

# ТОКСИКОМЕТРИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОГО АНТИГІПОКСАНТУ ОК-5 НА ОСНОВІ КООРДИНАЦІЙНОЇ СПОЛУКИ ГЕРМАНІЮ З БІОЛІГАНДАМИ

<sup>1</sup>А.О.Шутка, <sup>1</sup>Д.С.Кравець к.мед.н., <sup>2</sup>І.Й.Сейфулліна проф. д.хім.н., <sup>2</sup>О.Е. Марцинко к.мед.н.,  
<sup>2</sup>А.Г.Песарогло к.мед.н.

<sup>1</sup>Луганський державний медичний університет

<sup>2</sup>Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

**РЕЗЮМЕ.** Експериментальні та розрахункові дані токсикометрії свідчать, що координаційна германійорганічна сполука з яблучною та нікотиною кислотами не є особливо небезпечною для теплокровних тварин, у тому числі й для людини.

Ключові слова: антигіпоксанти, германій, біоліганди, токсикологія.

**РЕЗЮМЕ.** Экспериментальные и расчетные данные токсикометрии свидетельствуют о том, что координационное германейорганическое соединение с яблочной и никотиновой кислотами не представляет особой опасности для теплокровных животных, в том числе и для человека.

Ключевые слова: антигипоксанти, германий, биолиганды, токсикология.

**SUMMARY.** As a result of conducted experimental and calculations information of toxicometrical of coordination germaniumorganic compound with malic and nicotinic acids it is possible to re-done a conclusion, does not represent the special danger for warm-blooded animals and also man.

Key words: antihypoxant, germanium, bioligands, toxicology.

Актуальною проблемою сьогодні, особливо для промислового регіону Донбасу, є вирішення питань лікарської профілактики та лікування гіпоксичного синдрому з важкими клінічними проявами і високою летальністю, що лежить в основі патогенезу шахтної травми, яка виникає при аваріях в умовах глибоких вугільних шахт, де основним пошкоджуючим чинником є дефіцит кисню на тлі гіпертермії.

Останнім часом все більшу увагу фармакологів привертають до себе координаційні сполуки германію з різними біолігандами, що відрізняються різноманітною фармакологічною активністю у поєднанні з унікальними фармакокінетичними характеристиками [1-4].

Саме ці факти і стали провідними для обґрунтування скринінгових досліджень потенційного антигіпоксанту серед новосинтезованих металоорганічних сполук на основі германію з різними біолігандами. Як наслідок цієї роботи нами була встановлена висока лікувально-профілактична активність комплексної сполуки на основі германію з яблучною та нікотиною кислотами під лабораторним шифром ОК-5 на моделі гострої гіпоксичної гіпоксії на фоні гіпертермії.

Загальновідомо, що процес створення нових лікарських засобів

можливий без всебічного визначення токсикометричних параметрів на доклінічному етапі досліджень, що надалі забезпечить їх безпечно застосування у клініці [5,6,9].

Метою роботи було комплексне токсикометричне дослідження потенційного антигіпоксанту ОК-5 за умов його внутрішньоочеревинного введення, з подальшою екстраполяцією отриманих в експерименті даних на людину.

## Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані на 24 нелінійних щурах масою 200-220г відповідно до рекомендацій Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України [6] в лабораторії кафедри фармакології ЛугДМУ, яка сертифікована ДФЦ щодо доклінічного вивчення потенційних ліків (свідоцтво № 03 від 25.09.2008 р.). Комплексну сполуку, що досліджували, вводили щурам у вигляді 4% водного розчину внутрішньоочеревинно у різних дозах (500, 750, 1000 та 1250 мг/кг). Параметри гострої токсичності ОК-5 ( $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ) визначили методом пробіт-аналізу [7]. Величину  $LD_{99}$  визначили за формулою:

Розрахунок стандартної похибки  $LD_{50}$  проводили за формулою: де N — кількість тварин у групі, які були використані для випробову-

вання доз, що знаходились у межах значень пробітів від 3,5 до 6,5.

Для більш всебічної токсикометричної характеристики координаційної сполуки германію з яблучною та нікотиною кислотами визначили, згідно з даними літератури [5], низку показників небезпеки, таких як: величина зворотна середньо-летальній дозі (абсолютна токсичність) —  $1/LD_{50}$ , діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії) —  $LD_{84}/LD_{16}$ , функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) — S, який розраховували за формулою:

$$S = \frac{\frac{LD_{84}}{LD_{50}} + \frac{LD_{50}}{LD_{16}}}{2},$$

сумарний показник токсичності —  $1/(LD_{50} \cdot S)$ , тангенс кута нахилу кривої летальності —  $tg\alpha$ , а також інтегральний параметр токсичності —  $1/LD_{50} \cdot tg\alpha$ . Екстраполяцію на людину токсикометричних параметрів, одержаних в експерименті, проводили за методом [13] з використанням констант біологічної активності.

