

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

## ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСА КОБАЛЬТА

### THE STUDY OF ANTIHYPOXIC ACTIVITY AND ACUTE TOXICITY OF NEW COBALT METAL COMPLEXES

С.А. Лебедева\*, З.Х. Бабаниязова

S.A. Lebedeva\*, Z.Kh. Babaniyazova

ЗАО «Ацизол Фарма», г. Москва

CJSC «Acyzol Pharma», Moscow

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кислород, гипоксия, антигипоксанты, кобальт.

KEYWORDS: oxygen, hypoxic, antihypoxants, cobalt.

**РЕЗЮМЕ.** Представлены результаты изучения антигипоксической активности нового металлокомплекса кобальта на основе 1-аллилимидазола. В опытах на белых беспородных мышах показано, что антигипоксический эффект исследованного соединения проявляется на четырех моделях острой гипоксии в широком диапазоне доз (10–100 мг/кг, внутривенно – в/б) и превосходит действие известных антигипоксантов: этомерзола (25–100 мг/кг, в/б), мексидола (100 мг/кг, в/б) и нооглутила (25 – 100 мг/кг, в/б).

**ABSTRACT.** A study on antihypoxic activity of the new cobalt compound based on derivatives of 1-allimidazol is presented. The experiments carried out on mice show that the antihypoxic effect of the analysed compound is noted under four models of hypoxia in a wide range of doses (10–100 mg/kg, i/p) and surpasses the effect of the wellknown antihypoxants etomerzol (25 – 100 mg/kg, i/p), mexydol (100 mg/kg, i/p) and noogluthyl (25 – 100 mg/kg, i/p).

#### ВВЕДЕНИЕ

Поиск новых химических веществ, обладающих выраженным антигипоксическим действием и отсутствием нежелательных побочных эффектов, – актуальная задача современной экспериментальной и клинической фармакологии.

Перспективными в этом плане являются синтезированные в Иркутском институте химии им.

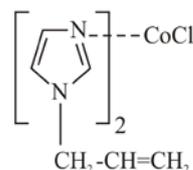
А.Е. Фаворского СО РАН новые металлокомплексные производные 1-алкенилимидазола, на основе которых разработано лекарственное средство Ацизол (бис-(1-винилимидазол)цинк-диацетат), оказывающее выраженное защитное действие при гемической гипоксии, и фармакологическое вещество Кобазол (тетра-(1-винилимидазол)кобальтдихлорид), проявляющее помимо антигипоксической, лейкопозстимулирующую, иммуномодулирующую и антибактериальную активности (Байкалова и др., 2000; Бабаниязов и др., 2008; Лебедева и др., 2008)

Целью настоящей работы явилось сравнительное исследование антигипоксического действия нового металлокомплекса кобальта производного 1-аллилимидазола под шифром CoALL (бис-(1-аллилимидазол)кобальтдихлорид) и известных антигипоксантов этомерзола, мексидола и нооглутила на продолжительность жизни мышей на четырех моделях острой гипоксии, а также определение острой токсичности.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Способ получения соединения под шифром CoALL описан ранее (Лебедева и др., 2009).

Структурная формула соединения



\* Адрес для переписки:

Лебедева Светлана Анатольевна

E-mail: lebedeva502@yandex.ru

Антигипоксическое действие вещества под шифром CoALL исследовали на 1018 белых беспородных мышцах-самцах массой 19–23 г, доставленных из питомника Научного центра биомедицинских технологий РАМН (п. Андреевка Московской области). Опыты проведены в соответствии с 11-й статьей 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 МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.). В каждой серии опыта были контрольная и подопытная группы, в которые подбирали животных одинаковой массы.

Острую токсичность определяли вычислением ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>84</sub> согласно принятой методике (Арзамасцев и др., 2005).

Антигипоксическую активность оценивали в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств» (Лебедева и др., 2009).

Острую гипобарическую гипоксию (ОГБГ) моделировали путем «поднятия» животных на «высоту» 10000 м над уровнем моря со скоростью 50 м/с. Острую гипоксию с гиперкапнией (ОГсГк) вызывали помещением каждого животного в аптечный штанглас из прозрачного стекла с притертой стеклянной пробкой вместимостью 250 мл. Острую гемическую гипоксию (ОГеГ) моделировали введением мышам под кожу спины натрия нитрита в дозе 400 мг/кг. Острую гистотоксическую гипоксию (ОГтГ) вызывали введением мышам под кожу спины 0,2%-го раствора натрия нитропруссиды в дозе 20 мг/кг.

На всех моделях регистрировали продолжительность жизни животных в минутах.

Для выяснения возможного механизма антигипоксического действия соединения проводили дополнительные эксперименты, в частности оценивали изменения окислительного обмена и морфологических показателей крови мышей.

