

3. Sjatynja, M. L., Popovych, V. P., Glushhenko O. M. et. al. (2011). Indyvidual'ne vygotovlennja likiv v aptekah. Farmaceutychnyj chasopys, 4, 90–95.
4. Carvalho, M., Tuleu, C., Taylor, K. (2008). Current Compounding Practices in Europe. International Journal of Pharmaceutical Compounding, 2, 94–99.
5. Vail, J., Naddeo, A. M., Kinget, R. et. al. (2008). Compounding Around the World. International Journal of Pharmaceutical Compounding, 2, 102–115.
6. Kolesnik, M. (2007). Jekstemporal'naja receptura: realii i perspektivy. Provizor, 19, 57–60.
7. Kolesnik, M. (2007). Jekstemporal'noe proizvodstvo: byt' ili ne byt'? Provizor, 3, 8–12.
8. Kosjachenko, K. L., Nemchenko, A. S. (2011). Analiz suchasnyh organizacijno-ekonomichnyh problem vygotovlennja likars'kyh zasobiv v umovah apteky. Upravlinnja, ekonomika ta zabezpechennja jakosti v farmacii, 2 (16), 34–39.
9. Krasnjuk, I. I., Sboev, G. A. (2006). Problemy garmonizacii aptechnoj praktiki s mezhdunarodnoj sistemoj farmaceuticheskoj pomoshhi. Remedium, 8, 38–40.
10. Kryvov'jaz, O. V., Golod, A. S. (2011). "Personal'ni liky" jak racional'nyj shljah vidrozhennja ekstemporal'noi' receptury v Ukraini. Aktual'ni pytannja farmaceutychnoi' i medychnoi' nauky ta praktyky, 24 (2), 81–83.
11. Ponomareva, E. A., Tjurenkov, I. N. (2010). Realii aptechnogo izgotovlenija lekarstvennyh sredstv. Remedium, 11, 47–48.
12. PIC/S Guide to good practices for the preparation of medicinal products in healthcare establishments. PE 010-3, 1 October 2008. Available at: <http://www.picscheme.org/>
13. A guide for compounding practitioner USP 35 - NF 30 / The United States Pharmacopeial Convention (2012). Rockville, 317.
14. Jevtifjejeva, O. A. (2013). Analitychnyj ogljad systemy zabezpechennja jakosti ekstemporal'nyh likars'kyh zasobiv u rozvynutyh kraih svitu. Visnyk farmacii, 1, 9–18.
15. Sabirzhan, R. R. (2012). Aptechnoe izgotovlenie lekarstvennyh form dlja lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij: izuchenie sovremennoj nomenklatury. Nauchnye vedomosti BelGU. Serija: Medicina. Farmacija, 10-2 (129), 31–35.
16. Tihonov, A. I. (Ed.) (1999). Spravochnik jekstemporal'noj receptury. Kyiv: MORION, 496.
17. Foppe vann Mil, Dzh. V., Dzh. Mak Elni, T. F. (2001). Obshhestvennaja farmacija v mire. Farmac. zhurn., 6, 27–32.
18. World Health Organization official website. Available at: <http://www.who.int/en/>
19. Schotik, D. (2001). Stability Issues for Compounding Extemporaneously Prepared Oral Formulations for Pediatric Patients. Int J Pharm Compd., 1, 9.
20. Zdoryk, O. A. (2013). Svitovyj dosvid vyznachennja terminu prydatnosti likars'kyh zasobiv aptechnogo vygotovlennja. Farmac. zhurn., 6, 42–47.

