

УДК 615.31:547.03

## ПОШУК РЕЧОВИН ІЗ КАРДІОПРОТЕКТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ В РЯДУ ПОХІДНИХ ГАЛОГЕНІДІВ 1-АЛКІЛ- ТА КАРБОКСІАЛКІЛ-4-ІЛІДЕНАМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛІЮ

**І.Ф.Бєленічев, Л.І.Кучеренко, Ю.А.Волчик, О.О.Нагорна\*, І.А.Мазур\*\*, Н.В.Парнюк, М.О.Авраменко, О.О.Портна**

Запорізький державний медичний університет  
Національний медичний університет ім. О.Богомольця\*  
НВО «Фарматрон»\*\*

*Ключові слова:* 4-аміно-1,2,4-триазол; галогеніди 1-алкіл- та карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолій; кардіопротективна дія; гостра токсичність

### SEARCH OF SUBSTANCES WITH THE CARDIOPROTECTIVE ACTIVITY IN THE SERIES OF DERIVATIVES OF HALOGENIDES 1-ALKYL- AND CARBOXYALKYL-4-YLIDENEAMINO-1,2,4-TRIAZOLE

**I.F.Belenichev, L.I.Kucherenko, Yu.A.Volchik, O.O.Nagorna\*, I.A.Mazur\*\*, N.V.Parnyuk, M.O.Avramenko, O.O.Portna**  
Zaporizhzhia State Medical University, National Medical University named after O.O.Bogomolets\*,  
"Pharmatron" Research and Production Association\*\*

*Key words:* 4-amino-1,2,4-triazole; halogenides 1-alkyl- and carboxyalkyl-4-ylideneamino-1,2,4-triazole; cardioprotective effect; acute toxicity

*In spite of achievements in the sphere of highly effective drugs creation for treating cardiovascular diseases the problem is still urgent since mortality is high because of these diseases, and it takes the 2-nd – 3-d place among the population of industrially developed countries. In the Research and Production Association "Pharmatron" a new approach concerning creation of new effective anti-anginal drugs has been developed; it is a chemical modification of position 1 and 4 of 1,2,4-triazole molecule by introduction of the structural fragments of the most active medicines and structures imitating sites of adrenergic receptors. Bromides of 1-(alkyl) carboxyalkyl-4-ylideneamino-1,2,4-triazole have been synthesized at the Pharmaceutical Chemistry department of Zaporizhzhia State Medical University under the supervision of professor I.A.Mazur. The cardioprotective activity of 12 compounds – derivatives of 1-carboxyalkyl-4-ylideneamino-1,2,4-triazole bromides and 1-alkyl-4-ylideneamino-1,2,4-triazole bromides has been investigated. The experiments were conducted in 510 white outbred male rats weighing 120-130 g from the mouse bank of the Institute of Pharmacology and Toxicology of the AMS of Ukraine. Determination of acute toxicity of the compounds investigated was conducted according to Kerber method. It has been found that  $LD_{50}$  of these compounds when introduced intraabdominally to rats is within 29.5-295 mg/kg. It allows to refer the compounds under research to the III and IV classes of toxicity (moderate or low toxic). The model of acute myocardial infarction in rats was used for studying the cardioprotective activity of the compounds, the infarction was modeled by staged introduction of isadrin and pituitrin. It has been found that intraabdominal introduction of 8 compounds of 12 ones in the dose of 1/100  $LD_{50}$  to rats with myocardial infarction leads to decrease of hyperenzymemia of cardiospecific isoenzymes of creatine phosphokinase (MB CPK) and lactate dehydrogenase (LDH-1), which play the role of biochemical markers of the myocardium damage, and decrease of electrophysiological marker  $\Sigma_2ST$  during electrocardiography. The structural fragments of the molecule, which play a determinative role in manifestation of the cardioprotective effect of such series as  $\beta$ -phenylethyl, carboxy propyl, octyl in position 1 and the presence of amino- and n-methoxybensilidenamino-groups in position 4, have been revealed. It has been determined that compound MT significantly exceeds the therapeutical efficacy of metoprolol by decrease of MB CPK and LDH-1 activity in the blood serum of rats with myocardial infarction, as well as decrease of ECG ST amplitude.*

Початок нинішнього тисячоліття ознаменувався значним поширенням серцево-судинних захворювань, що зайняли 2-3 місце в структурі

смертності промислово розвинених країн. Одним з грізних ускладнень, смертність від якого коливається від 10% до 50% у хворих з серцево-судинною па-

