

УДК: 616.15:547.568.1'781'292]:616.36-002-092.9

## А.О. Паламар, І.М. Яремій, В.О. Черноус, \*М.В.Вовк ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИОКСИДАНТНОЇ АКТИВНОСТІ {[1-(3-МЕТИЛФЕНІЛ)-5-ФОРМІЛ-1Н-ІМІДАЗОЛ-4-ІЛ]ТІО}ОЦТОВОЇ КИСЛОТИ НА ТЛІ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОГО ГЕПАТИТУ В ЩУРІВ

Буковинський державний медичний університет; \*Інститут органічної хімії НАН України

**Паламар А.О., Яремій І.М., Черноус В.О., Вовк М.В.** Дослідження антиоксидантної активності {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1*h*-імідазол-4-іл]тіо} оцтової кислоти на тлі тетрахлорометанового гепатиту в щурів // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 4. – С. 33-35.

Вивчено антиоксидантну активність {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1*H*-імідазол-4-іл]тіо} оцтової кислоти на тлі тетрахлорометанового гепатиту у щурів та її вплив на показники системи антиоксидантного захисту. Встановлено, що досліджувана сполука сприяє нормалізації процесів ВРОЛ та відновленню функціонування систем антиоксидантного захисту в тканинах щурів.

**Ключові слова:** {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1*H*-імідазол-4-іл]тіо} оцтова кислота, тиотриазолін, антиоксидантна активність.

**Паламар А.А., Яремий И.Н., Черноус В.А., Вовк М.В.** Исследование антиоксидантной активности {[1-(3-метилфенил)-5-формил-1*h*-имидазол-4-ил] тио} уксусной кислоты на фоне тетрахлорометанового гепатита у крыс // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 4. – С. 33-35.

Изучено антиоксидантную активность {[1-(3-метилфенил)-5-формил-1*H*-имидазол-4-ил]тіо} уксусной кислоты на фоне тетрахлорометанового гепатита у крыс и ее влияние на показатели системы антиоксидантной защиты. Установлено, что исследуемое соединение способствует нормализации процессов СРОЛ и восстановлению функционирования систем антиоксидантной защиты в тканях крыс.

**Ключевые слова:** {[1-(3-метилфенил)-5-формил-1*H*-имидазол-4-ил]тіо} уксусная кислота, тиотриазолин, антиоксидантная активность.

**Palamar A.O., Yaremiy I.M., Chornous V.O., Vovk M.V.** Research of antioxidant activity of {[1-(3-methylphenyl)-5-formyl-1*h*-imidazole-4-il]thio}acetate acid in conditions of tetrachloromethane hepatitis of rats // Український медичний альманах. – 2013. – Том 16, № 4. – С. 33-35.

Antioxidant activity of {[1-(3-methylphenyl)-5-formyl-1*H*-imidazole-4-il]thio}acetate acid in conditions of tetrachloromethane hepatitis of rats and its effect on indicators of antioxidant protection system has been studied. It has been found that researched compound helps to normalize FROL (free-radical oxidation of lipids) and to restore functioning of antioxidant protection systems in rat tissues.

**Key words:** {[1-(3-methylphenyl)-5-formyl-1*H*-imidazole-4-il]thio}acetate acid, thiotriazolin, antioxidant activity.

**Вступ.** Висока реакційна здатність вільних радикалів призводить до прискорення процесів вільно-радикального окислення ліпідів в організмі людини, які спричиняють численні патологічні порушення серцево-судинної, нервової систем, травного каналу, а також викликають онкологічні та ендокринні захворювання [13]. Для попередження прогресування цих процесів у схемах комплексної фармакотерапії багатьох захворювань широко застосовують антиоксиданти [2], що нейтралізують в організмі надлишок вільних радикалів [1,7,16].

Аналіз літературних джерел свідчить про високі антиоксидантні властивості (1-метил-1*H*-імідазол-2-ілтіо)алканкарбонічних кислот [17]. Саме тому, з метою пошуку в ряду похідних імідазолу нових антиоксидантних засобів, нами здійснено синтез [(1-арил-5-форміл-1*H*-імідазол-4-іл)тіо]оцтових кислот [14]. За результатами досліджень антиоксидантної активності *in vitro* було встановлено, що в діапазоні концентрацій  $10^{-1}$ - $10^{-3}$  моль/л ці сполуки ефективно пригнічували аскорбат-індуковане вільнорадикальне окиснення ліпідів. При цьому найбільшу активність виявила {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1*H*-імідазол-4-іл]тіо} оцтова кислота (сполука **1**), що спонукало нас провести ґрунтовніше вивчення її антиоксидантних властивостей в умовах *in vivo* [14].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, темами:** робота виконувалася відповідно до основного плану науково-дослідницьких робіт (НДР) Буковинського державного медичного університету і є фрагментом теми НДР «Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти дії препаратів з антиоксидантною активністю» (№ держреєстрації 0111U006496).

