

*А.О. Паламар<sup>1</sup>, І.М. Яремій<sup>1</sup>, В.О. Черноус<sup>1</sup>, А.М. Грозав<sup>1</sup>,  
М.В. Воек<sup>2</sup>*

## ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ [(1-ФЕНІЛ-5-ФОРМІЛ-1Н-ІМІДАЗОЛ-4-ІЛ)ТІО]ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА СТАН ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ТЕТРАХЛОРМЕТАНОМ

<sup>1</sup>Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці,

<sup>2</sup>Інститут органічної хімії Національної академії наук України, м. Київ

**Вступ.** У складі комплексної фармакотерапії захворювань печінки широко застосовують препарати з антиоксидантними властивостями, які покращують перебіг хвороби, проте мають ряд недоліків. Тому перспективним є пошук нових високоефективних та безпечних препаратів з антиоксидантною активністю. Нами раніше були синтезовані [(1-арил-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтові кислоти, які за результатами досліджень антиоксидантної активності в системі *in vitro* в діапазоні концентрацій 10<sup>-1</sup>-10<sup>-3</sup> моль/л ефективно пригнічували аскорбат-індуковане вільнорадикальне окиснення ліпідів. При цьому найбільшу активність виявила [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтова кислота, яку ми обрали для поглиблених досліджень антиоксидантних властивостей.

**Мета.** Вивчення впливу [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтОВОЇ кислоти на стан оксидантно-антиоксидантної рівноваги у системі *in vivo* за умов тетрахлорметанового гепатиту.

**Результати.** Проведені дослідження показали здатність [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтОВОЇ кислоти відновлювати порушену за умов токсичного тетрахлорметанового гепатиту оксидантно-антиоксидантну рівновагу в організмі щурів. При дії досліджуваної сполуки у крові гепатитних тварин знизився вміст продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів і нормалізувалися показники загальної антиоксидантної активності плазми крові, вміст окисно-модифікованих білків і церулоплазміну, вільних HS-груп і глутатіону відновленого, а також активності основних антиоксидантних ферментів крові – супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази.

**Ключові слова:** [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтова кислота, тіотриазолін, оксидантно-антиоксидантна система, антиоксидантна активність, тетрахлорметановий гепатит у щурів.

**Вступ.** Накопичення в організмі надлишку активних форм кисню (АФК) і посилення ініційованих ними процесів вільнорадикального окиснення ліпідів (ВРОЛ) та окиснювальна модифікація білків (ОМБ), пригнічення функціонування антиоксидантних систем (АОС) є одними з основних патогенетичних механізмів розвитку різноманітних захворювань організму, зокрема, гепатитів різної етіології [3, 4, 7]. Корекція таких порушень потребує застосування антиоксидантних лікарських засобів [1, 8, 9]. Як антиоксиданти та гепатопротектори в медицині використовуються різноманітні синтетичні препарати, зокрема вітчизняний препарат тіотриазолін [(5-метил-4Н-1,2,4-триазол-4-іл)тіо]ацетат морфолінію). Експериментальні дослідження останніх

років підтвердили ефективність його застосування при різноманітних ураженнях печінки (алкогольному, доксорубіциновому, тетрацикліновому та ізоніазид-рифампіциновому), саме завдяки антиоксидантному впливу та запобіганню проявам цитолізу [5, 6]. Проте, передозування тіотриазоліну в деяких випадках може призводити до загальної слабкості, запаморочення, тахікардії, задишки і навіть задухи. Враховуючи достатньо високі рекомендовані дози тіотриазоліну доцільним є пошук нових антиоксидантів, зокрема серед похідних імідазолу, які б виявляли кращу ефективність при тій же концентрації, що дозволить зменшити величину терапевтичної дози та попередити ризик передозування. Раніше нами було синтезовано ряд оригінальних похідних імідазолу та проведено первинний скринінг їх антиоксидантної активності у системі *in vitro* [13]. На основі отриманих результатів, для дослідження *in vivo* нами було обрано найактивнішу сполуку - [(1-феніл-5-форміл-1H-імідазол-4-іл)тіо]оцтова кислота.

**Мета.** Вивчення впливу [(1-феніл-5-форміл-1H-імідазол-4-іл)тіо]оцтової кислоти на стан оксидантно-антиоксидантної системи крові щурів за умов тетрахлорметанового гепатиту.

