

UDC 54.057:547.77:547-302:547-316
DOI: 10.15587/2519-4852.2017.113493

PRODUCTS OF INTERACTION OF SUBSTITUTED 5-AMINOPYRAZOLES WITH α -HALOKETONES AS POTENTIAL PHARMACEUTICAL AGENTS

© P. Tkachenko, O. Tkachenko, K. Netosova, O. Borisov, I. Zhuravel

Мета. Оптимізація реакції заміщених 5-амінопіразолів з α -галогенкетонами з утворенням анельованих 2,6,7-тризаміщених 1H-імідазо[1,2-*b*]піразолів.

Матеріали та методи дослідження. Використовувалися методи органічного синтезу, інструментальні методи аналізу органічних сполук.

Результати. Розроблено схему синтезу 2,6,7-тризаміщених 1H-імідазо[1,2-*b*]піразолів шляхом взаємодії 5-аміно-4-арилсульфоніл-3-метилтіопіразолів **1a-б** із хлорацетоном, фенацил бромідами та 2-хлорциклогексаноном. На відміну від описаної раніше взаємодії заміщених 5-амінопіразолів з (*N*-арил)хлорацетамидами, що протікає виключно з виділенням продуктів N^1 -алкілювання, в даній реакції утворюється суміш N^1 - та N^2 -ізомерних продуктів алкілювання. Співвідношення ізомерів залежить від природи реагентів і складає, за даними 1H ЯМР-спектроскопії, приблизно 60:40 %. Розроблена методика дозволяє в ході однієї синтетичної процедури здійснити N^1 -алкілювання 5-амінопіразолів **1a-б** та циклізацію продуктів **2** у імідазо[1,2-*b*]піразолі **4a-с** без виділення продукту N^2 -алкілювання. Чистота отриманих сполук доведена хроматографічно, структура підтверджена даними 1H ЯМР-спектроскопії.

Висновки. Оптимізована реакція заміщених 5-амінопіразолів з α -галогенкетонами з утворенням анельованих 2,6,7-тризаміщених 1H-імідазо[1,2-*b*]піразолів

Ключові слова: піразол, α -галогенкетони, 1H-імідазо[1,2-*b*]піразолі, синтез, алкілювання, фармацевтичний агент, 1H ЯМР-спектроскопія, ізомерія

1. Introduction

Substituted pyrazoles are one of the most important heterocyclic compounds, which are mentioned and emphasized in the biological, medical and technical fields. The structural fragment pyrazole as monocycle, and as segment of polynuclear systems is part of many essential compounds of natural or synthetic origin. For example, *L*- α -amino-*b*(pyrazolyl-*N*)-propanoic acid, isolated from *Citrullus vulgaris*, demonstrates antidiabetic effects; withasomnine from *Withania somnifera* demonstrates analgesic, anti-inflammatory effects, appears depressant to CNS, circulatory system; pyrazofurin functions as antitumor and antiviral agent [1]. Pyrazoles showed potent antibacterial and antifungal activity against different strains including gram-positive strains (*Staphylococcus aureus* [2], *Streptococcus mutans* [2], *Bacillus subtilis* [3]), gram-negative strains (*Salmonella typhimurium* [2] and *Pseudomonas aeruginosa* [4]) and fungus (*Candida albicans* [5], *Gaeumannomyces graminis var. graminis* [6], *Aspergillus niger*[3]). Pyrazoles are known to possess numerous chemical and biological activities such as anti-inflammatory [7], antiproliferative [8], antiepileptic [9].

2. Formulation of the problem in a general way, the relevance of the theme and its connection with important scientific and practical issues

The search for new methods of synthesis of biologically active substances [10].

3. Analysis of recent studies and publications in which a solution of the problem are described and to which the author refers

The important ability of functionally substituted pyrazoles to enter into a variety of heterocyclic reactions, as it includes the formation of binuclear compounds,

which represent the most trending class of substances for biological screening [11]. For example, synthesized N^1 -substituted 5-amino-4-arylsulfonyl-3-phenylamino-pyrazoles are of certain interest as potential pharmaceutical agents and can be used to develop new antifungal agents against *Candida albicans* [12]. 5-(*N,N*-Diacylamino)-derivatives of N^1 -substituted 4-alkyl/arylsulfonyl-5-amino-3-alkylthiopyrazoles are of great interest for further biological screening in order to find substances with the properties associated with the action on fungal cells among them [13].

