

Invenția se referă la chimia farmaceutică și poate fi aplicată în scopul extinderii efectivului remediilor 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 menționat 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 să posede efecte maxime.

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

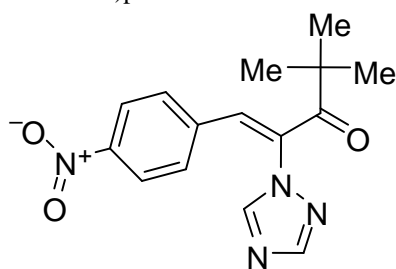
Conform procedeele descrise pentru un șir mare de compuși condensarea se realizează cu obținerea preponderentă a amestecului de E/Z izomeri. Condensarea se efectuează în diferiți solvenți, inclusiv aromatici, și în prezența diferitor catalizatori.

Izomerii puri au fost izolați prin diferite metode, în special prin separarea cromatografică, în plus izomerii Z a fost obținut 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-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-ona, care se obține la fel sub formă de amestec de E/Z izomeri. Izomerii au fost izolați în stare pură conform metodelor menționate [3, 4].

Pentru izomerul Z autorii au descoperit că el posedă o proprietate nouă – manifestă o activitate antituberculoasă promițătoare. Pe de altă parte, o condiție obligatorie pentru utilizarea efectivă a compușilor în calitate de remedii terapeutice o reprezintă obținerea compușilor în stare pură din punct de vedere izomeric. De aici apare următoarea problemă pe care trebuie să o rezolve invenția.

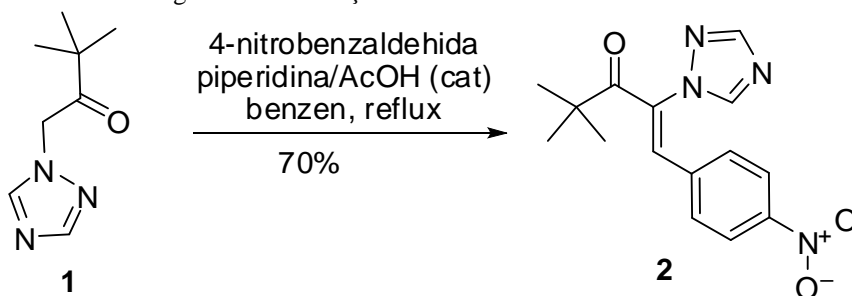
Problema soluționată de invenție constă în elaborarea unui procedeu stereoselectiv simplu de obținere a unui izomer Z cu activitate antituberculoasă din clasa 1,2,4-triazolului, și anume a (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-unei cu formula:



cu utilizarea în calitate de compuși inițiali: a cetonei 3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ona (**1**) și a aldehidei 4-nitrobenzoice.

Esența invenției revendicate constă în interacțiunea 3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-unei cu 4-nitrobenzaldehida la refluxare în benzen, cu eliminarea azeotropică a apei formate, în prezența piperidinei și acidului acetic, luați în cantități catalitice, ce duce la formarea unui singur isomer geometric (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-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.

Procedeele decurge conform ecuației:



#### Exemplu de realizare a invenției

În calitate de compus inițial în procedeul revendicat se utilizează cetona 3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-onă (CN 102351803 A 2012-01-15), care poate fi obținută și alternativ, la interacțiunea a 1H-1,2,4-triazolului cu 1-clor-3,3-dimetil-2-butanona în sistemul acetonă/K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> cu un randament foarte bun (99%).

La soluția alcătuită din 1,67 g (0,01 mol) triazolil-cetona - 3,3-dimetil-1-(1H-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 (0,05% mol.)/acid acetic (0,07% mol.) 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, apoi soluția benzenică a produsului final se usucă cu Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Solventul se distilează, iar rezidul se recrystalizează din etanol.

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

Structura compusului 3 este confirmată pe baza analizei elementelor: C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>, M=300,31.

Calculat,(%): C, 59,99; H, 5,37; N, 18,66.

Găsit,(%): C, 59,83; H, 5,22; N, 18,62. IR (v, cm<sup>-1</sup>): 671,4; 859,6; 907,5; 942,5; 1002,9; 1072,4; 1093,8; 1200,2; 1221,3; 1278,1; 1342,1; 1479,5; 1501,1; 1511,7; 1894,4; 1639,9; 1703,4; 2911,4; 2932,9; 2968,2; 3134,1.

Spectrul RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm, J/Hz): 1,01 (s, 9H, Bu), 7,27 (s, 1H, -CH=), 8,10 (s, 1H, triazol), 8,29 (s, 1H, triazol), 7,5 (d, 2H, BB' sistemul – AA'BB' parte componentă a sistemului aromatic, J<sub>2</sub>=8,7 Hz), 8,24 (d, 2H, AA' sistemul – parte componentă a sistemului aromatic AA'BB', J<sub>2</sub>=8,7 Hz).

Spectrul RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ, ppm): 207,29, 152,99, 147,87, 141,9, 139,3, 136,18, 129,85, 124,03, 119,19, 45,68, 26,96.

Deplasarea chimică a protonului olefinic al izomerului Z se manifestă într-un câmp magnetic mai puternic în comparație cu izomerul E [3].

#### Activitatea antituberculoasă

Determinarea activității antituberculoase a (Z)-4,4-dimetil-1-(4-nitrofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)pent-1-en-3-onei **2** a fost efectuată prin metoda descrisă anterior (MD 4009 B1 2010.10.31; Collins L., Franzblau S.G. Antimicrob. Agents chemotherapy, 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 <sub>37</sub> 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* H<sub>37</sub>Rv (ATCC 27294). 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.