

## PHARMACY

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ПОХІДНИХ 1,2,4-ТРИАЗОЛУ, ЩО МІСТЯТЬ В СВОЄМУ СКЛАДІ ЯДРО 1Н-ТЕТРАЗОЛУ**

Фролова Ю. С., д.фарм.н., проф. Каплаушенко А. Г.

Україна, Запоріжжя, Запорізький державний медичний університет, кафедра фізіологічної хімії

DOI: [https://doi.org/10.31435/rsglobal\\_wos/30062019/6552](https://doi.org/10.31435/rsglobal_wos/30062019/6552)

**ARTICLE INFO**

**Received:** 12 April 2019

**Accepted:** 26 June 2019

**Published:** 30 June 2019

**KEYWORDS**

1,2,4-triazole, 1H-tetrazole, acute toxicity.

**ABSTRACT**

The design of new drugs is a rather complex and multi-stage process. The modeling and creation of new biologically active compounds are one of the stages of this operation. One of the important stages of preclinical trials is the study of acute toxicity of newly synthesized compounds. Great interest in this branch is nitrogen-containing heterocycles, namely 1,2,4-triazole and their derivatives.

Therefore, the purpose of our work is to study acute toxicity among new derivatives of 5-(1H-tetrazole-1-yl)-4-R-3-thio(amino)-1,2,4-triazole.

The study of acute toxicity was carried out by the method of V. B. Prozorovsky on the white nonlinear rats.

As a result of the experiments, acute toxicity of the 41 synthesized compounds was determined. The value of the LD50 of new derivatives of 5-(1H-tetrazole-1-yl)-4-R-3-thio(amino)-1,2,4-triazole is in the range of 357-1060 mg/kg, and according to the classification of Sidorov I. K. belong to IV and V toxicity classes.

**Citation:** Фролова Ю. С., Каплаушенко А. Г. (2019) Doslidzhennia Hostroi Toksychnosti Pokhidnykh 1,2,4-Triazolu, Shcho Mistiat V Svoiemu Skladi Yadro 1N-Tetrazolu. *International Academy Journal Web of Scholar*. 6(36). doi: 10.31435/rsglobal\_wos/30062019/6552

**Copyright:** © 2019 Фролова Ю. С., Каплаушенко А. Г. This is an open-access article distributed under the terms of the **Creative Commons Attribution License (CC BY)**. The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

**Вступ.** Створення нових лікарських препаратів – це досить складний і багатостадійний процес, одним з етапів якого є моделювання та створення нових біологічноактивних сполук. Останніми роками велика кількість вітчизняних [1–3] та закордонних [4, 5] вчених приділяють багато уваги синтезу нових речовин, що володіють широким спектром фармакологічної дії та низькими показниками токсичності. Але, на жаль, більшість нових синтезованих сполук так і не потрапляють на фармацевтичний ринок. Однією з причин є наявність високих показників токсичності у новостворених речовин. Для успішного впровадження нових лікарських засобів на вітчизняний фармацевтичний ринок потрібно, щоб потенційний лікарський засіб відповідав законодавству [6]. Тому одним з важливих етапів доклінічних випробувань є дослідження гострої токсичності нових синтезованих сполук.

Особливу зацікавленість в цьому напрямку викликають азотовмісні гетероцикли як вискоєфективні фармакологічноактивні речовини. Одним з таких представників азолів є 1,2,4-тріазол. Він є структурним фрагментом багатьох лікарських засобів та проявляє великий спектр біологічної дії [7–9] та, найголовніше, похідні 1,2,4-тріазолу відносяться до нетоксичних або малотоксичних речовин [10–12].

Тому метою нашої роботи є дослідження гострої токсичності серед нових похідних 5-(1*H*-тетразол-1-іл)-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолів, встановлення закономірностей впливу замісників по С<sub>4</sub>-атому ядра 1,2,4-тріазолу та при заміні атома Сульфура на атом Нітрогену в третьому положенні вищезазначеного гетероциклу.

