



М. О. Щербак, А. Г. Каплаушенко, І. Ф. Беленічев

Гостра токсичність 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: 1,2,4-тріазол,
гостра токсичність.

Одним із пріоритетних завдань сучасної медицини та фармації є синтез нових високоєфективних і малотоксичних сполук, що можуть бути використані як потенційні лікарські засоби. Похідні азотомісних гетероциклів, таких як 1,2,4-тріазол, викликають у цьому плані велику зацікавленість у вітчизняних і зарубіжних дослідників. З метою створення нових оригінальних лікарських препаратів, спираючись на досвід попередніх досліджень, синтезували ряд 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних. На одному з перших етапів фармакологічного скринінгу дослідили їхню гостру токсичність за методом В.Б. Прозоровського та вивчили закономірність між хімічною будовою і біологічною дією. Встановили, що синтезовані сполуки належать до малотоксичних або нетоксичних речовин.

Острая токсичность 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов и их производных

М. А. Щербак, А. Г. Каплаушенко, И. Ф. Беленичев

Одной из приоритетных задач современной медицины и фармации является синтез новых высокоэффективных и малотоксичных соединений, которые могут быть использованы как потенциальные лекарственные средства. Производные азотсодержащих гетероциклов, таких как 1,2,4-триазол, вызывают в этом плане большой интерес у отечественных и зарубежных исследователей. С целью создания новых оригинальных лекарственных препаратов, опираясь на опыт предыдущих исследований, синтезировали ряд 4-амино-5-(2-, 3-, 4-нитрофенил)-1,2,4-триазол-3-тионов и их производных. На одном из первых этапов фармакологического скрининга исследована их острая токсичность по методу В.Б. Прозоровского и изучена закономерность между химическим строением и биологическим действием. Установлено, что синтезированные соединения относятся к малотоксичным или нетоксичным веществам.

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

Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики. – 2014. – № 3 (16). – С. 63–66

Acute toxicity of 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones and its derivatives

М. О. Shcherbak, А. G. Kaplaushenko, I. F. Belenichev

One of the priorities of modern medicine and pharmacy is the synthesis of new, highly efficient and low-toxic compounds that can be used as potential drugs. Derivatives of nitrogen-containing heterocycles, such as 1,2,4-triazole, cause great interest in this regard both for our country authors and foreign one.

Aim. Based on the experience of previous research in order to create new original drugs we have synthesized a series of 4-amino-5-(2-, 3-, 4-nitrophenyl)-1,2,4-triazole-3-thiones and their derivatives.

Methods and results. On one of the first steps of pharmacological screening the toxicity data by the V.B. Prozorovskiy method and communication between chemical structure and biological effects of the compounds has been studied.

Conclusion. It has been established that the synthesized compounds are non-toxic or low-toxic substances.

Key words: 1,2,4-triazole, Acute Toxicity.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 3 (16): 63–66

Останніми роками вітчизняні [1,2] і закордонні [3] дослідники приділяють велику увагу моделюванню біологічно активних речовин, що можуть стати основою нових оригінальних лікарських засобів. Цілеспрямований синтез сполук із низькою токсичністю та вираженими біологічними властивостями є головним етапом створення лікарських препаратів. Особливий інтерес у цьому напрямі викликають азотомісні гетероцикли як високоєфективні фармакологічно активні сполуки. Зокрема, активно вивчають токсичність і біологічну активність 1,2,4-тріазолів, оскільки ядро 1,2,4-тріазолу є структурним фрагментом лікарських препаратів із різноманітними фармакологічними ефектами (протигрибкова, антидепресивна, гепатопротекторна, ранозагоювальна, противірусна тощо). Слід відзначити, що похідні 1,2,4-тріазол-3-тіону і 4-аміно-1,2,4-тріазолу є нетоксичними або малотоксичними речовинами [1,2,4].

