

**5-ԻՋՈՐՈՒԹԻԼ-4-ՊՐՈՊԻԼ-2,4-ԴԻՀԻԴՐՈ-ՅH-1,2,4-ՏՐԻԱԶՈԼ-3-ԹԻՈՆԻ
ՖՐԱԳՄԵՆՏԱՅԻԱՅԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ
ESI-MS/MS ՄԵԹՈԴՈՎ**

Ա. Վ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ^Ա, Ա. Մ. ԴԱՎԻՏՅԱՆ^Բ, Ա. Ս. ԳԱԼՍՅԱՆ

Մերևանի պետական համալսարան,
0025, Երևան, Ալեք Մանուկյան 1
ԲՀՀ ԳԱԱ օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոն,
0040, Երևան, Ազատության 26.
E-mail: artyom.petrosyan@edu.ysu.am

Հանդուրժված է 01.03.2024

Կատարվել է 5-իզոբութիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնի ESI-MS/MS մեթոդով ֆրագմենտացիայի ուսումնասիրություն 5, 15, 25, 35 Վ լարման տակ: Ցույց է տրվել, որ N-պրոպիլ կապը հեշտությամբ ճեղքվում է նույնիսկ 5 Վ լարման տակ՝ պրոպիլենի անջատմամբ, իսկ տրիազոլային օղակ-ծծումը կապը բավականաչափ ամուր է և սկսում է ճեղքվել 25 Վ լարումից: Տվյալ միացության համար ցույց են տրվել նաև տրիազոլային օղակի ճեղքմամբ ընթացող ֆրագմենտացիայի և վերախմբավորման այլ ուղիներ:

Ծանոթ. 8, նկ.1, գծ. 1.

Բանալի բառեր. մաս սպեկտրասկոպիա, պիրազոլ, ֆրագմենտացիայի համակարգչային հետազոտում, հաշվողական քիմիա:

Նախաբան

1,2,4-տրիազոլների մի շարք ածանցյալներ ցուցաբերում են հակավիրուսային, հակաբակտերիալ, հակաքաղցկեղային, հակասնկային և այլ հատկություններ [1], այդ պատճառով դրանց ածանցյալների կառուցվածքների ուսումնասիրությունը, փոքր, հետքային քանակների հայտնաբերումը և նույնականացումը կարևոր հարցերից մեկն են: Այդպիսի հետազոտությունների իրականացման

համար հաճախ օգտագործվում է մաս սպեկտրասկոպիան, ինչը լայն հնարավորություն է տալիս կատարելու մոլեկուլների և դրանցից ստացված ֆրագմենտների կառուցվածքների հետազոտություն: Բարձր լուծողականությունը մաս սպեկտրամետրիան (HRMS) թույլ է տալիս կատարել միացությունների և դրանցից ստացված ֆրագմենտների նույնականացումը, որոնց հետագա վերլուծությունից էլ հնարավոր է դառնում պարզել միացությունների կառուցվածքը [2]: Մոլեկուլների կառուցվածքի առավել մանրամասն հետազոտություններում կիրառվում է տանդեմ մաս սպեկտրամետրիան (MS/MS), որը հնարավորություն է տալիս նմուշում հայտնաբերված բոլոր մասնիկների համար առանձին-առանձին կատարելու ֆրագմենտավորմամբ անալիզ: Դա կարելի է իրականացնել առաջին MS դետեկտորում (MS^1) հայտնաբերված մասնիկի կամ դրա ֆրագմենտները տարբերակել ըստ մոլեկուլային զանգվածի և ցանկալի մասնիկները երկրորդ MS դետեկտոր (MS^2) անցկացնել առանձին-առանձին: Այս մեթոդը հնարավորություն է տալիս հետազոտելու ոչ միայն անհատական միացություններ, այլ նաև կատարելու խառնուրդների, կենսաբանական համակարգերի, սպիտակուցների, ԴՆԹ-ի մաս անալիզ:

