

**BULLETIN OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

ISSN 1991-3494

Volume 4, Number 362 (2016), 90 – 94

**OVERCOMING DRUG RESISTANCE CANCER ANIMAL
WITH GROUPS OF PHYTOPREPARATIONS ELLAGITANNINS**

K. D. Rakhimov

“KazMUCE”, JSE, Almaty, Kazakhstan.
E-mail: kdrakhimov@inbox.ru

Key words: Pliss lymphosarcoma, anticancer drugs, carcinoma Guerin , sarcoma 45.

Abstract. The study results were on linear and outbred animal experiments showed antitumor action of alnusidin. Of the total studied herbal remedies to address drug resistance induced animal tumors more effective herbal Djungarian and light fruit euphorbias.

УДК 615.1.4 (175)

**ПРЕОДОЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ
ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЖИВОТНЫХ
ФИТОПРЕПАРАТАМИ ИЗ ГРУППЫ ЭЛЛАГОТАНИНОВ**

К. Д. Рахимов

АО «КазМУНО», Алматы, Казахстан

Ключевые слова: лимфосаркома Плисса, противоопухолевые препараты, карцинома Герена, саркома 45.

Аннотация. Результаты исследований в опытах на линейных и беспородных животных выявили выраженное противоопухолевое действие альнусидина. Из изученных суммарных фитопрепаратов для устранения индуцированной лекарственной резистентности опухолей животных более эффективными были фитопрепараты джунгарского и светлоплодного молочаев.

Существует две группы гидролизуемых дубильных веществ: галлотанины и эллаготанины. Они построены по типу сложных эфиров. При различных расщеплениях (кислотном, водном, ферментативном) распадаются на составные части: галлотанины – на углеводы и галловую кислоту, эллаготанины – углеводы и эллаговую кислоту [1, 2 4]. Галлотанины не обладают существенной противоопухолевой активностью [4, 7, 16].

На кафедре химии природных соединений Казахского государственного университета получены эллаготанин альнусидин (субстанция и лекарственная лиофилизированная форма) из соплодий ольхи (*Alnus incana*) и суммарные эллаготаниновые препараты из 5 видов молочаев.

Острую токсичность альнусидина-лио определяли в 2%-ной концентрации в 0,1-ном растворе натрия бикарбоната при внутрибрюшинном и внутривенном введении. Препарат вводили в хвостатую вену однократно. Показано, что при внутрибрюшинном введении максимально переносимая доза (МПД) составила для крыс 230 мг/кг, ЛД₅₀ 730÷770 мг/кг, мышам МПД – 520 мг/кг, ЛД₅₀ 880 (850÷910) мг/кг. При внутривенном введении крысам МПД препарата 86 мг/кг, ЛД₅₀ 115÷145 мг/кг, мышам – МПД 150 мг/кг, ЛД₅₀ 210 (195÷225) мг/кг. Внутривенные инъекции альнусидина в дозах 130, 150, 170 мг/кг крысам и 240, 260, 280 мг/кг мышам вызывали гибель животных непосредственно после введения или в первые трое суток. Такая быстрая гибель животных непосредственно после однократной внутривенной инъекции указывает на отсутствие

пролонгированного токсического действия, исходя из работ [9, 12], а внутрибрюшинные – на 1–7 сутки. У животных перед гибелью наблюдали возбуждение, одышку, затем угнетение, крысы погибали в состоянии общего угнетения. При патологоанатомическом вскрытии павших крыс макроскопически отметили кровенаполнение паренхиматозных органов, выраженную гиперемию сосудов брюшной полости [14, 19].

Изучение хронической токсичности альнусидина-лио при ежедневном в течение 10 дней внутрибрюшинном и внутривенном введении в 2% концентрации в 0,1% растворе натрия бикарбоната проводили на мышах и крысах. МПД составили 40 и 50 мг/кг (внутрибрюшинно), 30 и 20 мг/кг (внутривенно) соответственно. В МПД препарат не оказывал побочного действия на общее состояние и поведение животных, на прирост массы тела в сравнении с контролем.

