

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**РАЗРАБОТКА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ  
НА ОСНОВЕ ОЛИГОГАЛАКТУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ  
КАК НОСИТЕЛЕЙ БИОГЕННЫХ МЕТАЛЛОВ (II)  
И АНТИДОТОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (II)**

*Н.Ш. Кайшева, А.Ш. Кайшев*

Пятигорский медико-фармацевтический институт –  
филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»

**РЕЗЮМЕ.** Предложены лекарственные препараты на основе олигогалактуроновой кислоты (ОГК), которые являются носителями биогенных металлов (БМе) (II) (Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg) и антидотов тяжелых металлов (ТМе) (II) (Pb, Cd). Выбор ОГК как носителя БМе (II) обусловлен ее высокой биологической доступностью и способностью к накоплению в биологических жидкостях и тканях, особенно костной ткани, где депонируются ионы ТМе. Степени десорбции БМе (II) из олигогалактуронатов БМе (ОГБМе) в растворы  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  (80%) и сорбции  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  (78%) свидетельствуют о возможности использования ОГК для доставки БМе (II) и выведения ТМе (II). На модели гемической анемии у животных, интоксцированных свинца (II) ацетатом, достоверно доказана способность  $ОГFe^{2+}$  увеличивать количество эритроцитов в 1,6 раз, содержание гемоглобина в крови в 1,8 раз и уменьшать содержание катионов  $Pb^{2+}$  в крови в 2 раза.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** биогенные металлы, тяжелые металлы, антидоты, носители металлов.

**ВВЕДЕНИЕ**

Актуальность разработки лекарственных препаратов – антидотов тяжелых металлов (ТМе) и радионуклидов связана со сложной экологической обстановкой, вызванной широким применением атомной энергии, радиоактивных изотопов, ТМе в различных отраслях промышленности (Компанцев, 1995; Комисаренко, 1998; Кайшева, 2016). Несмотря на высокую эффективность многих синтетических и природных антидотов ТМе (комплексонов, адсорбентов, гепатопротекторов), известна их способность к связыванию и выведению из биологических субстратов (ферментов, гормонов) ионов биогенных металлов (БМе) (II) Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg (Машковский, 2012; Попков и др., 2012). Дефицит этих ионов приводит к развитию анемии, диабета, атеросклероза, нефролитиаза и др. (Машковский, 2012). Поэтому при разработке антидотов важно не только проявление ими выраженного детоксикационного эффекта в отношении ТМе, но и минимизация побочного действия – снижения содержания БМе в биологических субстратах.

К наиболее эффективным и биологически совместимым с организмом человека антидотам

относятся пектины и особенно продукт их деполимеризации – олигогалактуроновая кислота (ОГК), обладающая высокой биологической доступностью и способная связывать ионы металлов в координационные соединения (олигогалактуронаты металлов) – ОГМе (Кайшева, 2016). Эти важнейшие природные соединения в России используются только как пищевые средства (Вайнштейн, 1985). Сравнивая устойчивость ( $\beta$ ) комплексов ОГК с ионами металлов (Ме) ( $lg\beta$  с БМе 1,2–3,0, с ТМе 3,5–6,6 (Кайшева, 2016)) с устойчивостью комплексов аминокислот, нуклеотидов, ферментов с ионами БМе ( $lg\beta$  с ионами Mg 4,0–4,8, Mn 4,5–6,1, Fe 6,5–8,5, Co 7,2–10,2, Cu 14,4–16,0, Zn 8,1–10,2 (Досон и др., 1991)), можно предположить два аспекта: предпочтительное связывание ОГК ионов ТМе без нарушения баланса жизненно важных металлов; использование комплексов ОГК как систем доставки БМе и систем выведения из биологических субстратов ионов ТМе, обусловленное различиями  $\beta$  ОГМе.

Указанные предположения требуют экспериментального подтверждения, что и явилось целью работы.

\* Адрес для переписки:

**Кайшева Нелли Шаликовна**  
E-mail: caisheva2010@yandex.ru

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили: свекловичный пектин – полимер из 1→4-связанных остатков  $\alpha$ -D-галактуроновой кислоты, содержащей 14,4% свободных и 9,2% метилированных карбоксильных групп (ВФС, 1999), а также ацетаты меди (II), кобальта (II), железа (II), цинка, марганца (II), магния с квалификацией чистоты «ч.д.а.».

