



Синтез та анагетична активність нових піразоловмісних похідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу

С. О. Федотов^{A-D}, А. С. Гоцуля^{*E,F}, Ю. В. Карпенко^{B,C}

Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Біль – один з основних симптомів багатьох захворювань і станів, який виникає в мільйонів людей у всьому світі. Ефективні анагетичні засоби дають змогу зменшити або усунути біль, покращуючи якість життя пацієнтів і допомагаючи їм повернутися до нормального фізичного і соціального функціонування. Чимало сучасних анагетичних засобів можуть викликати небажані побічні ефекти, зокрема чинити ульцерогенну дію, порушувати згортання крові, спричиняти сонливість тощо. Створення нових анагетичних засобів спрямоване на розроблення лікарських засобів, що були б ефективними і мали б менше небажаних побічних ефектів. Зважаючи на постійне збільшення кількості хворих із неврологічними, онкологічними й іншими захворюваннями, що супроводжуються хронічним болем, необхідні нові способи лікування й анагезії. Поєднання в межах однієї молекули двох різних гетероциклічних фрагментів дає змогу використати можливості впливу такої молекули на різні механізми виникнення та розвитку різноманітних патологічних станів, зокрема тих, що супроводжуються болем. Хімічні модифікації структур піразолу та 1,2,4-тріазолу, що передбачають їх поєднання в межах однієї молекули, згідно з результатами *in silico* прогнозу, можуть призвести до одержання біологічно активних сполук з анагетичною активністю.

Мета роботи – встановлення оптимальних умов перебігу хімічного перетворення і властивостей 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу та їхніх похідних для одержання біоактивних систем з анагетичною активністю.

Матеріали та методи. Створення цільового ряду сполук реалізовано шляхом послідовного використання відомих методів органічного синтезу. Використовуючи як вихідні речовини ацетон або 1-(3-фторфеніл)етан-1-он, діетилоксалат та натрій метилат з поетапним гідразінолізом і залученням карбон дисульфід у лужному середовищі, ресинтезовано 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол і 4-аміно-5-(3-(3-фторо-феніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол. Надалі цільова функціоналізація передбачала введення до структури цільових сполук 2,6-дихлорофенільного замісника, залишків алканових кислот та естерів на їхній основі. Структуру всіх синтезованих речовин визначено за допомогою ІЧ-спектрофотометрії, ¹H ЯМР-спектроскопії та елементного аналізу. Індивідуальність сполук підтверджено методом високоефективної рідинної хромато-мас-спектрометрії. Анагетичні властивості вивчали на двох моделях: «оцтовокислих корчів» і формаліновій моделі больового запалення. Фармакокінетичні параметри предиктивно розрахували за допомогою онлайн-платформи SwissADME.

Результати. За підсумками реалізації синтетичної частини роботи успішно відтворено структуру 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу та їхніх похідних. Доведено наявність сприятливого впливу 2,6-дихлорофенільного замісника, а також фрагментів насичених карбонових кислот і їхніх естерів на формування антиноцицептивної активності. Кількісні показники фармакокінетичних параметрів, що одержані під час ADME-аналізу, майже в усіх випадках відповідають прийнятним інтервалам.

Висновки. Встановлено оптимальні умови синтезу та структурної модифікації 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу. Це дало змогу одержати 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)алканові кислоти та їхні естери, а також [1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]гіадіазинові системи. Показано, що поєднання піразолопохідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу з 2,6-дихлорофенільним замісником, фрагментами насичених карбонових кислот і їхніх естерів створює умови для формування сполук з антиноцицептивною активністю. Це підтверджено *in vivo* експериментальними даними в умовах оцтовокислих корчів і на моделі формалінового запалення.

Ключові слова: 1,2,4-тріазол, піразол, синтез, властивості.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2023. Т. 16, № 3(43). С. 205-212

Synthesis and analgesic activity of new pyrazole-containing derivatives of 1,2,4-triazole-3-thiol

S. O. Fedotov, A. S. Hotsulia, Yu. V. Karpenko

Pain represents a primary symptom of numerous diseases and conditions, affecting millions of people worldwide. Effective analgesic medications can alleviate or eliminate pain, thereby enhancing patients' quality of life and assisting them in resuming normal physical and

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/288364>

UDC 547.792.77:367.057:615.212.3.015.11
DOI: [10.14739/2409-2932.2023.3.288364](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.3.288364)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice, 2023. 16(3), 205-212

Key words: triazoles, pyrazole, synthesis, properties.

*E-mail: andrey.goculya@gmail.com

Received: 05.09.2023 // Revised: 11.09.2023 // Accepted: 29.09.2023

social activities. However, several existing analgesics may carry unwanted side effects, such as ulcers, blood clotting issues, drowsiness, and more. The development of new analgesics is focused on creating drugs that are both effective and associated with fewer adverse effects. Considering the continuous rise in the number of patients dealing with neurological, oncological, and other conditions accompanied by chronic pain, there is a growing demand for innovative methods of treatment and pain management. The combination of two different heterocyclic fragments within one molecule makes it possible to use the possibilities of influencing such a molecule on various mechanisms of occurrence and development of various pathological conditions, including those accompanied by pain. Chemical modifications of pyrazole and 1,2,4-triazole structures, involving their incorporation into a single molecule, have the potential, as suggested by *in silico* predictions, to yield biologically active compounds with analgesic properties.