Дата надходження рукопису 19.10.2015

Валієв Абдуджаббор Халкуллойович, завідувач кафедри, кандидат фармацевтичних наук, кафедра фармацевтичної технології, Таджицький державний медичний університет імені Абуалі ібн Сіно, пр. Рудаки, 139, м. Душанбе, Таджикистан, 734003
E-mail: valizoda83@gmail.com

Здорик Олександр Анатолійович, доцент, кандидат фармацевтичних наук, кафедра фармацевтичної хімії, Національний фармацевтичний Університет, вул. Пушкінська, 53 м. Харків, Україна, 61002
E-mail: oleksandr_zdoryk@ukr.net

УДК 547.792:547.865.5

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.54989

ВИЗНАЧЕННЯ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ПОХІДНИХ [1,2,4]ТРИАЗОЛО[4,3-*a*]ПІРАЗИНУ

© К. Ю. Куликовська, І. О. Журавель

За допомогою тест-системи CellTiter-Glo було визначено цитотоксичність ряду N^7 -арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7Н-[1,2,4]тріазоло-[4,3-*a*]піразин-8-онів, їх 3-*S*-ацетамідів та 3-*S*-бензилпохідних. Синтез сполук здійснено на основі раніше розробленої та опублікованої схеми. Будова та чистота сполук доведена методами ^1H -ЯМР та елементного аналізу.

Методи дослідження. Метод базується на визначенні кількості життєздатних клітин в культурі за інтенсивністю люмінесценції суміші клітинної суспензії раку передміхурової залози Du_{145} , розчину досліджуваної речовини та CellTiter-Glo реагенту. Як препарати порівняння використовували туберцидин і таксол. Встановлений за результатами параметр ЦК_{50} характеризує здатність аналізованих речовин викликати загибель клітин.

Результати. Цитотоксична концентрація синтезованих нами 3-заміщених N^7 -арил/бензил-2,3-дигідро-7Н-[1,2,4]тріазоло-[4,3-*a*]піразин-8-онів не перевищувала максимальної концентрації, яка тестувалася, і була вища за 30 мкМ. Це свідчить про повну відсутність негативного впливу зазначених речовин на клітини раку передміхурової залози Du_{145} .

Висновки. Виявлено, що дані сполуки не проявляють токсичної дії на живу клітину, що робить актуальною можливість розробки нових ефективних і безпечних лікарських засобів на їх основі. Також недоцільним є пошук протитухлинних засобів серед похідних N^7 -арил/бензил-2,3-дигідро-7Н-[1,2,4]тріазоло-[4,3-*a*]піразин-8-онів

Ключові слова: [1,2,4]тріазоло[4,3-*a*]піразини, цитотоксичність, цитотоксична концентрація, тест-система CellTiter-Glo, культура клітин, туберцидин, таксол

With test systems CellTiter-Glo was determined the cytotoxicity of series N^7 -aryl/benzyl-3-tioxo-2,3-dihydro-7H-[1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazin-8-ones, their 3-S-acetamides and 3-S-benzyl derivatives. The synthesis of the compounds performed based on the previously developed and published scheme. Structure and purity of the compounds proved with 1H -NMR and element analysis.

Methods. The method is based on determining the number of viable cells in culture by intensity of luminescence mixture of cell suspension of prostate cancer Du₁₄₅, solution of the substance and CellTiter-Glo reagent. Tubercidin and taxol were used as reference drugs. The parameter CK_{50} , that has been set according to a study, describes the ability of analyzed substances induce cell death.

Results. Cytotoxic concentration of synthesized 3-substituted N^7 -aryl/benzyl-2,3-dihydro-7H-[1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazine-8-ones not exceed the maximum concentration of compounds, which were tested, and was above 30 mkM. This demonstrates the complete absence of negative impact of these substances on cells of prostate cancer Du₁₄₅.

Conclusions. Found that these compounds do not exhibit toxic effects on living cells, making the actual possibility of developing new effective and safe drugs on their base. Also inappropriate to search anticancer drugs among of the N^7 -aryl/benzyl-2,3-dihydro-7H-[1,2,4]triazolo-[4,3-a]pyrazine-8-one derivatives

Keywords: [1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazines, cytotoxicity, cytotoxic concentration, test system CellTiter-Glo, cell culture, tubercydyne, taxol

1. Вступ

Дослідження токсичності речовин має важливе значення у вирішенні питань, пов'язаних з охороною здоров'я. Особливо актуальним є вивчення токсичних властивостей потенційних лікарських субстанцій, які у майбутньому можуть бути впроваджені на фармацевтичний ринок. Проведення таких випробувань, по-перше, забезпечує пацієнтів від небажаних побічних ефектів, по-друге, надає можливість отримати відповіді щодо механізмів розвитку негативних реакцій та варіантів їх усунення.

