

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

НАРОХА ВІОЛЕТТА ПЕТРІВНА

УДК 616.127:57.044:615:57.081

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОДИНАМІКИ
КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК ГЕРМАНІЮ ПРИ АНТРАЦИКЛІНОВІЙ
ІНТОКСИКАЦІЇ

14.03.05 - фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2018

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету імені О. О. Богомольця МОЗ України, м. Київ.

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
НІЖЕНКОВСЬКА Ірина Володимирівна,
Національний медичний університет
імені О. О. Богомольця МОЗ України (м. Київ),
завідувач кафедри фармацевтичної, біологічної та
токсикологічної хімії.

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
ЯКОВЛЄВА Лариса Василівна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакоелектрофізіології;

доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України,
лауреат Державної премії України
ГОДОВАН Владлена Володимирівна,
Одеський національний медичний університет
МОЗ України (м. Одеса),
професор кафедри загальної та клінічної фармакології.

Захист відбудеться « 13 » _____ червня _____ 2018 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті (61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий « 07 » _____ травня _____ 2018 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. наук, професор

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Статистичні дані щодо структури захворюваності та смертності населення України свідчать, що друге місце після серцево-судинних посідають онкологічні захворювання. Розвиток технологій та удосконалення процесу діагностики зробили можливим раннє виявлення та успішне лікування злоякісних пухлин, однак антибластомні засоби, що ефективно перешкоджають росту пухлин, можуть викликати в клінічній практиці тяжкі ураження з боку різних органів та систем. Не зважаючи на значну кількість досліджень, присвячених лікуванню та профілактиці побічних ефектів хіміотерапії, невирішеною проблемою залишається хронічна інтоксикація антрацикліновими антибіотиками, особливо, специфічне ураження міокарда (D. Cardinale, 2013; M. Sterba, 2013; P. Angsutararux, 2015; M. A. Mitry, 2016; J. V. McGowan, 2017).

Враховуючи наведені дані про актуальність проблеми загальної інтоксикації при хіміотерапії і недостатню кількість на вітчизняному фармацевтичному ринку лікарських препаратів з цитопротекторною активністю, які б корегували стан хворих при хіміотерапії антрацикліновими антибіотиками, сьогодні науковці проводять активний пошук та вивчення нових сполук, на основі яких перспективним є створення ефективних та безпечних лікарських засобів із вказаною дією. Комплексування металів з органічними лігандами є перспективним напрямком створення нових координаційних сполук, який дозволяє підвищити фармакологічну активність біолігандів (Л. М. Даниленко, 2009; B. S. Sekhon, 2013; F. Yang, 2013; Н. Д. Бунятян, 2014; P. Lu, 2014; J. J. Martinez Medina, 2016; A. Raza, 2016; Yi Yan, 2016). Серед координаційних сполук увагу привертають комплекси германію, які продемонстрували свою ефективність за умов кисеньдефіцитних станів (В. Д. Лук'янчук, 2014), гострої церебральної ішемії (І. О. Житіна, 2014), ураження серця (В. В. Годован, 2009) та печінки (В. В. Годован, О. Л. Тимчишин, 2017), гострої інтоксикації різного генезу, закритої черепно-мозкової травми (Т. Р. Лучишин, 2012; І. Й. Сейфулліна, 2014, 2016), виявили нейротропні властивості (О. І. Варбанець, 2014; М. В. Матюшкіна, 2014).

В моделюванні фармакологічних властивостей координаційних сполук важлива роль належить вибору біоліганду, в зв'язку з чим нами було обрано нікотинову кислоту з урахуванням її відомих метаболітотропних властивостей. Сучасне розширення уявлень про можливі механізми дії ніацину: активація ніацинового рецептора GPR109A (S. Offermanns, 2011; J. T. Chai, 2013), запуск каскадних реакцій через вплив на рецептори простагландинів D₂ та E₂ (D. Kong, 2017) та призначення ніацину в клінічній практиці в комплексному лікуванні захворювань серцево-судинної системи, печінки, інтоксикаціях тощо (P. M. Lavigne, 2013; A. V. Khera, 2015; A. Garg, 2017; C. Minto, 2017) розкривають подальші перспективи створення нових лікарських засобів на основі ніацину як біоліганду.

Таким чином, усе вищезазначене сприяло обґрунтуванню доцільності вивчення координаційних сполук германію в якості потенційних лікарських

засобів з кардіопротекторною та гепатопротекторною активністю за умов інтоксикації антрациклінового генезу, що може сприяти вирішенню однієї з актуальних задач сучасної медицини. Подальшому науковому пошуку в даному напрямку і була присвячена дисертаційна робота.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Робота виконана в рамках планової НДР кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету (НМУ) імені О. О. Богомольця МОЗ України «Вивчення механізмів ушкодження міокарда при експериментальній кардіоміопатії та її корекції новими координаційними сполуками германію та сполуками метаболітної дії» (№ держреєстрації 0115U000701). Автор є співвиконавцем даної НДР.

Мета і завдання дослідження. *Мета* дослідження - експериментально обґрунтувати доцільність створення ефективного та безпечного лікарського засобу з цитопротекторними властивостями на основі координаційних сполук германію з нікотиною кислотою за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *задачі*:

1. Визначити підгостру токсичність та еквівалентні скринінгові дози координаційних сполук германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1), нікотиною та оксиетилідендифосфоновими кислотами (ОЕ-5) та нікотиною та лимонною кислотами (ОК-1) за умов тривалості курсу введення доксорубіцину в експерименті (35 днів).

2. Провести скринінг на цитопротекторну активність МІГУ-1, ОЕ-5 та ОК-1 за показниками перекисного окиснення ліпідів та структурою міокарда та печінки та виявити сполуку-лідера за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином.

3. Дослідити цитопротекторні властивості сполуки-лідера в різних дозах в міокарді щурів за впливом на активність компонентів антиоксидантної системи, процеси перекисного окиснення ліпідів та білків, жирнокислотний спектр ліпідів в порівнянні з нікотиною кислотою та тіотриазоліном за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином, визначити найбільш ефективну дозу.

4. Дослідити в печінці щурів (за тими ж показниками, що і в міокарді) цитопротекторні властивості сполуки-лідера в порівнянні з нікотиною кислотою та тіотриазоліном за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином, визначити найбільш ефективну дозу.

5. Вивчити дію сполуки-лідера на процеси енергетичного забезпечення та структуру міокарда та печінки щурів в порівнянні з дією нікотинової кислоти за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином.

6. З'ясувати можливі механізми цитопротекторної дії сполуки-лідера та встановити квантово-хімічні основи її фармакодинамічних властивостей.

Об'єкт дослідження: фармакологічна корекція токсичних ефектів протипухлинної хіміотерапії зокрема антрацикліновими антибіотиками.

Предмет дослідження: цитопротекторні властивості координаційних сполук германію з біолігандами за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання хронічної інтоксикації доксорубіцином (ХІД), токсикологічні (дослідження токсичності за умов повторного введення), біохімічні (визначення активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ); вмісту дієнових кон'югатів (ДК), ТБК-активних сполук, шифових основ, альдо- та кетопохідних основного та нейтрального характеру, аденілових нуклеотидів), морфологічні (дослідження фрагментів міокарда та печінки методом світлової та електронної мікроскопії), методи *in vitro* (визначення активності АТФ-гідролаз), фізико-хімічні (хроматографічне визначення вмісту жирних кислот (ЖК) в міокарді та печінці), квантово-хімічні (характеристика енергії (загальної, зв'язків, атомів), ентальпії утворення, дипольного моменту, довжини зв'язків, молекулярних орбіталей молекул), математичні (визначення середнього та його відхилення; енергетичного заряду (ЕЗ), енергетичного потенціалу (ЕП), термодинамічного контролю дихання (ТКД), індексу фосфорилування (ІФ)) та статистичні (визначення міжгрупових відмінностей).

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше встановлена цитопротекторна дія координаційних сполук германію з нікотиною (МІГУ-1), нікотиною та оксиетилідендифосфоною (ОЕ-5), нікотиною та лимонною (ОК-1) кислотами за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином. Доведена залежність «структура-дія», яка полягає у підвищенні фармакологічної активності та зниженні токсичності у ряду досліджуваних координаційних сполук із зменшенням кількості біолігандів в їх структурі. Обрано МІГУ-1 як найбільш перспективний об'єкт для подальших досліджень.

Отримано нові дані щодо кардіопротекторних властивостей МІГУ-1 за рахунок зменшення ступеню вираженості оксидативного стресу, спричиненого хронічним введенням доксорубіцину, про що свідчило достовірне збільшення активності ферментів антиоксидантного захисту супероксиддисмутази (в 1,34 рази) та каталази (в 1,80 рази); пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів та білків (зниження рівня кетопохідних нейтрального характеру в 1,44 рази, альдо- та кетопохідних основного характеру в 1,51 та 1,69 рази відповідно). Гепатопротекторні властивості МІГУ-1 підтверджені достовірним збільшенням активності ферментів антиоксидантного захисту та зменшенням відповідних показників вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів та білків в органі. Цитопротекторна активність в печінці збільшувалась із зменшенням досліджуваної дози.

З'ясовано, що виявлені кардіопротекторні та гепатопротекторні властивості МІГУ-1 перевищували такі у референс препарату нікотинової кислоти (за активністю каталази на 28 %, за пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів (на 18-42 %) та білків (на 24-34 %), $P < 0,05$). Виявлений кардіопротекторний ефект МІГУ-1 переважав такий і у референс препарату тіотриазоліну (за активністю каталази на 17 %, пригніченням процесу перекисного окиснення ліпідів на 37 %, окиснення білків на 21-37 %).

