



Вивчення мутагенного впливу з прогнозом канцерогенності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну для наступних досліджень із метою створення нового лікарського препарату протигрибкової активності

I. В. Бушуєва¹, К. В. Петрова², Б. П. Киричко³, В. В. Парченко¹

¹Запорізький державний медичний університет, Україна, ²Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, ³Полтавський державний аграрний університет, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Нині все ширшим стає розроблення ефективних і безпечних лікувальних засобів із використанням похідних 1,2,4-тріазолу. Цінність таких препаратів визначається швидкою та пролонгованою біологічною дією, що не супроводжується різкими змінами гомеостазу та вираженими побічними ефектами, характерними для більшості фармакологічних препаратів синтетичного походження. В умовах обмеженого асортименту вітчизняних протимікробних і протигрибкових ветеринарних лікарських засобів на національному фармацевтичному ринку одним із напрямів вирішення цієї задачі є пошук, розроблення та дослідження лікарських засобів із протимікробною та протигрибковою активністю.

Мета роботи – вивчення мутагенного впливу з прогнозом канцерогенності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну з перспективою створення нових лікарських форм для лікування грибкових патологій шкіри.

Матеріали та методи. Для вивчення дії 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну *in vitro* використали *Staphylococcus aureus*, штам 209, його мутанти УФ-2, УФ-3 і первинні клітинні культури. Облік генних мутацій мікроорганізмів у системі метаболічної активації (тест Еймса) здійснили за методикою Л. М. Фонштейна згідно з «Методичними рекомендаціями з оцінки мутагенних властивостей нових лікарських засобів» (Київ, 1996 р.), доповненою методикою за рекомендаціями «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (за ред. І. Я. Коцюмба).

Результати. Результати вивчення активності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на моделі культури пухлинних асцитних клітин показали, що в концентраціях 1,4 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,015 мг/мл він сприяє регресу пухлинних клітин карциноми Ерліха і саркоми С-37. У досліджах зі штамом Nk/L у таких самих концентраціях 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфолін істотно сповільнював зростання клітин.

Результати досліджень вказують на виражену цитогенетичну дію тіофосфаміду і сарколізину, що припускає їхню метаболічну активацію в організмі; про це свідчить виражена аберація хромосом. Порівнявши цитогенетичну дію еквімолярних концентрацій, не виявили цитогенетичну активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну.

Висновки. Позитивні результати вивчення специфічної активності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну в досліджах *in vitro* свідчать про доцільність його широкого вивчення на експериментальних пухлинах тварин. Ба більше, мутагенну дію не виявили в дозах, що застосували для прогнозування канцерогенності. Отже, зробили висновок про відсутність цитогенетичного ефекту.

Ключові слова: 1,2,4-похідні тріазолу, мутаген, канцероген, протипухлинна активність, цитогенетична активність.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2022. Т. 15, № 3(40). С. 271–276

Study of mutagenic effects with predicted carcinogenicity of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-H-1,2,4-triazole-3-yl)methyl) morpholine for further research in order to create a new drug with antifungal activity

I. V. Bushuieva, K. V. Petrova, B. P. Kyrychko, V. V. Parchenko

The development of effective and safe therapeutic agents using 1,2,4-triazole derivatives is gaining momentum in today's conditions. The value of such drugs is determined by the rapid and prolonged biological action, which is not accompanied by abrupt changes in homeostasis and pronounced side effects, which are characteristic of most pharmacological drugs of synthetic origin. In the context of a

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/261790>

UDC 615.31:547.792'211.024'867.4]:015:575.224.4]:615.282-043.83

DOI: [10.14739/2409-2932.2022.3.261790](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.3.261790)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (3), 271–276

Key words: 1,2,4-triazole derivatives, mutagens, carcinogens, antitumor activity, cytogenetic activity.

*E-mail: valery999@ukr.net

Received: 27.07.2022 // Revised: 29.08.2022 // Accepted: 05.09.2022

limited range of domestic antimicrobial and antifungal veterinary drugs on the national pharmaceutical market, one of the directions for solving this problem is the search, study, research, and development of drugs with antimicrobial and antifungal activity.