The aim of this work was to determine the optimal conditions for the chemical transformation and properties of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and their derivatives for the preparation of bioactive systems with analgesic activity.

Materials and methods. The creation of a target series of compounds was implemented by consistently using well-known methods of organic synthesis. 4-Amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol were resynthesized as starting materials using acetone or 1-(3-fluorophenyl)ethane-1-one, diethylxalate, and sodium methylate using step-by-step hydrazinolysis and carbon disulfide involvement in an alkaline medium. Further targeted functionalization involved the introduction of a 2,6-dichlorophenyl substitute, alkane acid residues, and esters based on them into the structure of the target compounds. The structure of all synthesized substances was determined by IR spectrophotometry, ¹H NMR spectroscopy, and elemental analysis. The individuality of the compounds was confirmed by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. The analgesic properties were studied on two models: the "acetic acid-induced writhing test" and a formalin model of pain inflammation. Pharmacokinetic parameters were predictably calculated using the SwissADME online platform.

Results. Based on the results of the synthetic part of the work, the structure of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol and 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, as well as their derivatives, was successfully recreated. The presence of a beneficial effect of 2,6-dichlorophenyl substitute, as well as fragments of saturated carboxylic acids and their esters on the formation of antinociceptive activity has been proven. The quantitative indicators of pharmacokinetic parameters, as determined during ADME analysis, fall within acceptable ranges in nearly all instances.

Conclusions. The optimal conditions for the synthesis and structural modification of 4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol, 4-amino-5-(3-(3-fluorophenyl)pyrazol-5-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol were established, which allowed the preparation of 2-((4-amino-5-(3-methylpyrazol-5-yl)-1,2,4-triazol-3-yl)thio)alkanoic acids and their esters, as well as [1,2,4]triazolo[3,4-*b*][1,3,4]thiadiazine systems. It has been shown that the combination of pyrazole derivatives of 1,2,4-triazol-3-thiol with 2,6-dichlorophenyl substituent and fragments of saturated carboxylic acids and their esters creates conditions for the formation of compounds with antinociceptive activity, which was confirmed *in vivo* by experimental data acetic acid-induced writhing test and formalin inflammation model.

Key words: triazoles, pyrazole, synthesis, properties.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice, 2023. 16(3), 205-212

Проблема створення нових перспективних лікарських засобів залишається актуальною у сучасній фармацевтичній, медичній та хімічній галузях [1,2,3,4]. Створення нових біологічно активних сполук дає змогу розробляти ефективніші методи лікування різних хвороб, зокрема тих, що супроводжуються сильним болем. Оцінювання анальгетичної активності як складової скринінгу та доклінічного вивчення перспективних нестероїдних протизапальних засобів активності є важливим аспектом у медичних і фармацевтичних дослідженнях, оскільки може сприяти розробленню нових високоефективних лікарських засобів [5,6].

Розробка нових анальгетиків на базі фрагментів 1,2,4-тріазолу та піразолу є перспективним науковим напрямом, що істотно сприятиме розвитку медичної та фармацевтичної наук [7,8,9,10].

Об'єднання цих двох ароматичних кільцевих структур може дати змогу отримати нові сполуки з потенційною анальгетичною активністю.

Мета роботи

Встановлення оптимальних умов перебігу хімічного перетворення і властивостей 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу та їхніх похідних

для одержання біоактивних систем з анальгетичною активністю.

Матеріали і методи дослідження

Як об'єкти дослідження обрали піразоловмісні похідні 1,2,4-тріазолу та конденсованих систем на його основі, серед них сполуки, синтез і докінгові дослідження яких описано у попередніх роботах (4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол (1), 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол (2), 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]-тіадіазин-7-етанова кислота (3), 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-ізопропілетаноат (4), а також нові речовини (2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)пропанова кислота (5), 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-3-метилбутанова кислота (6), метил 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-3-метилбутаноат (7), проп-2-іл 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)пропаноат (8) [11,12,13].

Реалізація синтетичного етапу передбачала етапний синтез вихідного 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу за відомим методом, що описаний у попередніх публікаціях [1]. Наступне пере-

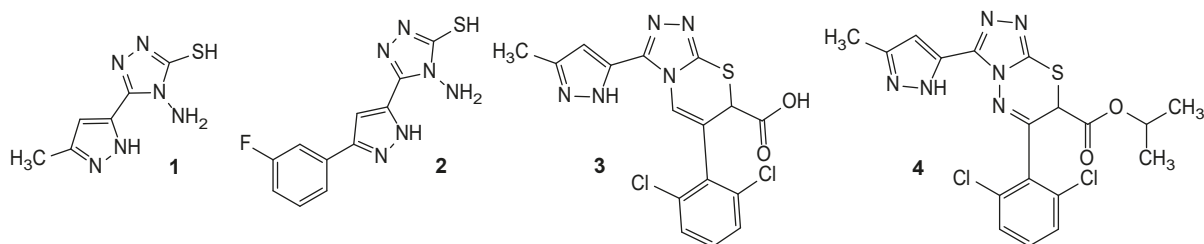


Рис. 1. Структура ресинтезованих похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу.

