

О. Є. Ядловський¹, О. Е. Марцинко², В. Д. Лук'янчук³,
І. Й. Сейфулліна²

Первинний скринінг нових нестероїдних протизапальних засобів у ряду оригінальних біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV)

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

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

³Міжнародний класичний університет імені Пилипа Орлика, м. Миколаїв

Ключові слова: НПЗЗ, антиексудативна активність, скринінг, карагеніновий набряк, дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманати(IV)

Дотепер у всьому світі використовуються різні шляхи пошуку та розробки нових більш безпечних та ефективних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) серед оригінальних хімічних сполук, які мають сприятливий фармакокінетичний профіль і режим дозування за умов комбінованого клінічного застосування, особливо при коморбідних станах. Підґрунтям актуальності окресленої проблеми є, на нашу думку, два такі основні взаємопов'язані чинники, як лікарська безпечність і коморбідність.

З огляду на наш власний досвід роботи в галузі медичної германієорганічної хімії та фармакології германієвмісних координаційних сполук, є підстави вважати, що саме ці сполуки мають перспективу в плані скринінгових досліджень новітніх НПЗЗ. Обґрунтуванням цього можуть бути раніше опубліковані відомості про фармакодинамічні особливості германієвмісних сполук [1, 2], зокрема виявлена протизапальна активність германієорганічних сполук [3].

Встановлено, що застосування координаційних сполук біометалів дозволяє досить ефективно регулювати їхню концентрацію в органах у необхідній організму формі, транспортувати лікарський засіб до місця локалізації патологічного процесу, усувати токсичну дію катіонів металів й інших речовин. У зв'язку з цим виникла ідея використовувати при створенні лікарських препаратів, що містять германій, замість органічних його координаційні сполуки з біологічно активними органічними лігандами – метаболітами організму різної природи [4, 5].

Сьогодні спільними зусиллями фармакологів України досліджено фармакодинаміку та фармакокінетику низки координаційних сполук германію з різними біолігандами, які були синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом професора І. Й. Сейфулліної, на різних моделях кисень дефіцитних станів, зокрема таких, як гіпоксія замкнутого простору, гіпоксія на тлі перегріву, синдром тривалого розчавлювання, гостра церебральна ішемія, гостра інтоксикація, закрита черепно-мозкова травма та ін. [5–7].

Доведено, що в основі механізму протигіпоксичної (протиішемічної) дії координаційних сполук германію з біолігандами за різних моделей, які адекватно відтворюють екстремальні кисень дефіцитні стани, лежить їхня здатність ефективно коригувати структурно-функціональний стан мітохондріального та мікосомально-го електронотранспортних ланцюгів [6, 7]. Тому саме в цьому стратегічному напрямі слід здійснювати пошук нових антигіпоксантів – цілеспрямований синтез оригінальних координаційних сполук на основі германію та інших біометалів.

Виходячи з усього вищевикладеного, можна дійти висновку, що координаційні сполуки германію різного типу характеризуються досить широким спектром фармакологічної активності та низькою токсичністю, а також сприятливим фармакокінетичним профілем на різних моделях. Усе це демонструє ефективність і перспективність подальшого фармакологічного вивчення сполук германію при різних патологічних станах і захворюваннях.

Мета дослідження – провести первинний фармакологічний скринінг потенційних НПЗЗ серед уперше синтезованих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV)s-, d-металів на моделі карагенінового набряку та визначити найперспективніші сполуки порівняно з референтним препаратом.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження виконані на статевозрілих нелінійних мишах масою 18–22 г. Тварини перебували на стандартному раціоні та у стандартних умовах віварію відповідно до санітарно-гігієнічних норм. Дослідження проведено відповідно до вимог «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які вико-

ристовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (м. Страсбург, 1986 р.).

