

УДК 615.099 : 615.035 : 615.246.9

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ АНТИДОТНОЙ ТЕРАПИИ ОТРАВЛЕНИЙ ЦИАНИДАМИ

В.Д. Гладких,
Г.В. Вершинина

ФГУП НПЦ «Фармзащита»
Федерального медико-биологического
агентства, 141402, г. Химки,
Российская Федерация

В статье, на основании анализа литературы, обсуждаются перспективные направления разработки антидотной профилактики и терапии острых отравлений цианидами. На роль потенциальных антидотов цианидов, эффективных и безопасных при внутримышечной и внутрикостной инъекциях, ингаляционной и пероральной доставке, претендуют химические соединения, опосредующие антицианидную активность за счет стимуляции основных механизмов детоксикации эндогенного цианида: сульфанген, кобинамид, α -кетоглутаровая кислота.

Ключевые слова: антидоты, детоксикация, кобинамид, токсичность, сульфанген, цианиды, α -кетоглутаровая кислота.

Введение. В рамках Международной программы химической безопасности Всемирной организации здравоохранения разработан и рекомендован к применению список цианидных антидотов, включающий: амилнитрит, тиосульфат натрия, нитрит натрия, 4-диметиламинофенол, гидроксокобаламин и дикобальтовую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты. Практически все перечисленные антидоты, за исключением гидроксокобаламина, обладают выраженным побочным действием. Ни один из существующих цианидных антидотов не отвечает критериям, предъявляемым к «идеальному» противоядию, который, по мнению А. Н. Hall et al. [1], должен отвечать следующим требованиям: быстрое начало действия; нейтрализация цианида без нарушения транспортных функций кислорода; наличие защитных и переносимых профилей для использования на догоспитальном этапе; безопасность применения пораженным токсическими продуктами горения; безопасность назначения пациентам с не подтвердившимся диагнозом отравления цианидами; простота введения. Отсутствие международной гармонии в отношении эффективности и безопасности существующих цианидных антидотов [2] инициирует серьезные исследовательские усилия по разработке инновационных антидотов.

В результате экспериментально-теоретических исследований, выполненных в последние го-

ды, на роль потенциальных антидотов цианидов, эффективных и безопасных при внутримышечной и внутрикостной инъекциях, ингаляционной и пероральной доставке, претендуют химические соединения, опосредующие антицианидную активность за счет стимуляции основных механизмов детоксикации эндогенного цианида (рис.1).

Детоксикация цианидов посредством образования нетоксичных роданистых соединений. При острой цианидной интоксикации одним из направлений антидотной терапии является введение донора серы для ускорения биотрансформации цианида до тиоцианата (SCN). Ферментативная конверсия цианида в тиоцианат (SCN), катализируется роданазой либо 3-меркаптопируватсульфотрансферазой (3-MPST).

Оба фермента образуют тиоцианат в качестве продукта сульфатирования цианидов, используя при этом различные субстраты и механизмы катализа. Введение экзогенных субстратов серы, таких как традиционный антидот цианидов тиосульфат натрия, увеличивает пул субстратов для облегчения опосредованной роданазой реакции. Учитывая побочные токсичные реакции тиосульфата натрия, в качестве потенциальных антидотов цианидов рассматриваются доноры серы, альтернативные тиосульфату натрия.

Определенный прогресс был достигнут при скрининге на антицианидную активность 3-Mercaptopyruvatedithiane (Sulfangen sodium).

Гладких Вадим Дмитриевич (Gladkikh Vadim Dmitrievich), доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по науке ФГУП НПЦ «Фармзащита» Федерального медико-биологического агентства, Gladkikh2007@rambler.ru

Вершинина Галина Васильевна (Vershinina Galina Vasilevna), научный сотрудник научно-организационного отдела ФГУП НПЦ «Фармзащита» Федерального медико-биологического агентства, vershinina@atompharm.ru