**Матеріали та методи дослідження.** Об'єктом дослідження виступали синтезовані вперше похідні 5-(1*H*-тетразол-1-іл)-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу (табл. 1) [13–17]. Вищезначені сполуки синтезовані в лабораторії по синтезу біологічноактивних речовин кафедри фізикоїдної хімії Запорізького державного медичного університету.

Дослідження гострої токсичності синтезованих сполук похідних 5-(1*H*-тетразол-1-іл)-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу (табл. 1) проведені в лабораторії кафедри клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО Запорізького державного медичного університету (в дослідженнях приймав участь к.фарм.н., доц. Пругло Є. С.).

Досліди проведено за експрес-методом В. Б. Прозоровського [18] на білих нелінійних щурах. Показник LD<sub>50</sub> встановлено для 41 синтезованої сполуки. Для визначення LD<sub>50</sub> використано 4 групи тварин по 2 спостереження в кожній з додатковим використанням однієї попередньої та наступної дози. Водорозчинні сполуки розчиняли в 1,5 мл дистильованої води і вводили з додержанням правил асептики та антисептики за допомогою шприца внутрішньочеревно. Водонерозчинні сполуки стабілізували твіном-80 і вводили через металевий зонд у шлунок. Спостереження проводились через 24 год.

**Результати дослідження.** В результаті проведених дослідів (табл. 1) встановлено, що значення LD<sub>50</sub> нових похідних 5-(1*H*-тетразол-1-іл)-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу знаходяться в межах 357-1060 мг/кг, і згідно з класифікацією Сидорова І. К. [19] відносяться до IV і V класів токсичності – малотоксичні або практично нетоксичні речовини.

На гостру токсичність похідних 5-(1*H*-тетразол-1-іл)-4-*R*-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу основний вплив має наявність, природа і характер замісників при С<sub>3</sub>- та С<sub>4</sub>-атомі 1,2,4-тріазолу.

Стосовно гострої токсичності 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-тіолів (сполуки 1-3) встановлено залежність: зі збільшенням кількості атомів карбону в С<sub>4</sub>-положенні токсичність збільшується. Виходячи з цього найменшою токсичністю володіє 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-тіол (сполука 1), а найбільшою – 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-тіол (сполука 3). Цей факт пояснюється впливом π-електронної густини фенільного замісника.

2-((5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)(ацето-, пропано-, бензо)нітрили зменшують показники гострої токсичності тіолів. Було б доречним зазначити, що при введенні фенільного замісника до нітрילів (сполуки 4-6) гостра токсичність даного класу сполук значно збільшуються, що корелюється з даними тіолів.

В подальшому за допомогою кислотного та лужного гідролізу 2-((5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)(ацето-, пропано-, бензо)нітрילів (сполуки 4-6) отримано ряд 2-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етанових(пропанових), 2-, 4-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіометил)бензойних кислот (сполуки 7-8). Гостра токсичність даного класу сполук супроводжується незначним підвищенням показників. Цей факт пояснюється подразнюючою властивістю, що притаманна карбоксильній групі. Залежність гострої токсичності серед кислот аналогічна, щодо нітрילів, тобто 3-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)бензойна кислота (сполука 8) має більшу токсичність ніж 2-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етанова кислота (сполука 7).

Щодо гострої токсичності солей 2-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етанової та 2-, 4-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіометил)бензойних кислот (сполуки 9-13), то показники знаходяться в межах 607-977 мг/кг. Слід зазначити, що солеутворення майже завжди супроводжується зниженням гострої токсичності стосовно вихідних кислот. Слід відзначити, що серед солей (сполуки 9-13), найменші показники токсичності мають органічні солі, а саме диетиламоній 4-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-4,5-дигідро-1,2,4-тріазол-3-ілтіометил)бензоат (сполука 13), а найбільш токсичними є солі Феруму та Цинку (сполуки 10, 11).