тологією, є хронічна серцева недостатність. Поширеність серцевої недостатності продовжує зростати і становила на 2006 рік 6,5 млн випадків в Європі і 5 млн у США [1, 3, 9, 10, 13, 16]. Лідуюче місце серед причин розвитку серцевої недостатності займає ІХС і один з її грізних проявів – інфаркт міокарда. Тому розробка засобів для лікування цих патологій серцево-судинної системи є актуальною задачею

**І.Ф.Бєленічев** – доктор біол. наук, професор, завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету

**О.А.Нагорна** – канд. мед. наук, доцент кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О. Богомольця (м. Київ)

**І.А.Мазур** – доктор фармац. наук, професор кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, президент НВО «Фарматрон» (м. Запоріжжя)

сучасної медицини. Згідно з рекомендаціями Європейського співтовариства кардіологів важливими компонентами комплексної терапії серцевої недостатності, особливо після перенесеного інфаркту міокарда, є діуретики, інгібітори АПФ і  $\beta$ -адреноблокатори [1, 3, 4, 9, 14, 16]. Найкращим вважається застосування адреноблокаторів останнього покоління. Так, у гострий період інфаркту міокарда самостійно призначають парентерально кардіоселективний  $\beta_1$ -адреноблокатор метопролол, який на 23-36% знижує смертність, обмежує зону некрозу, частоту виникнення аритмій [1, 3, 12, 13, 15, 17]. Однак, метопролол ефективний не при всіх формах інфаркту (неускладнені, передньої локалізації) має ряд побічних реакцій. Найкращим вважається застосування «гібридного» – ( $\alpha$ + $\beta$ )адреноблокатора останнього покоління – карведилолу [1, 4, 14, 15, 16]. Карведилол сприятливо діє на внутрішньосерцеву і регіональну гемодинаміку, нормалізує кисневий режим міокарда, виявляє вазодилатаційний ефект, знижує загальний периферичний опір судин, зменшує навантаження на серце. Застосування в комплексній терапії карведилолу у хворих у гострому періоді ІМ значно підвищує клінічну ефективність проведеної терапії, покращує толерантність до фізичного навантаження і знижує ризик розвитку ускладнень. Сприятливий вплив карведилолу та меншою мірою атенололу на основні показники центральної гемодинаміки створює передумови для запобігання процесам постінфарктного ремоделювання [1, 4, 16]. Однак, карведилол не знижує АТ в умовах гіпертонічного кризу, вимагає додаткового комбінування в умовах деяких форм хронічної серцевої недостатності; у гострий період інфаркту міокарда не проявляє належної ефективності і вимагає при цьому додатково-

го комбінування (інгібітори АПФ, діуретики, тромболітики). Виявлені побічні реакції карведилолу також обмежують його застосування в клініці. Вищезазначене послужило для створення принципово нового антиангінального препарату оригінальної структури. Особливий інтерес фармакологів, хіміків і фахівців в області Drug-Design в якості молекули-мішені для створення високоефективних антиангінальних лікарських засобів викликає 1,2,4-триазол. В ряду S-заміщених 1,2,4-триазолу-5-тіонів була відібрана сполука морфолінію 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат з високою антиоксидантною і протиішемічною активністю, що стало надалі широко застосовуваним метаболітогнним кардіопротектором «Тіотриазолін» [2, 6-8].

Грунтуючись на результатах аналізу «структура – дія» серед сучасних антиангінальних препаратів ( $\beta$ -адреноблокатори, блокатори кальцієвих каналів, активатори калієвих каналів і т. п.), нами було теоретично обґрунтовано і вибрано напрямок по створенню антиангінальних засобів. Даний напрямок полягає в хімічній модифікації 1 і 4 положення молекули 1,2,4-триазолу шляхом введення структурних фрагментів найбільш активних антиангінальних препаратів і структур, що імітують сайти адренергічних рецепторів, та отримання бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію і бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію. Метою цієї роботи є пошук речовин з кардіопротективною активністю в ряду похідних бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол і бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію.

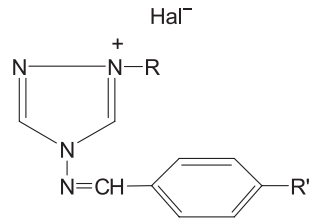
### Матеріали та методи

На кафедрі фармацевтичної хімії під керівництвом професора І.А.Мазура проводяться систематичні дослідження з пошуку біологічно активних спо-

