

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВОГО МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСА КОБАЛЬТА

ESTIMATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF NEW COBALT METALLOCOMPLEX

З.Х. Бабаниязова*
Z.Kh. Babaniyazova*

Институт фармакологии им. В.В. Закусова РАМН, Москва
V.V. Zakusov Institute of Pharmacology RAMS, Moscow, Russia

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кобальт, аллилимидазол

KEY WORDS: cobalt, allylimidazole

РЕЗЮМЕ: Изучена биологическая активность нового соединения кобальта на основе производных 1-алкенилимидазола, в частности 1-аллилимидазола. Показано, что аллилимидазол является оптимальным лигандом для металлокомплексов, в частности соединений кобальта. Выявлено, что исследованное соединение умеренно токсично и обладает выраженной противогипоксической активностью в широком диапазоне доз. Установлено, что возможный механизм антигипоксического действия соединения связан с его способностью усиливать гемопоэз, оптимизировать режим кислородного обеспечения, влияя на активность фермента карбоангидразы, и снижать интенсивность окислительного обмена.

ABSTRACT: The biological activity of new cobalt compound, based on derivatives of 1-alkenylimidazole, particularly 1-allylimidazole, was studied. Allylimidazole was shown to be the best ligand for metal complexes, specifically cobalt compounds. It was revealed that the analyzed compound is moderately toxic and has a marked antihypoxic activity in a wide range of doses. It was determined that the possible mechanism of antihypoxic activity of the compound was connected with its capability to reinforce haemopoiesis, to optimize the oxygen provision state, influencing carbonic anhydrase activity, and to reduce the intensity of oxidative metabolism.

ВВЕДЕНИЕ

Одним из экологически значимых и жизненно необходимых для функционирования живых организмов элементов является кобальт, избыток или дефицит которого вызывает сложную ответную реакцию организма.

В литературе широко представлены данные о том, что кобальт необходим для построения молекулы витамина В₁₂ и является коферментом ряда жизненно важных ферментов — рибонуклеозидтрифосфатредуктазы, метилтрансферазы, метилмалонил-КоА-мутаза. Кобальт выступает в качестве кофермента пиррофосфатаз, пептидаз, аргиназы (Авцын и др., 1991; Кудрин, 1999), влияет на активность ферментов, в частности: карбоангидразы, аденилатциклазы и ферменты метаболизма гема (Калиман, Беловецкая, 1986). Кобальт участвует в обмене белка, синтезе нуклеиновых кислот, метаболизме углеводов и липидов (Taylor, 1985), окислительно-восстановительных реакциях в организме, необходим для нормального кроветворения. При недостаточном поступлении кобальта с пищей могут развиваться анемии и нарушения свертываемости крови (Бяловский, 2003).

На основе микроэлемента кобальта синтезирован витамин В₁₂, который входит в состав фермента S-аденозилметионинметилтрансферазы, участвующей в процессе метилирования ДНК и липидов, входящих в состав миелинового вещества (Скальный, Кудрин, 2000). Витамин В₁₂ обладает анаболическим эффектом — способствует увеличению мышечной массы и ускоряет процессы физического восстановления, поэтому необходим лицам, подвергающимся повышенным физическим нагрузкам и спортсменам.

Вместе с тем препараты на основе кобальта представлены недостаточно, что явилось основанием для проведения данного исследования.

Нами было изучено антигипоксическое действие синтезированного в Иркутском институте химии СО РАН металлокомплексного соединения производного аллилимидазола под шифром CoALL, содержащего кобальтдихлорид. Ввиду того, что имидазольная группа гистидина — это ближайшая к

* Адрес для переписки: Бабаниязова Замира Хайруллаевна; Москва, б-р Дм. Донского, д. 12, кв. 16;
E-mail:acyzol@mail.ru

