

UDK 615

DOI:10.54503/0514-7484-2022-62.4-71

**Сравнительный анализ токсичности Bis[bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)acetato]copper(II) Cu[HC(COO)(pz<sup>Me2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> и Cu(II)<sub>2</sub> (3,5-DIPS)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> Cu-содержащих комплексов**

**А.Г. Карапетян<sup>1</sup>, К. Сантини<sup>2</sup>, М. Пеллеи<sup>2</sup>, В.С. Григорян<sup>3,4</sup>,  
А.М. Даллакян<sup>1</sup>, Ж.Г. Петросян<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Национальный ожоговый центр МЗ РА  
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25,

<sup>2</sup>School of Science and Technology, Chemistry Division, University of Camerino  
62032, Camerino (MC), Italy,

<sup>3</sup>Университет традиционной медицины  
0040, Ереван, Аван, ул. Маршала Бабаджаняна, 38,

<sup>4</sup>Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА  
0028, Ереван, ул.Бр. Орбели, 22

**Ключевые слова:** органические комплексы меди, время свертываемости крови, количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, уровень гемоглобина, гематокрита

Целью исследования токсичных веществ является установление характера и выраженности их повреждающего действия на организм экспериментальных животных и оценка безопасности.

Общепринятым является разделение токсикологических исследований на изучение общетоксического действия и исследование специфических видов токсичности (аллергенность, иммунотоксичность, репродуктивная токсичность, мутагенность, канцерогенность) [1].

Задачи при изучении общетоксического действия:

- определение переносимых и токсических доз вещества,
- выявление наиболее чувствительных к изучаемому веществу органов и систем организма, а также исследование обратимости вызываемых повреждений,
- изучение зависимости токсических эффектов от дозы и длительности применения вещества.

Известно, что кроветворная система, как активно пролиферирующая ткань, чрезвычайно чувствительна к действию различных факторов, в том числе токсичных составляющих [3,5]. Поэтому проблема влияния патогенных факторов на систему крови также может рассматриваться как

характеризующая токсичность. Показатели крови могут быть использованы как показатели для выявления токсического эффекта. Весьма существенной является регистрация сроков развития интоксикации и гибели животных.

Цель работы – определение и сравнение токсичности металлокомплексов  $\text{Bis}[\text{bis}(3,5\text{-dimethylpyrazol-1-yl)acetato}]\text{copper(II)}$  (complex 1),  $\text{Cu}[\text{HC}(\text{COO})(\text{pz}^{\text{Me}_2})_2]_2$  и  $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$  (complex 2) путем определения выживаемости, средней продолжительности жизни и некоторых показателей крови.

### Материал и методы

Серию экспериментов *in vivo* проводили на половозрелых крысах. Так как в зависимости от возраста может измениться фармакокинетика и, в связи с этим, токсичность вещества, мы использовали животных одного возраста. Разброс по исходной массе не превышал  $\pm 10\%$ . Учитывается также, что чувствительность животных к веществу может изменяться под влиянием ряда внешних факторов (температура, влажность, освещенность и др.). Наряду с подопытными животными, получающими исследуемые вещества, в аналогичных условиях должны содержаться и контрольные животные.

Определение токсичности соединений проводилось с целью количественной оценки зависимости «доза-эффект». Животные были разделены на 3 группы (по 8 животных в каждой группе): I группа – с инъекцией complex 1, II – с инъекцией complex 2, III – контрольная (интактные животные).

Для определения токсичности Cu-содержащих комплексов, complex 1 [6,7] и complex 2, поставлены эксперименты на белых, беспородных, половозрелых крысах массой 185г. Крысам подкожно инъецировался раствор (с DMSO) данных соединений объемом 2мл.

