**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ**

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»**

**ЛІТВІНЕНКО Дмитро Федорович**

УДК: 615.21/.26:546.289(043.3/.5)

**ПОШУК ПОТЕНЦІЙНОГО АНТИГІПОКСАНТА СЕРЕД НОВИХ КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК ГЕРМАНІЮ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ФАРМАКОКІНЕТИКИ**

14.03.05 – фармакологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

**Київ – 2020**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»,м. Київ

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник:** | заслужений діяч науки і техніки України,доктор медичних наук, професор **ЛУК’ЯНЧУК Віктор Дмитрович**, Міжнародний класичний університет імені Пилипа Орлика, м. Миколаїв, професор кафедри фармації. |
| **Офіційні опоненти:** | заслужений діяч науки і техніки України,доктор медичних наук, професор **НІЖЕНКОВСЬКА Ірина Володимирівна,** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, завідувач кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії;доктор біологічних наук **ЛАРІОНОВ Віталій Борисович,** ДУ **«**Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України», м. Одеса, завідувач лабораторії фізико-хімічної фармакології відділу медичної хімії. |

Захист відбудеться «29» вересня 2020 р. о 11.00 годині, на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка, 14.

З дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка, 14.

Автореферат розісланий « \_\_\_ » \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2020 р.

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01,**

**кандидат біологічних наук І. В. Данова**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

Однією з найнебезпечніших форм екзогенної гіпоксії є гіпоксична гіпоксія в поєднанні з прогресуючою гіперкапнією, яка виникає при низькому парціальному тиску кисню та високій концентрації діоксиду вуглецю в повітрі, що вдихається. Така форма гіпоксії розвивається зазвичай у замкнутому невентильованому просторі та більш відома як гіпоксія замкнутого простору (ГЗП). Остання миттєво формується за умов різних екстремальних ситуацій, коли порушується штатна робота системи забезпечення киснем у герметичному об’єкті, де вміст кисню стрімко знижується, а концентрація вуглекислого газу збільшується (Pittman R. N., 2011; Katschinski D. M., 2013; Грачёв В. И., Севрюков И. Т., 2018).

Відомо, що мозок людини дуже чутливий до зниженого вмісту кисню в крові, що призводить не тільки до істотного погіршення пам’яті, здатності до навчання й працездатності, а й до порушення в роботі слухового аналізатора, рухової активності, ураження сітківки ока тощо (Дубинкин В. А., Тушков А. А., 2013; Wenger R. H., Kurtcuoglu V., Scholz C. C., 2015). Якщо ж відбувається значне зниження вмісту кисню в крові, то в нейронах формуються грубі морфо-функціональні зміни незворотнього характеру (Busl K. M., Greer D. M., 2010). Тож і розлади діяльності мозку та інших життєво важливих систем, що пов’язані з гіпоксією, спостерігаються не тільки при різних захворюваннях людини, але також трапляються при здійсненні різного профілю професійної діяльності.

Пошук та розробка нових високоефективних антигіпоксантів, як і раніше триває, оскільки наразі в реєстрі лікарських засобів відсутні саме такі, що здатні суттєвим чином коригувати та попереджати розвиток і наслідки впливу гострого гіпоксичного синдрому, що розвивається саме у замкнутому просторі (Лукьянова Л. Д., Кирова Ю. И., Сукоян Г. В., 2011).

В останнє десятиріччя особлива увага фармакологів та хіміків-синтетиків зосереджена на всебічному вивченні координаційних сполук германію з різними біолігандами, що відрізняються різноманітністю фармакодинамічних ефектів, прийнятним фармакокінетичним профілем та відносною нешкідливістю (Кресюн В. Й., Сейфулліна І. Й, Годован В. В., 2011; Лук’янчук В. Д. та ін., 2012; Лук’янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Шебалдова К. О., 2013). Як перспективні, щодо ефективності та безпечності, серед сполук з антигіпоксичною активністю особливу зацікавленість викликають гетерометалічні комплекси германію та 3d-металів (цинк, мідь, марганець) з лимонною та винною кислотами, цілеспрямований синтез яких був уперше здійснений на кафедрі загальної хімії та полімерів Одеського державного університету імені І. І. Мечникова під керівництвом проф. І. Й.Сейфулліної[[1]](#footnote-2). Теоретичним під**ґ**рунтям актуальності вивчення таких сполук слугують особливості їх електронної будови, завдяки чому вони здатні в умовах гіпоксії підвищувати активність енергосинтезуючих процесів електрон-транспортної дихальної системи мітохондрій (Goodman S., 1987; Лукевиц Э. Я. и др., 1990).

Загальновідомо, що на доклінічному етапі дослідження будь-якого майбутнього

лікарського засобу, окрім вивчення токсичних та фармакодинамічних властивостей, обов’язковим є встановлення фармакокінетичного профілю. Інформація щодо фармакокінетики, отриманої на доклінічному етапі, є обов’язковою передумовою для подальшого вивчення потенційного лікарського засобу в клінічній практиці.

Усе вищезазначене слугувало теоретичним обґрунтуванням доцільності пошуку нового засобу з антигіпоксантними властивостями в ряду вперше синтезованих гетерометалічних комплексів германію та дослідження його фармакокінетичних параметрів за умов ГЗП.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертацію виконано як фрагмент науково-дослідної роботи відділу фармакокінетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» у межах теми «Вивчення залежності між параметрами фармакокінетики, токсикометрії та хімічною будовою оригінальних координаційних сполук германію з різними металами та біолігандами» (№ держреєстрації 0116U006004, 2016-2018 рр.).

**Мета і задачі дослідження.** *Мета роботи* – пошук високоефективного антигіпоксанта серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з різними металами й біолігандами, вивчення його токсико- та фармакометричних параметрів і фармакокінетичного профілю.

Для досягнення зазначеної мети вирішувались такі *задачі:*

1. У серії порівняльних токсикометричних досліджень визначити ступінь гострої токсичності та небезпеки сполук, що вивчаються, а також провести екстраполяцію експериментальних даних на людину.

2. Провести первинний фармакологічний скринінг потенціальних антигіпоксантів серед оригінальних координаційних сполук германію та 3d-металів з лимонною та винною кислотами на моделі гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією та визначити сполуку-лідера, порівнюючи з референтним препаратом.

3. Із залученням методів математичного планування розробити оптимальний режим дозування найбільш активної сполуки за умов гострої форми гіпоксичного синдрому, що моделюється.

4. Визначити фармакокінетичні параметри, що характеризують процес абсорбції сполуки-лідера у «здорових» тварин та на моделі ГЗП.

5. Дослідити фармакокінетику сполуки-лідера на етапі її розподілу з центральної камери в периферичні, також у життєво важливі органи за умов експерименту, що вивчається.

6. Провести порівняльну оцінку фармакокінетичних параметрівсполуки-лідера, що характеризують процес елімінації в «здорових» та «гіпоксичних» тварин.

*Об’єкт дослідження* – пошук антигіпоксантів серед оригінальних координаційних сполук германію.

*Предмет дослідження*– протигіпоксичні властивості, параметри токсичності, дозовий режим та фармакокінетика, сполуки-лідера: манган(II) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-4.

*Методи дослідження* – комплексне застосування фармакологічних, токсикологічних, математичних та статистичних методів дослідження.

**Наукова новизна одержаних результатів.**У роботі вперше теоретично обґрунтовано та експериментально доведено високу в порівнянні з референтним препаратом армадіном (2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат), протигіпоксичну активність оригінальної координаційної сполуки на основі германію та винної кислоти з марганцем (манган(II) тартратогерманат(IV)) на моделі ГЗП.

За результатами токсикометричних досліджень отримані нові відомості щодо безпечності парентерального застосування ОКАГЕРМ-4 у тварин та людини (за даними екстраполяції параметрів гострої токсичності та небезпеки виникнення гострого смертельного отруєння).