4. The field of research considering the general problem, which is described in the article

Taking into account the considerable pharmacological potential of substituted aminoazoles, we drew attention to the development of approaches to the synthesis of poly substituted imidazo[1,2-*b*]pyrazoles, in particular the interaction of 5-aminopyrazoles with α -halogenocetones.

5. Formulation of tasks of article

Optimization of reaction of substituted 5-aminopyrazoles with α -haloketones to form annealed 2,6,7-trisubstituted 1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazoles.

6. Presentation of the main research material (methods and objects) with the justification of the results

6. 1. Methods and objects

All reagents and solvents were obtained from the commercial sources. Melting points were obtained by a Buchi B-520 device. The NMR-spectra were recorded with a Bruker 170 Avance spectrometer at 200 MHz, 500 MHz (DMSO-*d*₆); TMS was used as an internal standard; chemical shifts were reported in ppm. The TLC

was performed on the aluminum plates covered with a silica gel (Merck, Kiesgel 60 F-254).

5-Amino-4-phenylsulfonyl-3-methylthiopyrazole 1a and **5-Amino-4-(4'-methoxy phenyl)sulfonyl-3-methylthiopyrazole 1b** were obtained according to the methods previously reported [11, 13].

The general methods for preparation of imidazo[1,2-b]pyrazoles 4 a-c. *Method A.* To a flask with 4 ml DMF add 5-amino-4-phenylsulfonyl-3-methylthiopyrazole (0.001 mmol, 0.27 g), chloroacetone (0.0011 mmol, 0.1 g) and potassium carbonate (0.004 mmol, 0.55 g). The mixture is stirred at 50 °C for 3 hours and diluted with water (10 ml). The oily precipitate, which was formed, washed with water (5 ml) 2–3 times and separated. Then to the crude butter precipitate add 10 ml of ethanol and 0.5 ml of concentrated hydrochloric acid. The mixture is boiled for 2–4 hours and cooled. The formed precipitate was filtered, washed with ethanol, transferred into an aqueous solution of sodium bicarbonate, mix thoroughly. The precipitate is filtered, dried.

Method B. To a flask with 15 ml propanol-1 add 5-amino-4-phenylsulfonyl-3-methylthiopyrazole (0.001 mmol, 0.27 g), chloroacetone (0.0013 mmol, 0.12 g). The mixture is boiled for 8–9 hours and cooled. The formed precipi-

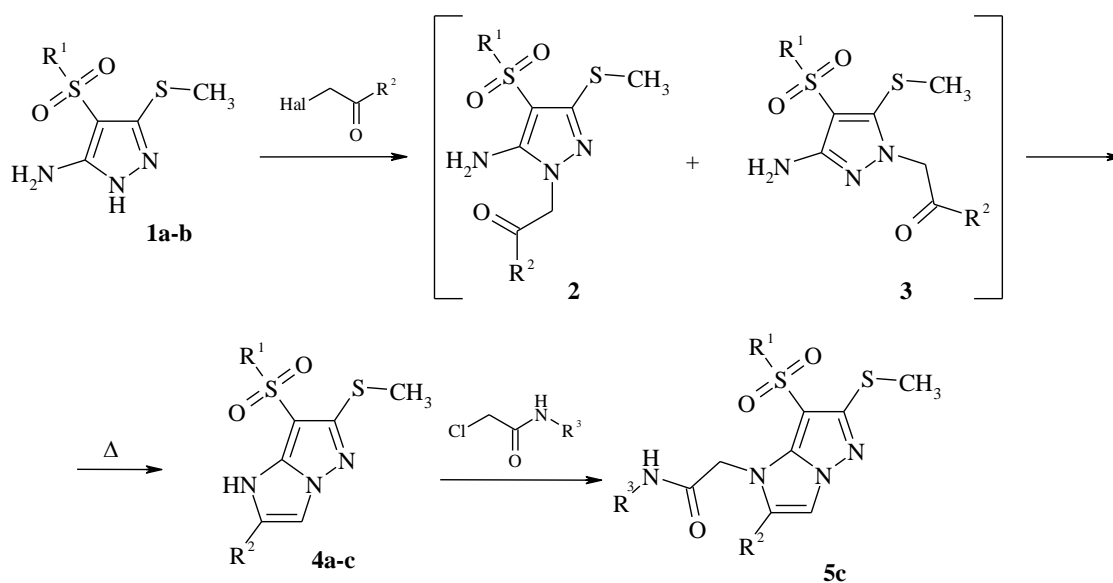
tate was filtered, transferred into an aqueous solution of sodium bicarbonate, mix thoroughly. The precipitate is filtered, dried.

