

УДК 547.419.5:577.164.15:616.36

В. В. Годован, канд. мед. наук, доц.,

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

І. Й. Сейфуліна*, д-р хім. наук, проф.

ПОРІВНЯЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН — ПОХІДНИХ ДИФОСФОНОВИХ КИСЛОТ

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна,

**Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, Одеса, Україна*

УДК 547.419.5:577.164.15:616.36

В. В. Годован, В. И. Кресюн, И. И. Сейфуллина*

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ — ПРОИЗВОДНЫХ ДИФОСФОНОВЫХ КИСЛОТ

Одесский государственный медицинский университет, Одесса, Украина,

**Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, Одесса, Украина*

В статье приведена серия экспериментов, позволяющих в сравнительном аспекте оценить гепатопротекторную активность как нового комплексного соединения МИГУ-6 (магний-оксиэтилидендифосфонатогерманат), так и компонентов его синтеза и других БАВ этого класса (ниацин- и никотинамид-оксиэтилидендифосфонатогерманатов): оксиэтилидендифосфоновой (этидроновой) кислоты, элементов германия и магния, никотиновой кислоты, никотинамида. Проведенное на модели галактозаминового гепатита у крыс исследование показало, что МИГУ-6 обладает достаточно выраженным гепатозащитным действием. Профилактическо-курсовое введение животным отдельных составляющих новых БАВ в эквивалентных дозах, хотя и выявило некоторый их гепатопротекторный эффект (этидроновой кислоты, германия), явилось свидетельством того, что во многом фармакологическую активность оксиэтилидендифосфонатогерманатов определяет молекула комплексного соединения, а не компоненты ее синтеза.

Ключевые слова: оксиэтилидендифосфонатогерманаты, компоненты синтеза, галактозаминового гепатит, сравнительная гепатопротекторная активность.

UDC 547.419.5:577.164.15:616.36

V. V. Godovan, V. Y. Kresyun, I. Y. Seifullina*

COMPARATIVE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF NEW BIOLOGICALLY ACTIVE SUB- STANCES — DERIVATIVES OF DIPHOSPHONATE ACIDS

The Odessa State Medical University, Odessa, Ukraine,

**Odessa National University named after I. I. Mechnikov, Odessa, Ukraine*

The series of experiments, allowing in a comparative aspect to estimate hepatoprotective activity both — of a new complex compound MIGU-6 (magnesium-oxyethylidendiphosphonate germanates) and components of its synthesis and other BAS of this class (nicotinic acid and nicotinamide- oxyethylidendiphosphonate germanates) such as oxyethylidendiphosphonate (ethydronic) acid, elements of germanium and magnesium, nicotine acid, nicotinamide, are resulted in the article. The conducted research on model of galactosamine hepatitis in rats showed that MIGU-6 has the enough expressed hepatoprotective action. Although prophylactic-cure introduction to the animals of some components of new BAS (ethydronic acid, germanium) exhibited some hepatoprotective effect, it proved that the molecule of complex compound of oxyethylidendiphosphonate germanates, not components of its synthesis, determines its pharmacological activity.

Key words: oxyethylidendiphosphonate germanates, components of their synthesis, galaktozamine hepatitis, comparative hepatoprotective activity.

У дослідженнях, які проводилися раніше, було показано, що похідні дифосфонових кислот (дифосфонатогерманати) і біолігандів — нікотинової кислоти (НК) — ніацин-оксиетилідендифосфонатогерманат (нікогерм, або МІГУ-4), нікотинаміду (НА) — нікотинамід-оксиетилідендифосфонатогерманат (гермамід, або МІГУ-5) і елемента магнію — магній-оксиетилідендифосфонатогерманат (гермакорд, або МІГУ-6) мають виражену мемб-

ранотропну дію. На різних експериментальних моделях міокардіодистрофії, стресових і токсичних ураженнях печінки, де перш за все розвивається морфофункціональна недостатність мембран, доведена їх фармакологічна активність [1; 2].