Розширені уявлення щодо механізмів цитопротекторної активності координаційних сполук германію. Показано, що в основі реалізації первинної кардіопротекторної активності МІГУ-1 може бути пригнічення активності Na^+ , K^+ -АТФази (на 76,3 %) та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази (на 34,8 %) плазмолемі кардіоміоцитів ($P < 0,05$). Цитопротекторні властивості МІГУ-1 може виявляти шляхом СОД-імітуючої активності через наявність центрального фрагменту Ge-N з довжинами зв'язків в діапазоні 1,809-2,035 Å.

Доповнено наукові дані щодо нешкідливості МІГУ-1 (10,0 мг/кг), ОЕ-5 та ОК-1 (5,0 мг/кг), що підтверджується відсутністю токсичної дії на органи і системи експериментальних тварин в умовах щоденного внутрішньоочеревинного введення протягом 35 діб, що відповідає тривалості курсу введення доксорубіцину в експерименті.

Практичне значення отриманих результатів. Експериментально обґрунтовано доцільність створення препарату з кардіопротекторною та гепатопротекторною активністю на основі координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1) для зменшення токсичних проявів хіміотерапії антрацикліновими антибіотиками, що дозволить оптимізувати лікування онкопатологій. Встановлення залежності «структура-дія» робить перспективним цілеспрямований синтез нових речовин цього ряду із вказаною дією.

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджені в науково-дослідну роботу Інституту гігієни та екології та НДІ експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця (акти впровадження від 12.10.2017), відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології» НАМН України (акт впровадження від 12.09.2017) та відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту імені А. В. Богатського НАН України (акт впровадження від 21.09.2017).

Запропоновано спосіб оцінки ефективності корекції токсичної дії доксорубіцину в експерименті (патент України на корисну модель № 93021 від 10.09.2014), який впроваджено в науково-дослідну роботу Інституту гігієни та екології та НДІ експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця (акти впровадження від 12.10.2017).

Особистий внесок здобувача. Робота виконана на базі кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії НМУ імені О. О. Богомольця. Дисертант самостійно провів патентно-інформаційний пошук за темою дисертації, опрацював наукову літературу, взяв участь в експериментальних дослідженнях, провів статистичну обробку й аналіз отриманих результатів з оформленням їх у вигляді таблиць та рисунків, сформулював основні положення та висновки. Всі розділи дисертації та її автореферат написані автором самостійно. Разом із науковим керівником сформульовано мету та завдання дослідження. Співавторами наукових праць є науковий керівник І. В. Ніженковська та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження – І. Й. Сейфулліна, О. В. Кузнецова, С. І. Савосько, Т. С. Брюзгіна, О. В. Афанасенко, О. Е. Марцинко, О. А. Чебаненко. Особисту участь здобувача наведено у списку опублікованих праць за темою дисертації.

Морфологічні дослідження проведені в лабораторії електронної мікроскопії (завідувач – проф. Л. О. Стеченко) НДІ експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О. О. Богомольця за консультативної допомоги к.б.н. С. І. Савосько. Дослідження активності АТФ-гідролаз проведено у відділі біохімії м'язів (завідувач – академік НАНУ, проф. С. О. Костерін) Інституту біохімії імені О. В. Палладіна НАН України за консультативної допомоги к.б.н. Т. О. Векліч. Дисертант вдячний всім науковцям за консультативну допомогу.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на вітчизняних та міжнародних наукових конференціях та симпозиумах: International Scientific & Practical Conference dedicated to the World Health Day (Київ, 7-8 квітня 2015); Annual young medical scientists conference - AYMSConf (Київ, 15-16 жовтня 2015); International student conference «Health and social sciences» (Riga, 16 march 2016); XXIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство» (Москва, 11-12 апреля 2016); VIII Національний з'їзд фармацевтів України: Фармація XXI століття: тенденції та перспективи (Харків, 13-16 вересня 2016); I Міжнародна науково-практична конференція «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, 30-31 березня 2017); 6th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress in Stockholm (Stockholm, 14-21 may 2017); V Національний з'їзд фармакологів України (Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017); XVII международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 15-16 ноября 2017).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць: 10 статей, серед яких 6 - у наукових профільних виданнях, рекомендованих МОН України, 2 - у зарубіжних профільних наукових виданнях, 1 патент України на корисну модель, 9 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена на 148 сторінках комп'ютерного друку і містить анотації українською та англійською мовами, вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали та методи дослідження», 4 розділи власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів, висновки і список використаних джерел в кількості 260 найменувань, з яких 77 - кирилицею та 183 - латиною. Робота проілюстрована 23 таблицями та 44 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. В експериментах використані три біологічно активні речовини (БАР) з ряду координаційних сполук германію з такими біолігандами – нікотиною кислотою - $[\text{Ge}(\text{Nic})_4\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$ (під робочою назвою МІГУ-1); нікотиною та оксиетилідендифосфоною кислотами - $(\text{HNic})_6[\text{Ge}(\text{OH})(\text{Oedph})]_6 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (під робочою назвою ОЕ-5); нікотиною та лимонною кислотами - $(\text{HNic})_2[\text{Ge}(\text{HCit})_2] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (під робочою назвою ОК-1), синтезовані на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського національного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом заслуженого діяча науки і техніки України, проф. І. Й. Сейфулліної (І. Й. Сейфулліна та співавт., 2004,

2006, 2016). Авторами сполук експериментально засвідчено відповідність синтезованих комплексів заявленим, нами досліджено речовини однієї серії.

Виходячи з мети і завдань дисертаційної роботи, експериментальні дослідження виконували за алгоритмом, наведеним на рис. 1. Досліди проведені на 357 щурах обох статей масою 180-220 г, які утримувались в стандартних умовах віварію НМУ імені О. О. Богомольця. Роботи з експериментальними тваринами проведені з дотриманням Закону України №3447-15 «Про захист тварин від жорстокого поводження» (від 21.02.2006), Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» та згідно вимог Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986), що засвідчено висновком Комісії з біоетики НМУ імені О. О. Богомольця (протокол № 82 від 08.10.2014).

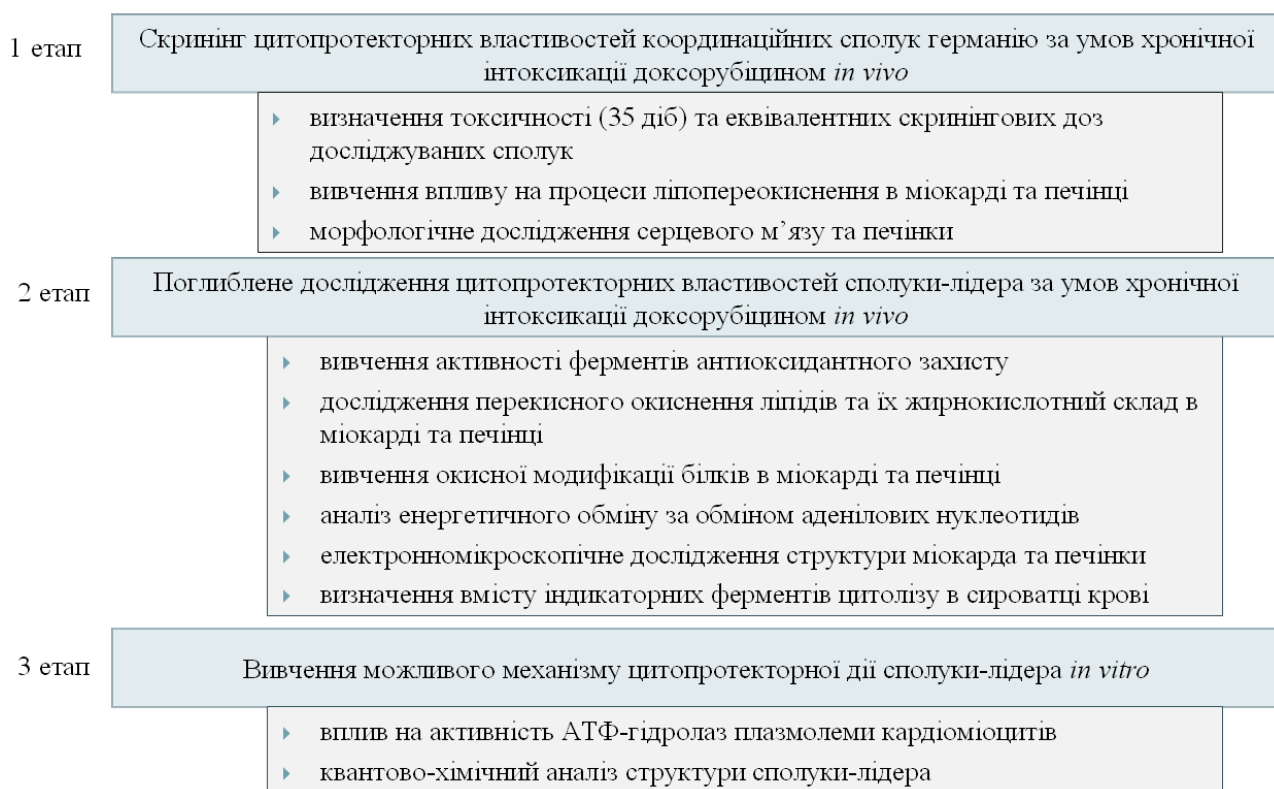


Рис. 1 Дизайн дослідження цитопротекторних властивостей координаційних сполук германію з нікотиною кислотою

Параметри токсичності сполук (летальність, коефіцієнти маси внутрішніх органів) визначали в дозах 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 та 1/160 наведених в літературі даних ЛД₅₀ гострої токсичності МІГУ-1, ОЕ-5 (В. В. Годован, 1998, 2008) та ОК-1 (І. О. Житіна, 2014) за умов щоденного внутрішньоочеревинного (в/о) введення протягом 35 діб методом пробіт-аналізу (А. В. Стефанов, 2002; В. Б. Прозоровський, 2007).