лук серед N- і S-заміщених 1,2,4-триазолу і по створенню на їх основі лікарських препаратів. У даній роботі досліджували кардіопротективну активність 12 сполук похідних бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол і бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію (табл. 1, 2). Речовини синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ під керівництвом проф. І.А.Мазура. Експериментальну частину проводили на 510 білих безпородних щурах самцях масою 120-130 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології НАМН України. Тривалість карантину (акліматизаційного періоду) для всіх тварин становила 14 днів. Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини (поведінка і загальний стан), двічі на день тварин спостерігали в клітках (захворюваність і смертність). Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в експеримент, були розподілені на групи за допомогою методу рандомізації. Тварини, що не відповідають критеріям, були виключені з дослідження протягом карантину. Експериментальних тварин утримували на стандартному раціоні в звичайних умовах віварію. Всі маніпуляції на лабораторних тваринах були проведені згідно з положенням про використання тварин в біомедичних дослідженнях (Страсбург, 1986 р. зі змінами, внесеними в 1998 р.), «Загальноетичними принципами експериментів на тваринах» (Київ, 2001), які узгоджені з положеннями «європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей»; протоколи експериментальних досліджень та їх результати затверджені рішенням Комісії з біоетики ЗДМУ (протокол №2 від 20 березня 2014 р.). Визначення гострої токсичності 12 досліджуваних сполук про-

Таблиця 1

**Структура бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію**



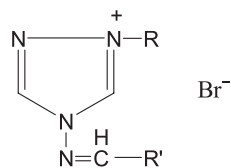
| Шифр   | ЛД <sub>50</sub> , мг/кг | R   | R <sup>1</sup>                   |
|--------|--------------------------|---|----------------------------------|
| ЖЕ-86  | 95±17,3                  | CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH | N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| ЖЕ-110 | 112±22,1                 | CH-C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> -CH-COOH               | N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| ЖЕ-91  | 115±12,8                 | CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH                  | N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> |
| ЖЕ-81  | 134,5±15,6               | CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH | OCH <sub>3</sub>                 |
| ЖЕ-79  | 280,6±26,3               | CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH | H                                |
| ЖЕ-87  | 86,7±17,8                | CH <sub>3</sub> -CH-CH <sub>2</sub> -COOH               | Cl                               |

водили за методом Кербера. Для встановлення середньосмертельної дози (ЛД<sub>50</sub>) досліджуваної сполуки її вводили внутрішньоочеревинно у вигляді водного розчину одноразово 5 групам лабораторних тварин (безпородні білі щури) по 6 особин у кожній (усього 360 щурів). Вводили кілька доз, включаючи дозу, яка не викликає загибелі жодної тварини, і дозу, що викликає загибель всіх тварин у гру-

пі [5]. Дослідження кардіопротективної активності сполук проводили на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів, який моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину за схемою: пітуїтрин – 0,5 ОД/кг – внутрішньоочеревинно, через 20 хв – ізадрин 100 мг/кг підшкірно, через 6 годин ін'єкція ізадрину повторювалася, і через 24 години вводилися обидва агенти в тих же дозах [11].

Таблиця 2

**Структура бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію**



| Шифр   | ЛД <sub>50</sub> , мг/кг | R   | R <sup>1</sup> |
|--------|--------------------------|---|----------------|
| АЕ-341 | 130±20                   | (CH <sub>2</sub> ) <sub>7</sub> CH <sub>3</sub>             |                |
| АЕ-401 | 165±15                   | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> |                |
| АЕ-345 | 29,5±4,2                 | (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>             |                |
| АЕ-347 | 129±31                   | (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>3</sub>             |                |
| АЕ-280 | 155±27                   | (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> CH <sub>3</sub>             |                |
| МТ     | 295±47                   | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> | H              |

У роботі використовувався пітуїтрин для ін'єкцій виробництва АВ «Endokrininiai» (Литва) та ізадрину гідрохлорид виробництва SIGMA – ALDRICH (USA). Ця модель відтворює дрібновогнищевий інфаркт міокарда. Досліджувані сполуки та референс-препарат вводили тричі протягом доби внутрішньоочеревинно (цей шлях забезпечує простоту введення, високу біодоступність і відповідає передбачуваному в клінічній практиці внутрішньовенному введенню препарату) через 30 хв після кожної ін'єкції ізадрину: сполуки в дозі 1/100 ЛД<sub>50</sub>, метопролол – 10 мг/кг [4]. У роботі використовувався метопролол – 1% розчин для ін'єкцій в ампулах по 5 мл виробництва Astra Zeneca UK Ltd. (Швеція).

Тварини контрольної (інфаркт міокарда) та інтактної (здорові) груп отримували в аналогічному обсязі фізіологічний розчин внутрішньоочеревинно. В кожній експериментальній групі було по 10 тварин. Кардіопротективну активність досліджуваних сполук оцінювали за зниженням сегмента ST на ЕКГ, зниженням біохімічних маркерів ішемічного ушкодження міокарда – активності кардіоспецифічного ізоензиму креатинінфосфокінази (МВ-КФК) і лактатдегідрогенази (ЛДГ-1).

