

СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ТА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВА СОЛЕЙ 2-[4-(2-МЕТОКСИФЕНИЛ)-5-ФЕНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО]АЦЕТАТНОЙ КИСЛОТЫ

Приемец Н.С., Гоцуля А.С.

*Запорожский государственный медицинский университет,
кафедра токсикологической и неорганической химии
г. Запорожье*

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, 2-метоксифенильный радикал, физико-химические свойства.

Резюме: Статья посвящена актуальной на сегодняшний день проблеме поиска новых биологически активных соединений среди производных 1,2,4-триазол-3-тиола. Исследованы реакции получения солей 2-[4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-илтио]ацетатной кислоты. Изучены физические и химические свойства полученных соединений.

Resume: The article is devoted to the issue date, the search for new biologically active compounds including 1,2,4-triazole-3-thiol. The reactions producing salt of 2-[4-(2-methoxyphenyl)-5-phenyl-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetate acid. The physical and chemical properties of the compounds obtained.

Актуальность. Азагетероциклические соединения представляют большой интерес для медицины и фармации [1-8]. Это связано с успешным использованием данной группы органических соединений в качестве лекарственных средств. Среди этой группы веществ особое внимание привлекают производные 1,2,4-триазол-3-тиола, у которых обнаружены различные виды биологической активности [1-4].

Цель: изучение методов синтеза и установление физико-химических свойств солей 2-[4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-илтио]ацетатной кислоты.

Задачи:

- 1) синтезировать исходный 4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-тиол;
- 2) провести реакции алкилирования 4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-тиола с использованием α -хлорацетатной кислоты;
- 3) исследовать реакции получения солей 2-[4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-илтио]ацетатной кислоты с органическими и неорганическими основаниями;
- 4) подтвердить строение синтезированных соединений с помощью элементного анализа, УФ-, ИК-спектрофотометрии и ^1H ЯМР-спектроскопии, а их индивидуальность - методом хромато-масс-спектрометрии;
- 5) по результатам виртуального скрининга (программа PASSOnline) провести биологические исследования полученных соединений; исследовать острую токсичность и антимикробную активность синтезированных соединений.

Материалы и методы. Синтез исходного 4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-тиола осуществлялся по описанным в литературе методикам построения гетероциклического кольца 1,2,4-триазола с заместителями по третьему, четвертому и пятому положениям [1]. Для этого кислоту бензойную подвергали реакции этерификации, с последующим гидразинолизом полученного сложного эфира. Полученный в результате нулеофильного присоединения 2-метоксифенил-изотиоцианата

тиосемикарбазид подвергали щелочной внутримолекулярной гетероциклизации. Получение целевых продуктов осуществляли алкилированием 4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-тиола хлорацетатной кислотой с последующим получением солей с органическими и неорганическими основаниями [1].

Исследование физико-химических свойств полученных нами соединений проводили по методам, которые приведены в Государственной Фармакопее Украины. Температуру плавления определяли открытым капиллярным способом на приборе ПТП (М). Строение веществ подтверждено с помощью элементного анализа на приборе Elementar Vario L cube (CHNS), ИК-спектры (4000 - 400 см⁻¹) были сняты на модуле ALPHA-T спектрометра Bruker ALPHA FT-ИР. ¹H ЯМР спектры соединений были записаны с помощью спектрометра «Mercury 400» (растворитель - ДМСО-d₆, внутренний стандарт - тетраметилсилан). Хромато-масс-спектральные исследования проводили на приборе Agilent 1100 Series LC/MSD System, способ ионизации - химическая ионизация при атмосферном давлении (APCI).

Результаты и их обсуждение. Синтезировано 13 солей, данные приведены в таблице 1. С целью поиска биологически активных соединений часть синтезированных веществ подверглась биологическим исследованиям. Синтезированные кислоты и соли изучали на острую токсичность, противомикробную и противогрибковую активность.

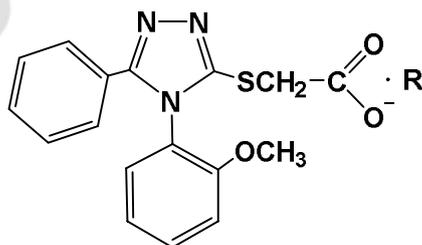


Таблица 1. Соли 2-[5-фенил-4(2-метоксифенил)-1,2,4-триазол-3-илтио]ацетатных кислот