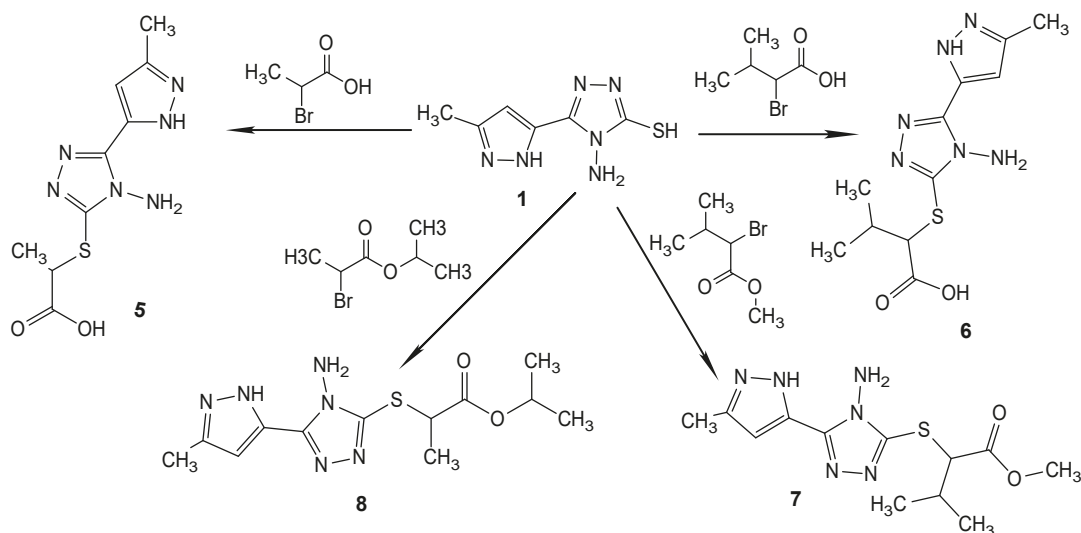


Рис. 2. Схема синтезу нових похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу.

творення одержаного тіолу ґрунтувалося на взаємодії з 2-бром-пропановою та 2-бром-3-метилбутановою кислотами, а також із проп-2-іл-2-бромпропаноатом (рис. 2).

Загальна методика синтезу 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)алканових кислот (5, 6). До 0,005 моль 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу додають 0,005 моль натрій гідроксиду, попередньо розчиненого в 20 мл води очищеної. Нагрівають до повного розчинення вихідної сполуки. Далі до 0,005 моль натрій гідроксиду, попередньо розчиненого в 15 мл води, додають 0,005 моль відповідної кислоти (2-бромпропанової, 2-бром-3-метилбутанової). Перемішують до розчинення. Одержані розчини перемішують і нагрівають протягом 1 години. Охолоджують, додають кислоту етанолу. Утворені осаді відфільтровують, промивають водою та, за необхідності, кристалізують із пропан-1-олу.

Загальна методика синтезу естерів 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)алканових кислот (7, 8). До 0,005 моль 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу в 20 мл етанолу додають 0,005 моль натрій гідроксиду, попередньо розчиненого в 5 мл води. Нагрівають до повного розчинення вихідної сполуки. Охолоджують, до реакційної суміші додають 0,005 моль відповідного естеру (метил-2-бром-3-метилбутаноату, 2-бромпропаноату), попередньо розчиненого

в 20 мл етанолу. Реакційне середовище нагрівають на водяному оґрівнику протягом 30–40 хвилин. Розчинник видаляють за допомогою вакууму. Перекристалізують із метанолу.

Вибір сполук для *in vivo* досліджень аналгетичної активності ґрунтувався на комплексному підході. Передусім, це наявність у структурі піразолового фрагмента, що міститься в структурі аналгетиків-антипіретиків (анальгін, пропіфеназон) і нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) (целекоксиб). Серед інших відомих лікарських засобів, що мають аналгетичну дію, – ібупрофен, кетопрофен і флубіпрофен, що мають у структурі фрагмент пропанової кислоти. У структурі диклофенаку та ацеклофенаку (відомі НПЗЗ) є 2,6-дихлорофенільний замісник і карбоксильна група. Крім того, взяли до уваги результати розрахунку мінімальної енергії комплексоутворення порівняно з піразоловмісним целекоксибом. Попередньо синтезовані сполуки показали результати, близькі за значенням до наведеної константи та за природою хімічних зв'язків, які можуть утворюватися з активним сайтом циклооксигенази-2, до препарату порівняння.

Аналгетичні властивості вивчали на двох моделях: «оцтовокислих корців» і формаліновій моделі болювого запалення.

