is. 10. P. 4953–4963.

283. Парченко В. В. «Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості в ряді 5-фурилзаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіонів» : дис. ... докт. фармац. наук. Запоріжжє, 2014. 361 с.

284. Synthesis of 3-methyl-6-r-6h-thiazolo-[4,3-b]-1,2,4-triazolo[4,3-d]-1,3,4-thiadiazoles / Kukaniev M. A. et al. *Chem. Heterocycl. Compounds.* 2010. № 46 (5). P. 605–607.

285. Kaldrikyan M. A., Melik-Oganjanyan R. G., Aresnyan F. H. Synthesis and antitumor activity of 5-methylbenzofuryl-substituted 1,2,4-triazoles and triazoline-5-thiones. *Pharm. Chem. J.* 2013. № 47 (4). P. 191–194.

286. Shaterian H. R. Preparation of 7-amino-1,3-dioxo-1,2,3,5-tetrahydropyrazolo [1,2-a][1,2,4]triazole using magnetic Fe₃O₄ nanoparticles coated by (3-aminopropyl)-triethoxysilane as catalyst. [Electronic resource] *Res. Chem. Intermed.* 2013. Режим доступу : 10.1007/s11164-013-1184-2.

287. Synthesis and biological activity of substituted 6-alkyl(6H)-3-phenyl-1,2,4-triazolo[3,4-b]-1,3,4-thiadiazines / Iradyan M. A. et al. *Pharm. Chem. J.* 2010. № 44 (8). P. 413–417.

288. Synthesis of heterocycles from arylation products of unsaturated compounds: XVIII. 5-Arylfuran-2-carboxylic acids and their application in the synthesis of 1,2,4-thiadiazole, 1,3,4-oxadiazole, and [1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazole derivatives / Gorak Yu. I. et al. *Rus. J. Org. Chem.* 2009. № 45 (4). P. 541–550.

289. Actoprotective activity of the 2-(4-R-3-(thiophen-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid derivatives / Salionov V. O. et al. *Zaporozh. med. Zhurnal.* 2013. № 4. P. 51-53.

290. The acute toxicity study of 2-(4-R-5-R1-1,2,4-triazole-3-thio) acetic acid salts and 4-R-5-R1-1,2,4-triazole-3-thione derivatives / Pruglo Ye. S. et al. *Drugs for people : XXVIII conference materials.* 2011. P. 341-344.

291. Бігдан О. А., Парченко В. В. Фізико-хімічні властивості-S-похідних 5-(3-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолу. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2017. Т 10. № 2 (24). P. 135-140.

292. Дослідження реакції гетероциклізації 3 тіо- та 3-тіо-4-амінопохідних 1,2,4-тріазолу / О. А. Бігдан та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2016. Т. 1. № 1. С. 90-98.

293. О. А. Бігдан, В. В. Парченко, Синтез та фізико-хімічні властивості деяких похідних 5-(3-фторфеніл)-4-метил-1,2,4-тріазол-3-тіолу / *Фармацевтичний журнал.* 2017. № 2. С. 38-47.

294. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі похідні 5-(3-фторфеніл)-4-метил - 1,2,4-тріазол-3-тіолу – основа пошуку біологічно активних сполук. *Теоретичні та прикладні аспекти розвитку науки* : III Міжнародна науково-практична конференція, 6-7 груд. К., 2017. С.10.

295. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічна модифікація та фізико-хімічні властивості 3,4,5-тризаміщених 1,2,4-тріазолів. *Проблеми та досягнення сучасної хімії* : XXI науково молодіжна конференція, 7-8 трав. О., 2020 . С.11.

296. Бігдан О. А., Парченко В. В. Нові 5-(2-, 3-,4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіопохідні–потенційні біологічно активні сполуки. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : VII Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю. Х., 2018. Вип. 5. С. 49-51.

297. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі аспекти вивчення властивостей нових фторфенілпохідних 1,2,4-тріазолів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019* : науково-практична конференція з міжнародною участю молодих вчених та студентів, 13-17 трав. Запоріжжя, 2019. С. 137-138

298. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження фізико-хімічних та біологічних властивостей нових похідних 5-(2-,3-,4-фторфеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіолів. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : III Міжнародна науково-практична конференція, 14-15 берез. Х., 2019. Т. 2. С. 49-50.

299. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічні перетворення та біологічна активність 3-,4-,5-заміщених 1,2,4-тріазолу. *Сучасний рух науки* : X міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 2-3 квітня. Дніпро, 2020. Т. 1. С.107-108.

300. Gaussian 09, Revision A.02, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young, F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G.

Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian, Inc., Wallingford CT, 2016.

301. GaussView 5 Reference. / Frisch Æ. et al. Gaussian Inc., Wallingford CT, 2009.

302. Tirado-Rives J., Jorgensen W. L. Performance of B3LYP Density Functional Methods for a Large Set of Organic Molecules *J. Chem. Theory and Comput.* 2008. № 4 (2). P. 297–306.

303. 6-31G* basis set for third-row atoms / Rassolov V. A. et al. *J. Comp. Chem.* 2001. Vol. 22, Iss. 9. P. 976-984.

304. Caricato M. Exploring Potential Energy Surfaces of Electronic Excited States in Solution with the EOM-CCSD-PCM Method. *J. Chem. Theory and Comput.* 2012. № 8 (12). P. 5081-5091.

305. Density functional study on the structural conformations and intramolecular charge transfer from the vibrational spectra of the anticancer drug combretastatin-A2 / Padmaja L. et al. *J. Raman Spect.* 2009. Vol. 40, Iss. 4. P. 419-428.

306. Sagdinc S., Pir H. Spectroscopic and DFT studies of flurbiprofen as dimer and its Cu(II) and Hg(II) complexes. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* 2009. Vol. 73, Iss. 1. P. 181-194.

307. Parchenko V. V., Panasenko O. I., Knysh Ye. G. Physical-chemical properties and acute toxicity of 3-acylalkylthio-1,2,4-triazole derivatives. *Farmaceutychny chasopys.* 2007. № 2 (2). P. 49-53.

308. Studying of the 5-(furan-2-yl)-4-R1-1,2,4-triazole-3-thions S-derivatives influence on kidney functions / Parchenko V. V. et al. *Zaporizkyi medychnyi zhurnal.* 2007. № 6. P. 117-119.

309. Synthesis, physico-chemical properties and anticonvulsant activity of 2-[5-(furan-2-yl)-4- R_1 -1,2,4-triazole-3-ylthio]-1-aryletanones / Parchenko V. V. et al. *Aktualni pytannia farm. ta med. nauky ta praktyky*. 2007. № 20. P. 150-154.

310. Parchenko V. V. Antiviral activity of 1,2,4-triazole derivatives. *Farmacevtychnyi zhurnal*. 2011. № 3. P. 49-53.

311. Antiviral activity of 2-[5-(furan-2-yl)-4- R -1,2,4-triazole-3-ylthio]acetic acid salts / Parchenko V. V. et al. *Farmacevtychnyi zhurnal*. 2008. № 6. P. 79-85.

312. Piperidiniy 2-[5-(furan-2-yl)-4-fenil-1,2,4-triazole-3-ylthio]acetate which shows antiviral activity against chicken embryos viruses / Parchenko V. V. et al. *Zaporizhyan medical journal*. 2009. № 1. P. 97-98.

313. Inflammatory activity of 5-(furan-2-yl)-4- R -1,2,4-triazole-3-thione S-derivatives / Parchenko V. V. et al. *Zaporizkyi medychnyi zhurnal*. 2009. № 11 (4). P. 100-102.

