



## Протизапальна активність солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** 1,2,4-тріазол, теофілін, протизапальні засоби.

Здійснили дослідження протизапальної активності солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти на моделі гострого запалення «формалін-індукований набряк кінцівок» щурів. Запальну реакцію моделювали за допомогою 2,0% водного розчину формаліну. Як референс-препарат використали диклофенак натрію. Результати досліджень опрацювали сучасними статистичними методами аналізу. За результатами експерименту встановили, що найбільш активними є 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота та її діетилетаноламонієва сіль. Серед речовин, що вивчили, слід також відзначити піперидиний 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, який виявляє високу протизапальну дію.

### Противовоспалительная активность солей 2-(5-((теофиллин-7'-ил)метил)-4-R-4H-1,2,4-триазол-3-илтио)-ацетатной кислоты

А. С. Гоцуля, Е. С. Пругло, А. И. Панасенко, Е. Г. Книш

Проведено дослідження протизапальної активності солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти на моделі «формалін-індукованого отека кінцівок» крыс. Воспалительную реакцію моделювали з допомогою 2,0% розчину формаліну. В качестве референс-препарата использован диклофенак натрия. Результати дослідження оброблені з допомогою статистичних методів аналізу. По результатам експерименту встановлено, що найбільш активними оказались 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота і її діетилетаноламонієва сіль. Среди изученных веществ следует обратить внимание на пиперидиний 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, который проявляет высокую противовоспалительную активность.

**Ключевые слова:** 1,2,4-тріазол, теофілін, протизапальні засоби.

**Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки і практики.** – 2014. – № 3 (16). – С. 60–62

### Anti-inflammatory activity of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid salts

A. S. Gotsulya, Ye. S. Pruglo, O. I. Panasenko, Ye. G. Knysh

Aim. The research of anti-inflammatory activity of 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid's salts has been conducted on the «formalin-induced edema of the rats' extremities» model of acute inflammation.

Methods and results. Inflammatory reaction has been modeled using 2,0% aqueous formalin solution. Diclofenac sodium has been used as a reference drug. The research results have been processed by modern statistical methods of analysis. As the research results show, the most active are 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-R-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid and its diethyletanolammonium salt.

Conclusion. Among studied substances the piperidine 2-(5-((theophylline-7'-yl)methyl)-4-phenyl-4H-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetateshould also be noted, as it shows high anti-inflammatory activity.

**Key words:** Triazoles, Theophylline, Anti-inflammatory Agents.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 3 (16): 60–62**

Нині в комплексній терапії низки захворювань як знеболювальні та протизапальні застосовують лікарські препарати переважно із групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) і глюкокортикостероїдів (ГКС). Більшість НПЗЗ інгібують циклооксигеназу-1 (ЦОГ-1) і циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2), порушуючи синтез простагландинів і тромбоксанів. Жарознижувальна, знеболювальна і протизапальна дія НПЗЗ забезпечується їхнім впливом на ЦОГ-2, тоді як інгібування ЦОГ-1 викликає побічні ефекти, котрі пов'язані зі зниженням синтезу простагландинів, наприклад, ерозивний гастрит і шлунково-кишкові кровотечі. Також залишається відкритим питання щодо застосування селективних інгібіторів ЦОГ-2 у пацієнтів із ризиком серцево-судинної та цереброваскулярної патології.

Механізм дії ГКС базується на пригніченні транскрипції генів, які кодують синтез прозапальних білків. Тяжкість ускладнень при застосуванні ГКС визначається рівнем і тривалістю їх використання. Одним із головних усклад-

нень від приймання ГКС є виникнення остеопорозу.

Отже, залишається актуальним пошук високоєфективних лікарських засобів, що пригнічують запалення і проявляють мінімальну побічну дію [1–3].

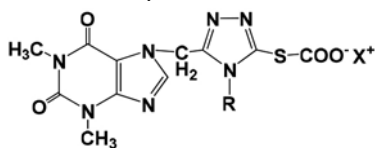
#### Мета роботи

Оцінювання протизапальної активності солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти на моделі гострого запалення «формалін-індукований набряк кінцівок» щурів і встановлення деяких закономірностей залежності «структура – фармакологічна активність».

#### Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – 14 солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти (табл. 1), які синтезовані на кафедрі токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету. Ці сполуки є кристалічними речовинами, що не мають запаху, розчинні у воді або органічних розчинниках.

Таблиця 1  
Соли 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти



№ сполуки	R	X <sup>+</sup>
1	CH <sub>3</sub>	Na <sup>+</sup>
2	CH <sub>3</sub>	
3	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H <sub>3</sub> N <sup>+</sup> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH
4	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	
5	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	
6	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	
7	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H
8	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Ca <sup>2+</sup>
9	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	Zn <sup>2+</sup>
10	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	
11	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	H <sub>3</sub> N <sup>+</sup> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -OH
12	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	
13	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	
14	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	

Досліди виконали на інтактних білих нелінійних щурах різної статі, вага тварин – 190–260 г. Кожна група включала 7 щурів. Водний розчин/суспензію похідних 1,2,4-тріазолу, стабілізовану твіном-80 для нерозчинних у воді сполук (у дозі 1/10 від LD<sub>50</sub> у розрахунку 1 мл розчину/суспензії на 100 г тварини), вводили *per os* за 0,5 години до введення флоггену. Запальну реакцію моделювали за допомогою введення як флоггену 2,0% водного розчину формаліну [5]. Формалін вводили в об'ємі 0,1 мл субплантарно в одну із задніх кінцівок. Для оцінювання протизапальної активності через 2 і 4 години після введення формаліну вимірювали об'єм кінцівки волнометричним методом, результат наведено у см<sup>3</sup>. Як еталон порівняння використали диклофенак натрію (2,5% розчин, ампули по 3 мл, «Дарниця», Україна), препарат вводили в дозі 8 мг/кг [5].

Результати досліджень опрацювали сучасними статистичними методами аналізу з використанням стандартного пакета програм Microsoft Office 2010 (Microsoft Excel) та «STATISTICA® for Windows 6.0». Розраховували середні арифметичні (M) і стандартні похибки середньої (±m). Вірогідність міжгрупових відмінностей за даними експериментів визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Використали 3 рівні статистичної значущості відмінностей результатів: p<0,05, p<0,01 та p<0,001 [4,6,8].

#### Результати та їх обговорення

У результаті досліджень (табл. 2) встановили, що 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота та її діетилетаноламонієва сіль за силою протизапальної дії перевищують еталон порівняння диклофенак як за 2 (на 26,63% та 42,15% відповідно, p<0,01), так і за 4 години (на 1,79% та 6,96% відповідно, p<0,05). Серед речовин, що вивчили, необхідною також

