

В. Д. Лук'янчук¹, І. Й. Сейфулліна², О. Є. Ядловський³,
О. Е. Марцинко²

Порівняльний аналіз співвідношення «структура – токсичність» серед уперше синтезованих біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV)

¹Міжнародний класичний університет імені Пилипа Орлика, м. Миколаїв

²Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м. Одеса

³Державна установа «Інститут фармакології та токсикології
Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: германійорганічні сполуки, біометали, хімічна структура – токсичність, токсикометричний аналіз

У комплексній системі доклінічного дослідження потенційних лікарських засобів ключовим етапом є максимально об'єктивна оцінка токсикологічного профілю нових сполук, що згодом має гарантувати безпечність їхнього застосування в практичній медицині. Адже відомо, що наявність певної токсичності нових сполук і можливість викликати віддалені наслідки можуть бути небезпечними для людини. Варто наголосити, що ключовим завданням лікарської токсикометрії на доклінічному етапі дослідження майбутніх ліків є адекватна оцінка залежності їхньої фармакотерапевтичної ефективності та тих можливих побічних, і, головне, токсичних реакцій від хімічної будови [1–3].

В останнє десятиріччя прискіплива увага хіміків-синтетиків, фармакологів, токсикологів колективів кафедри неорганічної хімії та хімічної освіти Одеського національного університету імені І. І. Мечникова, ДУ «Інститут фар-

макології та токсикології НАМН України» зосереджена на всебічному вивченні координаційних сполук германію з різними біолігандами як об'єктів пошуку та розробки потенційних лікарських засобів, що відрізняються різноманітністю фармакодинамічних ефектів, прийнятним фармакокінетичним профілем і відносною нешкідливістю в токсикологічному відношенні. Експериментальні дані щодо складу, будови, фармакологічної дії досить великого ряду координаційних сполук есенціального германію з біологічно активними гідроксикарбонними кислотами (лимонною, винною, ксиларовою, яблучною) свідчать, що всі хімічно сконструйовані комплекси є низькотоксичними, характеризуються широким спектром біологічної дії, ефективні на різних моделях кисеньдефіцитних станів [4–6].

З метою продовження досліджень у цьому напрямі було прийнято рішення включити до переліку лігандів, які доцільно вивчити, пентагідроксимонокарбонову кислоту – глюконову кислоту (H6Glu). Попередньо було одержано глюконатогерманатні комплекси катіон-аніонного

типу з ніотиною кислотою та калієм, які є низькотоксичними та проявляють протигіпоксичну дію, на що впливає заміна катіона [7, 8].

Це спонукало нас розширити ряд катіонів за рахунок особливо важливих металів для плинну ключових біохімічних процесів організму, а саме: магнію (Mg), мангану (Mn), кобальту (Co), нікелю (Ni), купрум (Cu), цинку (Zn).

З огляду на вищевикладене, теоретичним підґрунтям наукової доцільності подальшого дослідження сполук вказаного типу слугують особливості їхньої хімічної структури, завдяки чому вони здатні реалізувати широкий спектр біологічної активності [9–11].

Мета дослідження – провести комплексний порівняльний аналіз співвідношення «структура – токсичність» уперше синтезованих біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) 3d-металів.

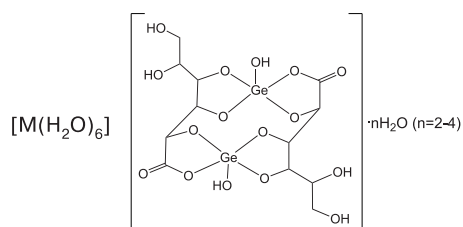
Матеріали та методи. Досліди виконані на нелінійних мишах-самцях масою 18–23 г. В експерименті використовували тварин після проходження карантину за умов віварію експериментально-біологічної клініки ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» протягом 14 днів. Тварини отримували стандартну дієту в вигляді гранульованого корму за встановленими нормами, доступ щурів до води був вільним.

Дослідження проведено відповідно до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ щодо експериментів на тваринах.

Виведення тварин з експерименту здійснювали передозуванням ефіру для наркозу згідно з вимогами Комісії

з біоетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України».