У тварин реєструвалася ЕКГ шляхом накладання на кінцівки голчастих електродів за загальноприйнятою схемою в стандартних відведеннях під тіопентал-натрієвим наркозом (40 мг/кг) [11]. Аналіз ЕКГ проводився на комп'ютерному аналізаторі CardioCom – 2000plus (ХАІ-медика, Україна). В якості електрокардіографічного критерію ефективності протиішемічної дії препарату використовувався метод ЕКГ картування [11] з розрахунком показників сумарного ступеня зміщення сегмента ST щодо ізолінії (Σ<sub>Δ</sub>ST). Активність МВ-КФК та ЛДГ-1 в сироватці крові визначали на

автоматичному біохімічному Prestige 24i, використовуючи набори фірми Cormay.

Аналіз нормальності розподілу оцінювали за критеріями Колмогорова-Смирнова (D) і Lilliefors, а також Shapiro – Wilk (W), якому віддавали перевагу. Дані представлені у вигляді середнього та стандартної помилки репрезентативності вибіркового середнього значення. У разі розподілу, відмінного від нормального або аналізу порядкових змінних використовували U-критерій Mann-Whitney для 2-х незв'язаних вибірок, а для більшого числа вибірок – критерій Kruskal-Wallis H з подальшим порівнянням за Games-Howell. Результати дослідження оброблені із застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc, №AXX712D 833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Окремі статистичні процедури і алгоритми реалізовані у вигляді спеціально написаних макросів у відповідних програмах. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

### Результати та їх обговорення

Результати дослідження гострої токсичності показали, що значення  $LD_{50}$  похідних 1-алкіл-, 1-(1-карбоксіалкіл)-4-бензіліденаміно-1,2,4-триазолію броміду при внутрішньоочеревинному їх введенні білим безпородним щурам знаходяться в межах 29,5-290 мг/кг, і з урахуванням цього дані сполуки відносяться до ступеня помірно (III клас токсичності) і малотоксичних (IV клас токсичності) [11]. Величина  $LD_{50}$  в цьому ряду залежить від довжини алкільного радикалу в 1 положенні гетероциклу 1,2,4-триазолу, від характеру заступника в п-положенні бензіліденаміну в положенні 4. Так, введення метоксигрупи в п-положення бензілі-

денамінового залишку або протону знижує токсичність (MT, ЖЕ-81, ЖЕ-110), а введення диметиламінової групи або хлору призводить до її підвищення.

Збільшення числа вуглецевих атомів у алкільних замісників від 7 до 9 призводить до помірного зниження токсичності сполук (АЕ-345, АЕ-341, АЕ-347), а збільшення вуглецевих атомів в 1-карбоксіалкільному залишку – до її підвищення.

В результаті проведених біохімічних та електрофізіологічних досліджень було встановлено, що моделювання інфаркту міокарда призводить до достовірного підвищення активності кардіоспецифічних креатинінфосфокінази (МВ-КФК) і лактатдегідрогенази (ЛДГ-1) у сироватці крові тварин на тлі збільшення амплітуди інтервалу ST. Даний факт свідчить про ішемічне пошкодження міокарда. Введення тваринам з інфарктом міокарда сполук похідних 4-аміно-1,2,4-триазолу в дозі 1/100  $LD_{50}$  призводило в різному ступені вираженості до зменшення ішемічного ушкодження міокарда (табл. 3). Так, серед 12 сполук похідних бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол і бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол у 8 речовин була виявлена кардіопротективна активність. Призначення цих сполук тваринам з інфарктом міокарда призводило до зниження гіперферментемії МВ-КФК та ЛДГ-1 та зменшення  $\Sigma_dST$  на ЕКГ. Причому сполуки з шифром МТ, АЕ-401, ЖЕ-81 перевершують за ефективністю метопролол за всіма досліджуваними показниками ( $p < 0,05$ ). Сполуки з шифрами ЖЕ-79 і АЕ-341 були порівняні з референс-препаратом за величинами показників кардіопротекції. Досліджені сполуки за своєю структурою відрізняються характером заступника в 1 і 4 положеннях 1,2,4-триазолу.

