

UDC 547.79:615.017

Olexandr Smolsky, Oleksandr Makei, Viktor Yanchenko, Viacheslav Poletai



SYNTHESIS AND PRECLINICAL STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF  
[1,2,4]TRIAZOLO[1,5-A]PYRIDINE DERIVATIVES  
СИНТЕЗ ТА ДОКЛІНІЧНЕ ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ  
ПОХІДНИХ [1,2,4]ТРИАЗОЛО[1,5-а]ПІРИДИНУ

DOI: 10.58407/bht.2.22.10

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© Smolsky, O., Makei, O., Yanchenko, V., Poletai, V., 2022

### ABSTRACT

**Purpose.** Synthesis and study of antioxidant properties of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine derivatives and their potential toxicity using preclinical diagnostic methods.

**Methodology.** Derivatives of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine were synthesized on the basis of 2-aminopyridines and ethyl isothiocyanatocarbonate, with subsequent cyclization of intermediate adducts. The resulting 2-amino[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridines were reacted with isoamyl nitrite in the presence of CuHal<sub>2</sub>, which led to the synthesis of volatile 2-halogeno[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine. The toxicity of the obtained compounds was studied by the degree of hemolysis of erythrocytes in a hypotonic NaCl solution. The intensity of free-radical oxidation of lipids was assessed spectrophotometrically by the formation of TBA-active products. The antioxidant activity of the substances was determined by inhibiting the oxidation of adrenaline under conditions of artificial oxidative stress.

**Scientific novelty.** For the first time, the antioxidant activity of the [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine derivatives described in the paper was investigated and their toxicity was studied according to the degree of hemolysis of erythrocytes in a hypotonic NaCl solution.

**Conclusions.** The *in vitro* cytotoxicity study model showed that compounds 5a and 5b, which contain bromine atoms in the 2, 5, and 7 positions of the pyridinotriazole heterosystem, exert the greatest influence on the stability of erythrocyte membranes.

The study of antioxidant activity showed that the highest values of antioxidant activity are characteristic of compounds of the 4a-d series, namely compounds 4b and 4c, which are characterized by the presence of an amino group in the 2nd position and the presence of a bromine atom as a substitute in the 1st and 5th positions of the pyridine fragment of the heterosystem.

The dynamics of antioxidant activity on the model of inhibition of adrenaline oxidation confirms the opinion about the lowest toxicity and the highest ability to inhibit the formation of reactive oxygen species of compounds 4b and 4c (40.16 and 38.82% relative to ionol).

So, with the use of preclinical diagnostic methods, we proved the presence of physicochemical activity in a number of investigated compounds. 2-amino-[1,2,4]triazolo[1,5a]pyridine derivatives with a bromine atom as a substitute in the pyridine fragment of the molecule should be considered as potential antioxidants in the future, and the studied condensed system can be considered a promising heterocyclic framework for creating potential antioxidant agents.

**Key words:** [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine derivatives, synthesis, antioxidant activity

## АНОТАЦІЯ

**Мета роботи.** Синтез та вивчення антиоксидантних властивостей похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину та їх потенційної токсичності за допомогою методів доклінічної діагностики.

**Методологія.** Похідні [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину синтезовані на основі 2-амінопіридинів та етил ізотіаціанатокарбонату, з наступною циклізацією проміжних аддуктів. Отримані 2-аміно[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридини вводили в реакцію з ізоамілітритом в присутності  $\text{CuHal}_2$ , що привело до синтезу похідних 2-галогено[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину. Токсичність отриманих сполук вивчали за ступенем гемолізу еритроцитів у гіпотонічному розчині  $\text{NaCl}$ . Інтенсивність перебігу вільно-радикального окиснення ліпідів оцінювали спектрофотометрично за утворенням ТБК-активних продуктів. Антиоксидантну активність речовин визначали шляхом інгібування окиснення адреналіну в умовах штучного оксидативного стресу *in vitro*.

**Наукова новизна.** Вперше досліджено антиоксидантну активність описаних в роботі похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину та вивчено їх токсичність за ступенем гемолізу еритроцитів у гіпотонічному розчині  $\text{NaCl}$ .

**Висновки.** На моделі *in vitro* вивчення цитотоксичності показало, що найбільший вплив на стійкість еритроцитарних мембран чинять сполуки **5a** та **5b**, які містять в якості замісника атома бром у 2, 5 та 7 положеннях піридинотриазольної гетеросистеми.

Дослідження антиоксидантної активності показало, що найвищі значення антиоксидантної активності характерні для сполук ряду **4a-d**, а саме сполук **4b** та **4c**, для яких характерним є наявність аміногрупи в 2 положенні та присутність в якості замісника атома Бром у 1-му та 5-му положенні піридинового фрагменту гетеросистеми.

Динаміка антиоксидантної активності на моделі інгібування окиснення адреналіну підтверджує думку про найменшу токсичність та найвищу здатність до інгібування утворення активних форм кисню сполук **4b** та **4c** (40,16 та 38,82% відносно іонулу).

Отже, з використанням методів доклінічної діагностики нами доведено наявність фізико-хімічної активності в ряду досліджених сполук. В якості потенційних антиоксидантів в майбутньому слід розглядати похідні 2-аміно-[1,2,4]триазоло[1,5а]піридину з атомом Бром у якості замісника у піридиновому фрагменті молекули, а досліджувану конденсовану систему можна вважати перспективним гетероциклічним каркасом для створення потенційних антиоксидантних агентів.