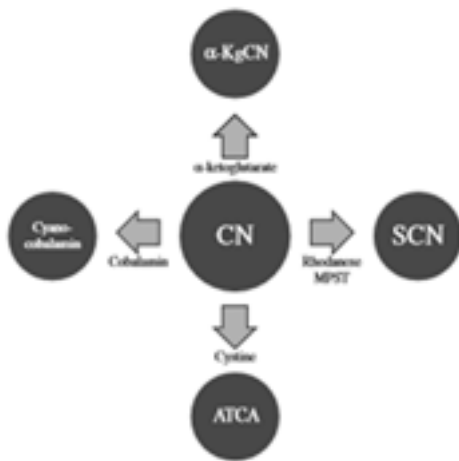


Рис. 1. Механизмы детоксикации эндогенного цианида с образованием нетоксичных α-кетоглутарат циангидринов (A-KgCN); цианкобаламина (суапосоbаламин); 2-амино-2-тиазолин-4-карбоновой кислоты (АТСА) и тиоцианата (SCN)

Сульфанген (*Sulfangen sodium*) спонтанно диссоциирует с катаболитом цистеина 3-меркаптопируватом. Последний является субстратом 3-MPST, который катализирует высвобождение сульфона (синглетной серы) из 3-меркаптопирувата. Взаимодействие циан-иона с сульфеном приводит к образованию тиоцианата (рис.2).

Водорастворимые соли сульфангена были получены в ряду эквипотентных сульфангену натрия солей триэтаноламмония, диэтаноламмония, глюкозаммония, N,N-диметилэтаноламмония, N-метилэтаноламмония и холина. Сравнительные исследования солей сульфангена, включая растворимость, токсичность и эффективность, проводятся для выбора оптимального кандидата для коммерческого развития данного направления поиска антидотов цианидов.

При профилактическом (за 30 мин до затравки) внутрибрюшинном введении сульфангена индекс защиты (ИЗ) составлял 3,8 – 4,3; при терапевтическом (через 5 мин после воздействия цианидов) введении ИЗ = 4 [3]. Сульфанген оказался эффективным противоядием цианида в экспериментальных моделях (внутривенное введение

в опытах на мышах, кроликах, свиньях) острого отравления цианидами [4, 5].

В качестве другого направления поиска безопасных и эффективных антидотов цианидов рассматривалась возможность использования экзогенно вводимой роданазы. Так как родоназа локализуется в матрице митохондрий, неорганические ионизированные доноры серы, такие как тиосульфат натрия, имеют ограниченную доступность к ферменту. Чтобы преодолеть это фармакокинетическое ограничение, кристаллизованную родоназу вводили непосредственно в кровотоки. В более ранних исследованиях было показано, что одновременное введение тиосульфата натрия и очищенной бычьей роданазы значительно уменьшало летальность цианида, однако продолжительность защитного действия была короткой, что ограничивало возможность использования данного подхода [6].

Для увеличения продолжительности действия экзогенно вводимой роданазы J. L. Way [7] инкапсулировал бычью родоназу в эритроциты, а I. Petrikovics, et al. [8] использовали бутантиосульфат в качестве альтернативного донора серы, который вводили после внутривенной инъекции инкапсулированной бычьей роданазы.

Потенциальные ограничения этого подхода для практической реализации использования роданазы в качестве антидота связаны с возможным развитием аллергических реакций, которые могут быть преодолены с помощью рекомбинантной человеческой роданазы. В недавних исследованиях сообщалось об использовании липосомных везикул, инкапсулирующих родоназу в виде цианидного антидота [9]. Об антидотной эффективности этих систем доставки не сообщалось.

В метаболизме цианида участвуют также фермент цистатионаза-γ-лиаза (γ-цистатионаза), продуцирующая тиоцистин (бис(2-амино-2-карбоксиил)трисульфид) и тиоцистеин (3-(тиосульфено)аланин).

