

УДК 615.225.2:615.31:547.419.5

В. В. Годован, канд. мед. наук, доц.,

В. И. Кресюн, чл.-кор. АМНУ, д-р мед. наук, проф.

ВАЗОДИЛАТАТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ДИФОСФОНАТОВ ГЕРМАНИЯ С БИОЛИГАНДАМИ

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина

УДК 615.225.2:615.31:547.419.5

В. В. Годован, В. И. Кресюн

ВАЗОДИЛАТАТОРНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ ПОХІДНИХ ДИФОСФОНАТІВ ГЕРМАНІЮ З БІОЛІГАНДАМИ

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна

Наведено дані експериментального дослідження вазодилаторної активності похідних дифосфонатів германію з різними біолігандами — МІГУ-4 (з нікотиновою кислотою), МІГУ-5 (з нікотинамідом), МІГУ-6 (з магнієм). Дослідження довели, що всі сполуки виявляли дилататорний ефект на моделі ізольованого препарату грудного відділу аорти щурів, однак найбільш виражена і статистично вірогідна дія властива МІГУ-6. На препаратах з інтактним ендотелієм МІГУ-6 також спричинював зниження амплітуди скорочення. На фоні деендотелізації препаратів судин вазодилаторний ефект МІГУ-6 не реєструвався, що свідчить про його ендотелій-залежну природу.

Ключові слова: дифосфонати германію, біоліганди, вазодилаторна активність, тварини, препарати судин.

UDC 615.225.2:615.31:547.419.5

V. V. Godovan, V. I. Kresyun

VASODILATING ACTIVITY OF NEW DERIVATIVES OF GERMANIUM DIPHOSPHONATES WITH BIOLIGANDS

The Odessa State Medical University, Odessa, Ukraine

In the article one can see data regarding experimental investigation of vasodilating activity of the derivatives of germanium diphosphonates with bioligands — MIGU-4 (with nicotinic acid), MIGU-5 (with nicotinamide), and MIGU-6 (with magnesium). It was found that all compounds had dilatory effect at the model of isolated thorax aorta of rats, but MIGU-6 had the most significant statistically-proved one. At the model of non-lesional endothelium, MIGU-6 also led to the decrease of contraction amplitude. After de-endothelization of the vessels sample effect of MIGU-6 wasn't registered that suggests endothelium-dependent origin of this effect.

Key words: germanium diphosphonates, bioligands, vasodilating activity, animals, preparation of vessels.

Поиск, синтез и фармакологическое изучение новых биоактивных веществ (БАВ) оригинальной химической структуры — важная задача создания лекарственных средств. В работе изучалось влияние новых производных германиевой соли дифосфоновой кислоты с никотиновой кислотой (МИГУ-4), никотинамидом (МИГУ-5) и элементом магнием (МИГУ-6). Известно, что сама никотиновая кислота (НК), никотинамид (НА) и некоторые их производные обладают выраженными вазо- и кардиотропными эффектами, что позволяет их широко при-

менять в лечении сердечно-сосудистой патологии [1]. В свою очередь, германий и его производные есть физиологическими антагонистами натрия, что является действенным мембраностабилизатором клеточных и субклеточных структур [2]. Вне сомнения, эти данные позволили предположить, что новые производные природных метаболитов не станут исключением в этом ряду. Вышеизложенное послужило основанием для углубленного изучения вазодилаторных свойств данных БАВ, что и определило цель нашего исследования.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на препаратах грудного отдела аорты, взятых у взрослых крыс-самцов линии Вистар возрастом 16–18 нед и массой 180–220 г. Колечки аорты нормотензивных животных, установленные в проточную термостатируемую ячейку для изолированных органов, омывались в течение 1 ч раствором Кребса с нагрузкой покоя 1500 мг. Такая нагрузка позволяет добиться максимальной силы сокращений сосудистых препаратов грудного отдела аорты нормотензивных животных. Перфузия сосудов физиологическим раствором осуществлялась со скоростью 1,5 мл/мин*. Эксперименты на сосудах проводились при 35 °С в модифицированном растворе Кребса следующего состава в миллимолярных (мМ/л) концентрациях: NaCl — 133; KCl — 4,7; NaHCO₃ — 16,3; NaH₂PO₄ — 1,38; CaCl₂ — 2,5; MgCl₂ — 1,2; глюкоза — 7,8; pH раствора — 7,4.