При зіставленні рівня кардіопротективної активності сполук

з характером радикалу в 1 положенні виявляється чітка залежність «структура – дія». Так, сполуки МТ, ЖЕ-81, АЕ-401, ЖЕ-79, ЖЕ-86, ЖЕ-87, АЕ-341, що мають у цьому положенні вуглеводневий ланцюжок з парною кількістю атомів вуглецю, проявляють виражені кардіопротективні властивості. Речовини з непарною (АЕ-345, АЕ-347, ЖЕ-91, АЕ-280, ЖЕ-110) кількістю атомів чинять слабку (АЕ-345, АЕ-357) кардіопротективну дію або не спричиняють кардіопротективної дії (ЖЕ-91, АЕ-280, ЖЕ-110), посилюючи ішемічні ушкодження міокарда. Наявність такої закономірності дозволяє припустити, що активні сполуки комплементарні рецепторним субстанціям у міокарді (імовірно адренергічним рецепторам), тобто механізм дії цих похідних 1,2,4-триазолу визначається взаємодією з рецепторними структурами, від функціонального стану яких залежать ішемічні зміни в міокарді. Привертає увагу і той факт, що жирно-ароматичний  $\beta$ -фенілетильний радикал у положенні 1 гетероциклу 1,2,4-триазолу (АЕ-401) визначає більш виражений кардіопротективний ефект, ніж бензіліденаміновий радикал у положенні 4. Дане спостереження підтверджується прикладом сполуки МТ, у якій на тлі вільної аміногрупи в положенні 4 та наявності в 1 положенні 1,2,4-триазолу виявляється більш висока кардіопротективна активність, ніж у сполуки АЕ-401. Модифікація сполук шляхом заміни радикалу в 4 положенні 1,2,4-триазолового азагетероциклу також впливає на їх кардіопротективну дію, але в меншому ступені вираженості. Так, введення в пара-положення бензольного ядра замісника диметиламінової групи (ЖЕ-86) або хлору (ЖЕ-87) практично не чинить достовірного впливу на величину кардіопротективної активності у досліджуваних сполуках. Введення

Таблиця 3

**Вплив похідних 4-аміно-1,2,4-триазолу на показники ішемічного ушкодження серця у тварин з експериментальним інфарктом міокарда**

| Експериментальна група               | МВ-КФК, МЕ/л            | ЛДГ-1, мМ/л/ч           | $\Sigma_{\Delta}ST$ (мкВ) |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Інфаркт міокарда + АЕ-341 (n=10)     | 28,1±2,21*<br>-58,5%    | 0,91±0,09*<br>-44%      | 100±17*<br>-54%           |
| Інфаркт міокарда + АЕ-401 (n=10)     | 17,5±0,45*,**<br>-74,1% | 0,78±0,05*,**<br>-52%   | 45±3*,**<br>-80%          |
| Інфаркт міокарда + АЕ-345 (n=10)     | 52,7±4,73*<br>-22%      | 1,41±0,15<br>-12,9%     | 167±17*<br>-23,0%         |
| Інфаркт міокарда + АЕ-347 (n=10)     | 63,1±5,17               | 1,58±0,24               | 210±22                    |
| Інфаркт міокарда + АЕ-280 (n=10)     | 74,1±4,88               | 1,75±0,23               | 221±55                    |
| Інфаркт міокарда + МТ (n=10)         | 16,7±0,45*,**<br>-75,3% | 0,65±0,05*,**<br>-60%   | 32±2*,**<br>-86%          |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-86 (n=10)      | 41,0±2,57*<br>-39,4%    | 1,00±0,07*<br>-38,2%    | 139±31*<br>-36%           |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-110 (n=10)     | 76,2±4,89               | 1,75±0,22               | 227±43                    |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-91 (n=10)      | 63,8±4,82               | 1,55±0,23               | 211±56                    |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-81 (n=10)      | 19,1±2,00*<br>-71,8%    | 0,72±0,05*,**<br>-55,6% | 58±5*,**<br>-73,3%        |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-79 (n=10)      | 28,5±2,11*<br>-58%      | 0,98±0,04*<br>-40%      | 100±12*<br>-54%           |
| Інфаркт міокарда + ЖЕ-87 (n=10)      | 43,2±3,22*<br>-36,1%    | 1,10±0,06*<br>-32,1%    | 131±34*<br>-40%           |
| Інфаркт міокарда + метопролол (n=10) | 31,0±1,20*<br>-54,2%    | 0,98±0,05*<br>-40%      | 100±16*<br>-54%           |
| Контрольна (n=10) (інфаркт міокарда) | 67,7±5,23               | 1,62±0,11               | 217±35                    |
| Інтактна (n=10)                      | 14,2±1,15               | 0,35±0,02               | 0                         |

Примітки:

1) \* –  $p < 0,05$ , достовірність відмінностей порівняно з показниками групи контролю;

2) \*\* –  $p < 0,05$ , достовірність відмінностей порівняно з показниками групи, тварини якої одержували метопролол.

