

УДК 615.03-099: 582: 615.015.44

Л. Е. ЕРМЕКОВА

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРЕДКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЙ УЛУЧШЕННЫХ ФРАКЦИЙ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ПРОАНТОЦИАНИДИНА «ЖАНТАРИД»

(Казахстанско-Российский медицинский университет, г. Алматы)

Обобщены результаты доклинических испытаний новых фракций отечественного проантоцианидина Жантарида. Препараты ВВ2, ВКА менее токсичны, чем ВКНРВО№3 и БВВ, ВВ1. Препараты ВВ2 и ВКА вызывают первые токсические изменения на молекулярном уровне в дозе 750 мг/кг массы тела, что позволяет назвать средней суточной терапевтической дозу 700 мг/кг веса и высшей 725 мг/кг веса. Препараты ВКНРВО№3 и БВВ, ВВ1 вызывают токсические изменения на молекулярном уровне в дозе 725 мг/кг веса. Высшая терапевтическая доза для данных препаратов составляет 700 мг/кг веса, а средняя должна быть определена при исследованиях более низких доз: от 675 мг/кг веса и ниже.

Проантоцианидины являются естественными ингредиентами широко распространенных фруктов, овощей, растений. Они представляют собой класс фенольных соединений, которые могут быть в виде олигомеров или полимеров с основанием полигидроксифлаван-3, таким как положительным катехиновым и отрицательным эпикатехиновым звеном [1, 3–5]. Одним из казахстанских природных источников проантоцианидинов является Верблюжья колючка киргизская (*Alhagi Kirgisorum Screnk*). Отечественный препарат Жантарид, полученный из данного сырья показал при доклинических и клинических исследованиях антиоксидантный, иммуностимулирующий и противоопухолевый эффект. [2]. В настоящее время путем дополнительной очистки и фракционирования жантарида были получены вещества с рабочими названиями «БВВ», «ВВ1», «ВВ2», «ВКА», «ВКНРВО№3».

Цель исследования: изучить острую и хроническую токсичность препаратов БВВ, ВВ1, ВВ2, ВКА, ВКНРВО№3.

Материалы и методы: исследования проводились в соответствии с общепринятыми стандартами изучения острой и хронической токсичности лекарственных веществ.

Исследования были проведены на 180 крысах – самцах линии «Август». Каждый из препаратов вводились ежедневно внутрибрюшинно в дозировках 700 мг/кг, 725 мг/кг, 750 мг/кг массы тела животных. Выяснилось, что однократное введение препаратов в дозе 500 мг/кг веса животных не вызывало каких-либо видимых изме-

нений в состоянии здоровья животных, поэтому хроническая токсичность изучалась в диапазоне доз 500–750 мг/кг массы тела животных. Исследования каждого из препаратов БВВ, ВВ1, ВВ2, ВКА, ВКНРВО№3 проводились на группе из 30 животных: АО 10 животных на каждую исследуемую дозировку препаратов. Контрольную группу составили крысы из таких же 30 животных.

Контрольным животным водилась вода в объеме вводимых препаратов. Исследования продолжались 30 дней.

Наряду с традиционными методами исследования смертность, поведение, поедаемость корма, темпы нарастания массы тела, клинические, лабораторные анализы, морфологические исследования), нами были использованы исследования АЛТ (аланинаминотрансфераза) и АСТ (аспартатаминотрансфераза) в плазме крови, уровень шифровых оснований, цитохромов Р-450 и b-5 в печени. Клинические лабораторные и биохимические исследования проводились на 30 сутки после начала исследования. Исследуемым материалом являлись гомогенат печени, ультрагомогенат печени, цельная кровь, плазма крови. Ультрагомогенат получали при продавливании органа через стальное сито, затем при необходимости печень гомогенизировалась в механическом охлаждаемом гомогенизаторе стекло-телефон в буфере Трис (HCl, pH 7,4, 50 mM, KCl в соотношении 1:4). Цельная кровь для подсчета форменных элементов забиралась прижизненно, из хвостовых сосудов.

Уровень цитохромов P-450 и b-5 в гомогенате печени определяли спектрофотометрически, по дитионит-разносному спектру CO-обработанного 20-кратного разбавленного буфером гомогената.

Концентрацию шиффовых оснований определяли флюоресцентным методом в области 400–460 нм при длине возбужденной световой волны 310–370 нм.

Морфологические исследования проводились путем микроскопии окрашенных тканей,

предварительно фиксированных в 0,25% растворе формалина.

Результаты исследования и их обсуждение. Смертности во всех полученных дозах не наблюдалось. Общее самочувствие и скорость поедаемости корма у животных 5 опытных групп не отличалась от контрольной.