Скринінгове дослідження цитопротекторної активності БАР проводили за умов щоденного в/о введення протягом 35 діб на фоні хронічної інтоксикації

антрацикліновим антибіотиком (контрольна патологія), яку моделювали шляхом щотижневого внутрішньом'язового введення доксорубіцина (ДОК) («Доксорубіцин – КМП», ліофілізований порошок для приготування розчину для ін'єкцій по 0,01 г, ВАТ «Київмедпрепарат», Україна) в дозі 5,0 мг/кг маси тіла протягом 5 тижнів (І. В. Ніженковська, 2009). Далі в експериментах використовували сполуку-лідер, за скринінговими дослідженнями, МІГУ-1, в трьох дозах 5,0; 10,0; 30,0 мг/кг (1/20, 1/10 та 1/3 середньосмертельної дози за умов повторного введення) і препарати порівняння: тіотриазолін (Тіотриазолін® розчин для ін'єкцій 2,0 мл 2,5%, ПАТ «Галичфарм», Україна) в дозі 125,0 мг/кг (Т. С. Трофімова, 2008) та нікотинову кислоту («Ніацин ВР», порошок кристалічний, «Aarti Drugs» Ltd, Індія) в дозі 10,0 мг/кг (J. W. Shin et al., 2010), які вводили щоденно в/о протягом 35 діб на фоні інтоксикації ДОК.

В міокарді та печінці на 36-й день експерименту визначали вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – ДК (В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, 1988), ТБК-активних сполук (И. Д. Стальная, Г. Г. Гаришвили и соавт., 1977), шифових основ (О. Е. Колесова, А. А. Маркин, 1984) та вміст продуктів окисної модифікації білків (ОМБ) (Е. Е. Дубініна та співавт., 1995). Стан антиоксидантної системи вивчали за активністю СОД (С. Чеварі та співавт., 1985) та КАТ (М. А. Королюк та співавт., 1988); вміст білка – за О. Н. Lowry (В. С. Камышников, 2016). Вміст ЖК та їх склад досліджували методом газової хроматографії (Т. С. Брюзгіна, 2012) на хроматографі “Цвет-500” (РФ). Вміст аденілових нуклеотидів (И. В. Зарубина, Б. И. Криворучко, 1982) досліджували на денситометрі CS-920 “Shimadzu” (Японія). ЕЗ, ЕП, ТКД та ІФ визначали розрахунковим методом за вмістом аденілових нуклеотидів (М. Ю. Колесник та співавт., 2012). В сироватці крові визначали активність АЛАТ (F. Wroblewski and LaDue, 1956), АсАТ, ЛДГ (E. Amador et al, 1962, 1963) на біохімічному аналізаторі Biochem SA «НТІ» (США). Морфологічне дослідження фрагментів міокарда та печінки проводили на 36-й день експерименту, підготовку проб виконували загальноприйнятими методами (Л. П. Горальський, 2005). Морфометричне дослідження проводили на мікроскопі Olympus BX 51 (Японія) за допомогою програмного забезпечення Carl Zeiss software (AxioVision SE64 Rel.4.9.1); електронномікроскопічне дослідження – на мікроскопі ПЕМ-125К (Україна).

Вплив МІГУ-1 (в концентрації 100 мкМ) *in vitro* на АТФ-гідролазні активності везикул плазматичних мембран (Т. П. Кондратюк, 1986) суспензії кардіоміоцитів (М. В. Егорова и соавт., 2005) проводили за допомогою лазерного кореляційного спектрометра “ZetaSizer-3” (Malvern Instruments, Великобританія). Результати обробляли за допомогою сервісної комп'ютерної програми PCS-Size mode v1.61. Квантово-хімічні характеристики розраховували програмою “HyperChem rel.7” з використанням напівемпіричного методу розрахунків PM3 (англ. Parameter Model 3). Оптимізацію молекулярної структури (методом молекулярної механіки) проводили за градієнтом ≤ 0.01 ккал/Å•град і за алгоритмом Парра-Паризера-Попла з використанням необмеженого методу Хартлі-Фока (Л. С. Бобкова, 2015). Експериментальні дані оброблено методами варіаційної статистики за

допомогою програм «Statistica® for Windows» (StatSoft Inc., США) і «Microsoft Office Excel 2016» (Microsoft, США) за критерієм *t* Ст'юдента у випадку нормального розподілу та за критерієм *U* Манна–Уїтні в інших випадках, з прийнятим у медико-біологічних дослідженнях рівнем статистичної значущості $P < 0,05$ (Н. В. Трухачева, 2017).

Результати та їх обговорення. Проведене дослідження параметрів токсичності трьох досліджуваних БАР за умов тривалості курсу введення антрациклінів в експерименті (35 діб) встановило, що дози, які викликали загибель 50% тварин склали відповідно: для МІГУ-1 – $93,2 \pm 8,4$ мг/кг; для ОЕ-5 – $55,5 \pm 3,8$ мг/кг та для ОК-1 – $53,0 \pm 4,0$ мг/кг. Це засвідчило збільшення токсичності сполук із збільшенням кількості біолігандів в їх структурі, а також можливу різницю в їх фармакологічній активності.

Згідно з висунутим завданням 2 доцільно було з'ясувати, чи мають синтезовані сполуки цитопротекторну активність за умов антрациклінової інтоксикації. Введення ДОК в групі контрольної патології супроводжувалось вираженою активацією процесу ПОЛ, яка відображалась у збільшенні вмісту ДК, ТБК-активних сполук та шифових основ в міокарді в 1,48, 1,28 та 1,26 рази; в печінці – в 1,24, 1,20 та 1,27 рази відповідно порівняно з інтактним контролем ($P < 0,05$) (рис. 2), що узгоджувалось з даними літератури щодо ключової ролі антрациклінів у розвитку оксидативного стресу (M. Sterba, 2013; N. Koleini et al., 2017) та їх специфічної кардіотоксичності (J. Truong et al., 2014; D. L. Payne, A. Nohria, 2017).

Вперше при вивченні впливу БАР у еквівалентних дозах на розвиток оксидативного стресу за умов ХІД встановили, що МІГУ-1 (10,0 мг/кг) попереджав його розвиток не тільки в міокарді, а і в печінці за показниками ДК, ТБК-активних сполук та шифових основ. ОЕ-5 (5,0 мг/кг) попереджав активацію процесу ПОЛ в міокарді та печінці, але тільки на рівні ДК (див. рис. 2). ОК-1 (5,0 мг/кг) виявив найменшу ефективність за умов ХІД, не впливаючи на рівень продуктів ПОЛ в міокарді та відновлюючи лише рівень ТБК-активних сполук в печінці (див. рис. 2). Отримані дані засвідчили різну фармакологічну активність комплексів, однак сила ефекту зменшувалась із приєднанням до складу координаційних сполук інших біолігандів (оксиетилідендифосфонової та лимонної кислот), крім нікотинової кислоти.

Токсична дія ДОК відображалась і на зменшенні діаметру кардіоміоцитів в 1,50 рази та збільшенні діаметру гемокапілярів печінки в 2,32 рази порівняно з інтактним контролем ($P < 0,05$). У тварин, яким вводили координаційні сполуки германію разом з ДОК, відмічено часткове збереження гістологічної будови міокарда. На структурному рівні це позначилося у зменшенні щільності ушкоджених кардіоміоцитів, збільшенні їх діаметру, зменшенні периваскулярного набряку та ремоделюванні інтерстицію, а також збереженні будови гемокапілярів та венул. Найбільшу цитопротекторну активність, за даними морфометрії, відмічено при введенні МІГУ-1 – достовірне збільшення діаметру кардіоміоцитів в 1,36 рази та зменшення діаметру гемокапілярів в 1,94 рази порівняно з контрольною патологією ($P < 0,05$) (табл. 1).