Соединение	R ₁	Т пл., °С	Брутто-формула	Выход, %
1	H	248-249	C ₁₇ H ₁₅ O ₃ N ₃ S	63,1
2	Na	>305 с разложением	C ₁₇ H ₁₄ N ₃ NaO ₃ S	47
3	K	>296 с разложением	C ₁₇ H ₁₄ N ₃ KO ₃ S	29
4	Mg	222-225	C ₃₄ H ₂₈ MgN ₆ O ₆ S ₂	54
5	Ca	186-190	C ₃₄ H ₂₈ CaN ₆ O ₆ S ₂	51
6	Zn	>300 с разложением	C ₃₄ H ₂₈ N ₆ O ₆ S ₂ Zn	77
7	NH ₄	208-211	C ₁₇ H ₁₈ N ₄ O ₃ S	70
8	H ₃ N ⁺ CH ₃	194-196	C ₁₈ H ₂₀ N ₄ O ₃ S	87
9	H ₃ N ⁺ (CH ₂) ₂ OH	113-118	C ₁₉ H ₂₂ N ₄ O ₄ S	35
10	H ₂ N ⁺ (C ₂ H ₄ OH) ₂	227-230	C ₂₁ H ₂₆ N ₄ O ₅ S	66
11	HN ⁺ (C ₂ H ₅) ₂ C ₂ H ₄ OH	124-126	C ₂₃ H ₃₀ N ₄ O ₄ S	84
12	HN ⁺ (C ₄ H ₉) ₃	185-187	C ₂₉ H ₄₂ N ₄ O ₃ S	73
13	пиперидиний	171-174	C ₂₂ H ₂₆ N ₄ O ₃ S	79
14	морфолиний	198-200	C ₂₁ H ₂₄ N ₄ O ₄ S	86

Таблица 2. Данные элементного анализа синтезированных соединений

Сполука	Знайдено, %				Обчислено, %			
	C	H	N	S	C	H	N	S
1	59,81	4,43	12,31	9,39	59,79	4,46	12,34	9,36

Сполука	Знайдено, %				Обчислено, %			
	C	H	N	S	C	H	N	S
2	56,18	3,87	11,55	8,85	56,19	3,88	11,56	8,82
3	53,84	3,73	11,05	8,48	53,81	3,72	11,07	8,45
4	57,93	4,02	11,94	9,09	57,92	4,00	11,92	9,10
5	53,68	3,69	11,06	8,47	53,67	3,71	11,04	8,43
6	54,76	3,74	11,23	8,81	54,73	3,78	11,26	8,77
7	56,95	5,08	15,61	8,94	56,97	5,06	15,63	8,95
8	58,08	5,44	15,01	8,58	53,25	5,41	15,04	8,61
9	60,83	6,31	13,55	7,72	60,85	6,32	13,52	7,74
10	56,67	5,53	13,93	7,99	56,70	5,51	13,92	7,97
11	56,51	5,88	12,54	7,21	56,49	5,87	12,55	7,18
12	66,15	8,03	10,66	6,11	66,13	8,04	10,64	6,09
13	61,99	6,11	13,16	7,49	61,95	6,14	13,14	7,52
14	58,88	5,66	13,05	7,51	58,86	5,65	13,07	7,48

ИК-спектры синтезированных соединений характеризуются наличием полосы поглощения, характерной для солей карбоновых кислот, которые содержат COO⁻-группу в пределах 1420-1300 см⁻¹, NH-группу в пределах 3500-3300 см⁻¹, полосы поглощения фенильного кольца в пределах 1470-1400 см⁻¹, полосы колебания C-S-групп в пределах 600-520 см⁻¹ та C=N-групп в пределах 1650-1610 см⁻¹.

Синтезированные соединения содержат в спектрах ¹H ЯМР ряд характерных сигналов протонированных аминов. Например, в спектре диэтиламмониевой соли наблюдается триплет и квадруплет с центрами при 1,38 та 2,90 м.ч. и сиглет при 7,15 м.ч., в спектре диэтилмоноэтанолламмониевой соли – квадруплеты при 3,25 м.ч. и триплеты при 1,45 м.ч., синглет при 7,05 м.ч., а также сигнал OH-группы в виде триплета при 3,55 м.ч. ¹H ЯМР спектр бензиламмониевой соли характеризуется синглетом NCH₂-группы при 3,82 м.ч. имультиплетом C₆H₅-группы при 7,15 – 7,75 м.ч. Морфолиниевая соль характеризуется совокупностью сигналов протонированного морфолина в виде двух мультиплетов при 3,25 м.ч. та 3,92 м.ч. и синглета при 8,99 м.ч. Пиперазиний катион описывается присутствием синглетов протонов при 2,80 м.ч. та 3.45 м.ч. Пиперидиниевая соль характеризуется сигналами протонов данного органического основания в виде мультиплета при 1,50 м.ч. и при 2,60 м.ч. и синглета при 7,05 м.ч.

