

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ 4-АМИНО-5-(ФУРАН-2-ИЛ)-4Н-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ТИОЛА ПРИ ПАРАЦЕТАМОЛОВОМ ГЕПАТИТЕ

БЕЛАЙ И.М., МИХАЙЛЮК Е.О., ПАРЧЕНКО В.В., ПАНАСЕНКО А.И., КНЫШ Е.Г.

УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина

Резюме.

Последствия медикаментозных гепатитов с каждым годом становятся более тяжелыми и более острыми. Из-за распространения самолечения и бесконтрольного применения парацетамола в нашей стране нами была выбрана модель медикаментозного гепатита с использованием парацетамола. В связи с этим большой интерес представляет исследование фармакологического действия при парацетамоловом гепатите. Целью данной работы явилось исследование гепатопротекторного действия 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола при парацетамоловом гепатите. Нами было изучено его антицитолитическое и антиоксидантное действие при данной модели гепатита. Полученные данные показали эффективность данного вещества по сравнению с референтными лекарственными средствами тиотриазолин и силибор.

Ключевые слова: гепатопротекторная активность, парацетамоловый гепатит, производные триазола.

Abstract.

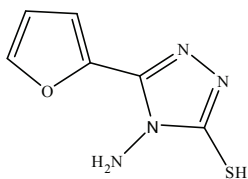
The consequences of drug-induced hepatitis are getting more and more serious and acute. We chose a model of drug-induced hepatitis with paracetamol because of the spreading of self-treatment and uncontrolled use of paracetamol. In this connection the investigation of pharmacological action in paracetamol hepatitis is of great interest.

The aim of this work was to study hepatoprotective activity of 4-amino-5-(furan-2-yl)-4H-1,2,4-triazole-3-thiol in paracetamol hepatitis. We have investigated its anticytolytic and antioxidant effect in this model of hepatitis. The obtained data have shown the efficacy of the given substance compared to the reference drugs, such as thiotriazolin and silibor.

Key words: hepatoprotective activity, paracetamol hepatitis, triazole derivatives.

За последние 10 лет распространенность лекарственных поражений печени (ЛПП) многократно возросла, и в настоящее время сохраняется устойчивая тенденция к росту [1]. В США, Англии и Германии увеличивается число больных с острой печеночной недостаточностью лекарственного происхождения, прежде всего за счет приема парацетамола (ацетаминофена) с суицидальными попытками [2, 3]. В отдельных исследованиях (А. Canbey и соавт., 2008) эти формы по частоте стали превышать острую печеночную недостаточ-

ность вирусного происхождения. Последствия медикаментозных гепатитов с каждым годом становятся более тяжелыми и более острыми [4, 5]. Из-за распространения самолечения и бесконтрольного применения парацетамола в нашей стране нами была выбрана модель медикаментозного гепатита с использованием парацетамола. На основании проведенного первичного фармакологического скрининга было отобрано соединение 2.8, которое представляет собой 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол.



Целью нашей работы было изучение фармакологического действия 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола (соединение 2.8) при парацетамоловом гепатите.

Методы

Для доклинического изучения субстанция данного вещества наработана в лаборатории органического синтеза кафедры токсикологической и неорганической химии Запорожского государственного медицинского университета. Синтез замещенных 1,2,4-триазола проводился под руководством д.фарм.н., проф. А.И. Панасенко и д.фарм.н., проф. Е.Г. Кныша.

Используемая экспериментальная модель гепатита описана в методических разработках под редакцией академика АМН Украины О.В. Стефанова [6]. Гепатит моделировался внутрижелудочным введением парацетамола в дозе 1250 мг / кг 1 раз в сутки в виде суспензии в 2% растворе крахмального геля в течение 2 суток. Исследование вещества и препараты сравнения вводили за 1 час до и через 2 часа после введения парацетамола. Забор крови и тканей печени проводили через 20 часов после последнего введения парацетамола.

Исследования проведены на 35 белых нелинейных крысах обоих полов массой 200-260 г. Все крысы были разделены на 5 групп по 7 животных (группа 1 – интактные животные, группа 2 – контрольные животные, группа 3 – животные, получавшие парацетамол + тиотриазолин, парацетамол + силибор, парацетамол + исследуемое вещество). Крысы получены из питомника Института фармакологии и токсикологии АМН Украины (г. Киев). Животные содержались на стандартном пищевом рационе при природном световом режиме «день-ночь». Исследования проводились на основе «Правил доклинической оценки безопасности фармакологических средств (GLP)». Забой животных выполняли в соответствии с «Методическими рекомендациями по выведению животных из эксперимента» под эфирным наркозом.