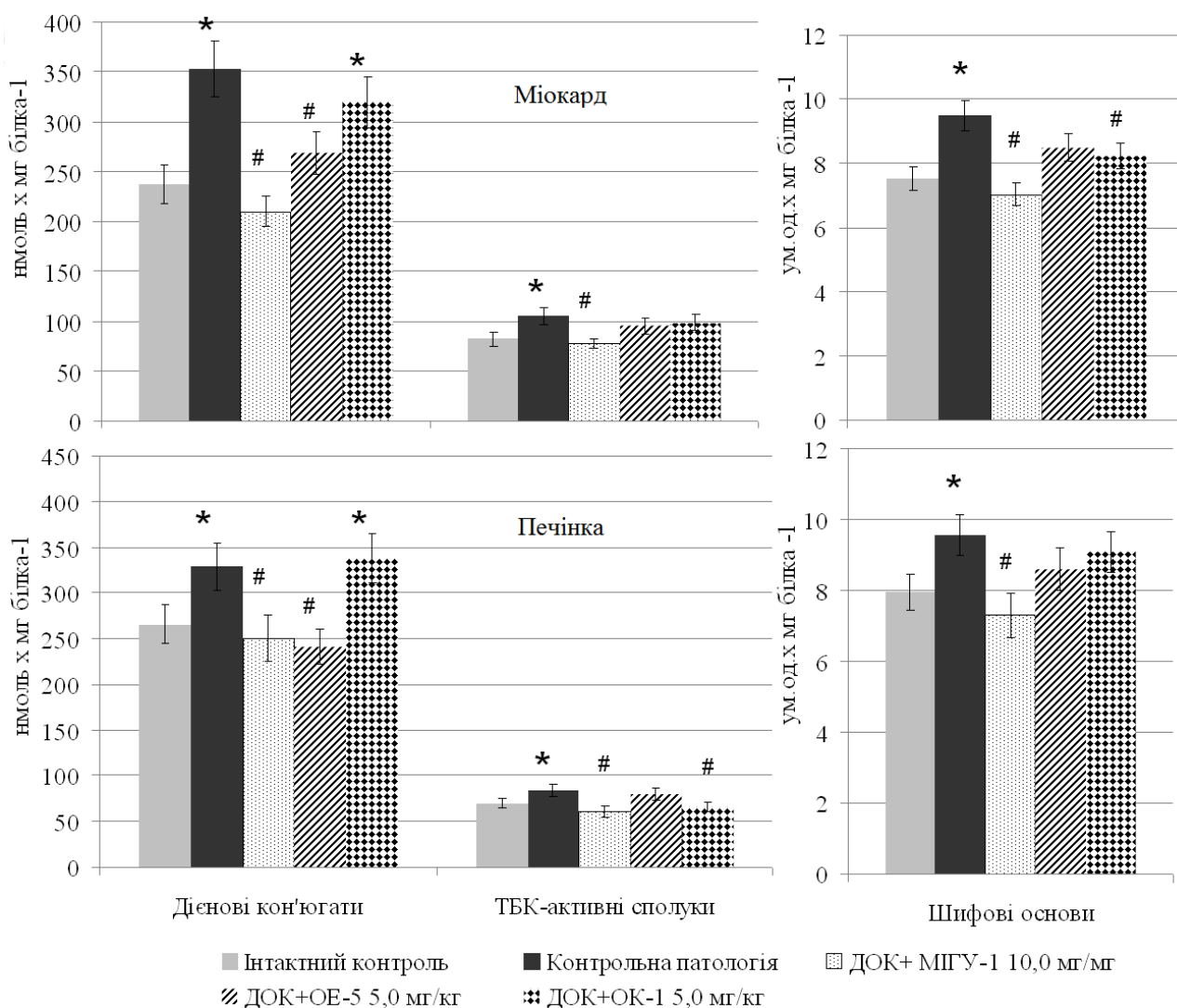


Рис. 2 Вплив БАР на процеси перекисного окиснення ліпідів міокарда та печінки щурів за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином ($M \pm m$; $n = 7$).

Примітка. ДОК – доксорубіцин; * – вірогідність щодо інтактного контролю ($P < 0,05$); # – вірогідність щодо групи тварин контрольної патології ($P < 0,05$); n – кількість тварин в групі.

Таблиця 1

Вплив досліджуваних БАР на морфометричні показники органів щурів за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином ($M \pm m$; $n = 7$)

Група тварин	Діаметр кардіоміоцитів, мкм	Діаметр гемокапілярів печінки, мкм
Інтактний контроль	$44,30 \pm 3,19$	$4,65 \pm 0,26$
Контрольна патологія	$29,60 \pm 1,13$ *	$10,80 \pm 0,56$ *
ДОК + МІГУ-1 10,0 мг/кг	$40,30 \pm 2,06$ #	$4,61 \pm 0,23$ #
ДОК + ОЕ-5 5,0 мг/кг	$36,80 \pm 2,03$ #	$5,57 \pm 0,28$ * #
ДОК + ОК-1 5,0 мг/кг	$33,60 \pm 3,31$ *	$7,54 \pm 0,61$ * #

Примітка. ДОК – доксорубіцин; * – вірогідність щодо інтактного контролю ($P < 0,05$); # – вірогідність щодо контрольної патології ($P < 0,05$); n – кількість тварин в групі.

Узагальнюючи результати скринінгу, для подальших поглиблених досліджень було обрано МІГУ-1, який більшою мірою, ніж інші, попереджав розвиток антрациклінової інтоксикації. Для вивчення ефективності МІГУ-1 при ХІД обрано три дози: 5,0; 10,0 та 30,0 мг/кг у порівняльному аспекті з нікотиною кислотою та тіотриазоліном.

Аналіз впливу МІГУ-1 на активність ключових ферментів антиоксидантної системи встановив, що найбільше вона відновлювалась при введенні МІГУ-1 35 діб в дозах 10,0 мг/кг (в міокарді активність СОД збільшувалась в 1,34 рази, КАТ – в 1,80 рази; в печінці: КАТ – в 1,28 рази порівняно з групою тварин з ХІД, $P<0,05$) та 30,0 мг/кг (в міокарді: СОД – в 1,32 рази, КАТ – в 1,49 рази; в печінці: СОД – в 1,38 рази, КАТ – в 1,39 рази порівняно з групою тварин з ХІД, $P<0,05$). При введенні МІГУ-1 в дозі 5,0 мг/кг спостерігали лише відновлення активності КАТ в печінці в 1,62 рази, в міокарді активність ферментів не змінювалась порівняно з групою тварин з ХІД. Нікотинова кислота (10,0 мг/кг) на фоні введення ДОК не виявляла позитивного впливу на активність означених ферментів як в міокарді, так і в печінці. Інший референс - препарат тіотриазолін в дозі 125,0 мг/кг підвищував активність відповідних ферментів в міокарді (СОД – в 1,30 рази, КАТ – в 1,27 рази ($P<0,05$)), проте в печінці дані показники не відрізнялись від показників групи контрольної патології ($P>0,05$) (рис. 3).

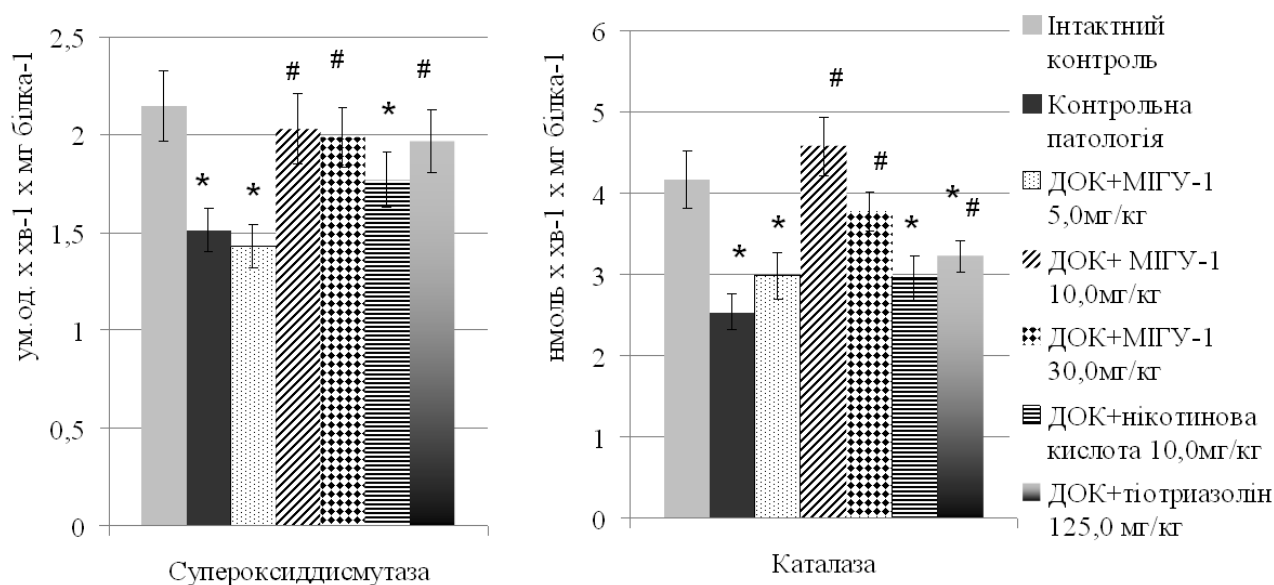


Рис. 3 Вплив МІГУ-1 на активність антиоксидантних ферментів в серці щурів за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. ДОК – доксорубіцин; * – вірогідність щодо інтактного контролю ($P<0,05$); # – вірогідність щодо групи тварин контрольної патології ($P<0,05$); n – кількість тварин в групі.

Розширивши отримані в скринінгу дані антиоксидантної активності МІГУ-1 за показниками ПОЛ, виявили дозозалежність його фармакологічної активності. МІГУ-1 в дозі 5,0 мг/кг був більш ефективним в тканині печінки,

знижуючи рівень ДК, ТБК-активних сполук та шифових основ в 1,45, 1,38 та 1,38 рази відповідно ($P < 0,05$), тоді як в дозі 30,0 мг/кг він знижував рівень продуктів ПОЛ в міокарді в 1,42, 1,37 та 1,33 рази відповідно ($P < 0,05$) порівняно з групою тварин контрольної патології ($P < 0,05$) при відсутності ефекту в печінці ($P > 0,05$). Найбільш оптимальну антиоксидантну активність з урахуванням показників обох органів МІГУ-1 виявляв в дозі 10,0 мг/кг (знижуючи рівень ДК, ТБК-активних сполук та шифових основ в міокарді – в 1,68, 1,36 та 1,35 рази відповідно; в печінці – в 1,31, 1,38, та 1,31 рази відповідно порівняно з групою тварин з ХІД, $P < 0,05$). Сама нікотинова кислота в якості референтного препарату в дозі 10,0 мг/кг достовірно не впливала на показники ПОЛ в тканинах обох органів за умов модельованої антрациклінової інтоксикації, а метаболітотропний препарат тіотриазолін достовірно попереджав розвиток процесу ПОЛ тільки в міокарді ($P < 0,05$), в печінці відповідні показники не відрізнялись від групи контрольної патології ($P > 0,05$).

Введення найбільш оптимальної за попередніми результатами дози МІГУ-1 відновлювало спектр ЖК ліпідів як міокарда, так і печінки експериментальних тварин до рівня інтактного контролю ($P < 0,05$), тоді як в групі контрольної патології спостерігали перерозподіл спектру ЖК ліпідів міокарда в бік збільшення насичених ЖК, переважно за рахунок пальмітинової ЖК з $(21,90 \pm 1,00) \%$ до $(25,50 \pm 1,00) \%$, $P < 0,05$, що могло бути результатом компенсаторного синтезу останньої в умовах порушення енергетичного обміну, оксидативного стресу та цілісності мембран за умов інтоксикації ДОК.

