



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16242 (13) U

(51) МПК

C07D 239/72 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту**(54) 2-(ХІНАЗОЛІН-4-ІЛТІО)БУТАНОВА КИСЛОТА, ЩО ПРОЯВЛЯЄ АНТИРАДИКАЛЬНУ, АНТИОКСИДАТНУ ТА ГЕПАТОПРОТЕКТОРНУ АКТИВНІСТЬ**

1

2

(21) u200605441

(22) 18.05.2006

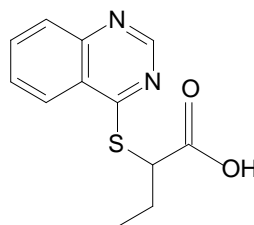
(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Нікітін Владислав Олександрович, Авраменко Антоніна Іванівна, Коваленко Сергій Іванович, Бєленічев Ігор Федорович, Губський Юрій Іванович, Левицький Євген Леонідович, Горюшко Ганна Герасимівна

(73) Коваленко Сергій Іванович, Бєленічев Ігор Федорович

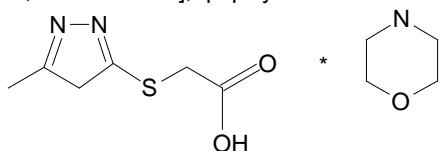
(57) 2-(хіназолін-4-ілтіо)бутанова кислота формули:



що проявляє антиоксидантну, антирадикальну та гепатопротекторну активність.

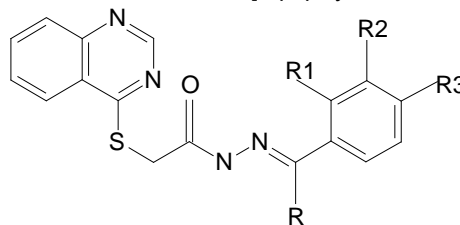
Корисна модель відноситься до біологічно активних сполук і може бути використаною у фармації та медицині.

Відомий лікарський препарат - тіотриазолін (який в своїй структурі містить залишок карбоксильної групи, що зв'язана із азатетрациклом через екзоциклічний атом сірки), який застосовується у медичній практиці як препарат, що проявляє антиоксидантну та гепатопротекторну активність. [Тіотриазолін: фармакологіческие аспекты и клиническое применение. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. и др. - Запорожье-Львов: "НАУТИЛУС", 2005. - 156с.], формули:



Відомі структурні аналоги: похідні S-(4-хіназоліл)-меркаптооцтової кислоти, що проявляють антиоксидантну, антирадикальну та протисудомну активність [Бєленічев І.Ф., Коваленко С.І., Карпенко О.В. Дослідження антиоксидантної та антирадикальної активності іліденгідрозидів S-(4-хіназоліл)-меркапто-оцтової кислоти in vitro та в умовах модельних судом // Клінічна фармація. -

2003. - Т.7, №1. - С.53-57; Дунаев В.В., Бєленічев І.О., Коваленко С.І., Карпенко А.В. Изучение антиоксидантной активности бензилиденгидразидов S-(4-хинозолил)-меркаптоуксусной кислоты на модели "нитрозирующего стресса" in vitro // Экспериментальная и клиническая фармакология - 2004. - Т.67, №3. - С.69-72.], формули:

R=H, CH<sub>3</sub>; R<sub>1</sub>=H, OH, OCH<sub>3</sub>, COOH; R<sub>2</sub>=H, OCH<sub>3</sub>; R<sub>3</sub>=H, OH, OCH<sub>3</sub>

Недоліком відомих структурних аналогів є те, що вони не проявляють гепатопротекторної активності.