Гостра токсичність алкіл-2-(5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)етан(пропан, бенз)імідатів (сполуки 14-17) знаходиться в межах 485-842 мг/кг. Встановлено, що зі збільшенням довжини вуглеводневого радикалу збільшується токсичність синтезованих сполук. Серед даного класу сполук найбільш токсичним є октил 2-(5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)бензімідат (сполука 17).

Що стосується 6-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)піридин-3-амінів (сполуки 18-19), то при введенні в молекулу фенільного замісника токсичність збільшується. Виходячи з цього, 6-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)піридин-3-амін (сполука 18) більш токсичний ніж 6-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)піридин-3-амін (сполука 19).

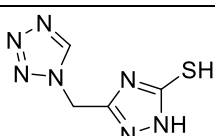
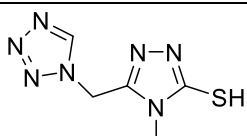
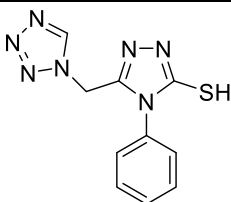
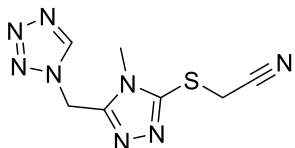
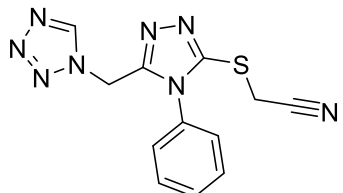
6-((5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)піридин-3-іл)-(алк-, ар)ілметаміни (сполуки 20-25) мають показники гострої токсичності в межах 525-776 мг/кг. Провівши аналіз даного класу сполук, можна сказати, що чітких закономірностей між структурою та показниками гострої токсичності не виявлено. Відновленням 6-((5-(1*H*-тетразол-1-іл)метил-4-*R*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)піридин-3-іл)-(алк-, ар)ілметамінів (сполуки 20-25) не досягли значного зниження токсичності синтезованих сполук.

Для розширення спектру нових біологічноактивних сполук синтезовано 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-4*H*-1,2,4-тріазол-3-амін (сполука 28), що дозволило підвищити показники гострої токсичності. З цієї ж метою, в подальшому, молекула 1,2,4-тріазол-3-аміну була модифікована. 5-(1*H*-Тетразол-1-ілметил)-1,2,4-тріазол-3-іл)-1-(алкїл-, арил)метаніміни (сполуки 29-35) відносять до малотоксичних речовин та мають показники гострої токсичності в межах 485-661 мг/кг.