Уперше на підставі даних експериментально-математичних дослідів розроблено режим дозування ОКАГЕРМ-4 у якості засобу лікарської профілактики гіпоксичного ураження за умов замкнутого простору.

Уперше проведено комплексний порівняльний фармакокінетичний аналіз протигіпоксичної дії потенційного антигіпоксанта, що вивчається на етапах його абсорбції, розподілу по органам і тканинам та елімінації. Отримані фармакокінетичні параметри ОКАГЕРМ-4 у нормі та при формі гіпоксичного синдрому, що моделюється, сприяють поглибленню існуючих уявлень про можливі механізми реалізації протигіпоксичної активності координаційної сполуки германію, яка включає мікроелемент та біоліганд.

Результати всебічного комплексного дослідження ОКАГЕРМ-4 можуть слугувати теоретичною та експериментальною основою для проведення подальшого доклінічного вивчення та розробки дизайну клінічного випробування як засобу фармакопрофілактики виникнення та формування гострих киснедефіцитних станів різного генезу.

**Практичне значення отриманих результатів.** Отримані результати вказують на перспективність подальшого поглибленого фармакологічного дослідження ОКАГЕРМ-4 як оригінального високоефективного та безпечного лікарського засобу з виразною протигіпоксичною активністю для профілактики та лікування наслідків гострої гіпоксії, що виникає в замкнутому невентильованому просторі.

Отримані в роботі дані можуть слугувати для хіміків-синтетиків науковим обґрунтуванням цілеспрямованого синтезу нових координаційних сполук германію як потенційних антигіпоксантів, а також можуть бути експериментальним підґрунтям для оптимізації клінічних досліджень ОКАГЕРМ-4. Надалі за позитивних клінічних результатів ОКАГЕРМ-4 має бути включеним до переліку лікарських засобів системи надання екстреної та невідкладної медичної допомоги при аваріях, катастрофах та й у військовій медицині.

За результатами роботи отримано деклараційний патент України на корисну модель № 110014 (2016) «Застосування германійвмісної координаційної сполуки манган тартратогерманат (ІV) з біологічно активним органічним лігандом винною кислотою, що має виражений антигіпоксичний ефект».

Основні результати роботи впроваджені в педагогічний процес на кафедрах: фармакології, клінічної фармакології та клінічної фармації, а також інтенсивної терапії, невідкладних станів та анестезіології Луганського державного медичного університету, фармакології Національного фармацевтичного університету,фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, а також у роботу науково-дослідних установ: лабораторії фізико-хімічної фармакології ДЗ «Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України» (м. Одеса), відділу «Інститут експериментальної токсикології і медико-біологічних досліджень» ДП «Науковий центр превентивної токсикології і харчової та хімічної безпеки імені академіка Л. І. Медведя МОЗ України» (м. Київ), ТОВ «КДЦ «ФАРМБІОТЕСТ» (м. Рубіжне).

**Особистий внесок дисертанта.** Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук та проаналізував наукову літературу за темою дисертації. Спільно з науковим керівником були визначені мета й завдання дослідження, напрямки, об’єм і методичні підходи. Самостійно написано огляд літератури, виконано експериментальну частину роботи, проведено аналіз, узагальнення та статистичну обробку отриманих результатів, їх оформлення у вигляді таблиць, діаграм та рисунків, сформульовані висновки, підготовлені до публікації статті, що віддзеркалюють основні положення дисертації та її текст. Співавтори опублікованих робіт надавали консультативну допомогу з методичних та теоретичних питань.

Кількісне визначення ОКАГЕРМ-4 в крові та органах щурів проведено на базі біоаналітичної лабораторії ТОВ «КДЦ «Фармбіотест» (м. Рубіжне) при методичній та консультативній допомозі її співробітників.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати роботи доповідались та обговорювались на: VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини» (Вінниця, 9-10 листопада 2015 р.); Міжнародній науково-практичній конференції «Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів» (Львів, 22-23 квітня 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров’я» (Запоріжжя, 23-24 березня 2017 р.); Підсумковій LX науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 14 червня 2017 р.); Конгресі анестезіологівУкраїни (Київ, 14-16 вересня 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій» (Харків, 12-13 квітня 2018 р.); Підсумковій LXII науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 13 червня 2019 р.); Міжнародній науковій конференції «Технології, інструменти та стратегії реалізації наукових досліджень» (Херсон, 20 березня 2020 р.);Підсумковій LXІIІ науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (Тернопіль, 12 червня 2020 р.).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 17 наукових праць, із них 6 статейу фахових виданнях у галузі медицини, рекомендованих МОН України (4 статті – у фахових виданнях України, 2 статті опубліковані за кордоном), 10 тез доповідей на наукових форумах різних рівнів, а також отримано 1 патент України на корисну модель.

**Структура дисертації та обсяг.** Дисертаційна робота викладена на 224 сторінках друкованого тексту (148 стор. основного тексту) та складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення отриманих результатів», висновків, списку використаних джерел літератури та додатків.Список використаних джерел містить 368 найменувань, з них 257 кирилицею, 111 латиницею. Робота проілюстрована 35 рисунками, 21 таблицею.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження виконані в лабораторії відділу фармакокінетики ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» (далі ДУ «ІФТ НАМН України»)відповідно до вимог комісії з біоетики (протокол 01/10/18 від 30.10.2018 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), а також згідно з методичними рекомендаціями ДП «Державний експертний центр МОЗ України» (Стефанов А. В., 2002; Лук’янчук В. Д. та ін., 2002).

Досліди виконані на 312 білих статевозрілих нелінійних щурах обох статей масою 160-200 г. У експерименті використовувалися тварини після проходження карантину за умов експериментально-біологічної клініки ДУ «ІФТ НАМН України» протягом 14 днів.

У порівняльних токсикометричних дослідженнях використовувались шість оригінальних координаційних сполук германію (КСГ) з різними есенціальними мікроелементами (цинк, мідь, марганець) та біолігандами (лимонна та винна кислоти) під відповідними лабораторними шифрами: манган(ІІ) біс(цитрато) германат(IV) – ОКАГЕРМ-1; купрум(ІІ) біс(цитрато)германат(IV) – ОКАГЕРМ-2; цинк біс(цитрато)германат(IV) – ОКАГЕРМ-3; манган(ІІ) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-4; купрум(ІІ) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-5; цинк(ІІ) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-6.

Сполуки, що досліджувались, вводили одноразово внутрішньоочеревинно в різних дозах у вигляді 1% водного розчину. Розрахунок параметрів гострої токсичності (LD16, LD50, LD84, LD99) проводили методом пробіт-аналізу (Прозоровский В. Б., 1962) у програмі для статистичної обробки біомедичних досліджень BioStatPro 6.

Для всебічної токсикометричної характеристики ОКАГЕРМ-4 визначили наступні показники небезпеки (Лукьянчук В. Д., 1998): величина зворотна середньосмертельній дозі (абсолютна токсичність) – 1/LD50; діапазон смертельних доз (зона гострої токсичної дії) – LD84/LD16; функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) – S, яку розраховували за формулою: ; сумарнийпоказник токсичності – 1/(LD50·S); тангенс кута нахилу кривої летальності – tgα; інтегральний параметр токсичності – 1/LD50·tgα. Екстраполяцію параметрів токсичності на людину здійснювали з використанням констант біологічної активності (Рыболовьев Ю. Р., Рыболовьев Р. С., 1979).

Експериментальною моделлю слугував патологічний процес, що розвивається у тварин за умов замкнутого простору. Моделювання гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією проводили за методом (Сосин Д. В., 2015).

У скринінговому експерименті всі досліджувані сполуки вводили внутрішньоочеревинно в вигляді 1% водного розчину в дозах 20 мг/кг, 50 мг/кг та 100 мг/кг залежно від речовини за 40 хв до розміщення тварин у гермокамері. При виборі дозового режиму застосування координаційних сполук германію використовували попередні дані токсикометрії та результати багаторічних досліджень співробітників кафедри фармакології ЛугДМУ (Чадова Л. В., 2005; Кравец Д. С., Лукьянчук В. Д., Рисухина Н. В., 2008; Крилова О. В. та ін., 2009;).