Найбільш близькою до сполуки, що заявляється, є 2-(хіназолін-4-ілтіо)-етанова кислота [Бєленічев І.Ф., Коваленко С.І., Бражко О.А., Карпенко О.В. Дослідження антиоксидантної дії хіназоліл-4-(хіноліл-4)-тіо-α (β) карбонових кислот та їх похідних в умовах ініціювання вільно-радикальних про-

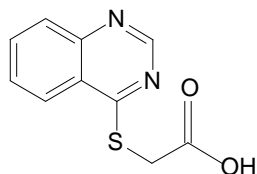
(13) U

(11) 16242

(19) UA

цесів *in vitro* та моделюванні ішемії головного мозку // Ліки. - 2001. - №5-6. - С.28-33];

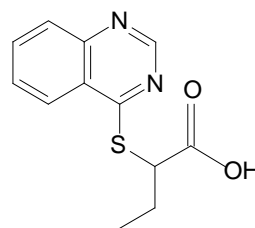
Вплив  $\alpha$  ( $\beta$ )-[S-(4-хіназоліл)]тіоалкілкарбонових кислот та їх солей на картину судом, викликаних тіосемікарбазидом [Л.Ф. Беленічев, С.І.Коваленко, А.В. Карпенко та ін. // Ліки. - 2002. - №5-6. - С.75-81; Синтез, фізико-хімічні властивості  $\alpha$  ( $\beta$ )-[S-(4-хіназоліл)-, (4-хіноліл)]тіоалкілкарбонових кислот та їх ефірів /С.І. Коваленко, О.А. Бражко, І.А. Мазур та ін. // Фізіологічно активні речовини. -2002. - №2(34). - 15-19; Дослідження антирадикальних властивостей S-карбоксіалкільних похідних 4-тіохіназоліну в дослідах *in vitro* у системі утворення оксиду азоту / С.І. Коваленко, І.Ф. Беленічев, О.В. Карпенко та ін. // Ліки. - 2003. - №1-2. - С.68-72], формули:



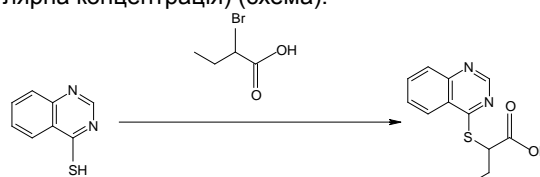
Недоліком найближчого аналогу є те, що він також не проявляє гепатопротекторну активність.

Таким чином, в основу корисної моделі поставлена задача створення нової біологічно активної сполуки серед похідних 4-тіохіназоліну, що проявляє антиоксидантну, антирадикальну та гепатопротекторну активність.

Вирішення даної задачі забезпечує похідне 4-тіохіназоліну, а саме 2-(хіназолін-4-ілтіо)бутанова кислота (НКС-153), яка проявляє антиоксидантну, антирадикальну та гепатопротекторну активність, формули:



Одержують наведену сполуку (НКС-153) взаємодією 4-тіохіназоліну з 2-бромбутановою кислотою у водному розчині гідроксиду натрію (еквімолярна концентрація) (схема).



Приклад: 1,62г (0,01моль) 4-тіохіназоліну розчиняють у 10мл розчину гідроксиду натрію при нагріванні, до отриманого розчину додають 1,67г (0,01моль) 2-бромбутанової кислоти і реакційну суміш кип'ятять до нейтрального рН середовища. Розчин охолоджують, підкислюють до рН 3-4, утворений осад відфільтровують і сушать. Одержують цільовий продукт з виходом 65-75%. Синтезована сполука - світло-жовта кристалічна речовина з Т.плав. 174-176°C, розчинна у спирті, діоксані, диметилформаміді, лугах, нерозчинна у воді. Для аналізу очищена переосадженням. Знайдено, %: N 11,30; Вирахувано, %: N 11,28. C<sub>12</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S.

Будова сполуки НКС-153 також доведена ІЧ-, ПМР-спектрами та масспектрометрично (таблиця).

Таблиця

Вид дослідження	Результати
1НЯМР, $\delta$ (ppm),	13.035 (с, 1H, COOH); 9.004 (с, 1H, H <sup>2</sup> хін); 8.133 (д, 2H, H <sup>5</sup> хін); 8,005(м, 2H, H <sup>7</sup> хін-H <sup>8</sup> хін); 7.761 (т, 1H, H <sup>6</sup> хін); 4.789 (т, 1H, S-CH); 1.999(м, 2H, CH <sub>2</sub> ) 1,067(т, 3H, CH <sub>3</sub> )
ІЧ, $\lambda$ (см <sup>-1</sup> )	1730-1650 см <sup>-1</sup> ( $\nu$ CO), 680-620 см <sup>-1</sup> ( $\nu$ CH <sub>2</sub> -S-)
Мас, m/z (a.o.)	249, 215, 204, 162, 129, 102, 76.