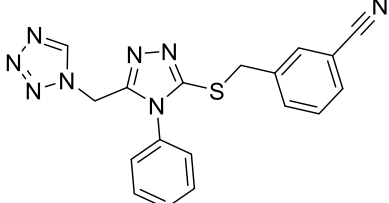
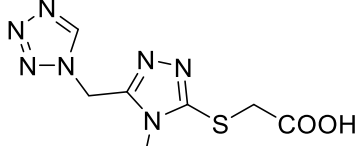
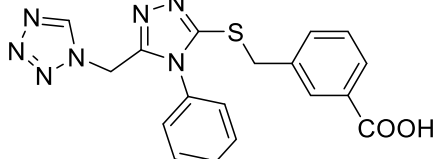
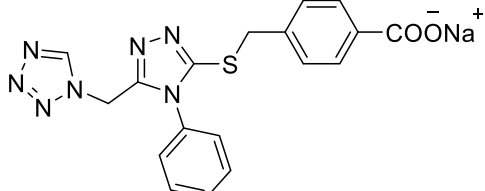
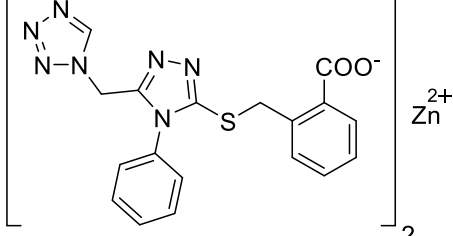
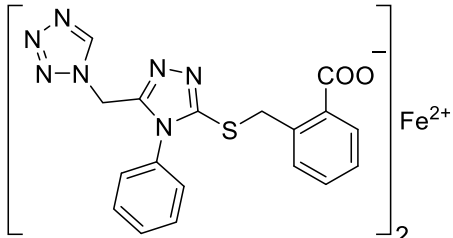
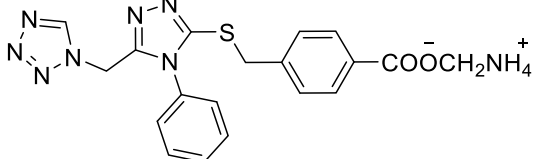
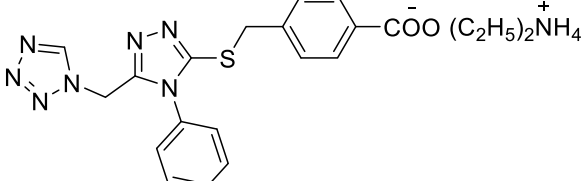
В подальшому відновленням 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-1,2,4-тріазол-3-іл)-1-(алкїл-, арил)метанімінів (сполуки 29-35) отримано 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-1,2,4-тріазол-3-іл)-1-(алкїл-, арил)метанаміни (сполуки 36-38), що призвело до незначного збільшення гострої токсичності.

1-(5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-1,2,4-тріазол-3-іл)-3-*R*-тіосечовини (сполуки 39-40) мають показники LD<sub>50</sub> в межах 482-624 мг/кг. В ході реакції ацетилювання отримано 5-(1*H*-тетразол-1-ілметил)-1,2,4-тріазол-3-іл)-*N*-ацетилацетамід (сполука 41), що має досить високі показники гострої токсичності, а саме 458 мг/кг.

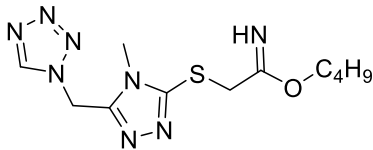
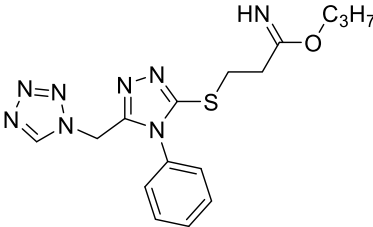
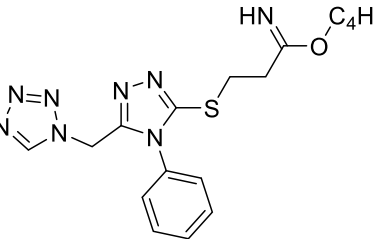
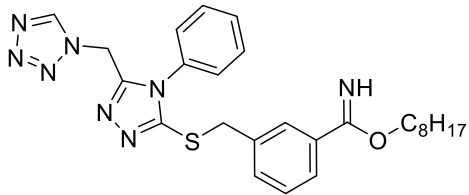
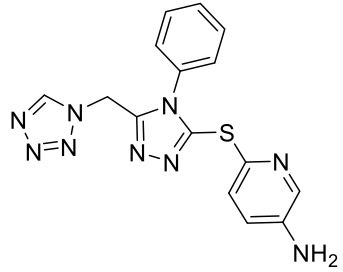
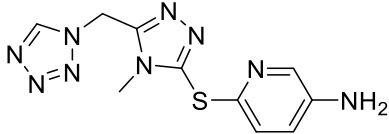
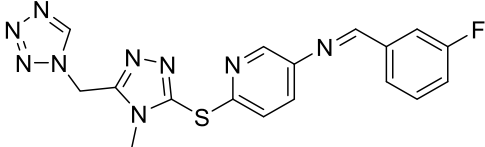
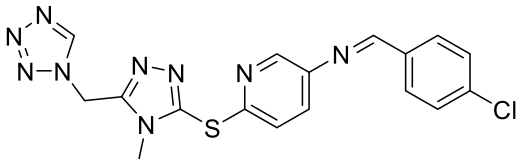
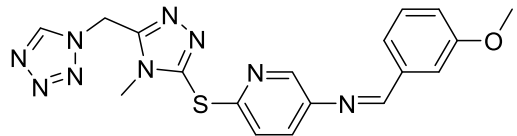
Таблиця 1. Гостра токсичність синтезованих сполук