Мета роботи

Визначити залежність фармакологічної активності речовин, які ми синтезували, від їхньої будови.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження здійснили на кафедрі фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (зав. – д. біол. н., професор І.Ф. Беленічев). Дослідження виконали за експрес-методом В.Б. Прозоровського [5] на білих щурах лінії Вістар. Для визначення LD_{50} похідних 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів використали 5 груп тварин по 2 спостереження в кожній із додатковим використанням однієї попередньої та наступної дози. Водорозчинні сполуки розчиняли в 1,5 мл дистильованої води і за допомогою шприца вводили внутрішньоочеревинно, дотримуючись правил асептики й антисептики.

Водонерозчинні сполуки стабілізували твіном-80 і вводили через металевий зонд у шлунок. Спостереження проводились через 24 години.

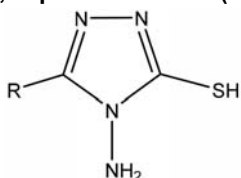
Результати та їх обговорення

Досліди показали, що значення LD₅₀ нових похідних 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (табл. 1-5) знаходяться в межах 400-1300 мг/кг; за класифікацією І.К. Сидорова [6] сполуки, які вивчили, належать до малотоксичних або нетоксичних речовин.

На гостру токсичність 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх похідних значно впливають наявність і характер замісників по ядру 1,2,4-тріазолу, а також природа замісників за атомом Сульфуру при C₃-атомі 1,2,4-тріазолового циклу.

Таблиця 1

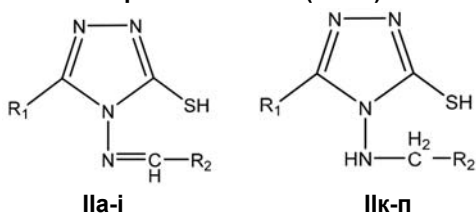
Гостра токсичність 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-Ів)



№ сполук	R	LD ₅₀ , мг/кг
Ia	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	934 (889-942)
Iб	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	965 (949-981)
Iв	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	984 (973-993)

Таблиця 2

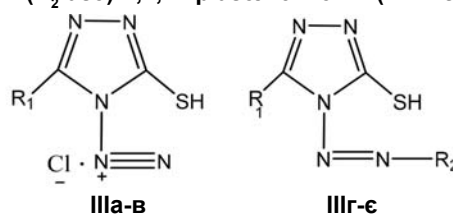
Гостра токсичність 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIa-IIi) та 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIк-IIп)



№ сполук	R ₁	R ₂	LD ₅₀ , мг/кг
IIa	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₈ H ₁₀ O ₂	618 (592-642)
IIб	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₆ H ₄ F-3	709 (691-715)
IIв	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₆ H ₄ F-4	577 (543-602)
IIг	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₄ NO ₂ -3	512 (491-533)
IIд	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₄ NO ₂ -4	523 (463-536)
IIе	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₅ O	644 (679-619)
IIж	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₁₆ H ₁₃ N ₂ O ₂ S	701 (649-713)
IIз	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₆ H ₄ Cl-4	698 (669-725)
IIі	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₁₃ H ₉ N ₂	556 (532-568)
IIк	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₈ H ₉ O ₂	1011 (994-1117)
IIл	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₆ H ₄ F-3	893 (826-912)
IIм	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₄ NO ₂ -3	615 (593-654)
IIн	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₄ NO ₂ -4	627 (592-644)
IIо	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₁₆ H ₁₃ N ₂ O ₂ S	586 (571-599)
IIп	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₁₃ H ₉ N ₂	559 (512-602)

Таблиця 3

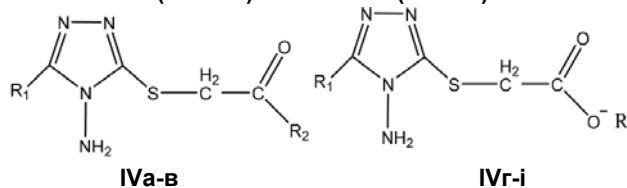
Гостра токсичність 3-меркапто-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазонію хлоридів (IIIa-IIIв) та 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R₂-азо)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIIг-IIIє)