ПМР-спектри знімалися на спектрофотометрії ядерного магнітного резонансу "Varian VXR-300", розчинник DMSO-D<sub>6</sub>, внутрішній стандарт - тетраметилсилан. ІЧ-спектри сполук знімалися у таблетках калію броміду (концентрація речовини 1%) на спектрофотометрії Specord M-80 в області 4000-500см<sup>-1</sup> (умови сканування: щільова програма 3,0, постійна часу -  $\tau$  = 3с, час сканування 33хв.). Таблетки готувались спільним розтиранням 200мг калію броміду і 2мг досліджуваної сполуки з наступним пресуванням. Мас-спектр зареєстровано на приладі Varian 1200L, іонізація здійснюється електронним ударом (70eV) при прямому введенні зразка. Температура іонного джерела 200°C; нагрівання відбувається від 25°C до 390°C зі швидкістю 300°C/хв.

На першому етапі проведений первинний фармакологічний скринінг методами *in vitro* для оцін-

ки антиоксидантної активності. Оцінку антиоксидантної (АОА) та антирадикальної (АРА) активності сполук у дослідах *in vitro* проводили на п'яти моделях ініціювання вільно-радикального окислювання (ВРО): оцінка АОА при ферментативному і неферментативному ініціюванні та оцінка АРА по інгібуванню супероксид-, пероксинітрилрадикалу та стабільної форми радикалу дифенілпікрилгідразину (ДФПГ).

Перша модель (ферментативне ініціювання) характеризує АОА сполук на всіх етапах розвитку ВРО [Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічне активних речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідах *in vitro* /Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін.// Метод, реком. - Київ: Державний Фармакологічний центр МОЗ України, 2002. - 26с.]. Вільно-радикальні процеси запускали ферментативним

шляхом, додаванням нікотина-мідаденіндинуклеотидфосфату відновленого (НАДФхН<sup>+</sup>) у гомогенат тканин головного мозку щурів лінії Вістар. АОА визначали спектрофотометрично по вмісту біомаркеру ВРО - малонового діальдегіду (МДА) після його взаємодії з тіобарбітуровою кислотою.

Друга модель (Fe<sup>2+</sup>-залежного ВРО) проводиться у суспензії яйцевих ліпопротеїдів [Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідках in vitro І Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін. // Метод, реком. - Київ: Державний Фармакологічний центр МОЗ України, 2002. - 26с.]. Ця модель характеризує антиоксидантні властивості речовин на кінцевому етапі ВРО, де вільно-радикальні процеси відбуваються неферментативним шляхом. АОА визначали спектрофотометрично по вмісту біомаркеру ВРО - МДА після його взаємодії з тіобарбітуровою кислотою.

Третя модель - модель оцінки АРА синтезованих сполук по інгібуванню активної форми кисню (супероксидрадикал), яка моделюється у реакціях ауто-окислення адреналіну в адренохром у лужному середовищі [Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідках in vitro / Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін. // Метод, реком. - Київ: Державний Фармакологічний центр МОЗ України, 2002. - 26с.]. АОА визначали спектрофотометрично по гальмуванню утворення супероксидрадикалу досліджуваними речовинами.

Четверту модель - оцінку АРА синтезованих сполук оцінювали використовуючи метод in vitro по інгібуванню активних форм NO [Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних речовин при ініціюванні вільно-радикальних процесів у дослідках in vitro / Губський Ю.І., Дунаєв В.В., Беленічев І.Ф. та ін. // Метод, реком. - Київ: Державний Фармакологічний центр МОЗ України, 2002. - 26с.]. Індукцію NO здійснювали при дії на проби з нітропрусидом натрію світла від джерела потужністю 300Вт з довжиною хвилі 425нм. Ефективність гальмування утворення NO тестували по інгібуванню окиснення аскорбінової кислоти. АРА виражали у відсотках інгібування окиснення аскорбату.

