

УДК: 547.782'383-026.86-047.37
DOI: 10.14739/2409-2932.2017.2.103771

І. І. Аксьонова-Селюк, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш, Є. С. Пругло

Дослідження гострої токсичності похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу

Запорізький державний медичний університет, Україна

Процес створення нових лікарських засобів включає безліч етапів, що дають можливість їх застосування в медичній практиці в майбутньому. Ці випробування – гарантія ефективності та безпечності нових синтезованих сполук. Одним із найважливіших етапів доклінічних досліджень є встановлення гострої токсичності. Так, результати цього експерименту вказують на можливу наявність токсичного ефекту в нових сполуках, що впливає на доцільність їх майбутнього застосування.

Мета роботи – встановлення пошкоджувального впливу нових похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу на організм піддослідних шурів для виявлення можливих закономірностей зв'язку «хімічна структура – гостра токсичність».

Матеріали та методи. Об'єкт дослідження – нові сполуки, похідні 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу, які синтезовані на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії ЗДМУ. Надалі досліді проводились на кафедрі клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО ЗДМУ. Для досліджень обрали табличний експрес-метод В. Б. Прозоровського, що заснований на дозуванні досліджуваних сполук за логарифмічною шкалою з інтервалом 0,1. При цьому всі можливі вірогідні результати LD₅₀ та їхні похибки були попередньо розраховані за програмою пробіт-аналізу. Для дослідження однієї дози сполуки використовували по дві тварини, які були попередньо зважені та позначені, а також здійснили оцінювання їхнього зовнішнього стану. Досліджувані сполуки вводили тваринам внутрішньоочередивно.

Результати. Встановили: LD₅₀ нових синтезованих сполук перебуває в межах від 209 до 1210 мг/кг, що дає можливість їх вважати належними до сполук IV класу токсичності (малотоксичні речовини) за класифікацією К. К. Сидорова.

Висновки. За допомогою експрес-методу В. Б. Прозоровського здійснили оцінювання показників гострої токсичності для 31 нової сполуки (похідні 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазолів-3-тіолу, Ia-XVIb). У результаті дослідження встановлені деякі закономірності зв'язку «хімічна структура – гостра токсичність», які можуть бути надалі застосовані в цілеспрямованому фармакологічному скринінгу.

Ключові слова: 1,2,4-тріазоли, гостра токсичність, структура – дія.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2017. – Т. 10, № 2(24). – С. 191–195

Исследование острой токсичности производных 4-амино-5-(4-(трет-бутил)фенил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола

И. И. Аксёнова-Селюк, А. И. Панасенко, Е. Г. Книш, Е. С. Пругло

Процесс создания новых лекарственных средств включает множество этапов, которые позволяют их применение в медицинской практике в будущем. Эти испытания являются гарантией эффективности и безопасности новых синтезированных соединений. Один из самых важных этапов доклинических исследований – установление острой токсичности. Так, результаты данного эксперимента указывают на возможное наличие токсического эффекта у новых соединений, что влияет на целесообразность их будущего применения.

Цель работы – установление повреждающего воздействия новых производных 4-амино-5-(4-(трет-бутил)фенил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола на организм подопытных крыс для выявления возможных закономерностей связи «химическая структура – острая токсичность».

Материалы и методы. Объект исследования – новые соединения, производные 4-амино-5-(4-(трет-бутил)фенил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола, которые были синтезированы на кафедре токсикологической и неорганической химии ЗДМУ. Дальнейшие опыты проводились на кафедре клинической фармации, фармакотерапии и УЕФ ФПО ЗДМУ. Для исследований был выбран табличный экспрес-метод В. Б. Прозоровского, который основан на дозировании исследуемых соединений согласно логарифмической шкале с интервалом 0,1. При этом все возможные достоверные результаты LD₅₀ и их погрешности были предварительно рассчитаны по программе пробит-анализа. Для исследования одной дозы соединения использовали по два животных, которые были предварительно взвешены и помечены, а также была проведена оценка их внешнего состояния. Исследуемые соединения вводили животным внутривентриально.

Результаты. Установлено, что LD₅₀ новых синтезированных соединений находится в пределах от 209 до 1210 мг/кг, что в свою очередь позволяет отнести их к соединениям IV класса токсичности (малотоксичные вещества) по классификации К. К. Сидорова.

Выводы. С помощью экспрес-метода В. Б. Прозоровского проведена оценка показателей острой токсичности для 31 нового соединения (производные 4-амино-5-(4-(трет-бутил)фенил)-4Н-1,2,4-триазолов-3-тиола, Ia-XVIb). В результате исследования установлены некоторые закономерности связи «химическая структура – острая токсичность», которые могут быть применены в дальнейшем целенаправленном фармакологическом скрининге.