Як основа для створення вищезазначених біологічно активних речовин (БАР) була вибрана оксиетилідендифосфорова кислота (ОЕДФ), яка має високі комплексоутворюючі властивості та

стійка до руйнування у біологічних системах [3]. Незважаючи на те, що ОЕДФ є комплексом, вона відрізняється своєю компактністю. Вивчення комплексоутворюючих властивостей ОЕДФ свідчить, що поєднання у молекулі фосфонових груп, здатних до комплексоутворення у сильно-кислому середовищі, і гідроксильної групи, якій притаманна відносно висока основність, обумовлює можливість утворення стійких протонуваних комплексів із лужноземельними, перехідними та рідкоземельними елементами. Особливо висока стійкість комплексів ОЕДФ з іоном германію [4]. Разом із тим, координаційний зв'язок утворює лише три донорних атоми кисню, а решту — з іншими іонами металу тієї ж групи. Характер молекулярної конформації дифосфонових кислот відіграє важливу роль у їх біологічній активності [5]. Як препарат порівняння було обрано етидронову кислоту (1-оксіетилідендифосфорова кислота). Надзвичайно важливою її фармакологічною характеристикою є здатність стабілізувати клітинні мембрани за рахунок підвищення стійкості до спонтанного та ферментативного (фосфоліпазного) гідролізу фосфоліпідів: нормалізувати активність маркерних ферментів (5'-нуклеотидази, Na^+ , K^+ -АТФ-ази); гальмувати пероксидацію ліпідів [5; 6].

Не менше біологічне значення для життя людини і тварин відіграє германій. Проте найбільш суттєвим у його дії є антигіпоксичний ефект, пов'язаний із НАД-Н₂-оксидазою [7] й антиоксидантною [8] активністю. Відмічено також стимулюючий вплив германію на проліферативно-репаративну функцію й епітелізацію [9]. Як препарат порівняння нами застосовувалася сполука германію з класу германтранів — 1-гідрогермантран. Германтранами називають трициклічні германійорганічні похідні тріетаноламіну 1-герма-2,8,9-тріокса-5-азатрициклоундекану із загальною формулою $\text{RGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$, їх істотною особливістю (як і інших ізоструктурних сполук бору, кремнію, олова та інших елементів) є наявність координаційної взаємодії «метал — азот». Як відомо, 1-гідрогермантран із формулою $\text{HGe}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ має молекулярну вагу 219,6 (германій — 33%). При внутрішньоочеревинному (в/о) введенні ЛД₅₀ 1-гідрогермантрану дорівнює 320 мг/кг маси [10]. Все вищенаведене, а також відома біологічна активність даної сполуки [7–10], стало підґрунтям її вибору як препарату порівняння.

Похідне МІГУ-6 включає в себе, крім ОЕДФ і германію, елемент магній. Біологічні властивості магнію досить відомі [11]. Фармакологічна активність НК і НА всебічно вивчена в нашій лабораторії та детально описана [12; 13].

Тому метою даної роботи є з'ясування порівняльної гепатопротекторної активності як нових БАР, а саме комплексної сполуки МІГУ-6, так і компонентів синтезу оксіетилідендифосфонатогерманатів — нікотинової кислоти, нікотинамі-