314. Бігдан О. А., Парченко В. В. Деякі перетворення похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4- R_1 -1,2,4-тріазол-3-тіолу, фізико-хімічні властивості сполук. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : IV Міжнародна науково-практична конференція, 12-13 берез. Х., 2020. Т. 2. С.137.*

315. Бігдан О. А., Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості нових 5-гетерил-4- R -1,2,4-тріазол-3-тіолів. *Актуальні задачі хімії: дослідження та перспективи : IV Всеукраїнська наукова конференція, 29 квіт. Житомир, 2020. С. 167.*

316. Бігдан О. А. Фізико-хімічні властивості 2-((5-(3-, 4-фторфеніл)-4- R_2 -1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів та їхніх відновлених систем. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 116-122.

317. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Chemical modification and Physicochemical properties of new derivatives 5-(thiophen-3-ilmethyl)-4- R_1 -1,2,4-triazole-3-thiol. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2021. № 14 (9). P. 4621-9.

318. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження фізико-хімічних властивостей карбонільованих похідних 1,2,4-триазолу та відновлених систем. *Науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України*, 19-20 верес. Х., 2019. Т. 1. С. 20-21.

319. Бігдан О. А., Парченко В. В. Хімічна модифікація 1-*r*2-2-((4-*r*1-5-(тіофен-3-ілметил)-1,2,4-триазол-3-іл)тіо)етанолів, фізико-хімічні властивості сполук. *Current trends in pharmaceutical chemistry and standardization of medicines* : науково-практична конференція з міжнародною участю, 25-26 трав. Т., 2021. С. 18-19.

320. Бігдан О. А., Парченко В. В. Фізико-хімічні властивості та хімічна модифікація деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-*R*₁-1,2,4-триазол-3-тіола. *Фундаментальна наука у сучасній медицині – 2020* : міжнародна науково-практична конференція молодих науковців, 05-12 січ. Мінськ, 2020. С. 264-268.

321. Effect of physicochemical parameters on the stability and activity of garlic alliinase and its use for in-situ allicin synthesis / Janska P. et al. *PLOS ONE*. 2021. Vol. 16, № 3. P. e0248878.

322. Metabolithotropic aspects of cardioprotective action of new combined medicine based on l-arginine and thiotriazolin at modeling of myocardial infarction / Kucherenko L. I. et al. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol. 10, № 10. С. 158–161.

323. Glutathione as a Marker for Human Disease / Teskey G. et al. *Advances in Clinical Chemistry*. 2018. Vol. 87. С. 141–159.

324. Abe Yasuo, Nakabayashi Takeshige, Tsurugi Jitsuo. The Preparation of N-(Alkylthio)- and N-(Arylthio)succinimides, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2006. Vol. 46, № 6. С. 1898–1899.

325. Hunter R., Caira M., Stellenboom N. Inexpensive, one-pot synthesis of unsymmetrical disulfides using 1-chlorobenzotriazole. *Journal of Organic Chemistry*. 2006. Vol. 71, № 21. P. 8268–8271.

326. Neuroprotective activity of the 1,2,4-triazole S-derivatives / Sherbyna R. O. et al. *Zaporizkyi medychnyi zhurnal*. 2011. № 13 (1). P. 94-97.

327. <https://compendium.com.ua/>

328. <https://fortis-combi.com/>

329. Бігдан О. А., Парченко В. В. Пошук біологічно активних сполук серед нових водорозчинних похідних 4-R-5-(2-, 3-, 4-фторфеніл)-1,2,4-триазол-3-тіонів. *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича*, 12-13 квіт. Х., 2018. С.17.

330. Bigdan O. A. Toxicity of Substance ВКР-115 on Rats and Mice of Both Sexes at Long Term Intra gastric Introduction. *Archives of Pharmacy Practice*. 2021. Vol. 12, is. 2. 2021. P. 6-11.

331. Test of antimicrobial activity of morpholine 2-(5-(3-fluorophenyl)-4-amino-1.2.4-triazol-3-ylthio)acetate(ВКР-115) by experimental model of pancreatitis in rats / Bihdan O. A. et al. *Ukrainian journal of Ecology*. 2020. № 10 (3). P. 201-207.