Визначення токсичної дії лікарських субстанцій проводять на етапах доклінічних і клінічних досліджень. За останні роки значно зріс арсенал методів доклінічної оцінки активності та токсичності лікарських засобів та розширено перелік параметрів, за якими проводять випробування [1].

2. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими чи практичними питаннями

В країнах Європи на сьогодні система доклінічних випробувань фармацевтичних препаратів включає обов'язкове вивчення впливу даних речовин на живу клітину, що встановлюють за низкою параметрів [2]. Один із критеріїв, на який звертають особливу увагу – рівень цитотоксичності досліджуваної субстанції. Він має як позитивне значення (пошук лікарських субстанцій для терапії онкозахворювань), так і негативне (прояв негативних реакцій на окремі органи та системи органів).

3. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми і на які спирається автор

До основних переваг використання методів *in vitro* слід віднести економічність, високу біодоступність, точність дозування, низьку інвазивність, статистичну достовірність, точність і швидкість визначення, гуманність і можливість масового скринінгу.

Однією з таких моделей є постановка біологічних дослідів на культурах клітин [3–8]. Культури клітин людини та тварин в якості біологічних тест-

систем все частіше використовуються дослідниками через простоту їх культивування, можливість контролю та велику ступінь відтворюваності у порівнянні із тест-системами *in vivo*. На протязі всього експерименту зберігається можливість візуального нагляду за клітинами за допомогою мікроскопу, що в ряді випадків має принципове значення. Також важливу роль відіграє скорочення часу та собівартості експерименту. Єдиний нюанс – вимоги до стандартизації якості культури клітин і тканин. В останнє десятиріччя розроблені і впроваджені принципи GLP для альтернативних методів: на 3-му Міжнародному Конгресі, який присвячений альтернативним методам використання тварин в наукових цілях, висунута ініціатива створення Good Cell Culture Practice (GCCP), проект якої розроблений і розглядається Європейським центром валідації альтернативних методів [9].

4. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття

На відміну від більшості фундаментальних і прикладних досліджень у біології, медицині та фармації, які тим чи іншим чином пов'язані із дослідом на тваринах, при вивченні токсичності різноманітних препаратів і сполук, починаючи з 80-х років ХХ століття, широко використовують альтернативні біологічні моделі. Впровадження таких підходів дозволяє мінімізувати кількість піддослідних тварин або повністю вилучити їх із експерименту та автоматизувати процес, що значно прискорює процедуру визначення.

Метод визначення цитотоксичності на клітинній культурі на сьогодні широко використовується в США і Європі як експрес-метод в токсикології, фармакології, косметології.

5. Формулювання цілей (завдання) статті

Метою роботи стало дослідження цитотоксичності вперше синтезованих N^7 -арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]піразин-8-онів, їх 3-S-ацетамідів та 3-S-бензилпохідних на культури клітин раку передміхурової залози лінії Du₁₄₅ за допомогою тест-системи CellTiter-Glo.

6. Вклад основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів

Для проведення експерименту використовували культуру клітин раку передміхурової залози лінії Du₁₄₅.

Культивування клітин проводили в середовищі ДМЕМ (подвійна модифікація середовища Ігла), що містить 10 % фетальної бичачої сироватки, 2 мМ глутаміну, 1 % заміни амінокислоти, 0.2 мг/мл пірувату натрію, 100 од/мл пеніциліну і 100 мкг/мл стрептоміцину при температурі 37 °С, повітря 95 %, CO₂ 5 %, достатньому зволоженні.

