



Є. С. Пругло

Вплив 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот на центральний компонент ноцицептивної системи

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: біль, анальгетики, 1,2,4-тріазол, 4-аміно-1,2,4-тріазол.

Мета роботи – вивчити дію 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот на центральний компонент ноцицептивної системи за умов термічного подразнення кінцівок шурів, а також встановлення закономірностей стосовно хімічної будови та фармакологічної дії похідних 1,2,4-тріазолу.

Матеріали та методи. У дослідженнях використали вперше синтезовані похідні 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот (табл. 1). Для визначення умов дозування речовин, що досліджували, попередньо вивчили загальнотоксичну дію та гостру токсичність сполук за експрес-методом В. Б. Прозоровського [4]. Дослідження здійснили на групі білих нелінійних шурів обох статей вагою 185–229 г.

Результати. Виявили сполуку, котра за активністю наближається до референс-препарату – анальгін. При цьому проявляє анальгетичну активність у значно меншій дозі ніж запропонований референс-препарат.

Висновки. Встановили деякі закономірності щодо хімічної будови та фармакологічної дії досліджуваних похідних 1,2,4-тріазолу. Так, конденсація 4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіону з 4-гідроксибензальдегідом майже не впливає на показники анальгетичної активності вихідного тіону та 4-(4-гідроксибензиліденаміно)-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіону, тоді як заміна 4-гідроксибензиліденамінового замісника на 2-гідроксибензиліденаміновий сприяє зниженню чутливості шурів до термічного подразника. Заміна катіона морфолінію в молекулі морфоліній 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатної кислоти на катіон піперидинію призводить до різкої появи анальгетичної активності.

Влияние 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот на центральний компонент ноцицептивної системи

Є. С. Пругло

Цель работы – изучить действие 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот на центральний компонент ноцицептивної системи при умови термічного подразнення кінцівок шурів, а також изучить закономірності, касаються хімічного строення і фармакологічного действия производных 1,2,4-тріазола.

Материалы и методы. В исследованиях использовали впервые синтезированные производные 4-бензиліденаміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот (табл. 1). Для определения условий дозирования исследуемых веществ предварительно изучили общетоксическое действие и острую токсичность соединений экспрес-методом В. Б. Прозоровского [4]. Исследование проводили на группе белых нелинейных крыс обоих полов весом 185–229 г.

Результаты. Выявлено соединение, которое по активности приближается к референс-препарату – анальгину. При этом вещество проявляет анальгезирующую активность в значительно меньшей дозе, нежели предложенный референс-препарат.

Выводы. Установлены некоторые закономерности относительно химического строения и фармакологического действия исследуемых производных 1,2,4-тріазола. Так, конденсація 4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіона с 4-гідроксибензальдегідом почти не влияет на показатели анальгезирующего действия исходного тіона и 4-(4-гідроксибензиліденаміно)-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіона, тогда как замена 4-гідроксибензиліденамінового заместителя на 2-гідроксибензиліденаміновий способствует снижению чувствительности крыс к термічному подразнителю. Замена катіона морфолінія в молекуле морфоліній 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатної кислоти на катіон піперидинія приводит к резкому появлению анальгезирующей активности.

Ключевые слова: боль, анальгетики, 1,2,4-тріазол, 4-аміно-1,2,4-тріазол.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2016. – № 2 (21). – С. 57–61

Effect of 4-benzylideneamino-5-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiones and salts of 2-(4-amino-5-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid on central component of nociceptive system

Ye. S. Pruhlo

Aim. To study the effect of 4-benzylideneamino-5-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiones and salts of 2-(4-amino-5-phenyl-4*H*-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid on central component of nociceptive system on condition of thermal stimulation of limbs of rats, and also to

explore patterns related with the chemical structure and pharmacological activity of 1,2,4-triazole derivatives.