Все 5 препаратов в целом проявили низкую токсичность, о чем свидетельствовали абсолютные и относительные показатели прироста массы тела (табл. 1, 2).

Таблица 1. Динамика роста массы тела экспериментальных животных в % к исходной массе

Препарат	Доза	Неделя			
		1	2	3	4
Контроль	–	113,5±1,8	136,8±2,1	134,7±2,3	150,5±3,4
БВВ	700 мг/кг	101,7±3,6	117,7±4,1	144,6±2,9	166,2±4,7
	725 мг/кг	114,2±3,8	137,6±7,6	152,0±9,9	187,2±15,9
	750 мг/кг	109,7±2,2	131,1±4,5	152,0±6,5	181,5±10,2
ВВ1	700 мг/кг	100,2±3,2	115,7±3,1	142,2±2,4	170,2±(4,8)
	725 мг/кг	111,2±3,7	131,6±6,6	152,0±7,9	186,5±12,7
	750 мг/кг	108,8±2,2	133,3±4,6	153,0±6,5	180,5±11,2
ВВ2	700 мг/кг	116,7±2,7	143,7±5,7	140,3±5,7	161,6±5,1
	725 мг/кг	123,5±3,0	158,7±2,9	165,6±3,4	187,9±3,2
	750 мг/кг	104,1±3,5	110,6±5,5	111,2±5,4	132,8±8,1
ВКА	700 мг/кг	116,7±2,7	143,7±5,7	140,3±5,7	161,6±5,1
	725 мг/кг	123,5±3,0	158,7±2,9	165,6±3,4	187,9±3,2
	750 мг/кг	104,1±3,5	110,6±5,5	111,2±5,4	132,8±8,1
ВКНРВО№3	700 мг/кг	101,2±3,4	115,7±3,1	143,2±2,8	169,2±5,3
	725 мг/кг	112,2±3,4	131,6±6,6	152,0±7,9	184,5±10,7
	750 мг/кг	109,1±2,1	134,3±4,1	153,0±6,5	178,5±11,2

Таблица 2. Относительные приrostы массы тела, %

Препарат	Недели наблюдения	Дозы		
		700 мг/кг	725 мг/кг	730 мг/кг
Контроль	2	25,4	25,4	25,4
	4	49,2	49,2	49,2
БВВ, ВВ1, ВКНРВО№3	2	17,8	36,2	28,6
	4	68,0	84,4	76,4
ВВ2, ВКА	2	43,1	60,2	15,8
	4	61,3	85,8	38,9

Препараторы БВВ, ВВ1 в дозе 700 мг/кг, препараты ВВ2, ВКА, ВКНРВО№3 в дозе 725 мг/кг массы животных стимулировали тканевое дыхание и, как следствие, оказывали четкое биостимулирующее действие (табл. 3–5). Однако ВКНРВО №3 в дозе 725 мг/кг вызывал неблагоприятные

биохимические сдвиги, а при повышении дозы до 750 мг/кг наблюдались морфологические изменения. БВВ, ВВ1 в дозе 700 мг/кг и ВВ2, ВКА в дозе 725 мг/кг нарушили биохимические процессы, причем эти сдвиги сопровождались минимальными морфологическими изменениями.

Таблица 3. Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ)

Препарат	Показатель	Доза мг/кг		
		700	725	700
Контроль	АЛТ			
АСТ	33,2±4,2	33,2±4,2 104,0±21,0	33,2±4,2 104,0±21,0	104,0±21,0
БВВ	АЛТ АСТ	55,2±5,1 308,0±2,0	42,0±9,1 175,0±27,0	48,1±2,8 195,0±16,0
BB1	АЛТ АСТ	51,2±4,9 309,0±21,0	42,5±8,7 176,0±26,0	48,1±2,8 189,0±17,0
BB2	АЛТ АСТ	47,5±5,2 285,0±20,0	71,2±9,1 350,0±44,0	56,81±4,1 288,0±27,0
BKA	АЛТ АСТ	47,5±5,1 285,0±19,0	71,2±9,1 347,0±43,6	56,64±4,3 286,0±26,0
ВКНРВО№3	АЛТ АСТ	55,2±5,1 307,0±19,3	43,0±7,1 174,0±26,0	48,1±2,7 194,6±17,0

Таблица 4. Уровень флюоресцирующих шиффовых оснований в печени (отн. ед. флюоресценции/1 г печени)

Препарат	Доза мг/кг		
	700	700	700
Контроль	2221±251	2221±251	2221±251
БВК	3006±332	2524±118	2504±88
BB1	3004±309	2510±120	2498±85
BB2	2173±54	2315±120	2285±165
BKA	2170±48	2308±110	2280±160
ВКНРВО№3	2998±197	2427±109	2407±79