**Матеріали та методи.** Дослідження було проведено на 23 білих нелінійних щурах-самцях, масою 160-180 г, яких утримували в стандартних умовах і на раціоні віварію. Вивчення антиоксидантної активності сполук в системі *in vivo* проводили на загальновідомій моделі оксидативного стресу – тетрахлорметановому гепатиті в щурів [12]. Характер морфологічних і біохімічних змін у організмі щурів при інтоксикації тетрахлорметаном найбільше відповідає змінам, які відбуваються в організмі людини при гепатиті. Токсичний тетрахлорметановий гепатит у щурів викликали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення тваринам  $CCl_4$  із розрахунку 0,25 мл/100 г маси щура у вигляді 50%-ного олійного розчину на оливковій олії [10]. Результати антиоксидантної активності досліджуваної сполуки в системі *in vivo* порівнювали з показниками інтактних щурів та з показниками щурів, які на фоні тетрахлорметанового гепатиту отримували тіотриазолін (виробник корпорація «Артеріум», Україна, розчин для ін'єкцій, 25 мг/мл), який має структурну схожість із синтезованою речовиною (містить нітрогенвмісну гетероциклічну систему – фрагмент триазолу та залишок тіооцтової кислоти), проявляє виражену антиоксидантну активність (АОА) та використовується у медичній практиці як антиоксидант. Дослідних тварин було розділено на чотири групи: I – контрольна (інтактні щури); II – тварини, інтоксиковані  $CCl_4$ ; III – щури, яким на фоні інтоксикації  $CCl_4$  упродовж 7 днів внутрішньоочередово вводили досліджувану речовину (ДР) із розрахунку 100мг/кг; IV – щури, яким на фоні інтоксикації  $CCl_4$  упродовж 7 днів вводили тіотриазолін (ТТА) в дозі 100мг/кг. Тварин забували декапітацією під легким ефірним наркозом. Кров відбирали в присутності гепарину. У цільній крові щурів визначали вміст проміжних ендогенних продуктів ВРОЛ – сполук з ізольованими подвійними зв'язками (ІПЗ), дієнових кон'югатів (ДК), кетодієнів і спряжених трієнів (КД і СТ) [10]; у плазмі крові – вміст окисно-модифікованих білків (ОМБ) [2, 10], церулоплазміну (ЦП) [10], вільних HS-груп і загальну антиоксидантну активність (АОА) [2]; в еритроцитах – вміст малонового альдегіду (МА), плутатону відновленого (Г-SH) [10]. та активності основних ферментів антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази (СОД) [2], каталази (КАТ)

та глутатіонпероксидази (ГП) за загальноприйнятими методиками описаними в роботі [10]. Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням параметричного t-критерію Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Токсичний тетрахлорметановий гепатит у щурів призвів до суттєвих порушень оксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі щурів, що супроводжувалося суттєвими змінами показників крові (табл.1). Так, у проведеному нами експерименті, в крові тварин із ССІ4-індукованим гепатитом зріс вміст проміжних продуктів ВРОЛ – ІПЗ, ДК, КД і СТ – відповідно на 32, 51 і 37 % порівняно з інтактними щурами. Вміст одного з основних кінцевих продуктів ВРОЛ – МА в еритроцитах крові та вміст ОМБ в плазмі крові були відповідно на 44 і 35% вищими, порівняно з показниками інтактних щурів. Така активація процесів ВРОЛ і ОМБ зумовлена, ймовірно, дією активних радикалів ССІ3•, які утворюються в процесі метаболізму тетрахлометану [7, 10, 12, 15]. Посилення процесів ВРОЛ і ОМБ у організмі гепатитних щурів супроводжувалося порушенням функціонування систем антиоксидантного захисту, на що вказує зниження, порівняно з показниками інтактних тварин, загальної АОА плазми крові та вмісту в ній вільних HS-груп (на 32 і 30,3%), зниження в еритроцитах крові вмісту Г-SH (на 24%) й активностей ферментів антиоксидантного захисту – СОД, каталази і ГП (на 30, 19 і 23% відповідно при порівнянні з показниками інтактного контролю). На посилення процесів вільнорадикального окиснення ліпідів і біополімерів, зокрема білків, та порушення функціонування систем антиоксидантного захисту, зокрема глутатіонової, вказують ряд дослідників [2, 4, 7, 10, 14]. Слід зазначити, що за умов інтоксикації щурів тетрахлорметаном у плазмі крові тварин відзначається зростання вмісту ЦП (у 2,14 рази порівняно з інтактними щурами), незважаючи на те, що синтезується цей білок у печінці. При незшкодженні супероксидного аніон-радикалу за участю ЦП у плазмі крові не утворюється пероксид водню, що є надзвичайно важливим, оскільки вміст каталази та пероксидази у плазмі крові значно нижчий, ніж у еритроцитах [10].