ду, елементів германію та магнію, дифосфорової кислоти.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведені на 180 щурах-самцях лінії ВІстар масою 180–200 г, які знаходилися на утриманні в стандартних умовах віварію. Тварини були розподілені на 8 груп: 1-ша група — контрольна; 2-га — галактозаміновий гепатит через 1 добу після затравки; 3-тя — дослідження фармакологічних властивостей МІГУ-6; 4-та — нікотинової кислоти; 5-та — нікотинаміду; 6-та — елемента магнію; 7-ма — елемента германію та 8-ма — ОЕДФ. Галактозаміновий гепатит спричинювали раніше описаним методом [14]. Досліджуваним БАР вводили в/о в таких дозах: МІГУ-6, як і МІГУ-4 і 5, дозою 1/20 ЛД₅₀, тобто 18,5 мг/кг. Компоненти синтезу нових БАР вводили в еквімолярній кількості відповідно до молекулярної ваги сполуки: нікотинової кислоти (1%-й розчин для ін'єкцій в ампулах по 1 мл, ЗАТ «Фармацевтичної фірми „Дарниця“», Україна) дозою 7 мг/кг; нікотинамід (1%-й розчин для ін'єкцій в ампулах по 1 мл, ЗАТ «Біохімік», Росія) дозою 11 мг/кг; магній (20%-й розчин для ін'єкцій магнію сульфату в ампулах по 5 мл, ЗАТ «Фармацевтичної фірми „Дарниця“», Україна) дозою 6 мг/кг; германій (1-гідрогермантран, синтезований на кафедрі загальної хімії та полімерів ОНУ ім. І. І. Мечникова) дозою 9 мг/кг, ОЕДФ (2%-й розчин етидронової кислоти, фл. по 50 мл виробника «Мосхімфармпрепараты», Росія) дозою 9 мг/кг. Вводили БАР профілактично-лікувальним методом: 7 діб до введення гепатотоксину і 7 діб після його застосування. Контрольній групі тварин вводили фізіологічний розчин у відповідному об'ємі.

Визначення активності ферментів цитолізу — аланінамінотрансферази (АЛТ) і аспартатамінотрансферази (АСТ) проводили за методом S. Reitman, S. Frankel [15]; ферментів холестази — гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) і лужної фосфатази (ЛФ) проводили за методом [16]. Вищевказані методи детально описані у попередній роботі [17]. Статистичну обробку результатів здійснювали за допомогою IBM із використанням програм «Statgraf».

Результати дослідження та їх обговорення

Перш за все нас цікавило питання, чи матиме гепатозахисну дію нова БАР — МІГУ-6 (магній-оксіетилідендифосфонатогерманат). Раніше проведеними дослідженнями було встановлено, що МІГУ-6 притаманна виразна мембранотропна дія, що полягає в нормалізації ритму серцевої діяльності та гіпотензивній дії [18; 19].

Зважаючи на те, що в основі патогенезу розвитку токсичного ураження печінки знаходиться ушкодження мембран гепатоцитів, нами вивчено вплив лікувально-профілактичного застосування МІГУ-6 на активність ферментів цитолізу та холестази при галактозаміновому гепатиті. Раніше було встановлено, що галактозаміновий гепатит

спричинює значні зміни активності ферментів печінки, які досягають найбільш суттєвих величин між 1 і 2-ю добою його розвитку. Дослідження показали, що активність АЛТ і АСТ у печінці через 1 добу розвитку гепатиту пригнічувалася у 4 і більше разів, а в сироватці крові, навпаки, у 3 рази збільшувалася. Активність ГГТ у печінці зростала у 5 разів, а в сироватці — тільки у 2,5 рази. Активність ЛФ і у печінці, і у сироватці крові підвищувалася відповідно у 1,3 і 1,7 разу. Спостереження за процесом довільного відновлення активності ферментів свідчать, що активність АЛТ і АСТ у печінці досягала контрольного рівня на 10-ту добу, а у сироватці крові — на 14-ту добу. Активність ГГТ і ЛФ відновлювалася відповідно на 15 і 17-ту добу [17].

Виходячи з цього, встановлено, що МІГУ-6 має гепатопротекторну дію (рис. 1, 2). Активність АЛТ і АСТ, на фоні введення МІГУ-6, у печінці нормалізувалася на 3-тю добу після затравки гепатотоксином, а у сироватці крові — на 5-ту добу,

тобто втричі швидше, ніж при довільному відновленні. Активність ГГТ і ЛФ під впливом МІГУ-6 досягала контрольних величин уже на 5-ту та 7-му добу, тобто у 3 та 2 рази скоріше, ніж без введення БАР (рис. 3, 4). Слід зауважити, що при введенні досліджуваної сполуки не спостерігалося тієї катастрофічної дискоординації активності ферментів, яка спостерігалася при відтворенні гепатиту без лікування. Таким чином, МІГУ-6 також має гепатозахисні властивості, як і МІГУ-4 та 5, які проявляються у значно менш виражених змінах активності печінкових ферментів і прискоренні терміну їх відновлення.