П'яту модель - оцінку АРА синтезованих сполук у дослідках in vitro проводили по інгібуванню стабільної форми радикалу дифенілпікрілгідразину (ДФПГ) [Губський Ю.І., Левицький Є.Л. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину // Журн. АМН України. - 1997. - Т.3, №2. - С.275-282].

Дослідження АОА на моделях in vitro при ферментативному та неферментативному ініціюванні - показало (табл. 1), що сполука НК-153 проявляє високу активність, яка перевищує активність еталонів порівняння дибунолу та унітіолу на 9,9% і 49,4% відповідно. Крім того, НК-153 виявилась більш ефективною у порівнянні з препаратом "Тіотриазолін" на моделі неферментативного ініціювання ВРО, перевищує активність лікарського препарату на 14,35%.

Таблиця 1

Антиоксидантна активність синтезованих сполук у дослідках in vitro (%)

Сполуки*	Ферментативне ініціювання ВРО	Неферментативне ініціювання ВРО
НК-153	35,1	68,0
Дибунол	25,2	-
α -Токоферолу ацетат	10,16	-
Тіотриазолін	-	53,65
Метіонін	-	16,2
Унітіол	-	18,6

Примітки: \* - дибунол, α -токоферолу ацетат, тіотриазолін, метіонін, унітіол, НК-153 вводили у дозах 10<sup>-7</sup> М відповідно моделям ВРО.

Одержані результати антирадикальної активності (табл.2). вказують на те, що всі досліджувані сполуки володіють АРА різної тропності до відповідних радикалів. Так, необхідно відмітити, що НК-153 у методах in vitro на різних моделях проявляє

значну активність, яка перевищує активність еталонного препарату "Тіотриазолін" на моделі інгібування ДФПГ і наближається за силою дії до еталонних препаратів сечовини та N-ацетилцистеїну.

Таблиця 2

Антирадикальна активність сполук щодо різних видів радикалів (%)

Сполука*	ДФПГ	інгібування супероксидрадикалу	інгібування пероксинітрилрадикалу
НКС-153	21.2	30.0	42.3
Дибунол	81.9	-	-
Тіотриазолін	13.7	-	-
Сечовина	-	35.0	-
N-Ацетилцистеїн	-	-	62.2

Примітки: \* - дибунол, тіотриазолін, сечовину та N-ацетилцистеїн, НКС-153 вводили у дозах  $10^{-7}$  М відповідно моделям ВРО.

Наступним етапом досліджень було вивчення АOA сполуки НКС-153 за показниками швидкості накопичення МДА на моделі неініційованого та індукованого ВРО в ізольованих мембранах ендоплазматичного ретикулуму (ЕР) клітин печінки інтактних щурів. Для визначення швидкості накопичення МДА в ізольованих мембранах ендоплазматичного ретикулуму (ЕР) клітин печінки інтактних щурів в НАДФН (НЗП) та аскорбат (АЗП) індукованих системах ВРО, а також у неіндукованому контролі (НК) використовували метод [Губський Ю.І., Левицький Є.Л. Перекисно-антиоксидантний механізм регуляції активності хроматину // Журн. АМН України. -1997. - Т.3, №2. - С.275-282].

Вплив НКС-153 на швидкість накопичення продуктів окислення досліджували у концентраціях  $10^{-5}$ - $10^{-3}$  М у системах НК, АЗП та НЗП. Вибіркове

тестування сполук у концентрації  $10^{-5}$ М не продемонструвало наявності антиокислювальних властивостей у зазначеній сполуки, а спостерігалось лише незначне зниження швидкості накопичення продуктів ВРО у препаратів порівняння - іонолу та  $\alpha$ -токоферолу, а тіотриазолін у цій концентрації був неефективний (табл. 3). При тестуванні сполук у концентрації на рівні  $10^{-4}$ М спостерігається тенденція до зниження утворення продуктів окислення за умов НК, АЗП та НЗП (табл. 3). Так, НКС-153 у зазначеній концентрації призводить до зниження швидкості накопичення МДА тільки за умов АЗП та НЗП. Слід зауважити, що за умов даної моделі тіотриазолін впливає на швидкість накопичення продуктів ВРО лише за умов НК та у найвищій концентрації.