332. Мартинишин В. П. Фармако-токсикологічна оцінка та лікувальна ефективність препарату на основі S-похідної 1,2,4-триазолу за дерматомікозів у собак : дис. ... доктора філософії. Л., 2020. 150 с.

333. <https://www.organic-chemistry.org/namedreactions/steglich-esterification.shtm>

334. <https://studopedia.com.ua/>

335. <https://www.teamsuprema.com.ua/akrilamid-potencijna-nebezpeka-shho-maye-kontrolyuvatisya/>

336. <https://stud.com.ua/154603/prirodoznavstvo/amidi>

337. Bihdan O. A., Parchenko V. V. 1,2,4-Triazole derivatives with halogen substituted fragments, their synthesis, modification and biological properties; review article. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (1). P. 22-29.

338. Фармакологічні аспекти застосування фуранпохідних 1,2,4-тріазол-3-тіолів / О. А. Бігдан и др. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2016. № 3. С. 98-102.

339. Studying of physico-chemical properties of 5-(2-,3-fluoro-phenyl)-4-((aryl-,geteryl)yliden)amino-1,2,4-triazole-3-thiols and any of their retrieval products / О. А. Бігдан et al. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2019. № 10 (1). P. 464-474.

340. Bihdan O. A., Parchenko V. V. Some aspects of synthesis 3-(2-florphenyl)-6-R₁-[1,2,4]triazol[3,4-b][1,3,4]thiadiazole and 3-(2-, 3-ftorphenyl)-6-R₂-7H[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]tiadiazines. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (3). P. 463-470.

341. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження синтезу та деяких біологічних властивостей нових біциклічних похідні 1,2,4-тріазолів із фторфенільними замісниками. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, 30 трав. Запоріжжя, 2018.

342. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2740/amini>

343. <https://www.epravda.com.ua/projects/farmak/2020/04/1/658687/>

344. <http://ukrexport.gov.ua/ukr/prom/ukr/26.html>

345. Бігдан О. А. Аналіз залежності між прогнозованою біологічною активністю та хімічною структурою S-похідних 5-(5-бромфуран-2-іл)-4R-1,2,4-тріазол-3-тіолів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т 14, № 2 (36). С. 167-172.

346. Молекулярний докінг і біодоступність S-алкіл похідних 5-(3-флуорофеніл)-, 5-(5-бромфуран-2-іл)- та 5-(((3-(піридин-4-іл)-1H-1,2,4-тріазол-5-іл)тіо)метил)-4-метил-4H-1,2,4-тріазолів in silico методами / О. А. Бігдан та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т 13. № 1 (31). С. 38-45.

347. Antimicrobial Activity of Some Furans Containing 1,2,4-Triazoles / Zazharskyi V. et al. *Archives Of Pharmacy Practice*. 2021. № 12 (2). P. 60-65.

348. Synthesis, structure, physicochemical properties and antibacterial activity of 1,2,4-triazoles-3-thiols and furan derivatives / Zazharskyi V. et al. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2019. № 6. P. 74-82.

349. Physicochemical properties of new S-derivatives of 5-(5-bromofuran-2-yl)-4-methyl-1,2,4-triazol-3-thiols / Zazharskyi V. et al. *Voprosy Khimii i Khimicheskoi Tekhnologii*. 2020. № 6. P. 50-58.

350. Бігдан О. А., Парченко В. В. Фізико-хімічні та біологічні властивості деяких фторфеніл- та тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазолів. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів* : V Міжнародна дистанційна науково-практична конференція, 11-12 берез. Х., 2021. С. 233.

351. Бігдан О. А. Пошук біологічно активних сполук серед нових 5-гетерилвмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Шляхи розвитку науки в сучасних кризових умовах* : II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції, 3-4 черв. Дніпро, 2021. С. 178-179.