Тиоцистин оказался в семь раз эффективнее тиосульфата натрия в качестве сернистого субстрата в катализируемом родоназой транссульфировании цианида в SCN^- [10]. Не исключается возможность использования этого эндогенного

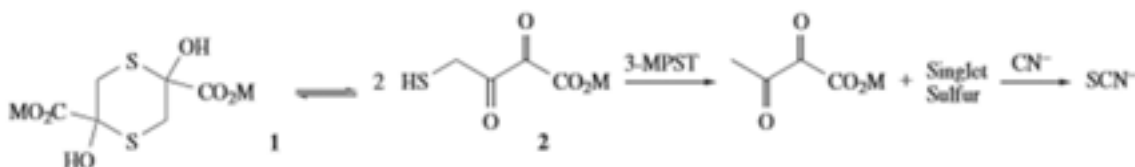


Рис. 2. 3-MPST опосредованный метаболизм цианида: сульфанген (соединение 1); 3-меркаптопируват (соединение 2) с последующей реакцией образования тиоцианата.

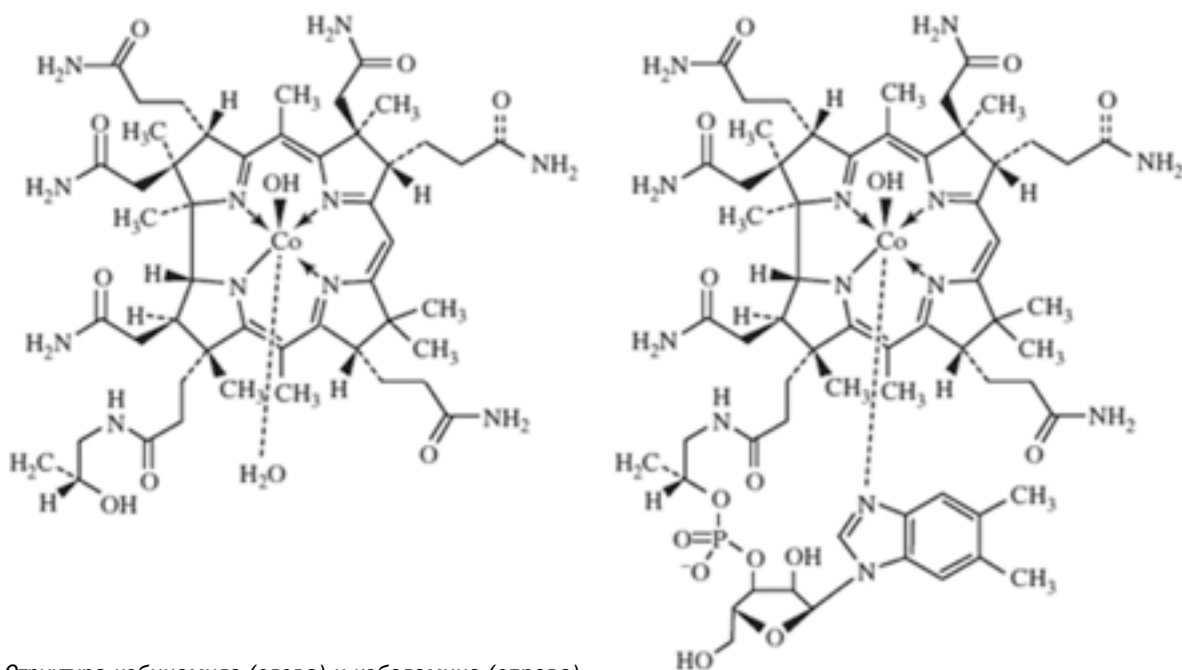


Рис. 3. Структура кобинамида (слева) и кобаламина (справа)

механизма детоксикации при поиске потенциальных антидотов цианидов.

В качестве одного из перспективных направлений рассматривалась разработка антидотов на основе дисульфидов как донаторов серы (вещества под кодом *ICD*). В экспериментах на животных по меньшей мере два донатора серы в выбранных дозах обеспечивали 100%-ю защиту от $2DL_{50}$ NaCN: препараты *ICD2214* (2-аминоэтил 4-метоксифенил дисульфид гидрохлорид) и *ICD2467* (бис 4 метоксифенил дисульфид). Данные соединения вводили внутривенно за 15 мин до введения цианида натрия [11].

Детоксикация цианидов посредством образования нетоксичных цианкобаламинов.