Для приготовления гиперкалиевого (60 мМ/л) раствора соответствующее количество ионов Na⁺ заменялось ионами K⁺. В установке применена двухступенчатая автоматическая система термостабилизации TS-2, обеспечивающая предварительный подогрев перфузирующего раствора и поддержку температуры в проточной ячейке. Обе ступени оборудованы системами обратной связи, состоящими из термодатчиков, усилителей разбаланса с установкой необходимой температуры и нагревательных элементов. Точность поддержания температуры буферного раствора составляет ±0,1 °С в диапазоне от +27 до +37 °С при колебаниях температуры окружающей среды от +18 до +30 °С и рабочем объеме камеры, равном 0,65 мл.

В данном разделе работы изучались реакции сосудов в режиме, близком к изометрическому, что создавало ряд преимуществ. Только в этих условиях, когда сокращения начинаются от оптимального уровня исходного напряжения и мышца растянута приблизительно в 1,5 раза, мышечная сила может достичь своего максимума [3; 4]. Учитывая, что сосудистые препараты в исходном состоянии обладают слабо выраженным базальным тонусом, исследования проводились на фоне предварительного сокращения гладкомышечного компонента (ГМК) грудного отдела аорты нормотензивных крыс гиперкалиевым раствором (содержание ионов калия 60 мМ/л). Тоническое напряжение ГМК аорты при воздействии исследуемых химических соединений вычислялось в процентах по отношению к заданному уровню их активации (плато гиперкалиевой контрактуры), который принимался за 100 %. Сократительная активность препаратов регистрировалась с помощью механоэлектрического преобразователя FTS0,1.

*Исследование выполнялись в ИФТ АМН Украины.

Запись сокращений проводили на самописце ЛКВ-120 в прямоугольной системе координат.

Влияние БАВ на сосудистый тонус в остром эксперименте изучалось классическим кровяным методом при внутривенном их введении в среднетерапевтической дозе 34 мг/кг у кошек на фоне барбитуратового наркоза (этамил-натрия). Определялось систолическое (САД) и диастолическое (ДАД) артериальное кровяное давление (АКД) [5].

Результаты исследования и их обсуждение

Первоначальной задачей было изучение влияния синтезированных БАВ (соответственно МИГУ-4, МИГУ-5 и МИГУ-6 в растворах) в возрастающих концентрациях (10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ М/л) на изолированные препараты грудного отдела аорты крыс. Эти препараты находились в фазе сокращения, развивающегося в результате аппликации раствора Кребса с повышенным до 60 мМ/л содержанием ионов калия.

Установлено, что соединения МИГУ-4 и МИГУ-5 проявили дилататорный эффект, однако он был незначительным (статистически недостоверным) и развивался лишь при относительно высоких концентрациях БАВ (рис. 1). Наиболее выраженной вазодилататорной активностью обладала субстанция МИГУ-6. Так, в концентрации 10⁻⁴ М/л она приводила к отчетливо выраженной вазодилатации изолированного сегмента грудного отдела аорты — в среднем на (38,3±5,2) % от максимальной амплитуды (плато) гиперкалиевой контрактуры (P<0,05, n=12).

