

УДК 615.31.014.425:547.792'292-38

Р. О. ЩЕРБИНА, О. І. ПАНАСЕНКО, Є. Г. КНИШ

Запорізький державний медичний університет

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ СОЛЕЙ 2-((4-R-3-(МОРФОЛІНОМЕТИЛЕН)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ІЛ)ТІО)АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ

Наведені результати дослідження антиоксидантної активності солей 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот. Встановлено, що калієва сіль 2-((3-(морфолінометилен)-4-аміно-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти (ПКР-173) за силою фармакологічної дії перевищує етапони порівняння аскорбінову кислоту та тіотриазолін. Відмічено перспективність подальшої хімічної модифікації солей 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот та встановлені деякі закономірності залежності «структура – дія».

Ключові слова: 1,2,4-триазол; антиоксидантна активність; вільні радикали

ВСТУП

Кисень є абсолютно необхідним для життя аеробних організмів, проте він може стати токсичним, якщо поставляється в більш високих концентраціях [7]. Так, встановлено, що вільнорадикальне окиснення і, зокрема, пероксидне окиснення ліпідів (ПОЛ) відіграє важливу роль у патогенезі інфаркту міокарда, атеросклерозу, злоякісного росту, бронхолегеневих та інших захворювань [7]. Крім того, активація реакцій вільнорадикального окиснення може спостерігатися при впливі на організм людини ряду зовнішніх чинників, наприклад, іонізуючої радіації, УФ-випромінювання, гіпербаричної оксигенації, озону, тютюнового диму, промислового пилу тощо [3]. Антиоксиданти – це сполуки, які мають здатність захищати клітини від пошкоджень, викликаних нестабільними молекулами, відомих як вільні радикали. Вони мають здатність до запобігання або уповільнення реакції окиснення і важливі завдяки їхньому потенціалу у зміцненні здоров'я і зниженні ризику розвитку захворювань [3, 7].

Антиоксидантні препарати мають досить широкий спектр застосування [7]. Так, вони здатні активізувати захисні сили організму людини. Зважаючи на виклики сучасності, досить актуальним є питання подолання хронічного стресу (втоми, недосипання, холоду, порушення режиму харчування, куріння тощо). Стрес, у свою чергу, стимулює утворення вільних радикалів, які руйнують клітини організму, зокрема, імунні та порушують хід захисних реакцій [1]. Відомо, що похідні 1,2,4-триазолу здатні проявляти високу антиоксидантну активність, проте солі

2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот до теперішнього часу практично не досліджені [5, 6].

Таким чином, пошук нових речовин з вираженими антиоксидантними властивостями є актуальним як для медицини, так і для фармації в цілому.

Метою даних досліджень було вивчення антиоксидантної активності (АОА) солей 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот при неферментативній ініціації вільнорадикального окиснення (ВРО) та встановлення закономірностей відносно хімічної будови та біологічної дії досліджуваних речовин.

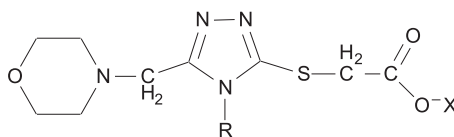
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При дослідженні використовувалися нові сполуки – солі 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот (таблиця). Дослідження АОА проводилося *in vitro* згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України з використанням методу неферментативного ініціювання перекисного окиснення ліпідів ПОЛ [3].

В якості модельної системи окиснення при дослідженні загальної АОА нових солей 2-((4-R-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот була застосована суспензія ліпопротеїнів жовтка яєць, ініціювання ПОЛ в якій здійснено за допомогою іонів двовалентного феруму [1]. Досліджувані речовини вводили в суспензію в концентрації 10^{-3} моль/л.