У дослідженні було використано 6 координаційних сполук германію, що містять купрум, нікель, цинк, кобальт, манган та магній, які були синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом професора І. Й. Сейфулліної. Як референтний препарат використано диклофенак натрію (Диклоберл-75, ампули по 3 мл № 5, Берлін-Хемі, Німеччина). Досліджувані речовини – гексаакванікель (II) дигідроксо- μ -біс (глюконато)дигерманат (IV) – Біогерм-Ni, гексааквакобальт (II) дигідроксо- μ -біс (глюконато)дигерманат (IV) – Біогерм-Co, гексааквацинк (II) дигідроксо- μ -біс (глюконато)дигерманат (IV) – Біогерм-Zn, гексаакваманган (II) дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат (IV) – Біогерм-Mn, гексааквакупрум (II) дигідроксо- μ -біс (глюконато)дигерманат (IV) – Біогерм-Cu, гексааквамагній дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманат(IV) – Біогерм-Mg – вводили внутрішньоочеревинно у вигляді водних розчинів. При виборі доз для сполук, які піддавали скринінгу, виходили з результатів токсикометрії та вводили їх у середньоефективних дозах, що складали 1/5 від LD₅₀.

Первинний скринінг проводили на моделі ексудативного запалення (карагеніновий набряк) на 64 білих нелінійних мишах, які були розділені на 8 груп по 8 тварин у кожній [8, 9]. Досліджувані речовини вводили внутрішньоочеревинно, одноразово в наступних дозах: Біогерм-Ni – 20,60 мг/кг; Біогерм-Co – 33,00 мг/кг; Біогерм-Zn – 22,40 мг/кг; Біогерм-Mn – 56,40 мг/кг; Біогерм-Cu – 5,20 мг/кг;

Біогерм-Mg – 300,00 мг/кг; препарат порівняння диклоберл вводили в дозі 8 мг/кг за 15 хв до субплантарної ін'єкції 0,05 мл 1 % карагеніну (Sigma-Aldrich, США) в праву задню лапу. Контрольна група отримувала розчинник в еквіоб'ємній кількості. Через 3 год після ін'єкції карагеніну мишей вилучали з експерименту та піддавали мортифікації. Задні лапи (набряклу й ненабряклу) ампутували на рівні тазостегнових суглобів. Тазостернові суглоби зважували та розраховували ступінь інгібування набряку за формулою:

$$\text{Інгібіція набряку (\%)} = 100 \% - \frac{(M_{se} - M_{he})}{(M_{sc} - M_{hc})} \cdot 100 \%,$$

де M_{se} – маса набряклої стопи в експерименті, M_{he} – маса здорової стопи в експерименті, M_{sc} – маса набряклої стопи в контролі, M_{hc} – маса здорової стопи в контролі.

Статистичну обробку отриманих даних проводили методом варіаційної статистики 0 (t-тест) [10].

Результати та їх обговорення. Результати визначення антиексудативної активності координаційних сполук германію наведено в таблиці. Досліджені сполуки за вираженістю антиексудативної активності можна розмістити в наступній послідовності: нікель \leq манган \leq магній \leq кобальт \leq купрум \leq диклофенак натрію \leq цинк. Так, уведення в базу структуру іонів магнію або нікелю не було пов'язано з достовірним антиексудативним ефектом. Присутність іону мангану в структурі викликає достовірне зниження набряку на 11,37 %, що можна трактувати як тенденцію до протизапальної дії. Присутність у молекулі кобальту, купруму, цинку пов'язана з вираженим протизапальним ефектом 20,79 %, 29,0 %, 36,35 % відповідно.