Продовжуючи вивчення фармакодинаміки МІГУ-1, встановили, що в серцевому м'язі за умов ХІД у пригніченні процесу окиснення білків активність комплексу в дозі 5,0 мг/кг була такою ж, як і ніацину в дозі 10,0 мг/кг на відміну від процесу ліпопероксидації, коли нікотинова кислота зовсім не проявляла своїх антиоксидантних властивостей. Так, в міокарді рівень альдо- та кетопохідних нейтрального та основного характеру знижувався у 1,23, 1,28 та 1,38 рази при введенні МІГУ-1 (5,0 мг/кг) та в 1,25, 1,32 та 1,38 рази при введенні нікотинової кислоти (10,0 мг/кг). На відміну від серцевого м'язу, в печінці фармакологічний ефект мав лише МІГУ-1 в дозі 10,0 мг/кг, тоді як показники ОМБ при введенні нікотинової кислоти в дозі 10,0 мг/кг не відрізнялись від показників групи тварин з ХІД ($P > 0,05$). Інший референтний препарат – тіотриазолін, в дозі 125,0 мг/кг знижував інтенсивність накопичення продуктів ОМБ як в міокарді, так і в печінці, але його ефективність була менш вираженою, ніж комплексу МІГУ-1 (рис. 4).

Резюмуючи результати досліджень енергетичного обміну серця і печінки тварин з експериментальною ХІД, встановили, що в обох органах МІГУ-1 ефективніше відновлював енергетичний обмін саме в дозі 10,0 мг/кг серед досліджуваних доз, в той же час нікотинова кислота в дозі 10,0 мг/кг була менш ефективною, ніж у вигляді біоліганду в комплексі з германієм. Динаміка показників балансу системи АТФ-АДФ-АМФ при введенні МІГУ-1 виявила перерозподіл макроергів в бік збільшення рівня АТФ порівняно з групою тварин з ХІД, що свідчило про активацію процесів окисного фосфорилування.

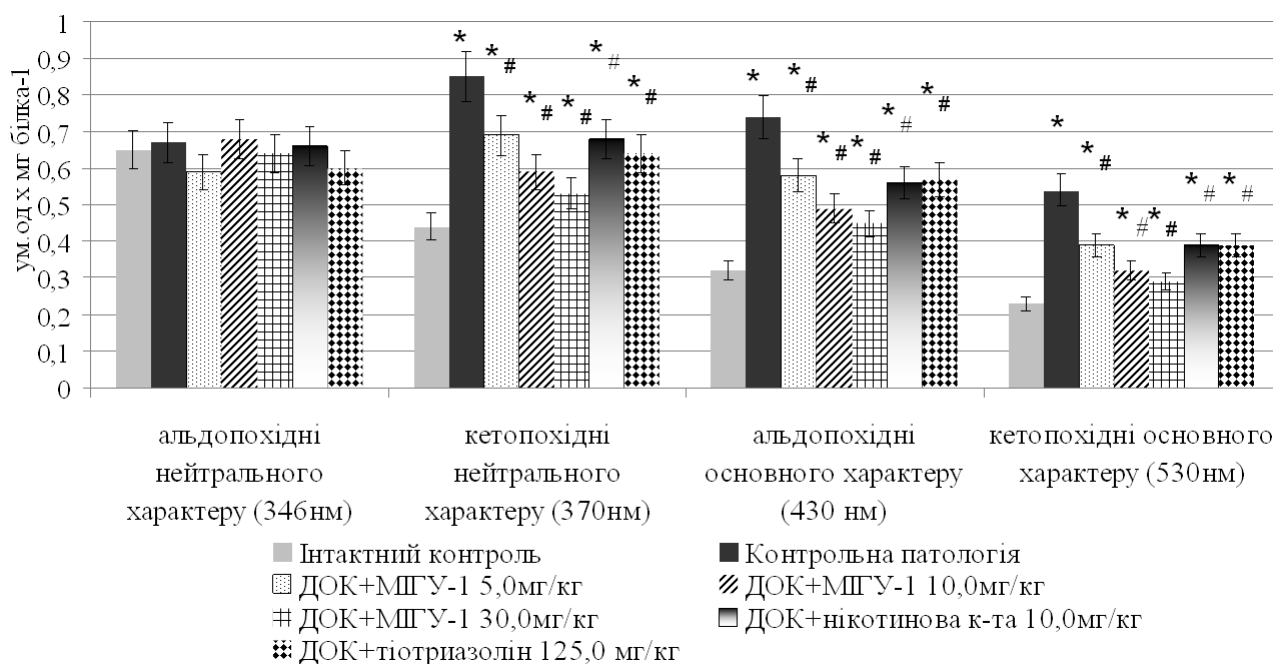


Рис. 4 Вплив координаційної сполуки германію з нікотиновою кислотою МІГУ-1 на вміст продуктів окисної модифікації білків у серці щурів за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином ($M \pm m$, $n = 7$).

Примітка. ДОК – доксорубіцин; * – вірогідність щодо інтактного контролю ($P < 0,05$); # – вірогідність щодо групи тварин контрольної патології ($P < 0,05$); n – кількість тварин в групі.

Ультраструктурне дослідження серця групи щурів інтактного контролю встановило, що міокард представлений кардіоміоцитами, стінка гемокapілярів суцільна та складається з ендотеліоцитів і перицитів. Скоротливі кардіоміоцити містили одне-два ядра в центральній частині клітини, а міофібрили розташовані по периферії і заповнювали провідну частину об'єму цитоплазми клітини; спостерігали значну кількість мітохондрій, між якими реєстрували поперечно та поздовжньо зрізані канальця Т-системи (рис. 5 А, Б). Електронномікроскопічне дослідження міокарда групи тварин контрольної патології підтвердило деструкцію скоротливих міофібрил, порушення ультраструктури та щільності саркомерів, різке збільшення їх довжини, набряк мітохондрій і деструкцію їх крист, набряк цитоплазми та редукції загальної щільності органел в кардіоміоцитах (рис. 5 В, Г). При застосуванні МІГУ-1 в дозі 10,0 мг/кг встановлено суттєве збереження саркомерів, збільшення щільності мітохондрій та міофібрил, що засвідчило виражений цитопротекторний вплив сполуки (рис. 6). Дані електронної мікроскопії печінки також встановили корегуючу дію МІГУ-1 в дозі 10,0 мг/кг на ультраструктуру даного органу за умов токсичної дії доксорубіцина.

Ще одним підтвердженням протекторної дії МІГУ-1 на міокард та печінку тварин при ХІД були результати дослідження активності маркерних ферментів сироватки крові. Так, при введенні комплексу германію з нікотиновою кислотою на фоні інтоксикації доксорубіцином спостерігали

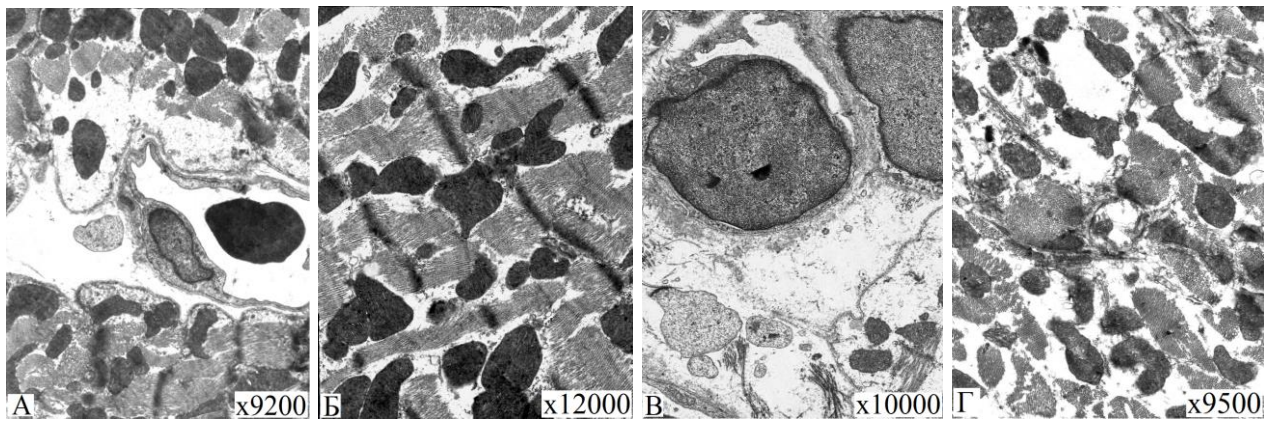


Рис. 5 Ультраструктура міокарда щурів групи інтактного контролю (А, Б) та контрольної патології, яким вводили доксорубіцин протягом п'яти тижнів (В, Г). Структурно неушкоджені кардіоміоцит і гемокапіляр (А). В кардіоміоцитах щільно локалізовані скоротливі міофібрили, інтактні системи саркомерів і мітохондрій (Б). Гемокапіляр із зменшеним просвітом, диспергований позаклітинний матрикс (В). Набряк цитоплазми, редукція скоротливих міофібрил (Г).

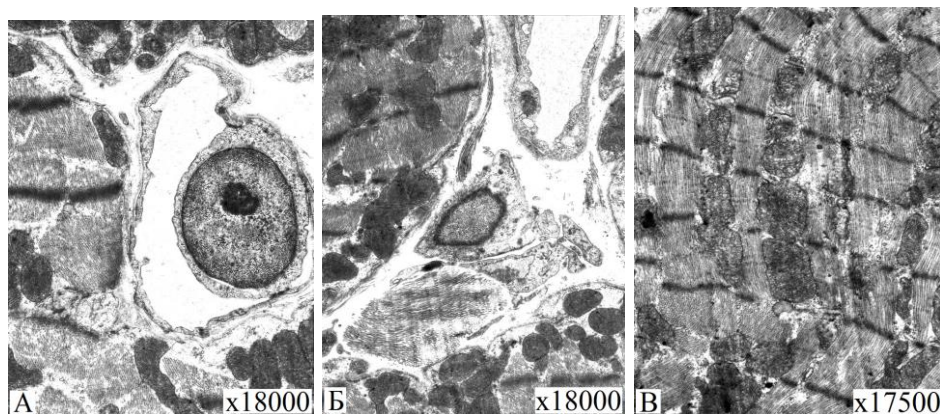


Рис. 6 Ультраструктура міокарда щурів при щоденному в/о введенні МІГУ-1 протягом 35 діб в дозі 10,0 мг/кг на фоні хронічної інтоксикації доксорубіцином. Функціонально активний ендотелій гемокапіляра (А), функціонально активний ендотелій гемокапіляра, відновлення ультраструктури міофібрил і мітохондрій (Б), регрес набряку цитоплазми кардіоміоцита, відновлення ультраструктури міофібрил і мітохондрій (В).

