

---

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

# **Contribuții la obținerea unor compuși poliheterociclici cu activitate antiinflamatoare**

---

Doctorand **Alexandra Toma**

---

Conducător de doctorat **Prof. Dr. Valentin Zaharia**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## CUPRINS

<b>INTRODUCERE</b>	11
<b>STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII</b>	
<b>1. Compuși cu structură 1,3,4-oxadiazolică</b>	15
1.1. Metode de sinteză a compușilor 1,3,4-oxadiazolici	15
1.2. Compuși 1,3,4-oxadiazolici cu potențial biologic	17
<b>2. Compuși cu structură 1,3,4-tiadiazolică</b>	21
2.1. Metode de sinteză a compușilor 1,3,4-tiadiazolici	21
2.2. Compuși 1,3,4-tiadiazolici cu potențial biologic	23
<b>3. Compuși cu structură 1,2,4-triazolică</b>	27
3.1. Metode de sinteză a compușilor 1,2,4-triazolici	27
3.2. Compuși 1,2,4-triazolici cu potențial biologic	31
<b>4. Concluzii</b>	37
<b>CONTRIBUȚIA PERSONALĂ</b>	
<b>1. Ipoteza de lucru. Obiective</b>	41
<b>2. Metodologie generală</b>	43
<b>3. Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor tioeteri cu structură piridil-azolică</b>	45
3.1. Introducere	45
3.2. Ipoteza de lucru. Obiective	46
3.3. Sinteza și caracterizarea piridil-mercapto-azolilor și a tioeterilor corespunzători	47
3.3.1. Material și metodă	47
3.3.2. Rezultate și discuții	49
3.3.3. Partea experimentală	54
3.4. Evaluarea activității antiinflamatoare a tioeterilor cu structură piridil-azolică	60
3.4.1. Material și metodă	60
3.4.2. Rezultate și discuții	60
3.5. Evaluarea lipofiliei tioeterilor cu structură piridil-azolică	62
3.5.1. Material și metodă	63
3.5.2. Rezultate și discuții	63
3.6. Concluzii	71
<b>4. Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor baze Schiff și baze Mannich cu structură piridil-1,2,4-triazolică</b>	73
4.1. Introducere	73
4.2. Ipoteza de lucru. Obiective	74
4.3. Sinteza și caracterizarea piridil-1,2,4-triazolilor, a bazelor Schiff și a bazelor Mannich	75
4.3.1. Material și metodă	75

4.3.2. Rezultate și discuții	78
4.3.3. Partea experimentală	81
4.4. Evaluarea activității antiinflamatoare a bazelor Schiff și a bazelor Mannich	88
4.4.1. Material și metodă	88
4.4.2. Rezultate și discuții	88
4.5. Evaluarea lipofiliei bazelor Schiff și a bazelor Mannich	91
4.5.1. Material și metodă	91
4.5.2. Rezultate și discuții	92
4.6. Concluzii	106
<b>5. Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor piridil-tiazolo [3,2-b][1,2,4]triazoli</b>	<b>107</b>
5.1. Introducere	107
5.2. Ipoteza de lucru. Obiective	108
5.3. Sinteza și caracterizarea piridil-1,2,4-triazolilor, a tioeterilor și a tiazolo-triazolilor corespunzători	109
5.3.1. Material și metodă	109
5.3.2. Rezultate și discuții	110
5.3.3. Partea experimentală	116
5.4. Evaluarea activității antiinflamatoare	123
5.4.1. Material și metodă	123
5.4.2. Rezultate și discuții	123
5.5. Evaluarea lipofiliei	127
5.5.1. Material și metodă	127
5.5.2. Rezultate și discuții	127
5.6. Concluzii	132
<b>6. Concluzii generale</b>	<b>135</b>
<b>7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei</b>	<b>137</b>
<b>REFERINȚE</b>	<b>139</b>

**Cuvinte cheie:** 1,3,4-oxadiazol, 1,3,4-tiadiazol, 1,2,4-triazol, piridină, tioeteri, baze Schiff, baze Mannich, tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoli, lipofilie, activitate antiinflamatoare

## INTRODUCERE

Compușii heterociclici au un potențial farmacologic foarte bine cunoscut și exploatat în sinteza de noi molecule bioactive. În plus, studiul compușilor poliheterociclici cu nuclee izolate și condensate cunoaște o dezvoltare considerabilă datorită faptului că noile sisteme heterociclice prezintă proprietăți fizice, chimice și farmacologice proprii, proprietăți caracteristice sistemelor heterociclice care intră în constituția lor, precum și proprietăți noi, datorate influenței reciproce dintre heterociclii constituenți.

Antiinflamatoarele nesteroidiene reprezintă o clasă de medicamente des utilizate în terapia proceselor inflamatorii. Dezavantajul major al AINS este reprezentat de reacțiile adverse de la nivel gastric, cum sunt ulcerul gastro-duodenal, hemoragiile digestive și chiar perforații gastrice. Din acest punct de vedere, cercetările moderne din domeniul chimiei compușilor poliheterociclici prezintă un real interes pentru sinteza de noi molecule cu proprietăți antiinflamatoare superioare și cu risc gastric scăzut.

Compușii poliheterociclici sintetizați în cadrul cercetărilor efectuate pentru elaborarea tezei de doctorat conțin în molecula lor nucleele 1,3,4-oxadiazolic, 1,3,4-tiadiazolic, 1,2,4-triazolic, precum și sistemul heterociclic tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazolic, structuri azolice cunoscute pentru potențialul lor antiinflamator. Pe lângă aceste structuri, s-au introdus în molecula compușilor sintetizați nucleele 1,3-tiazolic și piridinic, sisteme heterociclice cu un potențial farmacologic important, precum și o serie de grupe funcționale.

Având în vedere aceste considerente, s-au sintetizat compuși poliheterociclici cu nuclee izolate și condensate (tioeteri, baze Schiff, baze Mannich, compuși tiazolo[3,2,-b][1,2,4]triazolici) care conțin în moleculă nucleele mai sus amintite. Compușii astfel obținuți au fost purificați, au fost caracterizați din punct de vedere fizico-chimic și au fost testați pentru evaluarea activității antiinflamatoare.

## CONTRIBUȚII PERSONALE

### **Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor tioeteri cu structură piridil-azolică**

#### ***Ipoteza de lucru. Obiective***

Tioeterii se obțin prin reacția compușilor halogenați cu sulfuri alcaline sau cu mercaptide alcaline. O variantă a acestor reacții generale, întâlnită frecvent în literatura de specialitate, este reacția compușilor tiolici cu compuși halogenați cu reactivitate normală sau mărită, în mediu bazic.

După cum am menționat anterior, există studii recente care evidențiază potențialul antiinflamator al nucleelor azolice. Sistemul heterociclic tiazolic și cel piridinic prezintă un potențialul farmacologic binecunoscut, aceste sisteme fiind prezente atât în compuși naturali, cât și în compuși de sinteză de aceea am considerat că prezența acestor sisteme în structura compușilor sintetizați poate fi utilă din punct de vedere farmacologic.

Luând în considerare aceste date, ne-am propus sinteza unor tioeteri derivați de mercapto-1,3,4-oxadiazol, de mercapto-1,3,4-tiadiazol și de mercapto-1,2,4-triazol, caracterizarea fizico-chimică a acestora și evaluarea potențialului lor antiinflamator.

#### ***Sinteza și caracterizarea piridil-mercapto-azolilor și a tioeterilor corespunzători***

#### **Material și metodă**

Prin reacția hidrazidei izonicotinice cu diverși parteneri de reacție s-au obținut precursorii piridil-mercapto-azolici (fig.1, fig.2, fig.3).

