

торное действие внутривенно введенного нанофитопрепарата в отношении клеток печени выражено значительно сильнее, чем при его пероральном введении, что делает возможным снижение терапевтической дозы при парентеральном применении.

Исследование противоопухолевого действия нанофитопрепарата проводилось на мышах с привитыми солидными опухолями мышинной меланомы В16. Активность препарата сравнивали с активностью свободного силибинина. В ходе исследования было продемонстрировано, что нанофитопрепарат обладает значительно более выраженной противоопухолевой активностью по сравнению со свободным силибинином, приводя к существенному торможению роста опухоли (до 65%) и увеличению средней продолжительности жизни леченых животных (57%).

Таким образом, нанофитопрепарат на основе силибинина обладает значительно более высокой гепатозащитной и противоопухолевой активностью по сравнению со свободным флаволигнаном, что связано с увеличением растворимости и биодоступности препарата и его избирательным накоплением в печени и опухолевой ткани. Силибинин в форме фосфолипидных наночастиц может применяться при терапии патологий печени и опухолей различного генеза.

Для исследования влияния нанофитопрепарата на процесс ангиогенеза использовали *in vitro* анализ развития капилляров в матригеле, имитирующем препарат внеклеточного матрикса. Данный метод достаточно полно отражает процесс неоваскуляризации, происходящий *in vivo*, и основан на наблюдении и подсчете количества капиллярных трубок, образующихся в матригеле под воздействием исследуемых препаратов.

Результаты исследования показали, что применение нанофитопрепарата дозозависимо препятствует образованию капилляроподобных структур из эндотелиальных клеток HUVEC. Наши предварительные данные свидетельствуют о том, что необходимы дальнейшие исследования, направленные на определение возможности использования нанофитопрепарата на основе силибинина для лечения патологий, связанных с нарушением ангиогенеза.

Применение нанофитопрепаратов нового поколения может позволить разработать новые эффективные терапевтические стратегии и значительно расширить арсенал средств лечения различных патологий печени и онкологических заболеваний.

Список литературы

1. Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Луценко Е.В., Быков В.А. Растительные флаволигнаны. Биологическая активность и терапевтический потенциал. М. 2006. 236 с.
2. Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Луценко Е.В., Быков В.А. Нанобиотехнология и медицина. М. 2010. 280 с.
3. Jiang C., Agarwal R. and Lu J. Anti-Angiogenic Potential of a Cancer Chemopreventive Flavonoid Antioxidant, Silymarin: Inhibition of Key Attributes of Vascular Endothelial Cells and Angiogenic Cytokine Secretion by Cancer Epithelial Cells // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2000. vol. 276. P. 371-378.
4. Lahiri-Chatterjee M., Katiyar S.K., Mohan R.R. and Agarwal R. A Flavonoid Antioxidant, Silymarin, Affords Exceptionally High Protection Against Tumor Promotion in Sencar Mouse Skin Tumorigenesis Model // *Cancer Res.* 1999. vol. 59. P. 622-632.

5. Pares A., Planas R., Torres M. et al. Effects of Silymarin in Alcoholic Patients with Cirrhosis of the Liver: Results of a Controlled, Double-Blind, Randomized and Multicenter Trial // *J. Hepatol.* 1998. vol. 28. P. 615-621.

6. Pepping J. Milk Thistle: Silybum Marianum // *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1999. vol.56. P. 1195-1197.

7. Saller R., Meier R. and Brignoli R. The Use of Silymarin in the Treatment of Liver Diseases // *Drugs.* 2001. vol. 61. P. 2035-2063.

Problems of development and estimation of safety of nanophytopreparations

S.V. Lutsenko, M.V. Dmitrieva, N.B. Feldman

The nanophytopreparation of flavonolignan silybinin was produced on a basis of phosphatidylcholine and cholesterol and its hepaprotective, antitumor and antiangiogenic activities were studied. The nanophytopreparation showed much higher activity in comparison with free flavonolignan that is connected with increase in solubility and bioavailability of a preparation and its selective accumulation in a liver and a tumoral tissues. The nanophytopreparation of silybinin can be applied at therapy of pathologies of a liver and various tumors.

Key words: flavonolignanes, silybinin, nanophytopreparation, therapy.

Использование модели гиперлипидемии и атеросклероза у крыс в токсикологическом эксперименте

Л.В. Крепкова

ВНИИ лекарственных и ароматических растений Россельхозакадемии, Москва

Контактная информация: Терёшкина Ольга Ивановна oiter@rambler.ru

Для повышения надежности результатов доклинического изучения гиполлипидемических лекарственных средств предложено использовать модель гиперлипидемии и атеросклероза у крыс, которую вызывали с помощью атерогенной диеты с добавлением мерказолила, солей кальция и витамина D2. Экспериментальная модель атеросклероза у крыс характеризовалась развитием гиперлипидемии, увеличением вязкости крови, атеросклеротическими изменениями в стенке сосудов и внутренних органах. Использование модели патологии позволяет расширить знания о механизмах лечебного действия изучаемых лекарственных средств.

Ключевые слова: модель гиперлипидемии и атеросклероза, крысы, токсикологические исследования.

