

# Cercetări privind sinteza și activitatea biologică a 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți utilizând ca precursori sărurile de ditiazoliu

IRINA ZARAFU<sup>1\*</sup>, LUCIA VERONICA IVAN<sup>1</sup>, IULIANA HARASIM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universitatea din București, Facultatea de Chimie, <sup>a</sup>oseaua Panduri, Nr. 90-92, 050663, București, România

<sup>2</sup>S.C. Corona 94 Prod. Str. Teodor Stefanescu Nr. 8, 030591, București, România

*3,5-disubstituted-1,2,4-tiadiazoles with substituted-styryl and heterocycle-vinyl were obtained by extending the method which implies the use of 3,5-disubstituted-1,2,4-dithiazolium salts as precursors [1-4]. A comparative study of the reaction process in the case of perchlorates, diacid phosphates, tribromides and 3,5-distyryle-dithiazolium triiodides, taken as etalon, was performed. Good yields were obtained when using perchlorates, phosphates and triiodides. The reaction was made by heating the reaction mixture and by ultrasound exposure. The structure of the compounds was confirmed by chemical and physical analysis and the data obtained were identical to those of 3,5-disubstituted-1,2,4-tiadiazoles obtained by another methods [5,6]. The biological (antibacterial and anticancer) activity of the synthesized compounds was tested and the results indicated a medium activity.*

**Keywords:** 1,2,4-dithiazolium salts, 1,2,4-tiadiazoles, ultrasound method, biological activity

Reactivitatea chimică și biologică prezentată de o serie de reprezentanți din clasa 1,2,4-tiadiazolului au determinat realizarea a numeroase cercetări ce vizau sinteza acestor compuși [1].

Una din metodele eficiente de obținere a compușilor heterociclici cu mai mulți heteroatomi, este reacția de substituție a unui sau a mai multor heteroatomi dintr-un precursor heterociclic [2-4].

Studiile menționate în literatura de specialitate [1,7,8] au arătat că 1,2,4-tiadiazolii-3,5-disubstituiți cu radicali alchil, respectiv aril se pot obține cu randamente satisfăcătoare prin substituția atomului de sulf din poziția 2 cu azotul din sărurile de 1,2,4-ditiazoliu.

În continuarea cercetărilor efectuate în cadrul Catedrei de Chimie Organică [5,6] s-a urmărit extinderea și optimizarea metodei de sinteză a 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți cu radicali de tip stiril, stiril-substituit și vinil-heterociclu, în scopul cercetării activității biologice.

Stabilirea condițiilor optime de reacție au fost realizate luându-se ca etalon 3,5-distiril-1,2,4-tiadiazolul, cu utilizarea în calitate de echivalenți sintetici a percloraților, fosfaților, tribromurilor și triiodurilor de 1,2,4-ditiazoliu (schema 1).

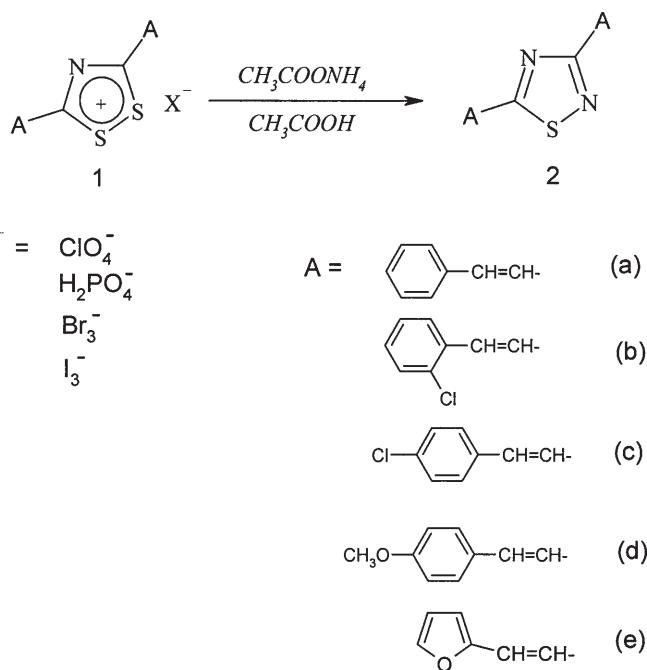
Reacția s-a desfășurat prin încălzire și respectiv expunere la ultrasunete. S-a constatat că utilizarea triiodurilor, fosfaților diacizi și a percloraților de 1,2,4-ditiazoliu permite obținerea de randamente relativ bune. Metoda optimă stabilită a fost extinsă cu rezultate satisfăcătoare și asupra sintezei 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți cu radical stiril-substituit și vinil-heterociclu.