Таблиця

Протизапальна активність координаційних сполук германію в тесті «карагеніновий набряк» у білих нелінійних мишей за одноразового внутрішньоочеревинного введення ($M \pm m$, $n = 8$)

Сполука	Доза, мг/кг	Маса набряклої стопи в контролі, мг	Маса набряклої стопи в досліді, мг	Відсоток інгібіції набряку	P^1	P^2
Диклоберл (референтний препарат)	8,00	85,0 \pm 3,65	54,49 \pm 3,01	35,8	< 0,05	
Біогерм-Cu	5,20	85,0 \pm 3,65	60,35 \pm 6,52	29,00	< 0,05	> 0,05
Біогерм-Ni	20,60	85,0 \pm 3,65	77,49 \pm 5,27	8,84	> 0,05	< 0,05
Біогерм-Zn	22,40	85,0 \pm 3,65	54,10 \pm 5,01	36,35	< 0,05	> 0,05
Біогерм-Co	33,00	85,0 \pm 3,65	67,33 \pm 2,95	20,79	< 0,05	< 0,05
Біогерм-Mn	56,40	85,0 \pm 3,65	75,34 \pm 2,56	11,37	< 0,05	< 0,05
Біогерм-Mg	300,0	85,0 \pm 3,65	72,21 \pm 6,83	15,04	> 0,05	< 0,05

Примітка. P^1 – порівняно з контролем, P^2 – порівняно з референтним препаратом, n – кількість тварин у групі.

Водночас сполуки, що містять купрум або цинк, виявляють у використаних дозах протизапальну активність, яка співставима з такою препарату порівняння диклофенаку натрію.

Відомо, що протизапальна активність сполук, які містять германій, пов'язана зі значним пригнічуванням, спричиненим вивільненням арахідонової кислоти та продукуванням PGE₂ у клітинах RBL 2H3, водночас вони не впливають на індуковане мелітином вивільнення гістаміну й індуковане діоксидом кремнію внутрішньоклітинне утворення H₂O₂ або гідропероксиду в клітинах RBL 2H3 [3].

Враховуючи, що в зазначений термін дослідження модель карагенінового набряку характеризується залученістю циклооксигеназного шляху запалення, можна припустити, що протизапальна активність вивчених сполук германію пов'язана з їхнім впливом саме на циклооксигеназний механізм. Показано, що комплекси купруму (II), нікелю (II), кобальту (II), магнію (II), цинку (II), а також мангану потенціюють протизапальну дію хінолонів, оксикамів, імідазолів та ін. структур [11, 12]. Однак у випадку біометалевих дигідроксо-μ-біс(глюконато) дигермана-

тів (IV) введення іонів нікелю, магнію та мангану не пов'язано з вираженою протизапальною дією.

Висновки

1. За результатами первинного фармакологічного скринінгу потенційних НПЗЗ серед уперше синтезованих біометалевих дигідроксо-μ-біс(глюконато)дигерманатів(IV) на моделі карагенінового набряку встановлено, що найперспективнішими з них за величиною протизапальної (антиексудативної) активності є сполуки, що містять у структурі іони кобальту, купруму або цинку.
2. За обраної моделі запалення та інших умов експерименту (одноразового внутрішньоочередивного введення в середньоефективних дозах) сполуки Біогерм-Cu та Біогерм-Zn інгібують карагеніновий набряк відповідно 29,0 % та 36,35 %, що достовірно не відрізняється від проти набрякового ефекту препарату порівняння – диклофенаку натрію (35,8 %).
3. Отримані результати свідчать про доцільність подальших досліджень найефективніших сполук, похідних дигідроксо-μ-біс(глюконато)дигерманатів(IV) як потенційних НПЗЗ.