Субкультивування клітин. Нарощували клітини у 175 см² флаконах до ~ 90 % моношару. Далі відбирали культуральне середовище із флакону. Клітинний шар промивали два рази розчином Версена (~10 мл на флакон) для видалення залишків сироватки. Додавали розчин ацетази (~2 мл на флакон) і ставили в CO₂-інкубатор на 3–5 хв при 37 °С для відокремлення клітин. Після повного відокремлення клітин від флакону додавали культуральне середовище і акуратно диспергували клітини. Підраховували клітини, використовуючи автоматичний клітинний лічильник і підготовлювали суспензію необхідної концентрації.

Клітинну суспензію готували як описано для культивування клітин, клітини рахували за допомогою автоматичного клітинного лічильника, і доводили концентрацію клітин до 2·10⁵ клітин/мл (4000 клітин на лунку). Клітини висаджували у 384-лункові плашки за допомогою Biomek 384 NX по 20 мкл клітинної суспензії в кожну лунку. У контрольні лунки додавали по 20 мкл середовища. Плашки відцентрифугували при 180g 1 хвилину і залишали інкубуватися при 37 °С, 5 % CO₂ на 24 години.

Досліджувані речовини розчиняли у ДМСО в концентрації 6 мМ. У якості контрольних інгібіторів використовували туберцидин і таксол, вихідні концентрації яких були 20 мМ і 200 мкМ відповідно. Готували 200-разові серійні розведення досліджуваних речовин в ДМСО із шагом 3.16 за допомогою Biomek 2000.

Досліджувані речовини розводили в середовищі 100 разів. В кожну лунку проміжних 384-лункових плашок вносили по 99 мкл середовища за допомогою Biomek 384 NX і додавали по 1 мкл серійних розведень досліджуваних речовин в ДМСО за допомогою Biomek 384 NX. Далі в кожну лунку у двох повторах, тобто кожну концентрацію речовини, яка тестується, додавали 2-разові серійні розведення досліджуваних речовин в середовищі по 20 мкл. До контрольних лунок додавали по 20 мкл середовища, що містить 1 % ДМСО замість досліджуваних речовин. Плашку відцентрифугували при 180g 1 хвилину і інкубували при 37 °С, 5 % CO₂ на 24 годин.

CellTiter-Glo буфер і CellTiter-Glo реагент розморозжували, підігрівали до кімнатної температу-

ри і акуратно змішували у співвідношенні 1:1. Після 24 годин інкубації з речовинами в кожну лунку плашки додавали по 10 мкл отриманого CellTiter-Glo розчину за допомогою Biomek 384 FX. Плашку відцентрифугували при 180g 1 хвилину і залишали інкубуватися при кімнатній температурі на 10 хвилин. Після 10 хвилин інкубації з CellTiter-Glo, інтенсивність люмінесценції вимірювали на люмінесцентному рідері Wallac 1420 VictorLight.

У наш час використовується великий арсенал добре вивчених стандартизованих методів для оцінки цитотоксичності синтетичних речовин з використанням культур клітин різного органного походження [10]. В даній роботі нами розглянуто метод визначення цитотоксичності ряду *N*⁷-арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7*H*-[1,2,4]тріазоло[4,3-*a*]піразин-8-онів, їх 3-*S*-ацетамідів та 3-*S*-бензилпохідних за допомогою тест-системи CellTiter-Glo (Promega).

Даний метод дозволяє оцінити вплив досліджуваних речовин на життєздатність клітин. В якості тест-систем можуть бути обрані як умовно-нормальні клітини печінки людини лінії HepG2, які дозволяють передбачити гепатотоксичність речовин *in vitro*, так і клітини пухлин людини різного походження. В даному експериментальному дослідженні нами використані клітини раку передміхурової залози Du145.