Модель «оцтовокислих корчів» передбачала внутрішньоочеревинне введення 0,75 % водного розчину оцтової кислоти в дозі 1/20 LD₅₀ відповідно до ваги тіла тварини, що зумовлює підвищення загальної активності ноцицептивної системи та місцеве вивільнення брадикініну, гістаміну, серотоніну, простагландинів і лейкотрієнів [14,15,16]. Це спричиняє виникнення мимовільних скорочень черевних м'язів живота – корчів, що супроводжуються витягуванням задніх кінцівок і випинанням спини. Рівень анагетичної активності препаратів, що досліджували, оцінювали за здатністю зменшувати кількість больових реакцій у щурів при внутрішньоочеревинному введенні 0,75 % розчину оцтової кислоти.

Розчин кислоти етанової вводили через 1 годину після введення речовин, що вивчали. Надалі обробували кількість больових скорочень (мимовільних скорочень м'язів черевної стінки) у тварин впродовж 15 хв після введення розчину кислоти оцтової. Критерієм ефективності вважали пригнічення больової реакції в тварин дослідних груп порівняно з контрольною на 50 % і більше. Як референс-препарат використали анальгін із DE₅₀ 55 мг/кг, відповідно до методичних рекомендацій [15].

Анагетичну активність наводили у відсотках, розраховували за формулою:

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

де AA – анагетична активність, C_к – середня кількість корчів у контрольній групі, а C_д – середня кількість корчів у дослідній групі.

Для моделювання гострого ексудативного запалення шурам внутрішньом'язово вводили 1 мл 5 % розчину формаліну в ліву задню кінцівку. Цей процес викликав дві послідовні стадії ноцицептивної реакції. Спочатку спостерігали підняття та періодичне похитування задньої кінцівки, крім того, активність визначали за покусаннями або облизуваннями. Відразу після короткого латентного періоду безпосереднього хімічного подразнення больових рецепторів виникала миттєва початкова стадія болю (центральна). Цей етап тривав від 3 до 10 хвилин, зазвичай приблизно 4–5 хвилин. Після цього настав латентний період другої фази тривалістю 20–30 хвилин, коли тварина заспокоювалася, а біль вщухав. Далі розвивалося асептичне запалення задньої кінцівки шура, біологічно активні речовини (простагландини та брадикініни), потрапляли в уражену ділянку. Це призводило до збільшення проникності судин, гіперемії, набряку задньої кінцівки та виникнення ознак больової чутливості. Спостереження за тваринами тривало 60 хвилин після введення формаліну, після цього ознаки больової чутливості зазвичай зменшувалися.

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

Усі експериментальні дослідження здійснили відповідно до вимог, що рекомендовані Комітетом з біоетики

Державного експертного центру Міністерства охорони здоров'я України (закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження»). Під час роботи дотримувалися вимог, які задекларовані в Європейській конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe, Strasbourg, 1986).

Статистично дані опрацювали, використавши програми Statistica 10.0 і Microsoft Excel. Результати дослідження наведено як середнє арифметичне значення (M) ± стандартна похибка середнього (m). Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності на рівні не менше ніж 0,05.

Результати

Для підтвердження наявності анагетичної активності в обраних сполук ряду похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу ресинтезовано чотири сполуки (рис. 1), синтезовано чотири нові сполуки (рис. 2). Будова й індивідуальність одержаних речовин підтверджені сучасними методами.

ІЧ-спектри синтезованих сполук характеризуються наявністю чітких смуг поглинання: валентних коливань ароматичної С-Н групи в інтервалі 3065–3043 см⁻¹, площинних деформаційних коливань С-Н групи в області 1216–965 см⁻¹ (смуги низької інтенсивності в інтервалах 1216–1185 см⁻¹, 1048–1035 см⁻¹, 1012–995 см⁻¹, 975–965 см⁻¹). Виявили характерні смуги валентних коливань групи SH (1, 2) у діапазоні 3295–3280 см⁻¹. Також зареєстрували смуги поглинання, що пов'язані з фрагментом С = N в області 1550–1535 см⁻¹. Смуги поглинання, пов'язані з карбонільною групою карбонових кислот (3, 5, 6), фіксують при 1770–1785 см⁻¹ та 1490–1500 см⁻¹. В ІЧ-спектрах синтезованих естерів (4, 7, 8) є інтенсивні смуги поглинання в області від 1175 до 1150 см⁻¹; це зумовлено коливаннями фрагмента С–О–С та в інтервалі 1745–1735 см⁻¹ (валентні коливання карбонільної групи).

Результати ¹H ЯМР спектроскопії та елементного аналізу підтверджують відповідність структури одержаних речовин формулам, що наведені.

2-((4-Аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)пропанова кислота (5). Вихід: 64 %. T_{м.}: 212–214 °C; ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 11.36 (с, 1H, NH піразол), 9.89 (с, 1H, COOH), 7.57 (д, J = 6.7 Гц, 1H, H-4 піразол), 5.52 (с, 2H, NH₂), 4.53 (кв, J = 6.1 Гц, 1H, S-CH₂-), 2.45 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.62 (с, 3H, CH₃). ESI-MS: m/z = 269 [M+H]⁺. Елементний аналіз: (%) – розраховано С, 40.29; Н, 4.51; N, 31.32; S, 11.95; знайдено (%) – С, 40.19; Н, 4.52; N, 31.24; S, 11.98.