Весовые коэффициенты органов крыс при воздействии препаратом в МПД были пределах контрольных величин. При вскрытии убитых животных по окончании опыта патологических изменений макроскопически не выявили. Многократное внутрибрюшинное введение мышам и крысам препарата в дозах 80 и 60 мг/кг и внутривенное – 50 и 40 мг/кг соответственно вызывало 100% гибель крыс на 4–12 день в период его введения и в последующие 2–6 дни. Общими симптомами интоксикации при воздействии токсических доз препарата явились вялость, поверхностное учащенное дыхание, потеря аппетита, похудание, вздутие живота. Непосредственно перед гибелью крысы были в состоянии угнетения, реакции на внешнее раздражение подавлены. Для крыс была характерна картина полной аднамии. На вскрытии у павших крыс выявили множественные субплевральные кровоизлияния, тромбоз крупных ветвей легочной артерии и капилляров. Обнаружили также распространенные нарушения кровообращения в печени, селезенке, слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта в виде очагов кровоизлияния. По-видимому, этим обуславливается токсическое действие препарата. Из сравнения параметров токсичности (МПД, ЛД₅₀) альнусидина-лио в острых и хронических опытах на крысах при внутривенном и внутрибрюшинном способах введения следует, что они более чувствительны к внутривенным инъекциям.

Одновременно проверяли местнораздражающее действие препарата при различных путях введения на крысах и кроликах. Установлено нами, что альнусидин-лио в водном, физиологическом растворе и в растворе бикарбоната натрия (0,5 и 0,1%) при многократном введении подкожно и внутримышечно проявил выраженное местнораздражающее действие, внутрибрюшинно – слабое местное действие в 0,5–0,1%-ном растворе NaHCO₃ (гиперемия сосудов, пояление небольшого количества асцита).

Противоопухолевая активность. Изучение специфического противоопухолевого действия альнусидина в лекарственной лиофилизированной форме проводилось в 2% концентрации в 0,1%-ном растворе натрия бикарбоната при различных режимах введения.

В опытах на мышах и крысах с исходными перевиваемыми опухолями показано, что альнусидин-лио в МПД при внутрибрюшинном и внутривенном введении обладает высокой терапевтической активностью.

При этом следует отметить достоверно большую эффективность внутривенного способа введения препарата, чем внутрибрюшинного по такому показателю, как увеличение средней продолжительности жизни животных: до 28–34% крыс с ЛСП, 22–29% с К. Герена, до 30% мышей с С 180.

Для выявления возможности использования других способов введения были проведены опыты на мышах и крысах с чувствительными к препарату перевиваемыми опухолями. При этом подкожные, внутримышечные введения альнусидина-лио в МПД не дали противоопухолевого эффекта (26–42%). Кроме того, наблюдали выраженное местнораздражающее действие на подкожную клетчатку (в месте введения – отек, инфильтрат, некроз). Малоэффективным было и введение препарата внутрь в желудок через зонд крысам (41–56%).

При разработке оптимального режима применения альнусидина было установлено, что многократное внутривенное (10 раз) и внутрибрюшинное (5–10 раз) введение препарата приводит к значительному противоопухолевому эффекту, чем одно-, двух-кратное. Наибольшая активность достигается в пределах доз 3/4 МПД–МПД с интервалом в 24 часа между инъекциями (до 70–94% торможения роста опухолей, Р < 0,05–0,001; до 22–34% увеличения средней продолжительности жизни крыс с перевиваемыми опухолями). Более выраженный противоопухолевый эффект (до

94%) наблюдали непосредственно после окончания курса введения препарата. Важно при этом, что альнусидин обладает определенной широтой терапевтических доз: от 3/4 МПД до МПД, терапевтический индекс (ТИ) составлял для лимфосаркомы Плисса 1,8, карциномы Герена – 1,4.