Дослідження фармакологічної активності самої НК та НА, у відповідних еквімолярних до структури сполук дозах, продемонструвало, що самі по собі ці біологічні ліганди майже не впливали на показники, які вивчалися. Активність АЛТ і АСТ у печінці нормалізувалася на 9-ту добу, а у сироватці крові — на 13-ту (при довільному відновленні відповідно на 10 і 14-ту добу; див. рис. 1, 2). Активність ГГТ і ЛФ, на фоні вве-

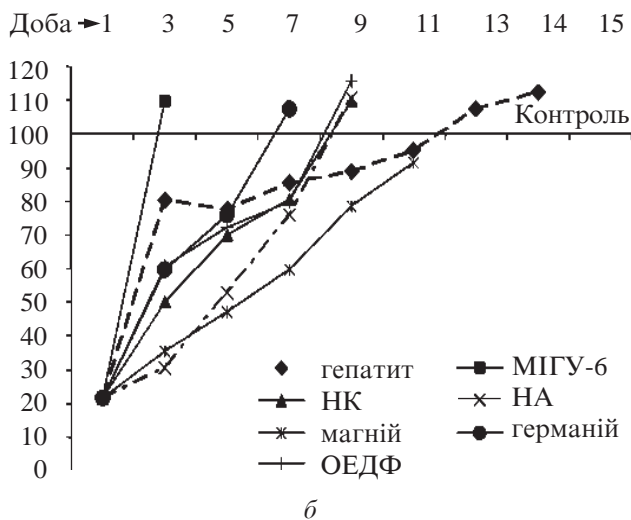
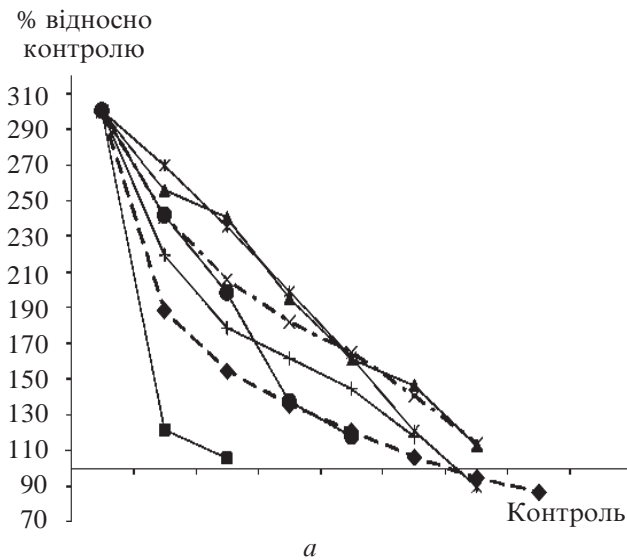


Рис. 1. Динаміка змін активності АЛТ у сироватці крові (а) і печінці (б) щурів при токсичному гепатиті на фоні введення БАР та їх компонентів