2-((4-Аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-3-метилбутанова кислота (6). Вихід: 72 %. T_{м.}: 198–200 °C; ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 11.36 (с, 1H, NH піразол), 9.58 (с, 1H, COOH), 7.59 (д, J = 6.7 Гц, 1H, H-4 піразол), 5.53 (с, 2H, NH₂), 3.83–3.78 (м, 1H, S-CH₂-), 2.44 (с, 3H, CH₃-піразол),

Таблиця 1. Результати ADME-аналізу похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу

Молекулярний дескриптор / константа	Сполука							
Фракція Csp ³	0,17	0,00	0,13	0,19	0,33	0,42	0,50	0,50
Кількість обортових зв'язків	1	2	3	4	4	5	6	6
Молярна рефракція	49,96	70,39	101,54	105,86	65,82	77,64	79,75	79,75
TPSA (площа топологічної полярної поверхні), Å ²	124,21	124,21	134,35	123,35	148,01	135,12	137,01	137,01
Log Po/v (iLogP)	0,50	1,60	1,61	2,66	1,06	1,72	1,61	2,27
Log Po/v (XLogP3)	0,05	1,42	3,36	3,69	0,41	1,83	1,70	1,54
Log Po/v (WLogP)	-0,01	1,90	2,71	2,80	0,26	1,50	0,99	1,13
Log Po/v (MLogP)	0,37	1,73	2,90	2,87	0,51	1,36	1,39	1,39
Log Po/v (SILICOS-IT)	0,18	1,45	3,20	3,72	-0,21	0,83	0,83	-2,46
Log Po/v (середнє арифметичне)	0,22	1,62	2,76	3,15	0,41	1,45	1,30	1,43
Lipinski фільтр	+	+	+	+	+	+	+	+
Ghose фільтр	+	+	+	+	+	+	+	+
Veber фільтр	+	+	+	+	-	+	+	+
Egan фільтр	+	+	-	+	-	-	-	-
Muegge фільтр	-	+	+	+	+	+	+	+
Оцінка біодоступності	0,55	0,55	0,56	0,55	0,56	0,56	0,55	0,55
Шлунково-кишкове поглинання	High	High	High	High	Low	Low	Low	High
Подолання гематоенцефалічного бар'єра	-	-	-	-	-	-	-	-
P-глікопротеїновий субстрат	-	-	-	-	-	-	+	+
Log Kp, см/с	-7,46	-6,98	-6,41	-6,26	-7,65	-6,80	-6,99	-7,10
PAINS попередження	0	0	0	0	0	0	0	0
Brenk's попередження	1	1	0	0	0	0	0	0
Подібність до сполуки-лідера	-	+	-	-	+	+	+	+
Синтетична доступність	2,59	2,65	4,22	4,33	3,59	3,79	3,90	3,91

2.35–2.31 (м, 1H, (CH₃)₂CH), 1.14–1.05 (м, 6H, (CH₃)₂CH). ESI-MS: m/z = 297 [M+H]⁺. Елементний аналіз: розраховано (%) – С, 44.58; Н, 5.44; N, 28.36; S, 10.82; знайдено (%) – С, 44.46; Н, 5.43; N, 28.28; S, 10.85.

Метил-2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)-3-метилбутаноат (7). Вихід: 76 %. T_{пл.}: 164–166 °С; ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 11.36 (с, 1H, NH піразол), 7.58 (д, J = 6.5 Гц, 1H, H-4 піразол), 5.52 (с, 2H, NH₂), 4.41–4.35 (м, 1H, S-CH₂), 3.68 (с, 3H, COOCH₃), 2.45 (с, 3H, CH₃-піразол), 2.39–2.34 (м, 1H, (CH₃)₂CH), 1.15 (дд, J = 6.4, 1.5 Гц, 3H, CH₃), 1.03 (дд, J = 6.5, 1.5 Гц, 3H, CH₃). ESI-MS: m/z = 311 [M+H]⁺. Елементний аналіз: розраховано (%) – С, 46.44; Н, 5.85; N, 27.08; S, 10.33; знайдено (%) – С, 46.56; Н, 5.84; N, 27.15; S, 10.30.

Проп-2-іл 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)пропаноат (8). Вихід: 68 %. T_{пл.}: 152–154 °С; ¹H ЯМР, δ (м.ч.): 11.36 (с, 1H, NH піразол), 7.58 (д, J = 6.5 Гц, 1H, H-4 піразол), 5.53 (с, 2H, NH₂), 4.96–4.91 (м, 1H, (CH₃)₂CH), 4.53 (кв, J = 6.2 Гц, 1H, S-CH₂), 2.44 (с, 3H, CH₃-піразол), 1.63 (с, 3H, CH₃CH), 1.23–1.18 (м, 6H, (CH₃)₂CH). ESI-MS: m/z = 311 [M+H]⁺. Елементний аналіз: розраховано (%) – С, 46.44; Н, 5.85; N, 27.08;

S, 10.33; знайдено (%) – С, 46.32; Н, 5.86; N, 27.01; S, 10.36.