Токсичность металлокомплексов обычно характеризуется на основе вычисления показателя  $\text{LD}_{50/7}$ , т.е. той дозы соединения, при которой наблюдается гибель 50% животных в течение 7 дней после подкожного введения вещества в организм. Для этого металлокомплексы вводятся животным в постепенно возрастающих дозах — от максимально неэффективной до  $\text{LD}_{100/7}$ , т.е. до той минимальной дозы, абсолютно смертельной для 100% животных в течение 7 дней. С использованием метода интегрирования по Г.Беренсу [2] в опытах на крысах вычисляется средне-летальная доза —  $\text{LD}_{50/7}$ .

В определенные сроки (3,7,21-е сутки) производился забор крови из хвостовой вены для гематологического анализа.

Гематологические параметры экспериментальных животных, а именно: количество эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, гематокрита

и содержание гемоглобина, а также время свертываемости крови определяли с использованием стандартного лабораторного оборудования [4].

Анализ данных проводился с помощью ряда специализированных статистических пакетов: StatSoft7, SPSS-10.0 и StatGraphicsPlus. Использовали регрессионный и корреляционный методы анализа.

### Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ выживаемости и средней продолжительности жизни показал, что наименьшей токсичностью из 2 исследуемых соединений обладает complex 1. Следует отметить, что при подкожном введении крысам complex 1 в диапазоне доз от 480 мг/кг до 965 мг/кг не наблюдалось нарушений поведенческих реакций и гибели животных. В случае введения более высокой дозы (1450 мг/кг) сразу же после инъекции у некоторых животных наблюдались вялость, заторможенность движений, сниженный аппетит, которые прошли через 2-3 дня. Наблюдалась гибель только 1 животного (12,5%) на 4-е сутки мониторинга, а у остальных животных эти явления прошли и до конца эксперимента поведенческие реакции не отличались от интактных животных. Исходя из того, что предыдущие эксперименты на токсичность с низкотоксичными медьсодержащими химическими соединениями дозой 1450 мг/кг показали результат ЛД<sub>50/7</sub>, а та же доза комплекса complex 1 вызвала только 12,5% гибель животных (ЛД<sub>12,5/7</sub>), можно заключить, что исследуемое вещество довольно низкотоксично, так как требуется доза примерно в 4 раза превышающая примененную нами для получения ЛД<sub>50/7</sub>. Таким образом, при дозе 1450 мг/кг мы получили выживаемость в 87,5%, а среднюю продолжительность жизни 26,8 суток.

Согласно результатам тестирований, металлокомплекс  $\text{Cu(II)}_2(3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$  оказался малотоксичным соединением. Следует отметить, что при подкожном введении в диапазоне доз от 100 мг/кг до 800 мг/кг не наблюдались нарушения поведенческих реакций и гибель животных в течение 24 часов. При дозе 800 мг/кг у животных были отмечены проходящие внешние признаки депрессивного действия complex 2 на локомоторную активность (гиподинамия), которые через 24 часа уже не обнаруживались.

Что касается complex 2 при дозе 1450 мг/кг, выживаемость составила 75%, а средняя продолжительность жизни 22,9 суток. Это свидетельствует о том, что хотя оба вещества обладают очень низкой токсичностью, тем не менее, по сравнению с показателями complex 1, токсичность complex 2 была выше и характеризовалась более низкими величинами тех доз, при которых в течение 7 дней после однократного подкожного введения в организм погибнет 12,5% животных (что характерно для complex 1).

Были получены уравнения логарифмической регрессии:  $y_1=97,16-7,78\lg(x)$  и  $y_2=86,29-9,29\lg(x)$  (где  $y_1$  – выживаемость группы с введенным complex 1,  $y_2$  – с введенным complex 2, а  $x$  – количество дней эксперимента), позволяющие не только описывать динамику выживаемости, но и с помощью экстраполяции прогнозировать изменение процента выживаемости в отдаленных сроках эксперимента.

Был проведен анализ показателей крови на 3-и и 7-е сутки после подкожного введения complex 1 в дозе 1450мг/кг. Результаты гематологического анализа приведены в таблице. На 3-и сутки исследований наблюдалось повышение уровней всех исследуемых показателей крови. Далее следовало понижение и, как видно из таблицы, на 7-е сутки произошла нормализация всех показателей крови кроме количества тромбоцитов. Тем не менее тенденция к нормализации отмечается и у этого показателя.