**Ключові слова:** похідні[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину, синтез, антиоксидантна активність

## Постановка проблеми

*Актуальність роботи.* Широке використання відомих, а також розробка нових оригінальних лікарських засобів визначає необхідність обов'язкової доклінічної оцінки нешкідливості та специфічних властивостей потенційних біологічно-активних сполук.

Останнім часом у сучасній токсикологічній практиці широкого розповсюдження набули поруч із традиційними доклінічні методи дослідження [7], до яких відносять: використання безхребетних організмів, рослин, мікроорганізмів, ембріонального і личинкового

матеріалу, культур клітин, математичного моделювання, застосування ряду фізичних і хімічних методів.

Базовою причиною для більш широкого введення у практику доклінічних досліджень з використанням модельних біологічних та фізико-хімічних систем є етичні міркування щодо виключення чи обмеження експериментів на теплокровних тваринах.

Однією із актуальних проблем сучасної токсикології є оцінка селективної мембрано-токсичної дії нових синтезованих сполук ще на стадії їх експериментального вивчення.

Оскільки дослідження токсичної дії хімічних речовин на біологічні мембрани у дослідах *in vivo* є складним процесом, все більшого поширення набуває скринінг мембранотоксичної дії біологічно активних речовин у дослідах *in vitro* з використанням простих моделей мембран, зокрема еритроцитів. Уніфікація цих методів дає можливість екстраполювати дані на людину, що має важливе токсиколого-гігієнічне значення.

В останні роки широкого розповсюдження набули методи оцінки фізико-хімічних та біологічних властивостей за допомогою модельних систем *in vitro*. До них відносяться системи емульсії жовткових ліпопротеїдів або препаратів полієнових ВЖК для оцінки антиоксидантних властивостей. Також за рахунок експресності та доступності широко використовують системи, де в якості субстрату використовується певна реактивна молекула, наприклад, адреналін як об'єкт окиснення в модельованих умовах [9].

У широкій різноманітності сполук, які містять гетероциклічне ядро, важливе місце посідають похідні піридину та триазолу. Серед похідних 1,2,4-триазолу знайдено сполуки, які проявляють протисудомну, антидепресивну, антиоксидантну, проти-запальну, анальгезуючу, антибактеріальну, протигрибкову, противірусну, протипухлинну та інші дії [1; 2; 6; 13; 19; 25]. На основі піридинового ядра також створено значну кількість сучасних біологічно-активних речовин з широким спектром фармакологічної активності [3; 10; 15; 16].

У світлі викладеного досить актуальними представляються дослідження, пов'язані з синтезом конденсованих систем триазолопіридину. Авторами було синтезовано ряд похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину, які відрізняються замісниками у 2 положенні триазольного циклу та в піридиновому кільці гетеросистеми. Для здійснення пошуку нових вискоєфективних антиоксидантів, отримані гетеросистеми було

досліджено на антиоксидантну активність, що зумовлює актуальність даної роботи.

*Аналіз останніх досліджень та публікацій.*

Дослідження [5] антиоксидантної активності (АОА) 4-тіопохідних хіноліну при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідженнях *in vitro* на чотирьох моделях активації вільно радикального окислення показали, що для тіопохідних хіноліну характерна висока антиоксидантна активність. Особливий інтерес представляють похідні гетерилтіокарбонових кислот, які у багатьох випадках перевершують референт-антиоксиданти.

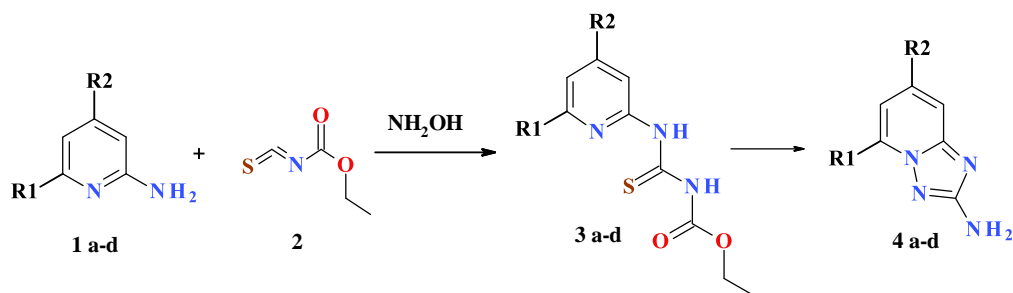
В роботі [4] описано синтез ряду 3-арил-4,7-дигідроксикумаринів та вивчено їх антиоксидантну активність. Розрахунок показника АОА засвідчив, що описані сполуки здатні пригнічувати процес окиснення на рівні іонолу, а активність 3-(4-метоксифеніл)-4,7-дигідроксикумарину перевищувала активність іонолу при концентраціях до 20,0 мкг/мл.

Авторами [22] отримано результати визначення АОА похідних 1,2,4-триазолу в модельних дослідах в умовах  $Fe^{2+}$ -індукованого перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Визначено, що із 12 досліджуваних сполук 8 з різною мірою вираженості здатні пригнічувати генерацію вільних радикалів.

При дослідженні АОА солей 2-((4-R-3-(морфолінометил)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот [24] серед 10 досліджуваних сполук 9 у різному ступені вираженості були здатні пригнічувати генерацію вільних радикалів та проявляли АОА активність. Авторами встановлено, що введення до молекули вільної аміногрупи за  $N_4$  атомом ядра 1,2,4-триазолу супроводжується посиленням АОА досліджуваних речовин.

