

Д. Ф. Літвіненко¹, В. А. Козир¹, О. Е. Марцинко²

Пошук потенційних антигіпоксантив серед оригінальних гетерометалічних комплексів германію та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот

¹Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Ключові слова: координаційні сполуки германію, скринінг, антигіпоксанти

Проблема захисту організму від наслідків, викликаних гострою нестачею кисню, була й залишається актуальною для медицини екстремальних станів і фармакології.

Однією з найнебезпечніших форм екзогенної гіпоксії є гіпоксична гіпоксія в поєднанні з прогресуючою гіперкапнією, яка виникає при низькому парціальному тиску кисню та високій концентрації діоксиду вуглецю в повітрі, що вдихається. Така гіпоксія розвивається, як правило, у замкнутому невентильованому просторі та більш відома як гіпоксія замкнутого простору (ГЗП). Остання миттєво формується за умов різних екстремальних ситуацій, коли порушується штатна робота системи киснезабезпечення в герметичному об'єкті, де вміст кисню стрімко знижується, а концентрація вуглекислого газу збільшується [1–4].

ГЗП може розвиватися при польоті на великій висоті різних герметичних літальних об'єктів зі штучною генерацією кисню (космонавти, льотчики), при експлуатації глибинних апаратів та автономних костюмів (водолази, рятувальники, пожежники), а також на морських судах (підводні човни, батискафи), у наземних та підземних приміщеннях закритого типу (командні пункти військових частин, штаби, укриття цивільної оборони, шахти, сховища різного типу) [5].

Незважаючи на існуючий широкий спектр препаратів антигіпоксичної дії,

наразі в реєстрі лікарських засобів відсутні такі, що здатні суттєвим чином коригувати наслідки впливу гострого гіпоксичного синдрому, що розвивається саме в замкнутому просторі [6]. В останнє десятиріччя особливу увагу хіміків-синтетиків та фармакологів зосереджено на всебічному вивченні координаційних сполук германію з біолігандами, що відрізняються різноманітністю фармакодинамічних ефектів, прийнятним фармакокінетичним профілем та відносно нешкідливістю [7–11]. У цьому сенсі особливу зацікавленість як потенційні засоби фармакокорекції гострих невідкладних станів, основу патогенезу яких складає гіпоксичний синдром, викликають гетерометалічні комплекси германію та 3d-металів (цинк, мідь, марганець) з лимонною та винною кислотами. Цілеспрямований синтез таких сполук виконано вперше на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського державного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом професора І. Й. Сейфуліної.

Мета дослідження – провести скринінг потенційних антигіпоксантив серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з есенціальними мікроелементами на основі лимонної та винної кислот.

Матеріали та методи. Досліди проведено на 90 білих нелінійних щурах самцях масою 160–200 г у відділі фармакокінетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» відповідно до методичних рекомендацій [12].

Експериментальною моделлю був патологічний процес, що розвивається

у тварин в умовах замкнутого простору. Моделювання гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією проводили шляхом розміщення тварин у ізольованих скляних гермооб'ємах (10 дм³), які перевертали догори дном і занурювали в піднос з водою, який використовували як гідрозатвор [13].

У скринінговому експерименті вивчали шість оригінальних координаційних сполук германію з різними есенціальними мікроелементами (цинк, мідь, марганець) та біолігандами (лимонна та винна кислоти) під відповідними лабораторними шифрами: ОКАГЕРМ-1 (манган (II) біс (цитрато) германат (IV)), ОКАГЕРМ-2 (купрум (II) біс (цитрато) германат (IV)), ОКАГЕРМ-3 (цинк біс (цитрато) германат (IV)), ОКАГЕРМ-4 (манган (II) тартрато германат (IV)), ОКАГЕРМ-5 (купрум (II) тартрато германат (IV)), ОКАГЕРМ-6 (цинк (II) тартрато германат (IV)).

Усі досліджувані сполуки вводили внутрішньоочеревинно у вигляді 1 % водного розчину в дозах 20, 50 та 100 мг/кг (залежно від речовини) за 40 хв до розміщення тварин у гермокамері. При виборі дозового режиму застосування координаційних сполук германію виходили з попередніх даних токсикометричних досліджень та результатів багаторічних досліджень співробітників кафедри фармакології Луганського державного університету імені Максима Гоголя, присвячених фармакометричним дослідженням у частині розробки й оптимізації режимів дозування сполук цього класу [14–17]. Як референтний препарат використовували відомий сучасний вітчизняний антигіпоксиксанти Армадін (2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат) («Лекхім-Харків», Україна) [18]. Армадін вводили внутрішньоочеревинно в дозі 100 мг/кг. Щури контрольної серії отримували аналогічний об'єм ізотонічного розчину натрію хлориду.

