



## Дослідження гепатопротекторної активності при експериментальному гепатиті під впливом похідних 1,2,4-тріазолу

Запорізький державний медичний університет

**Ключові слова:** фармакологічна дія, скринінг, експерименти на тваринах, токсичний гепатит, похідні 1,2,4-тріазолу.

Пошук нових високоєфективних лікарських засобів є актуальним завданням сучасної науки. Мета роботи полягала у фармакологічному скринінгу серед похідних 1,2,4-тріазолу. Досліди виконали на статевозрілих білих щурах лінії Вістар. Сполуки вводили в дозі 1/10 від LD<sub>50</sub>, котру визначали попередньо перед виконанням дослідів. Наведені дані щодо визначення гепатопротекторної дії нових синтезованих сполук при модельованому гострому ураженні печінки. Здійснили порівняння з показниками референтного препарату тіотриазоліну в експерименті. Скринінг показав перспективність цього класу сполук.

### Исследование гепатопротекторной активности при экспериментальном гепатите под влиянием производных 1,2,4-триазола

И. М. Белай, Е. О. Михайлюк, В. В. Парченко, А. Г. Каплаушенко, А. И. Панасенко, Е. Г. Книш

Поиск новых высокоэффективных лекарственных средств является актуальной задачей современной науки. Целью исследования был фармакологический скрининг среди производных 1,2,4-триазола. опыты выполнены на половозрелых белых крысах линии Вистар. Соединения вводили в дозе 1/10 от LD<sub>50</sub>, которую определяли предварительно перед проведением опытов. Представлены данные по определению гепатопротекторного действия новых синтезированных соединений при моделированном остром поражении печени. Проведены сравнения с показателями действия референтного препарата тиотриазолина в эксперименте. Скрининг показал перспективность данного класса соединений.

**Ключевые слова:** фармакологическое действие, скрининг, эксперименты на животных, токсический гепатит, производные 1,2,4-триазола.

**Актуальные вопросы фармацевтической и медицинской науки и практики.** – 2014. – № 2 (15). – С. 57–59

### The research of hepatoprotective activity in experimental hepatitis influenced by 1,2,4-triazole derivatives

I. M. Bilay, E. O. Mihayluk, V. V. Parchenko, A. G. Kaplaushenko, A. I. Panasenko, E. G. Knysh

Aim. The search of new high-effective drugs is an actual problem of modern science. The purpose of our research was the pharmacological screening of 1,2,4-triazoles derivatives. Experiments have been performed on adult Wistar white rats.

Methods and results. Compounds have been entered in a 1/10 dose of LD<sub>50</sub>, which have been determined before performing experiments. The article presents hepatoprotective activity of new synthesized compounds in simulated acute liver injury. We present a comparison with reference drugs in the experiment.

Conclusion. Screening has shown that these class of compounds is promising for further research.

**Key words:** Pharmacological Actions, Drug Screening, Animal Experimental, Toxic Hepatitis, 1,2,4-triazole.

**Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2014; № 2 (15): 57–59**

Захворювання печінки посідають одне з провідних місць серед усіх випадків летальності населення. До найтяжчих із них належать гепатити різної етіології та алкогольне ураження печінки, внаслідок яких часто розвивається цироз [2]. Проблема лікування гепатитів полягає в пошуках ефективних препаратів, що впливають на патогенетичні механізми розвитку патологічного процесу і спрямовані на відновлення функції печінки та, зокрема, збереження цілісності мембран гепатоцитів [3,6].

Велику зацікавленість у цьому аспекті викликають гетероциклічні системи, зокрема похідні 1,2,4-тріазолу. Сьогодні в медичній практиці вже застосовується препарат, похідний 1,2,4-тріазолу з гепатопротекторною активністю (тіотриазолін).

#### Мета роботи

Скринінг гепатопротекторних властивостей серед похідних 1,2,4-тріазолу.

#### Матеріали і методи дослідження

Як об'єкт досліджень обрали 9 нових органічних сполук у ряду заміщених 1,2,4-тріазолу (табл. 1).