в це положення метоксигрупи (ЖЕ-81) призводить до підвищення шуканої активності. Порівняльна оцінка кардіопротективних та фізико-хімічних властивостей сполук даного ряду виявляє найбільшу перспективність сполуки під робочим шифром МТ (1-( $\beta$ -фенілетил)-4-аміно-1,2,4-триазолію бромід), яка є нейтральною і стійкою у водних розчинах, малотоксичною, проявляє ефект у дозі 1/100 ЛД<sub>50</sub> [17]. Так, введення сполуки МТ шурам з інфарктом міокарда у ви-

щезазначеній дозі внутрішньо-очеревинно призводило до зниження гіперферментемії МВ-КФК на 75,3%, ЛДГ-1 – на 60%, а також зменшувало відхилення сегмента ST на ЕКГ на 72%.

Введення експериментальним тваринам на тлі інфаркту міокарда референс-препарату метопрололу викликало більш помірне зниження біохімічних (МВ-КФК на 54,2% і ЛДГ-1 на 40%) та електрофізіологічних (ST на 49,3%) маркерів ішемічного ушкодження серця.

Отримані результати є експериментальним обґрунтуванням для більш поглибленого вивчення кардіопротективної, протиішемічної і  $\beta$ -адреноблокуючої дії сполуки МТ.

#### ВИСНОВКИ

1. У результаті проведених досліджень було встановлено, що досліджувані сполуки, похідні бромідів 1-алкіл(карбоксіалкіл)-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію належать до III і IV класу токсичності, тому що їх ЛД<sub>50</sub> при введенні знаходиться в межах 29,5-290 мг/кг.

2. Величина ЛД<sub>50</sub> в ряду бромідів 1-алкіл(карбоксіалкіл)-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію залежить від довжини алкільного радикалу в 1 положенні молекули 1,2,4-триазолу, від характеру замісника в п-положенні бензиліденаміну в положенні 4 – введення метокси-групи або протону в п-положення бензиліденаміну знижує токсичність, а введення диметиламінової групи або хлору приводить до її підвищення.

3. Серед 12 сполук бромідів 1-алкіл(карбоксіалкіл)-4-іліденаміно-1,2,4-триазолію, що вводяться в дозі 1/100 ЛД<sub>50</sub> тваринам з інфарктом міокарда, 8 проявляють кардіопротективну активність, спрямовану на зменшення гіперферментемії кардіоспецифічних ізоензимів (МВ-КФК і ЛДГ-1) і зниження амплітуди інтервалу ST на ЕКГ.

4. Кардіопротективна активність у ряду бромідів 1-алкіл(карб-оксіалкіл)-4-іліденаміно-1,2,4-триазол залежить від характеру замісників в 1 положенні ( $\beta$ -фенілетил, карбоксіпропіл, октил) і 4 положенні (аміно-, п-метоксибензиліденаміногрупи).