Для устранения индуцированной резистентности опухолей животных мы использовали растительный препарат альнусидин. Предпосылкой для лечения лекарственно резистентных опухолей явилось использование препарата из другого класса. В МПД как при внутрибрюшинном, так, в особенности, внутривенном способах введения препарата значительно ингибировал рост вариант ЛСП, резистентного к рубомицину (в пределах 83–91% торможения, $P < 0,05–0,001$). Тогда как 5-фторурацил и сарколизин (взятый для сравнения), тормозящий рост исходной ЛСП на 31–61% ($P < 0,005$), были неактивны на данном резистентном штамме, т.е. обнаружена у них перекрестная резистентность. При этом обнаружено меньшее токсическое действие препарата на организм крыс с лекарственно резистентными вариантами ЛСП и С45 (по таким параметрам, как процент гибели крыс, потери массы тела, весовой коэффициент органов, общее состояние и поведение животных). Подштаммы ЛСП, устойчивые к проспидину и лейкоэфдину, были перекрестно резистентными к альнусидину [1, 11, 19, 21].

Альнусидин не проявил ингибирующего действия на С45, резистентную к рубомицину и 5-фторурацилу (20–44% торможения). Препарат слабо влиял и на исходный штамм. Взятый для аналогии сарколизин, при этом тормозил рост данного подштамма на 75% ($P < 0,001$), а на С45, резистентной к 5-фторурацилу, обнаружили перекрестную резистентность сарколизина. Тогда как варианты С45, резистентный к сарколизину и проспидину, проявили коллатеральную чувствительность к альнусидину (79–90%, $P < 0,01–0,001$).

Таким образом, результаты исследований выявили особенности токсического влияния эллаготанина альнусидина в опытах на крысах в условиях исходной и возникшей лекарственной резистентности опухолей. Установлено, что альнусидин обладает выраженным противоопухолевым действием на перевиваемые опухоли мышей и крыс. Отмечено преодоление резистентности лимфосаркомы Плисса к рубомицину и возникновение коллатеральной чувствительности саркомы 45 к сарколизину и проспидину альнусидином, что не сопровождалось токсическим действием. Полученные данные дают возможность прогнозировать чувствительные лекарственно резистентные варианты опухолей к альнусидину для использования в клинике. С помощью анализа этой информации можно проводить разработку рациональных схем комбинированного лечения злокачественных новообразований, для повышения эффективности химиотерапии опухолей при лекарственной резистентности.

Из других эллаготанинов нами изучены суммарные препараты из молочая *Euphorbia* семейства Euphorbiaceae [13, 19]. Большинство веществ, содержащихся в молочаях, являются биологически активными веществами. Около 20 видов молочаев используется в народной медицине при различных заболеваниях [15, 18, 20].

Однако до сих пор не был изучен химический состав и биологическая активность молочаев, произрастающих на территории Казахстана. Поэтому, как было сказано выше, нами совместно с химиками, впервые изучены из корней и трав молочая 4 суммарных препарата.

Острая токсичность суммарных препаратов из молочаев изучалась в виде 2%-ного водного раствора на интактных мышах у обоего пола при однократном внутрибрюшинном введении. Суммарные препараты из корней молочая менее токсичны, чем из травы. В токсических дозах проявилось выраженное угнетающее действие, отметили взъерошенность шерсти, понес, что согласуется с работой [15]. Гибель животных наступала от нескольких часов до двух-пяти суток после введения. При вскрытии у большинства павших животных отметили полнокровность внутренних органов, расширение сосудов брыжейки, тонкой и толстой кишки.

МПД суммарных препаратов при однократном внутрибрюшинном введении составляла (300–490 мг/кг для мышей и 360–580 мг/кг – для крыс).

Хроническая токсичность. В опытах с перевиваемыми опухолями МПД препаратов при ежедневном внутрибрюшинном введении в течение 10 дней составляла для мышей 30–40 мг/кг, для крыс – 37–50 мг/кг. В этих дозах не наблюдали выраженного токсического действия на животных и их гибели. При вскрытии забитых в конце опыта животных макроскопически видимых изменений со стороны внутренних органов не выявлено.