Prin metode chimice și fizico-chimice s-au confirmat structurile tiadiazolilor și s-a studiat activitatea biologică (antimicrobiană și anticancer).

## Parte experimentală

**Sinteza 1,2,4-tiadiazolului-3,5-disubstituit prin încălzirea sării de 1,2,4-ditiazoliu (varianta I).**

Într-un balon prevăzut cu refrigerent ascendent, tub de clorură de calciu și agitare magnetică se introduc 0,001 moli sare de ditiazoliu (perclorat, fosfat diacid, tribromură și triiodură) peste care se adaugă sub agitare 2mL acid



Schema 1

acetic glacial. Se agită timp de 10 minute până la solubilizarea completă a sării de ditiazoliu. Apoi se introduc 0,002 moli (0,154g) acetat de amoniu anhidru și se observă schimbarea treptată a culorii. Se încălzește 15 minute pe baie de ulei (80-110°C), apoi se agită timp de 6 ore la temperatura camerei. Amestecul de reacție se toarnă, sub agitare, în apă rece, se filtrează la trompa de vid, se spală până la pH neutru.

**Sinteza 1,2,4-tiadiazolului-3,5-disubstituit prin expunere la ultrasunete a sării de 1,2,4-ditiazoliu (varianta II).**

Se procedează analog metodei prezentate mai sus, încălzirea fiind înlocuită cu expunerea la ultrasunete timp de 30 min a amestecului de reacție. Se utilizează o baie de ultrasunete tip BRANSONIC-1510E-MT (putere 70W, frecvență 42KHZ +/- 60%) având dimensiunile MT(L\*W\*H(mm))=140\*150\*100.

\*email: zarafuirina@yahoo.fr

**Tabelul 1**  
SINTEZA COMPUSULUI 2A AVÂND CA ECHIVALENT SINTETIC PERCLORATUL  
DE 3,5-DISTIRIL (VARINȚĂ OPTIMĂ)

Nr. Crt.	Varianta	Condiții de reacție	Culoare cristale tiadiazol	$\eta$ %	T.t. (°C)	CSS $R_f^*$
1.	I	Încălzire 15min. Agitare la temp.camerei 6 h Precipitare în apă	bej	95	99- 100	0,753
2.	II	Expunere la ultrasunete 30 min. Agitare 6h Precipitare în apă	Bej	77	99- 100	0,75

\* Eluent : Eter etilic : Toluen : Acetonă = 5 : 3 : 4.

**Tabelul 2**  
SINTEZA 3,5-DISTIRIL-1,2,4 TIADIAZOLULUI (2A)-STUDIUL COMPARATIV PLECÂND DE LA SĂRURI DE  
1,2,4-DITIAZOLIU (PRECURSORI PERCLORAT, FOSFAT DIACID, TRIBROMURĂ, TRIODURĂ)

Nr. Crt.	Precursor Tip 1	Anion $X^-$	Varianta de reacție	$\eta$ %	P.t. (°C)	CSS * $R_f$
1.	1a	$ClO_4^-$	I	99	99-100	0,753
2.	1b	$H_2PO_4^-$	I	Cantitativ	99-100	0,75
3.	1c	$Br_3^-$	I	80	97-99,5	0,753
4.	1d	$I_3^-$	I	Cantitativ	98-100	0,75

\* Eluent : Eter etilic : Toluen : Acetonă = 10 : 6 : 8.