У якості референтного препарату використовували відомий сучасний вітчизняний антигіпоксант армадін (2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат) («Лекхім-Харків», Україна) (Островский Н. Н., 2019).

Фармакопрофілактичну ефективність КСГ, що досліджувались, оцінювали за перебігом клінічної картини гострої гіпоксії з гіперкапнією в порівнянні з контрольною (гіпоксія без лікування) і референтною (гіпоксія + армадін) групами тварин та тривалістю життя щурів у гермооб’ємі. При цьому розраховували коефіцієнт протигіпоксичного захисту (К3) та відносний показник збільшення часу життя щурів (П) за формулами (Лук’янчук В. Д. та ін., 2002).

При розробці режиму дозування (визначення оптимальної дози та часу введення) ОКАГЕРМ-4 вводили внутрішньоочеревинно у вигляді 1% водного розчину в різних дозах: 0 мг/кг (контроль); 50 мг/кг; 100 мг/кг; 150 мг/кг за 40 хвилин до розміщення тварин у гермокамері. Ефективність КСГ, що досліджувалась, оцінювали за середньою тривалістю життя щурів за умов ГЗП. Отримані при цьому експериментальні дані інтерполювали на багаточлени Лагранжа та Ньютона, а також на функції виду a(1-e-bx), a(b-e-cx), квадратичну та обернену квадратичну функції з розрахунком їх коефіцієнтів кореляції та стандартних похибок (Калашников А. Л. и др., 2016).

У подальших серіях експерименту тваринам дослідної групи фармакопрофілактику екстремального стану, що моделюється, проводили шляхом внутрішньоочеревинного введення ОКАГЕРМ-4 у експериментально обґрунтованому дозовому режимі: 96,8 мг/кг у вигляді 1% водного розчину за 40 хв до початку моделювання ГЗП.

Належна увага в роботі була приділена вивченню фармакокінетичних параметрів ОКАГЕРМ-4, що було проведено згідно з рекомендаціями ДП «Державний експертний центр МОЗ України» (Даниленко В. С., 2002; Головенко М. Я. та ін., 1995) шляхом визначення мікрокількостей германію в тканинах тварин без патології та у тварин, що отримували досліджувану КСГ. В якості біосубстратів використовували сироватку крові, а також гомогенати печінки, серця, головного мозку, легень та нирок. Для кількісного визначення германію використовували валідований метод кількісного визначення германію в біологічній матриці зі спектрофотометричним детектуванням (Кресюн В. Й. та ін., 2001). Детектування проводили на спектрофотометрі SmartSpec ™ PlusSpectrophotometer (Bio-Rad Laboratories, Inc, США).

Забір біоматеріалу для визначення фармакокінетичного профілю ОКАГЕРМ-4 здійснювали в динаміці: через 45 хв, 3, 6 та 24 години з моменту одноразового внутрішньоочеревинного введення сполуки. Проводили порівняльний аналіз наступних фармакокінетичних показників ОКАГЕРМ-4 на етапах абсорбції: константа швидкості абсорбції (К01, год-1), період напівабсорбції (t1/2α, год), максимальна концентрація препарату в крові (Cmax,мкг/мл), час досягнення максимальної концентрації в крові (tmax, год)); розподілу ОКАГЕРМ-4 з центральної камери в периферичні (період напіврозподілу (t1/2, год), константа швидкості прямого масопереносу (K12, год-1), період зворотного масопереносу (K21, год-1), уявний об’єм розподілу в центральній камері (Vd, мл/кг), площа під фармакокінетичною кривою (AUC, год·мкг/мл)); розподілу ОКАГЕРМ-4 в органи (максимальна концентрація препарату в органі (Cmax, мкг/мл), час досягнення максимальної концентрації в органі (tmax, год), константа швидкості прямого масопереносу (Кij, год-1), константа швидкості зворотного масопереносу (Кji, год-1), площа під фармакокінетичною кривою (AUC, год·мкг/мл), середній час утримання в органі (MRT, год)); елімінації ОКАГЕРМ-4 з центральної камери (період напіввиведення (t1/2β, год), константа швидкості елімінації (К10, год-1), середній час перебування в організмі (MRT, год) та загальний кліренс (Clt, мл/год/кг).

Параметри фармакокінетики ОКАГЕРМ-4 обчислювали за допомогою комп’ютерної програми PhoenixWinNonLin 8.1 (PharsightCorp., Certara L.P., США).

Усі одиниці вимірювання, кількісні показники й параметри, що використані при виконанні даної роботи, наведені відповідно до МСО (Липперт Г., 1980). Статистичний аналіз розрахованих фармакокінетичних параметрів виконано за допомогою програми StatSoftStatistica 10. Вибір статистичного критерію для порівняння фармакокінетичних параметрів у різних станах виконано за результатами перевірки нормальності розподілу за допомогою критерію Шапіро-Уілка. Рівень значимості для цього критерію обрано 0,01. Якщо порівнювані параметри підкорюються нормальному закону розподілу, то для порівняння було застосовано t-критерій Стьюдента для незалежних вибірок. У іншому разі для порівняння був використаний непараметричний критерій Манна-Уітні. Рівень значимості для обох критеріїв обрано 0,05. Для порівняння трьох та більше незалежних груп за показником «Тривалість життя» для різних сполук використано дисперсійний аналіз. Оскільки за результатами порівняння дисперсій методом Левена дисперсії в групах відрізняються, було застосовано непараметричний однофакторний дисперсійний аналіз Краскела-Уолліса. Рівень значимості прийнято 0,05 (Гланц С., 1998; Кузенко М. С., 2017).

**Результати досліджень та їх обговорення.** *Результати порівняльної токсикометрії гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот* показали, що залежно від наявності в їх структурі того чи іншого есенціального мікроелементу або біолігандів у вигляді лимонної чи винної кислот мають досить суттєві відмінності за всіма параметрами токсикометрії (див. табл. 1).

Таблиця 1

**Параметри гострої токсичності КСГ (мг/кг), що вивчаються, для білих щурів при однократному внутрішньоочеревинному введенні (n=6)**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Сполука | Стат. показник | LD16 | LD50 | LD84 | LD99 |
| ОКАГЕРМ-1 | M±m | 478,62 | 582,53±42,42 | 686,43 | 738,39 |
| ОКАГЕРМ-2 | M±m | 34,09 | 85,08±29,44 | 136,06 | 161,55 |
| ОКАГЕРМ-3 | M±m | 112,26 | 170,00±33,33 | 227,73 | 256,60 |
| ОКАГЕРМ-4 | M±m | 269,70 | 551,81±94,04 | 833,91 | 974,97 |
| ОКАГЕРМ-5 | M±m | 4,52 | 52,84±19,73 | 101,16 | 125,31 |
| ОКАГЕРМ-6 | M±m | 241,11 | 327,72±50,00 | 414,32 | 457,62 |

Узагальнювальний аналіз параметрів токсикометрії сполук, що вивчаються, дозволяє дійти висновку, що токсикофором у ряду гетерометалічних комплексів з різними біолігандами варто вважати саме метал, а не кислоти, які входять до цих молекул. До того ж, уже на цьому етапі досліджень є підстави стверджувати, що найбільш «токсичним» мікроелементом є мідь (ІІ), найменш – марганець (ІІ), а цинк (ІІ) займає проміжну позицію. Отримані результати дають змогу сформувати сполуки за ступенем їх гострої токсичності (LD50) у наступному ряду: ОКАГЕРМ-5 > ОКАГЕРМ-2 > ОКАГЕРМ-3 > ОКАГЕРМ-6 > ОКАГЕРМ-1 > ОКАГЕРМ-4.