Отримані результати щодо змін оксидантно-антиоксидантного статусу щурів при гепатиті узгоджуються з літературними даними [10], які зокрема засвідчують, що між активністю СОД і ЦП існує взаємозв'язок – чим більше знижується активність СОД, тим більше, зростає ЦП. ГП, на відміну від каталази, руйнує не лише пероксид водню, але й гідропероксиди вищих жирних і нуклеїнових кислот. Для функціонування ГП необхідний Г-SH. Зниження вмісту останнього в еритроцитах крові, очевидно і призводить до зниження активності ГП, а утворений надлишок пероксиду водню, ймовірно, зумовлює посилення процесів ОМБ, зокрема такого фермента-антиоксиданта, як СОД, в активному центрі якого, ймовірно, відбувається окислювальна модифікація залишка гістидину. Ще однією з імовірних причин зниження активності СОД у печінці є підвищене включення йонів купруму в ЦП, який екскретується в кров і діє як швидкий «циркуляторний антиоксидант». Імовірними причинами зниження вмісту Г-SH у печінці є пригнічення його синтезу та посилене використання для знешкодження надлишку АФК. Не виключене також порушення регенерації глутатіону з окисненої форми [14]. Введення ССІ4-інтоксикованим щурам впродовж тижня ДР позитивно вплинуло на оксидантно-антиоксидантний статус організму

## ФАРМХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

щурів. За деякими показниками (ОМБ, Г-SH) ДР продемонструвала кращі результати, ніж ТТА. У плазмі крові щурів, які на фоні тетрахлорметанового гепатиту отримували ДР не відрізнялися від показників інтактних тварин загальна АОА, вміст ОМБ, вільних HS-груп і ЦП, а у еритроцитах крові – вміст КД і СТ, Г-SH й активності КАТ і ГП. Уміст сполук із ІЗ, ДК, МА, а також активності СОД у крові щурів даної групи хоча й відрізнялися вірогідно від показників інтактного контролю, проте були вірогідно нижчими, ніж показники гепатитних щурів, які не отримували засобів корекції.

Таблиця

**Вплив [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтової кислоти на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в крові щурів за умов токсичного гепатиту ( $M \pm m$ ;  $n = 5-7$ )**

Показники/ групи щурів	Контроль (інтактні щури)	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> + ДР	CCl <sub>4</sub> +ТТА
ІПЗ (E <sub>220</sub> /мл)	4,03±0,11	5,93±0,21*	4,51±0,17*	4,73±0,15*
ДК(E <sub>232</sub> /мл)	1,95±0,09	3,97±0,15*	2,53±0,18*	2,35±0,19*
КД і СТ(E <sub>278</sub> /мл)	0,91±0,05	1,44±0,05*	0,84±0,07	0,88±0,06
МА, мкмоль/л	13,06±1,21	18,85±1,7*	16,35±1,51*	16,30±1,62*
ОМБ, о.о.г/мл	1,42±0,11	1,92±0,17*	1,47±0,14	1,67±0,12*
АОА, %	80,3±7,4	54,4±5,2*	78,3±6,5	77,1±7,1
ЦП, мг/л	143,55±21,55	306,6±34,8*	148,12±15,91	149,21±13,84
Вільні HS-групи, мкмоль/мл	0,85±0,05	0,62±0,04*	0,83±0,07	0,89±0,07
Г-SH, мкмоль/мл	1,05±0,08	0,80±0,05*	1,15±0,09	1,23±0,08*
СОД, Од/мл	32,27±2,74	22,59±3,57	29,61±1,87	29,75±2,35
КАТ, мкмоль/хв•л	26,3±2,1	21,3±1,9*	25,8±2,4	24,7±1,8
ГП, мкмоль ГSSG/хв•г Нб	234±12,28	180,4±12,69*	221,4±8,39	240±17,17

Примітка: \* - зміни достовірні порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

**Висновки.** За умов тетрахлорметанового гепатиту в крові щурів відзначається зростання вмісту продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів, окисно-модифікованих білків, церулоплазміну; зниження загальної антиоксидантної активності плазми крові та вмісту в ній вільних HS-груп; зниження в крові вмісту відновленого глутатіону й активностей основних ферментів антиоксидантного захисту – СОД, каталази та глутатіонпероксидази. Щоденне впродовж 7 днів уведення тетрахлорметан-інтоксикованим щурам [(1-феніл-5-форміл-1Н-імідазол-4-іл)тіо]оцтової кислоти в дозі 100 мг/кг сприяє стабілізації порушеного за умов гепатиту оксидантно-антиоксидантного гомеостазу організму щурів: пригніченню процесів вільнорадикального

окиснення ліпідів і окиснювальної модифікації білків, зростанню загальної антиоксидантної активності плазми крові, вмісту глутатіону відновленого, активностей СОД, каталази і глутатіонпероксидази.