Вначале получали ОГК из свекловичного пектина (Кайшева, 1998), экстрагируя его методом мацерации 0,02 моль/л раствором аммония цитрата (1:25, 1 ч). Полученный экстракт процеживали, смешивали с 0,1 моль/л раствором калия хлорида (2:1), диализовали из трубки, закрытой целлофановой мембраной, против 0,1 моль/л раствора калия хлорида (38 °С, 24 ч), концентрировали (до 1/3 объема), обрабатывали 20,9 моль/л раствором этанола (1:3). Выпавший осадок фильтровали, очищали 19,6 моль/л раствором этанола (1:30), растворяли в воде (0,02 моль/л), подщелачивали 2,95 моль/л раствором аммиака гидрата до pH 10,5 (потенциометрически), настаивали при 20 °С 2 ч. Полученное желе подкисляли 2,27 моль/л раствором хлороводородной кислоты до pH 2,0 (потенциометрически), настаивали при 18 °С 1 ч; осадок фильтровали, очищали 19,6 моль/л раствором этанола (1:30), сушили (60±5 °С) до постоянной массы. Средняя молярная масса выделенной ОГК – 3200 г/моль, степень полимеризации – 18, рK<sub>a</sub> (0,3 ммоль/л раствор) – 3,49.

Далее получали ОГБМе (II) путем доведения pH 5,0·ммоль/л водного раствора ОГК 2,0 моль/л водным раствором аммиака гидрата до значения 8,0 (потенциометрически). Затем смешивали полученный раствор в равных объемных соотношениях с 45,0 ммоль/л водным раствором ацетата одного из Me (II): Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg. Образующиеся гелеобразные осадки обрабатывали 20,9 моль/л раствором этанола (1:2), настаивали при 20 °С 2 ч, нейтрализовали выделившуюся уксусную кислоту 2,0 моль/л раствором аммиака гидрата. Осадки выделяли декантацией и центрифугированием, промывали водой (1:6), сушили (60±5 °С) до постоянной массы. Критерием экспериментального подбора оптимальных условий получения ОГБМе (II) служил практический выход к теоретически возможному выходу.

Физико-химический анализ полученных ОГБМе (II) проводили по показателям:

средняя молярная масса, определенная методом вискозиметрии (Нелина и др., 1992);

элементный состав, определенный методом эмиссионного спектрографического анализа (элементный анализатор и спектрограф СТЭ-1);

наличие и количественное содержание молекул воды в ОГБМе, установленное методами дериватографии (дериватограф «Q-1500», MOM, Венгрия) и алкалометрического титрования 1,0 ммоль/л раствора ОГБМе (II) 0,1 моль/л раствором натрия гидроксида с потенциометрической фиксацией точки эквивалентности (рН-метр «рН-340», индикаторный электрод – стеклянный, электрод сравнения – хлоридсеребряный).

Полноту протекания реакции образования ОГБМе (II) оценивали путем расчета константы равновесия реакций, учитывающей константу ионизации ОГК (метод алкалометрии) (Харитонов, 2005), коэффициент растворимости и константу устойчивости ОГБМе (УФ-спектроскопия, комплексонометрия) (Шварценбах, 1970; Кайшева др., 1992).

Для определения степени десорбции катионов BMe (II) из ОГБМе (II) и степени сорбции последними катионов TMe (II) (Pb, Cd) вносили 0,1 г ОГБМе (II) в 20 мл раствора ацетата свинца (II) (1,25·10<sup>-2</sup> моль/л) или кадмия (5,0·10<sup>-2</sup> моль/л). Через 2 ч реакционные смеси разделяли на твердую и жидкую фазы центрифугированием. Далее катионы TMe (II), оставшиеся в растворе после ионного обмена, и катионы BMe (II), перешедшие из ОГБМе (II) в раствор, разделяли и определяли их количественное содержание.

### *Отделение Pb<sup>2+</sup> от катионов BMe (II).*

Анализируемый раствор обрабатывали 1,0 моль/л раствором серной кислоты до полного выделения белого осадка сульфата свинца (II), смесь центрифугировали; в растворе определяли катионы BMe (II) (Харитонов, 2001).

Количественное содержание Pb<sup>2+</sup> находили методом гравиметрии по массе сульфата свинца (II) (Харитонов, 2005); содержание Fe<sup>2+</sup> – методом фотометрии по реакции с сульфосалициловой кислотой (Шарло, 1965); содержание Cu<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> (в отдельных растворах) – методом комплексонометрического титрования (Шварценбах, 1970).

*Отделение Cd<sup>2+</sup> от катионов Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>.* Анализируемые растворы обрабатывали 14,7 моль/л раствором аммиака гидрата до создания pH 12,0, смеси центрифугировали: в растворах оставались аммиакаты кадмия, в осадках – гидроксиды магния (белого цвета), железа (II) (черного цвета), марганца (II) (белого цвета). Осадки обрабатывали 3,0 моль/л раствором аммония хлорида (для растворения гидроксида магния) или 2,0 моль/л раствором хлороводородной кислоты (для растворения гидроксидов железа (II) и марганца (II)) (Харитонов, 2001). Количественное содержание катионов Cd<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> (в отдельных растворах) определяли мето-

дом комплексонометрического титрования (Шварценбах, 1970); содержание катионов  $Fe^{2+}$  – методом фотометрии по реакции с сульфосалициловой кислотой (Шарло, 1965).