зниження активності АсАТ в 1,45 рази, АлАТ в 1,43 рази та ЛДГ в 1,42 рази порівняно з групою контрольної патології ($P < 0,05$). Вищенаведені показники достовірно не відрізнялись від групи інтактного контролю, що засвідчило виражені цитопротекторні властивості комплексу та збереження цілісності клітин серцевого м'язу та печінки за умов інтоксикації антрацикліновим антибіотиком. Референтний препарат нікотинава кислота достовірно знижувала тільки активність АлАТ в 1,16 рази порівняно з групою тварин без фармакологічної корекції (табл. 2).

Таблиця 2

Вплив МІГУ -1 на активність ферментів, індикаторів цитолізу в сироватці крові щурів, нкат/л ($M \pm m$, $n = 7$)

Група тварин	Активність		
	Аспартат-амінотрансфераза	Аланін-амінотрансфераза	Лактат-дегідрогеназа
Інтактний контроль	3946,03 $\pm$ 399,07	1416,71 $\pm$ 114,01	6689,19 $\pm$ 366,61
Контрольна патологія	5762,82 $\pm$ 508,98*	1898,95 $\pm$ 176,04 *	10367,55 $\pm$ 955,36*
ДОК + МІГУ-1 10,0 мг/кг	3963,89 $\pm$ 391,81 #	1331,46 $\pm$ 96,05 #	7287,41 $\pm$ 453,79 #
ДОК + нікотинова кислота 10,0 мг/кг	5593,74 $\pm$ 480,47 *	1634,14 $\pm$ 188,90 #	9080,15 $\pm$ 807,56 *

Примітка. ДОК – доксорубіцин; * – вірогідність щодо інтактного контролю ($P < 0,05$); # – вірогідність щодо контрольної патології ($P < 0,05$); n – кількість тварин в групі.

Отже, дані експериментальної хронічної інтоксикації антрацикліновим антибіотиком доксорубіцином засвідчили більшу вразливість міокарда до розвитку оксидативного стресу, ніж печінки, що в клінічних умовах супроводжується розвитком специфічної кардіоміопатії та порушенням скоротливої функції серця (R. Moudgil, 2016; D. L. Payne, 2017). Результати вперше проведеного дослідження впливу МІГУ-1 на АТФ-гідролазну активність фракції плазматичних мембран кардіоміоцитів виявили інгібуючий вплив БАР на активність Na^+ , K^+ -АТФази (на 76,3 %) та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази (на 34,8 %) порівняно з контролем ($P < 0,05$) (рис. 7), що може сприяти

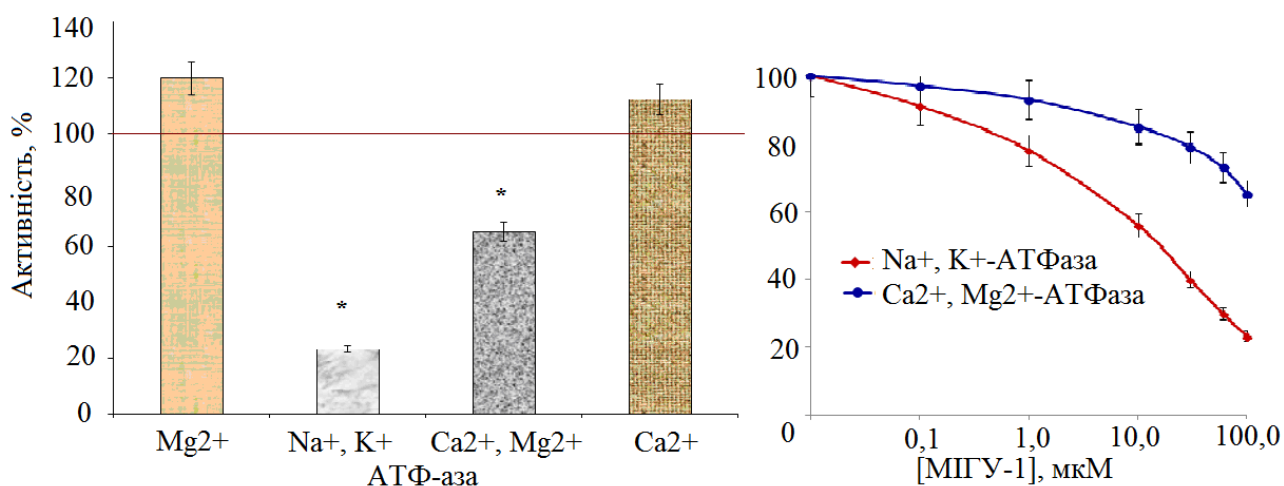


Рис. 7 Вплив МІГУ-1 на активність АТФ-гідролазних систем плазматичної мембрани кардіоміоцитів ($n = 7$).

Примітка. * – достовірно відносно контролю ($P < 0,05$); n – кількість тварин в групі.

збільшенню внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} та покращенню скоротливої функції міокарда.

Отримані в експерименті *in vivo* дані більшої антиоксидантної активності координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою, ніж самої нікотинової кислоти, можуть бути зумовлені енергіями вищої заповненої та нижчої вільної молекулярних орбіталей, перша з яких безпосередньо пов'язана із потенціалом іонізації та характеризує чутливість молекули до атаки електрофілами (у МІГУ-1 -8,57 eV, у нікотинової кислоти – -10,50 eV), друга - описує електронну спорідненість та характеризує чутливість молекули до атаки нуклеофілами (у МІГУ-1 -2,24 eV, у нікотинової кислоти — -0,88 eV). Механізм антиоксидантної активності МІГУ-1 можна пояснити також наявністю центрального структурного фрагменту Ge-N (рис. 8) в діапазоні 1,809-2,035 Å,

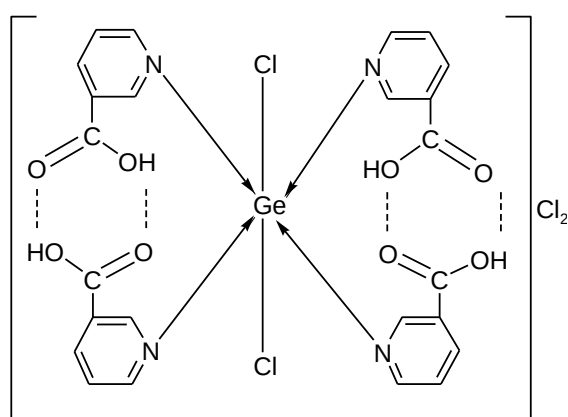


Рис. 8 Формула координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою МІГУ-1 — $[\text{Ge}(\text{Nic})_4\text{Cl}_2]\text{Cl}_2$

що відповідає доведеній іншими авторами СОД – імітуючій активності аналогічних ніацин-похідних комплексів з міддю (Т. Suksrichavalit, 2008).

ВИСНОВКИ

Специфічне токсичне ураження тканин, в першу чергу міокарда, антрацикліновими антибіотиками і його попередження за допомогою фармакологічних агентів залишається невирішеною проблемою в сучасній клінічній практиці, що актуалізує пошук та впровадження цитопротекторів з оптимальними фармакодинамічними параметрами для профілактики та корекції структурно-функціональних порушень за умов хронічної інтоксикації означеними протипухлинними засобами.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення актуального наукового завдання фармакології, що виявляється в пошуку нових перспективних засобів для фармакологічної корекції хронічної інтоксикації антрацикліновими антибіотиками. В результаті проведених досліджень експериментально обґрунтована доцільність створення препарату на основі координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою, яка має кардіо- і гепатопротекторну активність за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином.

1. Встановлено, що за умов щоденного в/о введення протягом 35 діб координаційна сполука германію з нікотиною кислотою МІГУ-1 виявила меншу токсичність (загибель 50 % тварин в дозі $93,2 \pm 8,4$ мг/кг), ніж координаційна сполука германію з нікотиною та оксиетилідендифосфоновими кислотами ОЕ-5 ($55,5 \pm 3,8$ мг/кг) та координаційна сполука германію з нікотиною та лимонною кислотами ОК-1 ($53,0 \pm 4,0$ мг/кг). Обрані скринінгові дози (1/10 токсичності за умов повторного введення для МІГУ-1 – 10,0 мг/кг, для ОЕ-5 та ОК-1 – 5,0 мг/кг) не викликали токсичних проявів за умов тривалості курсу введення доксорубіцину в експерименті.

2. Встановлено, що цитопротекторна активність МІГУ-1 перевищувала таку у ОЕ-5 та ОК-1 за пригніченням ступеню вираженості оксидативного стресу та підтверджувалась гістологічними дослідженнями. МІГУ-1 достовірно знижував в міокарді та печінці тварин рівень дієнових кон'югатів (в 1,68 та 1,31 рази відповідно), ТБК-активних сполук (в 1,36 та 1,38 рази) та шифових основ (в 1,35 та 1,31 рази) порівняно з групою тварин з хронічною інтоксикацією доксорубіцином. На структурному рівні це позначилося у зменшенні щільності ушкоджених кардіоміоцитів, збільшенні їх діаметру, зменшенні периваскулярного набряку та ремоделюванні інтерстицію, а також збереженні будови гемокапілярів та венул.

