

О. Л. Тимчишин, В. В. Годован, І. Й. Сейфулліна

ГОСТРА ТОКСИЧНІСТЬ МЕДГЕРМУ — НОВОГО ПОХІДНОГО ГЕРМАНІЄВОЇ СОЛІ ДИФОСФОНОВОЇ КИСЛОТИ З МІДДЮ

Одеський державний медичний університет,
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Одним із головних завдань сучасної фармакологічної науки є дослідження і розробка нових високоєфективних у фармако-терапевтичному і безпечних у токсикологічному ракурсах лікарських засобів. Проте що вища біологічна активність, то більша вірогідність виникнення, поряд з небажаною активністю, негативною побічної дії на організм. За даними літератури [1; 2], з кожним роком спостерігається зростання кількості небажаних ефектів унаслідок лікування лікарськими препаратами, а в окремих випадках — зі смертельним результатом. Різноманітність проявів небажаних ефектів при застосуванні ліків обумовлена комплексом різних причин, починаючи від ступеня ксеногенності синтетичних препаратів до несприятливої дії комплексу факторів зовнішнього середовища (включаючи продукти харчування), а також особливостей взаємодії ліків при їх спільному використанні. Тому первинним завданням при пошуку та створенні нових лікарських засобів є вивчення нешкідливості самої біологічно активної речовини (БАР) в умовах її одно- або багатократного введення в організм [3].

Упродовж багатьох років співробітниками кафедри загальної і клінічної фармакології Одеського державного медичного університету (ОДМУ) вивчаються фармакодинамічні і фармакокінетичні властивості координаційних сполук германію з різними біолігандами — нікотиною кислотою, нікотин-

амідом, янтарною кислотою, магнієм, кальцієм та ін. [4–7]. Встановлено, що ці БАР, поряд з низькою токсичністю, мають високу різновекторну фармакологічну активність. Деякі сполуки здійснюють виражену гепатозахисну й антитоксичну дію [8; 9]. Інші БАР у цьому ряду є перспективними кардіопротекторами, мають виразні протиаритмічні й антигіпертензивні властивості [10]. Окремим сполукам германію властива висока нейротропна активність, ефективність при судомах різного генезу [11; 12]. Характерним для координаційних сполук германію є антиоксидантна, антигіпоксична, мембранопротекторна дія [4; 9; 10; 13]. Вони здатні стабілізувати основні компоненти мітохондріальних і мікосомальних електронно-транспортних ланцюгів клітин, коригувати процеси тканинного дихання та детоксикації, а також нормалізувати біоенергетичні процеси в клітинах шляхом модифікації активності ферментів енергетичного обміну [13]. Тому в сучасній фармакології залишаються актуальними питання вивчення нових координаційних сполук германію з біолігандами.

Вищеперелічене і визначило нашу зацікавленість у вивченні фармакологічних властивостей нової координаційної сполуки германію з міддю — мідьоксіетилідендифосфонатогерманатом (медгерм), синтезованим на кафедрі загальної хімії і полімерів Одеського національного університету ім. І. І. Мечни-

кова під керівництвом проф. І. Й. Сейфулліної.

Метою даного дослідження стало вивчення на мишах і щурах токсикометричних характеристик медгерму в гострому експерименті при різних шляхах його введення.

Матеріали та методи дослідження

Вивчення гострої токсичності медгерму проведено на 132 мишах лінії ISR масою 18–20 г і на 132 щурах лінії Вістар масою 180–220 г обох статей. Експериментальні дослідження виконані на тваринах, розведених у віварію ОДМУ МОЗ України. Тварини утримувалися на стандартному водно-харчовому раціоні при доступі до води та їжі *ad libitum*. Досліди проводилися відповідно до вимог GLP, методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [3], загальних етичних принципів експериментів на тваринах (ухвалено Першим національним конгресом з біоетики 20 вересня 2001 р., Київ, Україна).

Експеримент було організовано у два етапи: 1-й етап — «пристрілювальна» серія; 2-й етап — основна серія, де тварини були розділені на окремі групи (n = 6). Для дослідження нешкідливості водний розчин медгерму вводили одноразово внутрішньочеревинно (в/ч), підшкірно (п/ш) і перорально (п/о) з дотриманням правил залежності його об'єму від шляху введення і виду тварин. Перорально медгерм вводили за допо-



могою спеціальної голки-насадки з оливою.