Полученный результат поставил чрезвычайно важный, с точки зрения понимания механизмов действия новых БАВ, вопрос: с чем связана эта активность? Как известно, сам германий, никотиновая кислота (МИГУ-4) и, в мень-

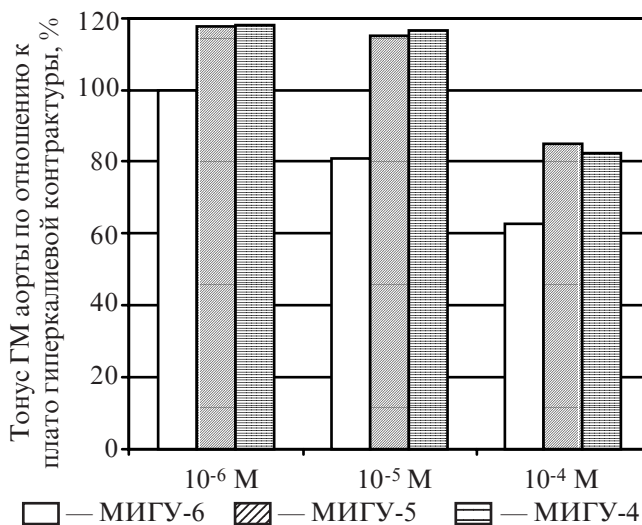


Рис. 1. Изменение тонуса гладких мышц (ГМ) аорты крысы при воздействии дифосфонатов германия в возрастающих концентрациях

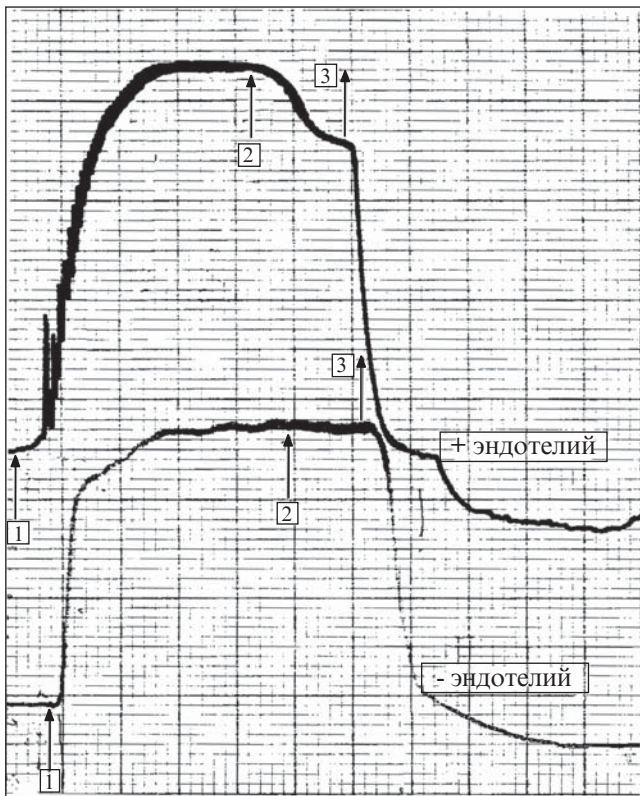


Рис. 2. Влияние МИГУ-6 на интактные и деэндотелизированные препараты грудного отдела аорты крысы: 1 — норэпинефрин (10^{-6} М/л); 2 — норэпинефрин (10^{-6} М/л) + МИГУ-6 (10^{-5} М/л); 3 — инкубационный раствор

шей степени, никотинамид (МИГУ-5) обладают вазодилаторным действием [1; 2]. Вместе с тем, на данной модели наибольшую активность проявил дифосфонат германия с магнием (МИГУ-6). В связи с этим для выяснения механизма вазодилаторного действия МИГУ-6 были проведены опыты на деэндотелизированных сосудистых препаратах. Тестом на сохранность и функциональную активность эндотелия служила реакция сосуда, активированного

предварительно норэпинефрином, на добавление в буферный раствор ацетилхолина в концентрации 10^{-6} М.