Проаналізувавши дані ADME-аналізу, зазначимо, що сполука **4** характеризується найбільш сприятливими властивостями для наступного дослідження аналгетичних властивостей (табл. 1). Втім, за показником насиченості, який визначають за кількістю наявних у структурі sp³-гібридних атомів Карбону та здатністю долати гематоенцефалічний бар'єр, ця речовина не відповідає предиктивним фармакокінетичним вимогам. Звернули також увагу на речовину **2**, що за фармакокінетичними параметрами поступається лише за одним попередженням Бренка; це пов'язано з наявністю тіольної групи. Всі інші сполуки мають досить позитивний *in silico* фармакокінетичний профіль (табл. 1). Так, фільтр Егана не долають сполуки **3, 5–8**; фільтр Вебера – сполука **5**; фільтр Мугге – сполука **1**. Здатність подолати гематоенцефалічний бар'єр є малоімовірною для всіх наведених сполук (табл. 1).

Вплив сполук, що досліджували, на аналгетичну активність на моделі «оцтовокислих корчів»

Після внутрішньоочеревинного введення 0,75 % розчину оцтової кислоти у щурів спостерігали занепокоє-

Таблиця 2. Аналгетична активність похідних 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу на моделі «оцтовокислих корчів»

Сполука	Кількість корчів	M ± m	Аналгетична активність, %
Контроль	21	18,333 ± 2,517	–
	18		
	16		
	18,3*		
1	11	11,333 ± 2,517	38,25
	9		
	14		
	11,3*		
2	6	9,667 ± 3,215	47,54
	12		
	11		
	9,6*		
3	5	6,667 ± 3,786	63,93
	11		
	4		
	6,6*		
4	3	3,333 ± 0,578	81,96
	4		
	3		
	3,3*		
5	8	8,000 ± 2,000	56,28
	6		
	10		
	8*		
6	9	8,657 ± 3,512	53
	5		
	12		
	8,6*		
7	14	10,667 ± 3,055	42,07
	10		
	8		
	10,6*		
8С	12	7,000 ± 5,000	61,74
	7		
	2		
	7*		
Натрій метамізол	8	9,333 ± 1,528	49,18
	11		
	9		
	9,3*		

*: середнє значення.

ність, через 2–3 хв після застосування почали з'являтися характерні рухи: мимовільні скорочення черевних м'язів живота, що чергувалися з розслабленням, витягування задніх кінцівок, прогинання спини тощо. Контрольна група тварин одержувала 0,9 % розчин натрій хлориду. Впродовж наступних 15 хв обрахували кількість таких корчів для кожної тварини.

У результаті спостереження за контрольною групою тварин визначили виникнення оцтовокислих корчів, що в середньому спровокували 18,3 специфічного руху протягом 15 хвилин (табл. 2). Цей ефект пов'язаний із виникненням вісцерального болю.

Опрацювання експериментальних даних передбачало обчислення середніх арифметичних значень (M) і визначення їхніх похибок ($\pm m$).

Вплив досліджуваних сполук на аналгетичну активність на експериментальній «формаліновій» моделі. Встановили, що внутрішньом'язове введення формаліну викликає реакцію на больовий подразник в інтактних тварин і виявляється підняттям пошкодженої задньої кінцівки та її рухами (1 стадія), а також покусанням та облизуванням (2 стадія).

Загальна тривалість болю становила $5,12 \pm 0,13$ хв. Після цього тварини заспокоювались і близько 20 хв не виявляли жодних змін поведінкових реакцій. Потім знову спостерігали виникнення ознак больової реакції, що клінічно виявлялися в 2 фазу; їхня загальна тривалість становила $32,10 \pm 1,23$ хв. У значної частини щурів після закінчення терміну спостереження (після 60 хв) ознаки болю не вщухали.

У контрольних тварин, яким внутрішньоочеревинно вводили розчинники, зберігалися всі названі клінічні прояви больової реакції, які за ступенем виразності та тривалістю латентних періодів I та II фази не відрізнялися від інтактних.

Знеболювальну дію сполук оцінювали за зміною (%) показників тривалості латентного періоду та тривалості фази (у %) (табл. 3). Як препарат порівняння застосували натрій метамізол у дозі 4 мг/кг, який вводили внутрішньоочеревинно.

У результаті дослідження з використанням формалінової моделі больового запалення встановили: 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]тріазоло[3,4-*b*] [1,3,4]тіадіазин-7-етанова кислота (3) та її ізопропіловий естер (4) виявились дещо активнішими, ніж препарат порівняння анальгін. При цьому кислота (3) виявилась активнішою порівняно з її естером (4). Привернув увагу також проп-2-іл 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)-тіо)пропаноат (8), який за активністю лише незначно поступається анальгіну.

Разом із тим, ізомерна структура до сполуки 8, в якій S-алкільний фрагмент більш розгалужений, а залишок спирту в естерній групі – з меншою кількістю атомів Карбону (7), мав значно нижчу активність. Найменш активними виявились тіоли 1 та 2, що підкреслює необхідність функціоналізації меркаптогрупи для підвищення імовірності створення високоактивних сполук.