В качестве биоматериала использовали сыворотку крови и гомогенат печени. Для приготовления гомогената печени навеску печени растирали на водяной бане в буферном растворе трис-НСl и центрифугировали [7].

Эффективность фармакологического действия оценивали по показателям антицитолического (аспартатаминотрансфераза (АсАТ), аланинаминотрансфераза (АлАТ), гама-глутаматаминотрансфераза (ГГТ) и щелочная фосфотаза (ЩФ)) действия (при помощи набора Сogma) [8, 9]. Состояние прооксидантно-антиоксидантного равновесия оценивали по содержанию продуктов ПОЛ и активности основных компонентов антиоксидантной системы (АОС) защиты организма. Среди промежуточных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) исследовали концентрацию первичных – диеновых, триеновых конъюгатов (ДК, ТК) и конечных продуктов ПОЛ, которые реагируют с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-активные продукты) [7].

Полученные данные после биохимического исследования, обрабатывали с помощью программы STATISTICA 6,0 (StatSoft Inc., № АХХR712D833214FAN5), где достоверность межгрупповых различий по данным экспериментов устанавливали с помощью t-критерия Стьюдента. Рассчитывали средние арифметические (М) и стандартные погрешности средней ($\pm m$). Использовался уровень статистической значимости различий результатов исследований – $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В эксперименте отмечалось значительное повышение активности АсАТ, АлАТ и ГГТ в сыворотке крови в контрольной группе (парацетамоловый гепатит) по отношению к интактной группе (на 94,45%, 96,57% и 41,56% соответственно) (табл. 1). Рост активности ЩФ в сыворотке крови на 48,39% свидетельствует о наличии холестаза и сопровождается атрофическими изменениями в печени.

Отметим, что применение 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола приводит к лучшему снижению активности АсАТ, АлАТ, ГГТ и ЩФ в сыворотке крови, чем референтные лекарственные средства тиотриазолин и силибор (на 61,11%, 75,33%, 65,27% и 61,67% соответственно, $p < 0,05$).

Таблица 1 – Показатели антицитолитического действия 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола при парацетамоловом гепатите

Группа	АсАт, ммоль/ч.л, X±m	АлАт, ммоль/ч.л, X±m	ГГТ, ммоль/ч.л, X±m	ЩФ, ммоль/ч.л, X±m
Интактные животные	121,63±412,586*	89,54±5,701*	2,96±0,547*	241,43±59,427*
	-94,45%	-96,57%	-41,56%	-48,39%
Контрольная патология	2190,30±176,530	2022,84±325,995	5,06±0,561	467,80±75,041
	100%	100%	100%	100%
Тиотриазолин	975,78±215,379*	1025,95±244,343*	4,50±0,243	254,43±35,913*
	-55,45%	-49,28%	-11,07%	-45,61%
Силибор	1015,32±192,805*	967,95±258,056*	6,75±0,349*	231,33±29,191*
	-53,86%	-52,15%	-33,40%	-50,55%
Соединение 2.8	851,81±58,570*	499,03±62,250*	1,76±0,134*	179,29±7,900*
	-61,11%	-75,33%	-65,27%	-61,67%

Примечание: * - достоверность $p \leq 0,05$.

Среди референтных лекарственных средств тиотриазолин лучше снижал активность АсАТ на 55,45 % соответственно. Силибор, в свою очередь лучше снижал АлАТ, ГГТ и ЩФ (на 52,15%, 33,40% и 50,55% соответственно, $p \leq 0,05$).

В результате исследования установлено резкое повышение уровня показателей ТБК-АП, ДК и ТК в контрольной патологии, чем у интактных животных.

В результате экспериментальных исследований установлено (табл. 2), что уровень конечного продукта – ТБК-АП снижался как

при введении 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола, так и при введении референтных лекарственных средств тиотриазолина и силибора, причем исследованное вещество снижало уровень ТБК-АП (на 12,52%, $p \leq 0,05$). Тиотриазолин снижал уровень ТБК-АП на 11,94%, а силибор на 8,47% соответственно.