Фармакопрофілактичну ефективність потенційних антигіпоксиксанти оцінювали за перебігом клінічної картини гострої гіпоксії з гіперкапнією порівняно з контрольною (гіпоксія без лікування) і референтною (гіпоксія + Армадін) групами тварин та за тривалістю життя тварин у гермооб'ємі. При цьому роз-

раховували коефіцієнт протигіпоксичного захисту (K_3) та відносний показник збільшення тривалості життя щурів (Π) за наступними формулами:

$$K_3 = \frac{T_{\text{досл.}}}{T_{\text{контр.}}}; \quad \Pi = \frac{T_{\text{досл.}} - T_{\text{контр.}}}{T_{\text{контр.}}} \cdot 100,$$

де $T_{\text{досл.}}$ – середня тривалість життя щурів дослідної групи, хв;

$T_{\text{контр.}}$ – середня тривалість життя щурів контрольної групи, хв.

Статистичну обробку даних проводили за критерієм Стьюдента [19].

Результати та їх обговорення. Отримані результати первинного фармакологічного скринінгу наведено в таблиці 1.

Порівняльний аналіз отриманих скринінгових даних свідчить, що серед усіх вивчених гетерометалічних комплексних сполук германію з різними біолігандами за умов гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією найбільше подовження тривалості життя тварин у гермооб'ємі реалізується при введенні ОКАГЕРМ-4. Так, саме під дією цієї германійорганічної сполуки відбувається вірогідне ($P < 0,05$) збільшення тривалості життя щурів у замкнутому просторі порівняно з контрольною групою.

Із даних таблиці 1 видно, що в групі тварин, яким профілактично вводили ОКАГЕРМ-4, відносний показник збільшення тривалості життя щурів у гермооб'ємі складає 52,93 %. При цьому величина коефіцієнта протигіпоксичного захисту реєструється на рівні 1,53, що свідчить про найбільшу протигіпоксичну активність координаційної сполуки германію на основі винної кислоти та марганцю на моделі гострої гіпоксії з гіперкапнією. Підставою для такого твердження є співставлення цих показників протигіпоксичної активності з аналогічними, що отримані в групі порівняння. Необхідно відмітити, що ОКАГЕРМ-4 за обома показниками вірогідно ($P < 0,05$) перевершує референтний препарат Армадін за умов модельованої форми гострого гіпоксичного синдрому.

Відносно високу протигіпоксичну активність виявлено на фоні застосування сполуки під лабораторним шифром ОКАГЕРМ-6, при введенні якої

зареєстровано також вірогідне ($P < 0,05$) збільшення тривалості життя щурів за умов ГЗП порівняно з контролем. Показано, що за показниками P і K_3 , які складають 49,78 % та 1,49 відповідно, протигіпоксичні властивості сполуки ОКАГЕРМ-6 є досить виразними, але дещо поступаються ОКАГЕРМ-4.

Незначну протигіпоксичну ефективність за умов гострої гіпоксії з гіперкапінею проявляє і сполука ОКАГЕРМ-5, за профілактичного введення якої показник P дорівнює 42,47 %, а величина K_3 дорівнює 1,43. Варто зазначити, що середня тривалість життя щурів у гермокамері за введення цієї сполуки вірогідно ($P < 0,05$) відрізняються від показника контрольної групи, але не має достовірної різниці з референтним показником. Менш виразні протигіпоксичні властивості на фоні модельованої патології зареєстровані в групах щурів, що отримували ОКАГЕРМ-1 та ОКАГЕРМ-2. Як видно з таблиці 1, тривалість життя тварин при застосуванні цих сполук збільшувалась на 36,59 і 29,86 %, а коефіцієнт протигіпоксичного захисту склав 1,33 та 1,30 відповідно. Сполука ОКАГЕРМ-3 не проявила будь-яких протигіпоксичних властивостей, оскільки показник P дорівнює 3,64 %, а величина K_3 – 1,04. Зроблена у подальшому спроба підвищити дозу ОКАГЕРМ-3 призвела до токсичних проявів.