Циан-ион представляет собой амбидентатный лиганд, который связывается с комплексообразователем через разные атомы, входящие в его состав. В биологических системах он легко образует комплексы с переходными тяжелыми металлами (в частности, с кобальтом в белковых комплексах). Образование металлоцианидных комплексов лежит в основе антидотного действия гидроксокобаламина и потенциального антидота цианидов - кобинамида [12].

Кобинамид (*Cobinamide*) — предпоследнее соединение в цепи биосинтеза кобаламина (витамина V_{12}). Он отличается от кобаламина отсутствием рибонуклеотидной группы диметилбензимидазола, привязанной к пуриновому кольцу и скоординированной с нижним осевым положением атома кобальта (рис. 3). Особенности его химического строения (по сравнению с кобаламином)

позволяют предполагать наличие у него более выраженной антицианидной активности, обусловленные следующими положениями.

Во-первых, оба сайта связывания верхнего и нижнего лигандов кобинамида являются свободными, тогда как кобаламин имеет только сайт связывания с верхним лигандом. Следовательно, кобинамид может связывать два цианидных иона (тогда как кобаламин связывает только один), тем самым создавая равноэффективный защитный эффект при введении в меньших дозах.

Во-вторых, группа диметилбензимидазола имеет отрицательный трансэффект на верхнем связующем сайте кобаламина, вытягивая кобальт из плоскости пуринового кольца, тем самым уменьшая аффинность кобаламина к лигандам. В результате кобаламин связывает цианид с константой ассоциации (*КА*) $1012 M^{-1}$. В то же время кобинамид связывает первый циан-ион с $КА > 1014 M^{-1}$, второй — с $КА 108 M^{-1}$ (суммарный $КА > 1022 M^{-2}$). Последнее значение представляет собой достаточно высокую константу ассоциации, свойственную хелатирующим агентам [13].

В-третьих, кобинамид является менее водорастворимым, чем кобаламин, что позволяет использовать более концентрированные растворы первого по сравнению с последним. При растворении в воде гидроксил и молекула воды связываются с кобальтом кобинамида, в результате получается гидроксокобинамид.

Антицианидная эффективность кобинамида исследовалась на альтернативных биологических

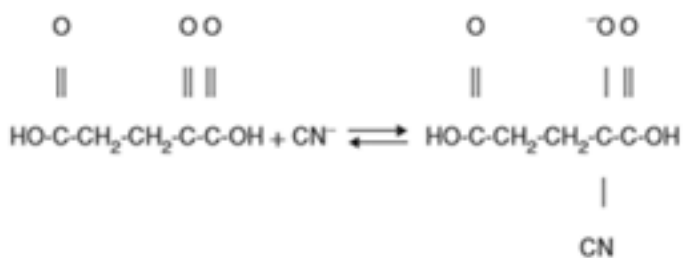


Рис. 4. Схема взаимодействия А-КГ с циан-ионом с образованием нетоксичного циангидрина

моделях, в опытах на мышах, крысах и кроликах.

В клеточных культурах фибробластов легких хомячка китайского, обработанных цианидом, кобинамид более эффективно восстанавливал клеточную респираторную активность и полностью инвертировал цианид-индуцированное ингибирование роста клеток по сравнению с гидроксокобаламином. В опытах на *Drosophila melanogaster* кобинамид также проявлял более выраженную антицианидную активность, чем гидроксокобаламин [14].

По данным F. Chan, et al. [15], M. Brenner, et al. [16, 17] кобинамид показал высокую защитную эффективность (превышающую эффективность гидроксокобаламина или комбинации тиосульфата натрия и нитрита натрия) в экспериментах на мышах, крысах и кроликах. При этом ингаляционный и/или внутрикостный путь введения обеспечивал быструю (сопоставимую с внутривенной инъекцией) доставку эффективных доз препарата в системную циркуляцию.

Прогнозируемая эффективная и безопасная доза кобинамида для человека, рассчитанная на основании полученных в эксперименте данных, составляет 10–15 мг/кг.