Уровень промежуточных продуктов ПОЛ – ДК и ТК снижался при введении исследованного соединения на 86,56% и на 46,10% соответственно, ($p \leq 0,05$). При введении тиотриазолина уровень ДК и ТК снижался на 71,45% и на 14,35% соответственно, ($p \leq 0,05$),

Таблица 2 – Показатели ПОЛ и АОС при применении 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола при парацетамоловым гепатите

Группа	ТБК-АП, мкмоль/л, X±m	ДК, ммоль/л, X±m	ТК, ммоль/л, X±m	α-ТФ, ммоль/л, X±m
Интактные животные	516,87±6,186*	6,01±0,219*	5,61±0,981*	1,78±0,141*
	-14,95%	-62,64%	-43,38%	68,22%
Контрольная патология	607,69±30,769	16,09±0,648	9,57±1,299	1,06±0,139
	100%	100%	100%	
Тиотриазолин	535,11±11,205	4,59±0,184*	8,20±1,242	2,48±0,476*
	-11,94%	-71,45%	-14,35%	133,82%
Силибор	556,19±22,371*	1,81±0,080*	6,67±1,33*	1,56±0,106*
	-8,47%	-88,72%	-30,91%	47,30%
Соединение 2.8	531,58±8,321*	2,16±0,127*	5,16±0,646*	1,72±0,136*
	-12,52%	-86,56%	-46,10%	62,30%

Примечание: * - достоверность $p \leq 0,05$.

а при применении силибора на 88,72% и на 30,91% соответственно, ($p \leq 0,05$).

При введении лекарственных средств выявлен факт сохранения запасов эндогенного антиоксиданта α -ТФ. Уровень α -ТФ при введении 4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиола был выше по сравнению с контролем на 62,30%. Высокий уровень α -ТФ наблюдался при введении тиотразолина и был выше по сравнению с контролем на 133,82%. При использовании силибора происходило повышение уровня α -ТФ на 47,30%. Полученные данные были достоверны ($p \leq 0,05$).

Заключение

4-амино-5-(фуран-2-ил)-4Н-1,2,4-триазол-3-тиол показал лучшие показатели гепатопротекторной активности и антиоксидантного действия по сравнению с референтными лекарственными средствами тиотриазолином и силибором. Так, отмечалось существенное снижение активности АсАТ, АлАТ, ГГТ и ЩФ в сыворотке крови. Также исследованное соединение выражено снижало уровень конечного продукта – ТБК-АП и промежуточного продукта ПОЛ – ТК.

Литература

1. Andrade R., Lucena M., Fernandes M.C. et al. Drug-induced liver injuries analysis of 461 residences submitted to the Spanish registry a 10-years period // *Gastroenterology*. – 2005. – Vol. 129. – P. 512–521.
2. Jepsen P., Vialstrup H., Sorensen H. et al. A registrybased studio of the incident of liver disease in Denmark, 1996–2001 // *J. Hepatol.* – 2006. – Vol. 44 (suppl. 2). – P. 254.
3. Kaplowitz N. Drug induced hepatitis // *Chronic hepatitis: metabolic, cholestatic, viral and autoimmune* / Eds. M. Diel, N. Hayashi, M.P. Manns, T. Samerbruth. – Dordrecht. Springer, 2007. – P. 32–42.
4. Морозов С. Ю. Гепатопротекторы в практике врача–клинициста // *Русский медицинский журнал*, 2009. – Том 11, № 1. – С. 25.
5. Полунина Т.Е. Гепатология для практического врача / Т.Е. Полунина, И.В. Маев, Е.В. Полунина // под редакцией Маева И.В. – М.: Авторская Академия, 2009. – 350 с.
6. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації / За ред. член-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. — 528 с.
7. Биоэнергетика клетки. Химия патологических процессов: учебное пособие. / Д.И. Кузьменко, Т.В. Жаворонок, И.П. Мамонтова, В.В. Андрушкевич, А.М. Тырышкин / под ред. В.Ю. Сереброва и Г.А. Сухановой. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2008. – 180 с.
8. Рыжкина А. Патогенетическое обоснование применения эффективных гепатопротективных средств при экспериментальной токсической гепатопатии/ А.В. Рыжкина, И.Г. Ситников и др. // *Ярославская государственная медицинская академия, г. Ярославль*, 2004. – 2 с.
9. Ткач С.М. Эффективность и безопасность гепатопротекторов с точки зрения доказательной медицины // *Здоровье Украины*, 2009. – №6 – С. 7–10.

Поступила 15.10.2013 г.

Принята в печать 06.12.2013 г.

Сведения об авторах:

Белай И.М. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина;

Михайлюк Е.О. – ассистент кафедры клинической фармации, фармакотерапии и УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина;

Парченко В.В. – к.ф.н., доцент кафедры токсикологической и неорганической химии УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина;

Панасенко А.И. – д.ф.н., профессор, зав. кафедрой токсикологической и неорганической химии УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина;

Кньш Е.Г. – д.ф.н., профессор, зав. кафедрой управления и экономики фармации, медицинского и фармацевтического товароведения УЭФ ФПО «Запорожский государственный медицинский университет», Украина.

Адрес для корреспонденции: 69121, Украина, г. Запорожье, ул. Товарищеская, д.41, к. 37. E-mail: eomihayluk@mail.ru - Михайлюк Евгений Олегович.