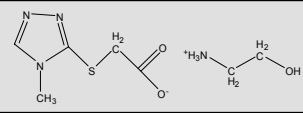
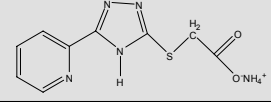
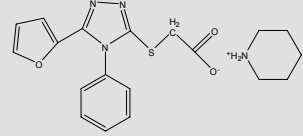
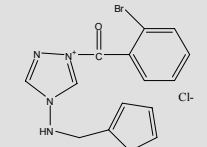
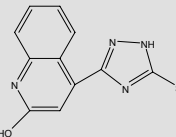
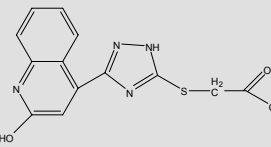
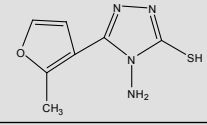
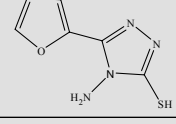
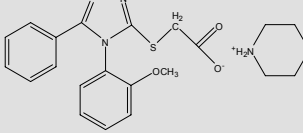
Речовини синтезували в лабораторії органічного синтезу кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медичного університету. Синтез заміщених 1,2,4-тріазолу виконали під керівництвом д. фарм. н., проф. О.І. Панасенка та д. фарм. н., проф. Є.Г. Книша.

Досліди здійснили на 91 статевозрілих білих щурах лінії Вістар обох статей масою 160–350 г. Щурів отримали з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Тварин утримували на стандартному раціоні харчування, при природному світловому режимі «день-ніч».

Дослідження здійснили з урахуванням «Правил до клінічної оцінки безпеки фармакологічних засобів (GLP)». Забій тварин виконували відповідно до «Методичних рекомендацій із виведення тварин з експерименту».

Таблиця 1

**Структурні формули досліджуваних похідних 1,2,4-тріазолу**

Сполука	Формула	LD <sub>50</sub> ± S, мг/кг
2.1		1950±180
2.2		770±122
2.3		1210±260
2.4		1920±41
2.5		1131±136
2.6		1420±170
2.7		1570±270
2.8		1460±45
2.9		962±207

Сполуки вводили в дозі 1/10 від LD<sub>50</sub>, яку визначали попередньо перед виконанням дослідів. Вивчення загальної дії та гострої токсичності виконували за експрес-методом В.Б. Прозоровського (2007) на білих щурах лінії Вістар. Сполуки вводили лабораторним тваринам дотримуючись правил асептики й антисептики у вигляді тонкодисперсної водної суспензії, яку стабілізували твіном-80 із розрахунку 0,2 мл твіну-80 на 50 мг речовини. Спостереження здійснювали через 24 години [4].

Препарат порівняння тіотріазолін вводили внутрішньошлунково в дозі 50 мг/кг за 1 годину до та через 2 години після введення тетрахлорметану.

Експериментальною моделлю гепатиту була загальноприйнята модель, котра описана в методичних розробках за ред. академіка АМН України О.В. Стефанова. Для відтворення гострого токсичного ураження печінки використовували 50% олійний розчин тетрахлорметану у дозі 1 мл/100 г маси тіла щура внутрішньошлунково. З раціону виключили продукти, які містили жири. При цьому речовини вводили за 1 годину до та через 2 години після введення тетрахлорметану. Біохімічні та функціональні показники печінки вивчали через 24 години після останнього введення тетрахлорметану. Як біоматеріал для комплексних досліджень у рамках досягнення порушених у роботі питань використовували сироватку крові [1].

Ефективність сполук, які досліджували, в умовах модельної форми гострого гепатиту визначали за показниками АлАТ, АсАТ та ЛФ [5].

Статистично результати опрацьовували за допомогою програми Statistica 7.0. Вірогідність відмінностей групових середніх оцінювали на основі однофакторного дисперсійного аналізу. Відмінності між групами вважали статистично значущими при P < 0,05.

**Результати та їх обговорення**

Протягом дослідження вивчали гостру токсичність 9 сполук, похідних 1,2,4-тріазолу. У результаті (табл. 1) встановили, що всі обрані сполуки за величиною LD<sub>50</sub> (770–1950 мг/кг) є малотоксичними та належать до IV класу токсичності за класифікацією К.К. Сидорова. Найменш токсичною була сполука 2.1 (LD<sub>50</sub> – 1950±180), найбільш – 2.2 (770±122 мг/кг).