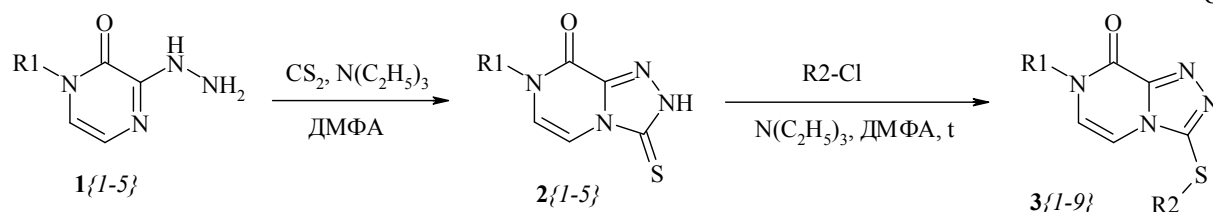
В рамках представленого дослідження проведено визначення як цитотоксичності речовин, так і здатності речовин впливати на проліферацію ракових клітин. Отримана інформація може бути використана для оцінки перспективності досліджуваних речовин в розробці нових протипухлинних препаратів, а також для розуміння того, чи може бути речовина цитостатиком, та наскільки специфічно вона зупиняє ріст клітин пухлини, що дає можливість оцінити специфічність протипухлинної дії за типами раку.

В якості кількісного параметру для оцінки цитотоксичності використовували параметр ЦК₅₀, що відповідає концентрації речовини, коли гине 50 % клітин.

Значення ЦК₅₀ розраховували за допомогою програми GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Inc.) за критерієм мінімізації квадратів відхилення експериментальних точок від теоретичної кривої (табл. 1).

Як об'єкти дослідження нами обрані раніше синтезовані *N*⁷-арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7*H*-[1,2,4]тріазоло[4,3-*a*]піразин-8-они, їх 3-*S*-ацетаміди та 3-*S*-бензилпохідні [11], які отримували за наступною синтетичною схемою (схема 1). В якості вихідних сполук використовували *N*⁷-арил-3-гідразінопіразин-2(1*H*)-они 1/1-5}, які отримували на основі моноестерів оксаламових кислот [12]. Як циклізуючий агент нами використаний сірковуглець в присутності надлишку триетиламіну. Алкілюючі агенти – бензоїлхлориди та ариламиди хлороцтової кислоти, як найбільш поширені реагенти для введення різноманітних замісників до структури біологічно активних речовин.

Схема 1



R1 = Ph; 3-OMePh; 4-OMePh; 4-OEtPh; 3-FPh; 4-FPh.
 R2 = 4-MePhCH₂; 4-ClPhCH₂; 4-ClPhNHCOCH₂.

За допомогою зазначеної синтетичної моделі отримано 14 сполук, які вивчали на цитотоксичність в біологічному експерименті. Досліджувані речовини розчиняли в ДМСО в концентрації 6 мМ. Як контрольні інгібітори використовували туберцидин і таксол, вихідні концентрації яких становили 20 мМ і 200 мкМ відповідно. Рівень цитотоксичності визначали люмінесцентним методом. Метод базується на визначенні кількості життєздатних клітин в культурі на

основі параметру інтенсивності люмінесценції, що характеризує здатність досліджуваних речовин викликати загибель клітин. Результати наведені в табл. 1.

Як видно з табл. 1, синтезовані сполуки не проявляють цитотоксичної активності, тому можуть бути використані, як перспективні субстанції для пошуку безпечних лікарських засобів. Також слід відмітити, що серед сполук зазначених рядів не доцільно проводити пошук речовин з протипухлинною активністю.

Таблиця 1

Цитотоксичність N⁷-арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7H-[1,2,4]триазоло[4,3-a]піразин-8-онів, їх 3-S-ацетамідів та 3-S-бензилпохідних