Аналіз та узагальнення результатів спостереження клінічних проявів гострого отруєння в динаміці КСГ з різними біолігандами, що вивчаються, дають змогу дійти висновку, що в основі токсикодинаміки цих сполук лежить їх здатність викликати депримуючу дію на функціональну активність ЦНС. Це реалізується, головним чином, зниженням рухливості тварин, а також їх вельми виразною сонливістю та зниженням здатності швидко реагувати на зовнішні подразники різного характеру. На підставі цього можна говорити, що більшість сполук, які вивчаються, та особливо ОКАГЕРМ-4 за клінічними ознаками дуже близькі до класичного антигіпоксанта – гама-оксимасляної кислоти (ГОМК або натрію оксибутират).

Отримані дані щодо класу та ступеню токсичності гетерометалічних комплексів германію, що вивчаються, за умов їх однократного внутрішньоочеревинного введення для щурів представлені в таблиці 2, з якої чітко видно, що всі сполуки відносяться до III та IV класів небезпеки, тобто до помірно токсичних або малотоксичних речовин. При цьому варто зазначити, що дві сполуки відрізняються найбільшою величиною LD50. Це ОКАГЕРМ-1 та ОКАГЕРМ-4, які є саме марганецьвмісними.

Таблиця 2

**Величина LD50 (мг/кг), клас та ступінь токсичності КСГ, що вивчаються,
за умов експерименту**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Сполука | LD50 | Клас токсичності | Ступінь токсичності |
| ОКАГЕРМ-1 | 582,53 | IV | малотоксичні |
| ОКАГЕРМ-2 | 85,08 | III | помірно токсичні |
| ОКАГЕРМ-3 | 170,00 | IV | малотоксичні |
| ОКАГЕРМ-4 | 551,81 | IV | малотоксичні |
| ОКАГЕРМ-5 | 52,84 | III | помірно токсичні |
| ОКАГЕРМ-6 | 327,72 | IV | малотоксичні |

Екстраполяція отриманих експериментальних даних параметрів небезпеки ОКАГЕРМ-4 для білих щурів на людину зі залученням констант біологічної активності (див. табл. 3.) показує, що параметри для людини практично повністю відображають токсикометричний дизайн сполуки, що досліджується, у експерименті на тваринах, тобто підтверджують характер безпеки ОКАГЕРМ-4 для теплокровних.

Таблиця 3

**Показники потенційної та реальної небезпеки виникнення гострого смертельного отруєння ОКАГЕРМ-4 у тварин та людини**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1/LD50, кг/мг | LD84/LD16 | tgα | 1/LD50·tgα, кг/мг | S | 1/(LD50·S), кг/мг |
| Білі щури |
| 1,81·10-3 | 3,09 | 3,69 | 6,79·10-3 | 1,78 | 3,22·10-3 |
| Людина |
| 1,15·10-2 | 3,09 | 3,69 | 4,25·10-2 | 1,78 | 1,47·10-2 |

Установлено, що отримані в даному фрагменті роботи експериментальні розрахункові токсикометричні дані 6 оригінальних гетерометалічних комплексів германію з різними біолігандами, які були піддані порівняльному аналізу, дозволяють дійти висновку, що за показниками гострої токсичності та небезпеки всі координаційні сполуки германію, до складу яких входять різні перехідні метали (мідь, цинк, марганець) та різні біоліганди (лимонна, винна кислоти) при одноразовому внутрішньоочеревинному введенні є малотоксичними та помірно токсичними для ссавців, зокрема й для людини.

Отже, отримані дані можуть слугувати експериментальним обґрунтуванням для подальшого, більш поглибленого вивчення фармакодинаміки та фармакокінетики ОКАГЕРМ-4, а також є підставою для хіміків-синтетиків щодо синтезу нових більш активних та безпечних координаційних сполук германію, до складу яких входять есенціальні перехідні метали та біоліганди на основі природних органічних кислот.

*Порівняльний аналіз даних отриманих ускринінговому дослідженні* потенційних антигіпоксантів серед уперше синтезованих координаційних сполук германію з різними металами та біолігандами свідчить,що за умов гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією найбільш значне збільшення тривалості життя тварин реалізується при введенні ОКАГЕРМ-4. Результати дослідів однозначно вказують, що саме під дією цієї КСГ відбувається вірогідне (Р<0,05) збільшення тривалості життя щурів у замкнутому просторі в порівнянні з контрольною та референтною серіями (див. табл. 4).

Таблиця 4

**Протигіпоксична активність координаційних сполук германію на моделі ГЗП (n=6)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Сполука | Доза, мг/кг | П, % | Кз | Р1 | Р2 | Р3 |
| Контроль | – | – | – | – | – |  |
| Армадін (референт) | 100 | 16,59 | 1,17 | >0,05 | – |  |
| ОКАГЕРМ-1 | 100 | 36,59 | 1,33 | <0,05 | <0,05 | 0,0002 |
| Контроль | – | – | – | – | – |  |
| Армадін (референт) | 100 | 35,62 | 1,36 | <0,05 | – |  |
| ОКАГЕРМ-2 | 50 | 29,86 | 1.30 | <0,05 | >0,05 | 0,0002 |
| ОКАГЕРМ-5 | 20 | 42,47 | 1,43 | <0,05 | >0,05 | 0,0002 |
| ОКАГЕРМ-6 | 100 | 49,78 | 1,49 | <0,05 | >0,05 | 0,0002 |
| Контроль | – | – | – | – | – |  |
| Армадін (референт) | 100 | 22,18 | 1,22 | >0,05 | – |  |
| ОКАГЕРМ-3 | 50 | 3,64 | 1,04 | >0,05 | >0,05 | 0,0002 |
| Контроль | – | – | – | – | – |  |
| Армадін (референт) | 100 | 11,71 | 1,12 | <0,05 | – |  |
| ОКАГЕРМ-4 | 100 | 52,93 | 1,53 | <0,05 | <0,05 | 0,0002 |

Примітки: П – відносний показник збільшення тривалості життя;К3 – коефіцієнт протигіпоксичного захисту; Р1 – у порівнянні зконтрольною групою; Р2– у порівнянні з референтною групою.Р3 – у порівнянні з іншими сполуками.

Наступний етап роботи присвячено фармакометричним дослідженням ОКАГЕРМ-4 з розробки його дозового режиму за умов ГЗП. На підставі експериментальних даних отримана таблична залежність між дозою ОКАГЕРМ-4 та тривалістю життя тварин у гермооб’ємі (див. табл. 5) з якої видно, що вибраний нами діапазон доз потенційного антигіпоксанта є таким, що дозволяє реєструвати максимум ефективності сполуки.

Таблиця 5

**Залежність тривалості життя тварин від введених доз ОКАГЕРМ-4 за умов ГЗП(n=6)**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Доза ОКАГЕРМ-4, мг/кг | Тривалість життя в гермооб’ємі, хв | P\* |
| 0 (контроль) | 37,17±1,89 | – |
| 50 | 41,67±2,25 | >0,05 |
| 100 | 65,44±2,98 | <0,05 |
| 150 | 37,83±1,74 | >0,05 |

Примітка.\* P – дано в порівнянні з контролем, тобто без введення сполуки.

Експериментально доведено, що максимальна тривалість життя щурів у гермооб’ємі забезпечується при внутрішньоочеревинному застосуванні ОКАГЕРМ-4 у діапазоні доз від 50 до 100 мг/кг.

Надалі ми вважали за доцільне отримані в експерименті дані описати за допомогою математичних моделей. При виборі структури моделі, мали на меті визначення мінімальної дози ОКАГЕРМ-4, яка забезпечувала б максимальне виживання тварин за умов ГЗП. При цьому особливий інтерес становило безпосередньо визначити оптимальну дозу введення досліджуваної германійорганічної сполуки. Задля цієї мети нами були проаналізовані отримані математичні залежності й обчислені оптимальні дози, що відповідні кожній моделі (див. табл. 6).

