



Є. С. Пругло

Актопротекторна активність 5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-триазол-3-тіону та його S-похідних

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: рибоксин, актопротекторна дія, 1,2,4-триазол, тест примусового плавання з навантаженням.

У роботі показана актопротекторна (противтомлювана) дія похідних 1,2,4-тріазолу. Здійснили аналіз дії синтезованих солей похідних 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)оцтових кислот. Встановили деякі закономірності стосовно хімічної будови та фармакологічної дії речовин, котрі досліджували. Так, за результатами досліджень встановлено, що найактивнішою сполукою серед тих, що вивчали, виявився морфолінію 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетат (**3j**), котрий збільшував тривалість примусового плавання щурів із навантаженням у порівнянні з контрольною групою на 77,17% ($p < 0,05$), у той час як референс-препарат підвищував цей показник лише на 24,16% ($p < 0,05$). Відзначено сполуку **3i**, котра перевищувала за своєю активністю рибоксин на 23,2%, при цьому збільшувала витривалість піддослідних тварин під час плавання при застосуванні на 47,36% ($p < 0,05$). Відзначили, що вихідний тіон **1a**, його похідна 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-триазол-3-ілтіо)оцтова кислота **2a** та солі **3d**, **3e**, **3f** не володіють актопротекторними властивостями при їхньому застосуванні. Проаналізувавши дані експериментальних досліджень, встановили деякі закономірності відносно хімічної будови й фармакологічної дії речовин, що досліджували.

Актопротекторная активность 5-(2-бромфенил)-4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-тиона и его S-производных

Е. С. Пругло

В работе показана актопротекторная (антиусталостная) активность производных 1,2,4-триазола. Проведён анализ действия синтезированных солей производных 2-(5-(2-бромфенил)-4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)уксусной кислоты. Выявлены некоторые закономерности относительно химического строения и фармакологического действия исследуемых веществ. Так, по результатам исследований установлено, что наиболее активным соединением среди изученных оказался морфолиний 2-(5-(2-бромфенил)-4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетат (**3j**), который увеличивал продолжительность принудительного плавания крыс с нагрузкой по сравнению с контрольной группой на 77,17% ($p < 0,05$), тогда как референс-препарат повышал этот показатель лишь на 24,16% ($p < 0,05$). Отмечено соединение **3i**, которое превышало по своей активности рибоксин на 23,2%, при этом увеличивало выносливость при принудительном плавании испытуемых животных на 47,36% ($p < 0,05$). Отмечено, что исходный тион **1a**, его производная 2-(5-(2-бромфенил)-4-амино-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)уксусная кислота **2a** и соли **3d**, **3e**, **3f** не обладают актопротекторными свойствами при их применении. Проанализировав данные экспериментальных исследований, установили некоторые закономерности относительно химического строения и фармакологического действия исследуемых веществ.

Ключевые слова: рибоксин, актопротекторная активность, 1,2,4-триазол, тест принудительного плавання с нагрузкой. *Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.* – 2016. – № 1 (20). – С. 67–70

Actoprotective activity of 5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-thione and its S-derivatives

Ye. S. Pruglo

Aim. The paper shows the actoprotective (anti-fatigue), activity of 1,2,4-triazole derivatives.

Methods and results. The analysis of action was conducted for the synthesized 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid salts. We have revealed some patterns regarding to the chemical structure and pharmacological action of the test substances. Thus, in the research we have found that the most active compound among the studied was morpholinium 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetate (**3j**), which increases the duration of rats (forced swimming with the load) as compared with the control group at 77,17% ($p < 0,05$), while the reference drug increases the rate at 24,16% ($p < 0,05$). We have noted the compound **3i** which exceed its activity comparing to Riboxinum at 23,2%, with increased endurance during the animals forced swimming test to 47,36% ($p < 0,05$).

