

УДК 615.849 (57.043)

## Оценка длительности и эффективности радиозащитного действия новых синтезированных соединений

А.Г. Карапетян<sup>1</sup>, К. Сантини<sup>2</sup>, М.Г. Малакян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научный центр радиационной медицины и ожогов  
0054, Ереван, Давидашен, п/я 25

<sup>2</sup>Университет г. Камерино, Италия  
(University of Camerino)

*Ключевые слова:* облучение, радиопротекторные соединения, выживаемость, продолжительность жизни, регрессионный анализ

Одной из наиболее актуальных проблем современной радиобиологии является поиск новых эффективных радиопротекторов. В области поиска соединений с радиопротекторными свойствами научный интерес представляют металл-органические комплексы, обладающие высокой антиоксидантной активностью и низкой токсичностью.

Известно, что Cu- Zn- и Mn-зависимые супероксиддисмутазы и Fe-зависимая каталаза – протективные антиоксидантные ферменты, синтез которых, протекающий после лучевого поражения, имеет важное значение в репарационных процессах пострадиационных повреждений [5,8]. Поэтому комплексы с содержанием Cu, Zn, Mn и Fe применяются при поиске и создании препаратов с радиопротекторными свойствами. Подобные соединения даже в сверхмалых дозах проявляют клинически значимые эффекты (препятствуют развитию биохимически деструктивных реакций, образованию свободных радикалов и т.д.).

Противолучевая активность серосодержащих соединений определяется присутствием в их структуре свободной или легко высвобождаемой в физиологических условиях SH-группы. Механизм радиозащитного действия препаратов этой группы объясняется конкуренцией за свободные радикалы, образующиеся в результате радиолиза воды, обрывом цепных реакций перекисления, повышением содержания в тканях эндогенных тиолов, образованием временных смешанных дисульфидов, образованием прочных комплексов с тяжелыми металлами и уменьшением их синергетного действия с ионизирующей радиацией, угнетением обмена ДНК [3].

Радиопротекторы различают по эффективности и длительности защитного действия. Согласно Саксонову и соавт. [4], требования, предъявляемые к радиопротекторам следующие: препарат должен быть достаточно эффективным и не вызывать выраженных побочных реакций; действовать быстро и сравнительно продолжительно; должен быть нетоксичным с терапевтическим коэффициентом не менее 3; не должен оказывать даже кратковременного отрицательного влияния на организм; иметь удобную лекарственную форму для перорального введения или инъекции; не должен снижать резистентность организма к другим неблагоприятным факторам внешней среды; препарат должен быть устойчивым при хранении, сохранять свои защитные и фармакологические свойства не менее 3 лет.

Согласно литературным источникам [5–8], выбранные нами комплексы обладают низкой токсичностью, способствуют активизации антиоксидантных ферментов и обладают свойствами, необходимыми при репарационных процессах пострадиационных повреждений.

Расчеты выживаемости и продолжительности жизни не дают полного представления об эффективности новых соединений, так как выявление процента погибших животных не дает возможности сравнивать группы друг с другом, с помощью стандартных статистических методов (Стьюдента-Фишера и др.). Поэтому мы предлагаем оценивать выборки различных групп с помощью регрессионного анализа, который дает возможность не только описывать кривые по выживаемости, но и прогнозировать длительность и эффективность действия каждого соединения.

## Материал и методы

С целью выявления возможного радиозащитного действия нами были исследованы соединения медь-органических комплексов:  $[\text{Cu}(\text{PTA})_4]\text{BF}_4$  и  $[\text{Cu}(\text{PCN})(\text{HBP}_{23})]\text{BF}_4$ , где лигандами являются: PTA-1,3,5-triaza-7-phosphaadamantane и PCN-tris(cyanoethyl)phosphine HBP<sub>23</sub>-trispyrazolilborato (далее в тексте – PTA и PCN), синтезированные в Университете города Камерино (Италия) под руководством профессора Карло Сантини. Исследовались также радиозащитные свойства групп органических соединений меди Cu(I), которые условно обозначены (HB)PCN, (PTA)BF и (L)<sub>2</sub>Cu, также синтезированных итальянскими коллегами.