Materials and methods. The newly synthesized derivatives of 4-benzylideneamino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thiones and salts of 2-(4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid (Table. 1) have been used in the studies. General toxic effect and acute toxicity of compounds had been previously studied by express method of V.B. Prozorovskiy to determine the conditions of test-substance dosing [4]. The study has been conducted on a group of non-linear white rats of both sexes weighing 185-229 g.

Results. The compound that is close to the reference medication – analgin, by its activity, has been revealed. This compound exhibits analgesic activity at considerably lower doses than the proposed reference medication.

Conclusions. Some relations between chemical structure and pharmacological activity of the investigated 1,2,4-triazole derivatives have been established. Thus, condensation of 4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thione with 4-hydroxybenzaldehyde causes almost no effect on analgesic action of starting thione and 4-(4-hydroxybenzylideneamino)-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-thione, whereas the replacement of 4-hydroxybenzylideneamino substituent by 2-hydroxybenzylideneamino substituent reduces the sensitivity of rats to thermal stimulus. The replacement of morpholine cation in the molecule of morpholine salt of 2-(4-amino-5-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid by piperidinium cation leads to sudden appearance of analgesic activity.

Key words: Pain, Analgesic Agents, 1,2,4-triazole, 4-amino-1,2,4-triazole.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2016; № 2 (21): 57–61

Біль – це фізичне або емоційне страждання, болісне, тяжке або неприємне відчуття [7]. Поняття «біль» як суб'єктивне відчуття у відповідь на пошкодження тканин стосується людини, яка здатна його описати у вигляді словесного звіту. У тварин певна інтенсивність болю супроводжується вокалізацією, але характер їхніх суб'єктивних відчуттів не піддається прямому аналізу. У зв'язку з цим уведено поняття ноцицепція – універсальне для тварин і людини почуття пошкодження тканин [6].

Нині існує великий арсенал анальгетичних засобів [2], але багато з них володіють побічними ефектами, тому надалі пошук більш ефективних і безпечних лікарських засобів серед продуктів органічного синтезу залишається актуальним [8–10].

Мета роботи

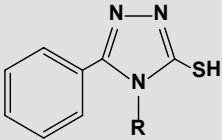
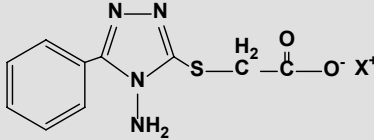
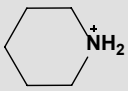
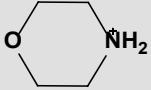
Вивчити дію 4-бензиліденаміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот на центральний компонент ноцицептивної системи за умов термічного подразнення кінцівок щурів, а також встановлення закономірностей стосовно хімічної будови та фармакологічної дії похідних 1,2,4-тріазолу.

Матеріали і методи дослідження

У дослідженнях використали вперше синтезовані похідні 4-бензиліденаміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот (табл. 1).

Таблиця 1

Похідні 4-бензиліденаміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот

|  1a-e | |  2a-2j | |
|---|---|---|---|
| Сполука | R | Сполука | X ⁺ |
| 1a | -NH ₂ | 2a | H ⁺ |
| 1b | -N=CH-C ₆ H ₄ -2-OH | 2b | NH ₄ ⁺ |
| 1c | -N=CH-C ₆ H ₄ -4-OH | 2c | Na ⁺ |
| 1d | -N=CH-C ₆ H ₄ -4-NO ₂ | 2d | K ⁺ |
| 1e | -N=CH-C ₆ H ₄ -4-N(CH ₃) ₂ | 2e | Zn ²⁺ |
| - | - | 2f | CH ₃ -NH ₃ ⁺ |
| - | - | 2g | OH-CH ₂ -CH ₂ -NH ₃ ⁺ |
| - | - | 2h | OH-CH ₂ -CH ₂ -NH ⁺ -(CH ₃) ₂ |
| - | - | 2i |  |
| - | - | 2j |  |