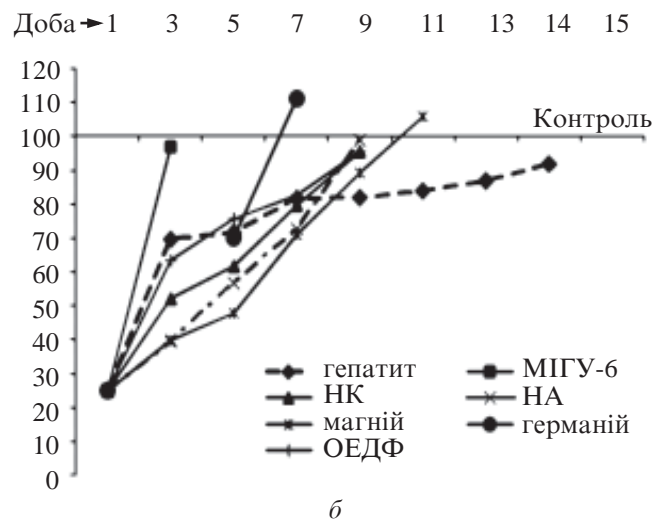
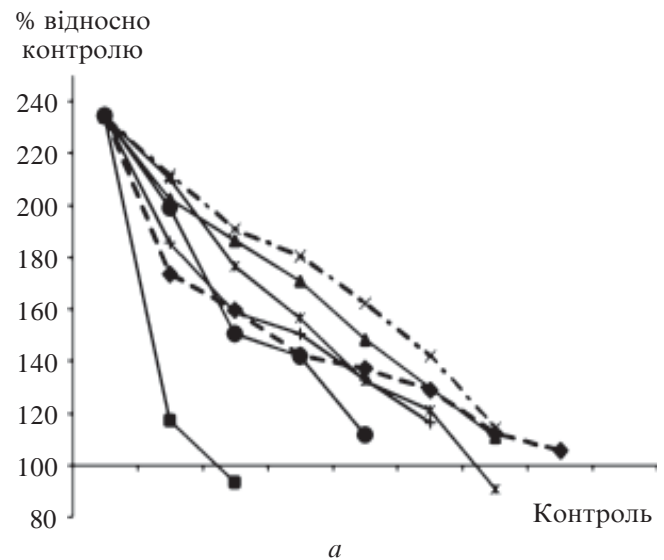


Рис. 2. Динаміка змін активності АСТ у сироватці крові (а) і печінці (б) щурів при токсичному гепатиті на фоні введення БАР та їх компонентів

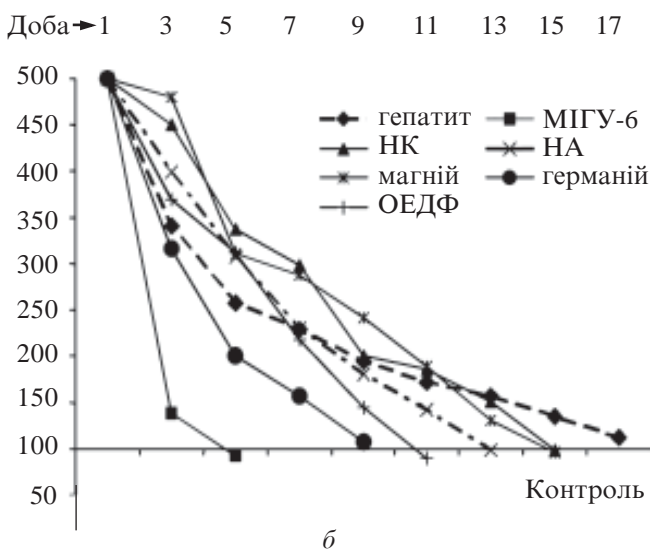
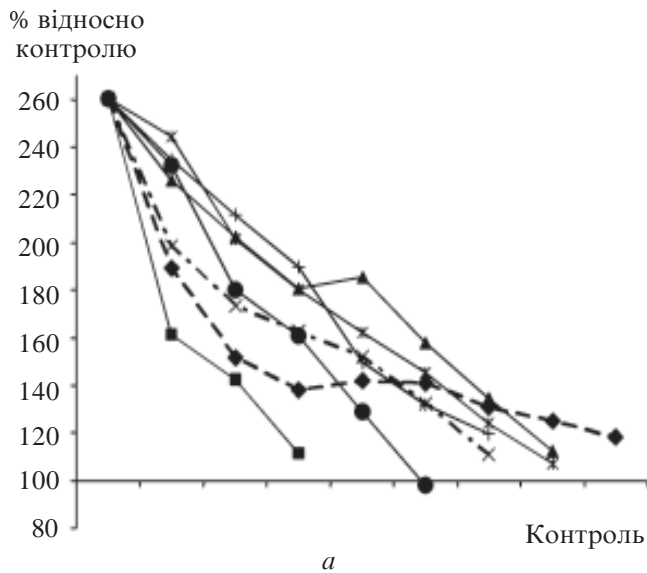