The aim of this work was to study the mutagenic effects with the prediction of carcinogenicity of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)morpholine with the prospect of further creation of new dosage forms for the treatment fungal pathologies of the skin.

Materials and methods. Staph was used to study the effect of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine in vitro *Staphylococcus aureus*, strain 209, its UV-2, UV-3 mutants and primary cell cultures. Accounting for gene mutations of microorganisms in the system of metabolic activation (Ames test) was carried out according to the method of L. M. Fonshtein in accordance with the requirements of "Methodological recommendations for assessing the mutagenic properties of new medicinal products" (Kyiv, 1996), supplemented by the methodology according to the recommendations of "Preclinical research of veterinary medicinal products" (edited by I. Ya. Kotsiumbas).

Results. The results of studying the activity of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)morpholine on a model of culture of tumor ascetic cells showed that at concentrations of 1.4 mg/ml, 0.8 mg/ml, 0.3 mg/ml, 0.015 mg/ml it was led to the regression of tumor cells of Ehrlich's carcinoma and C-37 sarcoma. In experiments with the Nk/L y strain, the same concentrations of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)morpholine significantly slowed down cell growth. The results of the studies indicate a pronounced cytogenetic effect of thiophosamide and sarcolysin, which suggests their metabolic activation in the body, as evidenced by a pronounced aberration of chromosomes. When comparing the cytogenetic effect of equimolar concentrations, the absence of cytogenetic activity of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)morpholine was revealed.

Conclusions. The positive results of studying the specific activity of 4-((5-decylthio)-4-methyl-4-*H*-1,2,4-triazole-3-yl)methyl)morpholine in experiments in vitro were obtained which indicates the expediency of its extensive study in experimental animal tumors. In addition, according to these studies, no mutagenic effect was found at the doses that were used to predict carcinogenicity. Thus, it can be concluded that there is no cytogenetic effect.

Key words: 1,2,4-triazole derivatives, mutagens, carcinogens, antitumor activity, cytogenetic activity.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (3), 271–276

Нині все ширшим у ветеринарній медицині стає розроблення ефективних і безпечних лікувальних засобів із використанням похідних 1,2,4-тріазолу. Цінність таких препаратів визначається швидкою та пролонгованою біологічною дією, що не супроводжується різкими змінами гомеостазу та вираженими побічними ефектами, характерними для більшості фармакологічних препаратів синтетичного походження.

Діюча речовина, яка є тіопохідною 1,2,4-тріазолу, а саме 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну, є перспективною сполукою для створення лікарських засобів для ветеринарної медицини, зокрема, для лікування грибкових захворювань шкіри тварин [7–13].

Незважаючи на новітні досягнення вітчизняної фармації щодо створення протигрибкових препаратів для застосування у ветеринарній медицині, асортимент засобів такої дії на національному фармацевтичному ринку доволі обмежений. Тому удосконалення фармакотерапії шкірних захворювань – актуальне завдання фармакології. Одним із напрямів його вирішення є пошук, розроблення та дослідження лікарських засобів із протимікробною та протигрибковою активністю.

На етапі попередніх фармакологічних досліджень визначили фізико-хімічні властивості субстанції (розчинність, схильність до кристалізації, стійкість, стабільність) [1–3], але мутагенний вплив і наступний прогноз канцерогенності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну досі не вивчали.

Мета роботи

Вивчення мутагенного впливу з прогнозом канцерогенності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну з перспективою створення нових лікарських форм для лікування грибкових патологій шкіри.

Матеріали і методи дослідження

Протипухлинну активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну вивчали в дослідях in vitro, застосовуючи комплекс методів первинного відбору із залученням науково-дослідницького колективу навчально-наукової лабораторії інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки Полтавського державного аграрного університету. Для вивчення дії 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну in vitro використовували *Staphylococcus aureus*, штам 209, його мутанти УФ-2, УФ-3 та первинні клітинні культури.