Інтенсивність перебігу процесів ПОЛ у модельній системі оцінювали за концентрацією активних продуктів, що реагують з 2-тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП). Вміст ТБК-АП визначали після їхнього екстрагування н-бутанолом та вимірювали оптичну

СТРУКТУРА ТА АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ СОЛЕЙ 2-((4-R-3-(МОРФОЛІНОМЕТИЛЕН)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ІЛ)ТІО)АЦЕТАТНИХ КИСЛОТ IN VITRO ПРИ НЕФЕРМЕНТАТИВНІЙ ІНІЦІАЦІЇ ВРО



Сполука	R	X	Оптична густина ($\lambda = 232$ нм), $M \pm m$ ($n = 7$)	АОА, %
ПКР-177	-NH ₂	NH ₄ ⁺	0,250 ± 0,014	66,54
ПКР-174	-NH ₂	Na ⁺	0,469 ± 0,015*	37,15
ПКР-173	-NH ₂	K ⁺	0,035 ± 0,001*	95,37
ПКР-176	-NH ₂	H ₂ N ⁺	0,540 ± 0,013*	27,63
ПКР-175	-NH ₂	H ₂ N	0,047 ± 0,002*	93,67
ПКР-139	-C ₆ H ₅	NH ₄ ⁺	0,459 ± 0,010*	38,53
ПКР-136	-C ₆ H ₅	Na ⁺	0,795 ± 0,005*	-6,58
ПКР-137	-C ₆ H ₅	H ₂ N ⁺ -CH ₂ -CH ₂ -OH	0,608 ± 0,012*	18,47
ПКР-134	-C ₆ H ₅	H ₂ N ⁺	0,477 ± 0,014*	36,06
ПКР-133	-C ₆ H ₅	H ₂ N	0,403 ± 0,018*	46,03
Контроль			0,746 ± 0,013	0
Аскорбінова кислота			0,483 ± 0,021*	35,26
Тіотриазолін			0,450 ± 0,031*	43,67

* – статистична значущість відмінностей результатів досліджень до контролю.

гуστину екстракту проти н-бутанолу ($\lambda = 532$ нм). Розрахунок АОА (%) проводили за формулою:

$$AOA = \frac{E_k - E_d}{E_k} \times 100\%,$$

де: E_k – оптична густина в контрольній пробі;

E_d – оптична густина в дослідній пробі.

Отримані дані оброблені статистично за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Office 2007 та «STATISTICA® for Windows 6.0». Достовірність міжгрупових відмінностей за даними експериментів встановлювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень – $p < 0,05$ [2, 4].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведеного експерименту визначення АОА нових похідних 1,2,4-триазолу, в умовах Fe²⁺ – індукованого ПОЛ встановлено, що з 10 досліджуваних сполук 9 у різному ступені інтенсивності були здатні пригнічувати генерацію вільних радикалів.

Варто відзначити, що натрієва сіль 2-((3-(морфолінометилен)-4-феніл-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти (ПКР-136) навпаки збільшувала

кількість утворення ТБК-АП на 6,58 % ($p < 0,05$) в порівнянні з контролем.

Аналізуючи дані експериментальних досліджень, ми виявили, що найактивнішими серед досліджуваних сполук були калієва сіль 2-((3-(морфолінометилен)-4-аміно-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти (ПКР-173), яка знижує рівень ТБК-АП на 95,37 % ($p < 0,0001$), та морфолінієва сіль 2-((3-(морфолінометилен)-4-аміно-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти (ПКР-175), що пригнічує утворення кінцевого продукту ПОЛ на 93,67 % ($p < 0,0001$) відповідно.

Проаналізувавши дані досліджень, ми встановили деякі закономірності відносно хімічної будови та інтенсивності прояву АОА вивчаємих сполук. Так, заміна в молекулах солей (ПКР-177, ПКР-174, ПКР-175) вільної аміногрупи за N₄ атомом ядра 1,2,4-триазолу на фенільний радикал (ПКР-139, ПКР-136, ПКР-133) практично вдвічі знижує значення АОА в порівнянні з контролем. Відмічено, що заміна катіону амонію (ПКР-177, ПКР-139) катіоном натрію (ПКР-174, ПКР-136) в молекулах солей значно підвищує рівень ТБК-АП. Подальший перехід до морфолінієвих солей (ПКР-175, ПКР-133) показує значне підвищення АОА з перевищенням еталону порівняння тіотриазоліну на 50,00 %

($p < 0,0001$) та 2,36 % ($p < 0,0001$) відповідно. Також цікавим є той факт, що заміна катіонів морфолінію (ПКР-175, ПКР-133) катіоном піперидинію (ПКР-176, ПКР-134) значно знижує прояв АОА, хоча остання сіль перевищує еталон порівняння аскорбінової кислоти на 0,8 % ($p < 0,0001$).