Противоопухолевая активность растительных суммарных препаратов из разных видов молочая изучили на мышах линии C₅₇Bl и гибридах BDF₁, а также на белых беспородных мышах и крысах с исходными перевиваемыми и их лекарственно резистентными вариантами. Более выраженным противоопухолевым действием обладали суммарные препараты из молочая джунгарского и светлоплодного, полученные из травы, чем из корня.

Из всех изученных суммарных препаратов для устранения индуцированной лекарственной резистентности опухолей животных более эффективными были из травы джунгарского и светлоплодного. При внутрибрюшинном воздействии в МПД в опытах на крысах с резистентными к рубомицину и к проспедину вариантами ЛСП обнаружили повышенную чувствительность к ним (82–94%, P < 0,001–0,002). ЛСП, резистентная к проспедину, сохранила свою исходную чувствительность (до 69%, P < 0,01) к препаратам из молочая джунгарского.

Вариант С 45, резистентной к сарколизину, проявил достоверно высокую чувствительность без побочного действия к препаратам из молочаев джунгарского и светлоплодного 86–90% торможения роста С 45, резистентной к 5-фторурацилу в сравнении с исходным штаммом (73%, P < 0,005).

Суммарные препараты из других видов молочая были не эффективными. При этом отметили перекрестную резистентность к лекарственно устойчивым субштаммам.

Таким образом, более эффективными были суммарные препараты молочаев джунгарского и светлоплодного на ряде перевиваемых опухолей мышей и крыс. Они устраниют индуцированную резистентность лимфосаркомы Плисса к рубомицину, проспедину и саркомы 45 к сарколизину без существенного токсического действия.

Результаты исследования эллаготанинового препарата альнусидина вошли в материалы по проведенному нами предклиническому изучению его в лекарственной лиофилизированной форме для инъекций с целью представления в фармакологический центр МЗСР РК. Рекомендуем также последующее исследование суммарных препаратов из травы молочая джунгарского и светлоплодного как наиболее эффективных для устранения возникшей лекарственной резистентности опухолей.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Рахимов К.Д. Новые природные соединения в химиотерапии лекарственно резистентных опухолей: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – М., 1991. – С. 455.
- [2] Бикбулатова Т.Н., Петунина А.Г., Фризен И.Д., Хаметова М.М., Бокаева С.С., Верменичев С.М., Эллаговая соль – S-метил-метионинсульфония, обладающая противоопухолевой активностью // Авт. свидет. СССР № 978557, 1982.
- [3] Рахимов К.Д. Фармакологическое изучение природных соединений Казахстана. – 1999. – С. 270.
- [4] Верменичев С.М., Кабиев О.К., Пашинина Л.Т., Бикбулатова Т.Н., Чумбалов Т.К. О противоопухолевом действии конденсированных и гидролизуемых дубильных веществ // Бюллетень информации по лекарственной терапии опухолей. – Будапешт, 1979. – 3. – Т. V. – С. 59-64.
- [5] Кулик Г.И., Король В.И., Пелькис Ф.П. и др. Особенности реакции организма на длительную химиотерапию противоопухлевым препаратом // Материалы IV Всесоюзной конференции. – Вильнюс, 1984. – С. 224-226.
- [6] Рахимов К.Д. Фармакология күпиялары. – Алматы, 2012. – С. 53.
- [7] Кабиев О.К., Балмуханов С.Б. Природные фенолы – перспективный класс противоопухолевых и радиопотенцирующих соединений. – М.: Медицина, 1975. – С. 188.
- [8] Горбачева Л.Б., Горьков В.А., Чернов В.А., Шиятая О.К. Препараты растительного происхождения // Итоги науки и техники, онкология. – М., 1982. – 12. – С. 174-179.
- [9] Предклиническое изучение новых растительных препаратов противоопухолевого действия алхидина и калинина (заключительный отчет). ДСП. – Алма-Ата, 1983.
- [10] Рахимов К.Д. Новые лекарственные средства химиотерапии опухолей // В кн. Российский национальный конгресс «Человек и лекарство». – М., 1998. – С. 609.
- [11] Рахимов К.Д. Фармакология дәрістері. – Алматы, 2012. – 552 б.
- [12] Чернов В.А. Изучение противоопухолевой активности химиотерапевтических препаратов // Методы экспериментальной химиотерапии. – М., 1971. – С. 357-381.
- [13] Рахмадиева С.б., Ержанова М.С., Аталькова Ф.М. Количественное содержание и качественный состав дубильных веществ молочаев Казахстана // Современные проблемы фармации. – Алма-Ата, 1989. – С. 84-86.
- [14] Рахимов К.Д. Клиникалық фармакология. – Алматы, 2013. – 406 б.
- [15] Барнаулов О.Д., Тармаева З.В., Маничева О.А., Лимаренко А.Ю. Фармакологические свойства препаратов из корней Euphorbia fischeriana steud // Ж. Растительные ресурсы. – 1982. – Т. XVIII, вып. 3. – С. 395-402.
- [16] Рахимов К.Д. Фармакология табиги дәрілер. Алматы, 2014. – С. 483.
- [17] Адекенов С.М. Достижения и перспективы развития фитохимии // Труды международной научно-практической конференции. – Караганда, 2015. С. 208.
- [18] Ибрагимов Ф.И., Ибрагимова В.С. Основные лекарственные средства китайской медицины. – М.: Медгиз, 1960. – С. 410.