Дослідження здійснили за загальноприйнятими мікробіологічними методиками, використовуючи для культивування штаму 209 звичайне живильне середовище (МПА), а для мутантів – спеціальне середовище. Найкращі за відтворюваністю результати одержали в разі застосування рідкого середовища, що є наслідком тіснішого контакту препаратів із тест-мікробами. Тому дослідження здебільшого здійснили на бульйоні, а агар застосовували для визначення життєздатності мікроорганізмів після їх контакту з 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліном у рідкому середовищі. Контроль – посіви на рідке середовище з додаванням розчинника (фізіологічного розчину). Вплив 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на первинні клітинні культури вивчали за загальноприйнятою методикою, яку доповнили математичним визначенням тенденції клітин до розмноження або до регресу.

Обчислення здійснили за формулою:

$$f = 1/t - \lg \text{NKT/Non} \quad (\text{од/добу}) \quad (1)$$

де t – час культивування клітин;

Non – кількість клітин у пробірках із 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліном;

NKT – кількість клітин у контролі.

Таблиця 1. Вплив 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на ріст тест-мікробів

Параметр	Тест-мікроб	4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфолін	Тіофосфамід
Величина «мертвої» зони (концентрація препаратів 1 мг/мл)	УФ-2	0,05–0,03	-
	УФ-3	0,15	-
	209	-	-
Бактерицидна концентрація	УФ-2	1:8000	1:5000
	УФ-3	1:8000	1:5000
	209	-	-

Таблиця 2. Вплив 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на пухлинні клітини в культурі

Препарат	Концентрація препарату, мг/мл	Типи клітин					
		Nk/L		Ерліха		С-37	
		N	f	N	f	N	f
4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфолін	1,4	18	0,02	-116	-0,177	-10,4	-0,007
	0,8	20	0,02	-38	-0,53	-10,7	-0,007
	0,3	21	0,02	-27	-0,018	-4	0,138
	0,015	23	0,027	5	0,03	55	0,143
Контроль	–	903	0,15	89,6	0,17	89,8	0,16

N: відсоток приросту клітин; f: величина, що позначає тенденцію клітин до розмноження (+).

Визначаючи f у контролі, значення Non замінювали кількістю клітин при зберіганні в холодильнику. Позитивне значення величини f показувало тенденцію клітин до розмноження, негативне – до регресу.

Результати

Протипухлинна активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну в досліді in vitro. Дослідження здійснили сумісно з науково-дослідницьким колективом навчально-наукової лабораторії інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки Полтавського державного аграрного університету.

За схемою дослідження 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфолін у чотирьох розведеннях вивчили на трьох видах асцитних клітин: Nk/Ly, Ерліха, С-37. Загалом здійснили 24 визначення. Для з'ясування впливу 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на морфологію клітин у культурі, зокрема КБ і ПІ, клітинний моношар отримували за відомим методом. На третій добі культивування в середовище додавали 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфолін і вирощували клітини ще 3 доби. Одержані клітинні препарати фіксували в рідині Карнуа (1,0–1,5 год), забарвлювали гематоксилін-еозинном та укладали в бальзам [4–6].

Попереднє вивчення 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну здійснили в чашках Петрі з дисками. Виявили, що цей препарат пригнічує ріст двох культур мутантів без впливу на початковий штам (табл. 1, 2).

Результати вивчення активності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на моделі культури пухлинних асцитних клітин показали, що в концентраціях 1,4 мг/мл, 0,8 мг/мл, 0,3 мг/мл, 0,015 мг/мл він сприяє регресу пухлинних клітин карциноми Ерліха і саркоми С-37 (табл. 2). У досліді зі штамом Nk/Ly ці самі концентрації 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну істотно уповільнювали зростання клітин.

Вивчаючи дію 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на одношарову клітинну культуру КБ, зареєстрували цитопатогенний ефект тільки для концентрації 1,8 мг/мл. Наступне розведення препарату до 0,3 мг/мл призводить до збереження частини моношару, а при вмісті 0,15 мг/мл у середовищі культивування видимі зміни не відбувалися.