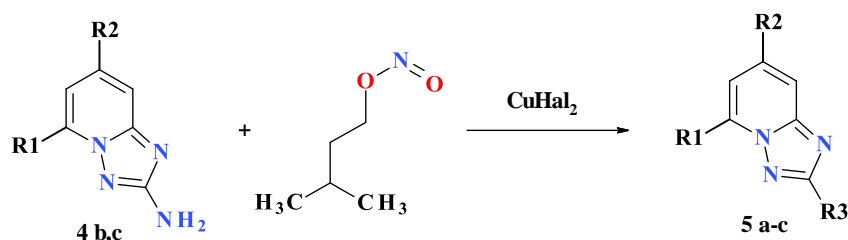
*Метою роботи* є синтез та вивчення антиоксидантних властивостей похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину і їх потенційної токсичності за допомогою методів доклінічної діагностики.

*Методологія.* Похідні [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину (**1a-d**) були синтезовані на основі 2-амінопіридинів (**1a-d**) та етил ізотіоціанату



a:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{H}$ ; b:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{Br}$ ; c:  $\text{R}_1=\text{Br}$ ,  $\text{R}_2=\text{H}$ ; d:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{Cl}$ .

Отримані 2-аміно[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридини **4b,c** вводили в реакцію з ізоамілітритом в присутності  $\text{CuHal}_2$  за методом [21], що привело до заміщення



5a:  $\text{R}_1=\text{Br}$ ,  $\text{R}_2=\text{H}$ ,  $\text{R}_3=\text{Br}$ ;

5b:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{Br}$ ,  $\text{R}_3=\text{Br}$ ;

5c:  $\text{R}_1=\text{H}$ ,  $\text{R}_2=\text{Br}$ ,  $\text{R}_3=\text{Cl}$ .

Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  для синтезованих сполук записували на апараті Bruker VXR-300 (Німеччина), робоча частота – 299,945 МГц, в  $\text{DMSO-d}_6$  з використанням ТМС як внутрішнього стандарту.

Визначення токсичності ґрунтується на встановленні здатності речовин впливати на резистентність еритроцитів, що оцінюється за ступенем їх гемолізу у гіпотонічному (0,55 %) розчині  $\text{NaCl}$  шляхом вимірювання поглинання загального гемоглобіну при 540 нм на спектрофотометрі СФ-46 [11; 18; 20].

карбонату **2**, з наступною циклізацією проміжних етил N-(2-піридилкарбамтоїл)карбаматів (**3a-d**) за методом [8].

аміногрупи у другому положенні триазолопіридинової системи на галоген та синтезовано 2-галогено[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридини **5a-c**.

Потенційну біологічну активність похідних даного ряду досліджували на двох моделях *in vitro* діагностики: на моделі  $\text{Fe}^{2+}$ -залежного неферментативного перекисного окислення ліпідів у емульсії жовткових ліпопротеїдів та моделі аутоокиснення адреналіну.

Антиоксидантну активність речовин визначали шляхом інгібування утворення активних форм кисню в умовах штучного оксидативного стресу. Інтенсивність протікання вільно-радикального окиснення ліпідів оцінювали спектрофотометрично за утворенням ТБК-активних продуктів [17].

Експериментальні показники всіх досліджуваних речовин порівнювали з загально-відомими антиоксидантами іонолом [26] та тролоксом [23], які широко застосовуються в медицині в якості інгібіторів вільно-радикальної патології [12].

Математичну обробку отриманих даних виконували загально-прийнятими статистичними методами [14].

### Результати дослідження

Визначення цитотоксичності включало визначення прямої гемолітичної дії випробуваного агента, а також визначення

здатності останнього викликати зміну динаміки гемолізу еритроцитів – «зсув еритрограми». Випробуваний агент вважали цитотоксичним, якщо інкубація суспензії еритроцитів з агентом, за умови подальшого його видалення, призводила до зсуву еритрограми.

Встановлено, що в ізотонічних розчинах натрію хлориду гемоліз еритроцитів посилюється усіма досліджуваними сполуками по відношенню до обох стандартних речовин - як іонолу (рис. 1), так і тролоксу (рис.2).

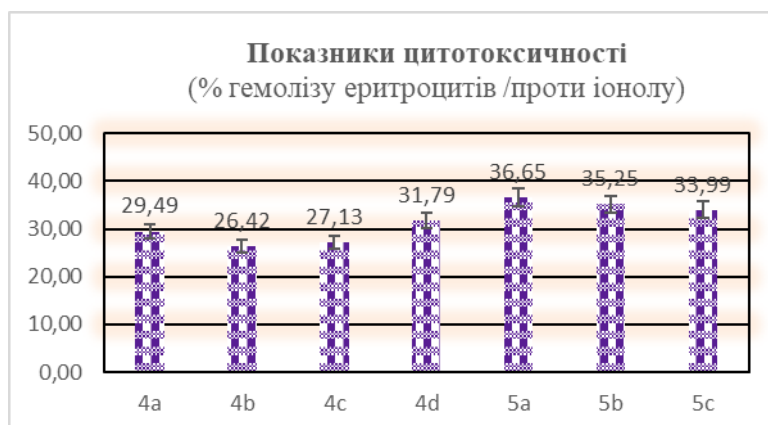


Рис.1. Показники цитотоксичності для похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину (проти іонолу) ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ )

Проте відмічено певну залежність між активністю сполук та природою та локалізацією замісників. Так, найменші значення цитотоксичності характерні для

сполук **4a-c**, а найбільші – для сполук **5a** та **5b**.

Відносно тролоксу динаміка подібна, проте показники цитотоксичності збільшуються (рис.2).