Таблиця 6

**Оптимальні дози ОКАГЕРМ-4 і розрахунковий час життя тварин у гермооб’ємі**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| № з/п | Математична модель | S | r | Оптимальна доза, мг/кг | Розрахунковий час життя, хв. |
| 1 | *T=*33,64*+*0*,*53*d*–3,21×10-3*d*2 | 15,80 | 0,73 | 82,6 | 55,75 |
| 2 | $$T =57,23e\frac{-(d-86,69)^{2}}{2×80,09^{2}}$$ | 14,92 | 0,77 | 86,9 | 57,23 |
| 3 | *T=*48,15*+*1**7**,43cos(415,69*d*– 4,03) | 0,00 | 1,00 | 96,8 | 65,57 |

Примітки: T – розрахункова тривалість життя (хв); d – доза ОКАГЕРМ-4 (мг/кг); *e* – основа натурального логарифма; S – стандартна похибка; r – коефіцієнт кореляції.

З огляду на те, що за величинами S (стандартна похибка) та r (коефіцієнт кореляції) третя функція (див. табл. 6) є максимально наближеною до експериментальних даних, варто наголосити, що оптимальною дозою ОКАГЕРМ-4 є 96,8 мг/кг за умов її введення за 40 хв до початку гіпоксичного пошкодження. Реалізація такого режиму дозування вивчаємого потенційного антигіпоксанта забезпечує розрахункову тривалість життя за умов ГЗП 65,57 хв.

На підставі отриманих даних можна зробити експериментально обґрунтований висновок, згідно з яким застосовані нами методичні підходи з визначення оригінального режиму дозування ОКАГЕРМ-4 із залученням класичних прийомів математичного моделювання дозволяють досягти високого ступеня інформативності за мінімальних витрат часу на виконання такого роду фармакометричних досліджень та суттєвої економії кількості лабораторних тварин.

Підбиваючи підсумки, варто наголосити, що експериментально встановлений режим дозування потенційного антигіпоксанта, що вивчається, слугував базовим фармакометричним параметром, на якому ґрунтувалось проведення подальших фармакокінетичних досліджень у нормі та на моделі ГЗП.

*Ключовою ланкою роботи були комплексні порівняльні фармакокінетичні дослідження ОКАГЕРМ-4 у нормі та за умов перенесеної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією.* На підставі фармакокінетичних кривих, які побудовані в координатах «концентрація-час» проведено розрахунок низки показників, що характеризують швидкість та ступінь абсорбції ОКАГЕРМ-4 в організмі щурів без патології та з ГЗП (див. табл. 7).

Таблиця 7

**Фармакокінетичні параметри (M±m), що характеризують процес абсорбції ОКАГЕРМ-4 у нормі та за умов ГПЗ при внутрішньоочеревинному введенні щурам у дозі 96,8 мг/кг (n=6)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Параметр | Позначення, розмірність | Група тварин | Р\* |
| Норма | ГЗП |
| Константа швидкості абсорбції | К01, год-1 | 0,82±0,05 | 0,80±0,05 | >0,05 |
| Період напівабсорбції | t1/2α,год | 0,85±0,07 | 0,87±0,05 | >0,05 |
| Час досягнення максимальної концентрації | tmax, год | 1,47±0,04 | 1,52±0,06 | >0,05 |
| Максимальна концентрація  | Сmax, мкг/мл | 7,54±0,29 | 7,13±0,20 | <0,05 |

Примітки: 1. \*Р – у порівнянні зі здоровими тваринами (норма). 2. Оскільки згідно з критерієм перевірки нормальності розподілу Шапіро-Уілка всі наведені параметри підпорядковуються нормальному закону розподілу, для порівняння був використаний t-критерій Стьюдента. Аналіз даних виконано в програмі StatSoftStatistica 10.

Установлено, що за умов ГЗП відбувається вірогідне (Р<0,05) зниження максимальної концентрації сполуки в крові в тварин, котрі зазнали впливу гострої гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією, що прогресує. Це пов’язано з неминучими змінами системної гемодинаміки й мікроциркуляції при формі гіпоксичного синдрому, що моделюється. Даний факт може позначитися на ступені реалізації протигіпоксичної дії ОКАГЕРМ-4, що буде вимагати надалі корегування його режиму дозування ОКАГЕРМ-4.

У зв’язку з цим, у подальшому було доцільним визначення фармакокінетичних параметрів, що характеризують етап розподілу потенційного антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 у нормі та за умов гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією.

Розраховані фармакокінетичні параметри, що характеризують процес розподілу потенційного антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 з центральної камери (кров) у периферичні камери, які відрізняються інтенсивним кровопостачанням: головний мозок, серце, нирки, легені, печінка за умов експерименту, що досліджується, представлені в табл. 8.

Варто зазначити, що дані, які представлені в табл. 8, слугували основою для створення рядів з органів тварин обох груп порівняння по кожному фармакокінетичному параметру, що досліджувались.

Відповідно до величин параметра tmax ОКАГЕРМ-4 побудовані наступні ряди: у нормі [печінка> нирки> головний мозок> легені> серце]; ГЗП [нирки> головний мозок> печінка> легені> серце].

Згідно з величинами Cmax ОКАГЕРМ-4 ряди виглядають таким чином: у нормі [нирки> серце> печінка>легені> головний мозок]; ГЗП [нирки> серце> легені> головний мозок> печінка].

За величинами показника Кij була побудована наступна послідовність: у нормі [серце> легені> печінка> нирки> головний мозок]; ГЗП [серце> легені> головний мозок>печінка=нирки].



За величинами показника Кji, розподіл представлений таким чином: у нормі [серце> легені> печінка> нирки = головний мозок]; ГЗП [серце> легені> нирки> головний мозок> печінка].

За даними показника AUC ОКАГЕРМ-4 органи, що вивчаються можна розташувати таким чином у нормі: [нирки> серце> печінка> головний мозок> легені]; ГЗП [нирки> серце> легені> головний мозок > печінка].

Насамкінець, за даними показників MRT складається така картина: у нормі [нирки> печінка> головний мозок > серце > легені]; ГЗП [нирки > печінка > головний мозок>серце=легені].

З огляду на отримані в експерименті дані, варто наголосити, що значна частка ОКАГЕРМ-4 розподіляється в найбільш чутливі до гіпоксії життєво важливі органи: головний мозок, серце, легені, нирки та печінку. Це дозволяє стверджувати, що антигіпоксант, який вивчається, може у максимальному об’ємі відповідати сучасним вимогам, що ставляться до антигіпоксантів, оскільки ОКАГЕРМ-4 здатний завдяки його хімічній будові здійснювати комплексну органопротекцію, буде запобігати формуванню синдрому поліорганної недостатності, що розвивається при гіпоксичному ураженні.

Фінальним етапом фармакокінетики є елімінація, яка реалізується завдяки видаленню лікарських засобів та їх метаболітів з організму в результаті біотрансформації та екскреції. На підставі кривих у напівлогарифмічних координатах було виконано розрахунок низки кількісних фармакокінетичних параметрів, які характеризують інтенсивність процесу елімінації ОКАГЕРМ-4 з організму щурів без патології та з формою гіпоксії, що моделюється. Розраховані нами фармакокінетичні параметри, які характеризують інтенсивність процесу елімінації в обох порівнюваних групах, представлені в табл. 9.

Таблиця 9

**Фармакокінетичні параметри (M ± m), що характеризують процес елімінації ОКАГЕРМ-4 з центральної камери в нормі та за умов ГЗП при його внутрішньоочеревинному введенніщурам у дозі 96,8 мг/кг (n=6)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Параметр | Позначка, розмірність | Група тварин | Р\* |
| Норма | Гіпоксія |
| Константа швидкості елімінації | К10, год-1 | 0,26±0,05 | 0,23±0,03 | >0,05 |
| Періоднапіввиведення | t1/2β, год | 11,33±4,90 | 11,83±3,16 | >0,05 |
| Загальний кліренс | Clt,мл/год/кг | 1,37±0,28 | 1,42±0,18 | >0,05 |
| Середній час утримання | MRT, год | 7,30±0,89 | 7,36±0,55 | >0,05 |

Примітки: див. табл. 7.