Таблиця 3. Антиноцицептивна активність досліджуваних сполук при пероральному введенні на формаліновій моделі болювого запалення

Умови досліджу	I фаза		II фаза	
	Латентний період, хв	Тривалість фази, хв	Латентний період, хв	Тривалість фази, хв
Інтактні тварини	1,65 ± 0,37	5,12 ± 0,13	20,7 ± 2,43	32,1 ± 1,23
Контроль (0,9 % розчин NaCl)	1,66 ± 0,27	5,18 ± 0,63	21,4 ± 1,20	32,6 ± 1,07
Натрій метамізол, 4 мг/кг, в/оч	1,81 ± 0,23**	5,34 ± 0,54**	26,5 ± 1,85*	18,45 ± 1,97*
1	1,72 ± 0,14**	5,41 ± 0,21**	22,6 ± 1,16	31,18 ± 0,67
2	1,79 ± 0,54**	5,12 ± 0,34**	23,1 ± 0,95	29,78 ± 0,83
3	1,74 ± 0,22**	5,27 ± 0,24**	33,1 ± 0,48	12,76 ± 2,87
4	1,89 ± 0,35**	5,09 ± 0,11**	36,25 ± 1,71*	8,78 ± 1,67*
5	1,79 ± 0,13**	5,21 ± 0,32**	25,8 ± 2,11	17,93 ± 0,77
6	1,77 ± 0,87**	5,35 ± 0,11**	26,8 ± 1,64*	16,83 ± 1,22*
7	1,68 ± 0,11**	5,24 ± 0,12**	24,2 ± 1,15*	27,65 ± 1,27*
8	1,81 ± 0,66**	5,23 ± 0,53**	28,1 ± 0,21*	15,56 ± 0,89*

*: $p < 0,05$ порівняно з контролем; **: $p < 0,10$ порівняно з контролем (визначили як тенденцію).

Обговорення

Дослідження анальгетичної активності на зазначених моделях підтвердили правильність вибору ряду сполук для наступних *in vivo* експериментів після попередніх прогностичних досліджень. Найактивнішою виявилася сполука, що в структурі поєднує конденсовану систему на основі 1,2,4-тріазолу та піразоловий фрагмент, а також складнофірну (або карбоксильну) групу та 2,6-дихлорофенільний замісник. Зауважимо, що не вдалось достеменно визначити найбільш сприятливу функціональну групу (карбоксильну або естерну) для цього виду активності. Відомості щодо цього на двох моделях, що вивчали, дещо різняться. Втім, обидві сполуки з 2,6-дихлорофенільним замісником виявилися доволі активними. Це обґрунтовує актуальність їх наступного вивчення. Вихідні тіоли виявились очікувано найменш активними. Серед менш активних – сполука 7; можливо, це пов'язано з наявністю розгалуженого алкільного замісника в молекулі.

Результати, що одержали, показали: на моделі формалінового тесту в шурів сполуки мали передусім знеболювальну дію, що більшою мірою виявилась у II фазі змодельованого патологічного стану.

Висновки

1. Встановили оптимальні умови синтезу та структурної модифікації 4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу, 4-аміно-5-(3-(3-фторофеніл)піразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіолу. Це дало змогу одержати 2-((4-аміно-5-(3-метилпіразол-5-іл)-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)алканові кислоти та їхні естери, а також [1,2,4]тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазинові системи. Показано, що поєднання піразолопохідних 1,2,4-тріазол-3-тіолу з 2,6-дихлорофенільним замісником і фрагментами насичених карбонових кислот і їхніх естерів створює умови для формування сполук з антиноцицептивною активністю.

2. Експериментальні дослідження показали, що в умовах «оцтовокислих корчів» і на моделі формалінового запалення найбільший анальгетичний потенціал виявився у 6-(2,6-дихлорофеніл)-3-(3-метилпіразол-5-іл)-[1,2,4]-тріазоло[3,4-*b*][1,3,4]тіадіазин-7-етанової кислоти (3) та її ізопропілового естеру (4). Це дало змогу встановити привілейовані фармакофори та синтони для конструювання сполук з анальгетичною активністю в ряду похідних 1,2,4-тріазолу.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Федотов С. О., аспірант каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Гоцуля А. С., д-р фарм. наук, доцент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.
Карпенко Ю. В., старший викладач каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, Україна.

Information about authors:

Fedotov S. O., PhD-student of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-0421-5303

Hotsulia A. S., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0001-9696-221X

Karpenko Yu. V., Senior Lecturer of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University, Ukraine.

