





Antiradical activity of novel 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives

A. A. Safonov ^{*B,C,D}, I. S. Nosulenko ^{A,C,D}

Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article

The process of studying free radicals began in the middle of the last century (the free radical theory of aging in 1956). Multiple studies have revealed the effect of free radicals on the cells of the body and the development of various diseases, such as diabetes, autoimmune diseases, diseases of the nervous system, and others. As a result, the term antioxidant has emerged, compounds that reduce and prevent the effects of free radicals. Most of the newly synthesized substances are studied for their antiradical properties. 1,2,4-Triazole derivatives are no exception, which has already proven themselves as biologically active compounds.

The aim of this work was the investigation antiradical activity among 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives.

Materials and methods. Previously synthesized 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives were used as test compounds. The research of antiradical activity was based on the interaction between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in vitro. DPPH is a stable free radical. The color of its alcoholic solutions were intense purple ($\lambda_{max} = 517 \text{ nm}$). When DPPH interacted with compounds that were capable of scavenging free radicals, it produced products. These products are yellow in color and do not absorb light of the aforementioned wavelength. The study was carried out according to the method.

Results. The antiradical activity of 10 new 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives was studied. Most of the test compounds show antiradical activity against DPPH. Compound 1 was the most active at a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ and the antiradical effect was close to ascorbic acid.

Conclusions. The most active compound is 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol, which in a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ has an antiradical effect in 88.89 %. When reducing the concentration to $1 \times 10^{-4} \text{ M}$, also reduces the antiradical activity to 53.78 %. Some conclusions are drawn regarding the "structure – effect" dependence between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives:

- the introduction of 4-fluorobenzylidene radical (compound 2) into the 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol molecule results in a slight decrease in activity;
- the introduction of 2-hydroxybenzylidene radical (compound 3) into initial molecule results a high antiradical effect, which hardly changes with decreasing concentration;
- transformation to 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-((R)amino)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid has almost no effect on antiradical activity, except for compound 9 (the antiradical effect is reduce).

Key words: antiradical activity, triazoles, heterocyclic compounds.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (2), 162–166

Антирадикальна активність нових похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу

А. А. Сафонов, І. С. Носуленко

Вивчення вільних радикалів розпочалося в середині минулого сторіччя (вільнорадикальна теорія старіння, 1956 р.). Численні дослідження виявили вплив вільних радикалів на клітини організму та розвиток у результаті цього різних захворювань: цукрового діабету, аутоімунних захворювань, патологій нервової системи тощо. У зв'язку з цим з'явився такий термін, як антиоксиданти, на позначення сполук, що зменшують і запобігають впливові вільних радикалів. Більшість нових синтезованих речовин досліджують на наявність антирадикальних властивостей. Не є винятком похідні 1,2,4-тріазолу, що зарекомендували себе як біологічно активні сполуки.

Мета роботи – дослідження антирадикальної активності серед похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу.

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/230129>

UDC 615.281/.282.015:615.27.015.11

DOI: [10.14739/2409-2932.2021.2.230129](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2021.2.230129)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2021; 14 (2), 162–166

Key words: antiradical activity, triazoles, heterocyclic compounds.

*E-mail: 8safonov@gmail.com

Received: 29.04.2021 // Revised: 06.05.2021 // Accepted: 11.05.2021

Матеріали та методи. Дослідили синтезовані раніше похідні 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу. Дослідження антирадикальної активності засноване на взаємодії похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу з 2,2-дифеніл-1-пікрілгідрозилом (DPPH) *in vitro*. DPPH – стабільний вільний радикал. Колір його спиртових розчинів – інтенсивно-фіолетовий ($\lambda_{\max} = 517$ нм). Коли DPPH взаємодіє зі сполуками, що здатні вловлювати вільні радикали, він утворює комплекси. Ці сполуки мають жовтий колір і не поглинають світло з названою довжиною хвилі. Дослідження виконали згідно з методикою.

Результати. Вивчили антирадикальну активність 10 нових сполук похідних 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу. Більшість сполук виявляють антирадикальну активність щодо DPPH. Речовина 1 найбільш активна в концентрації 1×10^{-3} М, а її антирадикальний ефект близький до аскорбінової кислоти.