Ключевые слова: 1,2,4-триазол, острая токсичность, структура – действие.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2017. – Т. 10, № 2(24). – С. 191–195

The research of acute toxicity of 4-amino-5-(4-(tert-butyl)phenyl)-4Н-1,2,4-triazoles-3-thiol derivatives

I. I. Aksyonova-Seliuk, O. I. Panasenko, Ye. G. Knysh, Ye. S. Pruglo

Introduction. The process of new drugs creating includes a plurality of stages, which allow their application in medical practice in the future. These studies are a guarantee of the effectiveness and safety of the test compounds. One of the most important stages of preclinical

research is the research of acute toxicity. The data of this experiment gives an estimate of toxic effect of new compounds on the organism of experimental animals that allows to judge about expediency of application of these substances in diseases therapy.

The aim of toxicological researches of 4-amino-5-(4-(tert-butyl)phenyl)-4H-1,2,4-triazoles-3-thiol's derivatives was to establish their damaging effect on the organism of experimental rats and identify possible influence of chemical structure on acute toxicity of the compounds.

Methods and results. The tabular rapid-method by V. B. Prozorovsky was chosen. It's based on the test-compounds dosing according to a logarithmic scale. Two animals were used for the study of one dose of the compound. Animals were pre-weighed and labeled, also an assessment of their external condition was carried out. According to the results of the study, it was found that the compounds belong to the IV class of toxicity according to the classification of K. K. Sidorov.

Conclusion. Assessment of toxicity of 31 new compounds, namely derivatives of 4-amino-5-(4-(tert-butyl)phenyl)-4H-1,2,4-triazoles-3-thiol was carried out. The experiments allowed to establish LD₅₀ of test compounds. The most toxic and the least toxic compounds were found. The results of research make it possible to determine some "structure-action" dependence.

Key words: 1,2,4-triazoles, acute toxicity, structure-action relationship.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2017; 10 (2), 191–195

Процес створення нового лікарського препарату – доволі складний і тривалий. Більшість нових синтезованих сполук, проявляючи виражені фармакологічні ефекти, так і не виводяться на фармацевтичний ринок. Однією з причин, що унеможлиблює їхнє використання, є наявність у потенційних ліків високої токсичності та низки небажаних побічних ефектів [7]. Успішне впровадження нових лікарських засобів у терапію будь-яких захворювань вимагає доведеної та гарантованої ефективності й безпечності застосування потенційних ліків відповідно до сучасного законодавства [1]. Тому одним з обов'язкових етапів доклінічних випробувань є дослідження гострої токсичності нових синтезованих сполук [2,6].

Мета роботи

Токсикологічні дослідження похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу щодо встановлення їхньої пошкоджувальної дії на організм піддослідних щурів і виявлення можливих закономірностей залежності гострої токсичності від хімічної структури досліджуваних сполук.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження виконували на кафедрі клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО ЗДМУ (завідувач кафедри – д-р мед. наук, професор І. М. Білай). Для вивчення гострої токсичності обрали табличний експрес-метод за В. Б. Прозоровським [3,4], в основі якого – пропозиція використовувати досліджувані сполуки в дозах, котрі розміщені по логарифмічній шкалі з інтервалом 0,1, а всі можливі вірогідні результати LD₅₀ та їхні похибки були попередньо розраховані за програмою пробіт-аналізу. Для дослідження однієї дози сполуки використовували по 2 тварини (білі нелінійні щури), яких заздалегідь зважили та позначили, також здійснили оцінювання habitus

animali. Досліджувані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в дозах, що розміщені по логарифмічній шкалі (табл. 1).

Як об'єкт дослідження обрана 31 сполука, похідні 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу (табл. 2), що синтезовані на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії під керівництвом д-ра фарм. наук, професора О. І. Панасенка та д-ра фарм. наук, професора Є. Г. Книша (Запорізький державний медичний університет).

Результати та їх обговорення

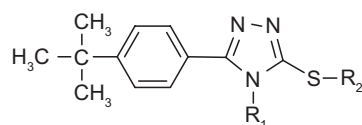
За результатами досліджень встановлено (табл. 3), що LD₅₀ сполук-об'єктів досліджень перебуває в межах від 209 до 1210 мг/кг, і за класифікацією К. К. Сидорова [5] ці сполуки належать до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.