Таблиця 3

Вплив досліджуваних сполук на швидкість накопичення МДА ізольованими мембранами ЕР печінки інтактних щурів (% до контролю)

Сполуки, $10^{-4}$ М	Системи ВРО		
	НК	АЗП	НЗП
Контроль	100	100	100
NC-109	104,2	105,3	100,8
TX-27	108,46	89,29	90,2
НКС-153	102,4	99,24	98,50
Дибунол	58,98*	30,95*	50,60*
Тіотриазолін	85,73	103,59	101,21
$\alpha$ -токоферол	52,54*	40,46*	53,21*

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

АОА синтезованих сполук також вивчали за умов *in vitro* на ізольованих фракціях ядерного хроматину (репресованого - РХ та транскрипційно активного - ТХ) клітин печінки інтактних та отруєних ТХМ щурів. Для визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину в НАДФН (НЗП) та аскорбат (АЗП) індукованих системах ВРО, а також у неіндукованому контролі (НК) використовували наступні методи [Взаємодія нових похідних піридинкарбонових кислот з ізольованими фракціями ядерного хроматину клітин печінки інтактних та отруєних тетрахлорметаном щурів / Губський

Ю.І., Левицький Є.Л., Горюшко Г.Г. и др. // Совр. пробл. токсикол. - 2002. - №2. - С. 26-33; Левицький Е.Л., Губский Ю.И. Свободно-радикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки // Укр.биохим.журн. - 1994. - Т.66, №4. - С.18-30] з деякими модифікаціями. Розрахунок проводили за коефіцієнтом молярної екстинкції  $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . Результати виражали в нмоль/мг білка хроматину. Значення НЗП та АЗП одержували відніманням від сумарної величини значення концентрації МДА в неініційованому контролі. Розраховували також значення чутливої до нагрівання складової НЗП  $\Delta$

шляхом віднімання від сумарної величини НЗП значення активності, що залишається після кип'ятіння зразків протягом 7 хв.

Із результатів досліджень видно (табл. 4), що у репресованому хроматині інтактних тварин сполука НКС-153 інгібує майже на 34% швидкість накопичення МДА у системі НК, перевищуючи при цьому активність еталонних антиоксидантів та тіотриазоліну. Важливо відзначити, що сполука НКС-153 перевищувала активність еталонів порів-

няння при АЗП та конкурувала з ними при НЗП (табл. 4). У ТАХ при НЗП активність виявляють сполуки НКС-153 і препарат порівняння  $\alpha$ -токоферол (інгібування ВРО на 16,2%, 18,5%, відповідно), тоді як інші досліджувані сполуки виявились менш ефективними. Проте, НКС-153 поступається за своєю активністю еталонам порівняння у системах НК та АЗП.

Таблиця 4

Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки інтактних щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентрації  $10^{-5}$  (in vitro, у % до контролю)

Показники	РХ				
	Контроль	Дибунол	Тіотриазолін	$\alpha$ -токоферол	НКС-153
НЗП	100,00	83,68	81,63	86,94	83,63
НЗП, $\Delta$	100,00	87,48	84,79	87,09	82,76
АЗП	100,00	81,94	101,52	84,02	76,17
НК	100,00	74,03	81,38	78,11	65,99
ТАХ					
НЗП	100,00	85,35	89,06	81,65	83,82
НЗП, $\Delta$	100,00	82,29	89,84	82,81	78,13
АЗП	100,00	78,12	94,15	100,00	115,27
НК	100,00	81,56	74,28	67,01*	84,94

У фракції РХ щурів з токсичним ураженням печінки у системі НЗП найбільшу активність проявляють  $\alpha$ -токоферол і дибунол, але і сполука НКС-153 наближається по швидкості накопичення МДА до тіотриазоліну (табл. 5). При АЗП найбільш

активними виявились дибунол і тіотриазолін (інгібування ВРО на 23,2% і 24,3% відповідно). Сполука НКС-153 виявилась найбільш активною у системі НК ВРО, зменшуючи швидкість накопичення МДА на 18,07% відносно контролю (табл. 5).