Хорошо известно [6; 7], что добавление ацетилхолина в буферный раствор в концентрации 10^{-6} М/л приводит к расслаблению активированных норэпинефрином (10^{-6} М/л) интактных изолированных сосудистых препаратов с функционирующим эндотелием в среднем на 60–80 %. В наших опытах вызванное ацетилхолином эндотелий-зависимое расслабление гладких мышц аорты составляло в среднем ($72,7 \pm 6,9$) %. Такие препараты (с интактным эндотелием) реагировали на добавление в буферный раствор МИГУ-6 в концентрации 10^{-5} М/л расслаблением, амплитуда которого составляла в среднем ($21,2 \pm 3,7$) % от максимальной амплитуды сокращения, вызванного норэпинефрином ($P < 0,05$, $n = 11$, рис. 2).

После деэндотелизации дилататорный эффект МИГУ-6 не регистрировался, что свидетельствует об его эндотелий-зависимой природе. Важно отметить, что амплитуда вызываемого МИГУ-6 расслабления гладких мышц была заметно больше выражена у мышц, активированных хлористым калием, чем у сосудистых препаратов, активированных норэпинефрином. Согласно утверждению группы авторов [8], этот факт свидетельствует о том, что потенциал-управляемые кальциевые каналы в плазматической мембране гладкомышечных клеток сосудов более чувствительны к вазодилаторным соединениям, синтезируемым эндотелием, чем рецептор-управляемые кальциевые каналы, связанные с освобождением внутриклеточного депонированного кальция.

Таким образом, соединение МИГУ-6 обладает отчетливо выраженной дилататорной активностью, которая обусловлена, по-видимому, активацией эндотелия с последующим синтезом и высвобождением эндогенных вазодила-

Таблица

Влияние МИГУ-4 и МИГУ-6 на артериальное кровяное давление кошек в остром эксперименте, $M \pm m$, мм рт. ст., $n = 9$

Условие эксперимента	Контроль (интактные)		МИГУ-4		МИГУ-6	
	САД	ДАД	САД	ДАД	САД	ДАД
Исходное	149,8 \pm 6,4	144,2 \pm 6,6	149,8 \pm 6,4	144,2 \pm 6,6	149,8 \pm 6,4	144,2 \pm 6,6
Время после введения БАВ						
1 ч	150,2 \pm 6,0 +0,3 %	140,4 \pm 5,5 -2,6 %	125,0 \pm 8,2* -16,6 %	118,0 \pm 8,5* -18,2 %	120,4 \pm 4,1* -19,6 %	115,5 \pm 6,5* -19,9 %
2 ч	148,1 \pm 7,2 -1,1 %	139,5 \pm 5,0 -3,3 %	117,8 \pm 9,8* -21,4 %	112,7 \pm 9,1* -21,9 %	115,5 \pm 4,5* -22,9 %	107,5 \pm 4,7* -25,5 %
3 ч	140,0 \pm 6,2 -6,6 %	135,0 \pm 4,9 -6,4 %	110,5 \pm 5,1* -26,2 %	100,5 \pm 4,2* -30,3 %	109,9 \pm 6,1* -26,6 %	102,3 \pm 4,0* -29,1 %
4 ч	143,3 \pm 6,0 -4,3 %	137,0 \pm 5,0 -5,0 %	139,0 \pm 6,2 -7,2 %	130,1 \pm 4,2 -9,8 %	129,0 \pm 7,2 -13,9 %	127,2 \pm 6,1 -11,8 %

Примечание: * — значения ($P < 0,05$) в сравнении с контролем.

таторов либо регуляцией проницаемости клеточных мембран, что свойственно для БАВ производных дифосфоновых кислот [9].

Для доказательства данного предположения была проведена серия экспериментов с изучением влияния МИГУ-4 и МИГУ-6 на тонус сосудов у кошек в остром эксперименте при системном их введении (внутривенно, в среднетерапевтической дозе 34 мг/кг массы). Как показали исследования (таблица), у интактных наркотизированных животных, в пределах 4 ч наблюдения, АКД практически не изменялось. Введение изучаемых БАВ приводило к статистически достоверному снижению АКД к концу 1-го часа эксперимента, которое продолжало снижаться и достигало наибольшей величины снижения к 3-му часу исследования. К 4-му часу наблюдения АКД выравнивалось в сравнении с контролем, хотя исходных величин не достигало. Сравнивая влияние МИГУ-4 и МИГУ-6 на АКД, следует отметить, что по силе своего действия они практически не отличались.