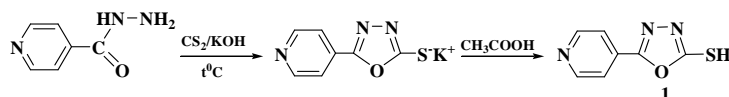


Fig.1. Sinteza 5-(piridin-4-il)-1,3,4-oxadiazol-2-tiolului (1)

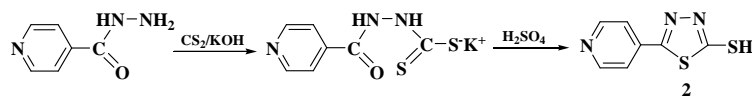


Fig.2. Sinteza 5-(piridin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-tiolului (2)

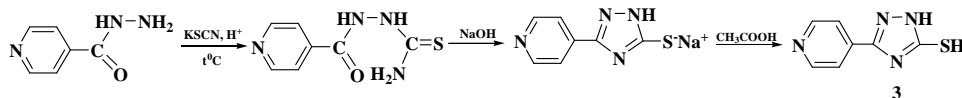


Fig.3. Sinteza 5-(piridin-4-il)-1,2,4-triazol-3-tiolului (3)

Prin reacția precursorilor piridil-mercapto-azolici cu halogenuri de alchil și o serie de 2-aril-4-clorometiltiazoli, s-au obținut tioeterii corespunzători (5a-j, 5a,b, 5f-i, 5k, 6a,b, 6g-h și 6j-k), conform figurii 4.

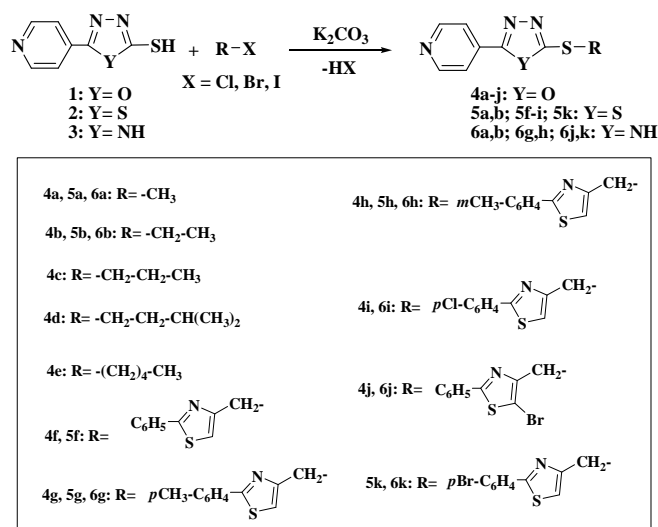


Fig.4. Obținerea tioeterilor cu structură piridil-azolică

## Rezultate și discuții

5-(Piridin-4-il)-1,3,4-oxadiazol-2-tiolul (1) s-a obținut prin reacția de ciclizare a hidrazidei izonicotinice cu sulfură de carbon. Reacția decurge la cald și în mediu bazic (KOH).

5-(Piridin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-tiolul (2) s-a obținut în două etape. În prima etapă s-a sintetizat piridil-ditiocarbazonatul de potasiu prin reacția hidrazidei izonicotinice cu sulfura de carbon, în mediu bazic și la temperatura camerei, iar în etapa următoare, piridil-ditiocarbazonatul de potasiu s-a ciclizat sub acțiunea acidului sulfuric concentrat la temperatura camerei când s-a obținut 5-(piridin-4-il)-1,3,4-tiadiazol-2-tiolul.

5-(Piridin-4-il)-1,2,4-triazol-3-tiolului (3) s-a sintetizat prin reacția de ciclizare a piridilcarbonil-tiosemicarbazidei cu hidroxid de sodiu 10%, la cald. Piridilcarbonil-tiosemicarbazida s-a obținut prin reacția hidrazidei izonicotinice cu tiocianatul de potasiu, în mediu acid, la încălzire.

Tioeterii cu structură piridil-azolică s-au obținut prin reacția piridil-mercapto-azolilor corespunzători cu compuși halogenați alifatici și heteroaromatici. Reacția s-a efectuat în prezența carbonatului de potasiu, la temperatura camerei.

Toți compușii sintetizați au fost caracterizați prin analiză spectrală: IR, RMN și MS.

## ***Evaluarea activității antiinflamatoare a tioeterilor cu structură piridil-azolică***

### **Material și metodă**

Activitatea antiinflamatoare a fost evaluată prin metoda edemului labei de șobolan indus de caragenină 1%. Diclofenacul a fost folosit drept substanță de referință în doză de 20 mg/kg corp. Tioeterii evaluați au fost administrați în doză de 50 mg/kg corp.

### **Rezultate și discuții**

Rezultatele obținute în urma evaluării activității antiinflamatoare sunt exprimate în procent de inhibiție al edemului, precum și în volum al edemului (medie±SD). Trei dintre compușii testați (**4a**, **5f**, **5h**) prezintă o activitate antiinflamatoare mai mare decât cea a diclofenacului. Compușul **4a** conține nucleul 1,3,4-oxadiazolic, iar compușii **5f** și **5h** conțin nucleul 1,2,4-tiadiazolic.

## ***Evaluarea lipofiliei tioeterilor cu structură piridil-azolică***

### **Material și metodă**

Lipofilia compușilor investigați s-a determinat prin cromatografie pe strat subțire cu fază inversă (RP-TLC). S-au folosit ca fază mobilă un amestec de izopropanol și apă în cinci concentrații diferite (45%, 50%, 55%, 60% și 65% izopropanol), iar ca fază staționară placuțe standard 20x10 cm RP-18-F245s (Merck).

### **Rezultate și discuții**

Pe baza cromatogramelor obținute s-a calculat factorul de retenție (**R<sub>f</sub>**) cu ajutorul căruia s-a determinat factorul de retenție izocratic (**R<sub>M</sub>**). Între valorile **R<sub>M</sub>** și concentrația componentei organice din faza mobilă există o dependență liniară ceea ce a permis obținerea unui alt parametru care caracterizează lipofilia, **R<sub>M0</sub>**. S-a aplicat analiza componentelor principale (PCA) asupra datelor de retenție. Astfel, s-au obținut scoruri (**PC1**, **PC2**, **PC3**) pe baza cărora s-au reprezentat grafic hărțile de lipofilie (hărți bidimensionale) și spațiile de lipofilie (hărți tridimensionale). Ambele tipuri de hărți împart compușii în grupe diferite în funcție de asemănările lor structurale și de caracterul lor lipofil asemănător.

S-au determinat o serie de alți parametri care caracterizează lipofilia cum sunt indicele cromatografic de hidrofobicitate (**φ<sub>0</sub>**) și media valorilor **R<sub>M</sub>** (**mR<sub>M</sub>**).

Toți acești parametri cromatografici ai lipofiliei au fost corelați cu indici teoretici estimați computațional.

### **Concluzii**

S-au sintetizat 3 precursori mercapto-azolici și 23 de tioeteri cu structură piridil-azolică, dintre care 19 sunt compuși noi, neraportați în literatura de specialitate. Formarea acestora confirmă superioritatea caracterului nucleofil al atomului de sulf din grupa tiolică față de caracterul nucleofil al atomului de azot din nucleele azolice. Structurile tuturor compușilor au fost confirmate prin analiză spectrală (IR, <sup>1</sup>H RMN, <sup>13</sup>C RMN, SM).

Trei dintre tioeterii testați prezintă o activitate antiinflamaotare superioară diclofenacului.

Lipofilia tioeterilor cu structură piridil-azolică a fost determinată prin RP-TLC. Parametrii cromatografici au fost comparați cu indici teoretici ai lipofiliei estimați computațional. Analiza componentelor principale a permis gruparea compușilor investigați în funcție de lipofilie și de elementele structurale existente în moleculă.

## Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor baze Schiff și baze Mannich

### *Ipoteza de lucru. Obiective*

Bazele Schiff sunt derivați funcționali azotați ai alchidelor și cetonelor. Cele mai importante sunt bazele Schiff ale aminelor aromatice și heteroaromatice, deoarece cele alifatice suferă ușor procese de polimerizare. Bazele Mannich se obțin prin condensarea formaldehidei cu amine secundare și compuși cu hidrogen mobil în cataliză acidă. Varianta clasică a reacției de formare a bazelor Mannich utilizează drept componentă cu hidrogen mobil cetonele. Alte variante ale reacției Mannich utilizează cetonele în locul formaldehidei, dar și compuși heterociclici drept componente cu hidrogen mobil.

Având în vedere potențialul biologic al bazelor Schiff, al bazelor Mannich ca și cel al nucleelor piridinice, triazolic și tiazolic, ne-am propus sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor baze Schiff și baze Mannich.

### *Sinteza și caracterizarea fizico-chimică a piridil-1,2,4-triazolilor, a bazelor Schiff și a bazelor Mannich*

#### Material și metodă

Precursorii piridil-triazolici au fost obținuți pornind de la hidrazida izonicotinică prin reacția acesteia cu diferiți parteneri de reacție (fig.5, fig.6). Prin reacția de condensare a 4-amino-piridil-mercapto-triazolului (7) cu o serie de aldehide heterociclice s-au obținut bazele Schiff **11f-i**, **11k** și **11l** (fig.7). Printr-o reacție de aminometilare s-au sintetizat bazele Mannich **12f-i**, **12k**, **12l**, **13f**, **13h**, **13i**, **13l**, **14**, **15**, **16** și **17** (fig.7).

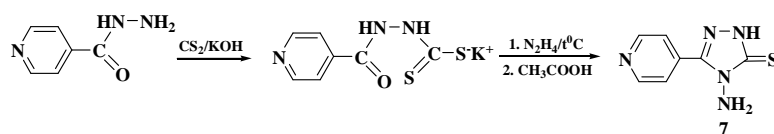


Fig.5. Sinteza 4-amino-5-(piridin-4-il)- 1,2,4-triazol-3-tionei (7)

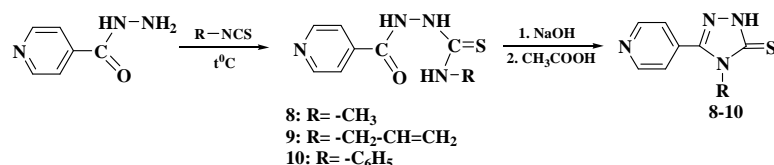
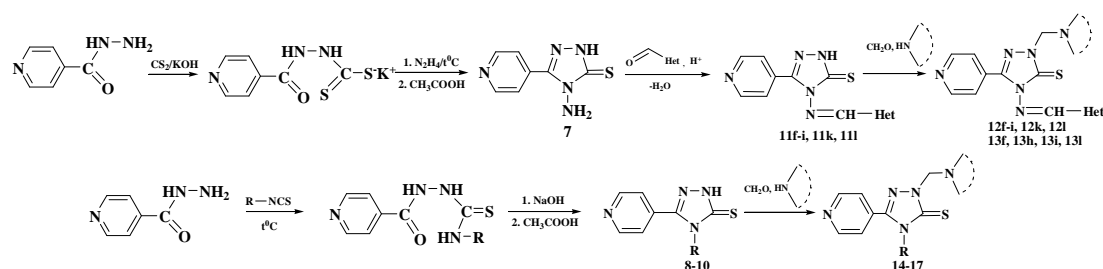


Fig. 6. Sinteza mercapto-triazolilor 8-10




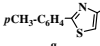

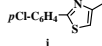


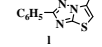












Compusul	Het	Compusul	R	-N-	
11f-i, 11k, 11l 12f-i, 12k, 12l 13f, 13h, 13i, 13l	 f	 g	8	-CH <sub>3</sub>	-
	 h	 i	9		-
	 k	 l	10		-
Compusul		14	-CH <sub>3</sub>		
		15			
12f-i, 12k, 12l		16			
13f, 13h, 13i, 13l		17			

Fig. 7. Sinteza bazelor Schiff și a bazelor Mannich

## Rezultate și discuții

Prin reacția hidrazidei izonicotinice cu sulfura de carbon în mediu bazic, urmată de ciclizarea ditiocarbazatului de potasiu în prezență de hidrazina s-a obținut 4-amino-1,2,4-triazolul. Adiția nucleofilă a izoniazidei la o serie de izotiocianați a permis formarea aciltiosemicarbazidelor corespunzătoare. Acestea prin încălzire cu hidroxid de sodiu și apoi acidulare au fost transformate în 1,2,4-triazolii 8, 9 și 10. Condensarea 4-amino-piriril-1,2,4-triazolului cu aldehide tiazolice și cu o aldehydă tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazolică a condus la obținerea bazele Schiff. Prin reacția bazelor Schiff cu formaldehida și cu amine secundare ciclice – piperidina și piperidina – s-au sintetizat bazele Mannich corespunzătoare, Mercapto-triazolii 8-10 au fost transformați în bazele Mannich corespunzătoare 14-17, cu aceiași parteneri de reacție.

Structurile tuturor compușilor au fost caracterizate prin analiză spectrală (IR, RMN și MS).

### *Evaluarea activității antiinflamatoare a bazelor Schiff și a bazelor Mannich*

#### Material și metodă

Metoda edemului labei de șobolan indus de caragenină 1% a fost utilizată pentru evaluarea activității antiinflamatoare. Diclofenacul a fost folosit drept substanță de referință în doză de 20 mg/kg corp. Compușii evaluați au fost administrați în doză de 20 mg/kg corp.

## Rezultate și discuții

Conform rezultatelor obținute, compușii **15**, **13i** și **13l** prezintă o activitate antiinflamatoare mai bună decât cea a diclofenacului, înregistrată la o oră de la inducerea inflamației. Compușii **11l**, **12g** și **12i** prezintă o activitate antiinflamatoare comparabilă cu cea a diclofenacului la două și la trei ore de la inducerea inflamației. Compușii **11h** și **13f** prezintă o acțiune antiinflamatoare rapidă, dar de scurtă durată. Majoritatea acestor compuși prezintă elementele structurale ale bazelor Schiff cât și ale bazelor Mannich.

### *Evaluarea lipofilie bazelor Schiff și bazelor Mannich*

#### Material și metodă

Lipofilia compușilor investigați s-a determinat prin cromatografie pe strat subțire cu fază inversă (RP-TLC). S-au folosit ca trei faze mobile diferite. Prima fază mobilă este alcătuită dintr-un amestec de metanol și tampon fosfat în concentrații de 50%, 60%, 70%, 80% și 90% metanol, a doua fază mobilă este alcătuită dintr-un amestec de metanol care conține 10% butanol și tampon fosfat în concentrații de 50%, 60%, 70%, 80% și 90% metanol+10% butanol, iar a treia fază mobilă este alcătuită dintr-un amestec de metanol care conține 10% octanol și tampon fosfat în concentrații de 50%, 60%, 70%, 80% și 90% metanol+10% octanol.

## Rezultate și discuții



S-au determinat o serie de parametrii cromatografici:  $R_M$ ,  $R_{M0}$ ,  $\varphi_0$ ,  $mR_M$ . S-a aplicat analiza componentelor principale (PCA) asupra datelor de retenție. Astfel, s-au obținut scoruri (**PC1, PC2, PC3**) pe baza cărora s-au reprezentat grafic hărțile de lipofilie (hărți bidimensionale) și spațiile de lipofilie (hărți tridimensionale). Ambele tipuri de hărți împart compușii în grupe diferite în funcție de caracterul lor lipofil asemănător.