Таблиця 5

Визначення швидкості накопичення МДА у фракціях хроматину печінки отруєних ТХМ щурів при додаванні досліджуваних сполук у концентрації  $10^{-5}$  (in vitro, у % до контролю) РХ

Показники	Контроль	Дибунол	Тіотриазолін	$\alpha$ -токоферол	НКС-153
НЗП	100,00	83,98	92,04	87,40	92,62
НЗП, $\Delta$	100,00	85,36	93,12	88,20	94,82
АЗП	100,00	76,82	75,71	100,11	96,87
НК	100,00	104,60	88,66	88,40	81,93
ТАХ					
НЗП	100,00	91,28	91,87	92,97	90,29
НЗП, $\Delta$	100,00	93,57	96,62	94,54	92,25
АЗП	100,00	69,75	73,81	78,75	82,39
НК	100,00	88,39	77,94	76,62	71,63

В скринінгових дослідженнях на моделі in vitro на ізольованих фракціях ядерного хроматину (РХ та ТАХ) клітин печінки інтактних та отруєних ТХМ щурів показано, що сполука НКС-153 за своєю активністю не поступається тіотриазоліну та дибунолу, а за деякими показниками конкурує з  $\alpha$ -токоферолом.

Дослідження гепатопротекторної активності проведені на щурах лінії Вістар масою тіла 200-220г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. В процесі роботи використано 18 тварин. Тварини були розділені на 6 груп: перша група - інтактні тварини, друга група - тварини з токсичним ураженням печінки (контрольна група). Токсичне

ураження печінки (ТУП) викликали шляхом введення 50% масляного розчину тетрахлорметану (ТХМ) у дозі 1мл на 100г маси тіла експериментальних тварин два рази на добу протягом 3 діб. Третя група - тварини з ТУП, яким вводили НКС-153, четверта група - тварини з ТУП, яким вводили відомий гепатопротекторний та антиоксидантний препарат "Тіотриазолін" [Тіотриазолін: фармакологические аспекты и клиническое применение. Мазур И.А., Волошин НА., Чекман И.С. и др. - Запорожье-Львов: "НАУТИЛУС!", 2005. - 156с]. Сполука НКС-153 та препарат "Тіотриазолін" вводили у дозах 50мг/кг, внутрішньоочеревинно, за годину перед введенням ТХМ.

Тварин виводили із експерименту через 24 години після останнього введення ТХМ під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Дослідження функціонального стану антиоксидантної системи проводили шляхом визначення активності каталази у плазмі крові (ПК) та гомогенаті печінки (ГП) [Корольок М.А. Способ определения активности каталазы // Лаб. дело. - 1988. - №1. - С.16-19], концентрації стабільних метаболітів NO (Уразаева А.Х., Зефиоров А.Л. Физиологическая роль оксида азота // Успехи физиол. наук. - 1999. - №30 (1). - С.54-72; Monocada S., Palmer R.M., Higgs E.A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology // Pharmacol. Rev. - 1991. - Vol.43. - P.109-142], а також за ступенем окисної модифікації білка (ОМБ) [Halliwell B. Free Radicals Biology Medicine. - Oxford Press, 1999. - 248p] як одних з ранніх маркерів ВРО в організмі. Оцінку ендогенної інтокси-

кації організму проводили шляхом визначення активності маркерних ферментів аспарагінаміно-трансферази (АсАТ), аланінаміно-трансферази (АлАТ) та за тимоловою пробою у ГП [Меньшиков В.В. Клинико-лабораторная диагностика. М.: "Медицина", 1986. - 325с]. Результати досліджень піддавали статистичному аналізу [Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид. - Харків: "PIPEG", 2001. - Доповнення 1. - 2004. - 520с].

При моделюванні експерименту за умов *in vivo* нами досліджена виживаємість тварин у різні терміни експерименту. Так, результати показали (табл. 6), що в групі тварин з ТУП (контрольна група) виживаємість складала 50% на 3 добу експерименту. Так, при введенні сполук НКС-153 і тіотриазоліну виживаємість щурів з патологією складала 83,3%.