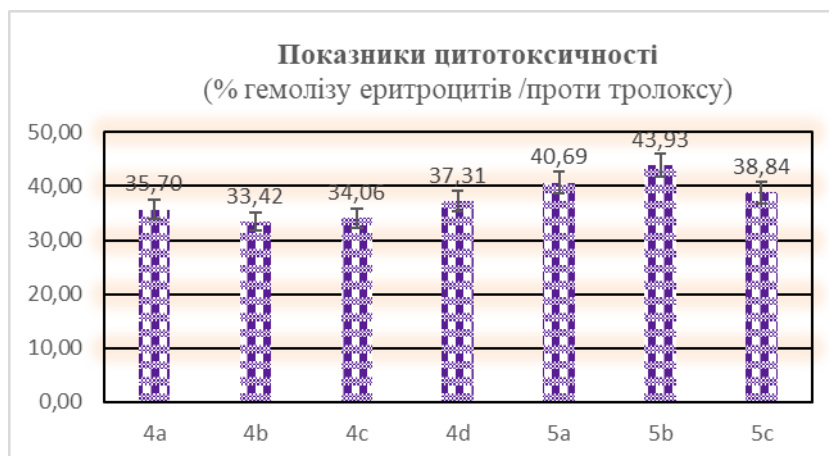


Рис.2. Показники цитотоксичності для похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину (проти тролоксу) ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ )

Таким чином, найбільший вплив на стійкість еритроцитарних мембран чинять сполуки **5a** та **5b**, що містять в якості замісника атом бром у 2, 5 та 7 положеннях піридинотриазолового гетероциклу.

Встановлено, що найвищі значення АОА

характерні для сполук ряду **4a-d**, а саме сполук **4b** та **4c**, для яких характерним є наявність аміногрупи в 2 положенні та присутність бром у 1-му та 5-му положенні піридинового фрагменту гетеросистеми (рис.3,4).

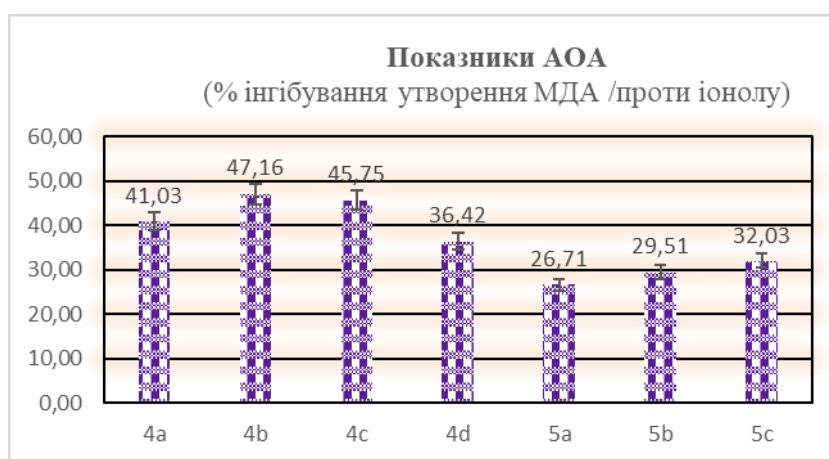


Рис.3. Антиоксидантна активність похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину на моделі емульсії жовткових ліпопротеїдів в умовах штучного оксидативного стресу *in vitro* (проти іонолу) ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ )

Проте заміна аміногрупи на галоген, а саме бром у другому положенні гетеросистеми (сполуки **5a** та **5b**) різко зменшує здатність речовин інгібувати вільно-радикальні процеси. Слід відмітити, що заміна замісника бром на

хлор у другому положенні гетеросистеми (сполука **5c**) майже на 20 % збільшує її АОА та наближує до активності сполуки **4d**, яка також містить атом хлору, але в сьомому положенні гетеросистеми.

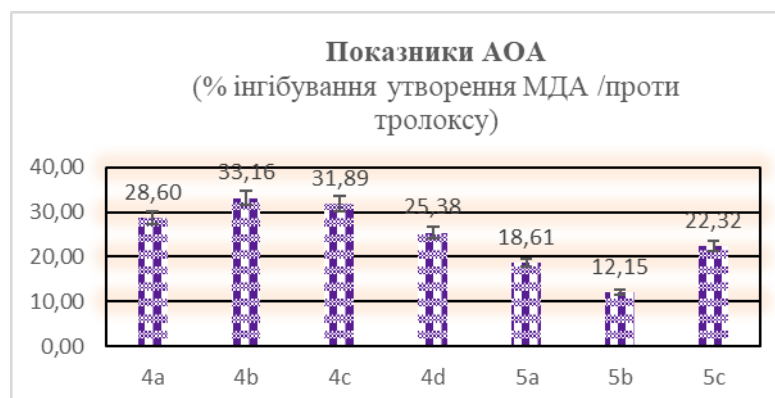


Рис.4. Антиоксидантна активність похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину на моделі емульсії жовткових ліпопротеїдів в умовах штучного оксидативного стресу *in vitro* (проти тролоксу) ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ )

На нашу думку, зміна здатності речовин до інгібування вільно-радикальних процесів може бути пов'язана із перерозподілом електронної густини та можливим створенням «антирадикальної пастки» на

триазолопіридиновою фрагменті молекули.

Відзначаємо, що динаміка активності відносно іонолу та тролоксу дещо подібна, проти відносно іонолу показники мають більші значення.