Висновки. Найактивніша сполука – 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіол, який у концентрації 1×10^{-3} М характеризується протирадикальною дією 88,89 %. При зниженні концентрації до 1×10^{-4} М антирадикальна активність знижується до 53,78 %. Зробили висновки щодо залежності «структура – антирадикальний ефект»:

– введення 4-фторбензиліденового радикала (сполука 2) в молекулу 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіолу призводить до незначного зниження активності;

– введення 2-гідроксibenзиліденового радикала (сполука 3) у вихідну молекулу спричиняє високий антирадикальний ефект, який майже не змінюється зі зменшенням концентрації;

– трансформація до 2-((5-(тіофен-2-ілметил)-4-((R)аміно)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)оцтової кислоти майже не впливає на антирадикальну активність, крім сполуки 9 (антирадикальний ефект суттєво знижується).

Ключові слова: антирадикальна активність, 1,2,4-тріазол, гетероциклічні сполуки.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Т. 14, № 2(36). С. 162–166

Антирадикальная активность новых производных 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола

А. А. Сафонов, И. С. Носуленко

Процесс изучения свободных радикалов начался еще в середине прошлого века (свободнорадикальная теория старения, 1956 г.). Многочисленные исследования показали влияние свободных радикалов на клетки организма и развитие в результате этого различных заболеваний: сахарного диабета, аутоиммунных заболеваний, патологий нервной системы и др. В связи с этим появился такой термин, как антиоксиданты, для обозначения соединений, уменьшающих и предупреждающих воздействие свободных радикалов. Большинство новых синтезированных веществ исследуют на антирадикальные свойства. Производные 1,2,4-триазола, которые уже зарекомендовали себя как биологически активные соединения, – не исключение.

Цель работы – исследование антирадикальной активности производных 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола.

Материалы и методы. В качестве тестируемых соединений использовали синтезированные ранее производные 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола. Исследование антирадикальной активности основано на взаимодействии производных 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола с 2,2-дифеніл-1-пікрілгідрозилом (DPPH) *in vitro*. DPPH – стабільний вільний радикал. Цвет его спиртовых растворов – интенсивно-фиолетовый ($\lambda_{\max} = 517$ нм). Когда DPPH взаимодействует с соединениями, которые способны улавливать свободные радикалы, образуются комплексы. Эти соединения желтого цвета и не поглощают свет с данной длиной волны. Исследование проведено согласно методике.

Результаты. Изучено антирадикальное действие 10 новых соединений производных 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиола. Большинство исследуемых соединений проявляют антирадикальную активность в отношении DPPH. Вещество 1 наиболее активно в концентрации 1×10^{-3} М, а его антирадикальный эффект близок к аскорбиновой кислоте.

Выводы. Самое активное соединение – 4-амино-5-(тиофен-2-илметил)-4H-1,2,4-триазол-3-тиол, который в концентрации 1×10^{-3} М обладает антирадикальным действием 88,89 %. При снижении концентрации до 1×10^{-4} М антирадикальная активность снижается до 53,78 %. Сделаны выводы о зависимости «структура – антирадикальный эффект»:

– введение 4-фторбензиліденового радикала (соединение 2) в молекулу 4-аміно-5-(тіофен-2-ілметил)-4H-1,2,4-тріазол-3-тіола приводит к незначительному снижению активности;

– введение 2-гідроксibenзиліденового радикала (соединение 3) в исходную молекулу приводит к высокому антирадикальному эффекту, который почти не меняется с уменьшением концентрации;

– трансформация до 2-((5-(тіофен-2-ілметил)-4-((R)аміно)-4H-1,2,4-тріазол-3-іл)тіо)уксусної кислоти почти не влияет на антирадикальную активность, кроме соединения 9 (антирадикальный эффект значительно снижается).

Ключевые слова: антирадикальная активность, 1,2,4-триазол, гетероциклические соединения.

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. 2021. Т. 14, № 2(36). С. 162–166

The process of studying free radicals began in the middle of the last century (the free radical theory of aging in 1956).

Multiple studies have revealed the effect of free radicals on the cells of the body and the development of various diseases,

such as diabetes, autoimmune diseases, diseases of the nervous system, and others.