Узагальнення отриманих результатів цієї частини порівняльних фармакокінетичних досліджень дозволяє зазначити, що незалежно від наявності в організмі гіпоксичних змін, процес елімінації ОКАГЕРМ-4 з центральної камери відбувається приблизно однаково. Отже, щодо даних, отриманих у порівняльному фармакокінетичному експерименті з вивчення всіх етапів проходження майбутнього антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 у організмі щурів у нормі та після перенесеної ГЗП, вважаємо за потрібне наголосити, що кінетику цієї КСГ гіпоксія на тлі прогресуючої гіперкапнії здатна модифікувати, що доведено при порівнянні параметрів, котрі вивчались в обох групах тварин. Ці дані є експериментальним обґрунтуванням шляхів реалізації режиму дозування ОКАГЕРМ-4 на етапі надання екстреної допомоги постраждалим з гострим перебігом гіпоксичного синдрому, сформованого у замкнутого просторі.

**ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі вперше наведено та теоретично обґрунтовано нове експериментальне вирішення науково-практичної задачі сучасної фармакології, яка полягає в доцільності застосування нової координаційної сполуки германію – манган(II) тартратогерманат(IV) як високоефективного протигіпоксичного засобу фармакопрофілактики гострої гіпоксії, що розвивається в замкнутому просторі на тлі прогресуючої гіперкапнії.

1. За результатами порівняльних токсикометричних досліджень уперше синтезованих гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів (цинк, мідь, марганець) з аніонами лимонної та винної кислот за умов їх одноразового внутрішньоперитонеального введення встановлено, що згідно з показниками гострої токсичності та небезпеки (LD16, LD50, LD84, LD99), а також з величиною кута нахилу «кривої токсичності», найменш токсичною серед сполук, що вивчаються, є манган(II) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-4 (LD50=551,81 мг/кг), яка відноситься до IV класу (малотоксичних) речовин. За такими параметрами небезпеки як: 1/LD50, LD84/LD16, S, 1/LD50·S, tgα, 1/LD50·tgα ОКАГЕРМ-4 не представляє потенційної та реальної загрози виникнення смертельного отруєння. При екстраполяції експериментальних токсикометричних даних на людину з використанням констант біологічної активності доведена відносна нешкідливість ОКАГЕРМ-4 не тільки для теплокровних тварин, але й для людини.

2. Скринінговими дослідженнями на моделі ГЗП показано, що з 6 оригінальних координаційних сполук германію з біолігандами найбільш високою фармакопрофілактичною активністю володіє ОКАГЕРМ-4, на що вказує збільшення відсотка виживаності тварин у замкнутому просторі в порівнянні з контрольною (ГЗП без препарату) на 51,9% і референтною (ГЗП + армадін) на 36,9% групами. За величиною коефіцієнта протигіпоксичного захисту (КЗ), ОКАГЕРМ-4 також володіє більш вираженою антигіпоксичною активністю (КЗ=1,53), ніж референтний препарат армадін (КЗ=1,12). Застосування ОКАГЕРМ-4 зумовлює сприятливий перебіг клінічної картини гострої гіпоксичної гіпоксії на тлі прогресуючої гіперкапнії.

3. У окремій серії фармакометричних досліджень з розробки оптимального режиму дозування ОКАГЕРМ-4 із залученням математичного моделювання за допомогою комп’ютерного інтерполювання експериментальних даних на багаточлени Лагранжа та Ньютона з подальшим розрахунком максимуму досліджуваної функції встановлено, що найбільш висока фармакопрофілактична ефективність потенційного антигіпоксанта реалізується за умов його внутрішньоперитонеального введення щурам у дозі 96,8 мг/кг за 40 хв до початку гіпоксичного пошкодження.

4. Комплексний порівняльний фармакокінетичний аналіз етапу абсорбції ОКАГЕРМ-4 у нормі та за умов гіпоксичного синдрому, що моделюється, показав, що в постгіпоксичному періоді відбувається вірогідне (P<0,05) зниження (на 5,4%) величини Сmax сполуки, що вивчається, у крові тварин. За іншими показниками, котрі характеризують процес всмоктування ОКАГЕРМ-4 у системний кровоток (tmax, t1/2α, К01) вірогідно значимої різниці (P>0,05) за умов експерименту не виявлено.

5. Визначення низки параметрів порівняльної фармакокінетики, що характеризують процес розподілу ОКАГЕРМ-4 із центральної камери в периферичні показало, що за умов його внутрішньоочеревинного введення наявність гіпоксичного пошкодження практично не впливає на цей етап проходження антигіпоксанта, що вивчається, оскільки різниця в величинах параметрів (t1/2; К12; К21; Vd; AUC) у нормі та за умов ГЗП незначна.

При розподілі ж потенційного антигіпоксанта в головний мозок показник (tmax) у тварин, які зазнали гіпоксії на 24,34% (P<0,05) більше в порівнянні з нормою. Водночас відбувається вірогідне зменшення показника (Сmax) у групі тварин з ГЗП на 18,12%, а також на тлі гіпоксії відбувається вірогідне зменшення показника АUC (на 20,16%), відносно норми. Результати вивчення кінетики ОКАГЕРМ-4 на етапі його розподілу в серце свідчать про відсутність вірогідної різниці в обох групах порівняння за всіма фармакокінетичними параметрами, що вивчались (tmax, Сmax, Kij, Kji, AUC та MRT). Характер розподілу сполуки в легені аналогічний тому, що ідентифікований при розподілі в серце, окрім параметра MRT, який вірогідно (Р<0,05) збільшується (на 7,75%) відносно норми за умов ГЗП. Розподіл ОКАГЕРМ-4 у печінку на тлі ГЗП відзначається вірогідним (Р<0,05) зменшенням величин таких фармакокінетичних показників як: tmax на 23,03%, Cmax на 55,32% та AUC – 54,62 у порівнянні з нормою. Розподіл антигіпоксанта в нирки корелює зі всіма параметрами, що вивчались, лише величина Кij, яка в тварин з гіпоксичним синдромом вірогідно (P<0,05) нижче (на 75%), ніж у нормі.