The procedure for preparation of *N*-phenyl-[(2-(4'-methylphenyl)-6-methylthio-7-(4'-methoxyphenyl)sulfonyl-1*H*-imidazo[1,2-*b*]pyrazole-1-yl)acetamide 5c were obtained according to the methods previously reported [13].

6. 2. Results and discussion

In previous studies, we described the interaction of 5-amino-4-arylsulfonyl-3-alkylthiopyrazoles with (*N*-aryl)chloroacetamides, which leads to the formation only *N'*-alkylation products [11]. It should be noted that during the reaction, we did not observe the impurities of the regionisomeric product or products of NH₂-alkylation. This is evidenced by the results of TLS LCMS and by the data of ¹H NMR spectroscopy (the absence of a double set of signals, signals of a free amino group, as well as the successful course of the reaction of its acylation) [13].

In this paper, we examined the interaction of 5-amino-4-arylsulfonyl-3-methylthiopyrazoles with chloroacetone, phenacyl bromides and α -chlorocyclohexanone (Fig. 1).



1a R¹ = C₆H₅; **1b** R¹ = 4-OCH₃-C₆H₄;

4a R¹ = C₆H₅; R² = CH₃; **4b** R¹ = C₆H₅; R² = 4-Cl-C₆H₄;

4c, **5c** R¹ = 4-OCH₃-C₆H₄; R² = 4-CH₃-C₆H₄; R³ = C₆H₅;

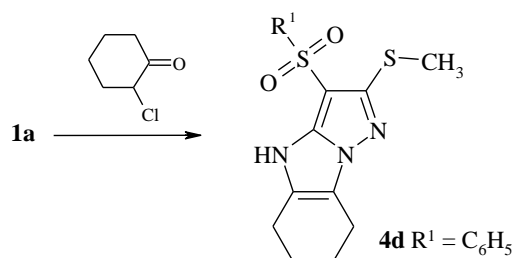


Fig. 1. Preparation of substituted 1*H*-imidazo[1,2-*b*]pyrazoles

The use of the second method, the boiling of the starting reagents in propanol-1, allowed to slightly in-

crease the yields of the final products and to exclude the stage of work with the oily product, although sometimes

the reaction did not reach the end and it was difficult to get rid of the original aminopyrazole.

Characteristic signals of the CH-proton of the pyrazole cycle in the spectra of products **4a-c** are found at δ 8.19–8.32 ppm and NH-proton of imidazole fragment (δ 12.61–12.75 ppm), and a corresponding set of aromatic protons and substituents signals. Free cyclic amino group is subject to alkylation. Thus, using a standard synthetic procedure, in reaction **4c** with (*N*-phenyl)chloroacetamide, compound **5c** was received. **5-Amino-4-phenylsulfonyl-3-methylthiopyrazole 1a**. Yield 87 %; M. p. 188 °C; ¹H NMR δ : 2.43 (s, 1H, SCH₃), 6.09 (s, 2H, NH₂), 7.56 (m, 3H, Ar-H), 7.89 (d, 2H, Ar-H), 11.97 (br.s, 1H, NH).

5-Amino-4-(4'-methoxyphenyl)sulfonyl-3-methylthiopyrazole 1b. Yield 91 %; M. p. 21 3 – 15 °C; ¹H NMR δ : 2.47 (s, 1H, SCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 6.12 (s, 2H, NH₂), 7.36 (d, 2H, Ar-H), 7.93 (d, 2H, Ar-H), 12.07 (br.s, 1H, NH).