Conclusions. It is marked that the parent thione **1a** and its derivative of 2-(5-(2-bromophenyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio) acetic acid salt **2a** and **3d**, **3e**, **3f** have no actoprotective properties in their application. After analyzing the data of experimental studies some laws concerning the chemical structure and pharmacological action of the test substance have been established.

Key words: Riboxin, Anti-Fatigue Activities, 1,2,4-triazole, Weight Loaded Forced Swimming Test.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; № 1 (20): 67–70

Діяльність сучасної людини протікає в умовах впливу безлічі несприятливих зовнішніх факторів і нерідко (за відсутності необхідного відпочинку) призводить до розвитку гострого, а згодом і хронічного

стомлення, котре характеризується системним зниженням захисних механізмів адаптації, імунітету, працездатності. Це потребує пошуку нових лікарських препаратів, що підвищують фізичну працездатність [14].

Застосування нових лікарських засобів актопротекторного типу діє ефективно і перспективно чинником підвищення фізичної та розумової працездатності [3].

Натепер із широкого арсеналу актопротекторних засобів використовують лише бемітил, і це стимулює до пошуку сполук, котрі є придатними для створення на їхній базі нового препарату із вказаною активністю [13]. З погляду на це, велику зацікавленість викликає 1,2,4-тріазол та його похідні.

Нині наявні публікації щодо вирішення проблеми пошуку засобів з актопротекторною дією [1–4,8,11,12].

Мета роботи

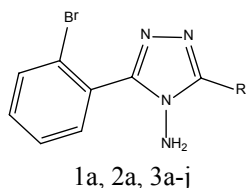
Вивчити актопротекторну дію похідних 1,2,4-тріазолу, а також встановити закономірності стосовно хімічної будови та фармакологічної дії похідних 1,2,4-тріазолу.

Матеріали та методи дослідження

У дослідженнях використали вперше синтезовані похідні 5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону, його 3-S-тіооцтової кислоти та їхніх солей (табл. 1).

Таблиця 1

Похідні 5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону



№ з/п	Сполука	R
1	1a	-SH
2	2a	-S-CH ₂ -COOH
3	3a	-S-CH ₂ -COO-NH ₄ ⁺
4	3b	-S-CH ₂ -COO-Na ⁺
5	3c	-S-CH ₂ -COO-K ⁺
6	3d	-S-CH ₂ -COO·½Mg ⁺²
7	3e	-S-CH ₂ -COO·NH ₃ ⁺ ·CH ₃
8	3f	-S-CH ₂ -COO·NH ₂ ⁺ ·(CH ₃) ₂
9	3g	-S-CH ₂ -COO·NH ₂ ⁺ ·(CH ₃) ₂ -CH ₂ -OH
10	3h	-S-CH ₂ -COO·NH ₃ ⁺ ·CH ₂ -C ₆ H ₅
11	3i	-S-CH ₂ -COO·
12	3j	-S-CH ₂ -COO·

Для визначення умов дозування речовин, що досліджували, попередньо вивчили загальнотоксичну дію та гостру токсичність сполук за експрес-методом В. Б. Прозоровського [9].

Досліди виконали на групі білих нелінійних щурів вагою 163–214 г. Вивчаючи актопротекторну активність, використали метод примусового занурення у воду з навантаженням 10% від ваги щура [2]. Навантаження фіксували біля основи хвоста тварин. Плавання тривало до виснаження, котре фіксували після 10-секундного

занурення лабораторних тварин під воду. Щурів занурювали поодиноці в місткість із шаром води 60 см. Температура води становила 24–27°C. Досліджувані сполуки та еталон порівняння рибоксин вводили внутрішньочеревинно за 20 хвилин до початку занурення тварин. Речовини вводились у дозі 1/10 від LD₅₀ [7], а референт-препарат рибоксин – у дозі 100 мг/кг (розчин для ін'єкцій «РИБОКСИН-ДАРНИЦЯ», 20 мг/мл по 5 мл) [4]. Час запливу реєстрували в секундах. Для порівняння використовували контрольну групу тварин, які внутрішньочеревинно отримували фізіологічний розчин за 20 хвилин до занурення.