№ з/п	Структура сполук	LD <sub>50</sub> , мг/кг
1	2	3
1		566 (496-634)
2		485 (375-595)
3		357 (334-380)
4		714 (658-770)
5		566 (498-634)

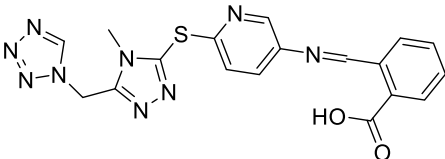
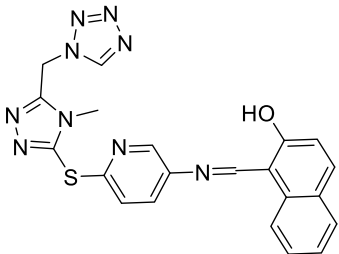
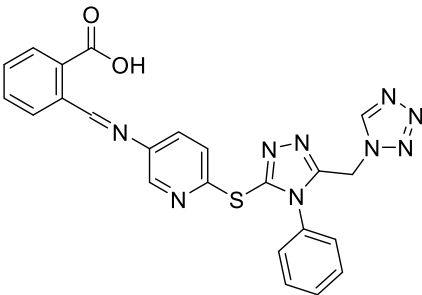
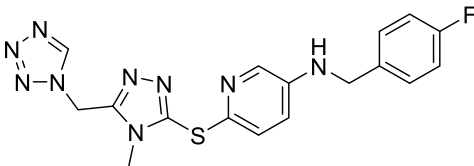
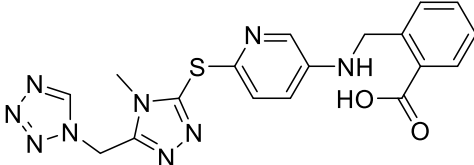
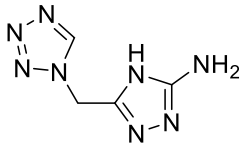
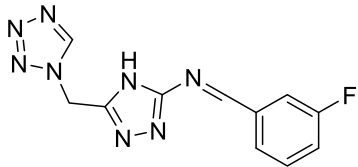
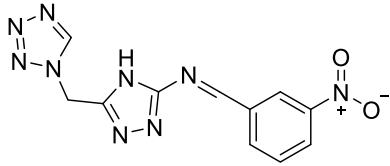
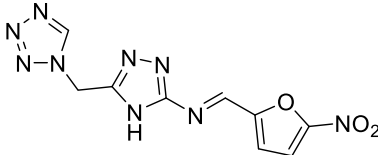
Продовження таблиці 1.

1	2	3
6		450 (396-504)
7		770 (595-945)
8		566 (521-611)
9		713 (627-799)
10		607 (477-797)
11		624 (484-764)
12		770 (648-892)
13		977 (885-1069)