**Отделение катионов  $Cd^{2+}$  от катионов  $Zn^{2+}$ .** Анализируемый раствор при нагревании ( $60\text{ }^{\circ}C$ ) обрабатывали 2,0 моль/л раствором натрия гидроксида до создания рН 13, смесь центрифугировали: в осадке находился гидроксид кадмия (белого цвета), в растворе – ионы  $Zn^{2+}$ . Осадок обрабатывали 2,0 моль/л раствором хлороводородной кислоты (Харитонов, 2001). Количественное содержание катионов  $Cd^{2+}$  и  $Zn^{2+}$  (в отдельных растворах) определяли методом комплексонометрического титрования (Шварценбах, 1970).

**Отделение катионов  $Cd^{2+}$  от катионов  $Co^{2+}$ .** Анализируемый раствор последовательно обрабатывали 1,0 моль/л раствором хлороводородной кислоты (до рН 0,5), 1,0 моль/л раствором сероводородной кислоты (при  $60\text{ }^{\circ}C$ ): в растворе (розового цвета) оставались ионы  $Co^{2+}$ , в осадке (желтого цвета) – сульфид кадмия. Осадок при  $60\text{ }^{\circ}C$  обрабатывали 3,0 моль/л раствором азотной кислоты до растворения (Харитонов, 2001). Количественное содержание катионов  $Cd^{2+}$  и  $Co^{2+}$  (в отдельных растворах) определяли методом комплексонометрического титрования (Шварценбах, 1970).

**Отделение катионов  $Cd^{2+}$  от катионов  $Cu^{2+}$ .** К анализируемому раствору при рН 5, создаваемом 1,0 моль/л раствором серной кислоты, при  $60\text{ }^{\circ}C$  прибавляли кристаллический тиосульфат натрия: в осадке (черного цвета) находился сульфид меди (II), в бесцветном растворе – ионы  $Cd^{2+}$ . Осадок обрабатывали 2,0 моль/л раствором азотной кислоты до растворения (Харитонов, 2001). Количественное содержание катионов  $Cd^{2+}$  и  $Cu^{2+}$  (в отдельных растворах) определяли методом комплексонометрического титрования (Шварценбах, 1970).

Степень десорбции катионов БМе (II) из ОГБМе (II) оценивали по соотношению количеств (моль) ионов БМе (II), выделившихся в результате катионного обмена и содержащихся в ОГБМе (II). Степень сорбции ОГК катионов ТМе (II) определяли как отношение количеств (моль) связанных ионов ТМе (II) и ионов БМе (II), содержащихся в исходном ОГБМе (II).

**Биологические свойства** (острая токсичность и антианемическое действие) ОГБМе (II) исследовали на примере  $OGFe^{2+}$  в опытах на белых беспородных крысах-самцах массой по 180–220 г; каждая опытная группа состояла из шести особей. Животные в течение эксперимента находились на стандартном режиме питания. Для

приготовления растворов в качестве растворителя использовали изотонический раствор (0,15 моль/л) натрия хлорида. Результаты биологических испытаний обрабатывали методом множественной статистики с использованием параметрического критерия Стьюдента; определяли средние величины, их стандартные ошибки и вероятность различий результатов сравниваемых групп животных (Ойвин, 1960).

**Острая токсичность**  $OGFe^{2+}$  была определена методом Кербера (Сидоров, 1970) путем одноразового перорального введения препарата в дозах 5000, 1000, 500, 250, 100 мг/кг (введение более высоких доз оказалось невозможным из-за низкой растворимости исследуемого вещества). Состояние животных контролировали в течение 14 дней.

**Антианемическое действие** ОГБМе (II) испытывали на примере  $OGFe^{2+}$  с помощью модели интоксикации животных ацетатом свинца (II), при которой нарушаются различные звенья биологического окисления; образующиеся продукты пероксидного окисления липидов снижают устойчивость эритроцитов, способствуя развитию гемической анемии (Ершов, 1989). Испытания проводили путем изучения показателей крови крыс: количество эритроцитов, содержание гемоглобина и содержание катионов свинца (II). Для исследования использовали пять групп животных: № 1 – интактные животные; № 2 – животные, перорально получавшие ацетат свинца (II) в однократной дозе 75 мг/кг в день ежедневно в течение 7 дней (контроль) (Ершов, 1989); № 3 – животные, перорально получавшие ацетат свинца (II) в однократной дозе 75 мг/кг в день и через 1 ч  $OGFe^{2+}$  в однократной дозе 150 мг/кг в день ежедневно в течение 7 дней; № 4 – животные, перорально получавшие ацетат свинца (II) в однократной дозе 75 мг/кг в день и через 1 ч ОГК в однократной дозе 150 мг/кг в день ежедневно в течение 7 дней; № 5 – животные, перорально получавшие ацетат свинца (II) в однократной дозе 75 мг/кг в день и через 1 ч лекарственный препарат сравнения, содержащий железа (II) сульфат, «Ферроплекс» (Машковский, 2012) в однократной дозе 30 мг/кг в день ежедневно в течение 7 дней.