Отже, позитивні результати вивчення специфічної активності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну в досліді in vitro свідчать про доцільність продовження його вивчення на експериментальних пухлинах тварин.

Цитогенетична активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну. Здійснили порівняльне дослідження цитогенетичної дії 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну на клітинах кісткового мозку самців щурів лінії Вістар віком 2–3 місяці. Результати наведено в таблиці 3. Дози є еквімолярними, збігаються із терапевтичними.

Результати досліджень свідчать про виражену цитогенетичну дію тіофосфаміду і сарколізину. Тому можна припустити їхню метаболічну активацію в організмі, підтверджену вираженою аберацією хромосом. Порів-

Таблиця 3. Цитогенетична активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну

Форма досліджу	Доза, мг/кг	Кількість клітин	Структурні порушення					Загалом клітин з аберацією		p
			Одиничні фрагменти	Парні фрагменти	Обміни	Центричні кільця	Клітини з пошкодженнями	Кількість	%	
Контроль	–	1000	5	–		–	–	3	0,40 ± 0,10	–
Тіофосфамід	4	500	188	8	110	10	22	172	37,50 ± 2,11	<0,001
Сарколізин	14	200	57	62	13	15	38	119	65,40 ± 2,77	<0,001
4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну	1800	200	6	3	–	–	–	13	7,70 ± 0,53	<0,5
	1200	200	5	–	–	–	–	8	2,30 ± 0,55	>0,5
	800	200	3	–	–	–	–	5	1,30 ± 0,20	>0,5
	300	200	–	–	–	–	–	–	–	–
	150	200	–	–	–	–	–	–	–	–

Таблиця 4. Облік генних мутацій мікроорганізмів (тест Еймса)

Тест-штам	Речовина	Доза, мкг/г	Кількість колоній реверантів на чашку							
			метаболічна активація				без метаболическої активації			
			X ₁ , абс./лг	X ₂ , абс./лг	X ₃ , абс./лг	Сер., лг	X ₁ , абс./лг	X ₂ , абс./лг	X ₃ , абс./лг	Сер., лг
<i>Salmonella typhimurium</i>	4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну	0,1	6/1,37	6/1,66	4/1,37	1,44	7/1,87	7/1,77	8/2,09	1,89
		1,0	4/1,66	5/1,74	4/1,42	1,68	6/1,88	5/1,49	6/1,41	1,48
		10,0	5/1,77	7/1,85	7/2,12	1,83	8/2,28	11/1,96	9/2,28	2,21
		100,0	8/2,38	8/2,13	9/2,26	2,21	10/2,35	13/2,24	13/2,38	2,19
		1000,0	13/2,54	13/2,46	12/2,38	2,51	31/3,48	18/2,66	21/3,12	3,17
	Тіофосфамід	200,0	21/2,28	20/2,12	14/2,77	3,18	25/3,55	28/3,55	29/3,39	3,44
	Контроль ефективності	–	9/2,33	18/2,87	17/2,83	2,77	9/2,20	8/2,08	5/1,61	2,02

X₁, X₂, X₃: кількість колоній на чашку; абс.: абсолютна кількість; лг: значення логарифма, відповідне кількості реверантів.

нявши цитогенетичну дію еквімолярних концентрацій, не виявили цитогенетичну активність 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну.

В експериментах із 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліном через 24 години після його введення в рівновіддалених концентраціях (від 1/2 до 1/10 ЛД₅₀) хромосомні пошкодження не зафіксували. Цей дослід передбачає з'ясування можливої кумуляції 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну (5 введень у дозі 1/5 ЛД₅₀). У результаті не виявили цитогенетичну активність досліджуваної речовини. Це свідчить про її перспективність для клінічного вивчення в умовах пухлинного росту.