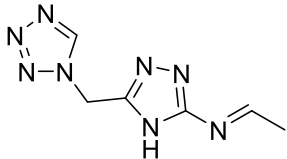
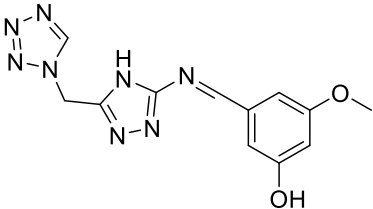
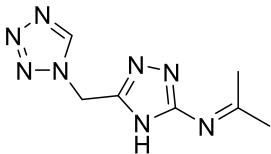
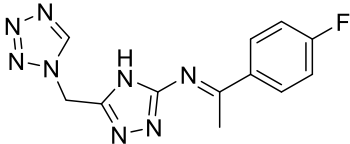
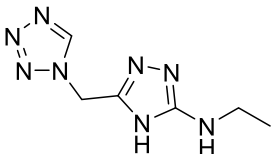
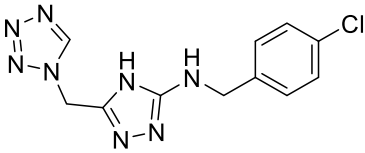
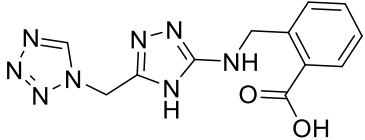
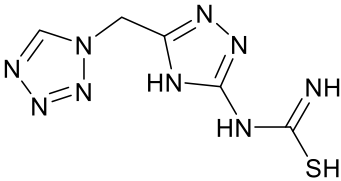
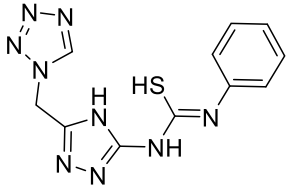
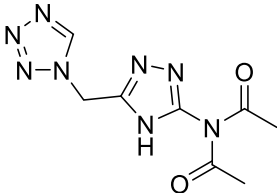
Продовження таблиці 1.

1	2	3
14		770 (648-892)
15		842 (700-984)
16		616 (558-674)
17		485 (375-595)
18		482 (378-586)
19		770 (648-892)
20		714 (658-770)
21		525 (474-576)
22		713 (627-799)

Продовження таблиці 1.

1	2	3
23		776 (703-849)
24		525 (474-576)
25		566 (521-611)
26		525 (474-576)
27		566 (521-611)
28		834 (753-915)
29		485 (375-595)
30		624 (484-764)
31		1060 (881-1239)

Продовження таблиці 1.

1	2	3
32		624 (541-707)
33		661 (597-725)
34		770 (595-945)
35		496 (430-562)
36		566 (521-611)
37		531 (441-621)
38		566 (498-634)
39		624 (541-707)
40		482 (378-586)
41		458 (312-604)