Забор крови у животных проводили по завершении опытов (на восьмые сутки) путем декапитации под легким эфирным наркозом. Количество эритроцитов в крови животных определяли с помощью прибора «Целлоскопа ИКМ-II» путем автоматической цифровой регистрации импульсов, возникающих при прохождении каждого эритроцита из образцов крови. Содержание гемоглобина в крови находили гемиглобинциа-

нидным методом (методика Сали) (Камышников и др., 2016). Содержание катионов  $Pb^{2+}$  в крови устанавливали методом комплексонометрического титрования после минерализации субстрата смесью концентрированных азотной и серной кислот (1:1) и растворения минерального остатка в растворе аммония ацетата (Шварценбах, 1970).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментально подобранные оптимальные условия получения ОГБМе (II) обеспечили их максимальный практический выход к теоретически возможному выходу, %:  $ОГCu^{2+}$  – 85,9,  $ОГCo^{2+}$  – 84,6,  $ОГFe^{2+}$  – 76,8,  $ОГZn^{2+}$  – 77,2,  $ОГMn^{2+}$  – 81,2,  $ОГMg^{2+}$  – 77,4.

**Результаты физико-химического анализа состава ОГБМе (II).** Средняя молярная масса веществ составила, в г/моль:  $ОГCu^{2+}$  – 4046,  $ОГCo^{2+}$  – 4004,  $ОГFe^{2+}$  – 3977,  $ОГZn^{2+}$  – 4063,  $ОГMn^{2+}$  – 3968,  $ОГMg^{2+}$  – 3693. Элементный состав ОГБМе (II), в %:  $ОГCu^{2+}$  – С (32,0), Н (4,0), О (49,8), Cu (14,2);  $ОГCo^{2+}$  – С (32,4), Н (4,0), О (50,3), Co (13,3);  $ОГFe^{2+}$  – С (32,6), Н (4,1), О (50,7), Fe (12,6);  $ОГZn^{2+}$  – С (31,9), Н (4,0), О (49,6), Zn (14,5);  $ОГMn^{2+}$  – С (32,7), Н (4,1), О (50,8), Mn (12,4);  $ОГMg^{2+}$  – С (35,1), Н (4,4), О (54,6), Mg (5,9).

При определении молекул воды в составе ОГБМе на термических кривых отмечены характерные эндотермические эффекты: в области температур 80–115 °С на дифференциальной термогравиметрической кривой и 100–120 °С на дифференциальной термической кривой (соответствующая потеря адсорбционной воды на термогравиметрической кривой – 7,4%), а также при температуре 150–165 °С на дифференциальной термогравиметрической кривой и при 155–160 °С на дифференциальной термической кривой (соответствующая потеря внутрикоординатной воды на термогравиметрической кривой – 2,8%). На кривой алкалометрического титрования ОГБМе (II) установлена точка эквивалентности при рН 4,87, доказывающая кислотные свойства ОГБМе (II) за счет содержащихся во внутренней сфере молекул воды.

По результатам физико-химического анализа рассчитана эмпирическая формула ОГБМе (II):  $Me_9C_{108}H_{162}O_{126}$  или  $[Me(C_6H_7O_6)_2(H_2O)_2]_9$ , где  $C_6H_7O_6$  – остаток галактуроновой кислоты.

На основании полученных констант ионизации ОГК ( $3,2 \cdot 10^{-4}$ ), коэффициентов растворимости ОГБМе (II) в воде ( $3,4 \cdot 10^{-10}$ ) и констант устойчивости ОГБМе (II) ( $2,9 \cdot 10^9$ ) рассчитанные константы равновесия реакций образования ОГБМе (II) при рН 8 оказались в пределах  $9,3 \cdot 10^5$ , что в 48–145 раз больше, чем при других

значениях рН. Это свидетельствует о практически полном протекании реакций при рН 8.

**Результаты определения степени десорбции катионов БМе (II) из ОГБМе (II) и степени сорбции катионов ТМе (II) на ОГК.** Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о высокой степени десорбции катионов всех изученных БМе (II), кроме  $Cu^{2+}$ , из соответствующих ОГБМе (II) в растворы солей свинца (II) и кадмия. По-видимому, это обусловлено различиями констант устойчивости ОГК с ионами БМе (II) и ТМе (II) в пользу образования более устойчивых продуктов:  $ОГPb^{2+}$  и  $ОГCu^{2+}$ . Аналогичная закономерность установлена по результатам сорбции ТМе (II) на ОГК: ионы  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$  эффективно замещают в ОГБМе (II) ионы всех БМе (II), кроме  $Cu^{2+}$ . Приведенные данные позволяют предположить возможность применения всех изученных ОГБМе (II), кроме  $Cu^{2+}$ , в качестве ионообменников (антидотов) при интоксикации солями  $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$ .