Рис. 3. Динаміка змін активності ГГТ у сироватці крові (а) і печінці (б) щурів при токсичному гепатиті на фоні введення БАР та їх компонентів

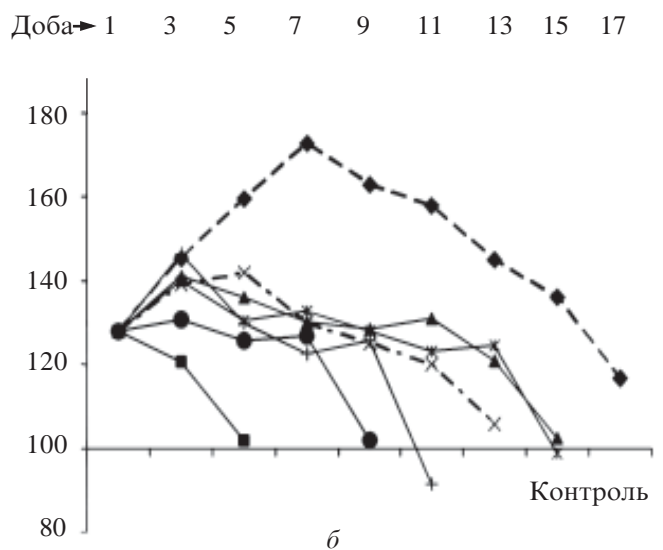
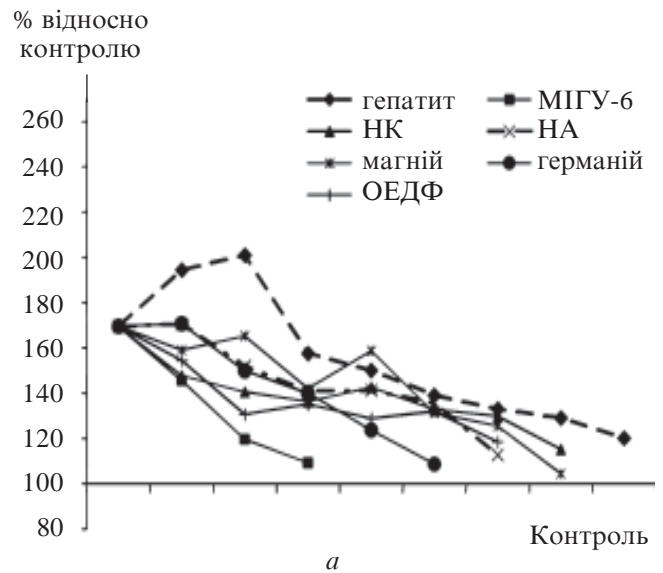


Рис. 4. Динаміка змін активності ЛФ у сироватці крові (а) і печінці (б) щурів при токсичному гепатиті на фоні введення БАР та їх компонентів

дення НА, відновлювалась у печінці та сироватці крові на 13-ту добу, на фоні НК — на 15-ту добу (див. рис. 3, 4). Таким чином, такі компоненти синтезованих БАР, як НК і НА (у еквімолярних дозах), практично не впливали на вираженість змін активності печінкових ферментів при галактозаміновому гепатиті та на терміни їх відновлення порівняно з довільним. На підставі отриманих даних можна припустити, що самі по собі НК і НА суттєво не впливають на активність ферментів цитолізу та холестазу.

Оскільки одним із компонентів синтезу МІГУ-6 є елемент магній, було доцільним простежити його вплив на активність даних ферментів на моделі токсичного ураження печінки. Результати дослідів свідчать, що сам магній також не впливав на активність ферментів, тобто не скорочував часу відновлення активності ферментів і не впливав на глибину змін. Прискіпливий аналіз дозволив розпізнати тільки якусь невелику тен-

денцію в покращанні показників, які вивчаються, що, до речі, за вираженістю була такою ж, як у НК і НА (див. рис. 1–4).