| Код сполуки | R1 | R2 | Максимальна концентрація, яка тестується, мкМ | Цито-токсична концентрація, ЦК ₅₀ , мкМ | % токсичності при максимальній концентрації |
|-------------|---------|---------------------------|---|--|---|
| Туберцидин | | | 100 | 0.232 | 95 |
| Таксол | | | 1 | 0.013 | 71 |
| | | | | | |
| 2{1} | 3-OMePh | – | 30 | >30 | нетоксична |
| 2{2} | 4-OMePh | – | 30 | >30 | нетоксична |
| 2{3} | 4-OEtPh | – | 30 | >30 | нетоксична |
| 2{4} | 3-FPh | – | 30 | >30 | нетоксична |
| 2{5} | 4-FPh | – | 30 | >30 | нетоксична |
| | | | | | |
| 3{1} | Ph | 4-MePhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{2} | 4-OMePh | 4-MePhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{3} | 4-FPh | 4-MePhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{4} | Ph | 4-ClPhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{5} | 4-OMePh | 4-ClPhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{6} | 4-FPh | 4-ClPhCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{7} | Ph | 4-ClPhNHCOCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{8} | 4-OMePh | 4-ClPhNHCOCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |
| 3{9} | 4-FPh | 4-ClPhNHCOCH ₂ | 30 | >30 | нетоксична |

7. Висновки

Досліджувані *N*⁷-арил/бензил-3-тіоксо-2,3-дигідро-7*H*-[1,2,4]-тріазоло[4,3-*a*]піразин-8-онів, їх 3-*S*-ацетаміди та 3-*S*-бензилпохідні при визначенні за допомогою тест-системи *CellTiter-Glo* не проявляють токсичного впливу на культурі тканин раку передміхурової залози лінії Du₁₄₅, тому можуть розглядатися як перспективні фармакологічні агенти.

Слід відмітити, що серед сполук зазначених рядів не доцільно проводити пошук речовин з протипухлинною активністю.

Література

1. Наказ Міністерства Охорони Здоров'я України №944 від 14.12.2009 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10>

2. Clemedson, C. MEIC evaluation of acute systemic toxicity [Text] / C. Clemedson, E. McFarlane-Abdulla, M. Andersson et. al. – ATLA (Alternatives to Laboratory Animals), 1996. – P. 251–311

3. Червонская, Г. П. Культура клеток – альтернативная биологическая модель в токсикологических исследованиях [Текст] / Г. П. Червонская // Тез. докл. 1 съезда токсикологов России. – М., 1998. – 328 с.

4. Дядищев, Н. П. Биологические модели in vitro в токсикологии [Текст] / Н. П. Дядищев, С. П. Рыбалкин, А. И. Марченко // Тез. докл. 1 съезда токсикологов России. – М., 1998. – С. 276.

5. Еропкин, М. Ю. Культуры клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов [Текст] / М. Ю. Еропкин, Е. М. Еропкина. – СПб.: Морсар АВ, 2003. – 239 с.

6. Botham, P. Development of in vitro techniques for irritancy testing [Text] / P. Botham, R. Lewis // Hum. And Exp. Toxicol. – 1996. – Vol. 15, Issue 2. – P. 141.

7. Hurna, E. In vitro metody a ich vyuzitie v toxikologii [Text] / E. Hurna // Veterinary medicine. – 2003. – Vol. 42, Issue 7. – P. 213–215.

8. Combes, R. Ethical investment what is it, and what are the implications for industry funding of research into alternatives? [Text] / R. Combes, M. Balls // ATLA. – 2001. – Vol. 29, Issue 1. – P. 55–62.

9. Hartung, T. Good cell culture practice (GCCP) – an initiative for standardization and quality control of in vitro studies. The establishment of an ECVAM Task Force on GCCP [Text] / T. Hartung, G. Gstraunthaler, S. Coecke et al. // ALTEX. – 2001. – Vol. 18, Issue 1. – P. 75–78.

10. Данлыбаева, Г. А. Цитотоксичность карборанилсодержащих соединений [Текст] / Г. А. Данлыбаева, А. А. Жылкибаев, В. А. Рыков и др. // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. – № 3. – С. 49–53.

11. Куликовская, К. Ю. Синтез производных *N*⁷-арил[1,2,4]тріазоло[4,3-*a*]піразин-3,8(2*H*,7*H*)-діонів та їх 3-тіоксоаналогів як потенціальних фармацевтичних аген-

тов [Текст] / К. Ю. Куликовская, С. С. Коваленко, А. Г. Друшляк и др. // Вестник КазНМУ. – 2014. – № 5 – С. 132–136.