Toți acești parametrii cromatografici ai lipofiliei au fost corelați cu indici teoretici estimați computațional. Prin adaosul de butanol în faza mobilă s-a observat o îmbunătățire a corelațiilor între parametrii experimentali și indicii determinați teoretic.

### **Concluzii**

S-au sintetizat 4 precursori piridil-triazolici, 6 baze Schiff și 14 baze Mannich. Structurile tuturor compușilor au fost confirmate prin analiza spectrală.

Dintre toți compușii testați pentru evaluarea potențialului lor antiinflamator, nouă compuși prezintă activitate antiinflamatoare comparabilă cu cea a substanței de referință (diclofenacul). Majoritatea acestor compuși prezintă structura atât a bazelor Schiff, cât și a bazelor Mannich.

Lipofilia bazelor Schiff, a bazelor Schiff-Mannich și a bazelor Mannich a fost determinată prin utilizarea RP-TLC. S-a determinat influența unor alcooli superiori (butanol, octanol) adăgați în proporție de 10% în faza mobilă asupra lipofiliei. Adaosul de butanol în faza mobilă îmbunătățește corelații între parametrii experimentali și indicii determinați teoretic, în timp ce adaosul de octanol nu duce la o îmbunătățire a acestora.

Prin reprezentarea grafică a scorurilor obținute după primele două/primele trei componente principale au fost realizate hărțile de lipofilie/spațiile de lipofilie care împart compușii în grupe diferite, în funcție de lipofilie și de particularitățile lor structurale.

### **Sinteza, caracterizarea fizico-chimică și evaluarea proprietăților antiinflamatoare ale unor piridil-tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoli**

#### ***Ipoteza de lucru. Obiective***

Sistemul tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazolic este constituit din nucleul 1,3-tiazolic și cel 1,2,4-triazolic condensate pe latura 3-2, respectiv b. O variantă de obținere a sistemului tiazolo-triazolic este reacția de condensare de tip Hantzsch, a mercapto-1,2,4-triazolilor cu halogenocarbonili. Luând în considerare potențialul biologic al compușilor tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazolici, în continuarea cercetărilor noastre în acest domeniu, ne-am propus sinteza unor compuși cu structură tiazolo-triazolică în care am introdus resturile 3-piridil și 4-piridil. Aceasta pentru a vedea în ce măsură resturile de piridină influențează desfășurarea reacțiilor de obținere, comportarea fizico-chimică și biologică a compușilor, având în vedere că nucleul piridinic apare frecvent în substanțe bioactive.

#### ***Sinteza piridil-1,2,4-triazolilor, a tioeterilor, respectiv tiazolo-triazolilor corespunzători***

#### **Material și metodă**

Precursorii 3/4-piridil-triazolici s-au obținut prin aceeași succesiune de reacții pornind de la hidrazida izonicotinică (fig.3), respectiv nicotinatul de etil (fig.8). Prin reacția precursorii 3/4-piridil-triazolici cu o serie de compuși  $\alpha$ -halogenocarbonilici s-au obținut tioeterii corespunzători care printr-o reacție de ciclizare în mediu de acid sulfuric concentrat au fost transformați în compușii tiazolo-triazolici (fig.9).

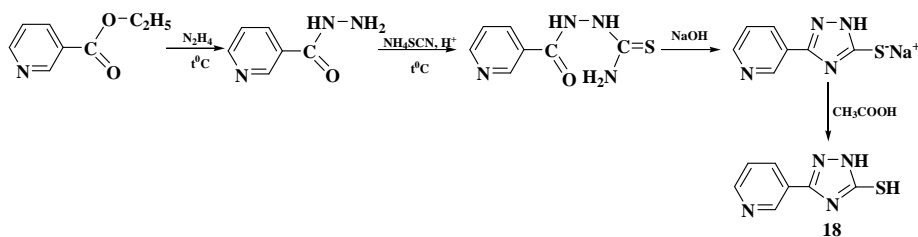
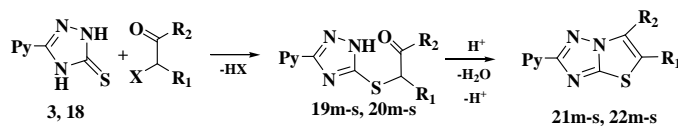


Fig.8. Sinteza 5-(piridin-3-il)-1,2,4-triazol-3-tiolul (18)



Compus	R	R <sub>1</sub>	Compus	Py
19-22m	CH <sub>3</sub>	H	3, 19m-s, 21m-s	
19-22n	CH <sub>2</sub> Cl	H		
19-22o	CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	18, 20m-s, 22m-s	
19-22p	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H		
19-22q	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H		
19-22r	CH <sub>3</sub>	COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>		
19-22s	CH <sub>2</sub> COOC <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H		

Fig.9. Sinteza tioeterilor (19m-s, 19m-s) și a tiazolo-triazolilor corespunzători (21m-s, 22m-s)

## Rezultate și discuții

Sinteza 5-(Piridin-4-il)-1,2,4-tiazol-3-tiolului (3) a fost detaliată în cadrul capitolului Sinteza și caracterizarea piridil-mercapto-azolilor și a tioeterilor corespunzători.

5-(Piridin-3-il)-1,2,4-tiazol-3-tiolului (18) s-a obținut prin reacția hidrazidei nicotinică cu tiocianatul de amoniu în mediu bazic și la încălzire, urmată de ciclizarea la cald în prezență de hidroxid de sodiu a 3-piridilcarbonil-tiosemicarbazidei. Hidrazida nicotinică a fost obținută prin reacția nicotinatului de etil cu hidrazina.

Prin reacția precursorilor piridil-triazolici cu compuși halogenocarbonilici s-au obținut direct tiazolo-triazolii, dacă reacția s-a efectuat în cataliză acidă la cald, sau prin intermediul tioeterilor dacă reacția s-a efectuat la temperatura camerei. În acest caz, ciclizarea a avut loc prin tratarea tioeterilor cu acid sulfuric concentrat. În cazul variantei de sinteză la cald, s-a constatat o decarboxilare concomitentă ciclizării, în cazul utilizării 2-cloroacetatului de etil, respectiv 4-cloroacetatului de etil, produșii de reacție fiind identici cu cei obținuți prin condensarea mercapto-triazolilor cu monocloroacetona.

Structurile tuturor compușilor au fost confirmate prin analiză spectrală.

### *Evaluarea activității antiinflamatoare*

#### Material și metodă

Activitatea antiinflamatoare a fost evaluată prin metoda edemului labei de șobolan indus de caragenină 1% utilizând diclofenacul drept substanță de referință în doză de 20 mg/kg corp. Compușii evaluați au fost administrați în doză de 50 mg/kg corp.

#### Rezultate și discuții

Rezultatele evaluării activității antiinflamatoare au evidențiat faptul că la o oră de la inducerea inflamației majoritatea compușilor prezintă activitate antiinflamatoare diclofenacului. Tioeterii prezintă o activitate rapidă și de scurtă durată, în schimb tiazolo-triazolii își prăstresă activitatea antiinflamatoare și la două ore de la inducerea procesului antiinflamator. Compușii ce prezintă restul 4-piridil sunt mai activi decât cei care conțin restul 3-piridil.

## ***Evaluarea lipofiliei***

### ***Material și metodă***

Compușii investigați au fost evaluați pentru caracterul lor lipofil prin RP-TLC. S-au folosit ca fază mobilă un amestec de metanol și apă în cinci concentrații diferite (55%, 60%, 65%, 70% și 75% izopropanol).

### **Rezultate și discuții**

Prin prelucrarea datelor obținute în urma RP-TLC s-au obținut o serie de parametrii cromatografici care descriu lipofilia  $R_M$ ,  $R_{M0}$ ,  $\varphi_0$ ,  $mR_M$ , iar prin aplicarea analizei componentelor principale asupra datelor de retenție s-au determinat scorurile PC1, PC2 și PC3.