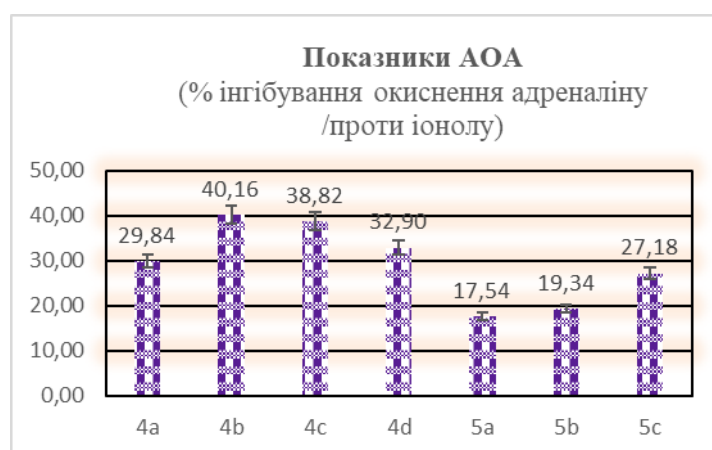


Рис.5. Антиоксидантна активність похідних [1,2,4]триазоло[1,5-а]піридину на моделі аутоокиснення адреналіну в умовах штучного оксидативного стресу *in vitro* (проти іонолу) ( $p < 0,05$ ,  $n = 5$ )

Динаміка антиоксидантної активності на моделі інгібування окиснення адреналіну (рис.5) підтверджує думку про найменшу токсичність та, відповідно, найвищу здатність до інгібування утворення активних форм кисню (АФК) сполуками **4b** та **4c** (40,16 та 38,82 % відносно іонолу). Проте найменшу здатність до знешкодження АФК проявляють сполуки **5a** та **5b**, що містять в якості замісника атоми бромів в 2, 5 та 7 положеннях піридинотриазолового гетероциклу.

**[1,2,4]Триазоло[1,5-а]піридин-2-амін 4a.** Процедура А. У круглодонній колбі об'ємом 100 мл розчиняють 2-амінопіридин **1a** (0,01 моль) в 50 мл безводного діоксану. До отриманого розчину прикапують при перемішуванні за кімнатної температури розчин етил ізотіаціанатокарбонату (0,01 моль) у 10 мл безводного діоксану. Отриману суміш перемішують при 20-25°C 4 години. Розчинник упарюють на роторі. Сухий

залишок розтирають з холодним пропан-2-олом, фільтрують, та отримують етил (піридин-2-ілкарбамотіол)карбамат **2a**. Вихід – 89,4 %. Т.пл. 104-105°C.

Процедура Б. У конічній колбі до розчину солянокислого  $\text{NH}_2\text{OH}$  (0,05 моль) у 36 мл води додають 36 мл EtOH та проливають при перемішуванні 0,03 моль DIPEA. До отриманої суміші при перемішуванні додають тіосечовину **2a** (0,01 моль) та перемішують 1 годину при 20-25°C, а потім нагрівають до кипіння та підтримують температуру протягом 4 годин. Після охолодження суміш упарюють на роторі. Залишок змішують з 50 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , фільтрують, промивають холодною водою, холодним *i*-PrOH, гексаном. Вихід – 78,2%. Т.пл. 108-109°C (із ацетонітрилу). Спектр ЯМР  $^1\text{H}$ ,  $\delta$ , м.д., (300 МГц, DMSO- $d_6$ /TMS): 5.98 (2H, с,  $\text{NH}_2$ ), 6.67 (1H, д,  $\text{Pu}$ ); 7.38 (2H, м,  $\text{Pu}$ ); 8.55 (1H, д,  $\text{Pu}$ ). Знайдено, %: N 41.7.  $\text{C}_6\text{H}_6\text{N}_4$ . Розраховано, %: N 41.8.

**[1,2,4]Триазоло[1,5-а]піридин-2-амін 4а.** Процедура А. У круглодонній колбі об'ємом 100 мл розчиняють 2-амінопіридин **1а** (0,01 моль) в 50 мл безводного діоксану. До отриманого розчину прикапують при перемішуванні за кімнатної температури розчин етил ізотіаціанатокарбонату (0,01 моль) у 10 мл безводного діоксану. Отриману суміш перемішують при 20-25°C 4 години. Розчинник упарюють на роторі. Сухий залишок розтирають з холодним пропан-2-олом, фільтрують та отримують етил (піридин-2-ілкарбамотіоїл)карбамат **2а**. Вихід – 89,4%. Т.пл. 104-105°C.

Процедура Б. У конічній колбі до розчину солянокислого NH<sub>2</sub>OH (0,05 моль) у 36 мл води додають 36 мл EtOH та проливають при перемішуванні 0,03 моль DIPEA. До отриманої суміші при перемішуванні додають тіосечовину **2а** (0,01 моль) та перемішують 1 годину при 20-25°C, а потім нагрівають до кипіння та підтримують температуру протягом 4 годин. Після охолодження суміш упарюють на роторі. Залишок змішують з 50 мл H<sub>2</sub>O, фільтрують, промивають холодною водою, холодним *i*-PrOH, гексаном. Вихід – 78,2%. Т.пл. 108-109°C (із ацетонітрилу). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 5.98 (2H, с, NH<sub>2</sub>), 6.67 (1H, д, Py); 7.38 (2H, м, Py); 8.55 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 41.7. C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>N<sub>4</sub>. Розраховано, %: N 41.8.

**7-Бromo[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-амін 4b** отримують аналогічно речовині **4а**. Вихід – 74,3 %. Т.пл. 190-192°C (із етанолу). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 6.21 (2H, с, NH<sub>2</sub>), 7.05 (1H, д, Py); 7.78 (1H, с, Py); 8.52 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 29.1. C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Br. Розраховано, %: N 29.3.

**5-Бromo[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-амін 4с** отримують аналогічно речовині **4а**. Вихід – 75,6%. Т.пл. 203-205°C (із етанолу). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 6.25 (2H, с, NH<sub>2</sub>),

7.18 (1H, д, Py); 7.45 (2H, м, Py). Знайдено, %: N 29.2. C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Br. Розраховано, %: N 29.3.