1. The role of germanium in diseases: exploring its important biological effects. X. Luo, J. Sun, D. Kong et al. *Journal of Translational Medicine*. 2023. V. 21. P. 795. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04643-0>.
2. Immune activation of bio-germanium in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with 130 human subjects. J. M. Cho, J. Chae, S. R. Jeon et al. *Therapeutic opportunities from new in sights. PLoS ONE*. 2020. V. 15 (10). P. e0240358. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240358>.
3. Lee J., Kim K., Yoon et al. M. Anti-inflammatory effect of germanium – concentrate dyeast against paw edema is related to the inhibition of arachidonic acid release and prostaglandin E2 production in RBL 2H3 cells. *Auton Autacoid Pharmacol*. 2005. V. 25 (4). P. 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1474-8673.2005.00335.x>.
4. Бухтіарова Т. А., Лук'янчук В. Д., Сейфулліна І. Й. Порівняльна токсикометрія гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот. *Вісник наукових досліджень*. 2017. № 4. С. 127–132. <https://doi.org/10.11603/2415-8798.2017.4.8165>.
5. Склад, структура та фармакологічна активність гетерометалевих біс (цитрато) германатних (станнатних) комплексів. І. І. Сейфулліна, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко, О. Г. Песарогло. *Вісник ОНУ. Хімія*. 2020. Т. 25, № 2 (74). С. 6–21. [https://doi.org/10.18524/2304-0947.2020.2\(74\).204379](https://doi.org/10.18524/2304-0947.2020.2(74).204379).
6. Cerebroprotection by germanium coordination compounds in experimental acute global brain ischemia. V. D. Lukianchuk, I. I. Seifullina, O. E. Martinko, O. O. Shevchuk. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2018. V. 4 (1). P. 60–66. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2018.1.9253>.
7. Pharmacokinetics of the new cerebroprotector ferrum bis (citrate) germanate at the stage of its distribution to the organs in closed head injury. V. D. Lukianchuk, T. A. Bukhtiarova, I. I. Seifullina et al. *International Journal of Medicine and Medical Research*. 2019. V. 5 (1). P. 58–65. <https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.1.10306>.

8. Тринус Ф. П., Мохорт Н. А., Клебанов Б. М. Нестероидные противовоспалительные средства. Киев : Здоров'я, 1975. 240 с.
9. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації); за ред. О. В. Стефанова. Київ : ВД «Авіцена», 2001. 528 с.
10. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистика в науке и бизнесе. Киев : Морион, 2002. 640 с.
11. Psomas G., Kessissoglou D. P. Quinolones non-steroidal anti-inflammatory drugs interacting with copper(II), nickel(II), cobalt(II) and zinc(II): structural features, biological evaluation and perspectives. *Dalton Transactions*. 2013. V. 42 (18). P. 6252–6276. <https://doi.org/10.1039/C3DT50268F>.
12. Psomas G. Copper(II) and zinc(II) coordination compounds of non-steroidal anti-inflammatory drugs: structural features and antioxidant activity. *Coordination Chemistry Reviews*. 2020. V. 412. P. 213–259. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213259>.

О. Є. Ядловський, О. Е. Марцинко, В. Д. Лук'янчук, І. Й. Сейфулліна
Первинний скринінг нових нестероїдних протизапальних засобів у ряду
оригінальних біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV)

Сьогодні немає протизапальних препаратів, які б оптимально задовольняли умовам клініки. Тому активно ведеться пошук нових протизапальних засобів, які б переважали існуючі аналоги за ефективністю та/чи безпекою. У цьому плані перспективні германієві координаційні сполуки, яким притаманний широкий спектр фармакологічної активності, включаючи протизапальну. У попередніх дослідженнях нами було показано низьку токсичність ($LD_{50} > 2000$ мг/кг) та виражену антигіпоксичну активність біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV).

Мета дослідження – провести первинний фармакологічний скринінг потенційних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) серед уперше синтезованих біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) на моделі карагенінового набряку та визначити найперспективніші сполуки порівняно з референтним препаратом.

Антиексудативну активність біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV), що містять іони нікелю, мангану, магнію, кобальту, купруму або цинку, було вивчено на моделі ексудативного запалення «карагеніновий набряк» порівняно з диклофенаком натрію на білих нелінійних мишах. Досліджені сполуки вводили внутрішньоочеревинно одноразово за 15 хв до введення флогогенного агента в апоневроз задньої лапи. Кількісну оцінку величини набряку здійснювали за показником маси стопи.