**Висновки.** В ході наукового дослідження було вивчено гостру токсичність 41 синтезованої сполуки з похідних 5-(1H-тетразол-1-іл)-4-R-3-тіо(аміно)-1,2,4-тріазолу. При цьому встановлено, що LD<sub>50</sub> синтезованих сполук знаходиться в межах 357-1060 мг/кг, що за класифікацією Сидорова І. К. відповідає IV і V класам токсичності – малотоксичні або практично нетоксичні речовини. Найменш токсичним є 5-(1H-тетразол-1-іл)метил-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)-1-(5-нітрофуран-2-іл)метанімін (LD<sub>50</sub> становить 1060 мг/кг).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Гостра токсичність, антигіпоксична з термопротекторними властивостями і проти ішемічна активність морфолінію 2-(5-(4-піридил)-4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату / А. Г. Каплаушенко, В. Д. Лук'ячук, О. І. Панасенко та ін. *Фармац. журн.* 2010. № 1. С. 62–65.
2. Щербак М. О., Каплаушенко А. Г., Беленічев І. Ф. Дослідження кардіопротекторної активності 3-(4-нітрофеніл)-5-(нонілсульфоніл)-1,2,4-тріазол-4-аміну. *Фармакол. та лікарська токсикол.* 2014. № 3. С. 64–69.
3. Кучерявий Ю. М. Пошук потенційних протидіабетичних засобів серед деяких 3-тіопохідних 5-(феноксиметил)-4-R-1,2,4-тріазол-3-тіонів. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики.* 2016. № 2. С. 15-19.
4. Design, synthesis and pharmaco-toxicological assessment of 5-mercapto-1,2,4-triazole derivatives with antibacterial and antiproliferative activity / M. Mioc, C. Soica, V. Bercean et al. *Int. J. Oncol.* 2018. Vol. 50. P. 9.
5. Design and synthesis of some novel 1,2,4-triazole-3-yl-mercapto derivatives as potential anti-candida agents / A.-I. Priscopie, L. Vlase, A. Pîrnău, et al. *Farmacia.* 2018. Vol. 66, Iss. 6. P. 948-958.
6. Наказ України «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» від 14.12.2009 №944 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon0.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10>
7. Гепатопротекторна активність похідних 1,2,4-тріазол-3-тіону, які містять за С5 атомом вуглецю гідрокси(феніл)метильний замісник / А. М. Рудь, А. Г. Каплаушенко, Ю. С. Фролова та ін. *Український біофармацевтичний журнал.* 2018. № 3 (56). С. 10–15.
8. Георгиевский Г. В. Биологическая активность производных 1,2,4-триазола. *Фармаком.* 2006. № 3. С. 27–31.
9. Synthesis and antitumor activities of new N-(5-benzylthiazol-2-yl)-2-(heteryl-5-ylsulfanyl)-acetamides / Y. V. Ostapiuk, D. A. Frolov, R. Y. Vasylyshyn, et al. *Biopolymers and Cell.* 2018. Vol. 34, Iss. 1. P. 59-71.
10. Гостра токсичність 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних / М. О. Щербак, І. Ф. Беленічев, А. В. Абрамов, та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2014. № 3. С. 63–66
11. Самелюк Ю. Г., Каплаушенко А. Г. Гостра токсичність 5-(2-, 3-, 4-метоксифеніл(3,4,5-три-метоксифеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2015. № 3 (19). С. 57–60.
12. Каплаушенко А. Г. Взаємозв'язок між гострою токсичністю й дослідженими видами фармакологічної активності 4-моно- й 4,5-дизаміщених 1,2,4-тріазол-3-тіону та їх S-похідних. *Запорозж. мед. журн.* 2010. № 4. 2010. С. 80–82.
13. Hulina Yu. S., Kaplaushenko A. G. Synthesis, physical and chemical properties of 5-((1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-thiols and their chemical transformations. *Biopharmaceutical journal.* 2018. V. 1, Iss. 10. P. 26–30.
14. Гуліна Ю. С., Каплаушенко А. Г. Синтез і фізико-хімічні властивості 2-(5-(1H-тетразол-1-ілметил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних (пропанових), 2-, 4-(5-(1H-тетразол-1-ілметил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіометил)-бензойних кислот та їх солей. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2016. № 2. С. 32–37.
15. Hulina Yu. S., Kaplaushenko A. G. Synthesis and physical-chemical properties of 6-(5-(1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-1,2,4-triazole-3-ylthio)pyridin-3-amines and 6-((5-(1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-1,2,4-triazole-3-ylthio)pyridin-3-yl)-(alk,ar,heter)ylmethanimines. *Zaporozhye Medical Journal.* 2017. №1. P. 100–104.
16. Hulina Yu. S., Kaplaushenko A. G. Synthesis, physical and chemical properties of 5-((1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-thiols and their chemical transformations. *Biopharmaceutical journal.* 2018. T. 1, № 10. P. 26–30.
17. Frolova Yu. S., Kaplaushenko A. G. The synthesis and physicochemical properties of alkyl-2-(3-thio-5-(1H-tetrazole-1-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-yl)ethan(propan,benz)imidates. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry.* 2018. Vol. 16, Iss. 4 (64). P. 11-17.
18. Прозоровский В. Б. О выборе метода построения кривой летальности и определение средней летальной дозы. *Журн. общей биологии.* 1960. Т. 21, № 3. С. 221–228.
19. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых пром. веществ.* Москва. 1973. Вып. 13. С. 45–71.