3. Вперше встановлено, що за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином МІГУ-1 виявляв найбільш виразні цитопротекторні властивості в міокарді експериментальних тварин в дозі 10,0 мг/кг, на що вказувало достовірне збільшення активності супероксиддисмутази (в 1,34 рази) та каталази (в 1,80 рази), пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів (достовірне зниження рівня дієнових кон'югатів в 1,68 рази, ТБК-активних сполук в 1,35 рази та шифових основ в 1,35 рази ($P < 0,05$)) та окиснення білків (достовірне зниження рівня кетопохідних нейтрального характеру в 1,44 рази, альдо- та кетопохідних основного характеру в 1,51 та 1,69 рази відповідно ($P < 0,05$)) порівняно з показниками групи тварин контрольної патології та відновлення спектру жирних кислот до показників контролю. Ефективність комплексу в дозі 30,0 мг/кг була більшою, ніж в дозі 5,0 мг/кг за показниками окисної модифікації білків. Виявлена у МІГУ-1 цитопротекторна активність перевищувала таку у препаратів порівняння нікотинової кислоти (за показниками активності каталази (на 28 %), рівнем ДК (на 42 %), шифових основ (на 18 %), кетопохідних нейтрального (на 28 %) та альдо- та кетопохідних основного характеру (на 24 % та 34 % відповідно)) та тіотриазоліну (достовірно за показниками активності каталази на 17 %, рівнем ДК на 37 %, рази, кетопохідних нейтрального та основного характеру – на 21 % та 34 % відповідно, $P < 0,05$).

4. МІГУ-1 проявляв гепатопротекторну активність за зниженням ступеню вираженості оксидативного стресу в печінці. Антиоксидантна активність сполуки в даному органі знижувалась із збільшенням досліджуваної дози ($5,0 > 10,0 > 30,0$ мг/кг). Виявлена у МІГУ-1 гепатопротекторна активність перевищувала таку у препаратів порівняння нікотинової кислоти (за показниками активності каталази (в 1,46 рази), рівнем ДК (в 1,29 рази), альдо-

та кетопохідних нейтрального (в 1,29 та 1,36 рази відповідно) та кетопохідних основного характеру (в 1,59 рази), $P < 0,05$) та тіотриазоліну.

5. Встановлено, що МІГУ-1 за умов хронічної інтоксикації доксорубіцином відновлював енергетичний баланс міокарда та печінки щурів в системі АТФ-АДФ-АМФ за рахунок збільшення вмісту АТФ. Серед досліджуваних доз (5,0, 10,0 та 30,0 мг/кг) найбільшу ефективність БАР спостерігали в дозі 10,0 мг/кг, яка перевищувала таку у референтного препарату нікотинової кислоти в аналогічній дозі (10,0 мг/кг). Цитопротекторний вплив МІГУ-1 в дозі 10,0 мг/кг підтверджено морфологічними дослідженнями обох органів (зменшення рівня перерозтягу саркомерів в 1,48 рази, збільшення діаметру гемокапілярів, кардіоміоцитів та площі їх ядер в 1,83, 1,24 та 1,47 рази відповідно, $P < 0,05$) та зниженням активності індикаторних ферментів сироватки крові АсАТ (в 1,45 рази), АлАТ (в 1,43 рази) та ЛДГ (в 1,42 рази) порівняно з групою тварин без фармакологічної корекції, що засвідчило збереження цілісності як кардіоміоцитів, так і гепатоцитів.

6. Вперше доведено, що МІГУ-1 ефективно інгібував Na^+ , K^+ -АТФазу (знижував активність на 76,3 %) та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазу (на 34,8 %) плазматичної мембрани клітин серцевого м'язу ($P < 0,05$), що може збільшувати внутрішньоклітинну концентрацію Ca^{2+} та покращувати скоротливу функцію міокарда за умов антрациклінової інтоксикації. Квантово-хімічний аналіз молекул МІГУ-1 та нікотинової кислоти підтвердив збільшення антиоксидантних властивостей комплексу даними енергії нижчої вільної молекулярної орбіталі (-2,24 eV та -0,88 eV) та вищої заповненої молекулярної орбіталі (-8,57 eV та -10,50 eV), а також можливою СОД - імітуючою активністю за рахунок наявності центрального фрагменту Ge-N з довжинами зв'язків в діапазоні 1,809-2,035 Å.

7. Отримані результати дають підставу вважати доцільним подальше доклінічне вивчення оригінального вітчизняного цитопротекторного препарату за умов хіміотерапії на основі координаційних сполук германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1, ОЕ-5 та ОК-1) та робить перспективним цілеспрямований синтез нових речовин цього ряду із вказаною дією.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Violetta Narokha, Iryna Nizhenkovska & Olena Kuznetsova. Antioxidant effect of nicotinic acid on experimental doxorubicin-induced chronic heart failure. *Current Topics in Pharmacology*. 2014. Vol.18. P.105-111. (Особистий внесок – проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, оформлення статті до друку).

2. Вплив нікотинової кислоти та комплексу германію з нікотиновою кислотою (МІГУ-1) на жирнокислотний склад ліпідів кардіоміоцитів і гепатоцитів щурів з експериментальною хронічною серцевою недостатністю / Ніженковська І. В., Нароха В. П., Кузнецова О. В., Брюзгіна Т. С., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е., Чебаненко О. А. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2015. № 1 (42). С.68-75. (Особистий внесок - моделювання

патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення статті).

3. Ніженковська І. В., Нароха В. П., Савосько С. І. Дослідження гепатопротекторних властивостей комплексної сполуки германію з нікотиною кислотою при інтоксикації доксорубіцином. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 5(40). С.33-36. (Особистий внесок – аналіз літератури, моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, підготовка статті).

4. Ніженковська І. В., Нароха В. П., Бакун А. В. Механізми розвитку кардіотоксичності за умов використання антрациклінових антибіотиків та аналіз механізмів кардіопротекторної дії лікарських засобів та сполук різних хімічних груп. *ScienceRise*. 2016. № 4/4 (21). С.42-53. (Особистий внесок - аналіз джерел літератури, аналіз та узагальнення результатів, написання статті).

5. Вивчення антиоксидантних властивостей комплексу германію з нікотиною кислотою (МІГУ-1) за умов експериментальної хронічної серцевої недостатності / Ніженковська І. В., Сейфулліна І. Й., Нароха В. П., Марцинко О. Е., Чебаненко О. А. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 2 (48). С.74-79. (Особистий внесок - моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, проведення біохімічних досліджень, статистична обробка, аналіз результатів, оформлення статті до друку).

6. Violetta P. Narokha, Iryna V. Nizhenkovska, Olena V. Kuznetsova, Olga V. Afanasenko. Analysis of coordination compound of germanium with nicotinic acid as potential cardioprotector. *Macedonian Pharmaceutical Bulletin*. 2016. Vol. 62. P.83-84. (Особистий внесок - моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, оформлення до друку).

7. Ниженковская И. В., Нароха В. П. Влияние координационного соединения германия с никотиновой кислотой на энергетический гомеостаз сердца и печени крыс в условиях хронической интоксикации доксорубицином. *Рецепт*. 2016. Т.19, №2. С.174-181. (Особистий внесок - моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, написання та оформлення статті до друку).

8. Нароха В. П. The effect of the germanium complex with nicotinic acid on oxidative modification of cardiac and hepatic proteins in the experimental chronic intoxication with doxorubicin in rats. *Клінічна фармація*. 2016. Т. 20, №4. С.35-38.

9. Ниженковская И. В., Нароха В. П. Влияние разных доз координационного соединения германия с никотиновой кислотой на окислительную модификацию белков сердца крыс в условиях хронической интоксикации доксорубицином. *Вестник «Здоровье и образование в XXI веке»*. 2016. Т. 18 (10). С.38-39. (Особистий внесок - моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, узагальнення результатів, написання та оформлення статті до друку).

10. Нароха В. П. Вплив різних доз координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою на процеси перекисного окиснення ліпідів та

порівняльний вплив координаційних сполук германію з різними біолігандами на жирнокислотний спектр ліпідів кардіоміоцитів при хронічній інтоксикації доксорубіцином. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2016. №2 (95). С.86-91.

11. Спосіб оцінки ефективності корекції токсичної дії доксорубіцину в експерименті / Ніженковська І. В., Нароха В. П., Брюзгіна Т. С., Сейфулліна І. Й., Марцинко О. Е., Чабаненко О. А. *Пат. на корисну модель № 93021 Україна*, МПК (2014) G01N 33/68.. НМУ. – № 201404635; заявл. 30.04.2014, опубл. 10.09.2014, Бюл. №17. 4с. (Особистий внесок - аналіз джерел літератури, моделювання патології, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка, аналіз та узагальнення результатів, підготовка патенту).

12. Нароха В. П., Бакун А. В. Вплив комплексу МІГУ-1 на енергетичний обмін гепатоцитів при експериментальній хронічній серцевій недостатності. International Scientific & Practical Conference dedicated to the World Health Day. Київ, 7-8 квітня 2015р. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2015. Спец. вип. №1 (85). С.227-228.

13. Нароха В. П., Бакун А. В. Новий комплекс германію з нікотиновою кислотою як потенційний кардіопротектор. Annual young medical scientists conference – AYMSConf. 15-16 жовтня 2015. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2015. Спец. вип. №3 (90). С.94.

14. Narokha V. P., Bakun A. V. Myocardial prooxidant-antioxidant homeostasis in chronic intoxication with doxorubicin and administration of germanium with nicotinic acid. *Health and social sciences: abstract book of International student conference*. 16 March 2016. Riga. 2016. P.380.

15. Ниженковская И. В., Нароха В. П. Перспективы использования новых координационных соединений германия с биолигандами как кардиопротекторных препаратов. *XXIII Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»*: сборник материалов. Москва. 11-12 апреля 2016. М.: Видокс, 2016. С.195-196.

16. Ніженковська І. В., Нароха В. П. Кардіопротекторні властивості нових координаційних сполук германію за умов експериментального оксидативного стресу. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матеріали VIII Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 13-16 вересня 2016. НФаУ, 2016. Т.2. С.87.