Результати обліку генних мутацій мікроорганізмів у системі метаболическої активації (тест Еймса). Під час скринінгу біологічно активних речовин важливе встановлення їхньої потенційної мутагенності шляхом виявлення потенційного мутагенезу (тест Еймса) та визначення генетичної токсичності методом цитогенетичних досліджень на тваринах.

Метод обліку генних мутацій полягає в здатності сполуки індукувати генні мутації мікроорганізмів у

системі метаболическої активації (Л. М. Фонштейн та ін., 1977 р.). Застосовують тестові штами бактерій *Salmonella typhimurium* TA 100, 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну, печінку щурів з кофакторами (НАДФ, глюкозо-6-фосфат). У результаті функціонування системи мікосомального окиснення під впливом ферментів у гомогенаті печінки сполука, яку вивчали, може метаболізувати й індукувати мутації, якщо вона має мутагенну дію.

Досліди здійснили за методикою Л. М. Фонштейна згідно з «Методичними рекомендаціями з оцінки мутагенних властивостей нових лікарських засобів» (Київ, 1996 р.). Оцінювання результатів здійснили на підставі статистично опрацьованих матеріалів досліджень, що наведені в таблиці 4.

Далі за методикою 0,1 мл розчину 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-Н-1,2,4-тріазол-3-іл)метил)морфоліну в діапазоні 0,1–1000,0 мкг вносили в 2,5 мл агару, додавали 0,1 мл тестових штамів і 0,5 мл мікосомальної активуючої суміші (МС+). Суміш перемішували, негайно переносили на агар, позбавлений гістидину. Досліди супроводжувались відповідними контролями. Дослідження здійснили з

повною (МС+) і неповною (МС-) системою метаболічної активації (табл. 4).

Результати враховували, якщо були позитивні контролю, тобто якщо в ньому виявлена мутагенна дія. Через 48 годин інкубації за температури 37 °С обраховували кількість реверантних колоній. Ступінь мутагенного впливу за цих умов досліду оцінена знаком «-».

Висновки

1. Позитивні результати вивчення специфічної активності 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метилморфоліну в дослідних *in vitro* свідчать про доцільність його широкого вивчення на експериментальних пухлинах тварин.

2. Мутагенну дію не виявили в дозах, що застосували для прогнозування канцерогенності. Отже, зробили висновки про відсутність цитогенетичного ефекту.

Перспективи подальших досліджень. Результати дали змогу спланувати наступні дослідження ембріолетального, фето- й ембріотоксичного ефектів 4-((5-децилтіо)-4-метил-4-*H*-1,2,4-тріазол-3-іл)метилморфоліну в постнатальному періоді.

Подяка

Колектив авторів статті щиро дякують Збройним силам України та редакції наукового журналу «Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики» за можливість здійснювати дослідження та публікувати їхні результати.

Фінансування

Дослідження здійснене в рамках виконання дисертаційної роботи.

Конфлікт інтересів: відсутній.

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

Відомості про авторів:

Бушуєва І. В., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. управління і економіки фармації та фармацевтичної технології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-5336-3900](https://orcid.org/0000-0002-5336-3900)

Петрова К. В., аспірант, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна.

ORCID ID: [0000-0001-8612-2268](https://orcid.org/0000-0001-8612-2268)

Киричко Б. П., д-р вет. наук, професор, зав. каф. хірургії та акушерства, Полтавський державний аграрний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0003-1463-5501](https://orcid.org/0000-0003-1463-5501)

Парченко В. В., д-р фарм. наук, професор каф. природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-2283-1695](https://orcid.org/0000-0002-2283-1695)

Information about authors:

Bushuieva I. V., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Management and Pharmacy Economics, Medical and Pharmaceutical Law, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Petrova K. V., PhD student, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine.

Kyrychko B. P., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Surgery and Midwifery, Poltava State Agrarian University, Ukraine.