Наразі є аксіомою, що ключовим показником ефективності будь-якої сполуки в скринінгових дослідженнях є перебіг клінічних симптомів патологічного стану. З огляду на це, порівнювали клінічні симптоми, що виникали в разі профілактичного застосування ОКАГЕРМ-4 як сполуки-лідера та референтного препарату. Отримані дані наведені в таблиці 2, з якої видно, що в щурів на тлі введення ОКАГЕРМ-4 у перші 10 хв реєструється пригнічений стан (заплющені очі, витягнуті назад задні кінцівки, підібрані під тіло передні кінцівки). Після розміщення дослідних тварин у гермокамері перші ознаки гіпоксії у вигляді глумінгу спостерігали лише протягом

Таблиця 1

Протигіпоксична активність координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору ($n = 6$)

Досліджувана сполука	Середня тривалість життя, хв				Коефіцієнт протигіпоксичного захисту		Відносний показник збільшення тривалості життя щурів, %	
	Гіпоксія + Армадін (референтна група)	Гіпоксія + досліджувана сполука (дослідна група)	Гіпоксія (контроль)	Гіпоксія + досліджувана сполука (дослідна група)	Коефіцієнт протигіпоксичного захисту		Відносний показник збільшення тривалості життя щурів, %	
					Дослід	Армадін	Дослід	Армадін
Манган(II)біс(цитрато)германат(IV) ОКАГЕРМ-1	47,80 ± 1,39*	56,0 ± 0,94*,**	41,0 ± 3,06	47,80 ± 1,39*	1,33	1,17	36,59	16,59
Купрум(II)біс(цитрато)германат(IV) ОКАГЕРМ-2	49,50 ± 2,33*	47,40 ± 1,86*	36,50 ± 1,84	49,50 ± 2,33*	1,30	1,36	29,86	35,62
Цинк біс(цитрато)германат (IV) ОКАГЕРМ-3	45,0 ± 4,92	38,17 ± 1,53	36,83 ± 2,36	45,0 ± 4,92	1,04	1,22	3,64	22,18
Манган (II) тарtratoгерманат (IV) ОКАГЕРМ-4	47,80 ± 1,40*	65,44 ± 2,98*,**	42,79 ± 1,57	47,80 ± 1,40*	1,53	1,12	52,93	11,71
Купрум (II) тарtratoгерманат (IV) ОКАГЕРМ-5	49,50 ± 2,33*	52,0 ± 3,86*,**	36,50 ± 1,84	49,50 ± 2,33*	1,43	1,36	42,47	35,62
Цинк (II) тарtratoгерманат (IV) ОКАГЕРМ-6	49,50 ± 2,33*	54,67 ± 6,10*	36,50 ± 1,84	49,50 ± 2,33*	1,49	1,36	49,78	35,62

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з показниками тварин контрольної групи, ** $p < 0,05$ порівняно з показниками тварин референтної групи.

Час виникнення та тривалість основних клінічних проявів гіпоксії замкнутого простору в щурів, хв

Клінічні прояви гіпоксії	Дослідна група (гіпоксія + ОКАГЕРМ-4)	Група порівняння (гіпоксія + Армадін)	Контрольна група (гіпоксія + фізрозчин)
Грумінг	16÷30	3÷7	2÷5
Тахіпноє	19÷30	13÷15	3÷5
Збудження	25÷33	13÷21	8÷14
Атаксія	48÷54	27÷32	26÷28
Диспноє	53÷57	35÷40	29÷34
Загибель	59÷82	42 ÷56	32÷50

16–30 хв, збільшення частоти дихання (тахіпноє) реєстрували через 19–30 хв, збудження у вигляді підвищення рухової активності відмічали потягом 25–33 хв. У деяких щурів також піднімався догори хвіст та були присутні хвилеподібні рухи тіла. Рухова активність змінювалася на атаксію на 48–54 хв спостереження. Частота дихання з 53–57 хв почала зменшуватися, переходячи в диспноє. Загибель дослідних тварин фіксували з 59 по 82 хв з моменту розташування в гермокамері.

У контролі (гіпоксія + фізрозчин) вищеописані симптоми реєструвалися значно раніше: на 2–5, 3–5, 8–14, 26–28, 29–34 хв відповідно. Загибель наставала на 27–32 хв раніше. Вираженість і динаміка розвитку симптомів ГЗП у тварин референтної групи також

перевершує аналогічні показники в дослідній групі.

Висновки

Таким чином, результати, отримані в скринінговому дослідженні, дозволяють дійти висновку, що за коефіцієнтом протигіпоксичного захисту, відносним показником збільшення тривалості життя щурів та перебігом клінічної картини найбільшу профілактичну ефективність за умов гострої гіпоксії з гіперкапнією демонструє координаційна сполука на основі германію та винної кислоти з марганцем (ОКАГЕРМ-4). Отримані результати експериментально обґрунтовують доцільність подальшого поглибленого фармакологічного дослідження сполуки ОКАГЕРМ-4 як потенційного антигіпоксанта.