Таблица 5. Уровень цитохромов Р-450 и b5 в печени крыс нМ/1 г печени)

Препарат	Показатель	Доза мг/кг		
		700	725	750
Контроль	P-450 b5	27,8±3,4 44,3±7,4	27,8±3,4 44,3±7,4	27,8±3,4 44,3±7,4
БВВ	P-450 b5	30,8±7,2 57,5±2,3	33,9±2,1 40,3±0,7	27,3±2,5 30,0±2,1
BB1	P-450 b5	30,2±6,2 57,0±2,0	33,7±2,1 40,3±0,5	27,0±2,0 30,7±2,3
BB2	P-450 b5	31,1±2,1 50,2±2,3	33,3±4,1 40,3±2,0	44,3±3,3 60,5±7,5
BKA	P-450 b5	31,0±1,1 50,0±1,3	33,3±1,1 40,0±1,7	45,0±2,3 60,4±5,5
ВКНРВО№3	P-450 b5	30,7±7,2 57,0±2,0	33,9±2,1 40,0±0,6	27,3±2,1 29,8±2,0

Таким образом, препараты ВВ2, ВКА менее токсичны, чем ВКНРВО№3 и БВВ, ВВ1 (табл. 1–5). Препараты ВВ2 и ВКА вызывают первые токсические изменения на молекулярном уровне в дозе 750 мг/кг массы тела, что позволяет назвать средней суточной терапевтической дозу 700 мг/кг веса и высшей 725 мг/кг веса. Препараты ВКНРВО №3 и БВВ, ВВ1 вызывают токсические изменения на молекулярном уровне в дозе 725 мг/кг веса, в связи с чем высшая терапевтическая доза для данных препаратов составляет 700 мг/кг веса, а средняя должна быть определена при исследованиях более низких доз: от 675 мг/кг веса и ниже.

Исследования показали, что при введении токсических доз препаратов сдвиги гомеостаза на молекулярном уровне значительно опережают первые морфологические и клинические проявления патологии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Yamakoshi J., Saito M., Kataoka S., Kikuchi M. Safety evaluation of proanthocyanidins-rich extract from grape seeds // Food Chemical Toxicol. 2002; 40: 599-607.
2. Бурашева Г.Ш., Рахимов К.Д., Абильов Ж.А. Биологически активный комплекс – алхидин и его фармакологическая активность. Алматы 2001. 180 с.
3. Silva R.C., Rigaud J., Cheynier V., Chemina A. Procyanidin dimers and trimers from grape seeds // Phytochemistry. 1991; 30: 1259-1264.

4. Prieur C., Rigaud J., Cheynier V., Moutounet M. Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds // Phytochemistry 1994; 36: 781-789.

5. Vijayalakshmi Nandakumar I., Tripti Singh I., Santosh K. Katiyar Multi-targeted prevention and therapy of cancer by proanthocyanidins Cancer Lett. Author manuscript; available in PMC 2009 October 8.

Резюме

Бұл ғылыми макалада жаңадан шықкан отандық дәрідерменк проантоксианидиннің Жантарид бойынша клиникалық шолу анализ жалпы мәріметтер беріліпген. Сонымен қатар ВВ2, ВКА қаралғанда зияндылы ВКНРВО№3, БВВ және ВВ1-дан зияндағы аз. ВВ2, ВКА 750 мг/кг деңгениң салмағына қарай бастауышы токсиқалық молекулярлық өзгерістерге әкеледі. Ол яғни 700 мг/кг орташа емдеу дозасы болады, ал ең жоғары дозасы 725 мг/кг болады. ВКНРВО№3, БВВ және ВВ1 725 мг/кг деңгениң салмағына қарай бастауышы токсиқалық молекулярлық өзгерістерге әкеледі. Ол яғни ең жоғары дозасы 700 мг/кг болады, ал орташасы 675 мг/кг және одан төмен дозасын зерттеу керек.

Summary

In this paper are described about the results of the preclinical trials of the new fractions of the native proantocyanidin “Zhantarid”. The drugs BB2, BKA are more less toxic than ВКНРВО№3, БВВ and BB1, the fractions BB2 and BKA defiant the first toxic changing on the molecular levels in dose 750 mg/kg of the body weight. Thus the middle day therapy dose is 700 mg/kg and the high therapy day dose is 725 mg/kg of the body weight. The ВКНРВО№3, БВВ and BB1 make toxic changing in the dose 725 mg/kg of the body weight and the high therapy dose of them are installed is 700 mg/kg of the body weight and the middle day therapy dose has to study in the range from 675 mg/kg of the body weight and lower.