Таблиця 6

Вживаємість тварин з ТУП

Групи тварин	Всього тварин	Вживаємість експерименту тварин на 3 добу	
		Кількість від загального числа	%, від загального числа
Тварини з ТУП (контроль)	6	3	50,0
Тварини з ТУП + тіотриазолін	6	5	83,33
Тварини з ТУП + НКС-153	6	5	83,33

Проведені біохімічні дослідження показали, що у тварин з ТУП активуються процеси ВРО, зокрема відзначалося підвищення концентрації продуктів взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з карбонільними (274нм) та карбоксильними (363нм) групами у ПК як при спонтанній ОМБ у 2,26 і 1,84 рази відповідно, так і при ініційованій ОМБ у 1,99 і 2,54 рази відносно інтактної групи (табл. 6). Крім того, при ОМБ відбувається інтенсивне утворення низькомолекулярних компонентів ( $\lambda$  = 254, 272, 280нм)

у ПК як при спонтанному, так і ініційованому процесі ВРО у порівнянні з інтактом (табл. 7). Введення тваринам тіотриазоліну та сполуки НКС-153 приводило до достовірного зниження концентрації стабільних метаболітів і ступеня дефрагментації білка у ПК. Найбільш позитивні зміни були у експериментальних групах, що отримували сполуку НКС-153. Так, зазначені сполуки перевищували активність еталону порівняння тіотриазоліну при спонтанному та ініційованому ОМБ.

Таблиця 7

ОМБ у плазмі крові (од/гр/білка) щурів з ТУП

Група тварин	Показники	Інтактна	Тварини з ТУП (контроль)	Тварини з ТУП + НКС-153	Тварини з ТУП + тіотриазолін
Спонтанна ОМБ	254 нм	0,063±0,003	0,255±0,01	0,143±0,005*	0,150±0,006*
	272 нм	0,041 ±0,002	0,193±0,015	0,10±0,002*	0,110±0,002*
	280 нм	0,035±0,004	0,158±0,028	0,080±0,004*	0,09±0,005*
Ініційована ОМБ	254 нм	0,350±0,009	0,555±0,024	0,475±0,004*	0,521±0,006*
	272 нм	0,211±0,007	0,483±0,03	0,371±0,005*	0,398±0,003*
	280 нм	0,163±0,008	0,415±0,027	0,311±0,008*	0,341±0,009*
Спонтанна ОМБ	274 нм	0,081 ±0,005	0,183±0,009	0,123±0,007*	0,138±0,008*
	363 нм	0,067±0,003	0,123±0,008	0,10±0,006*	0,120±0,005*
Ініційована ОМБ	274нм	0,193 ±0,005	0,384±0,010	0,221±0,009*	0,231±0,012
	363 нм	0,080±0,004	0,203±0,009	0,19±0,007*	0,188±0,006*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  по відношенню до контролю.

При ОМБ також активуються процеси ВРО у ГП щурів уражених ТХМ, насамперед, підвищується концентрація продуктів взаємодії 2,4-динітрофенілгідразину з карбонільними (274нм) та

карбоксильними (363нм) групами (табл.8). Так, концентрація цих метаболітів при спонтанному ОМБ підвищується у 3,96 і 3,99 рази, а при ініційованому процесі у 2,19 і 3,15 рази відповідно. Крім

того, вільні радикали суттєво впливають на ступінь дефрагментації білка у ГП, тобто при ОМБ відбувається інтенсивне утворення низькомолекулярних компонентів ( $\lambda = 254, 272, 280\text{нм}$ ) як при ініційованому, так і спонтанному процесі у порівнянні з інтактом (табл. 8). Введення до ГП в умовах ОМБ

сполуки НКС-153 та тіотриазоліну приводить до зниження рівня ФГ та ФГД і, що важливо, ступеня дефрагментації білка. Найбільшу АОА проявляла сполука НКС-153, достовірно перевищуючи активність тіотриазоліну за більшістю показників.