17. Ніженковська І. В., Нароха В. П., Паламарчук В. В. Фармакотерапія токсичного ураження печінки координаційною сполукою германію з нікотиновою кислотою. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали I Міжнародної науково-практичної конференції. 30-31 березня 2017. Х.: НФаУ, 2017. Т.2. С.235.

18. Pharmacological activity of new complex compounds of germanium / Bakun A., Nizhenkovskaya I., Narokha V., Mitchenko A. 6th FIP Pharmaceutical Sciences World Congress in Stockholm. Sweden, 14-21 may 2017. <https://www.fip.org/abstracts?page=abstracts&action=item&item=18055>

19. Ніженковська І. В., Нароха В. П. Можливий механізм дії германійорганічних комплексів. *V Національний з'їзд фармакологів України*. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017: збірник тез доповідей, 2017. С.99-100.

20. Нароха В. П. Влияние ниациногерманата на активность АТФ-гидролаз плазмолеммы кардиомиоцитов. *Студенческая медицинская наука XXI века: сборник XVII международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых*. Витебск, 15-16 ноября 2017. Ч.1. С.99-100.

АНОТАЦІЯ

Нароха В. П. Експериментальне дослідження фармакодинаміки координаційних сполук германію при антрацикліновій інтоксикації. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2018.

Дисертація присвячена експериментальному обґрунтуванню доцільності використання координаційних сполук германію як цитопротекторних засобів за умов хронічної інтоксикації антрациклінового генезу.

Вперше показано, що координаційна сполука германію з нікотиною кислотою МІГУ-1 на фоні інтоксикації антрацикліновим антибіотиком доксорубіцином знижує ступінь розвитку оксидативного стресу, про що свідчить збільшення активності ферментів антиоксидантної системи, пригнічення процесів перекисного окиснення ліпідів та білків, відновлення спектру жирних кислот та енергетичного балансу тканин міокарда та печінки. Фармакологічні властивості МІГУ-1 перевищували такі у референтних препаратів тіотриазоліну та нікотинової кислоти. Ефективність сполуки підтверджено ультраструктурними дослідженнями обох органів та нормалізацією рівня індикаторних ферментів сироватки крові тварин. Вперше показано зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази та Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФази плазмолемми кардіоміоцитів під впливом МІГУ-1, що може сприяти збільшенню концентрації внутрішньоклітинного кальцію та покращенню скоротливої функції міокарда. Збільшення фармакологічної активності координаційної сполуки германію з нікотиною кислотою в порівнянні з вільною нікотиною кислотою підтверджено результатами квантово-хімічного аналізу.

Ключові слова: нікотинова кислота, германій, доксорубіцин, кардіопротекція, гепатопротекція, експериментальні тварини.

АННОТАЦИЯ

Нароха В. П. Экспериментальное исследование фармакодинамики координационных соединений германия при антрациклиновой интоксикации. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 «Фармакология». – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2018.

Диссертация посвящена экспериментальному обоснованию целесообразности использования координационных соединений германия как цитопротекторных средств в условиях хронической интоксикации антрациклинового генеза.

Впервые показано, что координационное соединение германия с никотиновой кислотой МИГУ-1 на фоне интоксикации антрациклиновым антибиотиком доксорубицином снижает степень развития оксидативного стресса, о чем свидетельствует увеличение активности ферментов антиоксидантной системы, угнетение процессов перекисного окисления липидов и белков, восстановление спектра жирных кислот и энергетического баланса тканей миокарда и печени. Фармакологические свойства МИГУ-1 превышали таковые у референтных препаратов тиотриазолина и никотиновой кислоты. Эффективность соединения подтверждена ультраструктурным исследованием обоих органов и нормализацией уровня индикаторных ферментов сыворотки крови животных. Впервые доказано снижение активности Na^+ , K^+ -АТФазы и Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФазы плазмолеммы кардиомиоцитов под влиянием МИГУ-1, что может способствовать увеличению концентрации внутриклеточного кальция и улучшению сократительной функции миокарда. Увеличение фармакологической активности координационного соединения германия с никотиновой кислотой в сравнении со свободной никотиновой кислотой подтверждено результатами квантово-химического анализа.

Ключевые слова: никотиновая кислота, германий, доксорубицин, кардиопротекция, гепатопротекция, экспериментальные животные.

SUMMARY

Narokha V. P. Experimental study of the pharmacodynamics of germanium coordination compounds in case of anthracycline intoxication. – As a manuscript.

The thesis for a candidate degree in pharmaceutical sciences in speciality 14.03.05 «Pharmacology». – National University of Pharmacy of Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2018.

The degree work is devoted to the study of cytoprotective effects of the coordination compound of germanium with nicotinic acid in chronic intoxication with an anthracycline antibiotic, doxorubicin.

The main aim of our research was to search for ways to rectify violations found, as well as to protect myocardium and liver from doxorubicin toxic effects. The fact that doxorubicin toxic effects are associated with superoxide radical formation is an important argument in favour of justification for using antioxidants as agents preventing side effects. Cardio- and hepatoprotective activity of the coordination compound of germanium with niacin (MIGU-1) was realized by attenuation of oxidative stress caused by chronic intoxication with doxorubicin.

The analysis of the effects of MIGU-1 on the activity of the key enzymes of the antioxidant system showed that it recovered most in chronic intoxication with doxorubicin when MIGU-1 was administered at doses of 10.0 mg/kg (in the myocardium - 1.34 times the activity of superoxide dismutase (SOD) and 1.80 times the activity of catalase (CAT); in the liver – 1.28 times the activity of CAT compared to the group of animals with chronic intoxication with doxorubicin) and 30.0 mg/kg (in the myocardium – 1.32 times the activity of SOD, 1.49 times the activity of CAT; in the liver – 1.38 times the activity of SOD, 1.39 times the activity of CAT compared to the group of animals with chronic intoxication with doxorubicin, $P < 0.05$). When MIGU-1 was administered at a dose of 5.0 mg/kg, the recovery of CAT activity in the liver was 1.62 times; enzyme activity in the myocardium did not change. It was found that MIGU-1 showed the highest antioxidant activity at a dose of 10.0 mg/kg (reduced the level of diene conjugates, TBA-active compounds and Schiff bases in the myocardium by 1.68, 1.36, and 1.35 times, respectively; in the liver – by 1.31, 1.38, and 1.31 times, respectively, compared to the group of animals with CID, $P < 0.05$), whereas nicotinic acid at a dose of 10.0 mg/kg did not significantly affect the LPO in the myocardial and liver tissues in anthracycline intoxication. The dose of 5.0 mg/kg MIGU-1 was more effective in this regard only in the liver tissue (reduced the level of diene conjugates, TBA-active compounds and Schiff bases by 1.45, 1.38 and 1.38 times respectively, compared to the group of animals with CID, $P < 0.05$). On the contrary, a dose of 30.0 mg/kg MIGU-1 reduced the LPO product levels in the myocardium (reduced the levels of diene conjugates, TBA-active compounds and Schiff bases by 1.42, 1.37 and 1.33 times respectively, compared to the group of animals with control pathology, $P < 0.05$) with no effect in the liver compared to the group of animals without pharmacological correction.

Changes in the balance of the ATP-ADP-AMP system under the influence of MIGU-1 indicated an activation of oxidative phosphorylation processes (there was a decrease in the AMP levels, compared to the control group of animals, and macroerg redistribution towards ATP). The results of the electron microscopic examination confirmed the toxic effects of doxorubicin on cardiomyocytes. MIGU-1 administration (10.0 mg/kg) after doxorubicin intoxication contributed to the significant sarcomere preservation and increase in the density of mitochondria and myofibrils. The results of the morphometric analysis also showed a decrease in the sarcomere length, which confirmed their preservation, and a decrease in the diameter of the mitochondria compared to the control group of animals, which indicated a marked cytoprotective effect of MIGU-1 on cardiomyocytes and confirmed the results of biochemical studies. Data of electron microscopy of the liver also showed corrective action of MIGU-1 on the ultrastructure of this organ in the toxic effect of

the anthracycline antibiotic. Another confirmation of the protective effect of MIGU-1 was the result of the study of the activity of the main serum marker enzymes (aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase). The mentioned parameters did not differ from the group of intact controls ($P>0.05$), which confirmed evident pharmacotherapeutic properties of this combination in intoxication with an anthracycline antibiotic and preservation of cell integrity of the cardiac muscle and liver. MIGU-1 had more evident effects in the myocardium compared to the liver, which is probably due to the lower hepatocyte sensitivity to the toxic effects of doxorubicin and specific cardiotoxicity of anthracyclines. Initially observed pharmacological properties of MIGU-1 were superior to those of reference drugs, thiotriazolin and nicotinic acid. A decrease in Na^+ , K^+ -ATPase and Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATPase activity of the cardiomyocyte plasmalemma under the influence of MIGU-1, which may increase intracellular calcium concentrations and improve myocardial contractile function, was proven for the first time. An increase in the pharmacological activity of nicotinic acid as a bioligand with germanium was confirmed by the quantum-chemical analysis of MIGU-1. The results provide a rationale for further studies of MIGU-1 as a potential cytoprotector in chemotherapy.

Key words: nicotinic acid, germanium, doxorubicin, cardioprotection, hepatoprotection, experimental animals.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
БАР – біологічно активна речовина;
в/о – внутрішньоочеревинно;
ДК – дієнові кон'югати;
ДОК – доксорубіцин;
ЖК – жирні кислоти;
КАТ – каталаза;
ЛДГ – лактатдегідрогеназа;
МІГУ-1 – координаційна сполука германію з нікотиною кислотою;
ОЕ-5 – координаційна сполука германію з нікотиною та оксиетилідендифосфоновими кислотами;
ОК-1 – координаційна сполука германію з нікотиною та лимонною кислотами;
ОМБ – окисна модифікація білків;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
СОД – супероксиддисмутаза;
ХІД – хронічна інтоксикація доксорубіцином.