У порівняльних токсикометричних дослідженнях використовували шість оригінальних координаційних сполук германію з різними есенціальними мікроелементами (Ni, Co, Zn, Mn, Cu, Mg) загальної формули:



з відповідними хімічними назвами, а саме:

- гексаакванікель(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (1);
- гексааквакобальт(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (2);
- гексааквацинк(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (3);
- гексаакваманган(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (4);
- гексааквакупрум(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (5);
- гексааквамагній дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (6).

Усі синтезовані сполуки є водорозчинними. Їх вводили мишам внутрішньоочеревинно (в/о) одноразово в різних дозах і концентраціях залежно від кількості сполуки, яку застосовували. Так, сполуку, що містить Cu, використовували в концентраціях 0,158–0,50 %, Ni – 0,63–2,00 %, Zn – 0,63–2,00 %, Co – 0,79–3,16 %, Mn – 1,58–5,0 %, Mg – 15,8–30,0 %.

Визначення ступеня токсичності дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерма-

Загибель мишей за умов одноразового внутрішньоочеревинного введення комплексних сполук германію з біометалом у різних дозах

Біометал, що входить до складу сполуки	Доза, мг/кг																						
	20	25	36,1	39,8	50	63	79	100	126	158	200	250	316	398	500	631	1000	1580	2000	2500	3160		
1. Нікель							0	1	2	2													
2. Кобальт								0	1	2	2												
3. Цинк							0	0	2	2													
4. Манган											0	0	2	2									
5. Купрум	0	1	2	2																			
6. Магній																0	0	0	0	0	0	0	0

натів(IV) s-, d-металів здійснювали за величинами LD₅₀ та їхніми довірчими інтервалами з використанням експрес-методу В. Б. Прозоровського [12]. Упродовж токсикометричного моніторингу комплексів аналізували такі інтегральні показники стану мишей, як поведінкові реакції, зокрема відповідь на адекватні

зовнішні подразники (звук, світло, дотик), відношення до їжі та води, а також рухливість, стан шерсті, очей і вух, колір слизових оболонок, сечовиділення та дефекація відповідно до офіційних методичних рекомендацій [13]. Опис клінічних проявів токсичного впливу сполук, що досліджувались, проводили при

введенні дози, яка максимально близько відповідає середньосмертельній.

Ступінь (клас небезпеки) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) s-, d-металів визначали з урахуванням величини LD₅₀ за класифікацією К. К. Сидорова (1973 р.) [14].

Результати та їх обговорення. Загибель мишей залежно від доз сполук за одноразового в/о введення наведено в таблиці 1, з якої видно, що найбільша летальність тварин спостерігається у разі застосування комплексів (1–4) з Ni, Co, Zn, Mn в інтервалі 79–398 мг/кг. У той самий час полярні позиції займають гексааквакупрум(II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (5) і гексааквамагній дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) (6), у разі введення яких реєструється відповідно найбільш висока та мінімальна токсичність. Варто зазначити, що за умов одноразового введення мишам максимально можливих за об'ємом доз сполуки від 1580 до 3160 мг/кг, до складу якої входить Mg, летальності мишей не зареєстровано. Більше того, клінічний стан цих тварин упродовж першої доби після ін'єкції Mg-вмісної сполуки (6) характеризувався зниженням рухової активності й ознаками пригнічення функціонального стану ЦНС, що, як відомо, характерно для передозування Mg як антагоніста кальцію та супроводжується зменшенням виходу нейротрансмітера ацетилхоліну в синаптичну щілину синапса.

Щодо можливого механізму токсичної дії Mg, то натепер відомо [15], що цей макроелемент сприяє підвищенню активності ацетилхолінергестерази, яка гальмує передачу нервових імпульсів за участю ацетилхоліну.

На окрему увагу заслуговує аналіз загибелі мишей під впливом

сполуки, що містить Cu (5), оскільки вона є найагресивнішою з токсикологічної точки зору (летальність мишей реєструється при введенні доз в інтервалі 25,0–39,8 мг/кг). Ключовою причиною цього є висока афінність Cu²⁺ до SH-груп біосубстратів, зокрема глутатіону, що є тригером у каскаді біохімічних перетворень, які відповідають за цілісність клітинних мембран, зокрема еритроцитів.