№ сполук	R ₁	R ₂	LD ₅₀ , мг/кг
IIIa	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-	964 (948-980)
IIIб	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-	980 (963-1010)
IIIв	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-	1006 (987-1128)
IIIг	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	-C ₇ H ₅ O ₃	1256 (1239-1273)
IIIд	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	-C ₆ H ₅ O	1252 (1246-1264)
IIIє	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	-C ₆ H ₆ N	1169 (1128-1192)

Таблиця 4

Гостра токсичність 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот (IVa-IVв) та їх солей (IVг-IVі)



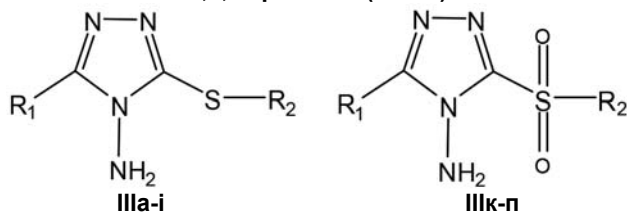
№ сполук	R ₁	R ₂	LD ₅₀ , мг/кг
IVa	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	H	1089 (1060-1126)
IVб	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	H	1112 (1109-1122)
IVв	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	H	1065 (1035-1103)
IVг	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	K ⁺	867 (830-893)
IVд	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	Na ⁺	978 (956-998)
IVе	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	1/2Fe ²⁺	886 (861-902)
IVж	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	H ₂ N ⁺ (CH ₃) ₂	823 (796-836)
IVз	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	Na	1118 (1102-1128)
IVі	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	H ₃ N ⁺ CH ₃	772 (756-812)

Щодо гострої токсичності 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-в, табл. 1) слід відзначити, що найменшу токсичність має 4-аміно-5-(2-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон (Ia), а найбільшу – 4-аміно-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіон (Iв).

Перехід від 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-в, табл. 1) до 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIa-IIIi, табл. 2) супроводжується зміною показника LD₅₀. Конденсація 4-аміно-5-(2-,3-,4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-в, табл. 1) з альдегідами ароматичного ряду призводить до появи менш токсичних сполук (IIa-IIIi, табл. 2). Чітких закономірностей при відновленні 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиліденаміно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIa-IIIi, табл. 2) до 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-бензиламіно-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIк-IIп) не встановили.

Таблиця 5

Гостра токсичність 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів (Va-Vi) та 3-алкілсульфо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів (Vк-Vп)



N сполук	R ₁	R ₂	LD ₅₀ , мг/кг
Va	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₃ H ₇	521 (510-543)
Vб	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₆ H ₁₃	670 (661-691)
Vв	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₇ H ₁₅	796 (783-813)
Vг	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₇ H ₁₅	783 (776-794)
Vд	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₉ H ₁₉	845 (835-864)
Vе	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₁₀ H ₂₁	987 (978-998)
Vж	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₃ H ₇	512 (505-526)
Vз	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₁₃	652 (639-673)
Vi	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₇ H ₁₅	690 (677-706)
Vк	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₃ H ₇	486 (467-505)
Vп	C ₆ H ₄ NO ₂ -2	C ₇ H ₁₅	532 (517-536)
Vм	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₇ H ₁₅	492 (478-509)
Vн	C ₆ H ₄ NO ₂ -3	C ₉ H ₁₉	654 (623-688)
Vo	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₆ H ₁₃	532 (519-573)
Vп	C ₆ H ₄ NO ₂ -4	C ₇ H ₁₅	512 (489-531)

Реакція утворення 3-меркапто-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазонію хлоридів (IIIa-IIIв, *табл. 5*) супроводжується підвищенням токсичності. Слід відзначити, що 3-меркапто-5-(4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазонію хлорид (IIIв, *табл. 5*) більш токсичний, ніж 3-меркапто-5-(3-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазонію хлорид (IIIб, *табл. 5*), обидві сполуки є більш токсичними, ніж 3-меркапто-5-(2-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-4-діазонію хлорид (IIIа, *табл. 5*); аналогічну закономірність виявили для тіонів (Ia-в, *табл. 1*). Надалі реакція утворення азобарвників 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-(R₂-діазеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (IIIг-IIIе, *табл. 5*) призводить до значного підвищення токсичності сполук.