Интенсивность окислительного обмена определяли по величине потребления кислорода и ректальной температуре. Потребление кислорода исследовали в аппарате закрытого типа конструкции С.В. Миропольского в течение 9–12 мин после предварительной 10-минутной адаптации животных в респираторной камере.

Морфологические показатели крови мышей определяли на гематологическом 18-параметровом анализаторе-автомате Exell18. Забор крови производили из сосудов шеи после декапитации животного.

Исследуемое металлокомплексное соединение вводили внутривентриально в диапазоне доз от 5 до 100 мг/кг за 1 ч до начала действия гипоксии. Срок введения и дозы были выбраны на основании известных данных о фармакологической активности производных 1-алкенилимидазола (Лукьянова, 1990).

Лекарственные средства сравнения этомерзол, мексидол и нооглютил вводили таким же путем в дозах, которые по данным литературы оказывают эффект при той или иной патологии. Животным контрольных групп тем же путем и в тот же срок вводили равный объем дистиллированной воды.

Нормальность выборки проверяли по критерию Шапиро–Уилка. Так как выборки имели близкое к нормальному распределение, значимость различий между экспериментальными группами определяли с помощью одномерного дисперсионного анализа с дальнейшей обработкой методом множественных сравнений Стьюдента с поправкой Бонферрони.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка острой токсичности показала, что CoALL относится к классу умеренно токсических соединений согласно ГОСТу 12.1.007-76 (ГОСТ 12.1.007-76). Для мышей-самцов при внутривентриальном введении ЛД<sub>50</sub> составляет 160 мг/кг.

Результаты, характеризующие влияние CoALL на выживаемость мышей в условиях острой гипоксии, представлены в табл. 1.

На модели ОГБГ продолжительность жизни животных при введении CoALL в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг статистически значимо увеличивалась на 51, 154, 181 и 163% соответственно по сравнению с контрольными группами. В тех же условиях опыта нооглютил в дозах 25, 50 и 100 мг/кг значимо увеличивал время жизни мышей на 74, 33 и 37% соответственно по сравнению с контрольными животными. Этомерзол в дозе 100 мг/кг увеличивал выживаемость подопытных мышей на 49% по сравнению с контрольной группой. Мексидол не проявлял защитного действия. Результаты опытов по изучению антигипоксических свойств нооглютила, этомерзола и мексидола согласуются с данными других авторов (Курбанов и др., 2006; Катунина, Катунин, 2007; Стратиненко и др., 2009). Следовательно, в условиях ОГБГ соединение CoALL по широте действующих доз и степени выраженности эффекта превосходит препараты сравнения: этомерзол, мексидол и нооглютил.

В условиях ОГсГк соединение CoALL проявляло защитное действие в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг, при введении которых продолжительность жизни мышей увеличивалась на 17, 17, 41 и 36% соответственно ( $p < 0,05$ ). Этомерзол и мексидол были эффективны только в дозе 100 мг/кг, при введении которой выживаемость подопытных групп мышей увеличивалась на 32 и 21% соответственно по сравнению с контрольными группами. Нооглютил в дозах 25, 50 и 100 мг/кг статистически значимо увеличивал время жизни животных на 17, 26 и 39% соответственно по сравнению с контрольными группами. Данные об антигипоксическом действии этомерзола, мексидола и нооглютила в условиях ОГсГк подтверждают полученные ранее результаты (Курбанов и др., 2006;

**Таблица 1. Влияние металлокомплексного соединения кобальта под шифром CoALL и антигипоксантов этомерзола, мексидола и нооглютила на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии по отношению к контролю, принятому за 100% (n = 10)\*\***

Химическое соединение	Доза, мг/кг				
	5	10	25	50	100
Острая гипобарическая гипоксия					
CoALL	118 ± 17	151 ± 11*	254 ± 10*	281 ± 11*	263 ± 13*
Этомерзол	–	–	98 ± 7	99 ± 8	149 ± 7*
Мексидол	–	–	94 ± 6	82 ± 4	86 ± 11
Нооглютил	–	–	174 ± 8*	133 ± 7*	137 ± 9*
Острая гипоксия с гиперкапнией					
CoALL	–	117 ± 5*	117 ± 5*	141 ± 6*	136 ± 8*
Этомерзол	–	–	96 ± 8	99 ± 9	132 ± 3*
Мексидол	–	–	93 ± 6	106 ± 6	121 ± 5*
Нооглютил	–	–	117 ± 4*	126 ± 4*	139 ± 4*
Острая гемическая гипоксия					
CoALL	103 ± 3	151 ± 8*	135 ± 7*	155 ± 4*	187 ± 4*
Этомерзол	–	–	121 ± 7*	143 ± 4*	107 ± 8
Мексидол	–	–	93 ± 9	99 ± 5	114 ± 4*
Нооглютил	–	–	115 ± 3*	131 ± 4*	123 ± 5*
Острая гистотоксическая гипоксия					
CoALL	108 ± 2	117 ± 2*	139 ± 6*	175 ± 4*	180 ± 3*
Этомерзол	–	–	114 ± 4	107 ± 5	92 ± 6
Мексидол	–	–	107 ± 4	107 ± 3	107 ± 4
Нооглютил	–	–	106 ± 5	106 ± 3	120 ± 3*