- [19] Рахимов К.Д., Өдекенов С.М., Фитохимия Фитофармакология Фитотерапия. – Алматы: Қарағанды, 2015. – Б. 523.
- [20] Семенов А.А. Природные противоопухолевые соединения (структура и механизм действия). – Новосибирск: Наука, 1979. – С. 222.
- [21] Сергеев А.В., Ревазова Е.С., Денисова С.И., Калоцкая О.В., Рытенко А.Н., Чистякова Л.П., Иммуномодулирующая и противоопухлевая активность полисахаридов растительного происхождения // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 1985. – ТС. – 12. – С. 741-743.
- [22] Современные проблемы фитотерапии и травничества / Под научной ред. д.м.н., акад. РАН, проф. В. Ф. Корсун // Материалы 4-го Международного съезда фитотерапевтов и травников. – М., 2016. – С. 238.

REFERENCES

- [1] Rakhimov K.D. New natural compounds in chemotherapy against drug resistant tumors: Thesis of Dr. scient. med. M., 1991. – P.455 (in Russ.).
- [2] Bikbulatova T.N., Petunina A.G., Friesen I.D., Hametova M.M., Bokaeva S.S., Vermenichev S.M., Ellagic salt-S-methyl-methioninesulphonyl, which has anti-tumor activity // Certificate of authorship. USSR № 978557. 1982 (in Russ.).
- [3] Rakhimov K.D. Pharmacological research of natural compound of Kazakhstan. Almaty, 1999. P. 270. (in Russ.).
- [4] Vermenichev S.M., Kabiyev O.C., Pashinina L.T., Bikbulatova T.N., Chumbalov T.K. On the anti-tumor action of condensed and hydrolysable tanning substances // Information Bulletin on drug therapy of tumors. Budapest, Moscow, 1979. 3. TW. P. 59-64 (in Russ.).
- [5] Kulik G.T., Corol V.I. Pelkys F.P and colleagus. Features body's response to prolonged chemotherapy with antitumor drugs. Materials of IV All-Union conference. Vilnos, 1984. P. 224-226 (in Russ.).
- [6] Rakhimov K.D. The secrets of pharmacology. Almaty, 2012. P. 536 (in Kaz.).
- [7] Kabiyev DC Balmuhanov SB Natural phenolics – a promising class of anticancer and radiopotentiation compounds. M.: Medicine, 1975. P. 188 (in Russ.).
- [8] Gorbacheva L.B., Gorkov V.A., Chernov V.A., Chiataya O.K. Herbal genesis drugs. Outcomes of science and techniques, oncology. M., 1982, 12. P. 174-179 (in Russ.).
- [9] Preclinical studies of new herbal medicines and antitumor action alhidina Kalinin (the final report). Alma-Ata, 1983 (in Russ.).
- [10] Rakhimov K.D. New drugs at tumor chemotherapy. Russian national congress "Human and drug". M., 1998. P. 609 (in Russ.).
- [11] Rakhimov K.D. The lecture of pharmacology. Almaty, 2012 P. 552 (in Kaz.).