Дані статистично опрацювали за допомогою стандартного пакета програм Microsoft Office 2007 та «STATISTICA® for Windows 6.0». Вірогідність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень – p<0,05 [5,10].

Результати та їх обговорення

За результатами досліджень встановили (табл. 2), що найактивнішою сполукою серед досліджуваних виявився морфолінію 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат (3j), котрий збільшував тривалість примусового плавання щурів із навантаженням у порівнянні з контрольною групою на 77,17% (p<0,05), тоді як референт-препарат підвищував цей показник лише на 24,16% (p<0,05).

Таблиця 2

Актопротекторна активність похідних 5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-тіону та його S-похідних, (n=7)

№ з/п	Сполука/група	Доза, мг/кг	Тривалість примусового плавання, с	Δ%
1	Контроль (фіз. р-н)	-	194,57±5,32	
2	Рибоксин	100	241,57±4,13*	24,16
3	4	90	201,14±3,89	3,38
4	5	96,9	199,71±3,15	2,64
5	14	157	241,57±4,42*	24,16
6	6	62,4	73,43±4,60*	-62,26
7	7	69,4	160,71±5,34*	-17,40
8	8	66,1	195,71±4,80	0,59
9	10	38,5	196,86±4,64	1,17
10	17	35,7	203,86±4,53	4,77
11	16	45	232,38±5,02*	19,43
12	9	45	135,71±5,01*	-30,25
13	13	90	286,71±5,30*	47,36
14	12	124,5	344,71±3,08*	77,17

Нарівні з рибоксином тривалість плавання щурів підвищувала амонієва сіль 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти (3a, p<0,05).

Варто відзначити сполуку 3i, котра перевищувала за своєю активністю рибоксин на 23,2%, при цьому збільшувала витривалість піддослідних тварин під час плавання при застосуванні на 47,36% (p<0,05).

Статистично значуще знижували тривалість плавання солі **3b**, **3c** та **3h**, про що може свідчити їхня ймовірна анксиолітична дія. Так, найвиразніше серед вказаних сполук знижувала тривалість плавання натрієва сіль 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтової кислоти ($\Delta\% = -62,26\%$, $p < 0,05$).

Варто відзначити, що вихідний тіон **1a**, його похідна 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтова кислота **2a** та солі **3d**, **3e**, **3f** не володіють актопротекторними властивостями при їхньому застосуванні.

Проаналізувавши дані експериментальних досліджень, встановили деякі закономірності щодо хімічної будови та фармакологічної дії речовин.

Так, уведення залишків катіонів в ряду від амонію, піперидинію та морфолінію (**3a**, **3i**, **3j**) до молекули 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтової кислоти **3a** супроводжувалось різким проявом актопротекторної активності, котра зростає в указаному ряді від амонієвої солі до морфолінієвої.

Встановили, що заміна катіона натрію на катіон калію

в молекулі 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтової кислоти (**3b**, **3c**) супроводжується зменшенням ймовірної заспокійливої дії вказаних солей.

Висновки

1. Найактивнішою сполукою серед досліджуваних виявився морфолінію 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) ацетат (**3j**), що збільшував тривалість примусового плавання щурів із навантаженням у порівнянні з контрольною групою на 77,17% ($p < 0,05$), у той час як референт-препарат підвищував цей показник лише на 24,16% ($p < 0,05$).

2. Нарівні з рибоксином тривалість плавання щурів підвищувала амонієва сіль 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтової кислоти (**3a**, $p < 0,05$).

3. Введення залишків катіонів у ряду від амонію, піперидинію та морфолінію (**3a**, **3i**, **3j**) до молекули 2-(5-(2-бромфеніл)-4-аміно-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію) оцтової кислоти **3a** супроводжувалось різким проявом актопротекторної активності, що зростає в указаному ряду від амонієвої солі до морфолінієвої.