352. Бігдан О. А. Перспективні аспекти пошуку нових біологічно активних молекул серед тіофен-3-ілвмісних 1,2,4-триазол-3-тіолів. *Розвиток освіти, науки та бізнесу: результати 2021* : Міжнародна науково-практична інтернет-конференції, 6-7 груд. Дніпро, 2021. С. 57-58.

353. Бігдан О. А., Парченко В. В. Гостра токсичність 3-(2-,3-фторфеніл)-6-(арил-, гетерил)-[1,2,4]тріазол[3,4-b][1,3,4]тіадіазолів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. Т. 10, № 3 (25). С. 316-319.

354. Бігдан О. А. Протимікробна та протигрибкова активність нових фторфенілвмісних 1,2,4-триазолів. *Фармацевтичний журнал*. 2021. Т. 76, № 2. С. 87-93.

355. Influence of 3-(3-fluorophenyl)-6-(4-methoxyphenyl)-7H-[1,2,4]-triazolo-[3,4-b][1,3,4]tiadiazin on the cultural properties of pathogenic mycobacterium bovis / Bihdan O. et al. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2018. № 9 (6). P. 166-170.

356. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of some 1,2,4-triazole derivatives with potential tuberculostatic and tuberculocidal ability in vitro / V. V. Zazharskyi et al. *Ukrainian journal of Ecology*. 2020. 10 (6). С. 145-159.

357. 3-(3-Флуорофеніл)-6-(4-метоксифеніл)-7Н-[1,2,4]триазоло[3,4-b][1,3,4]тіадіазін, що проявляє протитуберкульозну активність / Зажарський В. В. та ін. Пат. 120228 Україна, МПК С07D 249/00, С07D 285/00, А61К 31/00, А61Р 31/06 № а 2018 06789 ; заявл. 15.06.18 ; опубл. 25.10.19, Бюл. № 12.

358. Вивчення протитуберкульозної активності 5-(2-,3-фторфеніл)-4-((арил, гетери)ілліденов)аміно-1,2,4-тріазол-3тіолів.Fourth / Бігдан О. А. та ін. *Annual BTRP Ukraine Regional One Health Research Symposium*, 20-24 трав. К., 2019.

359. AAT Bioquest, Inc. (2021, November 30). Quest Graph™ IC50 Calculator (v.1)". Retrieved from <https://www.aatbio.com/tools/ic50-calculator>

360. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Isoniazid / Becker C. et al. *J. Pharm. Sci.* 2007. № 96. P. 522–531.

361. Multi-Methodological Quantitative Taste Assessment of Anti-Tuberculosis Drugs to Support the Development of Palatable Paediatric Dosage Forms / Keating A. V. et al. *Pharmaceutics*. 2020. № 12 (4). P. 369.

362. Бігдан О. А. Актопротекторна активність деяких похідних 5-(тіофен-3-ілметил)-4-R1-1,2,4-тріазол-3-тіолу. *Фармацевтичний журнал*. 2020. Т. 75. № 3. С. 80-85.

363. Парченко В. В. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, які містять ядро фурану : дис.... канд. фармац. наук. К., 2006. 207 с.

364. Бігдан О. А. Протисудомна активність 2-((5-(3-,4-фторфеніл)-4-R2-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-1-арилетанонів. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12. № 3 (31). С. 260-265.

365. Книш Є. Г., Панасенко О. І., Парченко В. В. Застосування піперидинію 2-(5-(2-фірил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату як панкрео-

протекторного засобу. Пат України на винахід № 121148, МПК 2012.01 С07D 401/04, С07D 405/04 С07D 249/12, А61К31/4439, а 2018 05003 ; заявл. 07.05.18 ; опубл. 10.04.20, Бюл. № 7.

366. Васильев А. А. Роль и место лапаротомии в хирургическом лечении больных с некротическим панкреатитом. *Український журнал хірургії*. 2011. № 6 (15). С. 50-54.