Основним критерієм кількісної характеристики токсичності медгерму була LD_{50} , яка визначалася за допомогою методу найменших квадратів для пробіт-аналізу кривих летальності за В. В. Прозоровським [14]. Крім того, для всебічної токсикометричної оцінки БАР були розраховані такі показники небезпеки: $1/LD_{50}$ — обернена величина середньосмертельної дози (абсолютна токсичність), LD_{84}/LD_{16} — діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії), $1/(LD_{50} - S)$ — сумарний показник токсичності та S — функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) за формулою:

$$S = \left(\frac{LD_{84}}{LD_{50}} + \frac{LD_{50}}{LD_{16}} \right) : 2$$

Екстраполяцію токсикометричних параметрів на людину проводили методом [15] з використанням констант біологічної активності. Статистична обробка отриманих результатів проводилася з використанням програми "StatPlus 2009" (компанія AnalystSoft, США, 2009).

Результати дослідження та їх обговорення

Для визначення летального ефекту у 100 % випадків або його відсутності спочатку було проведено орієнтовну («пристрілювальну») серію дослідів при однократному введенні медгерму різними дозами. Клінічна картина отруєння розвивалася в різні терміни залежно від шляху введення, проте можна було виявити чітку фазність: збудження, пригнічення з явищами парезів, паралічів, судом і летальний кінець. Збудження було більш виразним після в/ч введення і розвивалося через 5–7 хв. При п/о введенні медгерму збудження зміщувалося на 5–10 хв. У цей час миші та щури активніше пересувалися по камері, частіше міняли

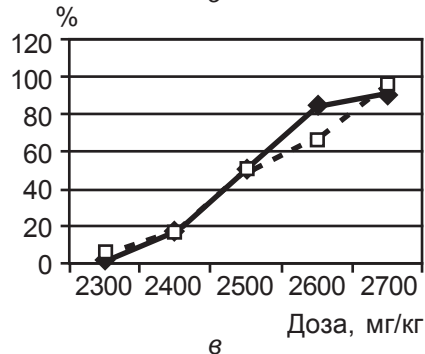
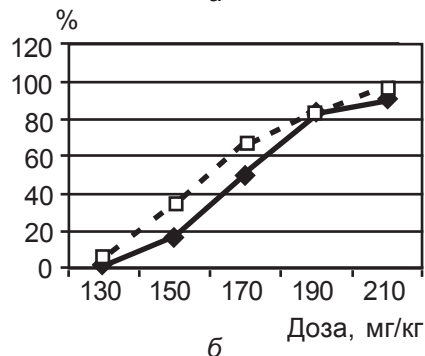
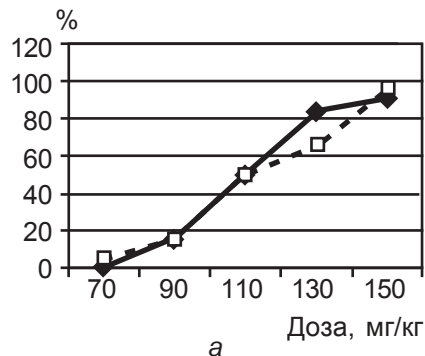
позу, підстрибували, яскравіше виявляли цікавість до навколишнього оточення, їхні рухи були координованими. У тварин частішало дихання, з'являлося незначне почервоніння вух і мордочки. Фаза збудження була нетривалою — 3–5 хв. Потім спостерігалася друга фаза з виразною загальмованістю, різким пригніченням дихання (до 20–30 хв), акроціанозом, частим сечовипусканням і дефекацією. Викликалися фібрилярні сипання м'язів, тремор і, на решті, тоніко-клонічні судоми. Тривалість другої фази залежала від шляху введення медгерму і, як правило, тривала до самої смерті. Найрізкіше ці зміни виявлялися при в/ч, менше — при п/о введенні БАР. Тварини гинули від різкого пригнічення дихання і судом. Як правило, у більшості тварин смерть наставала через 12–24 год після введення токсичних доз медгерму. Для виключення з експерименту тварин, загиблих від поранення голкою кровоносних судин з подальшою кровотечею, травмування стравоходу або дихальних шляхів, проводили розтин усіх загиблих тварин.

За результатами «пристрілювальної» серії досліджень був зроблений висновок про нижні (100 % летальності) та верхні (0 % летальності) межі, в яких знаходиться LD_{50} (табл. 1).