Детоксикация цианидов посредством образования нетоксичных циангидринов. К перспективному направлению создания принципиально нового перорального лечебно-профилактического антидота цианидов относятся исследовательские работы с производными 2-оксокарбоновых кислот, образующих с цианидами малотоксичные циангидрины. В 1997 г. в качестве антидота цианидов в США была запатентована 2-оксопропандиоловая кислота [18]. В тексте к патенту указано, что препарат активен в дозе 0,2 г/кг при внутривентральном способе введения, профилактически защищает от DC_{50} цианидов. Дальнейшего продолжения работ с этим препаратом не последовало, что, вероятно, связано с недостаточной стабильностью 2-оксопропандиоловой кислоты.

В одном из первых сообщений, касающихся экспериментальной оценки возможности использования α -кетоглутаровой кислоты (А-КГ) в качестве антидота цианидов, констатировалось,

что препарат, как в изолированном виде, так и в комбинации с тиосульфатом натрия, обладает статистически достоверным терапевтическим эффектом [19].

Механизм антагонизма А-КГ с цианидом был описан J.S. Norris et al. [20]. Цианид, являясь высокорекреативным нуклеофилом, связывает CN^- -ионы в сосудистом русле с образованием нетоксичного комплекса циангидрина (рис. 4), снижая их поступление к тканям-мишеням, что, в свою очередь, уменьшает тканевую гипоксию [21].

Первые подробные экспериментальные данные, свидетельствующие о высокой антидотной активности А-КГ при цианидной интоксикации в опытах на мышах были предоставлены [22]. В дальнейшем антидотная эффективность А-КГ была подтверждена в экспериментах на собаках [20]. Результаты экспериментов показали, что антицианидная активность А-КГ превышает такую диметиламинофенола, дикообальта ЭДТА и тиосульфата натрия и сопоставима с активностью гидроксокобаламина [23].

Установлено так же, что А-КГ при пероральном способе введения крысам до введения цианогенов в дозах СД_{50} успешно защищает от отравления ацетонитрилом, акрилонитрилом, малонитрилом, пропионитрилом и нитропруссидом натрия [24].

При сравнительном исследовании защитной эффективности различных карбонильных соединений и их метаболитов в отношении цианогенов (ацетонитрила, акрилонитрила, малонитрила, пропионитрила, нитропруссиды натрия, калия феррицианида) в опытах на крысах было показано что наиболее высокой антицианидной активностью обладала кетоглутаровая кислота. Максимальный индекс защиты (ИЗ=5,6) отмечался на фоне отравления малонитрилом и пропионитрилом [25].

Экспериментально-теоретическое обоснование возможности использования А-КГ, как перорального антидота цианидов было дано R. Bhattacharya [24].

R. K. Tulsawani. et al. [26] продемонстрировали высокую антицианидную активность А-КГ при пероральном введении и предложил использовать его в качестве потенциального профилактического антидота при чрезвычайных ситуациях, сопровождающихся выбросом цианидов в окружающую среду. Согласно доклиническим исследованиям, эффективная доза А-КГ составила 2,0 г/кг; в исследованиях на добровольцах эта доза уменьшена до 150 мг/кг массы тела при условиях поддержания достаточной гидратации [27].

Многими исследователями обращалось внимание на цитопротекторные эффекты А-КГ, оцениваемые по цианид-индуцированной цитотоксичности на изолированных клеточных куль-

турах [28-31]. При сочетанном применении *A-KG* с *N*-ацетилцистеином удается избежать цитотоксичности и окислительного стресса, инициируемых цианидом [32, 33]. Подбор оптимальных рецептур на основе *A-KG* представляется перспективным направлением совершенствования антидотной терапии острых отравлений цианидами.