**Результаты испытания острой токсичности  $ОГFe^{2+}$  на крысах** в течение 14 дней свидетельствуют об отсутствии их гибели. Через 14 дней испытаний при вскрытии животных изменений со стороны печени, почек, селезенки не обнаружено. Данные по изучению острой токсичности  $ОГFe^{2+}$  приведены в табл. 2. Поскольку даже максимально введенная доза  $ОГFe^{2+}$  (5000 мг/кг) не вызвала токсичности, то  $LD_{50} > 5000$  мг/кг. Согласно классификации токсических веществ (Сидоров, 1970),  $ОГFe^{2+}$  отнесен к группе нетоксичных веществ.

**Результаты испытания антианемического действия** трех исследованных препаратов ( $ОГFe^{2+}$ , ОГК, Ферроплекса) на фоне интоксикации животных ацетатом свинца (II) (табл. 3), свидетельствуют о достоверном по сравнению с контролем увеличении как количества эритроцитов, так и содержания гемоглобина в крови животных, но в разной степени. Наиболее эффективно подобное воздействие проявил  $ОГFe^{2+}$ , на 82,51% приблизивший количество эритроцитов к норме и практически нормализовавший содержание гемоглобина ( $p_1 > 0,05$ ). Активность препарата сравнения «Ферроплекса» оказалась ниже, чем у  $ОГFe^{2+}$ : на 20,54% при влиянии на количество эритроцитов и на 22,76% – на содержание гемоглобина. На уровне «Ферроплекса» находилась ОГК по воздействию на оба гемических показателя ( $p_4 > 0,05$ ). Примечательна аналогичная тенденция изменения указанных гемических показателей между собой под влиянием всех трех исследованных препаратов. В отличие от «Ферроплекса»,  $ОГFe^{2+}$  и ОГК достоверно снижали концентрацию катионов  $Pb^{2+}$  в крови

интоксцированных животных: соответственно в 2 раза и 1,5 раза; эффект  $\text{OГFe}^{2+}$  на 28,6% превосходил подобное действие ОГК. Таким образом, при введении  $\text{OГFe}^{2+}$  степень уменьшения количества эритроцитов и содержания гемоглобина в крови животных на фоне свинцовой интоксикации значительно ниже, чем при применении как «Ферроплекса», так и ОГК.

$\text{OГFe}^{2+}$  и в меньшей степени ОГК способны связыванию и ускорению выведения катионов  $\text{Pb}^{2+}$ , в отличие от «Ферроплекса». Если «Ферроплекс» способствует только снижению интенсивности гемоглобинопении и эритроцитопении, хотя и в меньшей степени, чем  $\text{OГFe}^{2+}$ , то последний, кроме того, выполняет роль эффективного антидота катионов  $\text{Pb}^{2+}$ .

Таблица 1. Степени десорбции катионов БМе (II) и сорбции катионов ТМе (II) на ОГК

ОГБМе (II)	Содержание катионов БМе (II) в ОГБМе (II), ммоль	Содержание катионов БМе (II) после катионного обмена, ммоль		Степень десорбции катионов БМе (II), %		Содержание катионов $\text{Pb}^{2+}$ , связанного ОГК, ммоль	Степень сорбции катионов $\text{Pb}^{2+}$ ОГК по отношению к БМе (II), %	Содержание катионов $\text{Cd}^{2+}$ , связанного ОГК, ммоль	Степень сорбции катионов $\text{Cd}^{2+}$ ОГК по отношению к БМе (II), %
		в растворе катионов $\text{Pb}^{2+}$	в растворе катионов $\text{Cd}^{2+}$	в растворе катионов $\text{Pb}^{2+}$	в растворе катионов $\text{Cd}^{2+}$				
$\text{OГCu}^{2+}$	0,206	0,121	0,115	58,7	55,8	0,117	56,8	0,106	51,5
$\text{OГCo}^{2+}$	0,200	0,156	0,153	78,0	76,5	0,154	77,0	0,149	74,5
$\text{OГFe}^{2+}$	0,188	0,175	0,171	93,1	91,0	0,174	92,6	0,171	91,0
$\text{OГZn}^{2+}$	0,185	0,139	0,138	75,1	74,6	0,138	74,6	0,136	73,5
$\text{OГMn}^{2+}$	0,200	0,186	0,184	93,0	92,0	0,183	91,5	0,179	89,5
$\text{OГMg}^{2+}$	0,206	0,181	0,179	87,9	86,9	0,176	85,4	0,171	83,0
Среднее	–	–	–	81,0	79,5	–	79,7	–	77,2

Таблица 2. Результаты изучения острой токсичности  $\text{OГFe}^{2+}$

Показатель	Значение				
	100	250	500	1000	5000
Доза, мг/кг					
Выжило крыс	6	6	6	6	6
Погибло крыс	0	0	0	0	0
$Z$	0	0	0	0	0
$d$	150	250	500	4000	
$z \times d$	0	0	0	0	

Примечание:  $z$  – среднее арифметическое из числа животных, у которых наблюдалась учитываемая реакция под влиянием каждой двух смежных доз;  $d$  – интервал между каждыми двумя смежными дозами.