Метилування фуранового ядра по 5-му положенню призводить до підвищення токсичності речовини (сполука 2.7). Однак блокування атома азоту по 4-му положенню призводить до зменшення гострої токсичності.

Виявили, що досліджувані сполуки, похідні 1,2,4-тріазолу, неоднозначно проявляли гепатопротекторну дію. Так, введення 50% олійного розчину тетрахлорметану в дозі 1 мл/100 г маси тіла щура внутрішньошлунково призводить до гострого ураження печінки. Це проявляється у підвищенні активності АсАТ та АлАТ, що свідчить про гостроту патологічного процесу та пошкодження гепатоцитів. Також в експерименті відзначили суттєве підвищення активності лужної фосфатази у контрольній групі, що свідчить про наявність холестазу, пошкодження гепатоцитів та атрофічні зміни в печінці.

За результатами дослідження, всі сполуки знижували

активність АсАТ (табл. 2). Найкраще рівень АсАТ та АлАТ знижує сполука 2.3 (на 49,56% та 47,61% відповідно). Також треба відзначити сполуки 2.2 і 2.5, що знижують рівень АсАТ на 47,21% та 44,02% відповідно.

Рівень АлАТ найкраще знижувала сполука 2.8 (на 76,71%), вірогідно перевищуючи зниження активності АлАТ тіотріазоліном. Також відзначимо сполуки 2.3 і 2.4, які знижували активність АлАТ на 47,61% і 44,88% відповідно, та сполуки 2.6. і 2.7, які знижували активність АлАТ на 45,07% та 44,14% відповідно. Важливим є факт, що сполука 2.9 підвищувала активність АсАТ на 22,34%, а це свідчить про пошкоджувальну дію гепатоцитів.

Таблиця 2

## Вплив похідних 1,2,4-тріазолу на активність маркерних ферментів печінки у щурів при токсичному гепатиті (n=9)

Сполука	АсАТ, ммоль/год•л	Δ, %	АлАТ, ммоль/год•л	Δ, %	ЛФ, ммоль/год•л	Δ, %
Інтактні тварини	1,53±0,07*		1,14±0,13*		8,87±0,78*	
Контрольна патологія	10,45±0,55		11,43±0,44		15,61±1,33	
2.1	8,91±0,21**	-14,81	12,79±0,17**	11,94	15,11±1,18	-3,20
2.2	5,52±0,76*	-47,21	10,89±0,28	-4,73	14,54±0,73	-6,84
2.3	5,27±0,72*	-49,56	5,99±0,66**	-47,61	17,63±3,00	12,92
2.4	7,815±0,82**	-24,73	6,30±0,27**	-44,88	7,86±1,30**	-49,65
2.5	5,85±0,71*	-44,02	12,25±0,33	7,18	15,06±0,69	-3,54
2.6	7,88±0,51**	-24,65	6,28±0,23*	-45,07	15,37±0,56	-1,55
2.7	7,61±0,24**	-27,20	6,38±0,62*	-44,14	19,73±1,04**	26,35
2.8	6,96±0,37**	-33,38	2,66±0,34**	-76,71	11,75±0,76	-24,73
2.9	8,35±0,32**	-20,16	13,98±0,46**	22,34	14,17±1,12	-9,22
Тіотріазолін	5,38±0,12*	-48,58	4,24±0,11*	-62,86	11,81±0,84*	-24,37

Примітка: \* –  $p \leq 0,05$  щодо контрольної патології; \*\* –  $p \leq 0,05$  щодо тіотріазоліну.

Слід виділити сполуку 2.4, котра найкраще вірогідно щодо тіотріазоліну знижувала активність ЛФ, – на 49,65%. Сполука 2.8 також помірно знижувала активність ЛФ (на 24,73%), а сполуки 2.1, 2.5, 2.6 і 2.9 несуттєво знижували показники ЛФ. Серед сполук, які вивчали, були й такі, що помірно підвищували рівень ЛФ у сироватці крові. Це сполуки 2.3 та 2.7 – на 12,92% та 26,35% відповідно.

Протягом аналізу структура-дія досліджуваних речовин встановили, що приєднання до тріазольного ядра бромбензоїльного радикала по 4-му положенню призводить до різкішого зниження активності маркерних ферментів печінки. Також приєднання по 5-му положенню фуранового ядра призводить до підвищення гепатопротекторної дії передусім зменшення активності АсАТ та АлАТ. Приєднання фенільного радикала у сполуки 2.9

призводить до появи гепатотоксичної дії.