Таблиця 2

#### Протизапальна активність похідних 1,2,4-тріазолу за умов формалінового набряку лапи щурів

Сполука/ група	Доза сполук, мг/кг	Об'єм лапи щурів через 2 год, см <sup>3</sup>	Проти-запальна активність, %	Статистична значущість результатів		Об'єм лапи щурів через 4 год, см <sup>3</sup>	Проти-запальна активність, %	Статистична значущість результатів	
				щодо контролю	щодо диклофенаку			щодо контролю	щодо диклофенаку
Контроль(фіз. р-н)	-	0,46±0,027	0	-	p = 0,006	1,33±0,051	0	-	p=0,00027
Диклофенак	8	0,34±0,015	25,36	p = 0,006	-	0,81±0,058	38,78	p=0,00027	-
2	45	0,19±0,019	59,06	p=7,39*10 <sup>-5</sup>	p = 0,000357	1,29±0,079	7,52	p=0,32	p=0,0038
6	46	0,19±0,023	59,38	p=1,2*10 <sup>-4</sup>	p = 0,00081	1,09±0,076	18,15	p=0,032	p=0,023
10	55	0,47±0,043	-3,12	p = 0,78	p = 0,02206	1,11±0,062	16,76	p=0,027	p=0,0104
14	53	0,38±0,028	17,19	p=0,08	p = 0,264	1,20±0,082	9,99	p=0,0066	p=0,212
Контроль	-	0,39±0,039	0	-	-	1,35±0,063	0	-	-
1	121	0,72±0,044	-83,33	p=0,0008	p = 7,81*10 <sup>-5</sup>	1,26±0,099	6,36	p=0,4868	p=0,0057
3	45	0,63±0,027	-61,84	p=0,0013	p = 2,9*10 <sup>-5</sup>	1,21±0,067	10,59	p=0,1621	p=0,0030
7	105	0,19±0,036	51,99	p=0,006	p = 0,0058	0,80±0,175	40,57	p=0,0214	p=0,946
13	50	0,21±0,027	46,41	p=0,00627	p = 0,00389	0,92±0,112	32,10	p=0,0116	p=0,456
Контроль	-	0,37±0,028	0	-	-	1,38±0,091	0	-	-
5	49	0,57±0,027	-53,26	p=0,0013	p = 0,000126	1,20±0,083	13,43	p=0,1756	p=0,0068
11	50	0,20±0,039	46,74	p=0,00819	p = 0,011302	1,13±0,063	18,08	p=0,0585	p=0,0073
Контроль	-	0,40±0,18	0	-	-	1,14±0,091	0	-	-
4	55	0,35±0,030	10,47	p=0,27	p = 0,67822	1,31±0,097	-15,16	p=0,2364	p=0,00312
8	115	0,16±0,009	60,65	p=7,35*10 <sup>-6</sup>	p = 1,41*10 <sup>-5</sup>	0,80±0,134	29,70	p=0,0749	p=0,932103
9	157	0,50±0,033	-27,44	p=0,23	p = 0,00235	1,37±0,079	-20,05	p=0,1018	p=0,000777
12	53	0,13±0,016	67,51	p=1,12*10 <sup>-5</sup>	p = 2,5*10 <sup>-5</sup>	0,62±0,080	45,74	p=0,00362	p=0,08815

відзначити піперидиній 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-феніл-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат, який проявляє високу протизапальну дію (її сила наближається до дії диклофенаку натрію – на 6,68% менш активна,  $p < 0,05$ ). Незначні протизапальні властивості за 4 години продемонстрували сполуки 2, 5, 6, 8, 10, 11, 13 і 14 (протизапальна дія в межах 6,36–32,10%). Через 2 години після введення флогогену зменшували рівень набряку 7 сполук ефективніше, ніж референс-препарат. Проаналізувавши залежність протизапальної дії та хімічної структури досліджуваних речовин, виявили, що наявність катіону діетилетаноламонію в молекулі 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату сприяє найвиразнішій протизапальній дії. Відсутність катіону діетилетаноламонію в молекулі 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти дещо

знижувала показники протизапальної дії. Введення катіона морфолінію до 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетату знижує протизапальну дію, сіль, що отримали, менш ефективна, ніж референс-препарат.

#### Висновки

1. У результаті фармакологічного скринінгу солей 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти виявили ряд сполук із протизапальною активністю, що наближаються або перевищують за активністю референс-препарат.

2. Діетилетаноламоній 2-(5-((теофілін-7'-іл)метил)-4-R-4H-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат виявився найбільш активною сполукою: прояви формалінового набряку протягом 4 годин зменшувались на 45,74% (на 6,96% активніше, ніж після введення диклофенаку – 38,78%,  $p = 0,00027$ ).

#### Список літератури

1. Иманаева А.Я. Изучение противовоспалительной активности липоевой кислоты на модели адьювант-индуцированного артрита крыс / А.Я. Иманаева, Л.Н. Залютдинова, Д.Э. Цыплаков // *Biologicals sciences. Fundamental research.* – 2013. – №6. – P. 596.
2. Димефосфон проявляє протизапальну і антиоксидантну активність на моделі хронічного аутоімунного запалення / И.Х. Валеева, Л.Е. Заганшина, В.Н. Хазиахметова, А.Ф. Титаренко // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2011. – №3. – С. 13–16.
3. Калитник А.А. Противовоспалительная активность хитозана и его низкомолекулярного производного / А.А. Калитник, П.А. Марков, А.В. Володько // *Медицинский академический журнал.* – 2012. – Т.12. – №3. – С. 60.
4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – 2 изд., перераб. и доп. – К. : Морнион, 2001. – 408 с.
5. Методичні вказівки по доклінічному вивченню лікарських засобів / під ред. А.В. Стефанова. – К., 2001. – 567 с.
6. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.
7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАН проф. Р.У. Хабриева. – 2-изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
8. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М. : ВНИЦ БАН, 2000. – 352 с.
9. Jiang B. Discovery of potential anti-inflammatory drugs: diaryl-1,2,4-triazoles bearing N-hydroxyurea moiety as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase / B. Jiang, X. Huang, H. Yao, J. Jiang, X. Wu, S. Jiang, Q. Wang, T. Lu, J. Xu // *Org. Biomol. Chem.* – 2014. – №12(13). – P. 2114–2127.
10. Synthesis and evaluation of some novel 1,2,4-triazole derivatives for antimicrobial, antitubercular and anti-inflammatory activities / S. Pattan, P. Gadhav, V. Tambe et al. // *Indian Journal of Chemistry.* – 2012. – Vol. 51B. – P. 297–301.