При взаємодії 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-в, *табл. 1*) із кислотою хлорацетатною перехід до 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот (IVa-IVв, *табл. 4*) в усіх випадках супроводжується підвищенням гострої токсичності. Слід відзначити, що 2-(5-(3-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота (IVб, *табл. 4*) більш токсична, ніж 2-(5-(2-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота (IVа, *табл. 4*), обидві сполуки є більш токсичними, ніж 2-(5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатна кислота (IVв, *табл. 4*); це не збігається з даними щодо аналогічної закономірності для тіонів (Ia-в, *табл. 1*).

Гостра токсичність солей 2-(5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетатних кислот (IVг-і, *табл. 4*) знаходиться на рівні 750–1150 мг/кг. Солеутворення у більшості випадків супроводжується зниженням гострої токсичності солей щодо вихідних кислот. Винятком став натрію 2-(5-(4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат (IVж, *табл. 4*). Серед солей найменшу токсичність мають солі з органічними катіонами, а найбільш токсичними виявились натрієві солі кислот, що містять при п'ятому атомі Карбону 1,2,4-тріазолового циклу 4-нітрофенільний або 3-нітрофенільний радикали (IVд, з).

Алкілювання 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів (Ia-в, *табл. 1*) галоїдними алканами: перехід до 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (Va-i, *табл. 5*) супроводжується значним зниженням токсичності сполук. Збільшення числа вуглецевих атомів алкільного радикала у 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (Va-i, *табл. 5*) збільшує показник гострої токсичності сполук цього ряду. Пояснюється це тим, що синтезовані сполуки є поверхнево активними. Сполуки містять неполярний вуглеводневий ланцюг, а також гідрофільну групу, і зі збільшенням довжини вуглецевого ланцюга на одну метиленову групу відбувається підвищення поверхневої активності та токсичності, що підтверджує правило Траубе [7].

Окислення 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів (Va, в-д, з, і, *табл. 5*) до відповідних 3-алкілсульфо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів (Vк-Vп, *табл. 5*) знижує гостру токсичність. Сполуки, які мають у своєму складі 3-нітрофенільний замісник, проявляють вищу гостру токсичність, ніж ті, що мають 2-нітрофенільний і 4-нітрофенільний замісники у п'ятому положенні 1,2,4-тріазолового циклу.

Висновки

1. Дослідили гостру токсичність 48 сполук – 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів та їх тіопохідних. Встановили закономірності будови і токсичності цих речовин.

2. Конденсація 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів з альдегідами ароматичного ряду призводить до появи менш токсичних сполук, а реакція діазотування та наступне азосполучення призводить до підвищення токсичності.

3. Алкілювання тіонів галоїдними алканами супроводжується значним зниженням токсичності сполук. Однак у ряду 3-алкілтіо-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-4-аміно-1,2,4-тріазолів зі збільшенням числа вуглецевих атомів алкільного радикала показник гострої токсичності також збільшується. Таку ж закономірність визначили при окисленні відповідних 3-алкілтіо-4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазолів.

4. Алкілювання 4-аміно-5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів кислотою хлорацетатною призводить до підвищення токсичності, а перехід від кислот до їх солей суттєво знижує токсичність сполук.