### Висновки

Наведені дані скринінгових досліджень гепатопротекторної активності похідних 1,2,4-тріазолу при експериментальному гепатиті. Встановили, що сполука 2.4 (1-(2-бромбензоіл)-4-(фуран-2-іл-метиламіно)-4Н-1,2,4-тріазол-1 хлорид) найкраще знижувала активність ЛФ (на 49,65%) та значно знижувала активність АсАТ (на 24,73%) та АлАТ (на 44,88%). Суттєво знижувала активність АсАТ сполука 2.3 (піперидин 2-(5-(фуран-2-іл)-4-феніл-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат) – на 49,56%. Найкраще знижувала активність АлАТ сполука 2.8 (4-аміно-5-(фуран-2-іл)-1,2,4-тріазол-3-тіол) – на 76,71%. Слід відзначити, що у сполуки 2.9 (піперидин 2-(4-(2-метоксіфеніл)-5-феніл-4Н-1,2,4-тріазол-3-ілтіо)ацетат) виявили гепатотоксичну дію.

### Список літератури

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / [за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова]. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Морозов С.Ю. Гепатопротектори в практиці врача-клініциста / С.Ю. Морозов // Русский медицинский журнал. – 2009. – Т. 11. – № 1. – С. 25.
3. Полунина Т.Е. Гепатология для практического врача / Т.Е. Полунина, И.В. Маев, Е.В. Полунина; [под ред. И.В. Маева]. – М.: Авторская Академия, 2009. – 350 с.
4. Прозоровский В.Б. Статистическая обработка результатов фармакологических исследований / В.Б. Прозоровский // Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – Т. 7. – № 3–4. – С. 2090–2120.
5. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины / С.М. Ткач // Здоровье Украины. – 2009. – № 6. – С. 7–10.
6. Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with non-alcoholic fatty liver disease / [K.L. Donnelly, C.I. Smith, S.J. Schwarzenberg et al.] // J Clin Invest. – 2005. – 115(5). – 1343–51.

### References

1. Stefanov, O. V. (Ed.) (2001) *Doklinichni doslidzhenia likarskikh zakhodiv [Preclinic investigation medicines]*. Kyiv: Avicena. [in Ukrainian].
2. Morozov, S. Yu. (2009) *Gepatoprotektory v praktike vrachaklinicista [Hepatoprotectors in practice work of clinic doctor]*. *Russkij medicinskij zhurnal*, 11(1), 25. [in Russian].
3. Polunina, T. E., Maev, I. V., & Polunina, E. V. (2009) *Hepatologiya dlya prakticheskogo vracha [Hepatology for practice doctor]*. Moscow: Avtorskaya academiya. [in Russian].
4. Prozorovskii, V. B. (2007) *Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov farmakologicheskikh issledovanij [Statistic processing of data of pharmacological investigations]*. *Psikhofarmakologiya i biologicheskaya narkologiya*, 7(3-4), 2090–2120. [in Russian].
5. Tkach, S. M. (2009) [Effectiveness and safety hepatoprotectors terms of evidence-based medicine]. *Zdorov'e Ukrainy*, 6, 7–10. [in Ukrainian].
6. Donnelly, K. L., Smith, C. I., Schwarzenberg, S. J., et al. (2005) Sources of fatty acids stored in liver and secreted via lipoproteins in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *J Clin Invest*, 115(5), 1343–1351.

### Відомості про авторів:

Білай І.М., д. мед. н., професор, зав. каф. клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет, E-mail: belay\_im@mail.ru.  
 Михайлюк Є.О., асистент каф. клінічної фармації, фармакотерапії й УЕФ ФПО, Запорізький державний медичний університет.  
 Парченко В.В., д. фарм. н., доцент каф. токсикологічної та неорганічної хімії, Запорізький державний медичний університет.  
 Каплаушенко А.Г., д. фарм. н., доцент, зав. каф. фізичної та колоїдної хімії, 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 й економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства, Запорізький державний медичний університет.

Надійшла в редакцію 29.05.2014 р.