Для визначення умов дозування речовин, що досліджували, попередньо вивчили загальнотоксичну дію та гостру токсичність сполук за експрес-методом В. Б. Прозоровського [4]. Дослідження здійснили на групі білих нелінійних щурів обох статей вагою 185–229 г. При визначенні початкового порогу больової чутливості речовин, котрі досліджували, на моделі «гаряча пластина» як подразник використали закріплену металеву пластину з температурою 55°C (ця температура підтримувалась за допомогою термостата). Обчислювали час відповідної реакції в секундах (облизування лапок, виплигування, писк). Потім швидкість цієї ж реакції враховували після введення тваринам досліджуваної речовини, і її зміни виражаються у відсотках від вихідної. Аналгетичну активність визначали за здатністю речовин змінювати поріг больової чутливості дослідних тварин, порівнюючи з контрольними, та показували у відсотках.

На моделі «гаряча пластина» аналгетичну активність розраховували за формулою:

$$AA = \frac{\Delta T_o - \Delta T_k}{\Delta T_k} \cdot 100\%$$

де AA – аналгетична активність у %;

ΔT_o – різниця в латентному періоді відповідної реакції у групі дослідних тварин до та після введення потенційного аналгетика;

ΔT_k – різниця в латентному періоді відповідної реакції

у групі контрольних тварин до та після введення розчинника.

Як препарат порівняння використали анальгін у дозі 1000 мг/кг (Анальгін-Дарниця, розчин для ін'єкцій, 500 мг/мл по 2 мл в ампулах №10) [3].

Статистично дані опрацьовані за допомогою стандартного пакета програм Microsoft Office 2007 і STATISTICA® for Windows 6.0. Вірогідність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановили за допомогою t-критерію Стьюдента.

Рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень – $p < 0,05$ [1,5].

Результати та їх обговорення

За результатами досліджень встановили (табл. 2), що найактивнішою сполукою серед тих, котрі досліджували, був натрій 2-(4-аміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетат, який виявив аналгетичну активність на рівні 104,81% ($p < 0,05$), тоді як референс-препарат – анальгін проявляв свою активність із показником 126,2% ($p < 0,05$). Однак варто відзначити: хоч анальгін і проявляв більшу ефективність, ніж вищевказана сполука **2c**, але був використаний у дозі 1000 мг/кг ($\frac{1}{2}$ від LD_{50} [10]), що пропонується як ефективна доза на цій моделі дослідження аналгетичної активності. Тоді як сполука **2c** вводилася в дозі 77 мг/кг ($\frac{1}{10}$ від LD_{50}).

Таблиця 2

Аналгетична активність 4-бензиліденаміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-тіонів і солей 2-(4-аміно-5-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтію)ацетатних кислот, (n=7)

| № з/п | Група / Сполука | Доза, мг/кг | Різниця в латентному періоді до реакції, секунди | Аналгетична активність, % |
|-------|----------------------|-------------|--|---------------------------|
| 1 | Контроль (фіз. р-н.) | - | 2,02±0,09 | 0 |
| 2 | 1a | 26,3 | 0,54±0,17* | -73,23 |
| 3 | 1d | 52,5 | 3,24±0,28* | 60,48 |
| 4 | 1e | 31,4 | 1,73±0,34 | -14,02 |
| 5 | 1c | 52,5 | 0,55±0,12* | -72,59 |
| 6 | Контроль | | 2,07±0,12 | 0 |
| 7 | 2i | 263,0 | 2,87±0,13* | 38,77 |
| 8 | 2h | 39,8 | 1,57±0,07* | -24,12 |
| 9 | 2e | 28,3 | 1,20±0,08* | -42,16 |
| 10 | Контроль | - | 2,45±0,18 | 0 |
| 11 | Анальгін | 1000 | 5,54±0,38* | 126,20 |
| 12 | Контроль | - | 1,43±0,21 | 0 |
| 13 | 2c | 77,0 | 2,92±0,33* | 104,81 |
| 14 | 2d | 96,9 | 1,69±0,29 | 18,44 |
| 15 | 1b | 45,0 | 0,81±0,19 | -43,09 |
| 16 | 2a | 114,9 | 0,13±0,21* | -90,78 |
| 17 | 2j | 193,0 | -1,13±0,24* | -179,56 |
| 18 | 2b | 84,2 | -0,38±0,21* | -126,85 |
| 19 | 2g | 56,6 | 0,67±0,14* | -53,11 |
| 20 | 2f | 49,6 | 0,16±0,16* | -88,48 |