## Результати та їх обговорення

Результати проведеної серії токсикологічних досліджень в частині визначення відсотка загибелі тварин від дози ОК-5, що вводили внутрішньоочеревинно, наведені у табл.1.

Таблиця 1

Залежність загибелі тварин від доз ОК-5, що вводились внутрішньоочеревинно

Доза ОК-5, мг/кг	Загибель тварин, %
500	0,0
750	50,0
1000	83,3
1250	100,0

За допомогою лінеаризації експериментальних результатів методом найменших квадратів провели вирівнювання даних, які представлені в табл.2, і на їх підставі побудували криву регресії на основі рівняння  $Y=a+bX$ , що зображено на рис.1.

Наступним кроком, з урахуванням показників  $LD_{16}$  і  $LD_{84}$ , визначили стандартну похибку  $LD_{50}$ . Параметри токсичності, що одержані в експерименті та розрахованим шляхом, наведені в табл.3, а характер кривої летальності ОК-5 представлено на рис.2.

Даючи оцінку ступеню токсичності ОК-5 в умовах внутрішньоочеревинного введення згідно з класифікацією [9], яка передбачає розподіл сполук на класи в залежності від величин їх "середньосмертельних" доз та шляхів надходження отруйних речовин до організму, дійшли висновку вже на цьому етапі: германійорганічна сполука, яка вивчається, є малотоксичною речовиною та відноситься до IV класу токсичності, що дозволяє говорити про відносну безпечність даного майбутнього лікарського засобу.

З метою більш наочної залежності величин параметрів токсичності ОК-5 від доз, які вводили, нами побудована крива, що представлена на рис.3. Якщо проводити порівняльну оцінку отриманих значень величин доз, які призводять до летальних випадків в умовах токсикологічного експерименту, то звертає на себе увагу досить значний інтервал між їх абсолютними величинами.

Це, в свою чергу, і обумовлює значну широту дії оригінальної сполуки германію з яблучною та нікотиновою кислотами, навіть за умов внутрішньоочеревинного введення, яке, як відомо, прирівнюється до внутрішньовенного у людей. Ця

Таблиця 2

Вирівнювання експериментальних даних методом найменших квадратів

Стимул (доза)	Пробіт (Y)	Ваговий коефіцієнт (Z)	X*Z	X*X*Z	Y*Z	X*Y*Z
500	3,27	1,54	767,95	383975,19	5,02	2509,62
750	5,00	5,00	3750,0	2812500,00	25,00	18750,00
1000	5,97	3,57	3565,27	3565273,74	21,28	21275,28
1250	6,73	1,54	1,919,88	2399844,94	10,34	12924,70
	Сумма	11,64	10003,10	9161593,87	61,63	55459,61

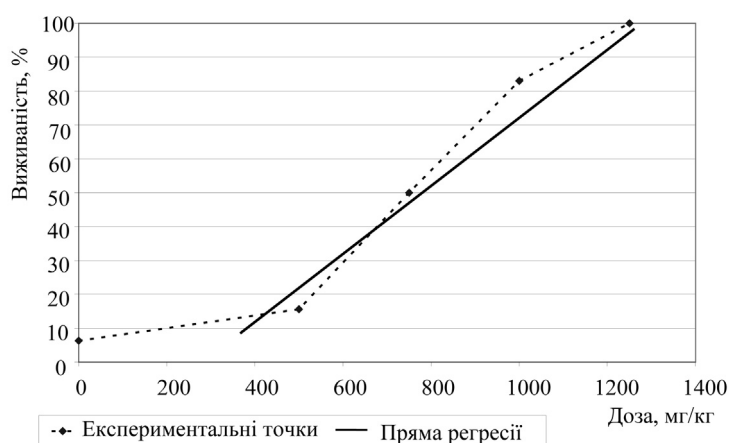


Рис.1. Пряма регресії отримана внаслідок вирівнювання експериментальних даних методом найменших квадратів

Таблиця 3

Параметри гострої токсичності (мг/кг) ОК-5 для білих щурів при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні

Статистичний показник	$LD_{16}$	$LD_{50}$	$LD_{84}$	$LD_{99}$
M	565,21	792,29	1019,37	1132,91
$\pm m$	66,14	92,71	119,28	132,57