**Мета дослідження** – вивчити вплив {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1*H*-імідазол-4-іл]тіо} оцтової кислоти на функціонування системи антиоксидантного захисту щурів на фоні тетрахлорометанового гепатиту.

**Матеріали та методи.** Дослідження було проведено на 20 білих нелінійних щурах-самцях, масою 160-180 г, яких утримували в стандартних умовах виварію. Вивчення антиоксидантної активності сполук в системі *in vivo* проводили на загальновідомій моделі тетрахлорометанового гепатиту в щурів, який викликали шляхом дворазового (через день) внутрішньошлункового введення тваринам 50%-ного олійного розчину тетрахлорометану (CCl<sub>4</sub>) із розрахунку 0,25 мл/100 г маси щура [5]. Дослідні тварини було розділено на чотири групи: I – контрольна (інтактні щури); II – тварини інтоксиковані CCl<sub>4</sub>; III – щури, яким на фоні інтоксикації CCl<sub>4</sub> впродовж 7 днів внутрішньоочеревинно вводили сполуку **1** (100мг/кг); IV – щури, яким на фоні інтоксикації

CCl<sub>4</sub> впродовж 7 днів вводили тіотриазолін (100мг/кг) (виробник корпорація «Артеріум», Україна, розчин для ін'єкцій, 25 мг/мл), який володіє антиоксидантними властивостями [10]. Декапітацію тварин проводили під легким ефірним наркозом, відбирали кров в присутності гепарину, відділяли печінку та нирки блоком, заморожували і на льоду готували 5%-ні гомогенати. У плазмі крові щурів визначали вміст окисно-модифікованих білків (ОМБ), вільних SH-груп; в еритроцитах крові визначали вміст малонового альдегіду (МА), глутатіону відновленого (Г-SH), активності каталази (КТ) та глутатіонпе-

роксидази (ГП); у гомогенатах печінки та нирок визначали вміст МА, ОМБ, Г-SH, активність КТ і ГП за загальноприйнятими методиками, описаними в роботі [5]. Статистичний аналіз отриманих результатів проводили з використанням параметричного t-критерію достовірності Стьюдента [4].

**Результати дослідження та їх обговорення.** Вивчення антиоксидантної дії *in vivo* сполуки **1** при експериментальному токсичному гепатиті свідчить про її здатність інгібувати процеси ВРОЛ і ОМБ (табл. 1, 2, 3) в крові, печінці та нирках.

**Таблиця 1.** Вплив сполуки 1 на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в крові щурів за умов токсичного гепатиту ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники/ групи щурів	Контроль (інтактні щури)	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> + сполука 1	CCl <sub>4</sub> +тіотриазолін
МА, мкмоль/л	17,36±0,48	21,44±0,52*	20,19±0,22*	17,46±0,80
ОМБ, о.о.г/мл	1,10±0,02	1,25±0,02*	0,96±0,02*	1,05±0,01
Вільні SH-групи, мкмоль/мл	0,39±0,02	0,29±0,02*	0,63±0,02*	0,62±0,02*
Г-SH, мкмоль/мл	1,56±0,04	1,13±0,03*	1,29±0,01*	1,55±0,03
КТ, мкмоль/хв•л	41,32±0,32	33,74±0,70*	42,67±0,64	41,58±0,60
ГП, мкмоль/хв•л	186,87±9,67	139,45±4,66*	144,26±5,18*	150,56±1,54*

**Примітка:** \* - достовірно по відношенню до контролю ( $p \leq 0,05$ ),

**Таблиця 2.** Вплив сполуки 1 на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в печінці щурів за умов токсичного гепатиту ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники/ групи щурів	Контроль (інтактні щури)	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> + сполука 1	CCl <sub>4</sub> +тіотриазолін
МА, мкмоль/г б	38,84±0,76	91,07±3,17*	48,54±1,24*	53,46±2,14*
ОМБ, о.о.г/г б	15,36±0,42	23,68±0,78*	20,86±0,14*	15,80±0,68
КТ, мкмоль/хв•г тк	105,96±1,27	105,34±2,17	116,18±6,73	130,26±4,86*
ГП, нмоль/хв•мг тк	192,18±3,07	129,07±6,82*	177,60±5,99	238,76±3,29*
Г-SH, мкмоль/г б	6,82±0,13	5,88±0,19*	6,43±0,17	6,90±0,11