Заключение. Результаты экспериментальных исследований, выполненных в последние

годы, свидетельствуют, что на роль потенциальных антидотов цианидов, эффективных при внутримышечной, внутрикостной инъекциях и ингаляционной доставке, претендуют: субстрат 3-МРСТ Сульфанген (*Sulfangen sodium*) и предшественник витамина B_{12} Кобинамид (*Cobinamide*). В качестве перспективных пероральных антидотов цианидов рассматриваются препараты на основе α -кетоглутаровой кислоты

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES:

- Hall A. H., Sakers J., Baud F. Which cyanide antidote? // Crit. Rev. Toxicol. – 20 – 541-52.
- Baud F. Cyanide: critical issues in diagnosis and treatment // Human Exp. Toxicol. – 20 – 191-201.
- Nagasawa H. T., Goon D. J., Crankshaw D. L. Novel, orally effective cyanide antidotes // J. Med. Chem. – 20 – Vol. 50, No. – P. 6462-6464.
- Brenner M., Lim J. G., Lee J., et al. Sulfanegen sodium treatment in a rabbit model of sub-lethal cyanide toxicity // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 20 – 269-76.
- Belani K. G., Singh H., Beebe D. S., et al. Cyanide toxicity in juvenile pigs and its reversal by a new prodrug, sulfanegen sodium // Anesth. Analg. – 20 – 114 (5) – 956-61.
- Clemmedson C. J., Hultman H. I., Sorbo B. The antidote effect of some sulfur compounds and rhodanese in experimental cyanide poisoning // Acta Physiol. Scand. – 19 – 245-51.
- Way J. L., Cannon E., Leung P., et al. Antagonism of cyanide intoxication with rhodanese encapsulated resealed erythrocytes // Adv. Biosci. – 19 – 207-11.
- Petrikovics, I., Cannon, E. P., McGuinn, W. D., et al. Cyanide antagonism with carrier erythrocytes and organic thiosulfonates // Fundam. Appl. Toxicol. – 19 – 86-93.
- Petrikovics I., Budal M., Baskin S. I., et al. Characterization of liposomal vesicles encapsulating rhodanese for cyanide antagonism // Drug. Deliv. – 20 – 312-19.
- Szczepkowski T. W., Wood J. L. The cystathionase rhodanese system // Biochim. Biophys. Acta. – 19 – 1– 469-78.
- Baskin S. I., Porter D. W., Rockwood G. A., et al. In vitro and in vivo comparison of sulfur donors as antidotes to acute cyanide intoxication // J. Appl. Toxicol. – 19 – 19 (3). – P. 173-182.
- Chan A., Balasubramanian M., Blackledge W., et al. Cobinamide is superior to other treatments in a mouse model of cyanide poisoning // Clin. Toxicol. (Phila). – 20 – 709-17.
- Hayward G. C., Hill H. A. O., Pratt J. M., et al. The chemistry of vitamin BPart IV: The thermodynamic trans effect // J. Chem. Soc. – 19 – 6485-93.
- Broderick K. E., Potluri P., Zhuang S., et al. Cyanide detoxification by the cobalamin precursor cobinamide // Exp. Biol. Med. Maywood. – 20 – 2– 641-9.
- Chan A., Crankshaw D. L., Monteil A., et al. The combination of cobinamide and sulfanegen is highly effective in mouse models of cyanide poisoning // Clin. Toxicol. (Phila). – 20 – 366-73.
- Brenner M., Kim J. G., Mahon S. B., et al. Intramuscular cobinamide sulfite in a rabbit model of sublethal cyanide toxicity // Ann. Emerg. Med. – 20 – 352-62.
- Brenner M., Mahon S. B., Lee J., et al. Comparison of cobinamide to hydroxocobalamin in reversing cyanide physiologic effects in rabbits using diffuse optical spectroscopy monitoring // J. Biomed. Opt. – 20 – 017001.
- Patent № 5674904, Method for the treatment of cyanide poisoning, Oct. 7, 1997.
- Schwartz C., Morgan R. L., Way L. M. et al. Antagonism of cyanide intoxication with sodium pyruvate // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 19 – Vol. – P. 437-441.
- Norris J. C., Utley W. A., Hume A. S. Mechanism of antagonising cyanide induced lethality by -ketoglutarate acid // Toxicology. – 19 – 3-9.