гему функциональная группа глобина, мы предположили, что имеющийся в структуре комплекса лиганд аллилимидазол обеспечивает его высокую биодоступность в отличие от известных препаратов кобальта. Учитывая также антидотный эффект при гистотоксической гипоксии, которая, как известно, является терминальным звеном всех гипоксических процессов (Чеснокова и др., 2006), изучаемое нами соединение представляет интерес с точки зрения коррекции гипоксических состояний. Лекарственными средствами сравнения в наших опытах были известные антигипоксанты — этомерзол, мексидол и нооглютил.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены в соответствии со статьей 11 Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964), Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (1985) и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ Минздрава России № 267 от 19 июня 2003 г.). Антигипоксическую активность исследованных соединений оценивали на 4 моделях острой гипоксии (острая гипобарическая гипоксия, острая гипоксия с гиперкапнией, острая гемическая гипоксия, острая гистотоксическая гипоксия) в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств» (Лукиянова, 1990), одобренных Фармакологическим комитетом МЗ СССР.

Опыты проведены на 840 мышах-самцах весом 18—20 г.

Острую гипобарическую гипоксию (ОГБГ) моделировали по методике Н.Н. Самойлова и соавт. (Атрошенко и др., 1995) в установке на базе электровакуумной печи «Вита», сконструированной на Брянском заводе «Изотерм» путем «поднятия» животных на «высоту» 10 000 м над уровнем моря со скоростью 50 м/с. Учитывали продолжительность жизни мышей в минутах в течение 20-минутного пребывания на заданной высоте.

Острую гипоксию с гиперкапнией (ОГсГК) у мышей вызывали помещением каждого животного в аптечный шланглас из прозрачного стекла с притертой стеклянной пробкой объемом 250 мл. Точность воздушного пространства во всех емкостях определяли наполнением водой до 250 мл. Если полость шлангласа превышала указанный объем, то его уменьшали на соответствующую величину наполнением расплавленным медицинским парафином. Стеклянную пробку шлангласа смазывали вазелином. Учитывали продолжительность жизни мышей в минутах.

Острую гемическую гипоксию (ОГеГ) моделировали введением мышам под кожу спины натрия нитрита в дозе 400 мг/кг (1,5 ЛД₁₀₀).

Столь высокая доза метгемоглобинообразователя применялась с целью вызвать четко выра-

женную гипоксию. Учитывали продолжительность жизни животных в минутах.

Острую гистотоксическую гипоксию (ОГТГ) моделировали введением мышам под кожу спины 0,2% раствора натрия нитропрусида в дозе 20 мг/кг. Учитывали продолжительность жизни животных в минутах.

Потребление кислорода мышами определяли в аппарате закрытого типа конструкции С.В. Миропольского в течение 9—12 мин после предварительной 10-минутной адаптации животных в респираторной камере (Саночкин, 1970; Шолохов, 1975). Количество потребляемого мышами кислорода рассчитывали в миллилитрах за 1 мин.

Ректальную температуру у мышей измеряли с помощью электрического медицинского термометра «ТПЭМ-1». Стандартный электрод для измерения температуры предварительно обрабатывали этиловым спиртом, смазывали глицерином и вводили в прямую кишку на глубину 1,5 см. Значение температуры регистрировали в градусах Цельсия после полной остановки стрелки шкалы прибора.

Морфологические показатели крови мышей определяли одномоментно на гематологическом 18-параметровом анализаторе-автомате Exell.18. Забор крови производили из сосудов шеи после декапитации животного.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Влияние CoAll и препаратов сравнения на продолжительности жизни мышей при острой гипобарической гипоксии

Острая гипобарическая гипоксия обусловлена снижением барометрического и парциального давления кислорода и может возникать при быстром подъеме на очень высокие горы, при разгерметизации обитаемых отсеков летательных аппаратов на большой высоте (дирижабли, самолеты, космические корабли, космические станции).

Установлено, что CoALL в условиях острой гипобарической гипоксии оказывал выраженный защитный эффект в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг. Продолжительность жизни животных увеличивалась на 51, 154, 181 и 163% соответственно. В дозе 5 мг/кг соединение не оказывало выраженного действия на время жизни мышей (табл. 1).