Parametrii cromatografici au fost corelați cu o serie de indici teroterici estimați computațional, corelațiile obținute fiind semnificative.

### ***Concluzii***

S-au obținut 14 tioeteri 1,2,4-triazolici și 14 tiazolo-triazoli.

Structurile compușilor au fost confirmate prin analiză spectrală.

Dintre compușii testați în vederea evaluării activității lor antiinflamatoare, trei compuși tiazolo-triazolici cu un rest piridin-4-il în moleculă au prezentat o activitate antiinflamatoare bună, comparabilă cu cea a diclofenacului (**21o**, **21p** și **21r**). Doi compuși tiazolo-triazolici cu rest piridin-4-il (**21m** și **21s**) și doi cu rest piridin-3-il (**22p** și **22r**) prezintă o activitate antiinflamatoare moderată. De asemenea, s-a constatat o activitate rapidă, dar de scurtă durată în cazul unor tioeteri (**19o**, **19r**, **19s**, **20p**, **20r** și **20s**).

Analiza PCA a permis împărțirea compușilor în grupe diferite în funcție de lipofilia lor.

### **Concluzii generale**

S-au obținut și caracterizat din punct de vedere fizico-chimic:

- 8 precursori piridil-azolici ;
- 23 de tioeteri cu structură piridil-1,3,4-oxadiazolică, piridil-1,3,4-tiadiazolică și piridil-1,2,4-triazolică, dintre care 19 compuși sunt noi, neraportați în literatura de specialitate;
- 6 baze Schiff noi cu structură piridil-1,2,4-triazolică;
- 14 baze Mannich cu structură piridil-1,2,4-triazolică, dintre care 11 compuși sunt noi, neraportați literatura de specialitate;
- 7 tioeteri și 7 tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoli noi cu rest piridin-4-il-1,2,4-triazolic;
- 7 tioeteri și 7 tiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoli cu rest piridin-3-il-1,2,4-triazolic, dintre care 13 compuși sunt noi, neraportați în literatura de specialitate.

Structurile tuturor compușilor au fost confirmate prin analiză spectrală (IR, RMN, MS).

Dintre toți compușii testați pentru activitatea antiinflamatoare, 12 prezintă o activitate antiinflamatoare semnificativă, comparabilă cu cea a diclofenacului.

Datorită faptului că acțiunea unei substanțe depinde și de lipofilia acesteia, s-a evaluat caracterul lipofil al compușilor sintetizați utilizând RP-TLC. Parametrii cromatografici experimentali au fost corelați cu o serie de indici teoretici determinați prin metode computaționale. Aplicarea analizei componentelor principale asupra datelor de retenție a permis clasificarea compușilor în grupe de lipofilie. Cu ajutorul primelor două, respectiv trei scoruri s-au reprezentat hărțile de lipofilie, respectiv spațiile de lipofilie.

---

*PhD THESIS SUMMARY*

# **Contribution to obtain some polyheterocyclic compounds with anti-inflammatory activity**

---

PhD Student **Alexandra Toma**

---

PhD Supervisor **Prof. Dr. Valentin Zaharia**

---



**UMF**  
UNIVERSITATEA DE  
MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
IULIU HAȚIEGANU  
CLUJ-NAPOCA

## TABLE OF CONTENTS

<b>INTRODUCTION</b>	11
<b>THE CURRENT STATE OF KNOWLEDGE</b>	
<b>1. Compounds with 1,3,4-oxadiazole structure</b>	15
1.1. Synthesis methods of 1,3,4-oxadiazole compounds	15
1.2. 1,3,4-Oxadiazole compounds with biological potential	17
<b>2. Compounds with 1,3,4-thiadiazole structure</b>	21
2.1 Synthesis methods of 1,3,4-thiadiazole compounds	21
2.2. 1,3,4-Thiadiazole compounds with biological potential	23
<b>3. Compounds with 1,2,4-triazole structure</b>	27
3.1. Synthesis methods of 1,2,4-triazole compounds	27
3.2. 1,2,4-triazole compounds with biological potential	31
<b>4. Conclusions</b>	37
<b>PERSONAL CONTRIBUTIONS</b>	
<b>1. Hypothesis. Objectives</b>	41
<b>2. General methodology</b>	43
<b>3. Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some thioethers with pyridyl-azole structure</b>	45
3.1. Introduction	45
3.2. Hypothesis. Objectives	46
3.3. Synthesis and characterization of pyridyl-mercapto-azoles and their corresponding thioethers	47
3.3.1. Material and method	47
3.3.2. Results and discussions	49
3.3.3. Experimental protocols	54
3.4. Evaluation of anti-inflammatory activity of thioethers with pyridyl-azole structure	60
3.4.1. Material and method	60
3.4.2. Results and discussions	60
3.5. Lipophilicity evaluation of thioethers with pyridyl-azole structure	62
3.5.1. Material și metodă	63
3.5.2. Results and discussions	63
3.6. Conclusions	71
<b>4. Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some Schiff bases and Mannich bases with pyridyl-1,2,4-triazole structure</b>	73
4.1. Introduction	73
4.2. Hypothesis. Objectives	74
4.3. Synthesis and characterization of pyridyl-1,2,4-triazoles, Schiff bases and Mannich bases	75
4.3.1. Material and method	75

4.3.2. Results and discussions	78
4.3.3. Experimental protocols	81
4.4. Evaluation of anti-inflammatory activity of Schiff bases and Mannich bases	88
4.4.1. Material and method	88
4.4.2. Results and discussions	88
4.5. Lipophilicity evaluation of Schiff bases and Mannich bases	91
4.5.1. Material and method	91
4.5.2. Results and discussions	92
4.6. Conclusions	106
<b>5. Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some pyridyl-thiazolo [3,2-b][1,2,4]triazoles</b>	107
5.1. Introduction	107
5.2. Hypothesis. Objectives	108
5.3. Synthesis and characterization of pyridyl-1,2,4-triazoles, their corresponding thioetheral and thiazolo-triazoles	109
5.3.1. Material and method	109
5.3.2. Results and discussions	110
5.3.3. Experimental protocols	116
5.4. Evaluation anti-inflammatory activity	123
5.4.1. Material and method	123
5.4.2. Results and discussions	123
5.5. Lipophilicity evaluation	127
5.5.1. Material and method	127
5.5.2. Results and discussions	127
5.6. Conclusions	132
<b>6. General conclusions</b>	135
<b>7. The originality and innovative contributions of the thesis</b>	137
<b>REFERENCES</b>	139

**Keywords:** 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,2,4-triazole, pyridine, thioethers, Schiff bases, Mannich bases, thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles, lipophilicity, anti-inflammatory activity

## INTRODUCTION

Polyheterocyclic compounds have a well-known pharmacological potential which is exploited in the synthesis of new bioactive molecules. Furthermore, the study of polyheterocyclic compounds with isolated and condensed rings knows a considerable growth due to the fact that these molecules possess not only physical, chemical and pharmacological properties owned by the heterocyclic rings themselves, but also new properties that appear because of the reciprocal influence which exists between the contained heterocycles.

NSAIDs are a class of drugs commonly used in the therapy of inflammatory processes. The major disadvantage of NSAIDs is the level of gastric side effects such as peptic ulcer, gastrointestinal bleeding and even gastric perforation. From this point of view, the modern research in polyheterocyclic compounds present a real interest for the synthesis of new molecules with higher anti-inflammatory properties and lower risk of gastric side effects.

Polyheterocyclic compounds synthesized in the present thesis research contain 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole, 1,2,4-triazole and thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole systems, azoles known for their anti-inflammatory potential. In addition to these structures, we introduced other heterocyclic systems known for their pharmacological potential, such as 1,3-thiazole and pyridine rings, as well as a series of functional groups.