1. Метаболические корректоры гипоксии / [П. Д. Шабанов, И. В. Зарубина, В. Е. Новиков, В. Н. Цыган]. – Санкт-Петербург : ИнформНавигатор, 2010. – 912 с.
2. Pittman R. N. Regulation of Tissue Oxygenation / R. N. Pittman // Colloquium: Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function. – 2011. – V. 3, № 3. – P. 1–100.
3. Katschinski D. M. Editorial: an introduction and welcome to Hypoxia / D. M. Katschinski // Hypoxia. – 2013. – № 1. – P. 29–30.
4. Wenger R. H. Frequently asked questions in hypoxia research / R. H. Wenger, V. Kurtcuoglu, C. C. Scholz // Hypoxia. – 2015. – № 3. – P. 35–43.
5. Можаяев Г. А. Неотложная медицинская помощь пострадавшим при авариях и катастрофах / Г. А. Можаяев, В. Н. Заболотный, В. П. Дьяконов. – Киев : Здоров'я, 1995. – 286 с.
6. Лукьянова Л. Д. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции / Л. Д. Лукьянова, Ю. И. Кирова, Г. В. Сукоян // Патогенез. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 4–14.
7. Лук'яничук В. Д. Порівняльні скринінгові дослідження в ряду координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору / В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, К. О. Шебалдова // Український журнал екстремальної медицини ім. Г. О. Можаяєва. – 2013. – № 1. – С. 81–84.
8. Координаційні сполуки германію – стратегічний вектор пошуку антигіпоксантів / В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, І. О. Житіна [та ін.] // XII З'їзд всеукраїнського лікарського товариства (ВУЛТ) 5-7 вересня 2013: тез. доп. – Київ, 2013. – С. 273.
9. Кресюн В. И. Биокинетические свойства новых производных германия / В. И. Кресюн // Достижения биологии та медицины. – 2003. – № 1. – С. 38–44.
10. Сейфуллина И. И. Координационные соединения германия и их биологическая роль / И. И. Сейфуллина // Вестник Одесского государственного университета. – 1998. – № 2. – С. 19–21.

11. Лук'янчук В. Д. Скринінг і порівняльна оцінка ефективності засобів детоксикації серед координаційних сполук германію з біолігандами при синдромі тривалого розчавлювання / В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна, Н. В. Рисухіна // Одеський медичний журнал. – 2007. – № 1. – С. 15–19.
12. Пошук та експериментальне вивчення потенційних протигіпоксичних засобів: методичні рекомендації / [В. Д. Лук'янчук, Л. В. Савченкова, О. Д. Немятих, В. М. Радіонов]. – Київ : ДФЦ МОЗ України, 2002. – 27 с.
13. Способ моделирования гипоксии с гиперкапнией: пат. № 2251158 RU: МПК G09B23/28/ А. В. Евсеев, М. А. Евсеева; заявитель и патентообладатель Смоленская государственная медицинская академия – № 2003133679/14; Заявл. 18.11.2003; опубл. 27.04.2005, Бюл. № 12. – 6 с.
14. Кравец Д. С. Разработка математической модели режима дозирования германийорганического соединения (МИГУ–6) при синдроме длительного раздавливания / Д. С. Кравец, В. Д. Лук'янчук, Н. В. Рисухіна // Журнал Академії медичних наук України. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 167–176.
15. Математичне моделювання та експериментальне обґрунтування оптимального режиму дозування координаційної сполуки германію з пірацетамом при ішемічному інсульті головного мозку / О. В. Крилова, Д. С. Кравець, В. Д. Лук'янчук [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2009. – № 2. – С. 17–20.
16. Немятих О. Д. Розробка режиму дозування координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою в умовах гіпоксії замкнутого простору / О. Д. Немятих // Фармац. журн. – 2002. – № 4. – С. 86–90.
17. Чадова Л. В. Визначення режиму дозування координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою на моделі гострої ішемії головного мозку щурів / Л. В. Чадова // VIII з'їзд Всеукраїнського лікарського товариства : тез. доп. 21–22 квітня 2005 р. – Івано–Франківськ, 2005. – С. 348.
18. Стещенко М. М. Вплив армадіну на прооксидантно-антиоксидантний гомеостаз та процеси окисного фосфорилування в мітохондріях міокарда щурів за умов гострої гіпоксії / М. М. Стещенко, О. О. Гончар, В. І. Носарь // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 4. – С. 64–69.
19. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. / С. Гланц. – Москва: Практика, 1998. – 459 с.

Д. Ф. Литвіненко, В. А. Козир, О. Е. Марцинко

Пошук потенційних антигіпоксантив серед оригінальних гетерометалічних комплексів германію та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот

Проблема захисту організму від наслідків, викликаних гострою нестачею кисню, була та залишається актуальною для медицини екстремальних станів і фармакології.