Таблица 3. Влияние  $\text{OГFe}^{2+}$  на изменение показателей периферической крови крыс на фоне свинцовой интоксикации

№	Группа животных	Количество эритроцитов		Содержание гемоглобина		Содержание катионов $\text{Pb}^{2+}$	
		1/л	% к группе № 1	%	% к группе № 1	%	% к группе № 1
1	Интактные	$(5,89 \pm 0,35) \cdot 10^{12}$	100	$14,5 \pm 1,3$	100	$(5,0 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$	100
2	Получавшие ацетат свинца (II) (контроль)	$(3,06 \pm 0,18) \cdot 10^{12}$ $p_1 < 0,001$	51,95	$6,7 \pm 0,7$ $p_1 < 0,01$	46,21	$(14,0 \pm 2,0) \cdot 10^{-5}$ $p_1 < 0,01$	280
3	Получавшие ацетат свинца (II) и $\text{OГFe}^{2+}$	$(4,86 \pm 0,24) \cdot 10^{12}$ $p_1 < 0,05; p_2 < 0,01$	82,51	$12,3 \pm 0,8$ $p_1 > 0,05; p_2 < 0,01$	84,83	$(7,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-5}$ $p_1 < 0,05; p_2 < 0,02$	140
4	Получавшие ацетат свинца (II) и ОГК	$(4,02 \pm 0,28) \cdot 10^{12}$ $p_1 < 0,01; p_2 < 0,05; p_3 < 0,05$	68,25	$10,1 \pm 0,7$ $p_1 < 0,05; p_2 < 0,02; p_3 > 0,05$	69,66	$(9,0 \pm 0,6) \cdot 10^{-5}$ $p_1 < 0,01; p_2 < 0,05; p_3 < 0,05$	180
5	Получавшие ацетат свинца (II) и «Ферроплекс»	$(3,65 \pm 0,19) \cdot 10^{12}$ $p_1 < 0,01; p_2 < 0,05; p_3 < 0,01; p_4 > 0,05$	61,97	$9,0 \pm 0,6$ $p_1 < 0,01; p_2 < 0,05; p_3 < 0,02; p_4 > 0,05$	62,07	$(12,0 \pm 0,7) \cdot 10^{-5}$ $p_1 < 0,001; p_2 > 0,05; p_3 < 0,001; p_4 < 0,02$	240

Примечание:  $p_1$  – достоверность различий по отношению к интактным животным;  $p_2$  – достоверность различий по отношению к контролю;  $p_3$  – достоверность различий по отношению к  $\text{OГFe}^{2+}$ ;  $p_4$  – достоверность различий по отношению к ОГК.

**ВЫВОДЫ**

1. На основе свекловичного пектина, пригодного для медицинского использования, выделена ОГК (степень полимеризации 18), выбор которой как объекта исследования обусловлен ее высокой биологической доступностью: способностью концентрироваться не только в биологических жидкостях, но и тканях, особенно в костной ткани, являющейся местом депонирования катионов ТМе. В результате взаимодействия ОГК с ацетатами БМе (II) (Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg) получены металлические производные (ОГБМе), содержащие 0,2 ммоль ионов БМе. Состав ОГБМе, установленный методами вискозиметрии, эмиссионного спектрографического анализа, дериватографии, алкалометрии, потенциометрического титрования, выражается формулой  $[Me (C_6H_7O_6)_2 (H_2O)_2]_n$ , где  $C_6H_7O_6$  – остаток галактуроновой кислоты. Рассчитанная константа равновесия реакций образования ОГБМе (II) при pH 8 ( $9,3 \cdot 10^5$ ) свидетельствует о практически полном протекании реакций.

2. Высокая степень десорбции катионов всех изученных БМе (II), кроме  $Cu^{2+}$ , из соответствующих ОГБМе в растворы солей  $Pb^{2+}$  (85,4%) и  $Cd^{2+}$  (84,2%) и степень сорбции катионов  $Pb^{2+}$  (84,2%) и  $Cd^{2+}$  (82,3%) на ОГК свидетельствует о перспективности использования соединений ОГК как лекарственных препаратов – носителей БМе (II) и антидотов ТМе (II).

3. По результатам испытания острой токсичности  $ОГFe^{2+}$  на крысах это соединение с  $LD_{50} > 5000$  мг/кг относится к группе нетоксичных веществ. На модели гемической анемии у крыс, вызванной интоксикацией ацетатом свинца (II), достоверно доказана способность  $ОГFe^{2+}$  увеличивать количество эритроцитов в 1,6 раз, содержание гемоглобина в крови – в 1,8 раз и уменьшать содержание катионов  $Pb^{2+}$  в крови в 2 раза. В сравнении с лекарственным препаратом «Ферроплекс», который способствует снижению интенсивности гемоглобинопении и эритроцитопении,  $ОГFe^{2+}$  играет роль эффективного антидота катионов свинца (II).