2-Methyl-6-methylthio-7-phenylsulfonyl-1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazole 4a. Yield 26 % (Method A), 34 % (Method B); M. p. 214 – 16 °C; ¹H NMR δ : 2.08 (s, 3H, CH₃), 2.28 (s, 3H, SCH₃), 7.60 (m, 3H, Ar-H), 7.90 (dd, 2H, Ar-H), 8.03 (s, 1H, CH), 12.27 (br.s, 1H, NH).

2-(4'-Chlorophenyl)-6-methylthio-7-phenylsulfonyl-1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazole 4b. Yield 45 % (Method B); M. p. 187 – 89 °C; ¹H NMR δ : 2.49 (s, 3H, SCH₃), 7.54 (m, 5H, Ar-H), 7.86 (d, 2H, Ar-H), 8.02 (m, 2H, Ar-H), 8.32 (s, 1H, CH), 12.75 (s, 1H, NH).

2-(4'-Methylphenyl)-6-methylthio-7-(4'-methoxyphenyl)sulfonyl-1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazole 4c. Yield

37 % (Method B); M. p. 201 – 02 °C; ¹H NMR δ : 2.30 (s, 3H, CH₃), 2.47 (s, 3H, SCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 7.07 (d, 2H, Ar-H), 7.25 (d, 2H, Ar-H), 7.72 (d, 2H, Ar-H), 7.95 (d, 2H, Ar-H), 8.19 (s, 1H, CH), 12.61 (s, 1H, NH).

1-Phenylsulfonyl-2-methylthio-4,6,7,8-tetrahydro-5H-3,3a,8-triazacyclopenta[*a*]inden 4d. Yield 15 % (Method A), 31 % (Method B); M. p. 261-63 °C; ¹H NMR δ : 1.73 (br.s, 4H, 2CH₂), 2.40 (s, 3H, SCH₃), 2.56 (m, 4H, 2CH₂), 7.53 (m, 3H, Ar-H), 7.92 (dd, 2H, Ar-H), 12.05 (s, 1H, NH).

N-Phenyl-[(2-(4'-methylphenyl)-6-methylthio-7-(4'-methoxyphenyl)sulfonyl-1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazole-1-yl)acetamide 5c. Yield 27 %; M. p. 234 – 35 °C; ¹H NMR δ : 2.32 (s, 3H, CH₃), 2.47 (s, 3H, SCH₃), 3.68 (s, 3H, OCH₃), 5.08 (s, 2H, CH₂), 6.82 (d, 2H, Ar-H), 7.06 (m, 1H, Ar-H), 7.28 (m, 6H, Ar-H), 7.43 (d, 2H, Ar-H), 7.77 (d, 2H, Ar-H), 7.95 (s, 1H, CH), 10.30 (s, 1H, NH).

7. Findings from the research and prospects of further development of this area

1. The reaction of substituted 5-aminopyrazoles with α -haloketones to form annealed 2,6,7-trisubstituted 1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazoles was optimized.

2. The structure of synthesized substances was confirmed by the complex of modern spectral analysis methods.

3. The obtained 2-substituted 6-methylthio-7-phenylsulfonyl-1H-imidazo[1,2-*b*]pyrazoles are promising enough for the further biological research.