Як свідчать результати досліджень, збільшення молекулярної маси у ряду алкілпохідних призводить до зменшення токсичності (Ia, IIa), проте скорочення алкільного ланцюга з паралельним введенням до молекули атома хлору (XVa) повертає сполуці її токсичні властивості. Дальша заміна алкільного радикала на гетероциклічний супроводжується зменшенням токсичності (IIIa). Розглядаючи клас іліденопохідних (IVa–XIa), можна відзначити, що сполуки, які мають у своїй структурі радикали -C₁₀H₆(OH)-2 (Xa) або -C₄H₂O(NO₂)-5 (XIa), є малотоксичними (табл. 3), а заміна цих замісників на -C₆H₃(OCH₃)₂-2,3 (VIIIa) або -C₆H₃(OCH₃)₂-3,5 (IXa) є причиною різкого підвищення токсичності. Відновлення зазначених вище похідних на прикладі сполуки (XIVa) може сприяти зменшенню токсичних характеристик. Аналізуючи клас солей 2-(4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти (Ib–VIIIb), встановили, що це найменш токсичний клас сполук серед усіх, що досліджені в цьому експерименті. Отже, присутність у молекулі сполуки катіонів калію (IIb) і магнію (IIIb)

Таблиця 1. Логарифмічна шкала

0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1	1,1	тощо
1	1,26	1,5848	1,9952	2,5118	3,1622	3,981	5,0118	6,3095	7,9432	10	12,589	тощо

Таблиця 2. Структурні формули досліджуваних сполук, похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу



Сполука	R ₁	R ₂	Сполука	R ₁	R ₂
Ia	NH ₂	-C ₉ H ₁₉	Ib	NH ₂	
IIa	NH ₂		IIb	NH ₂	
IIIa	NH ₂		IIIb	NH ₂	
IVa		H	IVb	NH ₂	
Va		H	Vb	NH ₂	
VIa		H	VIb	NH ₂	
VIIa		H	VIIb	NH ₂	
VIIIa		H	VIIIb	NH ₂	
IXa		H	IXb*	NH ₂	
Xa		H	Xb	NH ₂	
XIa		H	XIb	NH ₂	
XIIa		H	XIIb	NH ₂	

Продовження табл. 2

Сполука	R ₁	R ₂	Сполука	R ₁	R ₂
XIIIa		H	XIIIb	NH ₂	
XIVa		H	XIVb	NH ₂	
XVa	NH ₂		XVb	NH ₂	
			XVIb	NH ₂	

*: сполука отримана у вигляді гідрохлориду.

сприяє тому, що досліджувані сполуки володіють низькою токсичністю. Заміна цих радикалів на катіон натрію (**Ib**) призводить до ще більшого зниження токсичності, а введення до молекули замісника 2-гідроксietанамонію (**VIIb**) дещо підвищує токсичність щодо вказаних вище сполук. Водночас відзначимо, що наявність катіонів кальцію (**IVb**) та амонію (**IVb**) надає сполукам доволі токсичні властивості. Перехід до класу естерів зберігає низькі показники токсичності (**IXb**). Під час дослідження класу ацетогідразидів встановлено, що присутність у структурі сполуки замісника -C₆H₄-(OH)-4 (**XIb**) робить цю сполуку малотоксичною, зміна же радикала на -C₆H₄-F-4 (**Xb**) спричиняє різке підвищення токсичних характеристик. Наступна модифікація похідних, яка характеризується присутністю у структурі сполуки ще одного кільця 1,2,4-тріазолу (**XVb**, **XVIb**), на жаль, призводить до появи високих показників гострої токсичності.

Висновки

1. Здійснили оцінювання токсичності 31 сполуки, похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу.

2. Досліди дали можливість установити, що LD₅₀ сполук-об'єктів досліджень перебуває в межах від 209 до 1210 мг/кг, тобто ці сполуки належать до IV класу токсичності – малотоксичні речовини.

3. Дані, що отримані під час експерименту, дають можливість встановити деякі закономірності залежності «хімічна структура – гостра токсичність» у ряді досліджуваних речовин і можуть бути використані в дальшому фармакологічному скринінгу.

Фінансування: дослідження виконано в рамках держбюджетної НДР «Синтез нових біологічно активних речовин – похідних 5-(алкіл-, арил-, гетерил-)

Таблиця 3. Результати дослідження гострої токсичності похідних 4-аміно-5-(4-(трет-бутил)феніл)-4Н-1,2,4-тріазол-3-тіолу