12. Kovalenko, S. S. A suitable synthesis of [1,2,4]-triazolo[4,3-*a*]pyrazin-8(7*H*)-one derivatives [Text] / S. S. Kovalenko, K. Yu. Kulikovska, O. G. Drushlyak et. al. // Chemistry of Heterocyclic Compounds. – 2014. – Vol. 8. – P. 1243–1249.

References

1. Order of the Ministry of Health of Ukraine №944 of 14.12.2009 «On approval of the pre-clinical study of medicinal products and expert evaluation of pre-clinical study of medicinal products». Available at: <http://zakon5.rada.gov.ua/laws/show/z0053-10>

2. Clemedson, C., McFarlane-Abdulla, E., Andersson M. et al. (1996). MEIC evaluation of acute systemic toxicity. ATLA (Alternatives to Laboratory Animals), 251–311.

3. Chervonskaya, H. P. (1998). Kul'tura kletok – al'ternatyvnaya byolohycheskaya model' v toksykolohycheskykh yssledovanyakh [Cell culture – alternative biological model in toxicology studies]. Abstracts of the 1st Russian Congress of Toxicologists (Moscow), 328.

4. Dyadyshchev, N. R., Rybalkyn, S. P., Marchenko, A. Y. (1998). Byolohycheskye modely in vitro v toksykolohy [Biological in vitro model in toxicology]. Abstracts of the 1st Russian Congress of Toxicologists (Moscow), 276.

5. Eropkyn, M. Yu., Eropkyna, E. M. (2003). Kul'tury kletok kak model'naya systema yssledovannya toksychnosti y skrynynha tsytoprotekturnykh preparatov [Cell cultures as a model system toxicity studies and screening of cytoprotective drugs]. St. Petersburg: Morsar AB, 239.

6. Botham, P., Lewis, R. (1996). Development of in vitro techniques for irritancy testing. Human and Experimental Toxicology, 15 (2), 141.

7. Hurna, E. (1997). In vitro metody a ich vyuzitie v toxikologii [In vitro methods and their use in toxicology]. Veterinary medicine, 42 (7), 213–215.

8. Combes, R., Balls, M. (2001). Ethical investment what is it, and what are the implications for industry funding of research into alternatives? ATLA, 29 (1), 55–62.

9. Hartung, T., Gstraunthaler, G., Coecke, S. et al. (2001). Good cell culture practice (GCCP) – an initiative for standardization and quality control of in vitro studies. The establishment of an ECVAM Task Force on GCCP. ALTEX, 18 (1), 75–78.

10. Danlybaeva, H. A., Zhylykbaev, A. A., Rikov, V. A. et al. (2012). Tsytotoksychnost' karboranylsoderzhashchykh soedyneniy [The cytotoxicity of carbonyl compounds]. Biotechnology. Theory and practice, 3, 49–53.

11. Kulykovskaya, K. Yu., Kovalenko, S. S., Drushlyak A. H. y dr. (2014). Syntez proyzvodnykh *N*⁷-aryl[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazyn-3,8(2*H*,7*H*)-dyonov y ykh 3-tyoksoanalogov kak potentsyal'nykh farmatsevticheskykh agentov [Synthesis of *N*⁷-aryl[1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazine-3,8(2*H*,7*H*)-dione derivatives and 3-tioksoanalogues as potential pharmaceutical agents]. Bulletin KazNMU, 5, 132–136.

12. Kovalenko, S. S., Kulikovska, K. Yu., Drushlyak, O. G. et al. (2014). A suitable synthesis of [1,2,4]triazolo[4,3-*a*]pyrazin-8(7*H*)-one derivatives. Chemistry of Heterocyclic Compounds, 8, 1243–1249.

Дата надходження рукопису 12.10.2015

Журавель Ірина Олександрівна, доктор хімічних наук, професор, кафедра токсикологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: irina_zhuravel@inbox.ru

Куликовська Кристина Юріївна, кандидат фармацевтичних наук, асистент, кафедра токсикологічної хімії, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, Україна, 61002
E-mail: kulikovskaja.k@gmail.com