### Література

1. Антиоксидантна система захисту організму (огляд) / І.Ф.Беленічев, Е.Л. Левицький, Ю.І. Губський [та ін.] // Современные проблемы токсикологии. – 2002. – № 3. – С. 18-32.
2. Давидова Н.В. Біохімічні механізми антиоксидантної дії екстракту родіоли рідкого: дис. канд. мед. наук: 03.00.04 – «Біохімія» / Давидова Н.В. – К., 2005. – 182 с.
3. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5-18.
4. Кліщ І.М. Вираженість окислювальної модифікації білків та стан антиоксидантної системи у щурів різного віку з токсичним ураженням тетрахлоретаном / І.М. Кліщ, А.В. Бойчук, М.М. Корда // Вісник наукових досліджень. – 2002. – №1. – С.39-41.
5. Механізм протиішемічної та антиоксидантної дії Тіотриазоліну / І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, М. А. Волошин [та ін.] // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 2. Режим доступу: <http://novosti.mif4.ua.com/archive/issue43396/article43421/>.
6. Савустьяненко А. В. Визитная карточка украинской фармакологии: тиотриазолин (физиологические и клинические аспекты применения) / А.В. Савустьяненко. // Новости медицины и фармации. – 2008. – № 15. – С. 19-21.
7. Сервецький К.Л. Оцінка інтенсивності процесів перекисного окислення ліпідів і активності ферментів глутатіонової редокс-системи при токсичному гепатиті у щурів / К.Л.Сервецький, Т.В. Чабан, С.М. Солтик // Український медичний альманах. – 2009. – Т.12, № 3. – С. 146-149.
8. Скрипник І.М. Гепатопротекторні засоби в сучасній гематології / І.М. Скрипник // Consilium MedicumUkraina. – 2007. – № 1 (5). – С. 11-15.
9. Стародуб Є. М. Використання антиоксидантів у лікуванні хронічних захворювань печінки / Є.М. Стародуб, О.Є. Самогальська. // Новости медицины и фармации. – 2007. – №2. – С. 226-230.
10. Тефтьюева Н.Б. Вплив настоянки перстачу прямостоячого на функціональний стан печінки за умов норми та експериментального гепатиту: дис. канд. мед. наук: 14.01.32 «Медична біохімія» – К., 2004. - 179с.
11. Тиотриазолин / І.А. Мазур, Н.А. Волошин, І.С. Чекман [и др.] – Львов: Наутилус, 2005. – 156с.
12. Характеристика острого токсического действия черыреххлористого углерода как модели окислительного стресса / Л.В. Кравченко, Н.В. Трусов, Н.А. Уснова [и др.] // Токсикологический весник. – 2009. – №1. – С. 12-17.
13. Черноус В.А. Синтез и антиоксидантная активность [(1-арил-5-формилимидазол-4-ил)тио]уксусных кислот / В.А. Черноус, А.А. Паламар, И.Н. Яремий, М.В. Вовк // Хим.-фарм. журнал. – 2013 - Т 47, № 2. – С. 84–86.
14. Яремий І.М. Стан глутатіонової системи печінки щурів за умов інтоксикації їх тетрахлорметаном та дії екстрактів лікарських рослин / І.М. Яремий // Медична хімія. – 2004. - Т. 6, № 2.-С.71-73.

15. Weber L. Hepatotoxicity and mechanism of action of haloalkanes: carbon tetrachloride as a toxicological model / L. Weber, M. Boll, A. Stampfl // Crit. Rev. Toxicol. – 2003. – Vol. 3, № 2. – P.105-136.