**7-Хлоро[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин-2-амін 4d** отримують аналогічно речовині **4а**. Вихід – 69,2 %. Т.пл. 189-190°C (із ацетонітрилу). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 6.15 (2H, с, NH<sub>2</sub>), 6.95 (1H, д, Py); 7.58 (1H, с, Py); 8.57 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 33.3. C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>N<sub>4</sub>Cl. Розраховано, %: N 33.2.

**2,5-Дибromo[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин 5а.** Через безводний CH<sub>3</sub>CN пропускають газоподібний аргон протягом 15 хвилин, потім розчиняють 0,01 моль амін **4с** та 0,01 моль CuBr<sub>2</sub>. До отриманої суміші прикапують при перемішуванні 0,02 моль ізоамілінітрилу. Отриману суміш перемішують протягом години та нагрівають до кипіння. Температуру кипіння підтримують протягом години. Далі охолоджують та перемішують протягом 12 годин за кімнатної температури, упарюють в вакуумі, додають 100 мл CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 70 мл 1н HCl та перемішують до утворення однорідної суміші. Утворений осад фільтрують. Вихід – 58,3%. Т.пл. 134-135°C. (із тетрагідрофурану). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 6.68 (2H, м, Py); 7.89 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 15.3. C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>. Розраховано, %: N 15.2.

**2,7-Дибromo[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин 5b** отримують аналогічно речовині **5а**. Вихід – 61,4%. Т.пл. 183-184°C. (із тетрагідрофурану). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 7.48 (1H, д, Py); 8.24 (1H, с, Py); 8.94 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 15.3. C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>Br<sub>2</sub>. Розраховано, %: N 15.2.

**5-Бromo-3-хлоро[1,2,4]триазоло[1,5-а]піридин 5с** отримують аналогічно речовині **5а**. Вихід – 54,8%. Т.пл. 129-130°C. (із ацетонітрилу). Спектр ЯМР <sup>1</sup>H, δ, м.д., (300 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>/TMC): 7.68 (2H, м, Py); 7.87 (1H, д, Py). Знайдено, %: N 18.0. C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>N<sub>3</sub>BrCl. Розраховано, %: N 18.1.



## Висновки

Таким чином, вивчення цитотоксичності на моделі *in vitro* показало, що найбільший вплив на стійкість еритроцитарних мембран чинять сполуки **5a** та **5b**, що містять в якості замісника атома бром у 2, 5 та 7 положеннях піридинотриазолового гетероциклу.

Дослідження антиоксидантної активності показало, що найвищі значення АООА характерні для сполук ряду **4a-d**, а саме сполук **4b** та **4c**, для яких характерним є наявність аміногрупи в 2 положенні та присутність в якості замісника атома Бром у 1-му та 5-му положенні піридинового фрагменту гетеросистеми.

Динаміка антиоксидантної активності на моделі інгібування окиснення адреналіну

підтверджує думку про найменшу токсичність та, відповідно, найвищу здатність до інгібування утворення активних форм кисню сполук **4b** та **4c**. (40,16 та 38,82 % відносно іонолу).

Отже, з використанням методів доклінічної діагностики нами доведено наявність фізико-хімічної активності в ряду досліджених сполук. В якості потенційних антиоксидантів в майбутньому слід розглядати похідні 2-аміно-[1,2,4]триазоло[1,5a]піридину з атомом Бром у якості замісника у піридиновому фрагменті молекули, а досліджувану конденсовану систему можна вважати перспективним гетероциклічним каркасом для створення потенційних антиоксидантних агентів.

## References

1. Al-Soud, Y. A., Al-Dweri, M. N., & Al-Masoudi, N. A. (2004). Synthesis, antitumor and antiviral properties of some 1, 2, 4-triazole derivatives. *Il Farmaco*, 59(10), 775-783.
2. Al-Soud, Y. A., Al-Masoudi, N. A., & Ferwanah, A. E. R. S. (2003). Synthesis and properties of new substituted 1, 2, 4-triazoles: potential antitumor agents. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 11(8), 1701-1708.
3. Altaf, A. A., Shahzad, A., Gul, Z., Rasool, N., Badshah, A., Lal, B., & Khan, E. (2015). A review on the medicinal importance of pyridine derivatives. *J. Drug Des. Med. Chem*, 1(1), 1-11.
4. Bondarenko, S. P. (2012) Syntez ta antyoksydantna aktyvnist' 3-aryl-4,7-dyhidroksykumaryniv [Synthesis and antioxidant activity of 3-aryl-4,7-dihydroxycoumarins]. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 2, 13-16.  
Бондаренко С. П. Синтез та антиоксидантна активність 3-арил-4,7-дигідроксикумаринів. *Ukrainica Bioorganica Acta*, 2012, № 2. С. 13-16.