Після «пристрілювальної» серії дослідів був проведений другий етап експерименту з ви-

Таблиця 1
Діапазон летальних доз медгерму (мг/кг маси) у «пристрілювальній» серії дослідів залежно від виду тварин і шляху введення

| Шлях введення | Вид тварин | |
|-----------------------|------------|-----------|
| | Миші | Щури |
| Внутрішньо-черевинний | 70÷150 | 20÷100 |
| Підшкірний | 130÷210 | 40÷120 |
| Пероральний | 2200÷2600 | 2300÷2700 |



◆ Пряма регресія
□ Експериментальні точки

Рис. 1. Залежність між випробуваними дозами медгерму і летальним ефектом у мишей при різних шляхах введення. На рис. 1 і 2: а — внутрішньочеревинний; б — підшкірний; в — пероральний

значенням гострої токсичності медгерму у мишей та щурів при різних шляхах його введення. Залежність загибелі тварин від дози та шляху введення медгерму відображено на рис. 1 і 2, а токсикометричні показники — у табл. 2 і 3.

Аналізуючи результати вивчення токсичності медгерму у мишей і щурів в умовах гострого експерименту, відповідно до класифікації К. К. Сидорова [16], можна констатувати, що медгерм при в/ч та п/ш шляхах введення належить до IV кла-



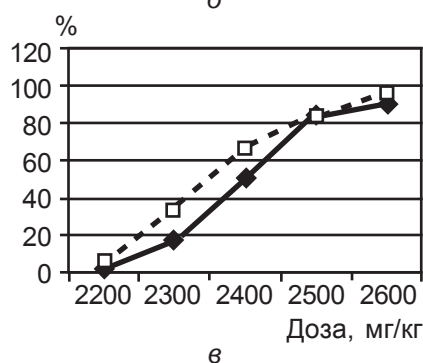
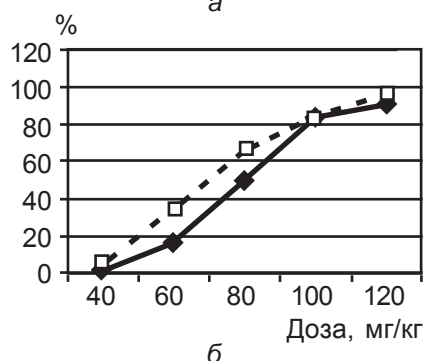
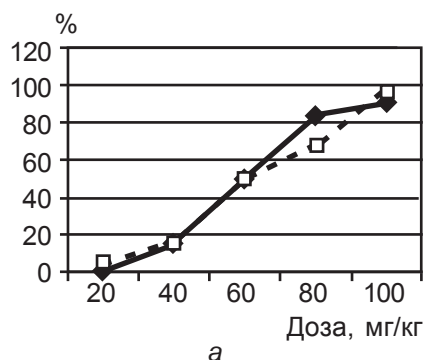
Гостра токсичність медгерму у мишей залежно від шляхів його введення

| Показник гострої токсичності | Шлях введення | | |
|--|-----------------------|-------------|-------------|
| | Внутрішньо-черевинний | Під-шкірний | Пероральний |
| ЛД ₅₀ | 113,55 | 163,26 | 2517,73 |
| Стандартна похибка ЛД ₅₀ | 8,41 | 8,34 | 42,03 |
| Нижня межа ЛД ₅₀ | 95,81 | 145,66 | 2429,06 |
| Верхня межа ЛД ₅₀ | 131,28 | 180,85 | 2606,40 |
| ЛД ₁₀ | 81,23 | 131,19 | 2356,13 |
| ЛД ₁₆ | 88,33 | 138,24 | 2391,65 |
| ЛД ₈₄ | 138,76 | 188,27 | 2643,81 |
| ЛД ₁₀₀ | 151,37 | 200,78 | 2706,86 |
| Абсолютна токсичність (1/ЛД ₅₀) | 0,0088 | 0,0061 | 0,000397 |
| Зона гострої токсичної дії (ЛД ₈₄ /ЛД ₁₆) | 1,57 | 1,36 | 1,11 |
| Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S) | 1,25 | 1,17 | 1,05 |
| Сумарний показник токсичності | 0,0110 | 0,0071 | 0,0004 |
| Рівень значущості | 0,05 | 0,05 | 0,05 |