Примечание: \* – статистически достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем; \*\* – данные представлены как  $M \pm m$ , где M – значение средней арифметической по отношению к контролю, принятому за 100%, m – стандартная ошибка средней, выраженная в % к средней арифметической величине.

Катунина, Катунин, 2007; Стратиенко и др., 2009). Следовательно, при ОГГГ защитное действие CoALL более выражено, чем у препаратов сравнения: этомерзола, мексидола и нооглютила.

В условиях ОГГГ CoALL в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг проявлял антигипоксическое действие, значимо увеличивая продолжительность жизни животных на 51, 35, 55 и 87% соответственно. Этомерзол в дозах 25 и 50 мг/кг повышал продолжительность жизни подопытных мышей на 21 и 43% соответственно, а мексидол в дозе 100 мг/кг увеличивал время жизни животных на 14% ( $p < 0,05$ ). Нооглютил был эффективен в дозах 25, 50 и 100 мг/кг, при введении которых время жизни подопытных мышей увеличивалось на 15, 31 и 23% соответственно по сравнению с контрольными ( $p < 0,05$ ). Результаты проведенного нами изучения антигипоксического действия препаратов сравнения согласуются с полученными ранее дан-

ными (Курбанов и др., 2006; Катунина и др., 2007; Стратиенко и др., 2009). Следовательно, на модели ОГГГ противогипоксический эффект CoALL в исследуемом диапазоне доз превосходит таковой препаратов сравнения: этомерзола, мексидола и нооглютила.

При ОГГГ CoALL в дозах 10, 25, 50 и 100 мг/кг значительно увеличивал продолжительность жизни мышей на 17, 39, 75 и 80% соответственно. Нооглютил проявлял защитный эффект в дозе 100 мг/кг, при которой время жизни животных было больше аналогичного показателя в контроле на 20% ( $p < 0,05$ ). Этомерзол и мексидол в дозах 25, 50 и 100 мг/кг не оказывали существенного влияния на выживаемость мышей. Полученные результаты по исследованию антигипоксического действия препаратов сравнения не противоречат данным других авторов (Курбанов и др., 2006; Катунина и др., 2007; Стратиенко и др., 2009).

Таблица 2. Влияние CoALL (50 мг/кг) на окислительный обмен мышей (n = 10)

Группа животных	Потребление кислорода, мл/мин/100 г массы тела				
	Исходное	Через 1 ч		Через 24 ч	
	M ± m	M ± m	%	M ± m	%
Контроль	5,0 ± 0,18	5,0 ± 0,18	100	5,0 ± 0,18	100
CoALL	5,0 ± 0,18	3,1 ± 0,27	62*	5,0 ± 0,35	100
	Ректальная температура, °C				
Контроль	37,0 ± 0,05	36,9 ± 0,06	100	37,0 ± 0,05	100
CoALL	37,0 ± 0,05	33,5 ± 0,12	90*	36,7 ± 0,12	99*

Примечание: \* – статистически достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем; \*\* – данные представлены как  $M \pm m$ , где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего.

Таблица 3. Влияние CoALL (50 мг/кг) на некоторые показатели гемограммы мышей (n = 10)\*\*

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

Примечание: \* – статистически достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем; \*\* – данные представлены как  $M \pm m$ , где M – среднее арифметическое, m – стандартная ошибка среднего.

Следовательно, в условиях ОГтГ защитный эффект CoALL превосходит действие лекарственных средств сравнения: этомерзола, мексидола и нооглютила.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что на четырех моделях острой гипоксии металлокомплексное производное 1-аллилимидазола под шифром CoALL оказывает более выраженный противогипоксический эффект, чем известные антигипоксанты: этомерзол, мексидол и нооглютил.

С целью определения возможного направления по изучению механизма антигипоксического действия CoALL исследовано его влияние на потребление кислорода, ректальную температуру, морфологические показатели крови, а также гемоглобин и гематокрит.