5. Brazhko, O. A., Kornet, M. M., Dobrodub, I. V., Omel'yanchyk, L. O., & Zavhorodniy, M. P. (2009). Antyoksydantna aktyvnist' 4-tiopokhidnykh khinolynu u doslidakh *in vitro*. [Antioxidant activity of quinoline 4-thio derivatives in in vitro experiments]. *Visnyk DoNU, ser. A: Pryrodnychi nauky*, (2), 294-298.  
Бражко О. А., Корнет, М. М., Добродуб, І. В., Омелянчик, Л. О., & Завгородній, М. П. (2009). Антиоксидантна активність 4-тіопохідних хіноліну у дослідях *in vitro*. *Вісник ДоНУ, сер. А: Природничі науки*, (2), 294-298.
6. Demirbas, A., Sahin, D., Demirbas, N., & Karaoglu, S. A. (2009). Synthesis of some new 1, 3, 4-thiadiazol-2-ylmethyl-1, 2, 4-triazole derivatives and investigation of their antimicrobial activities. *European journal of medicinal chemistry*, 44(7), 2896-2903.
7. Doklinichni dosiedzhennya likars'kykh zasobiv (metodychni rekomendatsiyi) (2001). [Preclinical studies of medicinal products (methodical recommendations)]. Za redaktsiyeyu: chlen-kor. AMN Ukrayiny O.V. Stefanova – Kyiv, Ukraine, 59-72.  
Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / За редакцією: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. Київ: Авіцена, 2001. С. 59- 72.
8. Duga Benjamin J., Gingrich Diane E., Mesaros Eugen F. (2012). A Selective, Orally Bioavailable 1,2,4-Triazolo[1,5-a]pyridine-Based Inhibitor of Janus Kinase 2 for Use in Anticancer Therapy. *Discovery of CEP-33779. Journal of Medicinal Chemistry*, 55(11), 5243–5254.
9. Hubs'kyu, Yu. I., Byelenichev, I. F (2002). Metody otsinky antyoksydantnykh vlastyvostey fiziologichno-aktyvnykh spolkuk pry initsiyuvanni vil'no-radykal'nykh protsesiv v doslidakh in vitro: Metodychni rekomendatsiyi [Methods for assessing the antioxidant power of physiologically active diseases during the initiation of free-radical processes in the follow-up in vitro: methodical recommendations]. Kyiv, Ukraine, 3-5.  
Губський Ю.І., Беленічев І.Ф. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно-активних сполук при ініціюванні вільно-радикальних процесів в дослідях *in vitro*: Методичні рекомендації. Київ, 2002. С. 3-5.
10. Khan, E. (2021). Pyridine derivatives as biologically active precursors; organics and selected coordination complexes. *ChemistrySelect*, 6(13), 3041-3064.
11. Kryklyvyy, I. A., Rekun, H. M., Artyukh, H. P. (1979). Metody vyvchennya funktsional'nykh vlastyvostey hemoglobina [Methods of studying the functional properties of hemoglobin]. Kyiv, Ukraine, 191-201.  
Крикливий І. А., Рекун Г.М., Артюх Г.П. Методи вивчення функціональних властивостей гемоглобіна. Київ: Наукова думка, 1979. С. 191-201.
12. Kulagin, O. L., Kurkin, V. A., Dodonov, N. S. (2007). Antioksidantnaya aktivnost' nekotorykh fitopreparatov, sodержashchikh flavonoidy [Antioxidant activity of some herbal preparations containing flavonoids]. *Farmatsiya - Pharmacy*, 55(2), 30–32.  
Кулагин О.Л., Куркин В. А., Додонов Н. С. Антиоксидантная активность некоторых фитопрепаратов, содержащих флавоноиды. *Фармация*, 2007, Т. 55, № 2. С. 30–32.

13. Küçükgül, Ş. G., & Çıkla-Süzgün, P. (2015). Recent advances bioactive 1,2,4-triazole-3-thiones. *European journal of medicinal chemistry*, 97, 830-870.
14. Lakin, G. V. (1990). *Biometriya [Biometrics]*. Moscow, Russian Federation.  
Лакин Г. В. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1990. 351 с.
15. Mohammad Abu-Taweel, G., Ibrahim, M. M., Khan, S., Al-Saidi, H. M., Alshamrani, M., Alhumaydhi, F. A., & Alharthi, S. S. (2022). Medicinal importance and chemosensing applications of pyridine derivatives: A review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1-18.
16. Nechipadappu, S. K., & Trivedi, D. R. (2017). Structural and physicochemical characterization of pyridine derivative salts of anti-inflammatory drugs. *Journal of Molecular Structure*, 1141, 64-74.
17. Nizhenkovs'ka, I.V., Nizhenkovs'kyy, O. I., Vil'chyns'ka, V. V. (2012). Protsesy lipoperoksydatsiyi ta stan AO systemy v miokardi shchuriv za umov intoksykatsiyi antratsyklinovymy antybiotyky [The processes of lipid peroxidation and the state of the antioxidant system in the myocardium of the eyes under the mind of intoxication with anthracycline antibiotics]. *Suchasni problemy toksykologiyi - Current problems of toxicology*, 2, 45-47.  
Ніженковська І.В., Ніженковський О. І., Вільчинська В. В. Процеси ліпопероксидації та стан АО системи в міокарді щурів за умов інтоксикації антрацикліновими антибіотиками. *Сучасні проблеми токсикології*, 2012, № 2. С. 45-47.
18. Novikov, V.E., Makarov, S.N., Shemyakina, Ye.V. (1999). Primenimost' eritrotsitarnoy modeli dlya opredeleniya toksichnosti ksenobiotikov [Applicability of the erythrocyte model to determine the toxicity of xenobiotics]. *2-y S'yezd biofizikov RF - 2nd Congress of Biophysicists of Russian Federation*. Moscow, Russian Federation, 23-27 avg, 899.  
Новиков В.Э., Макаров С.Н., Шемякина Е.В. Применимость эритроцитарной модели для определения токсичности ксенобиотиков. *2-й Съезд биофизиков РФ*, Москва, 23-27 авг., 1999: Тез. докл. Т. 3. Москва, 1999. С. 899.
19. Palaska, E., Şahin, G., Kelicen, P., Durlu, N. T., & Altinok, G. (2002). Synthesis and anti-inflammatory activity of 1-acylthiosemicarbazides, 1, 3, 4-oxadiazoles, 1, 3, 4-thiadiazoles and 1, 2, 4-triazole-3-thiones. *Il Farmaco*, 57(2), 101-107.
20. Pil'kevych, N.B., Razdaybedin, V.M., Boyarchuk, O.D. (2007). Hemoglobin: struktura, biokhimiya ta patolohiya: Navchal'nyy posibnyk dlya studentiv vyshchychkh navchal'nykh zakladiv [Hemoglobin: structure, biochemistry and pathology: Study guide for students of higher educational institutions]. Luhans'k: Ukraine, 48.  
Пількевич Н.Б. Раздайбедін В.М., Боярчук О.Д. Гемоглобін: структура, біохімія та патологія: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. Луганськ: Альма-матер, 2007. С. 48.
21. Potts, K. T., Burton, H. R., Roy, S. K. (1966). Reactions of the s-Triazolo[4,3-a]pyridine Ring System. *Journal of Organic Chemistry*, 31, 265-273.