Среди исследованных средств сравнения антигипоксические свойства в условиях острой гипобарической гипоксии проявляли этомерзол и гипоксен. Этомерзол был эффективен только в дозе 100 мг/кг, увеличивая продолжительность жизни мышей при этом на 49% по сравнению с контролем. Гипоксен увеличивал продолжительность жизни подопытных животных в трех дозах, равных 50, 100 и 150 мг/кг на 130, 151, 121% соответственно по сравнению с контролем. Мексидол не проявлял антигипоксических свойств в условиях нашего эксперимента.

Следовательно, CoALL в условиях острой гипобарической гипоксии оказывает антигипоксическое

Таблица 1. Влияние CoALL и препаратов сравнения на продолжительность жизни мышей при острой гипобарической гипоксии

Номер серии опыта	Шифр химического соединения	Доза, мг/кг	Количество мышей	Продолжительность жизни, мин		
				M ± m	%	P <
1	Контроль	—	6	5,5 ± 1,4	100	—
	CoALL	5	6	6,5 ± 1,1	118	0,5
	CoALL	10	6	8,3 ± 0,9	151	0,05
2	Контроль	—	6	5,7 ± 1,2	100	—
	CoALL	25	6	14,5 ± 1,4	254	0,01
	CoALL	50	6	16,0 ± 1,5	281	0,02
3	Контроль	—	6	6,0 ± 0,7	100	—
	CoALL	100	6	15,8 ± 2,1	263	0,001
4	Контроль	—	10	8,6 ± 0,6	100	—
	Этомерзол	25	10	8,4 ± 0,6	98	0,5
	Этомерзол	50	10	8,5 ± 0,7	99	0,5
	Этомерзол	100	10	12,8 ± 1,2	149	0,05
5	Контроль	—	10	8,4 ± 0,6	100	—
	Мексидол	25	10	7,9 ± 0,5	94	0,5
	Мексидол	50	10	6,9 ± 0,3	82	0,5
	Мексидол	100	10	7,2 ± 0,8	86	0,5
6	Контроль	—	10	8,2 ± 0,8	100	—
	Гипоксен	25	10	9,1 ± 1,1	111	0,5
	Гипоксен	50	10	18,9 ± 1,1	230	0,001
	Гипоксен	100	10	20,6 ± 1,2	251	0,001
7	Контроль	—	10	8,0 ± 0,8	100	—
	Гипоксен	150	10	17,7 ± 1,1	221	0,001

действие, превосходя по широте действующих доз и величине противогипоксического эффекта препараты сравнения этомерзол, мексидол и гипоксен.

Влияние CoALL и препаратов сравнения продолжительности жизни мышей при острой гипоксии с гиперкапнией

Острая гипоксия с гиперкапнией возникает при некоторых заболеваниях дыхательной, сердечно-сосудистой, выделительной систем, нарушении регенерации воздуха в обитаемых отсеках морской техники (подводные лодки, подводные батискафы и т.п.), авиации, космоса, наземных и подземных закрытых помещениях военного назначения и гражданской обороны. В этих случаях содержание кислорода в помещении уменьшается, а концентрация углекислого газа увеличивается, что вызывает гипоксию с гиперкапнией.

CoALL оказывал выраженное антигипоксическое действие при острой гипоксии с гиперкапнией (табл. 2). При введении CoALL в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг продолжительность жизни мышей увеличивалась на 15, 18, 38 и 34% соответственно.

Этомерзол и мексидол увеличивали продолжительность жизни мышей только в дозе 100 мг/кг. Положительный эффект превышал контроль на 32 и 21% соответственно. Гипоксен в дозах 100 и 150 мг/кг увеличивал время жизни животных на 26 и 29% соответственно по сравнению с контролем.

CoALL в условиях острой гипоксии с гиперкапнией оказывают антигипоксическое действие, превосходящее по широте действующих доз и величине противогипоксического эффекта препараты сравнения этомерзол, мексидол и гипоксен.