ВИСНОВКИ

1. Серед 10 досліджуваних сполук 9 у різному ступені вираженості були здатні пригнічувати генерацію вільних радикалів та проявляли АОА активність.
2. Найвиразнішою АОА володіла калієва сіль 2-((3-(морфолінометилен)-4-аміно-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатної кислоти (ПКР-173), що пригнічувала утворення кінцевих продуктів ПОЛ – ТБК-АП на 95,37 % ($p < 0,0001$).
3. Встановлено, що введення до молекули солей 2-((4-*R*-3-(морфолінометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-іл)тіо)ацетатних кислот вільної аміногрупи за N_4 атомом ядра 1,2,4-триазолу супроводжується посиленням АОА досліджуваних речовин.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Клебанов Г. И. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротенидов / [Г. И. Клебанов, М. В. Бабенкова, Ю. О. Теселкин и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – № 5. – С. 59-62.
2. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с внедрением Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – 2 изд., перераб. и доп. – К.: Морион, 2001. – 408 с.
3. Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільнорадикальних процесів у дослідах *in vitro*: [метод. рекомендації] / [Ю. І. Губський, В. В. Дунаєв, І. Ф. Беленічев та ін.]. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.
4. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002. – 312 с.
5. Aouali Monia. Synthesis, antimicrobial and antioxidant activities of imidazotriazoles and new multi-component reaction toward 5-amino-1-phenyl[1,2,4] triazole derivatives / [M. Aouali, D. Mhalla, F. Allouche et. al.] // Med. Chem. Res. – 2015. – Vol. 24, Issue 6. – P. 2732-2741.
6. Tumosiene I. The synthesis of S -substituted derivatives of 3-[2-[(4-methylphenyl)amino]ethyl]-4-phenyl-4,5-dihydro-1H-1,2,4-triazole-5-thiones and their antioxidative activity / I. Tumosiene, I. Jonuškiene, K. Kantminienė, Z. J. Beresnevičius // Chemical Monthly. – 2014. – Vol. 145, Issue 2. – P. 319-327.
7. Uppu R. M. Free Radicals and Antioxidant Protocols / R. M. Uppu, S. N. Murthy, W.A. Pryor, N. L. Parinandi. – New York, N.Y.: Humana Press, 2010. – 234 p.

УДК 615.31.014.425:547.792'292-38**Р. А. Щербина, А. И. Панасенко, Е. Г. Кныш****ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ СОЛЕЙ 2-((4-R-3-(МОРФОЛИНОМЕТИЛЕН)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-5-ИЛ)ТИО)АЦЕТАТНЫХ КИСЛОТ**

В работе приведены результаты исследования антиоксидантной активности солей 2-((4-R-3-(морфолинометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-ил)тио)уксусных кислот. Установлено, что калиевая соль 2-((3-(морфолинометилен)-4-амино-4Н-1,2,4-триазол-5-ил)тио)уксусной кислоты (ПКР-173) по силе фармакологического действия превышает эталоны сравнения аскорбиновую кислоту и тиотриазолин. Отмечено перспективность дальнейшей химической модификации солей 2-((4-R-3-(морфолинометилен)-4Н-1,2,4-триазол-5-ил)тио)уксусных кислот и установлены некоторые закономерности зависимости «структура – действие».

Ключевые слова: 1,2,4-триазол; антиоксидантная активность; свободные радикалы

UDC 615.31.014.425:547.792'292-38**R. O. Shcherbyna, O. I. Panasenko, Ye. H. Knysh****THE STUDYING OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SALTS 2-((4-R-3-(MORPHOLINOMETHYLEN)-4Н-1,2,4-TRIAZOLE-5-YL)THIO)ACETIC ACIDS**

This paper presents the results of research antioxidant activity for the salts of 2-((4-R-3-(morpholinomethylene)-4Н-1,2,4-triazol-5-yl)thio)acetic. As a result of research the potassium 2-((4-amino-3-(morpholinomethyl)-4Н-1,2,4-triazol-5-yl)thio)acetate (PKR-173) which in pharmacological action exceeds the reference standards ascorbic acid and thiotriazolin. The perspective of further chemical modification of the salts of 2-((4-R-3-(morpholinomethylene)-4Н-1,2,4-triazol-5-yl)thio)acetic and some patterns between "structure" and "action" were described.

Key words: 1,2,4-triazoles; antioxidant activity; free radicals

Адреса для листування:
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 24.12.2015 р.