#### References

1. Imanaeva, A. Ya., Zalyalyutdinova, L. N., & Cyplakov, D. E. (2013) Izuchenie protivovospalitel'noj aktivnosti lipo-

evoj kisloty na modeli ad'yuvant-inducirovannogo artrita krys [Study of the antiinflammatory activity of lipoic acid on a model of adjuvant-induced arthritis in rats]. *Biologicals sciences. Fundamental research*, 6, 596.

2. Valeeva, I. H., Titarenko, A. F., Khaziakhmetova, V. N., & Ziganshina, L. E. (2011) Dimefosfon proyavlyaet protivovospalitel'nyuyu i antioksidantnyuyu aktivnost' na modeli khronicheskogo autoimmunnogo vospaleniya [Dimphosphone Shows Anti-Inflammatory and Anti-Oxidative Activity on Chronic Autoimmune Inflammation Model]. *E'ksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*, 3, 13–16. [in Russian].
3. Kalitnik, A. A., Markov, P. A., & Volodko, A. V. (2012) Protivovospalitel'naya aktivnost' khitozana i ego nizkomolekulyarnogo proizvodnogo [Anti-inflammatory activity of low molecular weight chitosan and its derivative]. *Medicinskij akademicheskij zhurnal.*, 12(3), 60. [in Russian].
4. Lapach, S. N., Chubenko, A. V., & Babich, P. N. (2001) *Statisticheskie metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniem Excel [Statistical methods in biomedical research using Excel]*. Kyiv. [in Ukrainian].
5. Stefanov, A. V. (Ed.) (2001) *Metodychni vказivky podoklinichnomu vuvchenniu likarskykh zasobiv [Guidelines for clinical trial]*. Kyiv. [in Ukrainian].
6. Rebroya, O. Yu. (2002) *Statisticheskij analiz medicinskikh dannykh. Primenenie paketa prikladnykh programm STATISTICA [Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA]*. Moscow: MediaSfera. [in Russian].
7. Khabriev, R. U. (2005) *Rukovodstvo po e'ksperimental'nomu (doklinicheskomu) izlucheniyu novykh farmakologicheskikh veschestv [Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]*. Moscow: Medicina. [in Russian].
8. Sernov, L. N., & Gacura, V. V. (2000) *E'lementy e'ksperimental'noj farmakologii [Elements of Experimental Pharmacology]*. Moscow. [in Russian].
9. Jiang, B., Huang, X., Yao, H., Jiang, J., Wu, X., Jiang, S., et al. (2014) Discovery of potential anti-inflammatory drugs: diaryl-1,2,4-triazoles bearing N-hydroxyurea moiety as dual inhibitors of cyclooxygenase-2 and 5-lipoxygenase. *Org. Biomol. Chem.*, 12(13), 2114–2127. doi: 10.1039/c3ob41936c.
10. Pattan, S., Gadhav, P., Tambe, V., et al. (2012) Synthesis and evaluation of some novel 1,2,4-triazole derivatives for antimicrobial, antitubercular and anti-inflammatory activities. *Indian Journal of Chemistry*, 51B, 297–301.

#### Відомості про авторів:

Гоцуля А.С., к. фарм. н., ст. викладач каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет, E-mail: andrey\_goculya@mail.ru.

Пругло Є.С., к. фарм. н., ст. викладач каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет.

Панасенко О.І., д. фарм. н., професор, зав. каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет.

Книш Є.Г., д. фарм. н., професор, зав. каф. управління та економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет.

Надійшла в редакцію 16.06.2014 р.