Список літератури

1. Каплаушенко А.Г. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості S-похідних 5-(2-, 3-, 4-нітрофеніл)-1,2,4-тріазол-3-тіонів : дис. на здобуття наукового ступеня к.фарм.н. – К., 2006. – 201 с.
2. Панасенко О.І. Синтез, перетворення, фізико-хімічні та біологічні властивості похідних 1,2,4-тріазолу : дис. на здобуття наукового ступеня д.фарм.н. – К., 2005. – 396 с.
3. Sharma J. Bioactive Triazoles: A potential review / J. Sharma, Sh. Ahmadb, M. Sh. Alam // *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. – 2012. – Vol. 4(12). – P. 5157–5164.
4. Каплаушенко А.Г. Будова та гостра токсичність аміно- і тіо- похідних 1,2,4-тріазолу / А.Г. Каплаушенко // *Запоріжський медичний журнал*. – 2007. – № 1(40). – С. 104–107.
5. Прозоровский В.Б. О выборе метода построения кривой летальности и определение средней летальной дозы / В.Б. Прозоровский // *Журнал общей биологии*. – 1960. – Т. 21. – № 3. – С. 221–228.
6. 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.
7. Traube I. Ueber die Capillaritätsconstanten organischer Stoffe in wasserigen Lösungen / I. Traube // *Leibigs Ann. B.* – 1891. – Vol. 265. – Is. 1. – S. 27–55.
1. Kaplaushenko, A. G. (2006) *SynteZ, fizyko-khimichni ta biologichni vlastyvosti S-pokhidnykh 5-(2-, 3-, 4-nitrofenil)-1,2,4-triazol-3-tioniv*. (Dis...kand. farm. nauk). [Synthesis, physico-chemical and biological properties of derivatives of 5-S-(2, 3, 4-nitrophenyl) -1,2,4-triazoles-3-thiones]. Kyiv. [in Ukrainian].
2. Panasenko, O.I. (2005) *SynteZ, peretvorennia, fizyko-khimichni ta biologichni vlastyvosti pokhidnykh 1,2,4-triazolu*. (Dis...dokt. farm. nauk). [Synthesis, transformation, physical, chemical and biological properties of 1,2,4-triazoles. Dr. farm. sci. diss.]. Kyiv. [in Ukrainian].
3. Sharma J., Ahmadb, M. Sh., Alam, Sh. (2012) Bioactive Triazoles: A potential review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(12), 5157–5164.
4. Kaplaushenko, A. G. (2007) Budova ta gostra toksychnist amino- i tio-pokhidnykh 1,2,4-triazolu [Structure and acute toxicity of amino and thio derivatives of 1,2,4-triazoles]. *Zaporozhskij meditsynsky zhurnal*, 1 (40), 104–107. [in Ukrainian].
5. Prozorovskij, V. B. (1960) O vybore metoda postroeniia krivoi letal'nosti i opredelenie srednei letal'noi dozy [On the choice of the method of constructing the curve of mortality and determination of the median lethal dose]. *Zhurnal obschej biologii*, 21(3), 221–228. [in Russian].
6. Sidorov, K. K. (1973) O klassifikacii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniia [On the classification of the toxicity of poisons with parenteral routes of administration]. *Toksikologiya novykh promyshliennykh veshchestv*. Moscow, 13, 45–71. [in Russian].
7. Traube, I. (1891) Ueber die Capillaritätsconstanten organischer Stoffe in wasserigen Lösungen. *Leibigs Ann. B.*, 265(1), 27–55.

References

Відомості про авторів:

Щербак М.О., асистент каф. фізико-хімії, Запорізький державний медичний університет,

E-mail: malina_alekseevna@mail.ru.

Каплаушенко А.Г., д. фарм. н., доцент, зав. каф. фізико-хімії, Запорізький державний медичний університет.

Беленічев І.Ф., д. біол. н., професор, зав. каф. фармакології та медичної рецептури, Запорізький державний медичний університет.

Надійшла в редакцію 07.10.2014 р.