Tiadiazolii astfel sintetizați au fost purificați prin recristalizare din eter etilic :metanol =1 :1 sau etanol :apa =3 :1. Puritatea a fost verificată prin cromatografie în strat subțire utilizând ca sisteme cromatografice Eter etilic:Toluen :Acetonă=10 :6 :8, Eter de petrol: Toluen: Acetonă :Eter etilic =5 :3 :4 :0,5 și Benzen:Tetrahidrofuran :Acid propionic =8 :3 :0,5. S-au utilizat plăci cromatografice Merck de tip DC- Plastikfolien Kieselgel 60F<sup>254</sup>, ALUGRAM-SIL G/UV<sup>254</sup>, POLYGRAM-SIL G/UV<sup>254</sup>, evidențierea spoturilor s-a realizat cu lampa UV tip VL-4C 4W-254nm, putere 8W. Punctele de topire ale tiadiazolilor au fost determinate la aparat Boëtius și aparat cu baie de lichid. Analizele chimice și fizico-chimice (tabelele 3 și 4) au coincis cu cele menționate în literatura de specialitate [5,6].

#### *Studiul proprietăților biologice ale 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți cu radical stiril.*

S-au determinat activitatea antibacteriană în cadrul laboratorului de imunomicrobiologie al Institutului de Pneumoftiziologie „Marius Nasta” din București și activitatea de inhibare a creșterii culturilor de celule tumorale umane (prima etapă) la Institutul Național de Cancer-Bethesda Maryland-USA.

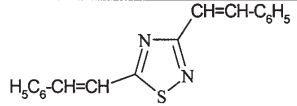
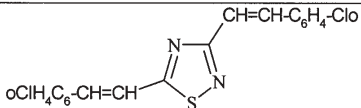
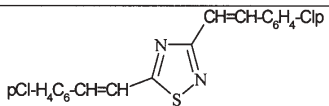
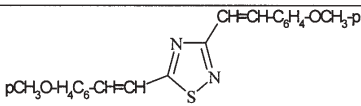
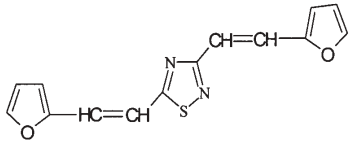
#### **Rezultate și discuții**

Cercetările au avut drept scop atât extinderea și optimizarea metodei de sinteză a 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți cu radicali de tip stiril, stiril-substituit și vinil-heterociclu, utilizând ca echivalenți sintetici sărurile de 1,2,4-ditiazoliu-3,5-disubstituite, cât și studiul activității biologice a compușilor heterociclici de tipul 2.

În vederea stabilirii parametrilor optimi de substituție a atomului de sulf din poziția 2 cu azotul s-a utilizat, în calitate de precursor percloratul de 3,5,-distiril-1,2,4-ditiazoliu (1a), care prin interacțiunea cu acetatul de amoniu anhidru în mediu de acid acetic glacial, în condiții variate, a permis obținerea cu randamente satisfăcătoare a 3,5-distiril-tiadiazolului 2a.

Procesul a avut loc sub încălzire și agitare, respectiv expunere la ultrasunete. S-a variat temperatura de încălzire, timpul de reacție, respectiv perioada de expunere la ultrasunete. Condițiile optime sunt prezentate în tabelul 1.

În vederea stabilirii influenței tipului de anion (perclorat, fosfat diacid, tribromură, triiodură) în procesul de transformare a precursorului (1a-1d) s-a realizat un studiu comparativ cu respectarea condițiilor impuse în varianta I-tabelul 1. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 2.

Nr. Comp.	Formula structurală a compusului de tipul 2	$\eta^*$ %	T.t. $^{\circ}\text{C}$	CSS $R_f^{**}$	Lit.
2a		99	99-100	0,75	[5]
2b		67	117-118	0,84	[6]
2c		53	164-165	0,88	[6]
2d		65	159-160	0,82	[6]
2e		52	128,5-130	0,66	[6]

\*Randament în produs recristalizat.

\*\* Eluent : Eter etilic : Toluen : Acetonă = 10 : 6 : 8.

**Tablul 3**  
1,2,4-TIADIAZOLI-3,5-DISUBSTITUIPI (TIPUL 2)  
OBDINUPI PRIN VARIANTA I-PRECURSOR  
PERCLORATUL  
DE 3,5-DISTIRIL-1,2,4-DITIAZOLIU (1a)