References

1. Ansari, A. Review: biologically active pyrazole derivatives [Text] / A. Ansari, A. Ali, M. Asif, S. Shamsuzzaman // New Journal of Chemistry. – 2017. – Vol. 41, Issue 1. – P. 16–41. doi: 10.1039/c6nj03181a
2. Li, Y.-R. Synthesis and biological evaluation of 1,3-diaryl pyrazole derivatives as potential antibacterial and anti-inflammatory agents [Text] / Y.-R. Li, C. Li, J.-C. Liu, M. Guo, T.-Y. Zhang, L.-P. Sun et. al. // Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters. – 2015. – Vol. 25, Issue 22. – P. 5052–5057. doi: 10.1016/j.bmcl.2015.10.028
3. Basha, S. S. Synthesis and antimicrobial activity of 3-aryl-4-heteroaryl pyrroles and pyrazoles [Text] / S. S. Basha, P. Ramachandra Reddy, A. Padmaja, V. Padmavathi, K. C. Mouli, T. Vijaya // Medicinal Chemistry Research. – 2015. – Vol. 24, Issue 3. – P. 954–964. doi: 10.1007/s00044-014-1169-8
4. Weston, C. E. Toward Photopharmacological Antimicrobial Chemotherapy Using Photoswitchable Amidohydrolase Inhibitors [Text] / C. E. Weston, A. Kramer, F. Colin, O. Yildiz, M. G. J. Baud, F.-J. Meyer-Almes, M. J. Fuchter // ACS Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 3, Issue 2. – P. 152–161. doi: 10.1021/acsinfecdis.6b00148
5. Patil, A. Synthesis and antifungal activities of diaryl pyrazoles carboxamide derivatives [Text] / A. Patil, R. Jadhav, H. Raundal, L. Sharma, R. Badgujar, V. Bobade // Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. – 2014. – Vol. 6, Issue 8. – P. 218–223.
6. Lei, P. Synthesis and fungicidal activity of pyrazole derivatives containing 1,2,3,4-tetrahydroquinoline [Text] / P. Lei, X. Zhang, Y. Xu, G. Xu, X. Liu, X. Yang et. al. // Chemistry Central Journal. – 2016. – Vol. 10, Issue 1. doi: 10.1186/s13065-016-0186-8
7. Bekhit, A. A. Synthesis and biological evaluation of some thiazolyl and thiadiazolyl derivatives of 1H-pyrazole as anti-inflammatory antimicrobial agents [Text] / A. A. Bekhit, H. M. A. Ashour, Y. S. Abdel Ghany, A. E.-D. A. Bekhit, A. Baraka // European Journal of Medicinal Chemistry. – 2008. – Vol. 43, Issue 3. – P. 456–463. doi: 10.1016/j.ejmech.2007.03.030
8. Ai, T. N-(1-Benzyl-3,5-dimethyl-1H-pyrazol-4-yl)benzamides: Antiproliferative Activity and Effects on mTORC1 and Autophagy [Text] / T. Ai, R. Willett, J. Williams, R. Ding, D. J. Wilson, J. Xie et. al. // ACS Medicinal Chemistry Letters. – 2017. – Vol. 8, Issue 1. – P. 90–95. doi: 10.1021/acsmedchemlett.6b00392
9. Kaufmann, K. ML297 (VU0456810), the First Potent and Selective Activator of the GIRK Potassium Channel, Displays Antiepileptic Properties in Mice [Text] / K. Kaufmann, I. Romaine, E. Days, C. Pascual, A. Malik, L. Yang et. al. // ACS Chemical Neuroscience. – 2013. – Vol. 4, Issue 9. – P. 1278–1286. doi: 10.1021/cn400062a
10. Krogsgaard-Larsen, P. Textbook of Drug Design and Discovery [Text] / P. Krogsgaard-Larsen, K. Stromgaard, U. Madssen. – Florida: CRC Press, 2010. – 460 p.
11. Tkachenko, P. V. Sintez i protivomikrobnaya aktivnost' 4-arylsul'fonil proizvodnykh 5-aminopyrazolov [Text] / P. V. Tkachenko, E. V. Tkachenko, I. A. Zhuravel, V. V. Kazmirchuk, U. B. Derbisbekova // Vestnik KazNMU. – 2017. – Vol. 2. – P. 307–311.
12. Tkachenko, P. V. The synthesis and the antimicrobial activity of N1-substituted 5-amino-4-arylsulfonyl-3-N-phenylaminopyrazoles [Text] / P. V. Tkachenko, O. V. Tkachenko, K. Y. Netosova, O. V. Borisov, I. O. Zhuravel, V. V. Kazmirchuk // Visnik Farmacii. – 2017. – Issue 3 (91). – P. 3–9. doi: 10.24959/nphj.17.2159

13. Tkachenko, P. V. The synthesis of the substituted 4-alkyl/arylsulfonyl-5-amino-3-alkylthiopyrazoles as promising pharmaceutical agents with the antifungal action [Text] / P. V. Tkachenko, O. V. Tkachenko, K. Y. Netosova, O. V. Borisov, I. O. Zhuravel // Visnik Farmacii. – 2017. – Vol. 2, Issue 90. – P. 25–30. doi: 10.24959/nphj.17.2158