The study of the effects of free radicals on living organisms is a very interesting topic for discussion. Most scientists and

doctors believe that in order to prolong the life of cells, it is necessary to reduce the number of free radicals in the human body. In this case, special compounds can help. As a result, the term antioxidant has emerged, compounds that reduce and prevent the effects of free radicals. Most of the newly synthesized substances are studied for their antiradical properties [1–3]. 1,2,4-Triazole derivatives are no exception [4], which have already proven themselves as biologically active compounds [5–10].

Aim

The aim of this work was the investigate antiradical activity among 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives.

Materials and methods

4-Amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives which previously synthesized were used as test compounds [11,12].

The research of antiradical activity was based on the interaction between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in vitro. DPPH is a stable free radical. The color of its alcoholic solutions is intense purple ($\lambda_{\max} = 517 \text{ nm}$). When DPPH interacts with compounds that are capable of scavenging free radicals, it produces products. These substances are yellow in color and do not absorb light of the aforementioned wavelength. The study was carried out according to the method [13,14].

Research methodology. 2 ml of solution of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives in DMSO of corresponding concentration (2 mM, 0.2 mM, 0.01 mM, 0.02 mM, 0.002 mM) was mixed with 2 ml of 0.1 mM DPPH methanolic solution. Optical density (A_d) was measured after incubating the resulting mixture at 25 °C for 30 minutes. The sample was obtained by mixing 2 ml of DMSO with 2 ml of 0.1 mm methanolic DPPH solution and determined the optical density simultaneously (AD_{DPPH}).

Antiradical activity (ARA) was calculated by the next formula:

$$ARA\% = (A_{DPPH} - A_d) / A_{DPPH} \times 100 \%$$

In the case of a negative meaning, ARA in % was estimated at 0. Electronic balance “ANG 200C” (Poland) was used to weigh reagents and synthesized compounds. Optical density was measured with a ULAB 108UV spectrophotometer (China).

Results

The antiradical activity of 10 new 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives was studied. Most of the test compounds showed antiradical activity against DPPH. Compound 1 was the most active at a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ and the antiradical effect was close to ascorbic acid (Table 1).

Table 1. The antiradical activity of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives

Compound	Antiradical activity, %	
	$1 \times 10^{-3} \text{ M}$	$1 \times 10^{-4} \text{ M}$
Ascorbic acid	92.23	87.77
1	88.89	53.78
2	78.26	57.65
3	73.91	72.14
4	75.68	66.99
5	74.24	60.06
6	72.46	69.08
7	78.26	45.73
8	78.42	78.10
9	10.31	6.44
10	3.06	2.90

According to the results of the investigation, “structure – effect” dependence between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives was researched.

The most active compounds were substances 3 and 8 at a concentration of $1 \times 10^{-4} \text{ M}$. Thus, the best effect of (2-hydroxybenzylidene)amino and (thiophen-2-ylmethylene) amino radicals on antiradical activity.

Discussion

The antiradical effect of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives was studied and “structure – effect” dependence were established. The most active compound was 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol, which in a concentration of $1 \times 10^{-3} \text{ M}$ had an antiradical effect in 88.89 %. When the concentration was reduced to $1 \times 10^{-4} \text{ M}$, the antiradical activity was reduced to 53.78 %. (Table 2).

The adding of 4-fluorobenzylidene radical (compound 2) into the 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol molecule was resulted in a slight decrease in activity (Fig. 1). Dilution of the solution to $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ also was reduced the antiradical effect (Fig 2).

The same pattern was observed with the adding of thiophen-2-ylmethylene (compound 4) and 1-(4-aminophenyl) ethylidene (compound 5) radicals into the molecule 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol. When the 2-hydroxybenzylidene radical (compound 3) was added into the 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4*H*-1,2,4-triazole-3-thiol molecule, a high antiradical effect was observed, which hardly changes with decreasing concentration. A similar dependence was shown by compound 8 (2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-((thiophen-2-ylmethylene) amino)-4*H*-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid), which showed an antiradical effect of 78.42 % ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$) and 78.10 % ($1 \times 10^{-4} \text{ M}$) at appropriate concentrations.