367. Порчук Ю. Д. Допплерографічний моніторинг перебігу гострого панкреатиту. *Променева діагностика, променева терапія*. 2006. № 1. С. 20-26.

368. Шлапак І. П., Міщенко Д. Л., Титаренко Н. В. Інфузійна терапія як обов'язковий компонент в комплексній терапії хворих на гострий панкреатит. *Укр. хіміотер. журнал*. 2008. № 1-2 (22). С. 65-66.

369. Dynamic nature of organ failure in severe acute pancreatitis: the impact of persistent and deteriorating organ failure / R. B. Thandassery et al. *HPB (Oxford)*. 2013. Vol. 15, № 7. P. 523-528.

370. Predictors of severe and critical acute pancreatitis: A systematic review / C. J. Yang et al. *Dig. Liver Dis*. 2014. Vol. 46, № 5. P. 446-451.

371. Obesity increases the severity of acute pancreatitis: performance of APACHE-O score and correlation with the inflammatory response / G. I. Papachristou et al. *Pancreatology*. 2006. Vol. 6, № 4. P. 279-285.

372. Pezzilli R. Pharmacotherapy for acute Pancreatitis. *Expert Opin. Pharmacother*. 2009. Vol. 18, № 10. P. 2999-3014.

373. Robles L., Vaziri N. D., Ichii H. Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Pancreatitis: Effect of Antioxidant Therapy. *Pancreatic Diseases Therapy*. 2013. Vol. 3, № 1. P. 112.

374. Significant increase of serum high-mobility group box chromosomal protein 1 levels in patients with severe acute pancreatitis / T. Yasuda et al. *Pancreas*. 2006. Vol. 33, № 4. P. 359-363.

375. Хомерики С. Г., Хомерики Н. М., Сафронов В. Г. Фамотидин против окислительного стресса при некоторых заболеваниях пищеварительной системы. *Сучасна гастроентерологія*. 2004. № 5. С. 89-94.

376. Influence of different determination of 1,2,4-triazols on the growth, development and yield of grain Sorghum / Bihdan O. et al. *Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences*. 2019. № 10 (2). P. 1156-1160.

377. Бігдан О. А., Парченко В. В. Дослідження рістстимулюючих властивостей морфоліній 2-((5-(3-фторфеніл)-1,2,4-триазол-4-аміно-3-ілтію)-ацетату). *Сучасний рух науки* : VIII Міжнародна науково-практична інтернет-конференція, 3-4 жовт. Дніпро, 2019. Т. 1. С.115-118.

378. Парченко В. В., Панасенко О. І., Книш Є. Г. Морфоліній 2-((5-(3-флуорофеніл)-4-аміно-1,2,4-триазол-3-ілтію)-ацетат, що проявляє рістстимулюючу активність. Пат. на к/м. 136346 Україна, МПК С07D 249/00, А61К 31/00, № и 2019 02630 ; заявл. 18.03.19 ; опубл. 12.08.19, Бюл. № 15.

379. Теоретическое описание электрохимического определения боевого отравляющего вещества адамсит на композите оксигидрокси кобальта (III)С 1,2,4-триазолами / Бігдан О. А. та ін. *Іноваційні матеріали і технології -2019* : Міжнародна науково-технічна конференція молодих науковців, 09-11 січ. Мінськ, 2019. С. 453-456.

380. Volodymyr V. Tkach, Volodymyr V. Parchenko, Oleksiy A. Bigdan. The theoretical determination of chlorogenic acid on a novel triazolic derivative-modified electrode. *Актуальні Задачі Хімії* : II Всеукраїнська конференція з міжнародною Учасстю. Житомир, 2018. С. 58-59.

381. Adsorption and inhibition mechanism of (Z)-4-((4-methoxybenzylidene)amino)-5-methyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione on carbon steel corrosion in HCl: Experimental and theoretical insights / Merimi I. et al. *Journal of Molecular Structure*. 2021. Vol. 1231. С. 129901.