4. Предложенные лекарственные препараты на основе ОГК могут применяться как системы одновременной доставки БМе (II) (Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg) в биологические ткани и жидкости и системы выведения (антидоты) ТМе (II) ( $Pb^{2+}$  и  $Cd^{2+}$ ) из организма.

**ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES**

Вайнштейн С.Г., Масик А.М. Пищевые волокна в профилактической и лечебной медицине. М.: ВНИИМИ, 1985. 80 с.

(Vaynshteyn S.G., Masik A.M. [Dietary fiber in preventive and curative medicine]. Moscow: VNIIMI, 1985 [in Russ]).

Временная фармакопейная статья ВФС 42-3433-99 «Пектин». Утв. приказом МЗ РФ № 363 от 08.10.1999.

([Temporary pharmacopoeial monograph VFS 42-3433-99 "Pectin"]. Appr. by MZ RF Order № 363, 08.10.1999 [in Russ]).

Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика. М.: Мир, 1991. 544 с.

(Dawson R., Elliott D., Elliott W., Jones K. Data for biochemical research. Oxford: Clarendon Press, 1986).

Ершов Ю.А., Плетенева Т.В. Механизмы токсического действия неорганических соединений. М.: Медицина, 1989. 272 с.

(Ershov Yu.A., Pleteneva T.V. [Mechanisms of toxic action of inorganic compounds]. Moscow: Meditsina, 1989 [in Russ]).

Кайшева Н.Ш. Способ получения медицинского очищенного пектина. Пат. РФ 2116075. МКИ А 61 К 31/725. № заявки 96103099. Бюллетень изобретений. 1998.

(Kajsheva N.Sh. [A method for producing purified medical pectin]. Patent RF 2116075. MKI A 61 K 31/725. App No 96103099. The bulletin of inventions. 1998 [in Russ]).

Кайшева Н.Ш., Кайшев А.Ш. Фармакохимические основы применения пектинов и альгинатов. Пятигорск: РИА-КМВ, 2016. 260 с.

(Kajsheva N.Sh., Kajshev A.Sh. [Pharmacochemical basis for use of pectins and alginates]. Pyatigorsk, 2016 [in Russ]).

Кайшева Н.Ш., Компанцев В.А., Щербак С.Н., Крикова Н.И. Изучение взаимодействия пектинов с металлами. Фармация. 1992. Т. 41. № 2. С. 45–49.

(Kajsheva N.Sh., Kompantsev V.A., Shcherbak S.N., Krikova N.I. [A study of the interaction of pectins with metals]. Farmaciya. 1992, 41(2):45–49 [in Russ]).

Камышников В.С., Волотовская О.А., Ходюкова А.Б., Дальнова Т.С., Василиу-Светлицкая С.Г., Зубовская Е.Т., Алехнович Л.И. Методы клинических исследований. М.: Медпресс-информ, 2016. 736 с.

(Kamyshnikov V.S., Volotovskaya O.A., Hodyukova A.B., Dalnova T.S., Vasiliu-Svetlitskaya S.G., Zubovskaya E.T., Alekhnovich L.I. [Methods of clinical studies]. Moscow: Medpress-inform. 2016 [in Russ]).

Комиссаренко С.Н., Спиридонов В.Н. Пектины – их свойства и применение: обзор. Растительные ресурсы. 1998. Т. 34. Вып. 1. С. 111–119.

(Komissarenko S.N., Spiridonov V.N. [Pectins – their properties and application: an overview]. Rastitelnye resursy. 1998, 34(1):111–119 [in Russ]).

Компанцев В.А., Кайшева Н.Ш. Методы получения, исследование и использование в лечебной профилактике карбоксиполисахаридов. Обзорная информация: Химико-фармацевтическое производство. 1995. Вып. 5. С. 1–28.

(Kompantsev V.A., Kajsheva N.Sh. [Methods of producing carboxypolysaccharides, their study and use in treatment and prevention]. Obzornaya informatsiya: Khimiko-farmatsevticheskoe proizvodstvo. 1995, 5:1–28 [in Russ]).

Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд. 16. М.: Новая волна, 2012. 1216 с.

(Mashkovsky M.D. [Medicinal preparations]. 16<sup>th</sup> ed. Moscow: Novaya volna, 2012 [in Russ]).

Нелина В.В., Донченко Л.В., Карпович Н.С., Игнатьева Г.Н. Пектин. Методы контроля в пектиновом производстве. Киев: Пектин, 1992. 96 с.