Примітка: * – значення, статистично-значущі щодо контролю ($p < 0,05$)

Менш ефективним, майже удвічі, був тіон **1d**, який проявляв аналгетичну активність на рівні 60,48% ($p < 0,05$). Незначною аналгетичною активністю володіли солі **2i** та **2d** (AA=38,77% ($p < 0,05$) та 18,44% ($p > 0,05$) відповідно).

Стосовно решти досліджуваних сполук варто відзначити, що більшість серед них статистично значущо підвищували чутливість тварин до термічного подразника. Так, найактивніше підвищувала чутливість тварин до подразника морфолінієва сіль **2j** (AA=-179,56% ($p < 0,05$)).

Проаналізувавши експериментальні дані, встановили деякі закономірності стосовно хімічної будови та фармакологічної дії речовин, що досліджували.

Так, конденсація 4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіона (**1a**) із 4-гідроксibenзальдегідом майже не впливає на показники аналгетичної активності вихідного тіону та 4-(4-гідроксibenзиліденаміно)-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіону (**1c**), тоді як заміна 4-гідроксibenзиліденамінового замісника на 2-гідроксibenзиліденаміновий (**1b**) сприяє зниженню чутливості щурів до термічного подразника. Дещо нижча чутливість проявляється при заміні вищевказаних замісників на 4-*N,N*-диметилбензиліденаміновий замісник (**1e**), а введення в цьому ряду тіонів 4-нітробензиліденамінового радикала (**1d**) супроводжується різкою появою аналгетичної активності (AA=60,48%, $p < 0,05$), про що може свідчити його комплементарний зв'язок із відповідними рецепторами.

Вивчаючи закономірності щодо катіонних замісників 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти (**2a**), встановили, що при введенні до цієї молекули катіона натрію з'являється виразна аналгетична активність (**2c**). А присутність катіона калію в ряду від натрієвої до калієвої солі призводить до втрати аналгетичної активності (**2d**).

Також встановили, що заміна катіона морфолінію в молекулі морфоліній 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)оцтової кислоти (**2j**) на катіон піперидинію (**2i**) призводить до різкої появи аналгетичної активності.

Висновки

1. Найактивнішою сполукою серед досліджуваних виявилась натрієва сіль 2-(4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти, що мала аналгетичну активність на рівні 104,81% ($p < 0,05$).

2. Підвищення чутливості тварин до термічного подразнення кінцівок зумовлював морфоліній 4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат (AA=-179,56% ($p < 0,05$)).

3. Конденсація 4-аміно-5-феніл-4*H*-1,2,4-тріазол-3-тіона з 4-нітро-бензальдегідом супроводжується різкою появою аналгетичної активності (AA=60,48%, $p < 0,05$), про що може свідчити його комплементарний зв'язок із відповідними рецепторами.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

- 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.: Морион, 2001. – 408 с.
- Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., исп. и доп. – М.: Новая волна, 2005. – 523 с.
- Методичні вказівки по до клінічному вивченню лікарських засобів / під ред. А.В. Стефанова. – К., 2001. – 567 с.
- Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – №3–4. – С. 2090–2120.
- Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
- Зарифьян А.Г. Физиология анализаторов: учебное пособие / А.Г. Зарифьян, Т.Н. Наумова, В.П. Ильичев. – Бишкек: изд-во КРСУ, 2010. – 152 с.
- Финкельштейн Л.А. Большой энциклопедический словарь Брокгауза и Ефрона: в 86 т. (82 т. и 4 доп.). – СПб., 1890–1907.
- Analgesic Activity of Some 1,2,4-Triazole Heterocycles Clubbed with Pyrazole, Tetrazole, Isoxazole and Pyrimidine / S.G. Khanage, A. Raju, P.B. Mohite, R.B. Pandhare // Advanced Pharmaceutical Bulletin. – 2013. – №3(1). – P. 13–18.
- Synthesis and evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of new 1,2,4-triazole derivatives / F. Ahmadi, M. Ghayahbashi, M. Sharifzadeh et al. // Med. Chem. – 2014. – №11(1). – P. 69–76.