Сполука	LD ₅₀ ± SLD ₅₀ , мг/кг	Сполука	LD ₅₀ ± SLD ₅₀ , мг/кг
Ia	386 ± 52	Ib	1210 ± 260
IIa	607 ± 130	IIb	977 ± 92
IIIa	914 ± 292	IIIb	977 ± 92
IVa	484 ± 110	IVb	490 ± 46
Va	450 ± 35	Vb	386 ± 52
VIa	764 ± 165	VIb	668 ± 113
VIIa	726 ± 231	VIIb	842 ± 142
VIIIa	385 ± 88	VIIIb	551 ± 107
IXa	348 ± 68	IXb	900 ± 108
Xa	962 ± 207	Xb	490 ± 46
XIa	995 ± 173	XIb	842 ± 142
XIIa	726 ± 231	XIIb	458 ± 146
XIIIa	250 ± 43	XIIIb	627 ± 109
XIVa	616 ± 58	XIVb	790 ± 137
XVa	276 ± 53	XVb	209 ± 20
		XVIb	283 ± 23

похідних 4-R-(аміно)-1,2,4-тріазоліл-3-тіонів для створення оригінальних лікарських засобів з анальгетичною, актопротекторною, антимікробною, діуретичною та протизапальною дією», 2015–2017 (0115003470), що фінансується МОЗ України. Керівник – д-р фарм. наук, професор О. І. Панасенко.

Список літератури

- [1] 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>.
- [2] Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов, Н.Д. Бунатян и др. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
- [3] Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – №3–4. – С. 2090–2120.
- [4] Прозоровский В.Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты / В.Б. Прозоровский // Токсикологический вестник. – 1998. – №1. – С. 28–32.
- [5] Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К.К. Сидоров // Токсикология новых промышленных веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 45–71.
- [6] Danilchenko D.M. Acute toxicity of 5-(furan-2-yl, 2-methylfuran-3-yl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiyl alkyl derivatives / D.M. Danilchenko, V.V. Parchenko // Запорожский медицинский журнал. – 2016. – №5(98). – P. 101–104.
- [7] Hospital emergency presentations and acute drug toxicity in Europe / M. David, I. Giraudon, J. Mounteney, P. Dargan // European Monitoring Centre for Drugs. – 2016. – P. 20.
- [2] Mironov, A. N., Bunatyan, N. D., et al. (2012) *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennykh sredstv* [A guide to preclinical drug research]. Moscow: Grif i K. [in Russian].
- [3] 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].
- [4] Prozorovskij, V. B. (1998) *Tablichnyj e'kspress-metod opredeleniya srednikh e'ffektivnykh mer vozdejstviya na biologicheskiye ob'yekty* [Tabular express method for determining the average effective measures of action on biological objects]. *Toksikologicheskij vestnik*, 1, 28–32. [in Russian].
- [5] Sidorov, K. K. (1973) *O klassifikacii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya* [On the classification of the toxicity of poisons with parenteral routes of administration]. *Toksikologiya novykh promyshlennykh veshchestv*, 13, 45–71. [in Russian].
- [6] Danilchenko, D. M., & Parchenko, V. V. (2016) *Acute toxicity of 5-(furan-2-yl, 2-methylfuran-3-yl)-4-amino-1,2,4-triazole-3-thiyl alkyl derivatives*. *Zaporozhye medical journal*, 5(98), 101–104. doi: 10.14739/2310-1210.2016.5.82700.
- [7] David, M., Giraudon, I., Mounteney, J., & Dargan, P. (2016) *Hospital emergency presentations and acute drug toxicity in Europe*. *European Monitoring Centre for Drugs*, 20. doi: 10.2810/894142.

References

- [1] Nakaz Ukrainy «Pro zatverdzhennia Poriadku provedennia doklinichnoho vyvchennia likarskykh zasobiv ta ekspertyzy

Відомості про авторів

Аксёнова-Селюк І. І., здобувач, старший лаборант каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Пругло Є. С., канд. фарм. наук, доцент каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Панасенко О. І., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Книш С. Г., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. управління та економіки фармації, медичного і фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Аксёнова-Селюк И. И., соискатель, старший лаборант каф. клинической фармации, фармакотерапии и УЕФ ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Пругло Е. С., канд. фарм. наук, доцент каф. клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Панасенко А. И., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. токсикологической и неорганической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Кныш Е. Г., д-р фарм. наук, профессор, зав. каф. управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического правоправедения, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Information about authors:

Aksyonova-Seliuk I. I., Senior Assistant, the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy and MEF FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Pruglo Ye. S., Ph.D., Associate Professor, the Department of Clinical Pharmacy, Pharmacotherapy, Management and MFE FPE, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Panasenko O. I., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Toxicology and Inorganic Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Knysh Ye. G., Dr.hab., Professor, Head of the Department of Management and Pharmacy Economics, Medical and Pharmaceutical Commodity Research, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

E-mail: bruttik2@gmail.com

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 11.04.2017

Після доопрацювання / Revised: 17.04.2017

Прийнято до друку / Accepted: 03.05.2017