1,2,4-տրիազոլային օդակ պարունակող Alproazolam դեղանյութի համար Ա. Գոնսալվեսը և թիմն իրականացրել են ակտիվ միացության ու կողմնակի միացությունների հայտնաբերում և ֆրագմենտացիա՝ LCMSMS մեթոդով [3]: Աշխատանքում ցույց են տրվել այդ միացությունների ֆրագմենտացիաների և վերախմբավորումների հիմնական ճանապարհները: 1,2,4-տրիազոլի մի շարք այլ ածանցյալների ֆրագմենտացիաների ճանապարհներ նույնպես հայտնի են գրականությունից [4-7]:

Սարքեր և մեթոդներ

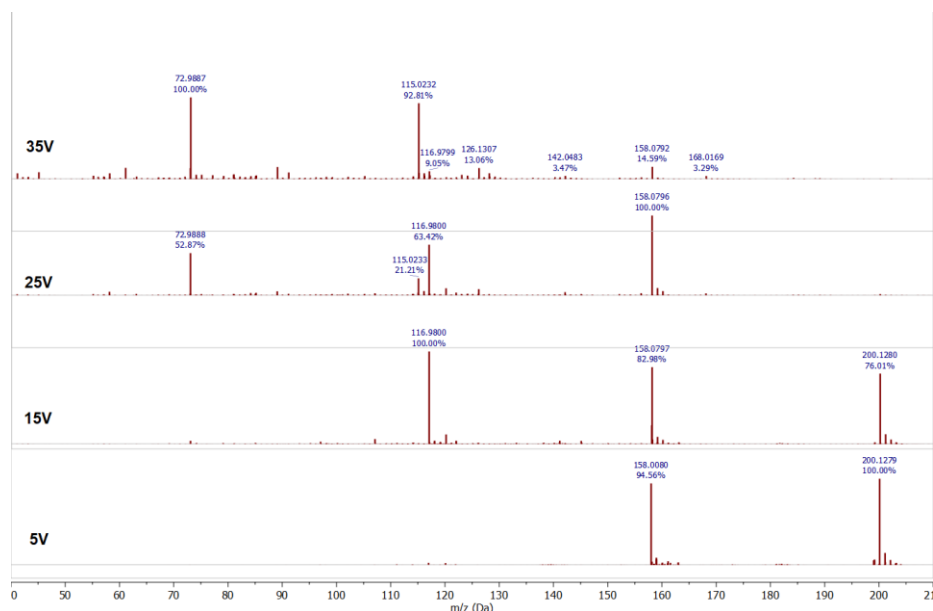
ESI-MS/MS հետազոտությունն իրականացվել է Waters Xevo G 3 Qtof սարքով, իոնացման ձևը՝ ES⁺ (Electrospray positive): MS^1 դետեկտորով սկանավորումն իրականացվել է m/z 100-1000, իսկ MS^2 դետեկտորով՝ 10-1000 տիրույթում (սկանավորման ժամանակը՝ 2 րոպե): Հետազոտվող 5-իզոբուլբիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնը սինթեզվել է գրականության մեջ նկարագրված եղանակով [8], նյութի կառուցվածքը հաստատվել է 1H և ^{13}C ՄՄՌ անալիզի հիման վրա: Հետազոտվող լուծույթը պատրաստվել է ացետոնիտրիլ: ջուր 1:1-ի հարաբերությամբ լուծիչում, 100 նգ/մլ կոնցենտրացիայով: Հնարավոր միջանկյալ ֆրագմենտների կառուցվածքի համակարգչային ուսումնասիրությունը իրականացվել է Gaussian 09 ծրագրային փաթեթի միջոցով (DFT, B3LYP/6-

31+G(d) մեթոդով): Ընտրվել են ամենից ցածր ընդհանուր էներգիա ունեցող վիճակները՝ որպես պոտենցիալ ամենակայուն ֆրագմենտներ:

5-իզոբուրիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոն:
 հ.կ. 74 °C. ^1H ՄՄՌ (300 ՄՀց, DMSO/ CCl_4 -1/3) δ 13.29 (լ.ս., 1H, NH), 3.90 – 3.78 (մ, 2H, CH_2N), 2.48 (դ, J = 7.1 Հց, 2H, CH_2CH), 2.24 – 2.01 (մ, 1H, CH), 1.82 – 1.63 (մ, 2H, CH_2CH_3), 1.06 – 0.93 (մ, 9H, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, CH_2CH_3). ^{13}C ՄՄՌ (75 ՄՀց, DMSO/ CCl_4 -1/3) δ 166.2, 150.1, 44.1, 33.5, 25.8, 22.0, 21.1, 10.7. $h\nu_{\text{max}}$ = 3099.10, 3043.17, 2954.46, 2923.60, 2869.61, 2852.25, 2767.40, 2690.26, 2643.97, 2562.97, 1565.94, 1502.30, 1469.52, 1454.09, 1436.73, 1413.59, 1376.95, 1355.73, 1346.09, 1319.09, 1305.59, 1288.24, 1278.59, 1249.67, 1218.81, 1195.67, 1170.60, 1149.39, 1110.82, 1062.60, 987.39, 956.54, 941.11, 923.75, 904.47, 885.18, 871.68, 815.75, 788.76, 779.11, 750.19, 736.69, 723.19, 698.12, 665.33, 659.55 $\mu\text{մ}^{-1}$.

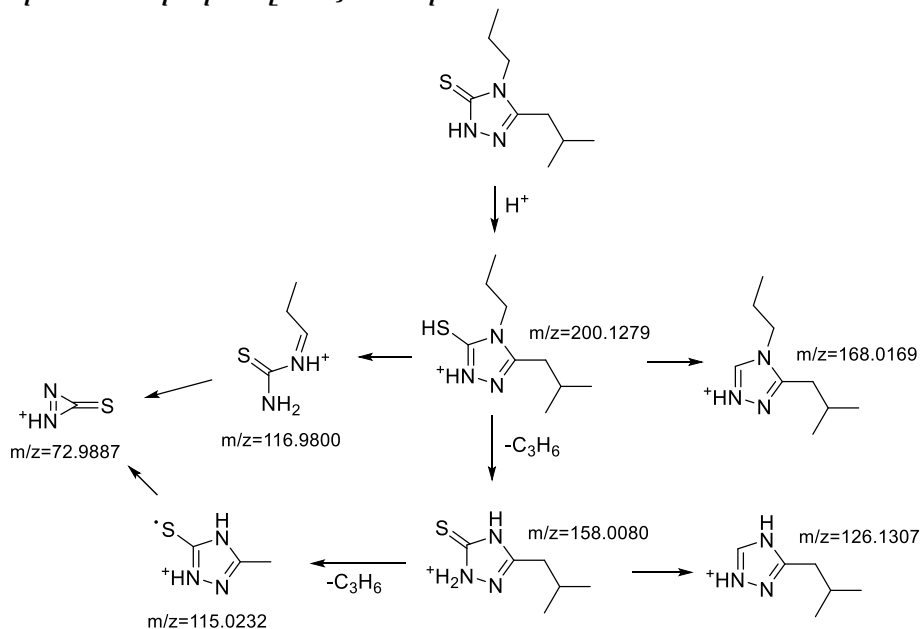
Արդյունքներ և դրանց բննարկումը

Հաշվի առնելով նախաբանում նկարագրվածը, որոշվեց իրականացնել 5-իզոբուրիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնի *ESI-MS/MS* մեթոդով հետազոտություն՝ այդ միացության մաս ֆրագմենտացիայի նախապահմաների որոշման համար: MS^2 -ի մոտեցում լարման (Collision voltage) համար ընտրվել են 5, 15, 25 և 35 Վ արժեքները: Հետազոտության սկզբում որոշվել է 5-իզոբուրիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնի մոլեկուլային իոնի ($M+H^+$) զանգվածը:



Նկար 1. MS սպեկտրերը 5, 15, 25, 35 Վ լարման տակ

5Վ լարման տակ իրականացված անալիզում առավելագույն ինտենսիվությամբ պիկը (100%) ունեցել է 200.1279 m/z, ինչը համապատասխանում է $[C_9H_{18}N_3S]^+$ մասնիկին, այսինքն՝ միացության պրոտոնացված մոլեկուլային իոնին: Նույն պայմանում մեծ ինտենսիվություն (94.56%) է ունեցել 158.0080 m/z-ով պիկը, ինչը համապատասխանում է $[C_6H_{12}N_3S]^+$ մասնիկին: Սա նկարագրում է մոլեկուլից պրոպիլ խմբի հեռացում, և քանի որ N-C կապն էներգիան ավելի փոքր է, քան C-C կապինը, ավելի հավանական է մոլեկուլի N-պրոպիլ մասից պրոպիլենի հեռացումը՝ N-H կապի առաջացմամբ: 15Վ լարման տակ ամենաինտենսիվ պիկի m/z-ը 116.9800 է, ինչը կարող է համապատասխանել $[C_4H_9N_2S]^+$ մասնիկի: Այդպիսի մասնիկ կարող էր առաջանալ տրիագուլային օդակի ճեղքումից՝ թիոմիզանյութի համապատասխան ածանցյալի կատիոնի առաջացմամբ: 25Վ լարման տակ հայտնվում են նոր ֆրագմենտներ, մասնավորապես 115.0233 m/z-ով ֆրագմենտը, որը, ըստ մեր ենթադրության, առաջանում է իզոբութիլ խմբից պրոպիլ ռադիկալի անջատման հետևանքով: Քվանտաքիմիական հաշվարկները ցույց են տալիս, որ ռադիկալը, առավել մեծ հավանականությամբ, գտնվում է ծծմբի ատոմի վրա: Վերջինիցս, ինչպես նաև վերևում նկարագրված թիոմիզանյութի ածանցյալից ստացվում է 72.9888 m/z-ով ֆրագմենտ, ինչը համապատասխանում է 3-թիոքսո-3H-դիազիրին-1-իում կատիոնին, ընդ որում այդ պիկի ինտենսիվությունը մեծանում է 35 Վ-ում: Այդ լարման տակ նկատվում է նաև դե-



Գծապատկեր 1. 5-իզոբութիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիագուլ-3-թիոնի ֆրագմենտացիայի ճանապարհները

սուլֆուրացման արգասիքների առաջացում, ինչպիսիք են 168.0169 և 126.1307 m/z-երով ֆրագմենտները: Ստացված տվյալներից նկատելի է փորձարկվող 5-իզոբուտիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնի անկայունությունը բարձր լարումների նկատմամբ: Արդեն 25 Վ լարման տակ մոլեկուլային պիկ գրեթե չի գրանցվում, իսկ 35 Վ-ը գրեթե ամբողջությամբ քայքայվում է մեծ ֆրագմենտները:

Եզրակացություններ

5-իզոբուտիլ-4-պրոպիլ-2,4-դիհիդրո-3H-1,2,4-տրիազոլ-3-թիոնի ESI-MS/MS մեթոդով ֆրագմենտացիան սկսում է ընթանալ ցածր լարումների ներքո: Առաջին հերթին ընթանում N-C (պրոպիլ) կապի խզում, այնուհետև՝ տրիազոլային օղակի քանդում, վերախմբավորումներ այլ հետերոցիկլների առաջացմամբ և դեսուլֆուրացման գործընթացներ: 35 Վ-ի ներքո ծանր ֆրագմենտները գրեթե ամբողջությամբ քայքայվում են: Ստացված արդյունքները կարող են հիմք հանդիսանալ 1,2,4-տրիազոլների այլ ածանցյալների ESI-MS/MS մեթոդով ֆրագմենտացիան ուսումնասիրելու համար:

ИССЛЕДОВАНИЕ ФРАГМЕНТАЦИИ 5-ИЗОБУТИЛ-4-ПРОПИЛ-2,4-ДИГИДРО-3H-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОНА МЕТОДОМ ESI-MS/MS.