Опис клінічних проявів токсичного впливу досліджуваних сполук у дозах, що максимально близько відповідають величинам LD₅₀, наведено в таблиці 2.

Результати визначення величин LD₅₀ та їхні довірчі границі комплексів (1–6), а також клас небезпеки, до якого вони відносяться, наведено в таблиці 3.

Отримані токсикометричні дані дозволили нам ранжувати сполуки (за металом, що до них входить) за ступенем зменшення їхньої гострої токсичності (збільшенням величини LD₅₀) наступним чином: Cu > Ni > Zn > Co > Mn > Mg.

Висновок

Первинний порівняльний аналіз отриманих даних у форматі залежності токсичності розглянутих координаційних сполук катіон-аніонного типу від їхньої структури дозволяє дійти висновку, що фармакофором біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) є саме s- або d-метал. Це підтверджується тим, що в складі сполук реалізується однаковий аніон.

З огляду на отримані дані можна прогнозувати, що характер фармакологічної дії сполук, що досліджуються, у значному ступені визначатиме катіон, а аніон буде не конкурувати, а посилювати дію катіона, реагуючи з відповідними біосубстратами в організмі.

Таблиця 2

Динаміка перебігу симптомів інтоксикації в мишей після одноразового введення сполук у дозах, що близькі до середньосмертельних

Біометал, що входить до складу сполуки	Доза, мг/кг	Симптоми інтоксикації	Термін початку виникнення та тривалість симптомів інтоксикації	Термін загибелі мишей
Нікель	100,0	Адинамія. Не споживали їжу та воду	5 хв; 48 год	48 год
Кобальт	158,0	Адинамія. Не споживали їжу та воду	5 хв; 24 год	24 год
Цинк	100,0–126,0	Короточасні корчі (25 хв). Адинамія. Не споживали їжу та воду	3 хв; 24 год	24 год
Манган	316,0	Зменшення спонтанної рухової активності, не споживали їжу та воду	50 хв; 24 год	24 год
Купрум	25,0–31,60	Короточасні корчі (18 хв). Зменшення спонтанної рухової активності	5 хв; 24 год	24 год
Магній	1580,0*	Зменшення спонтанної рухової активності, не споживали їжу та воду	4 хв; 12 год	–

Примітка. *Максимальна доза, що застосовувалась і не викликала загибель мишей.

Таблиця 3

Величини середньосмертельних доз та їхні довірчі границі для дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) s-, d-металів за умов одноразового внутрішньоочеревинного введення мишам

Формула та номер комплексу (у дужках)	LD ₅₀ , мг/кг	Клас небезпеки*
[Cu(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 4H ₂ O (5)	25,8 (22 ÷ 30)	III Помірно токсичні
[Ni(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 4H ₂ O (1)	103,0 (88 ÷ 118)	IV Малотоксичні
[Zn(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 3H ₂ O (3)	112,0 (98 ÷ 127)	IV Малотоксичні
[Co(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 4H ₂ O (2)	163,0 (140 ÷ 190)	IV Малотоксичні
[Mn(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 2H ₂ O (4)	282,0 (240 ÷ 320)	IV Малотоксичні
[Mg(H ₂ O) ₆][Ge ₂ (OH) ₂ (μ -H ₂ Glu) ₂] · 2H ₂ O (6)	≥ 1580	V Практично не токсичні

Примітка. *За класифікацією Сидорова К. К., 1973 р.