**А.А. Паламар, И.Н. Яремей, В.А. Черноус, А.Н. Грозав,  
М.В. Вовк**

**Изучение влияния [(1-фенил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты на состояние оксидантно-антиоксидантной системы крови крыс в условиях интоксикации тетрахлорметаном**

**Буковинский государственный медицинский университет,  
г. Черновцы,**

**Институт органической химии Национальной академии наук Украины,  
г. Киев**

**Введение.** В составе комплексной фармакотерапии заболеваний печени активно применяют препараты с антиоксидантными свойствами, которые улучшают течение болезни, но имеют ряд недостатков. Поэтому перспективным является поиск новых высокоэффективных и безопасных препаратов с антиоксидантной активностью. Нами ранее были синтезированы [(1-арил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусные кислоты, которые по результатам исследований антиоксидантной активности в системе *in vitro* в диапазоне концентраций 10<sup>-1</sup>-10<sup>-3</sup> моль/л эффективно подавляли аскорбат-индуцированное свободнорадикальное окисление липидов. При этом, [(1-фенил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусная кислота проявила наивысшую активность, которую мы выбрали для углубленных исследований антиоксидантных свойств.

**Цель.** Изучение влияния [(1-фенил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты на состояние оксидантно-антиоксидантного равновесия в системе *in vivo* в условиях тетрахлорметанового гепатита.

**Результаты.** Проведенные исследования показали способность [(1-фенил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусной кислоты восстанавливать нарушенное в условиях токсического тетрахлорметанового гепатита оксидантно-антиоксидантное равновесие в организме крыс. При воздействии исследуемого соединения в крови гепатитных животных снизилось содержание продуктов свободнорадикального окисления липидов и нормализовались показатели общей антиоксидантной активности плазмы крови, содержание окислительно-модифицированных белков и церулоплазмينا, свободных HS-групп и глутатиона восстановленного, а также активности основных антиоксидантных ферментов крови – супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы.

**Ключевые слова:** [(1-фенил-5-формил-1Н-имидазол-4-ил)тио]уксусная кислота, тиотриазолин, оксидантно-антиоксидантная система, антиоксидантная активность, тетрахлорметановый гепатит у крыс.

*A.O.Palamar, I.M.Yaremiy, V.O.Chornous, A.M.Grozav, M.V.Vovk*

**The study of [(1-phenyl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acid influence on the condition of oxidant-antioxidant system in the rats blood in the conditions of carbon tetrachloride intoxication**

**Bukovinian state medical university,**

**Institute of Organic Chemistry of the National Academy of Sciences of Ukraine**

**Introduction.** The medicines with antioxidant properties are used as a part of the liver diseases complex pharmacotherapy. These medicines improve the course of the disease but have a number of disadvantages. That's why the search for new highly effective and safe medicines with antioxidant activity is very promising. We have previously synthesized [(1-aryl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acids which, according to the results of the antioxidant activity studies in the in vitro system, in the concentration range of 10<sup>-1</sup>-10<sup>-3</sup> moles/l effectively inhibited the ascorbate-induced free-radical oxidation of lipids. The highest activity was shown by [(1-phenyl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acid which was chosen for the in-depth studies of antioxidant properties.

**Aim.** To study the influence of [(1-phenyl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acid on the condition of the oxidant-antioxidant equilibrium in the in vivo system in the conditions of carbon tetrachloride hepatitis.

**Results.** The conducted research has shown the ability of [(1-phenyl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acid to restore the oxidant-antioxidant equilibrium, disrupted in the conditions of carbon tetrachloride toxic hepatitis, in the rats' organisms. Under the influence of the studied compound the content of free-radical oxidation of lipids products decreased in the blood of the hepatic animals. The indexes of blood plasma total antioxidant activity, the content of oxidatively modified proteins and hepatocuprein, free HS-groups and reduced glutathione, and activities of the main antioxidant blood enzymes – superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase, – normalized under the influence of the studied compound.

**Key words:** [(1-phenyl-5-formyl-1H-imidazole-4-yl)thio]acetic acid, thiotriazoline, oxidant-antioxidant system, antioxidant activity, carbon tetrachloride hepatitis in rats.

**Відомості про авторів:**

**Паламар Аліна Олександрівна** – асистент кафедри фармації Буковинського державного медичного університету. Адреса: м. Чернівці, вул. Театральна площа, 2.

**Яремій Ірина Миколаївна** – доцент кафедри біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії Буковинського державного медичного університету.

**Чорноус Віталій Олександрович** – к.хім.н., доцент кафедри медичної та фармацевтичної хімії Буковинського державного медичного університету.

**Грозав Аліна Миколаївна** – к.хім.н., доцент кафедри медичної та фармацевтичної хімії Буковинського державного медичного університету.

**Вовк Михайло Володимирович** – д.хім.н., професор, Інститут органічної хімії НАН України, завідувач відділу механізмів органічних реакцій, заступник директора з наукової роботи. Адреса: м. Київ, вул. Мурманська, 5, тел.: (044) 499-46-13.