Список літератури

1. Арлащенко Н.И. Антигипоксантное и актопротекторное действие парааминобензойной кислоты / Н.И. Арлащенко, А.В. Колодин, Н.А. Мешков // Материалы Российской конференции «Антигипоксанты и актопротекторы: итоги и перспективы». – СПб., 1994. – Вып. 2. – С. 229.
2. Фармакологическая коррекция утомления / Ю.Г. Бобков, В.И. Виноградов, В.Ф. Катков, С.С. Лосев и др. – М.: Медицина, 1984. – 208 с.
3. Ганопольский В.П. Разработка и изучение новых метеоадаптагенов: автореф. дис. на соискание ученой степени д.мед.н. – СПб., 2008. – 37 с.
4. Кныш Е.Г. Синтез, физико-химические и биологические свойства *N*- и *S*-замещенных 1,2,4-триазола: дис. на соискание ученой степени д.фарм.н. / Е.Г. Кныш. – Х., 1987. – 350 с.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с внедрением Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – [2-е изд.], перераб. и доп. – К.: Моріон, 2001. – 408 с.
6. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая волна, 2005. – 523 с.
7. Методичні вказівки по доклінічному вивченню лікарських засобів / під ред. А.В. Стефанова. – К., 2001. – 567 с.
8. Экстремальная проверка актопротекторной активности пептидных биорегуляторов / В.С. Новиков, В.Ю. Чепрасов, И.А. Колосов и др. // Материалы научной конференции «Антигипоксанты и актопротекторы: итоги и перспективы». – СПб., 1994. – Вып. 3. – С. 271.
9. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – Вып. 3–4. – С. 2090–2120.
10. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
11. Скринінг актопротекторної дії в ряду похідних (3-*R*-оксо-2*H*- [1,2,4]-тріазіно- [2,2-*c*]-хіназолін- 6-іл)карбонових кислот / Г.І. Степанюк, О.В. Почелова, Н.Г. Черноіван та ін. // Biomedical and Biosocial Antropology. – 2012. – №19. – С. 132–134.

12. Томчин А.Б. Производные тиомочевины и тиосемикарбазида в качестве антигипоксантов и актопротекторов / А.Б. Томчин, В.В. Марышева // Материалы научной конференции «Антигипоксанты и актопротекторы». – СПб.: ВмедА, 1994. – Вып. 2. – С. 99.
13. Фармакология спорта / под. ред. С.А. Олейника, Л.М. Гунининой, Р.Д. Сейфулла. – К.: Олимпийская литература, 2010. – 638 с.
14. Шабанов П.Д. Экспрессия мРНК кортиколиберина и вазопрессина в гипоталамусе и миндалине крыс при введении дексаметазона и психоактивных веществ / П.Д. Шабанов, А.А. Лебедев // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8. – №1–2. – С. 2383.

References

1. Arlashchenko, N. I., Kolodin, A. V., & Meshkov, N. A. (1994) Antihypoxic and actoprotective action of para-aminobenzoic acid [Antihypoxic and actoprotective action of para-aminobenzoic acid]. *Antigipoksanty i aktoprotektory: itogi i perspektivy*; Proceedings of the Russian Conference, (Issue 2), (p. 229). Saint Petersburg. [in Russian].
2. Bobkov, Yu. G., Vinogradov, V. I., Katkov, V. F., Losev, S. S., & Smirnov, A. V. (1984) *Farmakologicheskaya korrekciya utomleniya* [Pharmacological correction of fatigue]. Moscow: Medicina. [in Russian].
3. Ganapol'skij, V. P. (2008) *Razrabotka i izucheniye novykh meteoadaptagenov* (Avtoref. dis... dokt. med. nauk) [Development and study of new genes meteoadaptogens]. Dr. med. sci. diss.] Saint Petersburg. [in Russian].
4. Knysh, Ye. G. (1987) *Sintez, fiziko-khimicheskiye i biologicheskiye svoystva N- i Szameshchennykh 1,2,4-triazola*. (Dis... dokt. farm. nauk). [Synthesis, physicochemical and biological properties of *N*- and *S* substituted 1,2,4-triazole]. Dr. farm. sci. diss.] Kharkiv. [in Ukrainian].
5. Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2001) *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s vnedreniyem Excel* [Statistical methods in biomedical research with the introduction of Excel]. Kyiv: Morion. [in Ukrainian].
6. Mashkovskij, M. D. (2005) *Lekarstvennyye sredstva* [Drugs]. Moscow: Novaya volna. [in Russian].