Рекомендовано до публікації д-р фарм. наук Колісник С. В.
Дата надходження рукопису 03.10.2017

Pavlo Tkachenko, Postgraduate student, Department of Drug and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53, Kharkiv, Ukraine
61002, E-mail: toxchem@nuph.edu.ua

Olena Tkachenko, PhD, Associate Professor, Department of Quality Management, National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53, Kharkiv, Ukraine, 61002
E-mail: elena_tkachenko75@ukr.net

Krystyna Netosova, PhD, Assistant, Department of Drug and Analytical Toxicology, National University of Pharmacy, Pushkinska str., 53, Kharkiv, Ukraine
61002, E-mail: kulikovskaja.k@gmail.com

Oleksandr Borisov, PhD, Head of Laboratory, LLC “RPE “Enamine”, Chervonotkatska str., 78, Kyiv, Ukraine, 02660
E-mail: boav.79@gmail.com

Iryna Zhuravel, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Department of Clinical Biochemistry, Forensic Toxicology and Pharmacy, Kharkiv Medical Academy of Post-graduate Education, Amosova str., 58, Kharkiv, Ukraine, 61176
E-mail: irina.tox@gmail.com

UDC: 615.22:615.254:615.451.2:615.076:54.061/.062

DOI: 10.15587/2519-4852.2017.113517

QUALITY ASSESSMENT AND STABILITY STUDY OF COMPOUNDED FUROSEMIDE SYRUP

© D. Alfred-Ugbenbo, O. A. Zdoryk, V. A. Georgiyants

Лікарські засоби виготовлені в аптеках для перорального застосування, приготовлені з використанням готових лікарських засобів у якості джерела активних фармацевтичних інгредієнтів, характеризуються короткими термінами придатності через їх нестабільність.

Метою даного дослідження є вивчення фізичної, хімічної та мікробіологічної стабільності сиропів фуросеміду аптечного виготовлення впродовж 30 днів.

Матеріали і методи: Серії сиропів аптечного виготовлення 5 мг/мл, виготовлених з субстанції фуросеміду і таблеток (двох виробників) в якості джерел активних фармацевтичних інгредієнтів, зберігали в темному місці при температурі 5 ± 3 °C та 23 ± 2 °C для яких досліджували на 0, 7, 15, 23 та 30 дні зміни фізичної (рН, колір, запах, виділення газу, в'язкість), хімічної та мікробіологічної стабільності. Було проведено стрес-тест, щоб відрізнити ознаки хімічної нестабільності, використовуючи метод тонкошарової хроматографії. Досліджувані зразки протягом терміну зберігання досліджували на мікробіологічну стабільність визначаючи загальну кількість аеробних мікробів (ТАМС <100), загальну кількість комбінованих дріжджів/цвілевих грибів (ТУМС <10) та відсутність *Escherichia coli*.

Результати: Протягом усього терміну зберігання для досліджуваних сиропів було не виявлено додаткових плям на хроматограмі, суттєвих змін рН, кольору, запаху, утворення газу, в'язкості. На 30-й день у досліджуваних зразках вміст фуросеміду складав ($\geq 99,3$ %), загальний обсяг аеробних мікроорганізмів ($< 10^2$), загальний сумарний вміст дріжджів/цвілевих грибів ($< 10^1$), що є у межах допустимих значень. Зразки для яких перевіряли вплив стрес факторів на ТШХ хроматограмі виявили наявність додаткових плям та зміни їх інтенсивності.

Висновки: Досліджено, що екстемпоральні сиропи фуросеміду, виготовлені як із субстанції так і таблеток, які зберігаються в скляних флаконах у темному місці при 5 ± 3 °C та 23 ± 2 °C, фізично, хімічно та мікробіологічно стабільні принаймні протягом 30 днів.

Ключові слова: фуросемід, сироп, лікарські засоби виготовлені в аптеках, внутрішньоаптечний контроль якості, стабільність, тонкошарова хроматографія.

1. Introduction

The need for compounded preparations as a panacea for patient-specific dosing, logistical and therapeuti-

cal quagmires in pharmacotherapy is usually faced with the challenge of affirming their stability. Dispersed solid dosage forms are often used as active pharmaceutical