Враховуючи мембранотропні властивості похідних германію, було вивчено його вплив на активність ферментів цитолізу і холестазу. Результати свідчать, що сам германій дещо скорочував термін відновлення активності ферментів. Активність АЛТ і АСТ у печінці відновлювалась на 7-му добу, у сироватці крові — на 9-ту добу, тобто порівняно з довільним відновленням час скорочувався на 30–35 %. Одна третина є хорошим показником, який характеризує біологічну активність цього елемента. Активність ГГТ і ЛФ відновлювалась відповідно на 9 та 11-ту добу, що становить на 35 і 53 % скорочення часу відновлення до вихідних величин, тобто германій проявив виражену захисну дію.

Нарешті, нами було вивчено дію основного елемента синтезу БАР — оксіетилідендифосфо-

нової кислоти. Результати свідчать, що активність АЛТ і АСТ відновлювалася відповідно на 9 і 11-ту добу, тобто час відновлення скорочувався всього на 10 і 30 %. Активність ГГТ і ЛФ відновлювалася відповідно на 11 і 13-ту добу, тобто термін відновлення скорочувався на 25 і 35 % відповідно. Таким чином, ОЕДФ також має гепатозахисну дію (див. рис. 1–4).

Слід зазначити, що введення вищевказаних компонентів — біолігандів суттєво зменшувало глибину проявів порушення активності печінкових ферментів, що в загальній оцінці їх ефективності є важливим і перспективним.

Таким чином, проведені дослідження продемонстрували, що окремі компоненти синтезу БАР не чинять рішучого впливу на активність молекул МІГУ-4, 5, 6. Очевидно, що їх фармакологічна активність пов'язана з дією молекули цілого комплексу. Наші подальші дослідження будуть присвячені з'ясуванню цього важливого питання.

Висновки

1. Дослідження фармакологічних властивостей БАР МІГУ-6 на моделі галактозамінового гепатиту показало, що даній сполуці притаманна досить виражена гепатопротекторна активність. У печінці активність АЛТ і АСТ нормалізувалася на 3-тю добу, а у сироватці крові — на 5-ту (при довільному відновленні відповідно на 10 і 14-ту добу), тобто втричі швидше.

2. Активність ГГТ і ЛФ, на фоні введення МІГУ-6, відновлювалася відповідно на 5 та 7-му добу (при довільному відновленні на 15 та 17-ту добу), тобто відповідно у 3 і 2 рази скоріше. При цьому не спостерігалось катастрофічної дискоординації активності ферментів, яка відзначалася при довільному відновленні.

3. Дослідження фармакологічної активності складових компонентів синтезованих БАР — НК і НА, у відповідних еквімолярних до структури сполук дозах, свідчило, що самі біологічні ліганди не впливали на активність печінкових ферментів при токсичному гепатиті.

4. Елемент магній також не впливав на глибину змін і терміни відновлення активності ферментів цитолізу та холестази при експериментальному гепатиті. Проте простежувалася тенденція до покращання цих показників при введенні елемента магнію, що за вираженістю були такими ж, як і у НК і НА.

5. Введення германію тваринам, у складі 1-гідрогермантрану, виявило його виражену захисну дію. Час відновлення активності АЛТ і АСТ скорочувався на 30–35 %, а ГГТ і ЛФ — на 35 і 53 %.

6. ОЕДФ має гепатозахисну дію. Час відновлення активності АЛТ і АСТ скорочувався відповідно на 10 і 30 %, а ГГТ і ЛС — на 25 і 35 %.

7. Проведені дослідження продемонстрували, що окремі компоненти синтезу БАР суттєво не впливають на фармакологічну активність комплексних молекул МІГУ-4, 5, 6.