Parchenko V. V., PhD, DSc, Professor of the Department of Natural Sciences for Foreign Students and Toxicological Chemistry, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Список літератури

- [1] Пат. 138684, Україна. Спосіб лікування дерматологічних захворювань / В. П. Мартинишин, В. М. Гунчак, О. І. Панасенко та ін. № u201904928 ; заявл. 10.05.2019 ; опубл. 10.12.2019, бюл. № 23/2019. URL: <https://sis.ukrpatent.org/uk/search/detail/1396036/>
- [2] Evaluation of acute and subacute toxicity of oil liniment based on 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine / R. Shcherbyna, V. Parchenco, V. Martynyshyn, V. Hunchak. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 43-52.
- [3] Synthesis, antibacterial, antiurease, and antioxidant activities of some new 1,2,4-triazole schiff base and amine derivatives / B. B. Sokmen, N. Gumrukcuoglu, S. Ugras et al.. *Applied biochemistry and biotechnology*. 2015. Vol. 175, Iss. 2. P. 705-714. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1307-2>
- [4] Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів / І. Я. Коцюмбас, О. Г. Малик, І. П. Патерега та ін.; за ред. І. Я. Коцюмбаса. Львів : Тріада плюс, 2006. 360 с.
- [5] Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. реком. / за ред. О. В. Стефанова ; Держ. фармакол. центр. Київ, 2001. 527 с.
- [6] Положення про Комітет з питань етики (біоетики) : наказ Міністерства освіти, науки, молоді та спорту України від 19.11.2012 № 1287. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1287736-12#Text>
- [7] Застосування морфоліній 2-[5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетату для лікування і профілактики деяких захворювань / І. В. Бушуєва, Л. І. Пархоменко, Є. Г. Книш, О. І. Панасенко. *Запорізький медичний журнал*. 2014. № 2. С. 97-99. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.2.25443>
- [8] Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with ImmunoModulating Activity / N. N. Borisenko, I. V. Bushuieva, V. V. Parchenko et al. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2019. Vol. 12, Iss. 11. P. 5255-5259. <http://dx.doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00909.0>
- [9] Trifuzol suppositories usage results on the course of endometrial inflammatory processes in cows / X. G. Klosova, I. V. Bushuieva, V. V. Parchenko et al. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2019. Vol. 10, Iss. 1. P. 1215-1223.
- [10] Trifuzol – new original veterinary drug / I. Bushuieva, V. Parchenko, R. Shcherbyna et al. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2017. Vol. 41, Iss. 1. P. 42-49. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000594
- [11] Застосування препарату «Авесстим» для підвищення ефективності вакцинопрофілактики та вплив препарату на резистентність курчат / І. В. Бушуєва, А. В. Березовський, Є. Г. Книш, О. І. Панасенко. *ScienceRise*. 2014. Т. 4, № 1. С. 94-97. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2014.29279>
- [12] Borisenko, N. N., Gubenko, I. Y., Parchenko, V. V., & Bushuieva, I. V. (2019) The Efficacy Tests Results Of The Veterinary Drug" Trifuzol 1% Solution For Injection". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 102-107.
- [13] Вивчення впливу морфоліній 2-[5-(піридин-4-іл)-1,2,4-тріазол-3-ілтіо]ацетату на профілактику стресових станів / І. В. Бушуєва, Б. П. Киричко, Є. Г. Книш та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. № 2. С. 64-66.