5. Сполуки АЕ-401, Ж-81 і, особливо, МТ за ступенем зниження активності МВ-КФК та ЛДГ-1 у сироватці крові тварин з інфарктом міокарда, а також зменшення амплітуди ST на ЕКГ достовірно перевищують терапевтичну ефективність метопрололу.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Анисенкова А.Ю. Факторы риска и клинические проявления ишемической болезни сердца у женщин с различной степенью поражения коронарных артерий: Дис. ... канд. мед. наук. – С.Пб., 2006. – 126 с.
2. Беленичев И.Ф., Мазур И.А., Кучеренко Л.И. Фармакология: Коллективная научная монография. – Новосибирск: Изд-во «СибАК», 2013. – 194 с.
3. Горева Л.А. Острый инфаркт миокарда у больных сахарным диабетом 2 типа: эффективность и безопасность зофеноприла и периндоприла, включая влияние на состояние оксидативного стресса и эндотелиальную функцию: Дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 102 с.
4. Коняхин А.Ю. Современные патогенетические подходы к коррекции ишемии миокарда: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2007. – 47 с.
5. Лойт А.О., Савченков М.Ф. Профилактическая токсикология: Руководство для токсикологов-экспериментаторов. – Иркутск: Изд-во Иркут. ун-та, 1996. – 288 с.
6. Мазур И.А., Волошин Н.А., Визир В.А., Беленичев И.Ф. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии. – Запорожье: Печатный мир, 2011. – 303 с.
7. Пат. №2404974 РФ, МПК С 07 D 249/08 (2006.01), А 61 Р 9/04 (2006.01), А 61 Р 9/10 (2006.01), А 61 Р 9/12 (2006.01). Бромид 1-(β-фенилэтил)-4-амино-1,2,4-триазолия (МТ), обладающий кардиопротективным, противоишемическим, антигипертензивным, антиоксидантным, протеин-синтетическим и энерготропным действием / И.А.Мазур, И.Ф.Беленичев, Ю.М.Колесник, Л.И.Кучеренко, Н.А.Волошин, А.В.Абрамов, И.С.Чекман, Н.А.Горчакова, М.И.Загородний, В.И.Мамчур, Р.С.Довгань, Г.В.Георгиевский; заявитель и патентообладатель – ООО «НПО «Фарматрон». – №2008148765. – Заявл.: 10.12.2008. Оpubл.: 27.11.2010.
8. Пат. №92692 Україна, МПК А 61 К 31/41, С 07 D 249/00, А 61 Р 9/00, А 61 К 9/20, А 61 К 9/08. Лікарський засіб для лікування ішемічної хвороби серця та гіпертонічної хвороби / І.А.Мазур, І.Ф.Беленічев, Ю.М.Колесник, Л.І.Кучеренко, М.А.Волошин, А.В.Абрамов, І.С.Чекман, Н.О.Горчакова, М.І.Загородній, В.Й.Мамчур, Р.С.Довгань, Г.В.Георгієвський; заявник і патентовласник – ТОВ «НВО «Фарматрон». – №а200906983. – Заявл.: 03.07.2009. Оpubл.: 25.11.2010. – Бюл. №22.
9. Рекомендації Української асоціації кардіологів з профілактики артеріальної гіпертензії: Посібник з Національної програми профілактики артеріальної гіпертензії. – 2004. – 83 с.
10. Рылова А.К., Розанов А.В. // Сердце. – 2008. – №4. – С. 190-196.
11. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
12. Трешкур Т.В. // Вестник аритмол. – 2002. – №30. – С. 31-39.
13. Bakris G.L. // JAMA. – 2013. – Vol. 292, №11. – P. 2227-2236.
14. Expert consensus document on β-adrenergic receptor blockers. The task force on beta-blockers of European Society of Cardiology // Eur. Heart J. – 2011. – Vol. 25. – P. 1341-1362.
15. Packer M. // N. Engl. J. Med. – 2011. – Vol. 31, №344 (22). – P. 1651-1658.
16. Shaddy R. // JAMA. – 2011. – Vol. 298, №9. – P. 1171-1179.
17. White W. Blood pressure monitoring in cardiovascular medicine and therapeutcs. – New Jersey: Humana Press, 2010. – 308 p.

**ПОШУК РЕЧОВИН ІЗ КАРДІОПРОТЕКТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ В РЯДУ ПОХІДНИХ ГАЛОГЕНІДІВ 1-АЛКІЛ-ТА КАРБОКСІАЛКІЛ-4-ІЛІДЕНАМІНО-1,2,4-ТРИАЗОЛІУ**

**І.Ф.Беленічев, Л.І.Кучеренко, Ю.А.Волчик, О.О.Нагорна\*, І.А.Мазур\*\*, Н.В.Парнюк, М.О.Авраменко, О.О.Портна**  
**Запорізький державний медичний університет, Національний медичний університет ім. О.Богомольця\*,**  
**НВО «Фарматрон»\*\***

Ключові слова: 4-аміно-1,2,4-триазол; галогеніди 1-алкіл- та карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазолі; кардіопротективна дія; гостра токсичність

Незважаючи на досягнуті успіхи в області створення високоєфективних засобів лікування серцево-судинних захворювань, проблема залишається актуальною – смертність від цієї патології залишається високою і займає 2-3 місце серед населення промислово розвинених країн. У НВО «Фарматрон» був розроблений новий напрямок зі створення нових ефективних антиангінальних засобів, який полягає в хімічній модифікації 1 і 4 положення молекули 1,2,4-триазолу шляхом введення структурних фрагментів найбільш активних лікарських препаратів і структур, що імітують сайти адренергічних рецепторів. Були отримані броміди 1-(алкіл) карбоксіалкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол, синтезовані на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ під керівництвом проф. І.А.Мазура. Була досліджена кардіопротективна активність 12 сполук похідних бромідів 1-карбоксіалкіл-4-іліденаміно-