**Примітка:** \* - достовірно по відношенню до контролю ( $p \leq 0,05$ ),

**Таблиця 3.** Вплив сполуки 1 на показники оксидантно-антиоксидантного гомеостазу в нирках щурів за умов токсичного гепатиту ( $M \pm m$ ;  $n = 5$ )

Показники/ групи щурів	Контроль (інтактні щури)	CCl <sub>4</sub>	CCl <sub>4</sub> + сполука 1	CCl <sub>4</sub> +тіотриазолін
МА, мкмоль/г б	25,90±0,51	60,72±2,12*	32,36±0,82*	35,64±1,43*
ОМБ, о.о.г/г тк	19,58±0,38	24,78±0,47*	14,48±0,22*	13,16±0,27*
КТ, мкмоль/хв•г тк	96,18±1,07	95,57±1,83	106,41±5,96	120,48±4,11*
ГП, нмоль/хв•г тк	72,06±1,15	48,40±2,56*	66,59±2,25	89,52±1,23*
Г-SH, мкмоль/г тк	3,10±0,24	2,67±0,10	3,68±0,17	3,96±0,16*

**Примітка:** \* - достовірно по відношенню до контролю ( $p \leq 0,05$ ),

Інтоксикація тварин тетрахлорометаном використовується в експериментальних дослідженнях як модель токсичного гепатиту (Губський Ю.І., 1984). При отруєнні тетрахлорометаном, як відомо [9], спостерігається одночасне ураження печінки та нирок (гепаторенальний синдром). Метаболіти CCl<sub>4</sub> – CCl<sub>3</sub>• (радикал трихлористого карбону) та CCl<sub>3</sub>O<sub>2</sub>• (трихлорометилпероксидний радикал) ініціюють в тканинах процеси ВРОЛ та біополімерів, зокрема білків [6, 8, 11, 12, 18].

У проведеному нами експерименті (табл. 1, 2, 3) на інтенсифікацію ВРОЛ в організмі CCl<sub>4</sub>-інтоксикованих щурів вказує підвищення вмісту МА, вміст якого в печінці та нирках був

у 2,34 рази, а в еритроцитах крові у 1,24 рази вищим, ніж в інтактних тварин. Вміст ОМБ в печінці гепатитних щурів був у 1,54 рази, в нирках – у 1,26 разів, а у плазмі крові – у 1,14 разів вищим, ніж в інтактних щурів.

Інтоксикація щурів тетрахлорометаном також призводить до порушення функціонування в організмі систем антиоксидантного захисту, зокрема глутатіонового [11, 15]. Згідно з отриманими нами результатами (табл. 1,2,3), на 8-му добу після отруєння тварин тетрахлорометаном у печінці та нирках щурів на 33 % порівняно з контролем, знизилася активність ГП. Пригнічення активності ГП за даних умов може бути зумовлене як дефіцитом ГВ, так і модифікацією фер-

менту за умов надлишку АФК. Вміст ГВ у печінці та нирках інтоксикованих щурів був на 13,85 % нижчим, ніж у тварин контрольної групи, що може бути спричинено як порушенням синтезу останнього, так і пригніченням процесу його регенерації з окисненої форми [3, 11, 15]. Слід зазначити, що при токсичному тетрахлорометановому гепатиті у щурів показники глутатіонової системи змінюються не лише у печінці й нирках, але й у еритроцитах крові, що узгоджується з літературними даними [3, 5, 11]. Проведене нами дослідження показало (табл. 1), що в еритроцитах інтоксикованих щурів, на 8-му добу після останнього введення  $CCl_4$  активності ГП і вміст ГВ були нижчі відповідно на 25,4 і 27,6 %, ніж показники інтактного контролю. Вміст вільних HS-груп та активності каталази в крові інтоксикованих щурів були нижчими, ніж показники інтактних тварин, на 25,64 та 18,34 % відповідно, що також вказує на пригнічення систем антиоксидантного захисту крові.

Щоденне введення впродовж 7 днів  $CCl_4$ -інтоксикованим щурам сполуки **1** сприяло стабілізації процесів ВРОЛ та ОМБ, а також відновленню функціонування систем антиоксидантного захисту в тканинах щурів. Аналогічний вплив щодо досліджуваних показників відмічено при введенні гепатитним тваринам такої ж дози тіотриазоліну (табл. 1, 2, 3), що вказує на подібність біохімічних механізмів їх впливу на порушений за умов інтоксикації тетрахлорометаном оксидантно-антиоксидантний гомеостаз. Загалом, за своєю антиоксидантною активністю сполука **1** не поступається тіотриазоліну.