Проведена также оценка радиозащитных свойств соединений, содержащих фтор и серу (VS-231 и VS-233) и соединения SH-группы из ряда ди-замещенных оксадиазолов (NK-106, NK-116, NK-99), которые были синтезированы в Научно-технологическом центре органической и фармацевтической химии (г. Ереван). Выбор этих соединений обусловлен высокой антиоксидантной активностью. Так в реакционной среде эти

соединения препятствовали возникновению малоновых диальдегидов (более чем на 30%).

Эксперименты проводились на половозрелых, белых беспородных крысах массой 180-200г. За час до общего однократного облучения рентгеновскими лучами животных дозами ЛД<sub>50/30</sub> (5,3Гр) и ЛД<sub>100/30</sub> (7,0Гр) на аппарате РУМ-17, в организм внутрибрюшинно вводились эти соединения дозой 20мг/кг в виде водной суспензии. В качестве контрольной группы были взяты облученные крысы, не получившие радиопротекторных комплексов (чистое облучение). Радиопротекторная активность этих соединений оценивалась по выживаемости и средней продолжительности жизни, показывающей динамику гибели подопытных крыс в течение 30-дневного мониторинга.

Статистическая обработка цифрового материала проведена с помощью ряда компьютерных программ. Были использованы электронная таблица Microsoft Excel и специализированные статистические пакеты StatSoft, SPSS и StatGraphics Plus [1, 2].

### Результаты и обсуждение

Определение выживаемости и средней продолжительности жизни показало, что у облученных крыс, которым вводились комплексы РТА и PCN, VS и NK, эти показатели были выше, чем у животных из контрольной группы (только облученных), что свидетельствует о наличии радиозащитных свойств испытуемых комплексов (таблица). Тем не менее сравнивать полученные результаты между собой (между группами с введенными разными веществами) не представляется возможным, так как, например, после введения в организм животных до облучения веществ РТА, PCN и NK-99 мы получили одинаковое значение выживаемости, равное 80%.

*Таблица*

*Выживаемость и средняя продолжительность жизни крыс*

Показатели	Выживаемость в %		Средняя продолжительность жизни в днях	
	5,3Гр	7,0Гр	5,3Гр	7,0Гр
Контроль	50	30	19,4	14,3
РТА+обл.	80	60	26,8	25
PCN+обл.	80	60	27,2	25,9
НВ(PCN)	-	40	-	18,0
РТА(BF)	-	50	-	20,5
(L)2Cu	-	50	-	17,5
VS-231	70	-	26	-
VS-233	70	-	25,7	-
NK-99	80	-	27,3	-
NK-106	60	-	23,4	-
NK-116	60	-	23,0	-

Анализ выживаемости с помощью регрессионного метода дает возможность не только описывать динамику изменений показателей, но и возможность прогноза (т.е. судить о выживаемости в сроках, превышающих экспериментальные исследования, экстраполируя кривые). Чем дальше от реальных экспериментальных сроков, тем отчетливее получаем различие между выживаемостью животных, с введенными различными соединениями. Были получены уравнения логарифмической регрессии по выживаемости соответственно: у контрольной группы (чистое облучение 5,3Гр- $Y_1$ ) и групп животных после введения РТА ( $Y_2$ ); PCN ( $Y_3$ ); VS-231 ( $Y_4$ ); VS-233 ( $Y_5$ ); NK-99 ( $Y_6$ ); NK-106 ( $Y_7$ ) и NK-116 ( $Y_8$ ) – соединений (20мг/кг до облучения) –  $Y_1=120,69-50,61lg(x)$ ;  $Y_2=107,62-20,01lg(x)$ ;  $Y_3=110,9-21,5lg(x)$ ;  $Y_4=114,84-26,98lg(x)$ ;  $Y_5=117,9-30,7lg(x)$ ;  $Y_6=111,68-20,06lg(x)$ ;  $Y_7=120,8-40,84lg(x)$  и  $Y_8=120,39-41,69lg(x)$ , где  $x$  – количество дней после облучения в 5,3Гр (рис. а).