Влияние CoALL и препаратов сравнения продолжительности жизни мышей при острой гемической гипоксии

Острая гемическая гипоксия относится к тяжелым видам кислородного голодания. Она может возникнуть при уменьшении емкости крови при анемии, гидремии, подавлении костномозгового кроветворения, а также при отравлении ядовитыми веществами, которые нарушают способность гемоглобина связывать, транспортировать и отдавать кислород тканям (угарный газ, метгемоглобинообразователи и другие химические вещества).

Соединение под шифром CoALL в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг проявляло выраженное антигипоксическое действие, увеличивая продолжительность жизни животных на 51, 35, 55 и 87% (табл. 3).

При введении этомерзола в дозах 25 и 50 мг/кг продолжительность жизни опытных мышей увеличивалась на 21 и 43% соответственно по сравнению с контролем. В дозе 100 мг/кг препарат антигипоксических свойств не проявлял. Мексидол в дозе 100 мг/кг увеличивал время жизни подопытных мышей на 14% по сравнению с контролем,

Таблица 2. Влияние CoALL и препаратов сравнения на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии с гиперкапнией

Номер серии опыта	Шифр химического соединения	Доза, мг/кг	Количество мышей	Продолжительность жизни, мин		
				M ± m	%	P <
1	Контроль	—	10	24,0 ± 1,2	100	—
	CoALL	10	10	27,5 ± 1,3	115	0,02
	CoALL	25	10	28,4 ± 0,7	118	0,01
2	Контроль	—	10	24,4 ± 1,3	100	—
	CoALL	50	10	33,6 ± 2,2	138	0,001
	CoALL	100	10	32,8 ± 2,6	134	0,01
3	Контроль	—	10	31,0 ± 1,8	100	—
	Этомерзол	25	10	30,0 ± 2,3	97	0,5
	Этомерзол	50	10	30,0 ± 2,8	97	0,5
	Этомерзол	100	10	41,0 ± 1,3	132	0,001
4	Контроль	—	10	28,0 ± 1,3	100	—
	Мексидол	25	10	26,0 ± 1,6	93	0,5
	Мексидол	50	10	29,0 ± 1,9	104	0,5
	Мексидол	100	10	34,0 ± 1,6	121	0,02
5	Контроль	—	10	23,0 ± 1,3	100	—
	Гипоксен	50	10	22,3 ± 1,2	97	0,5
6	Контроль	—	10	23,0 ± 0,9	100	—
	Гипоксен	100	10	28,9 ± 1,1	126	0,05
	Гипоксен	150	10	29,6 ± 1,3	129	0,05

Таблица 3. Влияние CoALL и препаратов сравнения на продолжительность жизни мышей при острой гемической гипоксии

Номер серии опыта	Шифр химического соединения	Доза, мг/кг	Количество мышей	Продолжительность жизни, мин		
				M ± m	%	P <
1	Контроль	—	5	12,6 ± 0,2	100	—
	CoALL	5	5	13,0 ± 0,4	103	0,5
2	Контроль	—	10	12,5 ± 1,1	100	—
	CoALL	10	10	18,9 ± 1,5	151	0,001
3	Контроль	—	10	11,3 ± 0,8	100	—
	CoALL	25	10	15,3 ± 1,1	135	0,001
	CoALL	50	10	17,5 ± 0,8	155	0,001
4	Контроль	—	10	12,5 ± 1,1	100	—
	CoALL	100	10	23,4 ± 1,0	187	0,001
5	Контроль	—	8	14,0 ± 0,9	100	—
	Этомерзол	25	8	17,0 ± 1,2	121	0,05
	Этомерзол	50	8	20,0 ± 0,9	143	0,001
6	Контроль	—	8	13,0 ± 0,9	100	—
	Этомерзол	100	8	14,0 ± 1,2	108	0,5
7	Контроль	—	8	14,0 ± 0,9	100	—
	Мексидол	25	8	13,0 ± 1,2	93	0,5
	Мексидол	50	8	14,0 ± 0,7	100	0,5
	Мексидол	100	8	16,0 ± 0,7	114	0,05
8	Контроль	—	8	13,0 ± 0,6	100	—
	Гипоксен	100	8	14,2 ± 0,5	109	0,5
	Гипоксен	150	8	13,1 ± 0,8	101	0,5

принятым за 100%. Гипоксен в дозах 100 и 150 мг/кг был неэффективен.