**Висновок:** Таким чином, результати досліджень антиоксидантної активності {[1-(3-метилфеніл)-5-форміл-1H-імідазол-4-іл]тіо}оцтової кислоти на тлі тетрахлорометанового гепатиту в щурів свідчать про те, що досліджувана сполука має виражені антиоксидантні властивості.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. **Абдурахманов Д.Т.** Алкогольная болезнь печени / Д.Т. Абдурахманов // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2009. – №1. – С. 4–10.
2. **Беленічев І.Ф.** Антиоксиданти: сучасне уявлення, перспективи створення / І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, В.В. Дунаєв // Ліки. – 2002, № 1. – С. 25–29
3. **Геруш І.В.** Вільнорадикальні механізми токсичного ураження організму тетрахлорметаном та шляхи його корекції препаратами ехінацеї пурпурової і мелатоніном / І.В. Геруш, Н.П. Григор'єва, І.Ф. Мешишен, І.В. Мацьопа. – Чернівці: Медичний університет, 2012. – 179 с.
4. **Гланц С.** Медико-биологическая статистика / С. Гланц – М.: Практика, 1999. – 459 с.
5. **Давидова Н.В.** Біохімічні механізми антиоксидантної дії екстракту родіоли рідкого: дис. ...кандидата мед. наук: 03.00.04/Давидова Наталія Валентинівна. – К., 2005. – 182с.
6. **Дубинина Е.Е.** Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Укр. биохим. журн. – 2008. – Т. 80, № 6. – С. 5–18.
7. **Капелько В.И.** Активные формы кислорода, антиоксиданты и профилактика заболеваний сердца / В.И. Капелько // РМЖ. – 2003. – Т.11, № 21. – С. 1185 – 1188
8. **Кліщ І.М.** Вираженість окиснювальної модифікації білків та стан антиоксидантної системи у щурів різного віку з токсичним ураженням тетрахлорметаном / І.М. Кліщ, А.В. Бойчук, М.М. Корда // Вісн. наук. досліджень. – 2002. – № 1. – С. 39–41.
9. **Мамаєв С.Н.** Гепаторенальный синдром 1-го и 2-го типа: современное состояние проблемы / С.Н. Мамаєв, А.М. Каримова // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2008. – Т. 18, № 6. – С. 4–13.
10. **Савченкова Л.В.** Клиническая фармакология тиотриазолина (обзор литературы) / Л.В. Савченкова, Д.А. Филатов, И.П. Белоусова // Укр.мед.альманах. – 2008. – № 3. – С. 212–217
11. **Сервецький К.Л.** Оцінка інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів і активності ферментів глутатіон редокс-системи при токсичному гепатиті у щурів / К.Л. Сервецький, Т.В. Чабан, С.Т. Солтик // Укр. мед. альманах. – 2009. – Т.2, № 3. – С. 146–149.
12. Характеристика острого токсического действия четыреххлористого углерода как модели окислительного стресса / **Л.В. Кравченко, Н.В. Грусов, М.А. Ускова [и др.]** // Токсикологический вестник - 2009. - № 1. - С. 12–17.
13. **Хасанов В.В.** Методы исследования антиоксидантов / В.В. Хасанов, Г.Л. Рыжова, Е.В. Мальцева //Химия растительного сырья. – 2004. – №3. С. 63–75.
14. **Чорноус В.А.** Синтез и антиоксидантная активность [(1-арил-5-формилимидазол-4-ил)тіо]уксусных кислот / В.А. Чорноус, А.А. Паламар, И.Н. Яремий, М.В. Вовк // Хим.-фарм. журнал. – 2013 - Т 47, № 2, 84–86.
15. **Яремій І.М.** Стан глутатіонової системи печінки щурів за умов інтоксикації їх тетрахлорметаном та дії екстрактів лікарських рослин / І.М. Яремій // Медична хімія. – 2004. – Т. 6, № 2.-С.71–73;
16. **Яшин Я.И.** Природные антиоксиданты – надежная защита человека от опасных болезней и старения / Я.И. Яшин, В.Ю. Рыжнёв, А.Я. Яшин Н.И. Черноусова. – М., 2008. – С. 122.
17. Mitochondrial biotransformation of omega-(phenoxy)alkanoic acids, 3-(phenoxy) acrylic acids, and omega-(1-methyl-1H-imidazol-2-ylthio)alkanoic acids: a prodrug strategy for targeting cytoprotective antioxidants to mitochondria / **K.S. Roser, P.S. Brookes, A.P. Wojtovich [et al.]** // Bioorg. Med. Chem. – 2010. - № 18 (4) - P. 1441–1448.
18. **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.

Надійшла 17.05.2013 р.

Рецензент: проф. І.О.Комаревцева