Через 1 ч после введения CoALL в дозе 50 мг/кг потребление кислорода мышами значительно снижалось по сравнению с исходным значением на 38%, а спустя 24 ч существенно не отличалось от исходной величины. Ректальная температура через 1 ч

после введения уменьшалась на 10% и оставалась пониженной на 1,1% по сравнению с контролем через 24 ч ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Через 1 ч после введения соединения в дозе 50 мг/кг повышалось содержание эритроцитов на 30%, лимфоцитов – на 88%, моноцитов – на 90%, гранулоцитов – на 180%, тромбоцитов – на 29%. Показатели гемоглобина и гематокрита увеличивались на 27 и 28% соответственно (табл. 3).

Созданный ранее кобальтовый комплекс под шифром Кобазол также оказывает выраженное стимулирующее действие на кроветворение. Экспериментально установлено, что эффект Кобазола реализуется за счет вызываемой им гистотоксической гипоксии в мезангиальных клетках почечных клубочков, в результате чего увеличивается содержание цГМФ и цАМФ, и активируются лизосомальные ферменты эритропоэтической фракции, что приводит к увеличению титра эритропоэтина в крови (Байкалова и др., 2005). Поскольку соединения CoALL и Кобазол являются аналога-

ми, не исключено, что они имеют сходный механизм гемопоз-стимулирующего действия, а увеличение содержания эритроцитов, гемоглобина и гематокрита под влиянием CoALL может являться одним из факторов, обеспечивающих его антигипоксический эффект.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные по фармакологической активности исследуемого металло-комплексного соединения позволяют рекомендовать его для дальнейшего изучения с целью выяснения механизма антигипоксического действия, а также оценки эффективности при иных путях введения.

Таким образом, новое соединение кобальта производное 1-аллилимидазола под шифром CoALL по степени выраженности антигипоксического действия в условиях четырех видов острой гипоксии (увеличение продолжительности жизни подопытных мышей по сравнению с контролем на 17–181%) в диапазоне исследуемых доз (5–100 мг/кг) превосходит известные антигипоксиканты: этомерзол, мексидол и нооглютил.

### ЛИТЕРАТУРА

- Арзамасцев Е.В., Гуськова Т.А., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. 2-е изд., перераб. и доп. М. 2005. С. 41–54.
- Бабаниязов Х.Х., Трофимов Б.А., Нечипоренко С.П. и др. Опыт изучения фармакологических свойств ацизола в эксперименте и клинике // Вестник восстановительной медицины. 2008. №5 А (28). С. 7–11.
- Байкалова Л.В. Домнина Е.С. Трофимов Б.А. и др. Средство, обладающее лейкопоззстимулирующим, иммуномодулирующим и антибактериальным действием. Патент № 2157813. 2000.
- Байкалова Л.В., Одарева Е.В., Протопопова Н.В. Применение кобазола в лечении анемии и лейкопении в гинекологической практике // Сибирский медицинский журнал. 2005. №7. Т. 56. С. 53–57.
- ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
- Катунина Н.П., Катунин М.П. Изучение влияния фенилэтилзамещенных производных 3-оксипиридина на продолжительность жизни мышей при острой гипоксии с гиперкапнией и острой гипобарической гипоксии // Саратовский научно-медицинский журнал. 2007. № 1. С. 92.
- Катунина Н.П., Катунин М.П., Афонина Е.В. Экспериментальное изучение антигипоксической активности новых физиологически совместимых антиоксидантов на моделях острой гемической и гистотоксической гипоксии // Саратовский научно-медицинский журнал. 2007. № 1. С. 100.
- Курбанов А.И., Самойлов Н.Н., Стратиенко Е.Н. и др. Антигипоксическая активность новых производных 3-оксипиридина // Психофармакология и биологическая наркологию. 2006. Т. 6. № 1. С. 1149–1153.
- Лебедева С.А., Бабаниязов Х.Х., Станкевич В.К. и др. Производные 1-аллилимидазола. Патент на изобретение № 2430090. 2009.
- Лебедева С.А., Самойлов Н.Н., Бабаниязов Х.Х. и др. Производные 1-алкенил-имидазола. Патент на изобретение №2397175. 2008.
- Лукьянова Л.Д. (ред.) Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предлагаемых для клинического изучения в качестве антигипоксических средств. М. 1990. 18 с.
- Стратиенко Е.Н., Богус С.К., Катунина Н.П. и др. Изучение антигипоксической активности новых металлокомплексных соединений производных алкенилимидазола // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. № 8. С. 76–78.
- Стратиенко Е.Н., Катунина Н.П., Цеева Ф.Н. и др. Влияние сочетанного введения СК-131, ацизола и нооглютила на продолжительность жизни мышей при различных моделях гипоксии // Кубанский научный медицинский вестник. 2009. № 8. С. 81–82.