1. Лук'яничук В. Д. Методические основы лекарственной токсикометрии на доклиническом этапе. *Вісник фармакології та фармації*. 2008. № 7. С. 20–23.
2. Дороговоз С. М., Лук'яничук В. Д., Шейман Б. С. Лекарственная токсикология: учебник-справочник. Харьков : Титул, 2015. 592 с.
3. Лікарська токсикологія: підручник. С. М. Дороговоз, А. Л. Штробля, В. Д. Лук'яничук та ін. Харків : Титул, 2022. 160 с.
4. Літвіненко Д. Ф., Козир В. А., Марцино О. Е. Пошук потенційних антигіпоксантів серед оригінальних гетерометалічних комплексів германію та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 6. С. 60–65.
5. Фармакологічні властивості органічних та координаційних сполук германію – сучасні уявлення (огляд літератури). В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, Д. Ф. Літвіненко, О. Е. Марцино. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 1. С. 3–10.
6. Порівняльні скринінгові дослідження в ряду координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору. В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, К. О. Шебалдова, О. Е. Марцино та ін. *Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаяєва*. 2013. Т. 14, № 1. С. 81–84.
7. Патент на корисну модель 152495UA. Спосіб одержання калій гідроксоглюконатогерманату (IV), що проявляє протигіпоксичну активність. Лук'яничук В. Д., Сейфулліна І. Й., Марцино О. Е., Ядловський О. Є., Козир В. А., Чебаненко О. А., заявл. 18.01.2021; опубл. 15.02.2023. Бюл. № 7.
8. Патент на винахід 127322UA. Спосіб одержання нової координаційної сполуки ніацинцію дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманату(IV) тригідрату. Лук'яничук В. Д., Сейфулліна І. Й., Бухтіарова Т. А., Марцино О. Е., Козир В. А., Чебаненко О. А., заявл. 17.02.2021; опубл. 19.07.2023. Бюл. № 29.
9. Скринінгове дослідження церебропротекторної активності координаційних сполук германію на моделі закритої черепно-мозкової травми. В. Д. Лук'яничук, О. І. Ніженковський, В. С. Федорова, Д. С. Кравець, І. Й. Сейфулліна, О. Е. Марцино та ін. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2012. № 6. С. 63–68.
10. Порівняльна токсикометрія гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот. Т. А. Бухтіарова, В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, Д. С. Кравець, О. Е. Марцино та ін. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 4. С. 127–133.
11. Застосування германійвмісної координаційної сполуки манган тартрато германат (IV) з біологічно активним органічним лігандом винною кислотою, що має виражений антигіпоксичний ефект: патент на корисну модель 110014 Україна: МПК (2015.01) A61K31/00. № у 2016 02031; заявл. 02.03.2016; опубл. 26.09.2016. Бюл. № 18.
12. Прозоровский В. Б. Табличный экспресс-метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты. *Токсикологический вестник*. 1998. № 1. С. 28–32.
13. Доклинические исследования лекарственных средств: метод.реком.д.; под ред. чл.-корр. АМН Украины А. В. Стефанова. Киев : ВД «Авіцена», 2002. 568 с.
14. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых пром. хим. в-в*. 1973. Вып. 13. С. 47–60.
15. Ершов Ю. А., Плетенева Т. В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М. : Медицина, 1989. 272 с.

В. Д. Лук'яничук, І. Й. Сейфулліна, О. Є. Ядловський, О. Е. Марцино
Порівняльний аналіз співвідношення «структура – токсичність» серед уперше синтезованих біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV)

Актуальність питання, що розглядається в статті, полягає в доцільності адекватного порівняльно-го аналізу результатів доклінічного дослідження токсикометричних характеристик потенційних лікарських засобів залежно від їхньої хімічної структури зі спробою визначення фармакофора сполуки – лідера в ряду цих сполук.

На етапі порівняльної експериментальної лікарської токсикометрії досліджено у форматі «структура – токсичність» низку вперше цілеспрямовано синтезованих координаційних сполук германію з різними біометалами (магнієм (Mg), манганом (Mn), кобальтом (Co), нікелем (Ni), купрумом (Cu), цинком (Zn)), що розглядаються як потенційні лікувально-профілактичні засоби для фармакокорекції кисеньдефіцитних станів організму.

Мета дослідження – провести комплексний порівняльний аналіз співвідношення «структура – токсичність» уперше синтезованих біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) 3d-металів.

Дослідження виконано на статевозрілих мишах-самцях, які попередньо пройшли необхідні карантинні процедури з наступним дотриманням чинних вимог з біоетики.