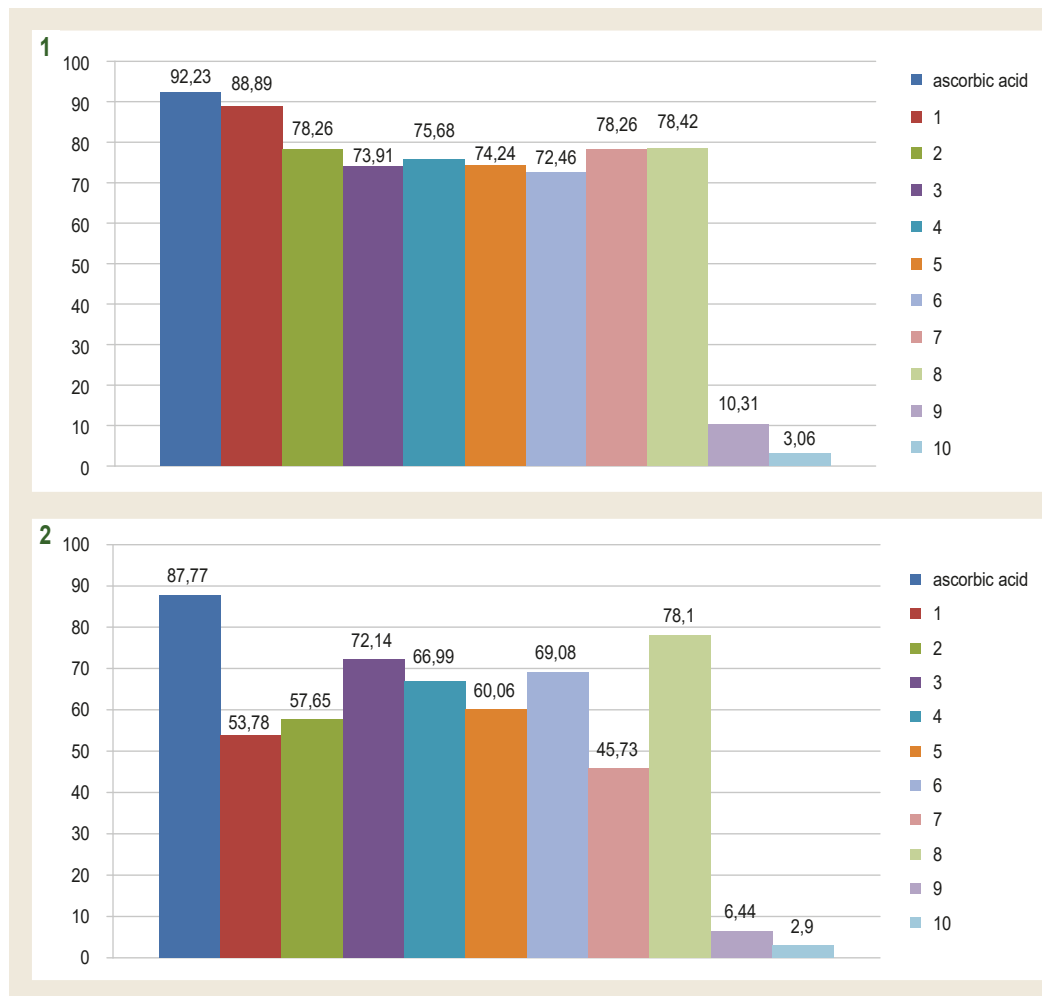
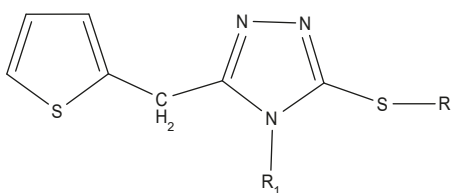


Fig 1. The antiradical activity of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives (1×10^{-3} M).

Fig 2. The antiradical activity of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives (1×10^{-4} M).

Table 2. "Structure – activity" dependence between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives.