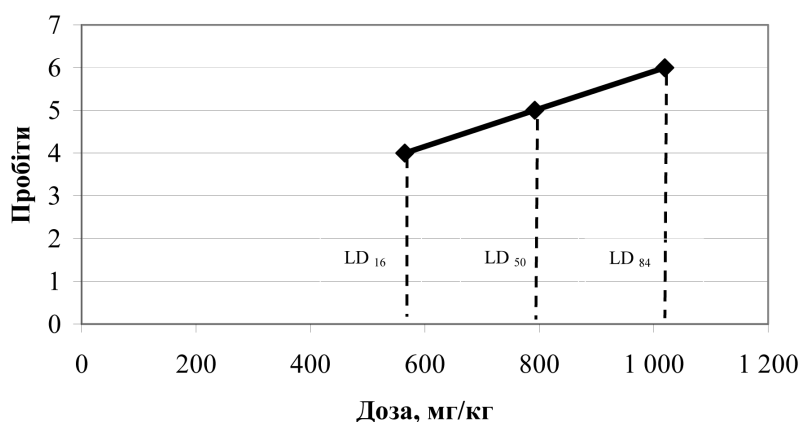


Рис.2. Крива летальності білих щурів в умовах одноразового внутрішньоочеревинного введення ОК-5

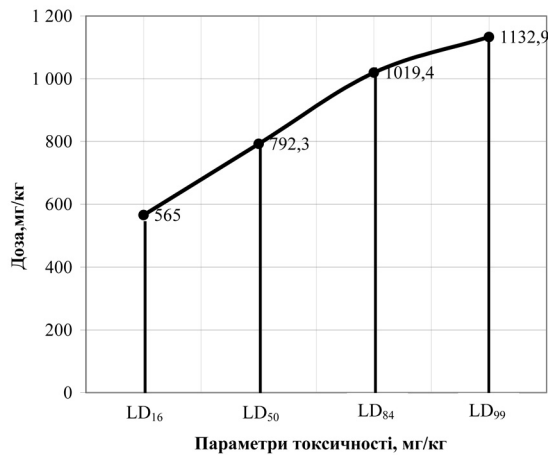


Рис. 3. Графічне зображення токсикометричних параметрів (мг/кг) ОК-5 в умовах експерименту, що вивчається

Таблиця 4  
Параметри потенційної та реальної небезпеки виникнення гострого смертельного отруєння ОК-5 в умовах одноразового інтраперитонеального введення його до організму щурів

Статистичний показник	1/LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub> /LD <sub>16</sub>	S	1/LD <sub>50</sub> ·S	tg α	1/ LD <sub>50</sub> ·tgα
M	12,62·10 <sup>-4</sup>	1,80	1,34	9,39·10 <sup>-4</sup>	1,51	1,91
±m	1,07·10 <sup>-4</sup>	0,09	0,12	0,97·10 <sup>-4</sup>	0,10	0,15

Таблиця 5  
Параметри гострої токсичності (мг/кг) ОК-5 для білих щурів при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні, які одержані за допомогою методу Finney D

Статистичний показник	LD <sub>16</sub>	LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub>	LD <sub>99</sub>
M	634,29	778,78	956,19	1044,89
±m	71,13	87,33	107,22	117,17

Таблиця 6  
Розрахункові параметри небезпеки ОК-5 для людини

Статистичний показник	1/LD <sub>50</sub>	LD <sub>84</sub> /LD <sub>16</sub>	S	1/LD <sub>50</sub> ·S	tg α	1/ LD <sub>50</sub> ·tgα
M	45,06·10 <sup>-4</sup>	1,80	1,34	33,52·10 <sup>-4</sup>	1,51	6,81
±m	3,27·10 <sup>-4</sup>	0,16	0,17	2,96·10 <sup>-4</sup>	0,10	0,59

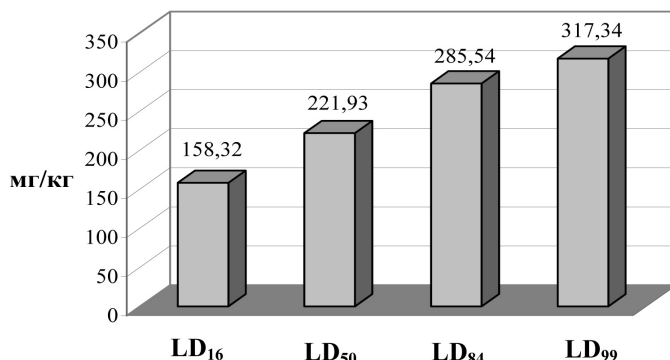


Рис. 4. Розрахункові параметри гострої токсичності (мг/кг) ОК-5 для людини

обставина дозволяє вже на цьому етапі експерименту зробити висновок щодо доцільності подальшого вивчення даної сполуки на доклінічному етапі дослідів. На цьому етапі не представляється можливим робити висновки щодо безпеки оригінальної

хімічної сполуки лише за величинами параметрів токсичності. Тому нами надалі було розраховано ряд токсикометричних параметрів, які дозволяють характеризувати ксенобіотик, який вивчається, з точки зору його потенційної та реальної небезпеки виникнення і розвитку гострого смертельного отруєння. Отримані при цьому дані представлені в таблиці 4.