Иная картина была отмечена в группе с инъекцией complex 2. Согласно приведенным в таблице данным, при подкожном введении complex 2 наблюдалось достоверное понижение уровня гемоглобина, который был восстановлен к 7-м суткам, достоверное снижение ВСК, сохраняющееся до конца исследований. К 7-м суткам отмечено также достоверное уменьшение уровней тромбоцитов и эритроцитов.

Таблица

Результаты гематологического анализа

Показатели		ВСК (sec)	Лейкоциты (N/ $\mu$ L)	Тромбоциты (N/ $\mu$ L)	Эритроциты (N/ $\mu$ L)	Гемоглобин (g/L)	Гематокрит (%)
norm		311,0 $\pm$ 19,00	11500,0 $\pm$ 420,0	522000,0 $\pm$ 10560,0	5823000,0 $\pm$ 278800,0	138,1 $\pm$ 5,82	37,2 $\pm$ 1,75
3-и сутки	(complex 1)	320,0 $\pm$ 16,22	14885,71 $\pm$ 1248,13 (*)	654285,71 $\pm$ 30945,97 (*)	6175714,29 $\pm$ 361497,26	144,44 $\pm$ 3,79	46,28 $\pm$ 2,9 (*)
	(complex 2)	200,8 $\pm$ 9,95 (*)	10233,3 $\pm$ 1178,04	577500,0 $\pm$ 33609,27	4941666,7 $\pm$ 444562,83	102,3 $\pm$ 7,46 (*)	35,6 $\pm$ 3,25
7-е сутки	(complex 1)	283,0 $\pm$ 12,44	13171,43 $\pm$ 1790,15	634285,71 $\pm$ 33263,53 (*)	5235714,29 $\pm$ 270861,56	141,09 $\pm$ 8,06	41,60 $\pm$ 3,02
	(complex 2)	249,0 $\pm$ 12,36 (*)	10600,0 $\pm$ 713,68	425833,3 $\pm$ 20913,18 (*)	4575000,0 $\pm$ 405421,37 (*)	139,5 $\pm$ 3,84	45,4 $\pm$ 4,18

(\*) при  $p<0,05$  (при сравнении с контрольными значениями, т.е. с группой интактных животных)

Таким образом, металлокомплексы complex 1 и complex 2 оказались низкотоксичными соединениями. Только в случае введения сверхвысоких доз (более 2000 мг/кг) сразу же после инъекции наблюдались вялость и заторможенность движений животных с наступлением гибели через несколько часов.

Меньшей токсичностью обладает complex 1, так как при дозе 1450мг/кг выживаемость составила 87,5% (в отличие от complex 2 – 75%), средняя продолжительность жизни 26,8 суток (complex 2 – 22,9).

Был проведен также мультирегрессионный анализ 3 показателей: уровень эритроцитов, гемоглобина и гематокрита при введении complex 1 (а) и complex 2 (б). Результаты мультирегрессионного анализа приведены на рисунке. В полученных уравнениях  $z$  – уровень гематокрита,  $x$  – уровень эритроцитов,  $y$  – уровень гемоглобина.