Substance	R	R ₁	Anti-radical
1	H	NH ₂	↑↑↑
2	H	(4-fluorobenzylidene)amino	↑
3	H	(2-hydroxybenzylidene)amino	↑↑
4	H	(thiophen-2-ylmethylene)amino	↑
5	H	(1-(4-aminophenyl)ethylidene)amino	↑
6	CH ₂ COOH	(4-fluorobenzylidene)amino	↑
7	CH ₂ COOH	(2-hydroxybenzylidene)amino	↑
8	CH ₂ COOH	(thiophen-2-ylmethylene)amino	↑↑
9	CH ₂ COOH	(1-(4-aminophenyl)ethylidene)amino	↓
10	CH ₂ COONa	NH ₂	↓

Transformation to 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-((R) amino)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid had almost no effect on antiradical activity, except for compound 9. In this case, the antiradical activity was significantly reduced.

Transformation to 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-amino-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid salts reduced antiradical activity, which can be explained by blocking the carboxyl group.

Conclusions

1. For 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives antiradical activity with stable free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) in vitro was investigated. The most active compound was 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol, which in a concentration of 1×10^{-3} M had an antiradical effect in 88.89 %. When reducing the concentration to 1×10^{-4} M, also reduced the antiradical activity to 53.78 %.

2. Some conclusions were drawn regarding the "structure – effect" dependence between 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol derivatives:

– the adding to 4-fluorobenzylidene radical (compound 2) into the 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol molecule resulted in a slight decrease in activity;

– the adding to 2-hydroxybenzylidene radical (compound 3) into initial molecule resulted a high antiradical effect, which hardly changed with decreasing concentration;
 – transformation to 2-((5-(thiophen-2-ylmethyl)-4-((R) amino)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)acetic acid had almost no effect on antiradical activity, except for compound 9 (the antiradical effect is reduce).

Funding

The research is carried out within the SRW of Zaporizhzhia State Medical University "Synthesis, modification and study of the properties of 1,2,4-triazole derivatives in order to create an antimicrobial drug", state registration No. 0120U101649.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.
Конфлікт інтересів: відсутній.

Information about authors:

Safonov A. A., PhD, Associate Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0003-2861-1826](https://orcid.org/0000-0003-2861-1826)

Nosulenko I. S., PhD, Senior Lecturer of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

ORCID ID: [0000-0002-8725-7321](https://orcid.org/0000-0002-8725-7321)

Відомості про авторів:

Сафонов А. А., канд. фарм. наук, доцент каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Носуленко І. С., канд. фарм. наук, старший викладач каф. фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Україна.

Сведения об авторах:

Сафонов А. А., канд. фарм. наук, доцент каф. естественных дисциплин для иностранных студентов и токсикологической химии, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

Носуленко И. С., канд. фарм. наук, старший преподаватель каф. фармакогнозии, фармакологии и ботаники, Запорожский государственный медицинский университет, Украина.