За результатами експерименту встановлено, що за рівнем протизапальної (антиексудативної) активності досліджені сполуки можна розмістити в наступній послідовності: нікель \leq манган \leq магній \leq кобальт \leq купрум \leq диклофенак натрію \leq цинк. Показано, що введення в базову структуру іонів магнію, нікелю, мангану не було пов'язано з достовірним антиексудативним ефектом. Сполуки з наявністю в молекулі іонів кобальту, купруму або цинку характеризувалися вираженим протизапальним ефектом, інгібування набряку становило 20,79 %, 29,0 % та 36,35 % відповідно.

У використаних дозах сполуки, що містять купрум або цинк, виявляють протизапальну активність, яка співставна з такою препарату порівняння диклофенаку натрію. Враховуючи, що в цей термін дослідження модель карагенінового набряку характеризується залученістю циклооксигеназного шляху запалення, можна припустити антициклооксигеназний механізм реалізації протизапальної дії координаційних сполук германію, що вивчалися.

Таким чином, отримані результати свідчать про доцільність подальших досліджень найефективніших сполук, біометалевих дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманатів(IV) як потенційних НПЗЗ.

Ключові слова: нестероїдні протизапальні засоби, антиексудативна активність, скринінг, карагеніновий набряк, дигідроксо- μ -біс(глюконато)дигерманати(IV)

О. Е. Yadlovskiy, O. E. Martsynko, V. D. Lukyanchuk, I. Y. Seifullina
Primary screening of new non-steroid anti-inflammatory drugs in the line
of original biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV)

Nowadays, there are no anti-inflammatory drugs, that would optimally fit clinical conditions. That's why there is an active search for new anti-inflammatory drugs, which would exceed the existing analogues in effectivity and/or safety. In this regard, there is a perspective in germanium containing coordination compounds, to which wide spectrum of pharmacological activity, including anti-inflammatory is inherent. In preliminary studies we have shown low toxicity ($LD_{50} > 2000$ mg/kg) and pronounced antihypoxic activity in biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV).

The aim of the study – to carry out primary screening of anti-inflammatory activity among original biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV) and to determine the most promising compounds compared with referent drug.

Antiexudative activity of biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates, which contain ions of nickel, manganese, magnesium, cobalt, copper or zinc, have been studied on the model of exudative inflammation «carrageenan edema» in comparison with sodium diclofenac in white non-linear mice.

Studied compounds were injected intraperitoneal once, 15 minutes before administration of flogogenic agent into aponeurosis of hind paw. Quantitative assessment of edema was carried out based on the paw weight.

As a result of the experiment it was established that by the level of anti-inflammatory effect studied compounds can be arranged in the next sequence: nickel \leq manganese \leq magnesium \leq cobalt \leq copper \leq diclofenac \leq zinc.

Shown, that introduction in the base structure of nickel, manganese or magnesium ions didn't provide the reliable antiexudative effect, while presence of such ions as cobalt, copper or zinc caused pronounced anti-inflammatory effect: edema inhibition was 20,79%, 29,0% та 36,35% correspondingly.

Compounds in used doses, that contain copper or zinc, show anti-inflammatory activity, comparable to that of reference drug sodium diclofenac. Accounting for the fact, that at this period of study the model of carrageenan edema characterizes cyclooxygenase path of inflammation, one can assume, the presence of anticyclooxygenase component of anti-inflammatory action of studied coordination compounds of germanium.

Thus, the results obtained indicate the perspective of further studies of the most active biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV) as promising NSAIDs.

Key words: NSAID, antiexudative activity, screening, carrageenan edema, coordination compounds, biometallic dihydroxo- μ -bis(gluconato)digermanates(IV)

Надійшла: 30 серпня 2024 р.

Прийнята до друку: 27 листопада 2024 р.

Контактна особа: Ядловський Олег Євгенович, доктор біологічних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 42 56.