- Synthesis, anti-inflammatory, analgesic, and antibacterial activities of some triazole, triazolothiadiazole and triazolothiadiazine derivatives / M.A. Hussein, M. Shaker, M.A. Ameen, M.F. Mohammed // Archives of Pharmacol Research. – 2011. – №34(8). – P. 1239–1250.

References

- Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2001). *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s vnedreniyem Excel [Statistical methods in biomedical researches with the introduction of Excel]*. Kyiv: Morion. [in Ukrainian].
- Mashkovskij, M. D. (2005). *Lekarstvennyye sredstva [Drugs]*. Moscow: Novaya volna. [in Russian].
- Stefanov, A. V. (Ed.) (2001) *Metodychni vказivky po do klinichnomu vyvchenniu likarskykh zasobiv [Methodical instructions in preclinical studying of drugs]*. Kyiv. [in Ukrainian].
- Prozorovskii, V. B. (2007). *Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij [Statistic processing of data of pharmacological investigations]*. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, 7(3–4), 2090–2120. [in Russian].
- Rebrova, O. Yu. (2002). *Statisticheskij analiz medicinskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh program STATISTICA [Statistical analysis of medical documents. Application software package programs STATISTICA]*. Moscow: MediaSfera. [in Russian].
- Zarif'yan, A. G., Naumova, T. N., & Il'ichev, V. P. (2010). *Fiziologiya analizatorov [Physiology of analyzers]*. Bishkek: izd-vo KRSU. [in Kyrgyzstan].
- Finkel'shteyn, L. A. (1890–1907) *Bol'shoy e'nciklopedicheskij*

- slovar' Brokgauza i E'frona [The Pain. Brockhause's and Efron's Encyclopedic Dictionary]. Saint Petersburg [in Russian].*
8. Khanage, S. G., Raju, A., Mohite, P. B., & Pandhare, R. B. (2013). Analgesic Activity of Some 1,2,4-Triazole Heterocycles Clubbed with Pyrazole, Tetrazole, Isoxazole and Pyrimidine. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 3(1), 13–18. doi: 10.5681/apb.2013.003.
 9. Ahmadi, F., Ghayahbashi, M., Sharifzadeh, M., Alipoour, E., Ostad, S., Vosooghi, M., et al. (2014). Synthesis and evaluation of anti-inflammatory and analgesic activities of new 1,2,4-triazole derivatives. *Med. Chem.*, 11(1), 69–76.
 10. Hussein, M. A., Shaker, R. M., Ameen, M. A., & Mohammed, M. F. (2011). Synthesis, anti-inflammatory, analgesic and antibacterial activities of some triazole, triazolothiadiazole, and triazolothiadiazine derivatives. *Archives of Pharmacol. Research*, 34(8), 1239–1250. doi: 10.1007/s12272-011-0802-z.

Відомості про автора:

Пругло Є. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії та управління і економіки фармації ФПО, Запорізький державний медичний університет, E-mail: pruglo@i.ua.

Сведения об авторе:

Пругло Е. С., канд. фармацевт. наук, старший преподаватель каф. клинической фармации, фармакотерапии и управления и экономики фармации ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: pruglo@i.ua.

Information about author:

Pruglo Ye. S., MD, Ph.D. Senior Lecturer, Department of Toxicology and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: pruglo@i.ua.

Надійшла в редакцію 08.04.2016 р.