Влияние CoALL и препаратов сравнения продолжительности жизни мышей при острой гистотоксической гипоксии

Острая гистотоксическая гипоксия относится к тканевому типу кислородного голодания. Это тяжелый вид гипоксии, возникающий при отравлении ядами, которые нарушают окислительно-восстановительные процессы в клетке. К числу таких ядов относится синильная кислота и ее производные. Острая гистотоксическая гипоксия также возможна при авитаминозах и нарушении функции некоторых желез внутренней секреции.

Установлено, что в условиях острой гистотоксической гипоксии CoALL в дозах 10, 25, 50, 100 мг/кг увеличивало продолжительность жизни мышей на 23, 45, 54, 84% (табл. 4).

Антигипоксанты этомерзол и мексидол в дозах 25, 50 и 100 мг/кг не оказывали существенного влияния на продолжительность жизни мышей при острой гистотоксической гипоксии. В тех же условиях опыта гипоксен оказывал защитный эффект в дозах 50 и 100 мг/кг, при введении которых продолжительность жизни животных была больше контроля на 38 и 86%.

Влияние CoALL на потребление кислорода, ректальную температуру и гемограммы мышей

Изучение влияния CoALL на скорость окислительного обмена показало, что через 1 ч после вве-

дения соединения в дозе 50 мг/кг потребление кислорода мышами снижается по сравнению с исходным значением на 38%, а спустя 24 ч существенно не отличается от исходной величины.

Ректальная температура у мышей, которым вводили CoALL в дозе 50 мг/кг, уменьшалась через 1 ч на 10% по сравнению с контролем и восстанавливалась в течение суток.

Изучение влияния CoALL на показатели гемограммы показало, что через 1 ч после внутрибрюшинного введения соединения увеличивается содержание эритроцитов — на 30%, лимфоцитов — на 88, моноцитов — на 90, гранулоцитов — на 180, тромбоцитов — на 29%. Показатели гемоглобина и гематокрита увеличиваются на 27 и 28% соответственно (табл. 5).

Таким образом, установлена выраженная противогипоксическая активность нового соединения кобальта с производными аллилимидазола под шифром CoALL при всех исследованных нами видах гипоксии. Указанное соединение обладает также гемопозстимулирующим действием и понижает потребление организмом кислорода и температуры тела. Возможный механизм антигипоксантного действия соединения, возможно, связан с его способностью усиливать гемопозз, оптимизировать режим кислородного обеспечения, влияя на активность фермента карбоангидразы, и снижать интенсивность окислительного обмена. На наш взгляд, биодоступность и активность кобальта

Таблица 4. Влияние CoALL препаратов сравнения на продолжительность жизни мышей при острой гистотоксической гипоксии