1,2,4-триазол і бромідів 1-алкіл-4-іліденаміно-1,2,4-триазол. Експериментальну частину проводили на 510 білих беспородних щурах самцях масою 120-130 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології НАМН України. Визначення гострої токсичності досліджуваних сполук проводили за методом Кербера. Встановлено, що  $LD_{50}$  даних сполук при введенні щурам знаходяться в межах 29,5-295 мг/кг. Це дозволяє віднести досліджені сполуки до III і IV класу токсичності (помірно або малотоксичні за ступенем токсичності). Дослідження кардіопротективної активності сполук проводили на моделі гострого інфаркту міокарда у щурів, який моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину. Було встановлено, що введення 8 з 12 сполук у дозі 1/100  $LD_{50}$  щурам з інфарктом міокарда призводить до зменшення гіперферментемії кардіоспецифічних ізоферментів креатинфосфокінази (МВ-КФК) і лактатдегідрогенази (ЛДГ-1), які відіграють роль біохімічних маркерів пошкодження міокарда, і до зниження електрофізіологічного маркера –  $\Sigma_dST$  при електрокардіографії. Були виявлені структурні фрагменти молекули, які відіграють визначальну роль у прояві кардіопротективної дії у сполук даного ряду –  $\beta$ -фенілети́л, карбоксипропіл, октил у положенні 1 і наявність аміно- і п-метоксибензиліденаміногрупи в положенні 4. Встановлено, що сполука МТ за ступенем зниження активності МВ-КФК та ЛДГ-1 в сироватці крові тварин з інфарктом міокарда, а також зменшення амплітуди ST на ЕКГ достовірно перевищує терапевтичну ефективність метопрололу.

### ПОИСК ВЕЩЕСТВ С КАРДИОПРОТЕКТИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ ГАЛОГЕНИДОВ 1-АЛКИЛ- И КАРБОКСИАЛКИЛ-4-ИЛИДЕНАМИНО-1,2,4-ТРИАЗОЛИЯ

**И.Ф.Беленичев, Л.И.Кучеренко, Ю.А.Волчик, Е.А.Нагорная\*, И.А.Мазур\*\*, Н.В.Парнюк, Н.А.Авраменко, Е.А.Портная**  
**Запорожский государственный медицинский университет, Национальный медицинский университет**  
**им. А.Богомольца\*, НПО «Фарматрон»\*\***

Ключевые слова: 4-амино-1,2,4-триазол; галогениды 1-алкил- и карбоксиалкил-4-илиденамино-1,2,4-триазолий; кардиопротективное действие; острая токсичность

Несмотря на достигнутые успехи в области создания высокоэффективных средств лечения сердечно-сосудистых заболеваний, проблема остается актуальной – смертность от этой патологии остается высокой и занимает 2-3 место среди населения промышленно развитых стран. В НПО «Фарматрон» было разработано новое направление по созданию новых эффективных антиангинальных средств, которое заключается в химической модификации 1 и 4 положения молекулы 1,2,4-триазола путем введения структурных фрагментов наиболее активных лекарственных препаратов, и структур, имитирующих сайты адренергических рецепторов. Были получены бромиды 1-(алкіл) карбоксиалкіл-4-илиденаміно-1,2,4-триазолия, синтезированные на кафедре фармацевтической химии ЗГМУ под руководством проф. И.А.Мазура. Была исследована кардиопротективная активность 12 соединений производных бромидов 1-карбоксиалкіл-4-илиденаміно-1,2,4-триазол и бромидов 1-алкіл-4-илиденаміно-1,2,4-триазолия. Экспериментальную часть проводили на 510 белых беспородных крысах самцах массой 120-130 г, полученных из питомника Института фармакологии и токсикологии НАМН Украины. Определение острой токсичности исследуемых соединений проводили по методу Кербера. Установлено, что  $LD_{50}$  данных соединений при внутрибрюшинном введении крысам находятся в пределах 29,5-295 мг/кг. Это позволяет отнести исследованные соединения к III и IV классу токсичности (умеренно или малотоксичные по степени токсичности). Исследование кардиопротективной активности соединений проводили на модели острого инфаркта миокарда у крыс, который моделировали поэтапным введением изадрина и питуитрина. Было установлено, что внутрибрюшинное введение 8 из 12 соединений в дозе 1/100  $LD_{50}$  крысам с инфарктом миокарда приводит к уменьшению гиперферментемии кардиоспецифических изоферментов креатинфосфокиназы (МВ-КФК) и лактатдегідрогеназы (ЛДГ-1), играющих роль биохимических маркеров повреждения миокарда, и снижению электрофизиологического маркера –  $\Sigma_dST$  при электрокардиографии. Были выявлены структурные фрагменты молекулы, сыгравшие определяющую роль в проявлении кардиопротективного действия у соединений данного ряда –  $\beta$ -фенилэтил, карбоксипропил, октил в положении 1, и аміно- и п-метоксибензиліденаміногрупи в положении 4. Установлено, что соединение МТ по степени снижения активности МВ-КФК и ЛДГ-1 в сыворотке крови животных с инфарктом миокарда, а также по уменьшению амплитуды ST на ЭКГ достоверно превышает терапевтическую эффективность метопролола.

Адреса для листування:  
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.  
Тел. (61) 224-64-25. E-mail: farm\_chem@bigmir.net.  
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 14.04.2014 р.