

Invenția se referă la chimia farmaceutică și poate fi aplicată în extinderea efectivului de remedii noi pentru tratamentul tuberculozei.

Se cunoaște faptul majorării rezistenței bacteriilor *Mycobacterium tuberculosis* față de remediile, care se folosesc în prezent în medicină. De aceea investigațiile în domeniul sus-numit sunt actuale [1, 2].

Tratamentul diferitor forme de tuberculoză este un proces complex cu utilizarea preparatelor din diverse grupe farmacoterapeutice. În prezent, studiile moderne sunt orientate către crearea unor noi compuși antimicobacterieni, care posedă efecte maxime.

Sunt cunoscuți derivați cu ciclul 1,2,4 triazolic, viniltriazolilcetone, produși ai condensării aldolice a triazolicetonelor cu aldehide aromatice, care posedă activitate fungicidă și de reglare a creșterii plantelor, însă activitatea lor antituberculoasă nu a fost descrisă [3,4].

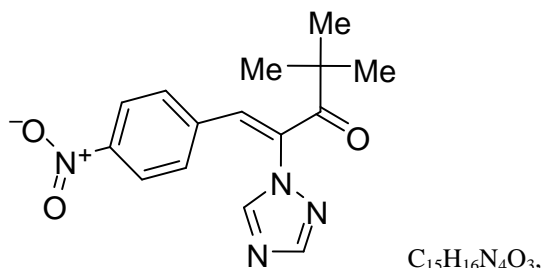
Conform procedeele descrise, pentru un șir mare de compuși condensarea se petrece cu obținerea preponderentă a amestecului de E/Z izomeri.

Izomerii puri au fost izolați prin diferite metode, în special prin separarea cromatografică, totodată izomerii Z au fost obținuți în stare pură prin fotoconversia izomerului E în Z la iradierea amestecului de izomeri cu raze ultraviolete.

Printre produșii condensării sus-menționate se numără și 4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona, care se obține sub formă de amestec de E/Z izomeri.

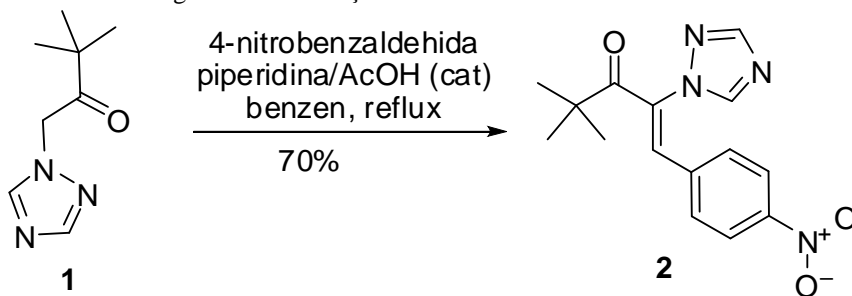
Problema pe care o rezolvă invenția dată constă în lărgirea arsenalului de substanțe biologic active antituberculoase prin elaborarea unui procedeu simplu și selectiv de obținere stereospecifică a unui compus α,β -nesaturat conținând și inelul 1,2,4-triazolic cu activitate antituberculoasă.

Testările preliminare au evidențiat că izomerul Z posedă o proprietate nouă – manifestă activitate antituberculoasă promițătoare. Pe de altă parte, o condiție necesară pentru utilizarea efectivă a compușilor în calitate de remedii terapeutice reprezintă posibilitatea de a obține compușii în stare pură din punct de vedere izomeric. Problema a fost soluționată prin elaborarea unui procedeu stereoselectiv simplu de obținere a unui izomer Z cu activitate antituberculoasă din clasa 1,2,4-triazolului, și anume a (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-unei cu formula:



cu utilizarea în calitate de compuși inițiali: cetona 3,3-dimetil-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ona (**1**) și aldehida 4-nitrobenzoică.

Procedeeul decurge conform ecuației :



care duce la formarea unui singur isomer geometric (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona. Temperatura de topire a izomerului Z fiind de 114...116°C, în conformitate cu datele din literatura de brevet (cererea de brevet a 2016 0145 din 2016.12.21 MD).

Esența invenției revendicate constă în aplicarea (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-unei **2** în calitate de remediu antituberculos.

Exemplu de realizare a invenției

În calitate de compus inițial în sinteza compusului revendicat se utilizează cetona - 3,3-dimetil-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-onă (CN 102351803 A 2012-02-15), care poate fi obținută și alternativ, la interacțiunea a 1*H*-1,2,4-triazolului cu 1-clor-3,3-dimetil-2-butanona în sistemul acetonă/ K_2CO_3 cu un randament foarte bun (99%).

La soluția alcătuită din 1,67 g (0,01 mol) triazolil-cetona - 3,3-dimetil-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-onă (**1**) și 1,66 g (0,011 mol) *para*-nitro-benzaldehidă în 300 mL benzen se adaugă piperidină/acid acetic în cantități catalitice. Amestecul se fierbe timp de 5 ore (controlat periodic cu ajutorul CSS) cu distilarea azeotropă a apei formate, folosind aparatul Dean-Stark, apoi soluția de benzen se răcește până la temperatura camerei, rămășițele de

catalizator se extrag cu apă, soluția benzenică a produsului final se usucă cu Na₂SO₄. Solventul se distilează, iar reziduu se recrystalizează din etanol.

Randamentul reacției este de 70% (2,1 g), p.t.= 114...116°C.

Activitatea antituberculoasă

Activitatea antituberculoasă a compusului (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-onă **2** a fost determinată prin metoda descrisă anterior (MD 4009 B1 2010.10.31; Collins L., Franzblau S.G. Antimicrob. Agents Chemother., 1997, 41, 1004-1009).

(Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona se testează *in vitro* pentru determinarea activității antimicobacteriene împotriva *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Ca standard de control în testele de inhibare *in vitro* a tuberculozei H37Rv este folosită Rifampicina. Rezultatul determinării activității antituberculoase exprimat în procente de inhibiție a constituit 100% la concentrația minimă inhibitorie de 6,25 μg/mL în comparație cu Rifampicina.

Cantitatea de agent antituberculos necesară preparării soluției-stoc s-a calculat după formula:

$$\text{Cantitatea (mg)} = \frac{\text{Volumul necesar (ml)} \times \text{Concentrația dorită (mg/ml)}}{\text{Puritatea substanței antituberculoze}}$$

Deoarece concentrațiile finale alese pentru testare sunt 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0,5, 0,25, 0,125, 0,0625 μg/mL, se prepară mai întâi soluții de 100 ori mai concentrate (3200, 1600 ... 6.25 μg/mL) utilizând soluția-stoc (3200 μg/mL) și volume corespunzătoare de DMSO.

Gradul de creștere în flacoanele ce conțin agent antituberculos este interpretat prin comparație cu cel existent în flacoanele martor (Rifampicină).

Tulpina	(Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-onă		Rifampicină	
	CMI (μg/ml)	Inhibiție (%)	CMI (μg/ml)	Inhibiție (%)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H ₃₇ Rv (ATCC 27294)	6.25	100	6.25	100

S-a constatat că (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona manifestă acțiune antituberculoasă sporită contra *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv (ATCC 27294). Rezultatul determinării activității antituberculoase exprimat în procentul de inhibiție a constituit 100% la concentrația minimă inhibitory de 6,25 μg/mL în comparație cu Rifampicina.