22. Pruhlo, YE. S. (2017). Antyoksydantna aktyvnist' soley 2-(5-R-4-amino-1, 2, 4-triazol-3-iltio) otstovoykh kyslot [Antioxidant activity of 2-(5-R-4-amino-1, 2, 4-triazol-3-ylthio) acetic acid salts]. *Aktual'ni pytannya farmatsevtichnoyi i medychnoyi nauky ta praktyky - Current issues of pharmaceutical and medical science and practice.*, 10, 3(25), 311-315.  
Пругло Є. С. (2017). Антиоксидантна активність солей 2-(5-R-4-аміно-1, 2, 4-тріазол-3-ілтіо) оцтових кислот. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, Т. 10, №3(25). С. 311-315.
23. Roberta, R., Pellehryni, N., Protehhyente, A. (1999). Antyoksydantna aktyvnist' troloksu, shcho zastosovuyet' yak pokrashchenyy test na znebarvlennya kation-radykala ABTS [Antioxidant activity of trolox applied as an improved ABTS radical cation decolorization test]. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.  
Роберта Р., Пеллегрині Н., Протеггенте А. Антиоксидантна активність тролоксу, що застосовується як покращений тест на знебарвлення катіон-радикала ABTS. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, Vol. 26. С. 1231-1237.
24. Shcherbyna, R. O., Panasenko, O. I., Knysh, YE. H. (2016). Vyvchennya antyoksydantnoyi aktyvnosti soley 2-((4-R-3-(morfolinometylen)-4H-1, 2, 4-triazol-5-il) tio) atsetatnykh kyslot [Study of antioxidant activity of salts of 2-((4-R-3-(morpholinomethylene)-4H-1, 2, 4-triazol-5-yl) thio) acetic acids]. *Ukrayins'kyi biofarmatsevtichnyy zhurnal - Ukrainian biopharmaceutical journal*, (1), 37-40.  
Щербина, Р. О., Панасенко, О. І., Книш, Є. Г. Вивчення антиоксидантної активності солей 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4H-1, 2, 4-тріазол-5-іл) тіо) ацетатних кислот. *Український біофармацевтичний журнал*, 2016, (1), 37-40.
25. Shneine, J. K., & Alaraji, Y. H. (2016). Chemistry of 1, 2, 4-triazole: a review article. *Spectroscopy*, 9(9b), 9c.
26. Zenkov, N.K., Kandalintseva, N.V., Lankin, V.Z. (2003). Fenol'nyye bioantioksidanty [Phenolic Antioxidants]. Novosibirsk, Russian Federation.  
Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З. Фенольные биоантиоксиданты. Новосибирск: СО РАМН, 2003. 328 с.

Received: 09.12.2022. Accepted: 24.12.2022. Published: 29.12.2022.

Cite this article in APA Style as:

Smolsky, O., Makei, O., Yanchenko, V., and Poletai, V. (2022). Synthesis and preclinical study of antioxidant activity of [1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridine derivatives. *BHT: Biota. Human. Technology*, 2, 129-141. (in English)

## Information about the authors:

**Smolsky O.** [*in Ukrainian: СМольський О.*] <sup>1</sup>, Ph.D. in Biol. Sc., Assoc. Prof., email: alexsmolsky@gmail.com  
ORCID: 0000-0002-7942-3414

Department of Chemistry, Technology and Pharmacy, T.H. Shevchenko National University «Chernihiv Colehium»,  
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

**Makei O.** [*in Ukrainian: Макей О.*] <sup>2</sup>, teacher, email: alexmckey2017@gmail.com

Department of Chemistry, Technology and Pharmacy, T.H. Shevchenko National University «Chernihiv Colehium»,  
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

**Yanchenko V.** [*in Ukrainian: Янченко В.*] <sup>3</sup>, Ph.D. in Pharm. Sc., Assoc. Prof., email: v.o.yanchenko@gmail.com

ORCID: 0000-0002-6727-4124 Scopus-AuthorID: 6602531355 ResearcherID: AAC-9900-2020

Department of Chemistry, Technology and Pharmacy, T.H. Shevchenko National University «Chernihiv Colehium»,  
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

**Poletai V.** [*in Ukrainian: Полегай В.*] <sup>4</sup>, Ph.D. in Biol. Sc., Assoc. Prof., email: v\_poletaj@ukr.net

ORCID: 0000-0002-0231-2740

Department of Biology, T.H. Shevchenko National University «Chernihiv Colehium»,  
53 Hetmana Polubotka Street, Chernihiv, 14013, Ukraine

---

<sup>1</sup> Study design, statistical analysis, manuscript preparation

<sup>2</sup> Data collection, statistical analysis

<sup>3</sup> Study design, statistical analysis, manuscript preparation

<sup>4</sup> Data collection, statistical analysis