6. Комплексна порівняльна оцінка фармакокінетики процесів елімінації ОКАГЕРМ-4 з центральної камери за всіма параметрами, які вивчались (t1/2β, К10, Clt, MRT) показала відсутність вірогідної (P>0,05) різниці між групами «нормальних» тварин та тих, які зазнали дії ГЗП, що свідчить про стабільність даної координаційної сполуки германію з марганцем та винною кислотою щодо біотрансформаційних та екскреторних процесів як безпосередньо під впливом гострої гіпоксичної гіпоксії з прогресуючою гіперкапнією, так і в ранньому постгіпоксичному періоді.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Лук’янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Літвіненко Д. Ф., Марцинко О. Е. Фармакологічні властивості органічних та координаційних сполук германію – сучасні уявлення (огляд літератури). *Фармакологія та лікарська токсикологія*.2016.№ 1. С. 3–10.*(Особистий внесок: систематизування літературних джерел, підготовка статті до друку).*
2. Літвіненко Д. Ф., Козир В. А., Марцинко О. Е. Пошук потенційних антигіпоксантів серед оригінальних гетерометалічних комплексів германію та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2016. № 6. С. 60–65. *(Особистий внесок: формування мети, виконання експериментальних досліджень та статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
3. ЛукьянчукВ. Д., Литвиненко Д. Ф. Токсикометрический анализ нового антигипоксанта ОКАГЕРМ-4.*Problemsofbiologyandmedicine.* 2017. № 3. С.162–165. *(Особистий внесок: формування мети, виконання експериментальних досліджень та статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
4. Бухтіарова Т. А., Лук’янчук В. Д., Сейфулліна І. Й., Кравець Д. С., Марцинко О. Е., Літвіненко Д. Ф., Козир В. А. Порівняльна токсикометрія гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів на основі лимонної та винної кислот. *Вісник наукових досліджень.*2017.№ 4. С. 127–133.*(Особистий внесок:формування мети, виконання експериментальних досліджень та статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
5. Lukyanchuk V., Kravets D., Litvinenko D. Study of pharmacometric indexes of dosing regimen of antihypoxant OKAGERM-4. *GeorgianMedicalNews.* 2017. Vol. 272, № 11. P. 144–147.*(Особистий внесок: формування мети, виконання експериментальних досліджень та статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
6. Літвіненко Д. Ф., Лук’янчук В. Д. Кінетика абсорбції нового антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 у нормі та за умов гіпоксійного синдрому. *Здобутки клінічної i експериментальної медицини.*2019.№ 2.С.130–136. *(Особистий внесок: формування мети, виконання експериментальних досліджень та статистичний аналіз отриманих даних, підготовка статті до друку).*
7. Застосування германійвмісної координаційної сполуки манган тартратогерманат (ІV) з біологічно активним органічним лігандом винною кислотою, що має виражений антигіпоксичний ефект : патент на корисну модель 110014 Україна : МПК (2015.01) А61К31/00.№u 2016 02031 ; заявл. 02.03.2016 ; опубл. 26.09.2016, Бюл. № 18.
8. Лукьянчук В. Д., Сейфулина И. И., Шебалдова Е. А., Марцинко Е. Э., Литвиненко Д. Ф. Координационные соединения германия: перспективы изыскания новых актопротекторов.*Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини*: матеріали VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 9–11 листопада 2015 р. Вінниця : Нілан, 2015. С. 171–172.
9. Літвіненко Д. Ф., Козир В. А., Марцинко Е. Э. Нова координаційна сполука германію з марганцем і винною кислотою – потенційний засіб лікарської профілактики гіпоксичного синдрому. *Медична наука та практика в умовах сучасних трансформаційних процесів* :матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 22–23 квітня 2016 р. Львів : ГО «Львівська медична спільнота», 2016. С. 80–81.
10. Літвіненко Д. Ф. Порівняльна оцінка протигіпоксичної активності гетерометалічних комплексів германію за умов гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю, 10–11 листопада 2016 р. Тернопіль : ТДМУ, 2016. C. 340–341.
11. Літвіненко Д. Ф. Розробка дозового режиму потенційного антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 на моделі гіпоксії замкнутого простору.*Здобутки теоретичної медицини – в практику охорони здоров’я – 2017* :матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції, 23–24 березня 2017 р. Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. С. 26–27.
12. Літвіненко Д. Ф., Лук’янчук О. В., Козир В. А. Порівняльні токсикометричні дослідження гетерометалічних комплексів германію (IV) та 3d-металів з аніонами лимонної та винної кислот. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LX науково-практичної конференції, присвяченої 60-річчю ТДМУ, 14 червня 2017 р. Тернопіль : ТДМУ, 2017. С. 321–322.
13. Litvinenko D. F. Screening of potential antihypoxants on models of confined space hypoxia in a range of newly synthesized coordination compounds of germanium based on a variety of essential trace elements and organic acids : матеріали Конгресу анестезіологів України, 14–16 вересня 2017 р*. Біль знеболення та інтенсивна терапія.* № 3. 2017. С.71.
14. Літвіненко Д. Ф.Доклінічні токсикометричні дослідження нового антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4.*Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича, 12–13 квітня 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С.73.
15. Літвіненко Д. Ф. Порівняльна оцінка абсорбційної здатності нового антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 в нормі та при гіпоксії. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXII науково-практичної конференції, присвяченої 165-річчю від дня народження Івана Яковича Горбачевського, 13 червня 2019 р. Тернопіль : ТНМУ, 2019. С.89–90.
16. Літвіненко Д. Ф. Елімінаційні процеси на тлі застосування потенційного антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 в нормі та при гіпоксичному синдромі в експерименті. *Технології, інструменти та стратегії реалізації наукових досліджень* : матеріали міжнародної наукової конференції, 20 березня, 2020 р. Херсон : Друкарня ФОП Гуляєва В. М., 2020. С. 63–64.
17. ЛукьянчукВ. Д., Литвиненко Д. Ф. Розподіл потенційного антигіпоксанта ОКАГЕРМ-4 за умов гіпоксії замкнутого простору. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини* : матеріали підсумкової LXІIІ науково-практичної конференції, 12 червня 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 65–66.

**АНОТАЦІЯ**

***Літвіненко Д. Ф.* Пошук потенційного антигіпоксанта серед нових координаційних сполук германію та дослідження його фармакокінетики.**
**– Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, 2020.

Дисертаційна робота присвячена пошуку та вивченню сполук з протигіпоксичними властивостями для створення нового високоефективного та безпечного лікарського засобу для запобігання та усунення наслідків гіпоксії замкнутого простору (ГЗП). Досліджувалися 6 оригінальних координаційних сполук германію (КСГ) та 3d-металів (цинк, мідь, марганець) на основі лимонної та винної кислот. За результатами токсикометричних досліджень усі КСГ, що вивчались, є малотоксичними та помірно токсичними для ссавців і людини. Установлено, що більшою безпечністю відрізняється самеманган(ІІ) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-4, яка відноситься до IV класу токсичності (малотоксичні речовини). У серії скринінгових дослідженнях ОКАГЕРМ-4 визначена як сполука-лідер. За допомогою фармакометричних методів встановлено оптимальний дозовий режим ОКАГЕРМ-4, який становить при внутрішньоочеревинному введенні білим шурам 98,6 мг/кг за 40 хв. до початку ГЗП. Комплексні порівняльні фармакокінетичні дослідження ОКАГЕРМ-4 показали, що сполука розподіляється в найбільш чутливі до гіпоксії життєво важливі органи: головний мозок, серце, легені, нирки, печінка. Це дозволяє здійснювати комплексну органопротекцію при гострому гіпоксичному синдромі.

Вищезазначене дозволяє стверджувати, що ОКАГЕРМ-4 у достатньому об’ємі відповідає сучасним вимогам до антигіпоксантів і потребує подальшого поглибленого вивчення.

*Ключові слова:* координаційні сполуки германію, гіпоксія замкнутого простору, ОКАГЕРМ-4, антигіпоксант, токсикометрія, фармакометрія, фармакокінетика, абсорбція, розподіл, елімінація.

**ABSTRACT**

***D. F. Litvinenko*Finding a Potential AntihypoxantAmong New Germanium Coordination Compounds and Studying Pharmacokynetics Thereof. – Qualifying Research Paper as a Manuscript**

Ph. D. Thesis in Medical Sciences.Major 14.03.05 – Pharmacology. – Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, State Institution, Kyiv, 2020.

This thesis paper addresses a topical problem of experimental pharmacology, namely finding and studying compounds having antihypoxic properties in order to create a new highly effective and safe medicinal product for prevention and elimination of effects of a confined space hypoxia (CSH). In this light, Germanium coordination compounds with such bioactive ligands as microelements and organic acids which stand out for their diversity of pharmacodynamic effects, acceptable pharmacokinetic profile and relative harmlessness, seem to be promising.

Screening studies employed 6 original heterometallic complexes of Germanium (IV) and 3D-metals (zinc,copper, manganese) based on citric and tartaric acids The studies were conducted on 492 white sexually mature non-pedigree rats of both sexes, 160–200 g. According to the findings obtained in the trial with further extrapolation thereof onto a human in order to identify a number of toxicopathic parameters of acute toxicity and unsafety using a probit analysis, all GCCs studied with single intra-abdominal injection are of low toxicity and moderate toxicity for mammals and humans. Two compounds had the highest value LD50: OKAGERM-1 (LD50 582.53 mg/kg), OKAGERM-4 (LD50 551.81 mg/kg); however OKAGERM-4 is the safest in terms of slope of dose-probit curves. OKAGERM-4 has been also established to belong to the IV toxicity grade (low-toxicity substances) and not to have any potential or real risk of causing fatal poisoning if administered parenterally to warm-blooded animals, suggesting harmlessness and safety of the potential antihypoxant.