Nr. comp.	Analiza elementală				IR (KBr), $\nu(\text{cm}^{-1})$	$^1\text{H RMN}$ (100MHz), $\delta(\text{ppm})$
	N%		S%			
	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.		
2a	9,65	9,75	11,03	11,20	3030, 1640, 1600, 1580, 1070, 760, 1470, 1280, 770, 970	7,25-7,9 (m, 14H, CH=CH-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> ).
2b	7,79	7,84	8,91	8,85	3420, 2850, 1790, 1650, 1450, 1320, 970	7,22-8,32 (m, 12H)
2c	7,79	7,80	8,91	8,86	3280, 3020, 1710, 1650, 1480, 1340, 1160, 880	7,05-7,9 (m, 12H)
2d	8,00	8,15	9,14	9,09	3480-3320, 1600, 1540, 1250, 1180, 1030, 970, 678	6,92-7,90 (m, 12H, - CH=CH-C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -R), 3,90(s, 6H, -OCH <sub>3</sub> )
2e	10,37	10,46	11,85	11,79	3400-3000; 1668, 1560, 1380, 1280, 1020, 970, 860, 760	6,8-8,0 (m, 10H)

**Tablul 4**  
DATELE IR,  $^1\text{H RMN}$   $^3\text{I}$  ANALIZEI  
ELEMENTALE PENTRU 1,2,4-  
TIADIAZOLI DE TIPUL 2

**Tabelul 5**  
**REZULTATELE ACTIVITĂȚII ANTIBACTERIENE A TIADIAZOLILOR (2a-2e)**

Nr. comp.	E. coli	Piocianic	Proteus	Klebsiella	Pseudo-monas aerugin.	S. aureus	S. β-hem.	Act. hemolit
2a	+	+	+	+	-	+	-	+
2b	++	++	++	+	+	+	+	+
2c	+	+	+	+	+	+	+	+
2e	++	++	++	+	++	++	++	+

Activitatea antibacteriană : „++” = puternică; „+” = medie; „-”, = inactiv.

**Tabelul 6**  
**DIAMETRUL DE INHIBIȚIE A COMPUSULUI 2e**

Tulpina Microbiana	Diametrul zonă inhibiție (în mm)	Tulpina Microbiana	Diametrul zonă inhibiție (în mm)
<i>S. Aureus</i> ATCC25923	18	<i>S. Pneumoniae</i>	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	<i>Enterobacter</i>	15
<i>E. Coli</i> ATTC 25922	10	<i>S. Aureus</i> (puroi)	-
<i>S. Aureus</i> 13204	10	<i>E. Coli</i> (urocultura)	-
<i>S. Oxford</i> 10297	10	<i>Shigella</i> <i>Sonne S</i>	19
<i>E. Coli</i> 13203	-	<i>Shigella</i> <i>flexneri</i>	26

Din rezultatele menționate în tabelul 2 reiese că influența tipului de anion asupra randamentului de reacție nu este foarte marcantă, o scădere evidentă apare numai în cazul utilizării ca sinton a tribromurii de 3,5-distiril-1,2,4-ditiazoliu (1c).

Metoda de sinteză stabilită (variante I-tabelul 1) a fost extinsă și în cazul altor precursori cu radicali stiril-substituiți și vinil-heterociclu. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 3.

Compuși au fost supuși analizelor chimice și fizice (tabelul 4).

Datele obținute în urma analizelor chimice și fizice (tabelul 4) atestă structura produșilor și corespund cu cele

existente în literatura de specialitate pentru 1,2,4-tiadiazolii-3,5-disubstituiți de tipul 2a-2e obținuți pe altă cale.

#### *Determinarea activității biologice*

Având în vedere potențiala activitate biologică a compușilor heterociclici de tipul 2 (1,2,4-tiadiazolii-3,5-disubstituiți) s-a considerat oportun investigarea activității antibacteriene și anticancerigene în prima etapă, respectiv de pretestare.

În tabelul 5 sunt prezentate rezultatele activității antibacteriene a compușilor de tipul 2 din seria 1,2,4-tiadiazolului-3,5-disubstituit cu radicali stiril, stiril-substituit și vinilen-heterociclu.