У токсикометричному експерименті вивчали 6 уперше синтезованих біометалевих дигід-

роксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) з різними есенціальними мікроелементами (Zn, Mn, Cu, Mg, Co, Ni) за умов одноразового внутрішньоочеревинного (в/о) введення в різних дозах. Усі сполуки, що досліджуються, є водорозчинними. Ступінь токсичності координаційних сполук германію з біометалами визначали за величинами середньосмертельних доз та їхніми довірчими границями. Водночас реєстрували клінічні прояви токсичної дії, а також встановлювали клас небезпеки кожної зі сполук.

Експериментально доведено різний ступінь токсичності всіх досліджених сполук. Так, зокрема встановлено, що найтоксичнішою сполукою є мідьвісна, LD₅₀ якої становить 25,8 (22 ÷ 30) мг/кг і відноситься до III класу небезпеки, тобто, «помірно токсичних», а найменш токсичною виявилася сполука, до складу якої входить Mg, оскільки величина LD₅₀ складає >1580 мг/кг і є «практично нетоксичною» сполукою (V клас).

Ранжування координаційних сполук германію з різними біометалами на підставі отриманих токсикометричних даних за ступенем зменшення їхньої гострої токсичності (збільшенням величини LD₅₀) має наступний вигляд: Cu > Ni > Zn > Co > Mn > Mg.

У статті розглядаються можливі механізми токсичної дії германійорганічних сполук залежно від мікроелементу, що входить до їхнього складу.

Ключові слова: германійорганічні сполуки, біометали, хімічна структура – токсичність, токсикометричний аналіз

V. D. Lukianchuk, I. I. Seifullina, O. Y. Yadlovsky, O. E. Martsinko
Comparative analysis of «structure – toxicity» ratio among derivative of first synthesized biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates

Relevancy of question, presented in the article, lies in expediency of adequate comparative analysis of results of pre-clinic trials of toxicometric characteristics in potential drugs, depending on their chemical structure, with attempts to determine pharmacophore of the compound – the leader in the line of studied compounds.

On the stage of comparative experimental toxicometry, a line of first synthesized coordinational compounds of germanium with different biometals (magnesium (Mg), manganese (Mn), cobalt (Co), nickel (Ni), cuprum (Cu), zinc (Zn) are being studied in «structure – toxicity» format. They are regarded as potential treatment and prevention drugs for pharmacological correction of oxygen deficient states of body.

The aim of study – to conduct a complex, comparative analysis of «structure – toxicity» ratio of first synthesized biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV) 3d-metals.

Studies were conducted on adult male mice, which have underwent all necessary quarantine procedures in accordance with bioethics requirements.

Toxicometric experiment was conducted with 6 first synthesized biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV) with different essential microelements (Zn, Cu, Mn, Mg, Co, Ni), administered intraperitoneal in different doses. All studied compounds are water-soluble. Toxicity of coordinational germanium compounds with biometals was determined by the values of LD₅₀ and their confidence intervals. During experiment clinical manifestations of toxic activity were registered, and class of the danger has been assigned for each of studied compound.

Different values of toxicity and danger for each of studied compounds have been experimentally proven. Particularly it was established, that the most toxic and dangerous compound is copper-containing compound, LD₅₀ of which is 25,8 (22 ÷ 30) mg/kg, and it corresponds to III danger class «moderately toxic», and the least toxic compound is the one, which contains magnesium, as it's value of LD₅₀ is >1580 mg/kg and is considered «practically non-toxic» compound (V danger class).

Range of coordinational compounds of germanium with different biometals, based on toxicometric data obtained in ascending LD₅₀ value has following appearance: Cu > Ni > Zn > Co > Mn > Mg.

Thus, possible mechanisms of toxic action of studied compounds may depend on a microelement, included in their structure.

Key words: germanium organic compounds, biometals, chemical structure – toxicity, toxicometric analysis

Надійшла: 16 липня 2024 р.

Прийнята до друку: 21 серпня 2024 р.

Контактна особа: Лук'янюк Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармації, Міжнародний класичний університет імені Пилипа Орлика, буд. 2, вул. Котельна, м. Миколаїв.
Тел.: + 380 50 168 97 07. Електронна пошта: lvdlug@ukr.net