А. В. ПЕТРОСЯН, А. М. ДАВИНЯН, А. С. ГАЛСТЯН

Исследование фрагментации 5-изобутил-4-пропил-2,4-дигидро-3H-1,2,4-триазол-3-тиона методом ESI-MS/MS проводили в условиях напряжений 5, 15, 25, 35 В. Было показано, что связь N-пропил легко разрывается даже при 5 В с выделением пропилена, тогда как связь триазольного кольца с серой достаточно прочна и начинает расщепляться при 25 В. Для этого соединения показаны и другие пути фрагментации и перегруппировки с расщеплением триазольного кольца.

FRAGMENTATION STUDY OF 5-ISOBUTYL-4-PROPYL-2,4-DIHYDRO-3H-1,2,4-TRIAZOLE-3-THIONE USING ESI-MS/MS.

A.V. PETROSYAN, A.M. DAVINYAN, A.S. GALSTYAN

Yerevan State University, 1 Alek Manukyan str. 0025, Yerevan, RA
E-mail: artyom.petrosyan@edu.ysu.am

The study of fragmentation of 5-isobutyl-4-propyl-2,4-dihydro-3H-1,2,4-triazole-3-thione by ESI-MS/MS was carried out under voltage conditions of 5, 15, 25, 35 V. It was shown that the N-

propyl bond is easily cleaved even at 5 V with the release of propene, while the bond of the triazole ring with sulfur is quite strong and begins to cleave at 25 V. Other routes of fragmentation and rearrangement with cleavage of the triazole ring have been shown for this compound.

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- [1] *Aggarwal R., Sumran G.* - An insight on medicinal attributes of 1,2,4-triazoles // *Eur. J. Med. Chem.* 2020, v. 205, 112652.
- [2] *Buchberger A.R., DeLaney K., Johnson J., Li L.* - Mass Spectrometry Imaging: A Review of Emerging Advancements and Future Insights // *Anal. Chem.* 2018, , v. 90(1), p.p. 240-265.
- [3] *Gonsalves A.R., Pineiro M., Martins J.M., Barata P.A., Menezes J.C.* - Identification of Alprazolam and its degradation products using LC-MS-MS // *ARKIVOC*, 2010, v. 5, p.p. 128-141.
- [4] *Varynskyi B.O., Kaplaushenko A.G.* - ESI-MS fragmentation pathways of some 1,2,4-triazole-3-thiones, the intermediate compounds in the synthesis of active pharmaceutical ingredients // *J. Org. Pharm. Chem.*, 2020, v. 18(1), p.p. 22-33.
- [5] *Salionov V.A., Varynskyi B.A., Parchenko V.V.* - Mass-spectrometric fragmentation of sodium 2-(4-methyl-5-(thiophene-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetate // *Zap. Med. J.*, 2015, v.5, p.p. 92-96
- [6] *Mazur D.M., Piacentino E.L., Berden G., Oomens J., Ryzhov V., Bakulev V.A. Lebedev A.T.* Differentiation between Isomeric 4,5-Functionalized 1,2,3-Thiadiazoles and 1,2,3-Triazoles by ESI-HRMS and IR Ion Spectroscopy // *Molecules* 2023, v. 28, p.p. 977.
- [7] *Eswaran S., Adhikari A.V., Shetty N.S.* - Synthesis and antimicrobial activities of novel quinoline derivatives carrying 1,2,4-triazole moiety // *Eur. J. Med. Chem.*, 2009, v. 44(11), p.p. 4637–4647.
- [8] *Galstyan A.S., Ghochikyan T.V., Samvelyan M.A., Frangyan V.R., Sarfraz M.* - Synthesis, Study of the Biological Activity of New 1,2,4-Triazole Derivatives and Characteristics of the Relationship of the Structure and Biological Activity in a Series of the Latter // *ChemistrySelect*, 2019, v. 4(42), p.p. 12386–12390.