Якщо аналізувати результати дослідів, варто відзначити, що величина абсолютної токсичності ОК-5 відносно низька і становить  $12,62 \cdot 10^{-4}$  кг/мг при діапазоні смертельних доз, що дорівнює 1,80.

Дані величин сумарного та інтегрального показників токсичності дозволяють дійти висновку, що ОК-5 не володіє високою потенційною і реальною небезпекою щодо виникнення та розвитку смертельного отруєння при його внутрішньоочеревинному введенні щурам в умовах експерименту, що моделюється.

Для підтвердження одержаних експериментальних даних нами було проведено окремим фрагментом дослідів розрахунок токсичних доз сполуки, що вивчається (LD<sub>16</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>84</sub> и LD<sub>99</sub>), за допомогою методу Finney D.J., в якому лінія регресії (доза — пробіт) будується безпосередньо для логарифмів доз, що представлено в табл. 5 [12].

Порівнюючи дані наведені у табл.5 з даними, які одержані шляхом регресії методом найменших квадратів(без логарифмування доз) (див. табл. 3), можна відзначити, що вони повною мірою зіставленні один з одним. Цей факт підтверджує безпечність оригінальної сполуки на основі германію з яблучною та нікотиновою кислотами під лабораторним шифром ОК-5, що вивчається за умов гострої гіпоксичної гіпоксії на тлі гіпертермії.

Наступним етапом дійсного фрагменту роботи було доцільно провести екстраполяцію отриманих даних на людині з урахуванням констант біологічної активності [13], що представлено у табл.6 та на рис.4.

Таким чином, на підставі отриманих експериментальних і розрахункових даних токсикометрії можна з високим ступенем вірогідності стверджувати, що координаційна сполука германію з яблучною та нікотиновою кислотами (ОК-5) при

її одноразовому внутрішньоочеревинному (внутрішньовенному) введенні є малотоксичною і практично

безпечною в токсикологічному відношенні для теплокровних, у тому числі і для людини, в плані ви-

никнення і розвитку гострих отруєнь.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Биокинетические свойства новых производных германия / В.И. Кресюн, И.И. Сейфуллина, Е.Ф. Шемонаева [и др.] // *Достижения биологии та медицины*. — 2003. — №1. — С. 38 — 44.
2. Кресюн В.И. Фармакологічна характеристика сполук германію / В.И. Кресюн, К.Ф.Шемонаєва, А.Г. Видавська // *Клінічна фармація*. — 2004. — №4. — С. 65 — 68.
3. Лук'янчук В.Д. Влияние координационного соединения германия с никотиновой кислотой на активность ферментов энергетического обмена при экстремальном кислорододефицитном состоянии / В.Д. Лук'янчук, О.Д. Немятых // *Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можаява*. — 2003. — №1.- С. 62 — 66.
4. Савченкова Л.В. Фармакологическая регуляция метаболических процессов при сочетанном воздействии на организм гипоксии и гипертермии : автореф. дис. на получ. науч. степени канд. мед. наук : спец. 14.03.05. " Фармакология" / Л. В. Савченкова. — Киев, 1991. — С. 25.
5. Лук'янчук В.Д. Токсикометрия лекарственных средств на доклиническом этапе: состояние проблемы, дискуссионные аспекты (обзор литературы) / Лук'янчук В.Д // *Современные проблемы токсикологии*. — 1998. — №2. — С. 12-14.
6. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации / А.В. Стефанов. — К., 2002. — 567с.
7. Прозоровский В.Б. Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В.Б Прозоровский // *Фармакология и токсикология*.- 1962. — Т. 23, №1. — С. 115-120
8. Сидоров К.К. Токсикология новых промышленных химических веществ / К.К. Сидоров // *Медицина*. — 1973. — № 3. — С. 47.
9. Саноцкий И.В. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений / И.В Саноцкий.// *Медицина*.-1975. — С. 343
10. Hodgson E. Textbook of modern toxicology / E. Hodgson, P.E. Levi / — Appleton and Lang, 1998. — 496 p
11. Иванов Ю.И. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований / Ю.И. Иванов // *Медицина* 1990. — С. 254.
12. Finney D.J. Probit analysis / D.J. Finney // [3 ed.] Cambridge: University Press, 1980, p. 333.
13. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // *Журнал АН СССР*.- 1979.- Т.247, №6.- С.1513-1516.

Надійшла до редакції 16.06.2010