In a separate series of screening studies, antihypoxic activity criteria of compounds were: length of life in a containment (T), antihypoxic protection factor (Fp) and a relative life increase value (P), and CSH clinical course; Armadin (Lekhim-Kharkiv, Ukraine) was used as a reference drug.

Mangan(II) tartratogermanate(IV) – OKAGERM-4 was experimentally proven to be the most effective compound; its pharmacological and preventive effectiveness, in the setting of CSH, displays through probable increase in T value by 51.9% compared to the control (hypoxia w/o any drug) and by 36.9% compared to Armadin. If a lead-compound is used, the P value is increased by 52.9% compared to the control, and by 11.7% compared to the reference drug. The Rp for OKAGERM-4 makes up 1.53 (Armadin – 1.12).If OKAGERM-4 is used, a favourable clinical course of CSH is observed.

Pharmacometric studies using mathematic modeling in software environment through interpolation of experimental findings onto Lagrange polynomials and Newtonian polynomials with further calculation of maximum test function, established optimal dosing regimen for OKAGERM-4 if administered intraperitoneally: 40 minutes before the hypoxia effect – 96.8 mg/kg.

Based on the comprehensive comparative analysis of pharmacokinetic parameters characterizing the process of OKAGERM-4 absorption, it has been shown that hypoxic damage is associated with decrease by 5.4% of Сmax parameter (P<0.05).Other parameters characterizing the process of OKAGERM-4 absorption tmax, t1/2α, F01), show no probably significant difference (P>0.05) in the experiment settings.

A comparative assessment of pharmacokinetic studies as to OKAGERM-4 distribution from the central chamber to peripheral ones in the test experiment settings shows that CSH almost has no influence on the nature of this pharmacokinetics stage, since the difference between parameters (t1/2; K12; K21; Vd; AUC) is normal and insignificant in presence of hypoxia.

The value (tmax) of OKAGERM-4 in brain tissues of hypoxic animals has been experimentally proven to be 24.34 % (P<0.05) as compared to the norm. At thesametime, probable (P<0.05) decrease in the value (Сmax) is observed in the study group (CSH) by 18.12% as compared to the norm. CSH is also associated with probable (P<0.05) decrease in the value AUC by 20.16% as compared to the group of animals without hypoxia (norm).

When studying a pharmacokinetic profile of OKAGERM-4 at the stage of distribution thereof to the heart, no probable (P>0.05) difference was found in the either study group in terms of all pharmacokinetic parameters (tmax, Сmax, Kij, Kji, AUC and MRT).

No statistically significant difference (P>0.05) was found in pharmacokynetic parameters characterizing the stage of OKAGERM-4 distribution in lungs, namely: tmax, Сmax, Kij, Kji, AUC, except MRT, because its probable (Р<0.05) increase is observed in CSH as compared to the norm.

Findings on OKAGERM-4 distribution into the liver show that rats exposed to CSH develop probable (Р<0.05) decrease in such pharmacokinetic parameters as: tmax by 23.03%, Cmax by 55.32% and AUC by 54.62% as compared to the norm.

A comparative analysis of pharmacokinetic parameters of OKAGERM-4 distribution into rats’ kidneys suggests that almost every studied parameter (tmax, Cmax, Кji, AUC, MRT) have no probably significant difference (P>0.05), except Кij. Кij is probably (Р<0.05) lower by 75% in animals with acute hypoxic exposure.

A comprehensive comparative analysis of pharmacokinetic parameters characterizing the process of OKAGERM-4 elimination from the central chamber
(t1/2β, К10, Clt, MRT) demonstrates that a probable difference between the control group (norm) of animals and those exposed to CSH is absent.

The pharmacokinetic profile of OKAGERM-4 stands out for its distribution into the vital organs most sensitive to hypoxia: brain, heart, lungs, kidneys. In summary, this allows it to have a comprehensive organoprotective activity which effectively prevents development of the multiple organ dysfunction syndrome that develops in case of acute hypoxic syndrome.

I view of the above, it is safe to state that the original compound OKAGERM-4 sufficiently meets modern requirements to antihypoxants and appears worthy of further in-depth studying in terms of its effectiveness and safety as a potential antihypoxant drug.

*Key words:* Germanium coordination compounds, confined space hypoxia, OKAGERM-4, antihypoxant, toxicometry, pharmacometry, pharmacokinetics, absorption, distribution, elimination.

**АННОТАЦИЯ**

**Литвиненко Д. Ф. Поиск потенциального антигипоксанта среди новых координационных соединений германия и исследование его фармакокинетики. – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – ГУ «Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины», Киев, 2020.

Диссертационная работа посвящена поиску и изучению соединений с противогипоксическими свойствами для создания нового высокоэффективного безопасного лекарственного средства для профилактики и устранения последствий гипоксии замкнутого пространства (ГЗП). Исследовались 6 оригинальных координационных соединений германия (КСГ) и 3d-металлов (цинк, медь, марганец) на основе лимонной и винной кислот. По результатам токсикометрических исследований все изучаемые КСГ малотоксичные и умеренно токсичные для млекопитающих и человека. Установлено, что в большей безопасностью отличается именно манган(II) тартратогерманат(IV) – ОКАГЕРМ-4, которое относится к IV классу токсичности (малотоксичные вещества). В серии скрининговых исследований ОКАГЕРМ-4 определено как соединение-лидер. С помощью фармакометрических методов установлен оптимальный режим дозирования ОКАГЕРМ-4, который составляет при внутрибрюшинном введении белым крысам 98,6 мг/кг за 40 мин. до начала ГЗП. Комплексные сравнительные фармакокинетические исследования ОКАГЕРМ-4 показали, что соединение распределяется в наиболее чувствительные к гипоксии жизненно важные органы: мозг, сердце, легкие, почки, печень. Это позволяет осуществлять комплекснуюорганопротекцию при остром гипоксическом синдроме.

Вышесказанное позволяет утверждать, что ОКАГЕРМ-4 в достаточном объеме соответствует современным требованиям к антигипоксантам и нуждается в дальнейшем углубленном изучении.

*Ключевые слова:* координационные соединения германия, гипоксия замкнутого пространства, ОКАГЕРМ-4, антигипоксанты, токсикометрия, фармакометрия, фармакокинетика, абсорбция, распределение, элиминация.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

|  |  |
| --- | --- |
| AUC | площа під фармакокінетичною кривою |
| Cmax | максимальна концентрація ксенобіотика в біосередовищі |
| Clt, | загальний кліренс |
| К01 | константа швидкості абсорбції |
| К10 | константа швидкості елімінації |
| К12 | константа швидкості надходження із першої камери до другої в рамках двочасткової моделі |
| К21 | константа швидкості надходження із другої камери до першої в рамках двочасткової моделі |
| Кel | константа швидкості елімінації |
| Кij | константа швидкості прямого масопереносу |
| Кji | константа швидкості зворотного масопереносу |
| MRT | середній час перебування ксенобіотика в організмі |
| S | функція кута нахилу (варіабельність смертельних доз) |
| t1/2 | період напіврозподілу |
| t1/2α | період напівабсорбції |
| t1/2β | період напіввиведення |
| tg α | тангенс кута нахилу кривої летальності |
| tmax | час досягнення максимальної концентрації в біосередовищі |
| Vd | загальний об’єм розподілу |
| ГЗП | гіпоксія замкнутого простору |

1. Висловлюємо щиру вдячність професору І.Й. Сейфулліній та її співробітникам за синтез комплексівгерманію, які були надані для проведення досліджень. [↑](#footnote-ref-2)