(Nelina V.V., Donchenko L.V., Karpovich N.S., Ignatyeva G.N. [Pectin. The control methods in pectin production]. Kiev: Pektin, 1992 [in Russ]).

Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований. Патол. физиология и эксперим. терапия. 1960. Т. 4. № 4. С. 76–85.

(Oyvin I.A. [Statistical processing of experimental results]. Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya Terapiya. 1960, 4(4):76–85 [in Russ]).

Попков В.А., Ершов Ю.А., Берлянд А.С. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов. М.: Высшая школа, 2012. 560 с.

(Popkov V.A., Ershov Yu.A., Berlyand A.S. [General chemistry. Biophysical chemistry. Chemistry of biogenic elements]. Moscow: Vysshaya shkola, 2012 [in Russ]).

Сидоров К.К. Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ (токсикометрия). М.: Медицина, 1970. 117 с.

(Sidorov K.K. [Methods for determining acute toxicity and danger of chemical substances (toxicometry)]. Moscow: Meditsina, 1970 [in Russ]).

Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия. Т. 1. Общие теоретические основы. Качественный анализ. М.: Высшая школа, 2001. 615 с.

(Kharitonov Yu.Ya. [Analytical chemistry]. Vol. 1. [General theoretical bases. Qualitative analysis]. Moscow: Vysshaya shkola, 2001 [in Russ]).

Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа. М.: ВШ, 2005. 559 с.

(Kharitonov Yu.Ya. [Analytical chemistry]. Vol. 2. [Quantitative analysis. Physico-chemical (instrumental) methods of analysis]. Moscow: Vysshaya shkola, 2005 [in Russ]).

Шарло Г. Методы аналитической химии. Количественный анализ неорганических соединений. М.: Химия, 1965. 976 с.

(Sharlo G. [Methods of analytical chemistry. Quantitative analysis of inorganic compounds]. Moscow: Khimiya, 1965 [in Russ]).

Шварценбах Г., Флашка Г. Комплексометрическое титрование. Пер. с нем. Вайнштейн Ю.И. М.: Химия, 1970. 360 с.

Schwarzenbach G, Flaschka H. Die komplexometrische Titration. U.S.A. Atlanta, Georgia: Ferdinand Enke Verlag Stuttgart, 1965 [in Germ.].

## DEVELOPMENT OF MEDICAL PRODUCTS ON THE BASIS OF OLIGOGALACTURONIC ACID, AS CARRIERS OF BIOGENIC METALS (II) AND HEAVY METAL (II) ANTIDOTES

*N.Sh. Kajsheva, A.Sh. Kajshev*

Pyatigorsk Medico-Pharmaceutical Institute, Kalinin ave. 11, Pyatigorsk, 357532, Russia

**ABSTRACT.** Medicinal preparations on the basis of oligogalacturone acid (OGA) were proposed as carriers of biogenic metals (BMe) (II) (offered for Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg) and heavy metal (HMe) (II) antidotes (offered for Pb, Cd). Being obtained from industrial beet pectin, suitable for medical use, the OGA is an acid with molar weight 3200 g/mol and the polymerization degree of 18. Its pH (3.5) was lead up to 8.0 by means of 2.0 mol/l solution of ammonia hydrate. Further, 5.0 mmol/l solution of the acid was mixed with about 45.0 mmol/l solution of acetate of one of divalent metals: Cu, Co, Fe, Zn, Mn, Mg in an identical volumetric parity. The mix were subsequently processed by 20.9 mol/l ethanol (1:2), kept at 20°C within 2 hours, neutralized (acetic acid is a product of reaction) by 2.0 mol/l solution of ammonia hydrate, separated and dried at 60°C. As the criteria for experimental selection of optimum conditions for producing oligogalacturonates of biogenic metals (OGBMe) (II) there were used: completeness of the complexes formation (constants of balance  $10^6$ ), absence of precipitated surplus of the metal ions, stability of products at pH 8 (constant of stability  $10^9$ ), technological output. The choice of beet pectin as the source of OGA was reasoned by its high ability to form complexes: 23.55 mole of  $Pb^{2+}$  ions on 1 mole of the pectin. The choice of OGA as the carrier of metals (II) was reasoned by its high biological availability and ability to accumulation in biological liquids and fabrics, especially bone fabric, being a place of heavy metals deposition. The degrees of BMe (II) desorption from corresponding OGBMe in  $Pb^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  solutions (80,0%) and absorption of  $Pb^{2+}$  and  $Cd^{2+}$  from them (78,0%) testify a possibility to use OGA for delivery of BMe (II) and removal of HMe (II). Experiments on a model of anemia in animals intoxicated by lead (II) acetate were proved the ability of  $OGFe^{2+}$  to increase the quantity of erythrocytes 1.6 times, the content of hemoglobin in blood 1,8 times and to reduce the content of  $Pb^{2+}$  ions in blood 2 times.

**KEYWORDS:** biogenic metals, heavy metals, antidotes, carriers of metals.