Таблиця 3

Гостра токсичність медгерму у щурів залежно від шляхів його введення

| Показник гострої токсичності | Шлях введення | | |
|--|-----------------------|-------------|-------------|
| | Внутрішньо-черевинний | Під-шкірний | Пероральний |
| ЛД ₅₀ | 63,55 | 73,26 | 2366,29 |
| Стандартна похибка ЛД ₅₀ | 8,41 | 8,34 | 41,69 |
| Нижня межа ЛД ₅₀ | 45,81 | 55,66 | 2278,32 |
| Верхня межа ЛД ₅₀ | 81,28 | 90,85 | 2454,26 |
| ЛД ₁₀ | 31,23 | 41,19 | 2205,97 |
| ЛД ₁₆ | 38,33 | 48,24 | 2241,21 |
| ЛД ₈₄ | 88,76 | 98,27 | 2491,37 |
| ЛД ₁₀₀ | 101,37 | 110,78 | 2553,91 |
| Абсолютна токсичність (1/ЛД ₅₀) | 0,016 | 0,014 | 0,000423 |
| Зона гострої токсичної дії (ЛД ₈₄ /ЛД ₁₆) | 2,32 | 2,04 | 1,11 |
| Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S) | 1,53 | 1,43 | 1,05 |
| Сумарний показник токсичності | 0,0240 | 0,0195 | 0,0004 |
| Рівень значущості | 0,05 | 0,05 | 0,05 |



◆ Прямая регресия

□ Экспериментальные точки

Рис. 2. Залежність між випробуваними дозами медгерму і летальним ефектом у щурів при різних шляхах введення

су токсичності, тобто до малотоксичних сполук, а при п/о — до V класу токсичності, тобто до практично нетоксичних сполук. Більш низька токсичність медгерму при п/о введенні може бути обумовлена особливістю його фармакокінетичних параметрів.

Порівняльна оцінка параметрів токсичності медгерму при трьох шляхах введення у різних видів гризунів показала деякі відмінності (див. табл. 2, 3).

Так, зона гострої токсичної дії (співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆) медгерму має вельми значну

широту. Однак у мишей показник співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆ медгерму при досліджуваних шляхах введення був меншим, ніж у щурів (відповідно 1,57 — 1,11, 2,32 — 1,11). Водночас і у мишей, і у щурів виявлено однакову закономірність зміни меж зони гострої токсичності залежно від шляху введення,

а саме: найбільша широта зони гострої токсичності спостерігалася при в/ч шляху введення (миші — 1,57, щури — 2,32), а найменша — при п/о шляху (1,11 в обох видів тварин). Різні значення співвідношення ЛД₈₄/ЛД₁₆ можна пояснити фармакогенетичними особливостями різних видів гризунів.



Таблиця 4

Гостра токсичність медгерму для людини, мг/кг

| Показник гострої токсичності | Шлях введення | | |
|--|-----------------------|------------|-------------|
| | Внутрішньо-черевинний | Підшкірний | Пероральний |
| ЛД ₅₀ | 10,01 | 11,54 | 372,59 |
| Стандартна похибка ЛД ₅₀ | 1,32 | 1,31 | 6,56 |
| Нижня межа ЛД ₅₀ | 7,21 | 8,76 | 358,74 |
| Верхня межа ЛД ₅₀ | 12,80 | 14,31 | 386,44 |
| ЛД ₁₀ | 4,92 | 6,49 | 347,35 |
| ЛД ₁₆ | 6,04 | 7,60 | 352,90 |
| ЛД ₈₄ | 13,98 | 15,47 | 392,29 |
| ЛД ₁₀₀ | 15,96 | 17,44 | 402,14 |
| Абсолютна токсичність (1/ЛД ₅₀) | 0,099 | 0,086 | 0,0027 |
| Зона гострої токсичної дії (ЛД ₈₄ /ЛД ₁₆) | 2,31 | 2,04 | 1,11 |
| Функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз, S) | 1,53 | 1,43 | 1,05 |
| Сумарний показник токсичності | 0,12 | 0,09 | 0,003 |
| Рівень значущості | 0,05 | 0,05 | 0,05 |

За варіабельністю смертельних доз (функція кута нахилу), яка становить від 1,57 до 1,0, медгерм можна зарахувати до сполук, які не становлять високої потенційної небезпеки виникнення і розвитку отруєння. З цими даними повною мірою корелюють і величини сумарного показника токсичності.

Екстраполяція на людей параметрів гострої токсичності, одержаних на тваринах, представлена у табл. 4. Розрахункові показники токсичності та небезпеки медгерму для людини показують, що він не становить особливої небезпеки і для людини. Про це свідчать досить низькі значення середньосмертельної дози, абсолютної токсичності, сумарного показника токсичності та досить високі значення зони гострої токсичної дії медгерму, особливо при в/ч та п/ш шляхах введення.