- [12] Chernov V.A. The study of anti-tumor activity of chemotherapy drugs // Methods of experimental chemotherapy. M., 1971. P. 357-381 (in Russ.).
- [13] Rakhmadiyeva S.B., Yerzhanova M.S., Atalykova F.M. Quantitative and qualitative composition of the content of tannins spurge Kazakhstan // Modern problems of pharmacy. Alma-Ata, 1989. P. 84-86 (in Russ.).
- [14] Rakhimov K.D. Clinical pharmacology. Almaty, 2013. P. 406 (in Kaz.).
- [15] Barnaulov O.D., Tarmaeva Z.V., Manicheva O.A., Limarenko A.Y. The pharmacological properties of drugs from the roots of Euphorbia fischeriana steud // Zh. Plant resources. 1982. Vol. XVIII, vip. 3. P. 395-402 (in Russ.).
- [16] Rakhimov K.D. Pharmacology natural drugs. Almaty, 2014. P. 483 (in Kaz.).
- [17] Adekenov S.M. "Achievements and prospects for the Development of Phytochemistry" proceedings of the International Research and Practice Conference. Karaganda, 2015. P. 208 (in Eng.).
- [18] Ibrahimov F.I., Ibragimova V.S. Essential medicines Chinese medicine. M.: Medgiz, 1960. P. 410 (in Russ.).
- [19] Rakhimov K.D., Adekenov S.M. Phytochemistry Phytopharmacology Phytotherapy. Almaty-Karaganda, 2015. P. 538 (in Kaz.).
- [20] AA Semenov Natural antineoplastic compound (structure and mechanism of action). Novosibirsk: Nauka, 1979. P. 222.
- [21] Sergeyev A.V., Revazova E.S., Denisova S.I., Kalotskaya O.V., Rytenko A.N., Chistyakova L.P. Immunomodulatory and antitumor activity of plant polysaccharides // Exper. Biology and medicine. 1985. TS. 12. P. 741-743 (in Kaz.).
- [22] Under the scientific editorship of Doctor of Medicine, Academy of Russian Natural Sciences, prof. Korsun V.F. Modern problems of phytotherapy and herbalism. Proceedings of the 4th International Congress phytotherapists and herbalists. Moscow, 2016. P. 238 (in Russ.).

ЖАҢУАРЛАРДАҒЫ ДӘРІГЕ ТҮРАҚТЫ ҚАТЕРЛІ ІСІКТЕРДІ ЭЛЛАГОТАНИН ТОБЫНЫң ФИТОПРЕПАРТАРЫМЕН ЖОЮ

К. Д. Рахимов

«ҚМУББУ» АҚ, Алматы, Қазақстан

Түйін сөздер: Плисс лимфосаркомасы, қатерлі ісікке қарсы препараттар, Герен карциномасы, саркома 45.

Аннотация. Линиялы және түрсіз жануарларға жүргізілген зерттеудің нәтижесінде альнусидиннің қатерлі ісікке қарсы айқын әсерін көрсетті. Зерттелген фитопрепараттардың жыныстығынан жануарларға әдейілеп жасалынған дәрілік тұрақтылықты жою үшін жонғарлық және ашық түсті сүттігендік фитопрепараттарының тиімділігі жоғары.

Поступила 21.06.2016 г.