Taking into consideration all this data, we synthesized polyheterocyclic compounds with isolated and condensed rings (thioethers, Schiff bases, Mannich bases, thiazolo [3,2-b][1,2,4] triazole compounds) which contain the above mentioned heterocyclic systems. All compounds were purified, physico-chemical characterized and tested for their anti-inflammatory activity.

## PERSONAL CONTRIBUTIONS

### Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some thioethers with pyridyl-azole structure

#### *Hypothesis. Objectives*

Thioethers are obtained by the reaction of halogenated compounds with alkali sulfides or alkali mercaptides. A version of these general reactions, frequently seen in literature, is the reaction of thiol compounds with normal or increased reactivity halogenated compounds in alkaline conditions

As previously mentioned, there are recent studies that highlight the anti-inflammatory potential of azolic systems. Heterocyclic systems such as thiazole and pyridine have a well-known pharmacological potential, these systems being present in both natural and synthetic compounds. Due to this fact, we considered that the presence of these systems could be useful for the pharmacological activity.

Considering these data, our aim is the synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory activity of some thioethers derived from mercapto-1,3,4-oxadiazole, mercapto-1,3,4-thiadiazole and mercapto-1,2,4-triazole.

#### *Synthesis and characterization of pyridyl-mercapto-azoles and their corresponding thioethers*

#### **Material and method**

Reaction of isonicotinic hydrazide with different reaction partners led to the synthesis of pyridyl-azole precursors (fig.1, fig.2, fig.3).

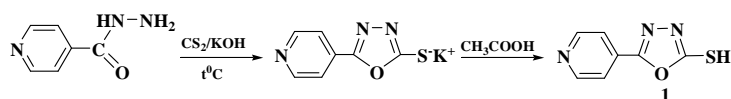


Fig.1. Synthesis of 5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-oxadiazole-2-thiole (1)

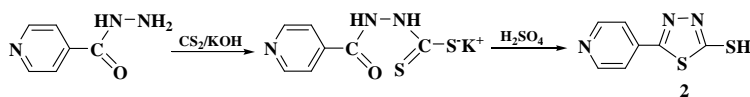


Fig.2. Synthesis of 5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-thiadiazole-2-thiole (2)

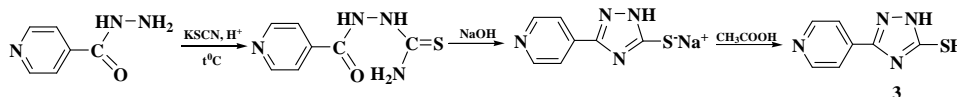


Fig.3. Synthesis of 5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-triazole-3-thiole (3)

The corresponding thioethers (**5a-j**, **5a,b**, **5f-i**, **5k**, **6a,b**, **6g-h** și **6j-k**), were obtained by the reaction of pyridyl-mercapto-azoles with alchil halogenated compounds and a series of 2-aryl-4-chloromethylthiazoles, as shown in figure 4.

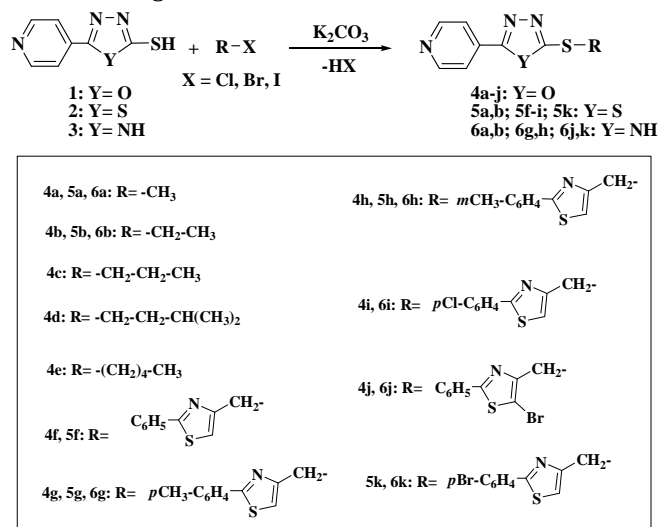


Fig.4. Synthesis of thioethers with pyridyl-azole structure

## Results and discussions

5-(Pyridin-4-yl)-1,3,4-oxadiazole-2-thiol (**1**) was obtained by cyclization of isonicotinic hydrazide with carbon disulphide, under basic condition (KOH) and reflux.

5-(Pyridin-4-yl)-1,3,4-thiadiazole-2-thiol (**2**) was obtained through a two-step reaction. The first step led to the synthesis of potassium pyridyl-dithiocarbamate throughout the reaction of isonicotinic hydrazide with carbon disulphide under basic condition at room temperature. The second step was the synthesis of 5-(pyridin-4-yl)-1,3,4-thiadiazole-2-thiol by cyclization of potassium pyridyl-dithiocarbamate under acidic conditions.

5-(Pyridin-4-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol (**3**) was synthesized by cyclization of pyridylcarbonyl-thiosemicarbazide under basic conditions and reflux. Pyridylcarbonyl-thiosemicarbazide was obtained by the reaction of isonicotinic hydrazide with potassium thiocyanate under acidic conditions and reflux.

Thioethers with pyridyl-azole structure were obtained by the reaction of the corresponding pyridyl-mercapto-azoles with halogenated aliphatic and heteroaromatic compounds. The reaction was carried out in the presence of potassium carbonate at room temperature.

All synthesized compounds were characterized by spectral analysis: IR, NMR and MS.



## ***Evaluation of anti-inflammatory activity of thioethers with pyridyl-azole structure***

### **Material and method**

Anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan induced rat paw oedema assay, using diclofenac as reference drug (administered in doses of 20 mg/kg). Thioethers were administered in doses of 50 mg/kg.

### **Results and discussions**

The results of the anti-inflammatory activity evaluation are expressed in % of inhibition of edema, and edema volume (mean  $\pm$  SD). Three of the tested compounds (**4a**, **5f**, **5h**) have higher anti-inflammatory activity than diclofenac. Compound **4a** contains 1,3,4-oxadiazole ring and compounds **5f** and **5h** the 1,3,4-thiadiazole ring.

## ***Lipophilicity evaluation of thioethers with pyridyl-azole structure***

### **Material and method**

Lipophilicity of the investigated compounds was carried out by reversed-phase thin layer chromatography (RP-TLC). The RP-TLC has been done using different concentration ratio of isopropanol-water as mobile phase (45%, 50%, 55%, 60% and 65%) and standard TLC plates 20x10 cm RP-18F<sub>245s</sub> (Merck).

### **Results and discussions**

Based on the obtained  $R_f$  values we calculated the isocratic retention factor ( $R_M$ ). The  $R_M$  values depend linearly on the concentration of the organic solvent contained in the mobile phase, so using the linear regression equation we can extrapolate another lipophilicity parameter  $R_{M0}$ . We applied the Principal Component Analysis (PCA) directly to the retention parameters in order to obtain the scores (**PC1**, **PC2**, **PC3**) which led to the classification of compounds from the lipophilicity point of view by lipophilicity chart and lipophilicity space.

We determined other lipophilicity parameters such as hydrophobic chromatographic index ( $\phi_0$ ) and arithmetic mean of the isocratic retention factor ( $mR_M$ ).

All chromatographic parameters were correlated with a series of computed lipophilicity indices.

### **Conclusions**

We synthesised 3 pyridyl-mercapto-azole precursors and 23 corresponding thioethers, 19 of thioethers being completely new. Their formation confirms the superiority of sulfur nucleophilic character towards nitrogen nucleophilic character, both atoms contained by azole rings. The structures of all compounds were confirmed by spectral analysis (IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, MS).

Three thioethers present a higher anti-inflammatory activity than diclofenac.

RP-TLC was done in order to evaluate the lipophilicity of the synthesised thioethers. Chromatographic parameters were compared with a series of theoretical lipophilicity indices estimated by different computed methods. The PCA analysis revealed that newly obtained thioethers are placing themselves into different groups according to their lipophilicity.

## Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some Schiff bases and Mannich bases with pyridyl-1,2,4-triazole structure

### *Hypothesis. Objectives*

Schiff bases are nitrogen analogs of aldehydes and ketones. Among them, the most important are Schiff bases of aromatic and heteroaromatic amines, because the aliphatic ones can easily suffer polymerization processes. Mannich bases are obtained by condensation of formaldehyde with secondary amine compounds and mobile hydrogen compounds under acidic conditions. The classical version of Mannich reaction uses ketones as mobile hydrogen compounds. Other variants of the Mannich reaction use ketones instead of formaldehyde, and heterocyclic compounds as mobile hydrogen compounds.

Taking into consideration the biological potential of Schiff bases and Mannich bases as well as the biological potential of pyridine, triazole and thiazole ring, we proposed the synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of Schiff bases and Mannich bases.

### *Synthesis and characterization of pyridyl-1,2,4-triazoles, Schiff bases and Mannich bases*

#### **Material and method**

Pyridyl-triazoles precursors were obtained by the reaction of isoicotinic hydrazide with different reaction partners (fig.5, fig.6). Condensation of 4-amino-pyridyl-mercapto-triazole(7) with a series of heterocyclic aldehydes Schiff bases **11f-i**, **11k** and **11l** were synthesized (fig.7). By aminomethylation Mannich bases **12f-i**, **12k**, **12l**, **13f**, **13h**, **13i**, **13l**, **14**, **15**, **16** and **17** were obtained (fig.7).

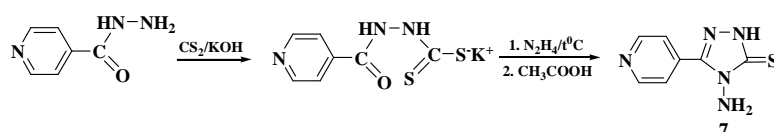


Fig.5. Synthesis of 4-amino-5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-triazole-3-thione (7)

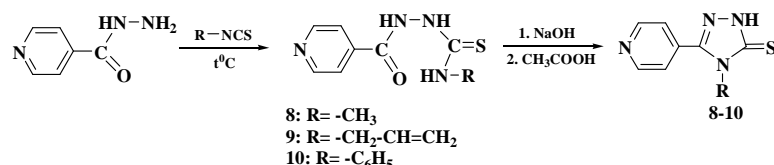
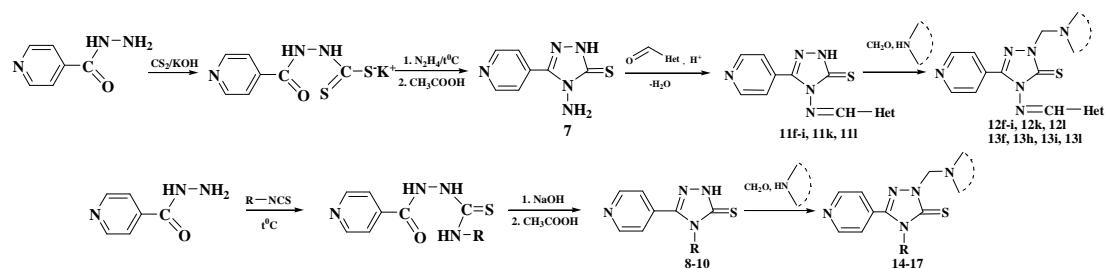


Fig. 6. Synthesis of mercapto-triazoles 8-10





















Compusul	Het	Compusul	R	-N	
11f-i, 11k, 11l 12f-i, 12k, 12l 13f, 13h, 13i, 13l	 f	 g	8	-CH <sub>3</sub>	-
	 h	 i	9		-
	 k	 l	10		-
Compusul			14	-CH <sub>3</sub>	
			15		
12f-i, 12k, 12l			16		
13f, 13h, 13i, 13l			17		

Fig. 7. Synthesis of Schiff bases and Mannich bases

## Results and discussions

Reaction of isonicotinic hydrazide with carbon disulphide under basic conditions, followed by cyclization of potassium dithiocarbamate with hydrazine led to the synthesis of 4-amino-1,2,4-triazole. Acylthiosemicarbazides were obtained by nucleophilic addition of isoniazide to some isothiocyanates. 1,2,4-Triazoles 8-10 were synthesized by cyclization of acylthiosemicarbazides under basic conditions, followed by acidification. Schiff bases were formed by condensation of 4-amino-1,2,4-triazole with thiazolic and thiazolo-triazolic aldehydes. Reaction of Schiff bases with formaldehyde and cyclic secondary amines – pyrrolidine and piperidine – led to the formation of corresponding Mannich bases. Reaction of mercapto-1,2,4-triazoles 8-10 with the same reaction partners afforded the synthesis of Mannich bases 14-17.

The structures of all compounds were analysed by IR, NMR and MS spectra.

### *Evaluation of anti-inflammatory activity of Schiff bases and Mannich bases*

#### Material and method

Anti-inflammatory activity was evaluated by the carrageenan induced rat paw oedema assay, using diclofenac as reference drug (administered in doses of 20 mg/kg). All tested compounds were administered in doses of 20 mg/kg.

## Results and discussions

According to the results of anti-inflammatory activity, compounds **15**, **13i** and **13l** present significant anti-inflammatory activity, better than diclofenac after one hour from the induced inflammation. Compounds **11l**, **12g** and **12i** show anti-inflammatory activity comparable to diclofenac, after two and three hours from the induced inflammation. Compounds **11h** and **13f** show rapid but short-lived anti-inflammatory activity. Most of these compounds have structural elements of Schiff bases and Mannich bases.

### *Lipophilicity evaluation of Schiff bases and Mannich bases*

#### Material and method

Lipophilicity of the investigated compounds was carried out by reversed-phase thin layer chromatography (RP-TLC). The RP-TLC has been done using three different mobile phases. The first mobile phase contains different concentration ration of methanol and phosphate buffer (50%, 60%, 70%, 80% and 90%), the second mobile phase contains different concentration ration of methanol with 10% butanol and phosphate buffer (50%, 60%, 70%, 80% and 90%) and third mobile phase contains different concentration ration of methanol with 10% octanol and phosphate buffer (50%, 60%, 70%, 80% and 90%).

## Results and discussions

A series of chromatographic parameters were obtained:  $R_M$ ,  $R_{M0}$ ,  $\varphi_0$ ,  $mR_M$ . We applied the Principal Component Analysis (PCA) directly to the retention parameters in order to obtain the scores **PC1**, **PC2**, **PC3**. The first two scores were used to obtain the lipophilicity charts (2D maps) and the first three scores were used to obtain the lipophilicity spaces (3D maps). Both maps distribute compounds into different groups according to their lipophilicity.

All chromatographic parameters were correlated with a series of computed lipophilicity indices. Addition of butanol in the mobile phase significantly improved correlations between experimental parameters and computed lipophilicity indices.

## Conclusions

4 Pyridyl-triazole precursors, 6 Mannich bases and 14 Schiff bases were synthesized. The structures of all compounds were confirmed by spectral analysis.

Nine compounds show a significant anti-inflammatory activity comparable to diclofenac. Most of these compounds have both Schiff bases and Mannich bases structure.

The lipophilicity of Schiff bases, Schiff-Mannich bases and Mannich bases was determined using RP-TLC. We observed the influence of upper alcohols (butanol, octanol) contained in the mobile phase on lipophilicity. The addition of butanol in the mobile phase improves the correlation between experimental parameters and computed lipophilicity indices, while the addition of octanol shows no improvement. The maps obtained by the first two/three scores led to the classification of compounds from the lipophilicity point of view.