Таким чином, отримані результати вивчення нешкідливості медгерму на мишах і щурах дозволяють зробити такі висновки:

1. Нове похідне в ряду оксіетилідендифосфонатогерманатів медгерм належить до класу низькотоксичних сполук

при пероральному шляху введення і малотоксичних сполук при внутрішньочеревинному та підшкірному шляхах введення в обох видів тварин.

2. Достатньо низька токсичність медгерму свідчить про перспективність його скринінгового дослідження як потенційного лікарського засобу.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Принципові підходи до оцінки співвідношення користь/ризик при виборі лікарського засобу* / О. П. Вікторов, В. І. Мальцев, Ж. А. Хоменко [та ін.] // Сучасні проблеми токсикології. — 2006. — № 2. — С. 21-28.

2. *Вікторов О. П.* Побічна дія при взаємодії ліків: аналізуємо наслідки / О. П. Вікторов, М. Л. Шараєва // *Новості медицини і фармації*. — 2003. — № 10 (138). — С. 18.

3. *Доклинические исследования лекарственных средств* : метод. рекомендації / под ред. чл.-кор. АМН України А. В. Стефанова. — К. : Авіценна, 2002. — 567 с.

4. *Годован В. В.* Фармакологія гепатозахисного действия новых координационных соединений германия с биолігандами : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / Годован В. В. ; Одес. гос. мед. ун-т. — О., 1998. — 234 с.

5. *Новые биологически активные вещества на основе германия* / В. И. Кресюн, И. И. Сейфуллина, В. В. Годован [и др.] // *Клінічна фармація*. — 2000. — Т. 4, № 4. — С. 66-67. (Вчені

України — вітчизняній фармації : наук. конф. Харків, вересень 2000).

6. *Шемонаева Е. Ф.* Фармакокінетика координационных соединений германия с биолігандами : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / Шемонаева Е. Ф. ; Одес. гос. мед. ун-т. — О., 2002. — 220 с.

7. *Видавская А. Г.* Фармакокінетика новых биологически активных веществ на основе оксіетилідендифосфоната германия с никотиновой кислотой, никотинамидом и магнием : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / А. Г. Видавская ; Одес. гос. мед. ун-т. — О., 2002. — 207 с.

8. *Кресюн В. Й.* Вплив похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів на фосфоліпідний склад мембран при токсичному ураженні печінки / В. Й. Кресюн, В. В. Годован, І. Й. Сейфулліна // *Журнал АМН України*. — 2008. — Т. 14, № 1. — С. 63-73.

9. *Внукова М. О.* Фармакотерапевтична ефективність координаційної сполуки германію з нікотинамідом при експериментальному медикаментозному гепатиті : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / Внукова М. О. — О., 2008. — 182 с.

10. *Годован В. В.* Фармакологічні властивості нових похідних германієвих солей дифосфонових кислот з біолігандами : дис. ... д-ра мед. наук : 14.03.05 / Годован В. В. ; Одес. держ. мед. ун-т. — О., 2008. — 452 с.

11. *Антоненко П. Б.* Вплив сполук германію з біолігандами на експериментальні форми судомного синдрому / П. Б. Антоненко, В. Й. Кресюн, О. А. Шандра // *Ліки*. — 1997. — № 4. — С. 47-50.

12. *Волошенков Д. Б.* Нейротропні ефекти координаційних сполук на основі оксіетилідендифосфонату германію з нікотиною кислотою, нікотинамідом і магниєм (МІГУ-4, 5, 6) : дис. ... канд. мед. наук : 14.03.05 / Волошенков Д. Б. — О., 2008. — 157 с.

13. *Лук'янчук Д. В.* Нові шляхи цілеспрямованого пошуку засобів фармакологічної корекції екстремальних киснедефіцитних станів / В. Д. Лук'янчук // *Інтегративна антропологія*. — 2007. — № 1. — С. 25-29.

14. *Прозоровский В. Б.* Использование метода наименьших квадратов для пробит-анализа кривых летальности / В. Б. Прозоровский // *Фармакологія і токсикологія*. — 1962. — Т. 23, № 1. — С. 115-120.

15. *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.

16. *Сидоров К. К.* Токсикология новых промышленных химических веществ / К. К. Сидоров. — М. : Медицина, 1973. — Вып. 3. — 47 с.