Номер серии опыта	Шифр химического соединения	Доза, мг/кг	Количество мышей	Продолжительность жизни, мин		
				M ± m	%	P <
3	Контроль CoALL CoALL	—	10	12,8 ± 0,6	100	—
		5	10	13,8 ± 0,4	108	0,5
		10	10	15,7 ± 0,4	123	0,002
4	Контроль CoALL CoALL	—	10	11,4 ± 0,5	100	—
		25	10	16,5 ± 1,0	145	0,001
		50	10	17,6 ± 1,0	154	0,001
5	Контроль CoALL	—	10	12,2 ± 0,9	100	—
		100	10	22,4 ± 0,7	184	0,001
6	Контроль Этомерзол Этомерзол Этомерзол	—	8	14,0 ± 0,7	100	—
		25	8	16,0 ± 0,6	114	0,05
		50	8	15,0 ± 0,8	107	0,25
		100	8	13,0 ± 0,9	93	0,5
7	Контроль Мексидол Мексидол Мексидол	—	8	14,0 ± 0,7	100	—
		25	8	15,0 ± 0,6	107	0,5
		50	8	15,0 ± 0,5	107	0,25
		100	8	15,0 ± 0,7	107	0,25
8	Контроль Гипоксен Гипоксен	—	8	15,3 ± 0,7	100	—
		25	8	16,2 ± 0,8	106	0,5
		50	8	21,1 ± 0,5	138	0,02
9	Контроль Гипоксен Гипоксен	—	8	15,4 ± 0,7	100	—
		100	8	28,6 ± 0,8	186	0,001
		150	8	16,8 ± 0,5	109	0,5

Таблица 5. Влияние CoALL (50 мг/кг) на некоторые показатели гемограммы мышей по сравнению с контролем, принятым за 100% ($n = 6$), $p < 0,05$

Показатель, единицы измерения	Контроль	CoALL	
		абс.	%
Лейкоциты, $\times 10^9$ г/л	$5,8 \pm 0,3$	$11,4 \pm 1,1$	197
Лимфоциты, $\times 10^9$ г/л	$4,3 \pm 0,5$	$8,1 \pm 0,8$	188
Моноциты, $\times 10^9$ г/л	$1,0 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,2$	190
Гранулоциты, $\times 10^9$ г/л	$0,5 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	280
Эритроциты, $\times 10^{12}$ г/л	$5,6 \pm 0,5$	$7,3 \pm 0,3$	130
Гемоглобин, г/л	$131 \pm 3,9$	$166 \pm 5,8$	127
Гематокрит, %	$30,2 \pm 2,5$	$38,8 \pm 1,6$	128
Тромбоциты, $\times 10^9$ г/л	375 ± 28	485 ± 19	129

обеспечивается 1-аллилимидазолом — оптимальным для этого комплекса лигандом азольной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение и анализ полученных данных позволяет заключить, что новое соединение кобальта производное 1-аллилимидазола под шифром CoALL по степени выраженности антигипоксантажного действия и широте эффективных доз при 4 видах гипоксии превосходит известные антигипоксанта этомерзол, мексидол, нооглютил.

ЛИТЕРАТУРА

Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.

Атрошенко О.Н., Третьякова Е.Н., Иванова Т.Г. и др. Электровакуумная печь «Вита» как модель изучения влияния лекарственных средств на выживаемость лабораторных животных в экстремальных условиях // Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств: Сб. тез. I Рос. науч. общества фармакологов. М., 1995. С. 24.

Бяловский Ю.Ю. Курс лекций по патофизиологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов: в 3-х ч. Ч. 1. Общая патофизиология. Рязань, 2003. 400 с.

Калиман П.А., Беловецкая И.В. Влияние хлорида кобальта на активность ключевых ферментов метаболизма гема в печени крысы // Биохимия. 1986. Т. 51, № 8. С. 1307—1308.

Кудрин А.В. Металлы и протеолитические ферменты // Вопр. биол. мед. фарм. химии. 1999. № 3. С. 19—24.

Лукьянова Л.Д. (ред.). Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств. М., 1990. 18 с.

Райцес В.С. Нейрофизиологические основы действия микроэлементов. Л.: Медицина, 1981. 152 с.

Скальный А.В., Кудрин А.В. Радиация, микроэлементы, антиоксиданты и иммунитет (микроэлементы и антиоксиданты в восстановлении здоровья ликвидаторов аварии на ЧАЭС). М.: Лир Макет, 2000. 421 с.

Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Современные представления о патогенезе гипоксий. Классификация гипоксий и пусковые механизмы развития // Современные наукоемкие технологии. 2006. № 5. С. 23—27.

Шилов В.Н. Молекулярные механизмы структурного гомеостаза. М.: Интерсигнал, 2006. 288 с.