**Tabelul 7**  
**REZULTATELE EXPERIMENTALE ÎN PRIMA PROBĂ DE TESTARE**

Compusul	Creșterea procentuală			Activitatea antitumorală
	NCI – H460	MCF7	SF-268	
2a	71	48	70	inactiv
2b	15	10	40	activ
2c	70	49	76	inactiv
2d	14	14	33	activ
2e	14	12	35	activ

Pentru prepararea inocului s-a folosit un mediu de bulion glucozat, solventul utilizat a fost acetona (lipsită de activitate antimicrobiană proprie). Activitatea antibacteriană a fost determinată prin metoda zonei de inhibiție pe plăci cu mediu Mueller-Hinton, Mac-Conkey. Testarea sensibilității a fost realizată pe 7 tulpini gram-negative și 2 tulpini gram-pozitive. Cea mai puternică activitate antimicrobiană o prezintă compusul 2e (3,5-di(2-furil-vinil)-1,2,4-tiadiazol). În tabelul 6 este prezentat diametrul în mm al zonei de inhibiție caracteristic compusului menționat.

Produce prezentă spre testarea activității anticancerigene au fost studiate utilizând o metodă de pretestare eficientă în aprecierea substanțelor capabile de a inhiba creșterea culturilor de celule tumorale umane. S-au utilizat trei linii tumorale: MCF(cancer mamar), NCI-H460 (cancer pulmonar), SF-268 (CNS) (cancer la nivelul sistemului nervos central). Rezultatele pentru fiecare substanță testată se exprimă în procente, fiind raportată la creșterea obținută pentru celulele netratate (proba martor) (tabelul 7).

Pentru a fi considerată activă substanța studiată trebuie să reducă creșterea a cel puțin uneia din liniile celulare cu minimum 32%.

Din tiadiazolii prezentați spre testare în prima etapă prezintă interes numai compușii 2b (substituent *orto*-clor-stiril), 2d (substituent *para*-metoxi-stiril) și 2e (substituent 2-furil-vinil).

### Concluzii

-Cercetările efectuate au permis optimizarea și extinderea metodei de obținere a 1,2,4-tiadiazolilor-3,5-disubstituiți cu radical stiril, stiril-substituit și vinil-heterociclu prin substituția sulfului din poziția 2 cu azotul din precursori precum sărurile de 1,2,4-ditiazoliu. Randamentele obținute au fost relativ bune.

S-a efectuat un studiu comparativ utilizând ca sintoni perclorajii, fosfalii diacizi, triiodurile și tribromurile de 1,2,4-ditiazoliu (etalon obținerea 3,5-distiril-1,2,4-tiadiazolul) și s-a constatat realizarea sintezei cu randamente relativ bune a tiadiazolilor corespunzători, fapt ce demonstrează că natura anionului nu prezintă o importanță semnificativă în desfășurarea procesului.

Pentru prima dată s-a aplicat, în cazul reacției menționate, expunerea la ultrasunete și stabilirea condițiilor de sinteză, cu randament de 77%, a 3,5-distiril-1,2,4-tiadiazolul.

Structura compușilor obținuți a fost confirmată prin analize chimice și fizico-chimice, datele obținute fiind similare cu cele existente în literatura de specialitate pentru produșii identici obținuți pe altă cale.

1,2,4-Tiadiazolii-3,5-disubstituiți obținuți pe această cale au fost supuși testelor biologice. S-a studiat astfel activitatea antibacteriană și anticancerigenă, constatându-se că produșii prezintă o acțiune medie; se evidențiază ca fiind activ în mod deosebit 3,5-di(2-furil-vinil)-1,2,4-tiadiazolul 2e.

### Bibliografie

- LIEBSCHER, J., HARTMANN, H., Heterocycles, 23, nr. 4, 1985, p. 997
- LIEBSCHER, J., Hartmann, H., DDR-Patent 126 306, 1977, 6pg.
- KATRIZKY, A.R., LAN, X., YANG, J.Z., DENISKO, O.V., Chem. Rev., 98, 1998, p. 409
- LIEBSCHER, J., DDR-Patent 136965, cf. Chem. Abstr., 1980, 58789 e
- CORNEA, F., HARASIM, I., IVAN, L., Anal. Univ. Bucuresti, 1992, I, p. 77
- CRETU, I., ZARAFU, I., IVAN, L., BACIU, I., ROBBIA, M., Rev. Chim. (Bucuresti), 52, nr. 4, 2001, p. 210
- LIEBSCHER, J., HARTMANN, H., Liebigs Ann. Chem., 6, 1977, p. 1005
- LIEBSCHER, J., PATZEL, M., KELBORO, Y.F., Synthesis, 10, 1989, p. 672

Intrat în redacție: 6.02.2007