References

- [1] Martynyshyn V. P., Hunchak, V. M., Panasencko, O. I., Parchenko, V. V., & Shcherbyna R. O. (2019). *Sposib likuvannia dermatolohichnykh zakhvoriuvan* [Method of treatment of dermatological diseases]. Ukraine Patent UA 138684. <https://sis.ukrpatent.org/uk/search/detail/1396036/>
- [2] Shcherbyna, R., Parchenco, V., Martynyshyn, V., & Hunchak, V. (2018). Evaluation of acute and subacute toxicity of oil liniment based on 4-((5-(decylthio)-4-methyl-4H-1,2,4-triazol-3-yl)methyl)morpholine. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 42(1), 43-52.
- [3] Sokmen, B. B., Gumrukcuoglu, N., Ugras, S., Sahin, H., Sagkal, Y., & Ugras, H. I. (2015). Synthesis, antibacterial, antiurease, and antioxidant activities of some new 1,2,4-triazole schiff base and amine derivatives. *Applied biochemistry and biotechnology*, 175(2), 705-714. <https://doi.org/10.1007/s12010-014-1307-2>
- [4] Kotsiumbas, I. Ya., Malyk, O. H., Patereha, I. P., Tishyn, O. L., & Kosenko, Yu. M. (2006). *Doklinichni doslidzhennya veterynarnykh likarskykh zasobiv* [Preclinical studies of veterinary medicinal products]. Triada plus. [in Ukrainian].
- [5] Stefanov, O. V. (Ed.). (2001). *Doklinichni doslidzhennya likarskykh zasobiv* [Preclinical studies of medicines]. Kyiv: Avitsena. [in Ukrainian].
- [6] Ministry of Education and Science. (2012, November 19). *Polozhennia pro Komitet z pytan etyky (bioetyky)* [Regulations on the Committee on Ethics (Bioethics) (No. 1287)]. <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v1287736-12#Text>

- [7] Bushueva, I. V., Parkhomenko, L. I., Knysh, Ye. H., & Panasenko, O. I. (2014). Zastosuvannia morfolinii 2-[5-(pirydyn-4-il)-1,2,4-triazol-3-iltio]atsetatu dlia likuvannia i profilaktyky deiakyykh zakhvoriuvan [Application of the morpholines of 2-[5-(pyridin-4-yl)-1,2,4-triazol-3-ylthio] acetates for the treatment and prevention of some diseases]. *Zaporozhye medical journal*, (2), 97-99. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2014.2.25443>
- [8] Borisenko, N. N., Bushuieva, I. V., Parchenko, V. V., Gubenko, I. Ya., Mykhailiuk, Ye. O., Riznyk, O. I., Aleksieiev, O. G., Gutyj, B. V., Ly-sianska, H. P., & Kurinnyi, A. V. (2019). Anti-Inflammatory, Antiviral Veterinary Medicine with Immuno-Modulating Activity. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(11), 5255-5259. <http://dx.doi.org/10.5958/0974-360X.2019.00909.0>
- [9] Klosova, X. G., Bushueva, I. V., Parchenko, V. V., Shcherbyna, R. O., Samura, T. O., Gubenko, I. Y., Gutyj, B. V., & Khariv, I. I. (2019). Trifuzol suppositories usage results on the course of endometrial inflammatory processes in cows. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 1215-1223.
- [10] Bushueva, I., Parchenko, V., Shcherbyna, R., Safonov, A., Kaplaushenko, A., Gutyj, B., & Hariv, I. (2017). Tryfuzol – new original veterinary drug. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*, 41(1), 42-49. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000594
- [11] Bushuieva, I. V., Berezovskyi, A. V., Knysh, Ye. H., & Panasenko, O. I. (2014). Zastosuvannia preparatu "Avesstym" dlia pidvyshchennia efektyvnosti vaksynoprofilaktyky ta vplyv preparatu na rezystentnist kurchat [Use of the drug "Avastin" to increase the effectiveness of vaccination and the effect of the drug resistance of chickens]. *Science Rise*, 4(1), 94-97. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2014.29279>
- [12] Borisenko, N. N., Gubenko, I. Y., Parchenko, V. V., & Bushueva, I. V. (2019). The efficacy tests results of the veterinary drug "Trifuzol 1% solution for injection". *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 10(1), 102-107.
- [13] Bushueva, I. V., Kirichko, B. P., Knish, E. G., Panasenko, O. I., & Izdepskiy V. I. (2014). Vyvchennia vplyvu morfolinii 2-[5-(pirydyn-4-il)-1,2,4-triazol-3-iltio]atsetatu na profilaktyku stresovykh staniv [The study of morpholinium 2-[5-(pyridin-4yl)-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetate effect on prevention of stressful conditions]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, (2), 64-66. [in Ukrainian].