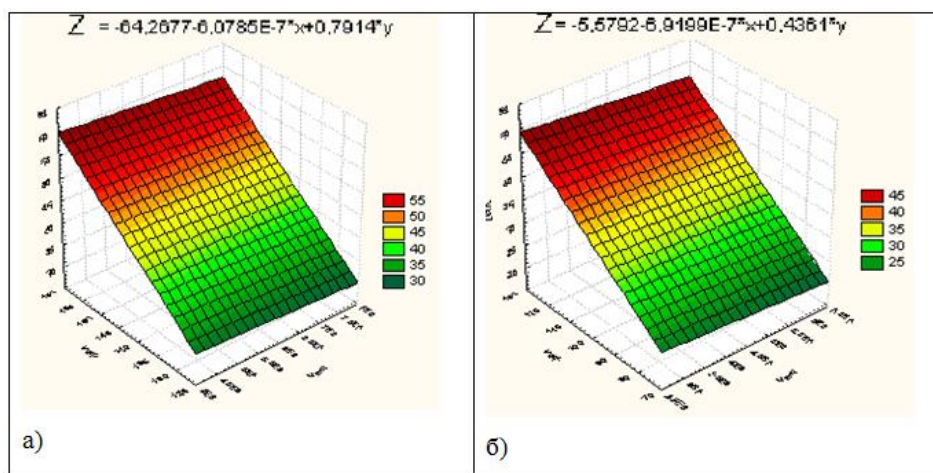


Рисунок. Результаты мультирегрессионного анализа при введении complex 1 (а) и complex 2 (б)

Несмотря на разнонаправленность изменений показателей крови, которую можно расценить как проявление развития интоксикации, наблюдалась тенденция к нормализации у обеих групп с введением комплексов. Различие наблюдается в скорости восстановления. Восстановление показателей крови при применении complex 1 происходит втрое быстрее, чем в группе с применением complex 2.

Результаты гематологических исследований также подтвердили наименьшую токсичность соединения complex 1.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНК РА в рамках научного проекта № 21Т-1F126.*

Поступила 24.06.22

**Bis[bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)acetato] copper(II) Cu[HC(COO)(pz<sup>Me2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> և Cu(II)<sub>2</sub>(3,5-DIPS)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> Cu - պարունակող  
համալիրների թունաբանության համեմատական  
վերլուծություն**

**Ա.Գ. Կարապետյան, Կ. Սանտինի, Մ. Պելլեի, Վ.Ս. Գրիգորյան,  
Ա.Մ. Դալլաքյան, Ժ.Հ. Պետրոսյան**

Այս աշխատանքի նպատակն է որոշել և համեմատել Bis[bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)acetato]copper(II) complex Cu[HC(COO)(pz<sup>Me2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (complex 1) և Cu(II)<sub>2</sub>(3,5-DIPS)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> (complex 2) թունաբանական հատկությունները՝ գնահատելով ապրելունակությունը, կյանքի տևողությունը և արյան որոշ ցուցանիշներ:

Ստացված տվյալներով complex1-ը և complex2-ը ցածր թունաբանական հատկություններով միացություններ են: Համաձայն հետազոտությունների արդյունքների՝ complex1 1450 մգ/կգ դոզայով կիրառման դեպքում մենք ստացել ենք 87,5% ապրելունակություն, իսկ complex2-ի դեպքում ապրելունակության մակարդակը կազմել է 75% (այս երկու միացություններից complex2-ը ավելի թունավոր է, քանի որ նույն արդյունքը ձեռք է բերվում ավելի ցածր դոզայով): Complex 1-ի ներարկման դեպքում փորձարկման 3-րդ օրը նկատվել է արյան բոլոր ուսումնասիրված ցուցանիշների մակարդակի բարձրացում: Դրան հաջորդել է նվազումը, և 7-րդ օրը տեղի է ունեցել արյան բոլոր ցուցանիշների նորմալացում, բացառությամբ թրոմբոցիտների քանակի: Այնուամենայնիվ, այս ցուցանիշում նույնպես նկատվել է նորմալացման միտում, ինչը հանգեցրել է թրոմբոցիտների մակարդակի նորմալ արժեքի 21-րդ օրվա դրությամբ:

Complex 2-ի կիրառման դեպքում նկատվեցին հեմոգլոբինի մակարդակի զգալի նվազում, որը վերականգնվեց 7-րդ օրը, արյան մակարդման ժամանակի զգալի նվազում, որը պահպանվեց մինչև հետազոտության ավարտը: Արդեն 7-րդ օրը նշվել է նաև թրոմբոցիտների և էրիթրոցիտների մակարդակի զգալի նվազում:

Արյունաբանական ուսումնասիրությունների արդյունքները նույնպես հաստատեցին complex 1-ի նվազագույն թունաբանական հատկությունները:

**Comparative Toxicity Analysis of Bis[bis (3,5-Dimethylpyrazol-1-yl) Acetato]Copper(II) Cu [HC(COO)(pz<sup>Me2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> and Cu(II)<sub>2</sub>(3,5-DIPS)<sub>4</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub> of Cu-Containing Complexes**

**A. G. Karapetyan, C. Santini, M. Pelli, V. S. Grigoryan,  
A. M. Dallakyan, J. H. Petrosyan**

The purpose of this work is to determine and compare the toxicity of Bis[bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl) acetato] copper(II) Cu[HC(COO)(pz<sup>Me2</sup>)<sub>2</sub>]<sub>2</sub> (complex 1) and

$\text{Cu(II)}_2 (3,5\text{-DIPS})_4(\text{H}_2\text{O})_3$  (complex 2) by evaluating survival, life expectancy and some blood parameters.

According to the obtained data, complex 1 and complex 2 turned out to be low-toxic compounds. According to the test results: in the case of complex 1 at a dose of 1450mg/kg, we received a survival rate of 87,5%, and in the case of complex 2 at the same dose, the survival rate was 75% (of these two compounds, complex 2 has the highest toxicity, since an identical result is achieved with a lower dose).

In complex 1, on the 3<sup>rd</sup> day of the experiment, an increase in the level of all studied blood parameters was observed. This was followed by a decrease and on the 7<sup>th</sup> day there was a normalization of all blood parameters except for the number of platelets. Nevertheless, a trend towards normalization was also observed in this indicator, which led to the normal value of platelet levels by the 21<sup>st</sup> day. When complex 2 was administered subcutaneously, a significant decrease in hemoglobin level was observed, which was restored by the 7<sup>th</sup> day, a significant decrease in VSC, which persisted until the end of the study. By the 7<sup>th</sup> day, a significant decrease in the levels of platelets and erythrocytes was also noted. The results of hematological studies also confirmed the lowest toxicity of complex 1.

### Литература

1. Арзамасцев Е.В., Гуськова Е.В., Березовская И.В., Любимов Б.И., Либерман С.С., Верстакова О.Л. Методические указания по изучению общетоксического действия фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005, с.41-54.
2. Беренс Г., Клей П.Д. Микрохимический анализ, ч.1, Научное хим.-техн. Изд. НТУ ВСНХ, 1928.
3. Карапетян А.Г., Даллакян А.М., Петросян Ж.Г., Арутюнян Н.К., Порция М., Сантини К. Оценка показателей периферической крови и цитогенетических показателей при использовании соединений медь-органических комплексов после ожога. Мед.наука Армении НАН РА, 2020, т. LX, 1, с. 46-54, ISSN: 0514-7484.
4. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М., 2007.
5. Сологуб Т. В., Романцова М. Г., Кремень Н.В. и др. Свободнорадикальные процессы и воспаление (патогенетические, клинические и терапевтические аспекты). М.: Академия Естествознания, 2008, — 162 с., ISBN 978-5-98654-030-6; ISBN 978-5-91327-021-4.
6. Kozlevčar B., Gamez P., de Gelder R., Driessen W. L., Reedijk J. Unprecedented Change of the Jahn-Teller Axis in a Centrosymmetric CuII Complex Induced by Lattice Water Molecules - Crystal and Molecular Structures of Bis[bis(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)acetato]copper(II) and Its Dihydrate. Eur. J. Inorg. Chem. 2003, No. 1, p. 47-50.
7. Pelli M., Gandin V., Marchiò L., Marzano C., Bagnarelli L., Santini C. Syntheses and Biological Studies of Cu(II) Complexes Bearing Bis(pyrazol-1-yl)- and Bis(triazol-1-yl)-acetato Heteroscorpionate Ligands. Molecules 2019, vol. 24, No. 9, p. 1761.