- Hume A. S., Moore S. J., Hume A. T. Effects of alpha-ketoglutaric acid on the distribution of cyanide and acidosis associated with cyanide intoxication // Toxicologist. – 19 – P. 98.
- Moore S. J., Norris J. C., Ho I. K., Hume A. S. The efficacy of -ketoglutaric acid in the antagonism of cyanide intoxication // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 19 – 40-4.
- Kravzov J., Rios C, Altgracia M., Jimenez D. Comparison of cobalt edetate and alpha-ketoglutarate as antidotes against cyanide intoxication in mice // Proc. West. Pharmacol. Soc. – 19 – 43-4.
- Bhattacharya R., Satpute R. M., Hariharakrishnan J., et al. Acute toxicity of some synthetic cyanogens in rats and their response to oral treatment with alpha-ketoglutarate // Food. Chem. Toxicol. – 20 – 2314-20.
- Bhattacharya R., Niranjan L. Protective efficacy of various carbonyl compounds and their metabolites, and nutrients against acute toxicity of some cyanogens in rats: biochemical and physiological studies // Interdisciplinary Toxicology. – 20 – Vol. 10 (1). – 1-10.
- Tulsawani R. K., Kumar D., Bhattacharya R. Effect of pretreatment of -ketoglutarate on cyanide-induced toxicity and alterations in various physiological variables in rodents // Biomed. Environ. Sci. – 20 – 56-63.
- Mittal G., Singh T., Kumar N., et al. Radiolabeling and dose fixation study of oral alpha-ketoglutarate as a cyanide antidote in healthy human volunteers // Clin. Toxicol. – 20 – 509-15.
- Niknahad H., Khan S., Sood C., O'Brien P. Prevention of cyanideinduced cytotoxicity by nutrients in isolated rat hepatocytes // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 19 – 1– 271-9.
- Hariharakrishnan J., Satpute R. M., Prasad G. B. K. S., Bhattacharya R. Oxidative stress mediated cytotoxicity of cyanide in LLC-MK2 cells and its attenuation by Alpha-ketoglutarate and N-acetyl cysteine // Toxicol. Lett. – 20 – 1– 132-41.
- Hariharakrishnan J., Satpute R. M., Bhattacharya R. Cyanideinduced changes in the levels of neurotransmitters in discrete brain regions of rats and their response to oral treatment with
- ketoglutarate // Indian J. Exp. Biol. – 20 – 731-6.
- Bhattacharya R., Tulsawani R. K. In vitro and in vivo evaluation of various carbonyl compounds against cyanide toxicity with particular reference to alpha-ketoglutaric acid // Drug Chem. Toxicol. – 20 – 149-61.
- Satpute R. M., Hariharakrishnan J., Bhattacharya R. Effect of alpha-ketoglutarate and N-acetyl cysteine on cyanideinduced oxidative stress mediated cell death in PC12 cells
- // Toxicol. Ind. Health. – 20 – 297-308.
- Satpute R. M., Hariharakrishnan J., Lomash V., et al. Oxidative stress and tissue pathology caused by subacute exposure to ammonium acetate in rats and their response to treatments with alpha-ketoglutarate and N-acetyl cysteine // Toxicol. Ind. Health. – 20 – DOI:10.1177/0748233712448117.

V.D. Gladkikh, G.V. Vershinina

POTENTIAL DIRECTIONS OF THE IMPROVEMENT OF ANTIDOTE THERAPY OF CYANIDE POISONING

Research and Production Center “Pharmaceutical Protection”, Federal Medical Biological Agency, 141402, Khimki, Russian Federation

The article on the basis of an analysis of the literature discusses promising areas for the development of antidote prophylaxis and treatment of acute cyanide poisoning. The chemical compounds mediating anticyanide activity by stimulating the main detoxification mechanisms of endogenous cyanide: sulfanegen, cobinamide, α -ketoglutaric acid claimed to be potential cyanide antidotes, effective and safe for intramuscular and intraosseous injections, inhalation and oral administration.

Keywords: antidotes, detoxification, cobinamide, toxicity, sulfanegen, cyanide, α -ketoglutaric acid.

Материал поступил в редакцию 23.04.2019 г.