ORCID ID: 0000-0002-4390-9949

References

- Shcherbina, R., Panasenko, O., Polonets, O., Nedorezaniuk, N., & Duchenko, M. (2021). Synthesis, antimicrobial and antifungal activity

- of ylidenhydrazides of 2-((4-R-5-R₁-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetaldehydes. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 45(3), 504-514. <https://doi.org/10.33483/jfpau.939418>
2. Samelyuk, Y. G., & Kaplaushenko, A. G. (2014). Synthesis of 3-alkylthio(sulfo)-1,2,4-triazoles, containing methoxyphenyl substituents at C⁵atoms, their antipyretic activity, propensity to adsorption and acute toxicity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(5), 1117-1121.
 3. Safonov, A. (2020). Method of synthesis novel N'-substituted 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetohydrazides. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 44(2), 242-252. <https://doi.org/10.33483/jfpau.580011>
 4. Gotsulya, A., Zazharskyi, V., Parchenko, V., Davydenko, P., Kulishenko, O. & Brytanova, T. (2022). N'-(2-(5-((Theophylline-7-yl)methyl)-4-ethyl-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetyl)isonicotinohydrazide As Antitubercular Agents. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 42(3), 149-155. <https://doi.org/10.52794/hujpharm.1011368>
 5. Demchenko, S., Lesyk, R., Yadlovskiy, O., Holota, S., Yarmoluk, S., Tsyhankov, S., Demchenko, A. (2023). Fused triazole-azepine hybrids as potential non-steroidal antiinflammatory agents. *Scientia Pharmaceutica*, 91(2), 26. <https://doi.org/10.3390/scipharm91020026>
 6. Demchenko, S. A., Bobkova, L. S., & Yadlovskiy, O. E. (2021). Potentsiini protyzapalni i analhetychni zasoby v riadu pokhidnykh tryazolu: problemy ta perspektyvy [Potential anti-inflammatory and analgesic drugs from triazole derivatives line: problems and prospects]. *Farmakolohiia ta likarska toksykolohiia*, 15(4), 239-248. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.33250/15.04.239>
 7. Abdellatif, K. R. A., Abdelall, E. K. A., Elshemy, H. A. H., Philopes, J. N., Hassanein, E. H. M., & Kahk, N. M. (2021). Optimization of pyrazole-based compounds with 1,2,4-triazole-3-thiol moiety as selective COX-2 inhibitors cardioprotective drug candidates: Design, synthesis, cyclooxygenase inhibition, anti-inflammatory, ulcerogenicity, cardiovascular evaluation, and molecular modeling studies. *Bioorganic chemistry*, 114, 105122. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2021.105122>
 8. Fadaly, W. A. A., Elshaier, Y. A. M. M., Hassanein, E. H. M., & Abdellatif, K. R. A. (2020). New 1,2,4-Triazole/pyrazole hybrids linked to oxime moiety as nitric oxide donor celecoxib analogs: Synthesis, cyclooxygenase inhibition anti-inflammatory, ulcerogenicity, anti-proliferative activities, apoptosis, molecular modeling and nitric oxide release studies. *Bioorganic Chemistry*, 98, 103752. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103752>
 9. Bian, M., Ma, Q. Q., Wu, Y., Du, H. H., & Guo-Hua, G. (2021). Small molecule compounds with good anti-inflammatory activity reported in the literature from 01/2009 to 05/2021: a review. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 36(1), 2139-2159. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1984903>
 10. Azim, T., Wasim, M., Akhtar, M. S., & Akram, I. (2021). An in vivo evaluation of anti-inflammatory, analgesic and anti-pyretic activities of newly synthesized 1, 2, 4 Triazole derivatives. *BMC complementary medicine and therapies*, 21(1), 304. <https://doi.org/10.1186/s12906-021-03485-x>
 11. Fedotov, S. O., Hotsulia, A. S. (2021). Synthesis and properties of S-derivatives of 4-amino-5-(5-methylpyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 14(3), 268-274. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.3.243176>
 12. Fedotov, S. O., & Hotsulia, A. S. (2023). Synthesis and properties of S-alkyl 4-amino-5-(5-(3-fluorophenyl)-pyrazol-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 16(1), 5-11. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.1.273461>
 13. Fedotov, S. O., Hotsulia A. S. (2023). Synthesis and properties of 6-(2,6-dichlorophenyl)-3-(3-methyl-1H-pyrazol-5-yl)-6,7-dihydro-5H-[1,2,4]triazolo[3,4-b][1,3,4]thiadiazine-7-carboxylic acid and its salts. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2(42), 121-129. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2023.2.279460>
 14. Pryimenko, A. O., Vasyliiev, D. A., Kazunin, M. S., Pryimenko, B. O., Samura, I. B., & Prytula, R. L. (2015). Syntez, fizyko-khimichni vlastyvoli ta analhetychna diia amoniinykh solei 8-(hidroksymetyl)-3-metyl-1H-puryn-2,6-(3H,7H)-dionu [Synthesis, physicochemical properties and analgesic effect of ammonium salts of 8-(hydroxymethyl)-3-methyl-1H-purine-2,6-(3H,7H)-dione]. *Problemy viiskovoi okhorony zdorovia*, 43, 239-246. [in Ukrainian].
 15. Stefanov, O. V. (2001). *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv*. [Preclinical studies of drugs: guidelines]. Kyiv: Avitsenna. [in Ukrainian].
 16. Yam, M. F., Loh, Y. C., Oo, C. W., & Basir, R. (2020). Overview of Neurological Mechanism of Pain Profile Used for Animal "Pain-Like" Behavioral Study with Proposed Analgesic Pathways. *International journal of molecular sciences*, 21(12), 4355. <https://doi.org/10.3390/ijms21124355>