ЛІТЕРАТУРА

1. Годован В. В. Вплив нових БАР — похідних дифосфату германію — на серцевий ритм та артеріальний тиск *in vivo* // Бук. мед. вісник. — 2006. — № 4. — С. 89-92.
2. Годован В. В., Кресюн В. Й. Гепатозахисні властивості нових біологічно активних речовин — МІГУ-4 та МІГУ-5 // Інтегр. антропологія. — 2006. — № 2. — С. 52-57.
3. Оксизтилідендифосфоновая кислота и ее применение // М. И. Кабачник, Н. М. Дятлова, Т. Е. Медведь и др. / Хим. пром. — 1995. — № 4. — С. 14-18.
4. Сейфуллина И. О., Марусенко Е. В., Илюхин А. Б. Синтез, свойства и строение комплексов германия с этилентриаминпентауксусной кислотой // Журн. неорганической химии. — 1998. — Т. 43, № 10. — С. 1628-1631.
5. Юрвева Э. А., Матковская Т. А. О бифосфонатах как о лекарственных соединениях (по материалам международного конгресса в Нидерландах, 2001) // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. — 2001. — № 5. — С. 59-60.
6. Юрвева Э. А., Алексеева Н. В. Ксидифон — кальцийрегулирующий препарат // Там же. — 1999. — № 4. — С. 45-49.
7. Goodman S. Therapeutic effects of organic germanium // Med. Hypotheses. — 1988. — N 25. — P. 207-215.
8. Kagoshima M., Kodaira H., Onishi T. Study of general pharmacological effects of germanium compounds // J. Med. Pharm. Sci. — 1986. — Vol. 15, N 5. — P. 1491-1496.
9. Влияние изопропоксисилатрана и изопропоксигермантрана на пролиферативно-репаративную функцию соединительной ткани / Л. А. Мансурова, М. Г. Воронков, Л. И. Слуцкий и др. // Докл. СССР. — 1990. — Т. 262, № 6. — С. 1505-1506.
10. Биологическая активность соединений германия / Э. Я. Лукевич, Т. К. Гар, Л. М. Игнатович и др. — Рига: Зинатне, 1990. — 191 с.
11. Витамины и микроэлементы в клинической фармакологии / В. Г. Кукес, В. Г. Ребров, А. К. Стародубцев и др.: Под ред. В. А. Тутельяна. — М.: Палей-М, 2001. — 560 с.
12. Стречень С. Б. Влияние никотиновой кислоты и ее новых производных на морфофункциональное состояние печени в норме и при патологии: Дис. ... канд. мед. наук. — Одесса, 1992. — 226 с.
13. Годован В. В. Мембранотропные эффекты новых производных никотиновой кислоты // Ліки. — 1996. — № 4. — С. 57-62.
14. Годован В. В., Кресюн В. В. Галактозаміновий гепатит як модель вивчення морфофункціональних порушень клітинних мембран // Одес. мед. журнал. — 2005. — № 3. — С. 11-15.
15. Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // Am. J. Clin. Path. — 1957. — Vol. 28, N 1. — P. 56-59.
16. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В. В. Меньшикова. — М.: Медицина, 1987. — 363 с.
17. Годован В. В., Кресюн В. Й. Патогенетичні механізми гепатозахисної дії нових похідних нікотинової кислоти та нікотинамідів // Інтегр. антропологія. — 2007. — № 1. — С. 61-68.
18. Патент на корисну модель 19965, Україна, МПК (2006) А61К 31/19 (2006.01) А61К 33/12 (2006.01) А61К 33/24. Магній-оксизтилідендифосфонатогерманат, який характеризується вазодилататорною дією / В. В. Годован, В. Й. Кресюн, І. Й. Сейфуліна. — № у 200605317. — Заявл. 15.05.2006; Опубл. 15.01.07. — Бюл. № 1. — 8 с.
19. Патент на корисну модель 20658, Україна, МПК (2007) А61К 31/19 (2007.01) А 61К 33/00. Біологічно активна протиритмічна речовина — «Гермакорд» / В. В. Годован, В. Й. Кресюн, І. Й. Сейфуліна. — № у 200605323; Заявл. 15.05.2006; Опубл. 15.02.07. — Бюл. № 2. — 8 с.