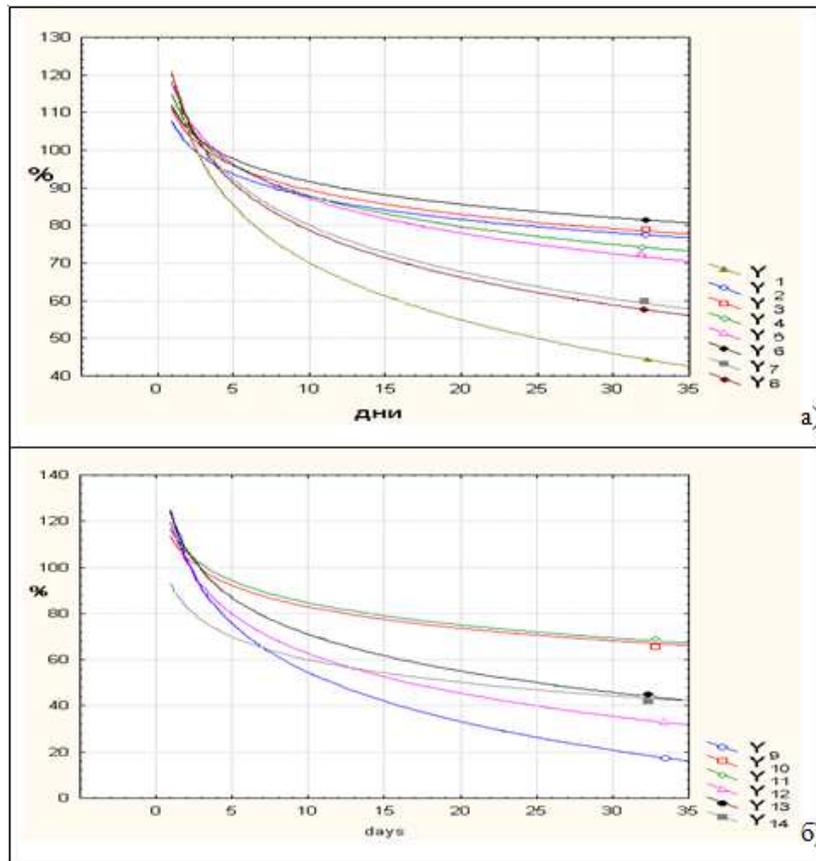


Рисунок. Кривые логарифмической регрессии по выживаемости в контрольных группах и группах животных, которым до облучения в дозе 5,3Гр (а) и 7,0Гр (б) были введены соединения

Были получены также регрессионные кривые и соответствующие им уравнения, описывающие выживаемость групп животных, облученных дозой 7,0Гр ( $Y_9$  – контрольная группа), которым до облучения были введены РТА ( $Y_{10}$ ); PCN ( $Y_{11}$ ); НВ(PCN); РТА(BF); (L)2Cu:  $Y_9=124,86-70,51g(x)$ ;  $Y_{10}=113,4-30,61g(x)$ ;  $Y_{11}=116,37-31,81g(x)$ ;  $Y_{12}=119,46-56,861g(x)$ ;  $Y_{13}=123,65-52,721g(x)$ ;  $Y_{14}=92,79-32,811g(x)$ , где  $x$  – количество дней после облучения в 7,0Гр (рис. б).

Выживаемость на 30-е сутки у групп с введенными соединениями при 5,3 Гр составляет 70-80%, а при 7,0Гр – 60%, это значительно выше выживаемости при чистом облучении (что свидетельствует о радиозащитных свойствах испытуемых комплексов), но кривые и уравнения логарифмической регрессии дают возможность экстраполируя судить об эффективности этих соединений относительно друг друга. Так, при облучении в 5,3Гр наибольшей эффективностью обладает соединение НК-99 ( $81,0\pm 6,2\%$ ), а наименьшей НК-116 ( $57,5\pm 4,3\%$ ), что подтверждается значениями средней продолжительности жизни в днях. При облучении дозой 7,0Гр наибольшей эффективностью обладает PCN ( $65,1\pm 5,3\%$ ), а наименьшей – НВ (PCN) ( $32,2\pm 2,5\%$ ).