## Synthesis, physico-chemical characterization and evaluation of anti-inflammatory properties of some pyridyl-thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles

### *Hypothesis. Objectives*

Thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole system contain 1,3-thiazole ring and 1,2,4-triazole ring condensed to the side 3-2, respectively b. Hantzsch condensation of mercapto-1,2,4-triazole with halogenocarbonyl compounds the thiazolo-triazole system can be obtained. Taking into consideration the biological potential of thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole compounds and as a continuation of our research in this field, our objective was the synthesis of some pyridyl-thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazoles that contain 3-pyridyl and 4-pyridyl moiety. Also, we observed the influence of the 3/4-pyridyl moiety on the reactivity and anti-inflammatory properties.

### *Synthesis and characterization of pyridyl-1,2,4-triazoles, their corresponding thioethers and thiazolo-triazoles*

#### **Material and method**

3/4-Pyridyl-triazole precursors were synthesized throughout the same reaction steps starting from isonicotinic hydrazide (fig.3) and ethyl nicotinate (fig.8). Condensation of 3/4-pyridyl-mercapto-1,2,4-triazoles with different  $\alpha$ -halogenocarbonyl compounds afforded the corresponding thiazolo-triazoles with or without isolation of thioether intermediates (fig.9).

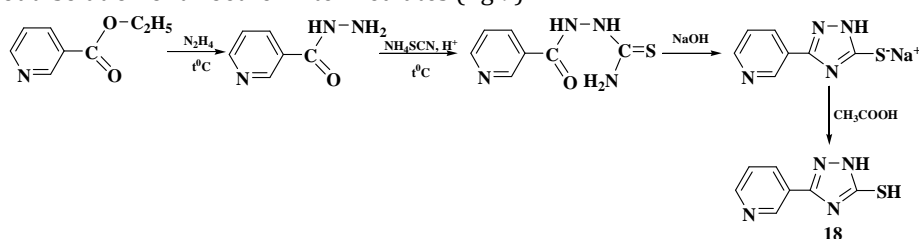


Fig.8. Synthesis of 5-(pyridin-3-yl)-1,2,4-triazole-3-thiol (18)

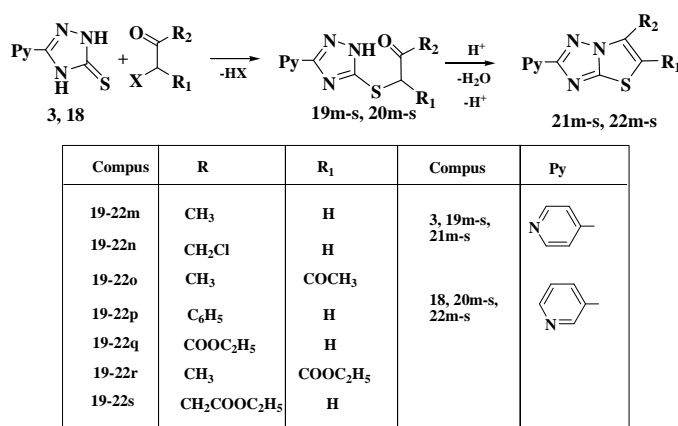


Fig.9. Synthesis of thioethers (19m-s, 20m-s) and the corresponding thiazolo-triazoles (21m-s, 22m-s)

## Results and discussions

Synthesis of 5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-tiazole-3-thiole(3) was shown in Synthesis and characterization of pyridyl-mercapto-azoles and their corresponding thioethers chapter.

5-(Pyridin-3-yl)-1,2,4-triazol-3-thiol (18) was obtained by cyclization of pyridylcarbonyl-thiosemicarbazide under basic conditions and reflux. Pyridylcarbonyl-thiosemicarbazide was obtained by the reaction of nicotinic hydrazide with potassium thiocyanate under acidic conditions and reflux. The reaction of ethyl nicotinate with hydrazine afforded the nicotinic hydrazide.

Cyclization of pyridyl-triazole precursors with halogenocarbonyl compounds afforded the synthesis of thiazolo-triazoles, without isolation of thioether intermediates if the reaction was carried out under acidic conditions and reflux or with isolation of thioether intermediates if the reaction was carried out at room temperature. When the reaction was carried out under reflux, we observed a decarboxylation reaction for ethyl 2-chloroacetate and ethyl 4-chloroacetate, the obtained compounds being identical with the compounds obtained by condensation of mercapto-triazole with monochloroacetone.

The structures of all compounds were confirmed by spectral analysis (IR, NMR and MS).

### *Evaluation of anti-inflammatory activity*

#### **Material and method**

Carrageenan induced rat paw oedema assay was carried out in order to evaluate the anti-inflammatory activity. Diclofenac was used as reference drug in doses of 20 mg/kg. All tested compounds were administered in doses of 50 mg/kg.

#### **Results and discussions**

The anti-inflammatory evaluation results show a significant anti-inflammatory activity for the majority of compounds after one hour from the induced inflammation. Thioethers present a rapid but short-lived anti-inflammatory activity, while thiazolo-triazole compounds show a long-lasting activity. Compounds with 4-pyridyl moiety are more active than compounds with 3-pyridyl moiety.

### *Lipophilicity evaluation*

#### **Material and method**

Synthesized compounds were evaluated for their lipophilicity by applying RP-TLC. We used as mobile phase different concentration ratios of methanol and water (55%, 60%, 65%, 70% and 75%).

## Results and discussions

By processing all results from RP-TLC we obtained a number of parameters that describe lipophilicity  $R_M$ ,  $R_{M0}$ ,  $\phi_0$ ,  $mR_M$  and by applying PCA analysis on data retention values PC1, PC2 and PC3 scores were determined. These scores afforded the lipophilicity chart and the lipophilicity space.

Chromatographic parameters were correlated with a series of computed lipophilicity indices. We obtained significant correlations.

### Conclusions

We synthesized 14 thioethers with 1,2,4-triazole structure and 14 thiazolo-triazole.

All structures were confirmed by spectral analysis.

Three thiazolo-triazole compounds with pyridin-4-yl moiety (**21o**, **21p** and **21r**) present good anti-inflammatory activity comparable with diclofenac. Two thiazolo-triazole compounds with pyridin-4-yl moiety (**21m** and **21s**) and two thiazolo-triazole compounds with pyridin-3-yl moiety (**22p** and **22r**) show moderate anti-inflammatory activity. Some thioethers (**19o**, **19r**, **19s**, **20p**, **20r** and **20s**) show rapid but short-lived anti-inflammatory activity.

PCA analysis distributes compounds into different groups according to their lipophilicity.

### General conclusions

We synthesized and characterized from a physico-chemical point of view:

- 8 pyridyl-azole precursors ;
- 23 thioethers with pyridyl-1,3,4-oxadiazolice, pyridyl-1,3,4-thiadiazolice and pyridyl-1,2,4-triazolice structure, 19 compounds being new;
- 6 new Schiff bases with pyridyl-1,2,4-triazolice structure;
- 14 Mannich bases with pyridyl-1,2,4-triazolice structure, 11 compounds being new;
- 7 new thioethers and 7 thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole with pyridin-4-yl-1,2,4-triazole structure;
- 7 thioethers and 7 thiazolo[3,2-b][1,2,4]triazole with pyridin-4-yl-1,2,4-triazole structure, 13 compounds being new.

The structures of all synthesized were confirmed by spectral analysis (IR, NMR, MS).

Among all tested compounds, 12 show significant anti-inflammatory activity comparable to diclofenac.

The activity of substances depends on their lipophilicity. Based on this fact, we tested all compounds in order to evaluate their lipophilicity by using RP-TLC. All lipophilic chromatographic parameters were correlated with a series of computed lipophilicity indices. Applying PCA analysis directly to the retention parameters we obtained different groups of lipophilicity. The first two scores were used to plot the lipophilicity charts and first three scores were used to plot the lipophilicity spaces.