Исследование острой токсичности проводили по экспресс-методу В. Б. Прозоровского на белых нелинейных крысах. По результатам исследования острой токсичности было установлено, что LD₅₀ этого класса химических соединений находится в пределах от 356 до 1800 мг/кг. По классификации К. К. Сидорова соответственно они принадлежат к IV - V классам токсичности (малотоксичные и практически нетоксичные вещества). Из приведенных данных таблицы 1 видно, что наименее токсичное соединение - (5.12) и наиболее токсичное соединение - (5).

Таблица 3. Острая токсичность 2-[4-(2-метоксифенил)-5-фенил-1,2,4-триазол-3-илтио]ацетатной кислоты и ее солей

Соединение	LD ₅₀ , мг/кг	Соединение	LD ₅₀ , мг/кг
1	356 ± 90	5	1053 ± 66
3	1160 ± 224	10	947 ± 87

12	1800 ± 371	-	-
----	------------	---	---

Ісследования протівомікробного і протівогрибкового дієвства проводили методом «серійних разведень» в жидкій питательній середі, існуюючи такі тести штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* 209-P, *Escherichia coli* 675, *Proteus vulgaris* 5, *Bacillus anthracoides* 1312, *Pseudomonas aeruginosa* 165.

Таблиця 4. Антимікробна активність солей 2-[4-(2-метоксифеніл)-5-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти

Соединение	Минимальная бактериостатическая концентрация, мкг/мл				
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Bacillus anthracoides</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1	250	500	500	62,5	250
4	250	250	500	250	250
8	62,5	250	250	31,25	250
11	500	250	250	31,25	250
12	250	500	500	62,5	500

Із представлених даних *таблиці 4* видно, що к більшості синтезованих соєдинень чутливі *Bacillus anthracoides*. Среди синтезованих речовин привлекли внимание натрієва і діетаноламмонієва соли існуючої кислоти, к которым оказались чутливими *Bacillus anthracoides*. А також аммонієва соль, к которой чутливі 2 штама, а іменно *Staphylococcus aureus* і *Bacillus anthracoides*. Как еталони сравнения іспользовали етакридина лактат і фурацилін.

Выводы. Установлены оптимальные условия получения солей 2-[4-(2-метоксифеніл)-5-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти. Определено, что соли 2-[4-(2-метоксифеніл)-5-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетатної кислоти относятся к классу малотоксичных или практически нетоксичных соєдинений. Самым активным среди других соєдинений оказался моноетаноламоний 2-[4-(2-метоксифеніл)-5-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетат. Среди мікроорганізмів самим чутливим к синтезованим речовинам является *Bacillus anthracoides*.

Литература

1. Гоцуля А. С., Міколасюк О. О., Панасенко О. І. та ін. Синтез і дослідження фізико-хімічних властивостей солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти // Запороз. мед. журн. – 2014. – №1(82). – С. 91–94.
2. Левіч С. В. Синтез та фізико-хімічні властивості S-заміщених похідних 3-бензил-8-метил-7-[(4-феніл-5-тіо-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)метил]-ксантину / Левіч С. В., Шкода О. С., Александрова К. В. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. - 2013. – № 1 (11). – С. 54 – 58.

3. Юрченко Д. М., Александрова К. В., Романенко М. І., Макоїд О. Б./ Синтез, реакції та фізико-хімічні властивості похідних 8-тіоксантиніл-7-ацетатних кислот // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, № 3. – С. 104 – 108.

4. Юрченко Д. М., Александрова К. В., Романенко М. І., Самура Б. А., Таран А. В. / Пат. 61715, МПК (2011.01), C07D 473/00. Амід 4-феніл-5-(3'-метилксантиніл-7')метил-1,2,4-триазоліл-3-тіоацетатної кислоти, який виявляє діуретичну, протизапальну та анагетичну дії– Заявл. 17.01.2011; опубл. 25.07.2011.

5. Eckhardt M., Himmelsbach F., Langkopf E., Maier R. /Pat. 7560450 B2 US, Int.Cl. C07D 473/06, A61K 31/522. Xanthine derivatives, the preparation thereof and their use as pharmaceutical compositions – Заявл. 18.11.2003; опубл. 14.07.2009.

6. Hatley R. J. D., Mason A. M., Pinto I. L. / Pat. 2010/0168122 A1US, Int.Cl. C07D 473/04, A61K 31/522. Xanthine derivatives as selective HM74A agonists - Заявл. 08.08.2006; опубл. 01.07.2010.

7. Lupascu F. G., Dragostin O. M., Foia L., Lupascu D. et al. / The synthesis and the biological evaluation of new thiazolidine-4-one derivatives containing a xanthine moiety // *Molecules*, 2013. – № 18. – P. 9684 – 9703.

8. Raafat M. Shaker. The chemistry of mercapto- and thionsubstituted 1,2,4-triazoles and their utility in heterocyclic synthesis / Raafat M. Shaker // *ARKIVOC*. – 2006. – Vol. IX. – P. 59 – 112.