382. Mohanty A., Kumar S., Tiwari S. K. Assessment of N-(4H-1,2,4-triazol-4-yl)octanamide as hydrochloric acid corrosion inhibitor for mild steel. *Materials Today Communications*. 2021. Vol. 27. С. 102439.

383. The theoretical description of sartan electrochemical determination, assisted by new triazoles, reinforced by a disulfonic organic acid / Tkach V. V. et al. *Appl. J. Envir. Eng. Sci*. 2018. Vol. 4. С. 422–428.

384. The mathematical description for electrochemical determination and retention of heavy metal ions by electropolymerization of Schiff base complex. / Tkach V. V. et al. *Appl. J. Envir. Eng. Sci.* 2019. Vol. 2. C. 113–118.

385. The theoretical description of two heavy metal ions elimination by complex formation and polymerization by novel triazolic Schiff base / Tkach V. V. et al. *Appl. J. Envir. Eng. Sci.* 2019. Vol. 2. C. 162–168.

386. The theoretical description of cathodic pyrrole electrodeposition, assisted by a dichromate of a novel triazolic derivative / Tkach V. V. et al. *Appl. J. Envir. Eng. Sci.* 2018. Vol. 2. C. 7–11.

387. Zhang L., Yang D., Wang L. Electrochemical synthesis of a novel thiazole-based copolymer and its use for the simultaneous determination of dopamine, uric acid and nitrite. *Electrochimica Acta.* 2013. Vol. 111. C. 9–17.

388. Calam T. T. Selective and Sensitive Determination of Paracetamol and Levodopa with Using Electropolymerized 3,5-Diamino-1,2,4-triazole Film on Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis.* 2021. Vol. 33, № 4. C. 1049–1062.

389. Fen G. Ü., Dergisi B., Calam T. T. Elektropolimerize 3,5-Diamino-1,2,4-Triazol Film ile Modifiye Edilmiş Altın Elektrot Yüzeyinde Epinefrinin Voltametrik Tayini ve Elektrokimyasal Davranışı. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology.* 2019. Vol. 7, № 4. C. 985–998.

390. Estradiol effects on spatial memory in women / Patel S. A. et al. *Behavioural Brain Research.* 2022. Vol. 417. C. 113592.

391. Reduced estradiol production by a substituted triazole results in delayed ovulation in rats / Milne C. M. et al. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 1987. Vol. 90, № 3. C. 427–435.

392. A review on determination of steroids in biological samples exploiting nanobio-electroanalytical methods / Yadav S. K. et al. *Analytica Chimica Acta.* 2013. Vol. 762. C. 14–24.

393. Electrochemical determination of estradiol using a thin film containing reduced graphene oxide and dihexadecylphosphate / Janegitz B. C. et al. *Materials*

science & engineering. C, Materials for biological applications. 2014. Vol. 37, № 1. C. 14–19.

394. Sensitive determination of 17 β -estradiol in river water using a graphene based electrochemical sensor / Moraes F. C. et al. *Analytica Chimica Acta.* 2015. Vol. 881. C. 37–43.

395. Base modified on CPE electrode and PCB gold electrode for selective determination of silver ion / Leepheng P. et al. *Journal of Physics: Conference Series.* 2017. Vol. 901, № 1. C. 012080.

396. Schiff base modified screen printed electrode for selective determination of aluminium(III) at trace level / Rana S. et al. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2017. Vol. 239. C. 17–27.

397. <https://docs.dtkk.ua/ru/download/pdf/1078.31397.1>

398. https://www.viconsult.com/ua/tehnichni-umovy-rozrobka-pohodzhennia-ta-reiestratsiia/?gclid=Cj0KCQiA5aWOBhDMARIsAIXLlkfq95MwdHqZ52Rd4IZYFeYglwkuUn4g6pa1RefodkCAFMWIxdN5nQwaAkdAEALw_wcB

399. <http://sert-zetc.lviv.ua/tehnichni-umovy.html>