References

- [1] Kaplaushenko, A. H. (2013). Doslidzhennia zi stvorennia novoho oryhinalnogo vitchyznianoho likarskoho zasobu na osnovi 1,2,4-triazolu [The research of creating a new original domestic drug based on 1,2,4-triazole]. *Naukovyi zhurnal MOZ Ukrainy*, 2(3), 115-121. [in Ukrainian].
- [2] Kazunin, M. S., Voskoboynik, O. Y., Nosulenko, I. S., Berest, G. G., Kholodniak, S. V., Prymenko, B. O., & Kovalenko, S. I. (2020). Synthesis, antiradical, and antimicrobial activities of new pteridine-2, 4, 7-trione derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 57(1), 268-280. <https://doi.org/10.1002/jhet.3774>
- [3] Kazunin, M. S., Voskoboynik, O. Y., Nosulenko, I. S., Berest, G. G., Sergeieva, T., Okovytyy, S., Karpenko, O. V., Priimenko, B. O., & Kovalenko, S. I. (2018). Synthesis, Tautomerism, and Antiradical Activity of Novel Pteridinetrione Derivatives. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 55(4), 1033-1041. <https://doi.org/10.1002/jhet.3135>
- [4] Shcherbyna, R. O., Panasenko, O. I., & Knysh, Ye. H. (2016). Vyvchennia antyoksydantnoi aktyvnosti solei 2-((4-R-3-(morpholinometylen)-4H-1,2,4-triazol-5-yl)thio)atsetatnykh kyslot [The studying of antioxidant activity of salts 2-((4-R-3-(morpholinometylen)-4H-1,2,4-triazole-5-yl) thio)acetic acids]. *Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, (1), 37-40. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.24959/ubphj.16.7>
- [5] Shcherbyna, R. O., Kapelyanovych, Ye. V., Pruhlo, Ye. S., Panasenko, O. I., & Knysh, Ye. H. (2014). Doslidzhennia aktoprotektonoi aktyvnosti pokhidnykh 4-R-3-(morfolinometylen)-1,2,4-triazol-5-tiolu [The studying of actoprotective action of 4-R-3-(morpholinometylene)-1,2,4-triazole-5-thiole derivatives]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, (6), 19-22. [in Ukrainian].
- [6] Murty, M. S. R., Ram, K. R., Rao, R. V., Yadav, J. S., Rao, J. V., & Velatooru, L. R. (2012). Synthesis of new S-alkylated-3-mercapto-1,2,4-triazole derivatives bearing cyclic amine moiety as potent anticancer agents. *Letters in Drug Design & Discovery*, 9(3), 276-281. <https://doi.org/10.2174/157018012799129882>
- [7] Can, N. O., Cevik, U. A., Saglik, B. N., Leven, S., Korkut, B., Ozkay, Y., Kaplancikli, Z. A., & Koparal, A. S. (2017). Synthesis, Molecular Docking Studies, and Antifungal Activity Evaluation of New Benzimidazole-Triazoles as Potential Lanosterol 14 α -Demethylase Inhibitors. *Journal of Chemistry*, 2017.
- [8] Singh, R., Kashaw, S., Mishra, V., Mishra, M., Rajoriya, V., & Kashaw, V. (2018). Design and synthesis of new bioactive 1,2,4-triazoles, potential antitubercular and antimicrobial agents. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 80(1), 36-45. <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000328>
- [9] Samelyuk, Yu. H., & Kaplaushenko, A. H. (2015). Hostra toksychnist 5-(2-, 3-, 4-metoksyfenil, (3,4,5-trymetoksyfenil)-)-1,2,4-triazol-3-tioniv ta yikh tiopokhidnykh [Acute toxicity of 5-(2-, 3-, 4-methoxyphenyl, (3,4,5-trimethoxyphenyl)-)-1,2,4-triazole-3-thiones and their thioderivatives]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, (3), 57-60. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2015.3.52660>
- [10] Suhak, O. A., Panasenko, O. I., Knysh, Ye. G., Kamyshny, O. M. (2015). Protymikrobna ta protyhyrbkova aktyvnist' pokhidnykh 3-(alkiltio)-4-R-5-(tiofen-2-ilmetyl)-4H-1, 2, 4-triazoliv [Antibacterial and antifungal activity of derivatives 3-(alkylthio)-4-R-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, (3), 67-70. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2015.3.52625>
- [11] Safonov, A. A., Panasenko, O. I., Knysh, Ye. H., & Varynskyi, B. O. (2014). Syntez ta fizyko-khimichni vlastyvi pokhidnykh 4-amino-5-(tiofen-2-ilmetyl)-4H-1,2,4-triazol-3-tioliv [Synthesis and physico-chemical properties of 4-amino-5-(thiophen-2-ylmethyl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiols derivatives]. *Problemy viiskovoi okhorony zdorovia*, 42(1), 381-385. [in Ukrainian].
- [12] Safonov, A. A., Panasenko, O. I., Knysh, Ye. G., & Samura, T. O. (2015). Synthesis and physico-chemical properties of 2-((4-(R-amino)-5-(thiophene-2-ilmetyl)-4H-1,2,4-triazole-3-yl)thio)acetic acids]. *Odeskyi medychnyi zhurnal*, (4), 13-16. [in Ukrainian].
- [13] Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of food science and technology*, 48(4), 412-422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- [14] Szabo, M. R., Idrjoiu, C., Chambre, D., & Lupea, A. X. (2007). Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemical Papers*, 61, 214-216. <https://doi.org/10.2478/s11696-007-0022-7>