7. Stefanov, A. V. (Ed) (2001) *Metodychni vказivky po doklinichnomu vyvchenniu likarskykh zasobiv* [Guidance on pre-clinical study of drugs]. Kyiv [in Ukrainian]
8. Novikov, B. C., Cheprasov, V. Yu., Kolosov, I. A., et al. (1994) E'kstremal'naya proverka aktoprotektoynoy aktivnosti peptidnykh bioregulyatorov [Extreme check hepatoprotective activity of peptide bioregulators]. *Antigipoksanty i aktoprotektory: itogi i perspektivy*. Proceedings of the Russian Conference, (Issue 3), (p. 271). Saint Petersburg. [in Russian].
9. Prozorovskii, V. B. (2007) *Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovaniy* [Statistic processing of data of pharmacological investigations]. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, 7(3–4), 2090–2120. [in Russian].
10. Rebrova, O. Yu. (2002) *Statisticheskij analiz medicinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh programm STATISTICA* [Statistical analysis of medical data. The use of the application package STATISTICA]. Moscow: MediaSfera. [in Russian].
11. Stepaniuk, H. I., Pochelova, O. V., & Chornoivan, N. H., et al. (2012) Skryninh aktoprotektoynoi dii v riadu pokhidnykh (3-R-okso-2N- [1,2,4]-triazyno- [2,2-s]-khinazolin- 6-il) karbonovykh kyslot [Screening Actoprotective action in a number of derivatives (3-R-oxo-2H [1,2,4] -triazyno- [2,2-c]-hinazolin- 6-yl) carboxylic acids]. *Biomedical and Biosocial Antropology*, 19, 132–134.
12. Tomchin, A. B., & Marysheva, B. B. (1994) *Proizvodnyye tiomocheviny i tiosemikarbazida v kachestve antigipoksantov i aktoprotektorov* [Derivatives of thiourea and thiosemicarbazide as antihypoxants and actoprotector] *Antigipoksanty i aktoprotektory*. Proceedings of the Scientific Conference, (Issue 2), (p. 99). Saint Petersburg. [in Russian].
13. Oleynik, S. A., Gunina, L. M., Sejfulla, R. D. (2010) *Farmakologiya sporta* [Pharmacology sports]. Kyiv: Olimpijskaya literature. [in Ukrainian].
14. Shabanov, P. D., & Lebedev, A. A. (2008) E'kspressiya mRNK kortikoliberina i vazopressina v gipotalamuse i mindaline kryser pri vvedenii deksametazona i psikhoaktivnykh veshchestv [Expression of NK kortykoliberyn and vasopressin in the hypothalamus and amygdala in rats when administered dexamethasone and substance]. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, 8(1–2), 2383. [in Russian].

Відомості про автора:

Пругло Е. С., к. фарм. н., старший викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет, E-mail: pruglo@i.ua.

Сведения об авторе:

Пругло Е. С., к. фарм. н., старший преподаватель каф. клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: pruglo@i.ua.

Information about author:

Pruglo Ye. S., MD, Ph. D., Assistant Professor, Department of Clinical Pharmacology, Pharmacoterapia and Management and Economy of Pharmacy, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: pruglo@i.ua.

Надійшла в редакцію 12.01.2015 р.