Основываясь на результатах выживаемости и применив методы регрессионного анализа, можно заключить, что исследуемые комплексы проявляют ощутимые радиозащитные свойства. Все соединения показали по наблюдаемым критериям идентичность воздействия на подопытных животных. Различия между соединениями проявляются лишь в степени эффективности воздействия. Предложенный регрессионный метод дает возможность сравнения различных групп животных с введенными различными соединениями.

На основании полученных результатов можно считать, что все исследуемые соединения в той или иной степени эффективно способствуют репаративным процессам, а некоторые из них обладают свойствами выраженных радиомодификаторов.

Показано, что соединение с условным обозначением PCN наиболее эффективно ослабляет лучевую болезнь и повышает выживаемость летально облученных животных. А при облучении дозой 5,3Гр наиболее эффективным средством оказался НК-99. Правильность полученных нами выводов подтвердил расчет средней продолжительности жизни животных.

*Поступила 12.04.19*

## Նոր սինթեզված միացությունների ռադիոպաշտպանիչ ազդեցության արդյունավետության և տևողության գնահատումը

Ա.Գ. Կարապետյան, Կ. Սանտինի, Մ.Հ. Մալաքյան

Ժամանակակից ռադիոկենսաբանության արդի խնդիրներից է նոր արդյունավետ ռադիոպաշտպանիչ միացությունների որոնումը: Այդ ոլորտում հատուկ հետաքրքրություն են ներկայացնում մետաղ-օրգանական կոմպլեքսները: Մեր կենտրոնում հետազոտվել են տարբեր միացություններ, որոնք սինթեզվել են Կամերինո քաղաքի համալսարանում և օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտատեխնոլոգիական կենտրոնում:

Փորձերը կատարվել են սպիտակ, անցեղ առնետների վրա: Կատարվել է ներորովայնային ներարկում 20մգ/կգ չափաբաժնով սուսպենզիայի տեսքով՝ 5,3Գր կամ 7,0Գր դոզաներով ընդհանուր միանվագ ռենտգենյան ճառագայթումից 1 ժամ առաջ: Այս միացությունների ռադիոպաշտպանիչ ակտիվությունը գնահատվել է առնետների ապրելունակության և կյանքի միջին տևողության դինամիկայի տվյալների հիման վրա:

Ապրելունակության փորձերը դրվել են առնետների վրա՝ 10-ական առանձնյակ 1 խմբի համար: Խմբեր՝ ճառագայթահարում 5,3Գր և 7,0Գր (2 ստուգիչ խումբ), PTA+ ճառագայթահարում՝ 5,3Գր և 7,0Գր (2 խումբ), PCN+ ճառագայթահարում՝ 5,3Գր և 7,0Գր դոզայով (2 խումբ), HB(PCN), PTA(BF) և L2(Cu) (մեկական խումբ՝ 7.0Գր), VS-231, VS-233, NK-99, NK-106, NK-116 (մեկական խումբ՝ 5,3Գր):

Վիճակագրական վերլուծությունն իրականացվել է Microsoft Excel, StatSoft, SPSS և StatGraphics Plus համակարգչային ծրագրերի միջոցով:

Հիմնվելով ապրելունակության և կյանքի միջին տևողության վերլուծության արդյունքների վրա՝ կարելի է եզրակացնել, որ ուսումնասիրվող կոմպլեքսները ցուցաբերում են ռադիոպաշտպանիչ հատկություններ՝ տարբեր արդյունավետությամբ: Ստացված ռեզրեսիոն բանաձևերի և կորերի միջոցով նկարագրվել է ապրելունակության դինամիկան, ինչը հնարավորություն է ընձեռել իրագործելու կանխատեսում, ստանալու ցուցանիշների նորմալացման ստույգ ժամանակահատվածը և գտնելու հետազոտվող կոմպլեքսների ազդեցության տևողությունը և արդյունավետությունը:

Հիմնվելով ստացված արդյունքների վրա՝ կարող ենք եզրակացնել, որ ուսումնասիրված միացություններն արդյունավետ նպաստում

են ռեպարատիվ պրոցեսներին և ցուցաբերում են արտահայտված ռադիոմոդիֆիկատորների հասկություններ:

Ռեգրեսիոն վերլուծությունը թույլ է տալիս համեմատել տարբեր նյութերով ներարկված կենդանիների տարբեր խմբերը միմյանց հետ և հայտնաբերել առավել արդյունավետ միացությունները: Այսպես, 5,3Գր դոզայով ճառագայթված և միացություններ ստացած կենդանիների խմբերի ապրելունակությունը միմյանց հետ համեմատելով՝ գտանք ամենաարդյունավետ միացությունը (NK-99 (81.0±6.2%), իսկ 7,0Գր-ի դեպքում՝ PCN (65.1±5.3%): Այդ արդյունքները հաստատվեցին կյանքի միջին տևողության հաշվարկների միջոցով:

### **Evaluation of Duration and Efficiency of Radio Protective Action of New Synthesized Compounds**

**A.G. Karapetyan, C. Santini, M.H. Malakyan**

One of the latest challenges of modern radiobiology is the search for new effective radioactive compounds. Metal-organic complexes are of particular interest in this field. Various compounds have been tested at our Center which are synthesized at the University of Cameron and at the Scientific and Technological Center for Organic and Pharmaceutical Chemistry.

Experiments were performed on white rats. Intravenous injection was performed in the form of 20 mg/kg suspension in 5 Gy or 7 Gy doses an hour before the single X-rays. The radioactive activity of these compounds was assessed on the basis of the ratios of survival and life-long dynamics.

Resilience attempts were made for each group of 10 individuals per group of rats. Groups: Radiation 5.3 Gy and 7.0 Gy (2 control groups); PTA + radiation 5.3 Gy and 7.0 Gy (2 groups); PCN + radiation - 5,3 Gy and 7,0 Gy doses (2 groups); HB (PCN), PTA (BF) and L2 (Cu) (in one group - 7.0 Gy ); VS-231, VS-233, NK-99, NK-106, NK-116 (in one group - 5.3 Gy).

Statistical analysis has been done through Microsoft Excel, StatSoft, SPSS, and StatGraphics Plus software.

Based on the results of lifetime analysis, it can be concluded that the investigated complexes provide radio-protective properties with different efficiency. Due to the regression resolutions and curves obtained, the dynamics of sustainability have been described, which has enabled them to make predictions, get a precise timing of the indicators' normalization, and find the duration and effectiveness of the investigated complexes.

Based on the results obtained, we can conclude that the compounds studied efficiently contribute to repetitive processes and exhibit the properties of expressed radio modic agents.

Regression analysis allows to compare different groups of animals with different substances and find the most effective compounds. Thus, the most effective compound (NK-99 ( $81.0 \pm 6.2\%$ )) with the 5.3 Gy dose radiation and the survival of the animals were compared with each other and PCN ( $65.1 \pm 5.3\%$ ) in the case of 7.0 Gy. These results were confirmed through the average lifetime calculations.

### Литература

1. Буреева Н.Н. Многомерный статистический анализ с использованием ППП STATISTICA, Нижний Новгород: ННГУ, 2007.
2. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов STATISTICA и EXCEL, М., 2008.
3. Гусова Б.А., Семухин А.Н. Экстренная медицинская помощь при химических, биологических и радиационных поражениях в условиях чрезвычайных ситуаций. Пятигорск, 2010.
4. Саксонов П.П., Шапков В.С., Сергеев П.В. Радиационная фармакология. М., 1976.
5. Bhirud R. G., Srivastava T. S. Superoxide dismutase activity of  $\text{Cu(II)}_2(\text{aspirinate})_4$  and its adducts with nitrogen and oxygen donors. *Inorganica Chimica Acta*, 1990, v.173, (1), 121-125.
6. John R.J., Sorenson Lee S.F., Soderberg and Louis W. Chang Radiation Protection and Radiation Recovery with Essential Metalloelement Chelates. *Proc Soc Exp Biol Med.*, 1995, 210:191-204.
7. Riley D.P. Functional mimics of superoxide dismutase enzymes as therapeutic agents. *Chem. Rev.*, 1999 (99), 2573–2588.
8. Salvemini D., Riley D.P., Cuzzocrea S. SOD mimetics are coming of age. *Nat. Rev. Drug Discover.* 1., 2002, 367–374.