Таким образом, при системном введении (внутривенно) МИГУ-4 и МИГУ-6 наблюдалось в одинаковой степени выраженности достоверное снижение АКД у подопытных животных. В то же время на модели изолированного сосуда МИГУ-6 оказывал достоверный вазодилаторный эффект, а МИГУ-4 таким не обладал. Более того, на деэндотелизированном препарате эффект МИГУ-6 не регистрировался. Полученные на различных моделях противоречивые данные требуют дальнейшего изучения механизмов действия синтезированных БАВ.

Выводы

1. Проведенные исследования показали, что все изученные БАВ проявляли дилаторный эффект на модели изолированного препарата грудного отдела аорты крыс. Если в действии МИГУ-4 и МИГУ-5 отмечалась только тенденция к вазодилаторному эффекту, то МИГУ-6 в концентрации 10^{-4} М/л приводил к статистически достоверной вазодилатации (в среднем $(38,3 \pm 5,2)$ % от максимальной амплитуды гиперкалиевой контрактуры).

2. На препаратах с интактным эндотелием добавление в буферный раствор МИГУ-6 в концентрации 10^{-5} М/л приводило к снижению амплитуды сокращения (в среднем на $(21,2 \pm 3,7)$ %, $P < 0,05$ от максимальной амплитуды сокращения, вызванного норэпинефрином).

3. На фоне деэндотелизации препаратов сосудов вазодилаторный эффект МИГУ-6 не регистрировался, что свидетельствует об его эндотелий-зависимой природе.

4. Изучение влияния МИГУ-4 и МИГУ-6 на тонус сосудов у кошек в остром эксперименте

при их системном введении показало, что оба БАВ статистически достоверно снижали АКД, наиболее выражено — к 3-му часу наблюдения. На данной модели эксперимента по силе гипотензивного действия МИГУ-4 и МИГУ-6 не отличались.

5. Противоречивые результаты влияния МИГУ-4 и МИГУ-6 на сосудистый тонус на различных моделях требуют дальнейшего углубленного изучения их механизмов действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Маиковский М. Д.* Лекарственные средства. — В 2-х томах. — 15-е изд., новое. — М.: Изд-во «Новая Волна», 2004.

2. *Биологическая активность соединений германия* / Э. Я. Лукевич, Т. К. Гар, Л. М. Игнатович, В. Ф. Мироснов. — Рига: Зинатне, 1990. — 191 с.

3. *Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц*; Пер. с англ. / Р. Блаттнер, Х. Классен, Х. Денерт, Р. Деринг. — М.: Мир, 1983. — 208 с.

4. *Pegram B. L.* The portal vein as a model for resistance vessels. Vascular neuroeffector mechanisms. — N. Y.: Raven, 1980. — 200 p.

5. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації* / За ред. О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.

6. *Soloviev A., Parshikov A., Stefanov A.* Evidence for the involvement of protein kinase C in development of endothelium-dependent vascular responses in spontaneously hypertensive rats // J. of Vasc. Res. — 1998. — N 35. — P. 325-331.

7. *Mechanisms of endothelial dysfunction after ionized radiation: selective impairment of the nitric oxide component of endothelium-dependent vasodilation* / A. Soloviev, S. Tishkin, A. Parshikov et al. // Br. J. Pharmacol. — 2003. — N 138. — P. 837-844.

8. *Effects of Nitric Oxide Donors on a Type Vascular Smooth Muscle Preactivation* / V. Lehen'ky, S. Zelensky, A. Stefanov, A. Soloviev // Cardiovasc. Toxicol. — 2002. — N 2. — P. 151-160.

9. *Оксиэтилендифосфоновая кислота и ее применение* / М. И. Кабачник, Н. М. Дятлова, Т. Е. Медведь и др. // Хим. пром-сть. — 1995. — № 4. — С. 14-18.