Таблиця 8

ОМБ у гомогенаті печінки (од/гр/білка) щурів з ТУП

Група тварин Показники	Інтактна	Тварини з ТУП (конт- роль)	Тварини з ТУП + НКС-153	Тварини з ТУП + тіотри- азолін
Спонтанна ОМБ	254 нм	1,235±0,129	3,235±0,150	2,255±0,122*
	272 нм	0,878±0,031	2,754±0,154	1,688±0,050*
	280 нм	0,674±0,043	2,545±0,143	1,233±0,10*
Ініційована ОМБ	254 нм	5,189±0,118	8,456±0,317	6,840±0,141*
	272 нм	3,858±0,103	7,565±0,149	5,955±0,131*
	280 нм	2,731±0,141	6,893±0,151	4,850±0,113*
Спонтанна ОМБ	274 нм	0,984±0,042	3,898±0,135	1,450±0,121*
	363 нм	0,789±0,035	3,154±0,153	1,220±0,111*
Ініційована ОМБ	274 нм	1,989±0,080	4,346±0,180	2,540±0,10*
	363 нм	1,234±0,033	3,893±0,153	2,075±0,050*

Примітка: \* -  $p < 0,05$  по відношенню до контролю.

ТУП супроводжувалося стійким порушенням метаболізму гепатоцитів (табл. 9). Подібні зміни метаболізму приводять до активації АФК, гальмування антиоксидантного ферментативного комплексу і подальшої активації вільно-радикальних процесів. Зокрема, при зазначеній патології зменшується активність каталази у ПК та ГП у 2,57 і 4,9 рази відповідно до інтакту (табл.9). НКС-153 та тіотриазолін проявляють нормалізуючий вплив на активність каталази, і що важливо, конкурують з еталоном порівняння (табл. 9).

З даних, наведених у табл. 9, видно, що при ТУП збільшувалася концентрація стабільних метаболітів NO як у ПК, так і ГП у 3,92 і 3,79 рази відповідно до інтакту. Цікавим є той факт, що введення досліджуваної сполуки (НКС-153) та тіотриазоліну призводить до значного зниження стабільних метаболітів NO. Важливо відмітити, що активність НКС-153 достовірно вище активності тіотриазоліну.

Таблиця 9

Гепатопротекторна активність синтезованих сполук

Група тварин Показники	Інтактна	Тварини з ТУП (контроль)	Тварини з ТУП + НКС-153	Тварини з ТУП + тіотри- азолін
Каталаза в ПК (мккат/л год)	5,22±0,07	2,03±0,11	2,77±0,06*	3,00±0,01*
Каталаза в ГП (мккат/мг білка хв.)	7,21±0,09	1,47±0,06	2,44±0,01	3,66±0,01
NO в ПК (мкМ/л)	0,12±0,01	0,47±0,01	0,25±0,02*	0,30±0,02*
NO в ГП (мкМ/г білка)	0,14±0,01	0,53±0,01	0,25±0,01	0,32±0,01*
АсАТ (мМ/л год.)	3,77±0,66	14,6±1,77	3,11±0,76	5,09±0,71*
АлАТ (мМ/л год.)	0,22±0,05	0,97±0,08	0,32±0,06*	0,40±0,07*
Тимолова проба	0,47±0,02	7,90±0,97	3,16±0,77	3,67±0,67

Примітка: \* -  $p < 0,05$  по відношенню до контролю.

Оцінка ендогенної інтоксикації організму показала, що після ТУП значно підвищується активність маркерних ферментів амінотрансфераз та показники тимолової проби (табл. 9). Введення НКС-153 та тіотриазоліну, як і у випадку стабільних метаболітів NO, приводить до позитивного впливу на активність амінотрансфераз (АсАТ, АлАТ) та тимолову пробу. Так, при введенні НКС-

153 відбувається достовірне зниження активності АсАТ у 4,7 рази, АлАТ - у 3,03 і показників тимолової проби - у 2,5 рази у ГП.

Виходячи з результатів експерименту, можна констатувати позитивний вплив НКС-153 при різних скринінгових моделях ініціювання *in vitro* та *in vivo* на показники ВРО. НКС-153 проявляє виражену АОА, що виражається у ефективному запобі-

ганню утворенню АФК, впливає на швидкість накопичення МДА, знижує ступінь дефрагментації білка і вміст продуктів його окисної модифікації. Крім

того, НКС-153 зменшує явища ендогенної інтоксикації та підвищує антиоксидний захист організму щурів з ТУП.