Донині арсенал засобів фармакотерапії гострого гіпоксичного синдрому, що виникає в замкнутому просторі, є обмеженим та таким, що не відповідає сучасним вимогам до антигіпоксантив.

Перспективними в плані пошуку та розробки нових ліків з великим антигіпоксичним потенціалом є різнометалічні координаційні сполуки германію з різними біолігандами.

Мета дослідження – провести скринінг потенційних антигіпоксантив серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з есенціальними мікроелементами на основі лимонної та винної кислот.

У дослідженнях на моделі гіпоксії замкнутого простору на білих щурах встановлено, що серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з різними біолігандами максимальну фармакопрофілактичну ефективність проявляє сполука германію з винною кислотою та марганцем (лабораторний шифр ОКАГЕРМ-4). Цю сполуку можна розглядати як потенційний профілактичний засіб, що може застосовуватися для захисту організму за гіпоксії замкнутого простору. Ефективність сполуки ОКАГЕРМ-4 підтверджується коефіцієнтом протигіпоксичного захисту, відносним показником збільшення тривалості життя щурів та перебігом клінічної картини гострої гіпоксії з гіперкапнією. За сукупністю отриманих результатів сполука ОКАГЕРМ-4 є перспективною для подальшого поглибленого фармакологічного дослідження.

Ключові слова: координаційні сполуки германію, скринінг, антигіпоксанти

Д. Ф. Литвиненко, В. А. Козырь, Е. Э. Марцинко

Поиск потенциальных антигипоксантив среди оригинальных гетерометаллических комплексов германия и 3d-металлов на основе лимонной и винной кислот

Проблема защиты организма от последствий, вызванных острой нехваткой кислорода, была и остается актуальной для экстремальной медицины и фармакологии.

Перспективными в плане поиска и разработки новых лекарств с большим антигипоксическим потенциалом являются разнометалльные координационные соединения германия с различными биолігандами.

Цель исследования – провести скрининг потенциальных антигипоксантов среди впервые синтезированных координационных соединений германия с эссенциальными микроэлементами на основе лимонной и винной кислот.

В исследованиях на модели гипоксии замкнутого пространства у белых крыс установлено, что среди впервые синтезированных координационных соединений германия с различными биолигандами, максимальную фармакопрофилактическую эффективность проявляет соединение германия с винной кислотой и марганцем (лабораторный шифр ОКАГЕРМ-4). Это соединение можно рассматривать как потенциальное профилактическое средство, которое может применяться для защиты организма при гипоксии замкнутого пространства. Эффективность соединения ОКАГЕРМ-4 подтверждается коэффициентом противогипоксической защиты, относительным показателем увеличения времени жизни крыс и течением клинической картины острой гипоксии с гиперкапнией.

По совокупности полученных результатов соединение ОКАГЕРМ-4 является перспективным для дальнейшего углубленного фармакологического исследования.

Ключевые слова: координационные соединения германия, скрининг, антигипоксанты

D. Litvinenko, V. Kozyr, E. Martsynko

Search for potential antihypoxants among original heterometallic complexes of germanium and 3d-metals based on citric and tartaric acids

The problem of protecting the organism from the effects caused by acute shortage of oxygen has been and remains urgent for medicine of extreme states and pharmacology.

Currently, heterometallic coordination compounds of germanium with different bioligands are promising in terms of search and development of new medical drugs with high antihypoxic potential.

The purpose of the work is to provide a comparative screening assessment of potential antihypoxants among the first-synthesized coordination compounds of germanium with essential microelements based on citric and tartaric acids.

In screening studies under model of acute hypoxia with hypercapnia on white rats it was found, that among the first-synthesized coordination compounds of germanium with different bioligands, the maximum pharmaco-preventive efficiency exhibits the compound of germanium with tartaric acid and manganese (OKAGERM-4 laboratory code). This compound can be considered as a potential preventive agent that can be used to protect organism in case of hypoxia of confined space. The effectiveness of OKAGERM-4 compound is confirmed by the ratio of antihypoxic protection, relative index rats' lifetime increase and progress of clinical picture of acute hypoxia with hypercapnia.

According to the result obtained, OKAGERM-4 compound is promising for further in-depth pharmacological research.

Key words: coordination compounds of germanium, screening, antihypoxants

Надійшла: 22 липня 2016 р.

Контактна особа: Літвіненко Дмитро Федорович, аспірант, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Ежена Потье, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 98 65. Електронна пошта: mr_173@i.ua