В настоящее время доклинические карственных препаратов и их готовых токсикологические исследования лекарственных форм проводят на здо-

ровых половозрелых животных. Основной причиной этого является сложность воспроизведения в эксперименте на животных ряда патологических состояний, адекватных заболеваниям человека. Между тем, хорошо известны возрастные различия в фармакокинетике лекарственных средств и, соответственно, эффективности лечения. По мере старения, в организме человека происходит возрастное увеличение количества жировой ткани, развивается гиперлипидемия и артериальная гипертензия, сочетание которых повышает вероятность поражения сосудов сердца, головного мозга и смерти. Поэтому, для снижения риска применения лекарственных препаратов в клинике у этой категории пациентов, необходимо проводить доклинические исследования с учетом особенностей их действия на людей пожилого и старческого возраста.

Цель исследования – изучить возможность применения модели экспериментально воспроизведенной гиперлипидемии и атеросклероза у крыс при токсикологическом изучении гипополипидемических лекарственных средств.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 210 самцах белых нелинейных крыс (исходная масса тела – 160-180 г), которых разделили на 2 группы: I-интактный контроль (50 крыс), II-крысы с воспроизведенной гиперлипидемией и атеросклерозом (160 крыс).

Указанную патологию получали с помощью атерогенной диеты (гиперхолестериновая диета с добавлением витамина D2 и Ca⁺⁺ на фоне угнетения функции щитовидной железы мерказолилом), которую скармливали крысам

в течение 9 мес. (наша модификация диеты по Wilgram-Базазяну). В течение опыта изучали интегральные, гематологические, биохимические показатели, проводили исследование функционального состояния сердечно-сосудистой и выделительной систем. После эвтаназии животных определяли коэффициенты массы внутренних органов и проводили патоморфологические исследования с использованием визуальной оценки выраженности атеросклеротического процесса в аорте и ряда гистохимических методов для патогистологической характеристики изменений в аорте, коронарных артериях, сердце, печени и почках.

Результаты и их обсуждение

Скармливание диеты в течение 1 мес. вызывало статистически достоверное увеличение массы тела крыс. Дальнейшее назначение диеты приводило к замедлению прибавки массы тела крыс (2 мес.) и прогрессивному её снижению к концу эксперимента, по сравнению с интактным контролем. Животные, получавшие атерогенную диету в течение 2-3 мес., имели неопрятный внешний вид, взъерошенную шерсть. Дальнейшее скармливание диеты приводило к ухудшению их общего состояния: крысы приобретали сгорбленную позу, шерсть становилась редкой, появились очаги облысения, в области шеи и спины образовались трещины и эрозии, отмечалась общая кахексия животных, хвосты приобретали белесый цвет, были узловатыми на ощупь. Первая гибель животных II группы (1,25%) зарегистрирована через 4 мес. эксперимента от тромбозов. К концу эксперимента она составила 45,5% от общего числа животных в группе. Гибель крыс, как правило, связана с

возникновением массивных тромбозов в дуге аорты и её брюшном отделе и миокардиодистрофии. Содержание животных на атерогенной диете приводило к развитию анемии (снижение количества эритроцитов, уровня гемоглобина), постепенно нарастающей лейкопении и тромбоцитозу, а также нарушению процессов свертывания крови. Через 1 мес. скармливания диеты крысам отмечали статистически значимое увеличение содержания общих липидов, триглицеридов и общего холестерина в сыворотке крови и ткани печени, которые к 7 и 9 мес. эксперимента более чем в 3 раза (сыворотка крови) и 4 раза (ткань печени) превышали соответствующие показатели у интактных животных. Анализ результатов активности некоторых ферментов сыворотки крови крыс, содержащихся на атерогенной диете, показал статистически значимое увеличение активности аланин- и аспаратаминотрансфераз, щелочной фосфатазы, общей лактатдегидрогеназы. У крыс II группы отмечены функциональные нарушения сердечно-сосудистой и выделительной систем: уменьшение числа сердечных сокращений, удлинение интервалов P-Q и S-T, снижение диуреза на фоне водной нагрузки. 9-месячное содержание животных на атерогенной диете приводило к увеличению коэффициентов массы сердца, печени, надпочечников и снижению массы селезенки и щитовидной железы. При макроскопическом исследовании аорт интактных крыс выявлен умеренный липоидоз интимы с зональными отеками. У крыс, получавших атерогенную диету, изменения были более выраженными: липоидоз, отек с возвышающимися поражениями типа бляшек, которые занимали обширные участки в восходящей части дуги аорты и, особенно, в её грудном и

брюшном отделах, увеличение размеров сердца, особенно левого желудочка, сморщивание почек с образованием втянутых рубцов на поверхности. По мере удлинения сроков диеты и прогрессирования атеросклероза в аорте, наблюдали очаговую деструкцию интимы с участками деэндотелизации, накопление липидных гранул и капель в эндотелиальных и гладкомышечных клетках интимы и меди, формирование бляшек и атером. Таким образом, длительное скармливание атерогенной диеты крысам приводило к развитию гиперлипидемии и атеросклероза.

Выводы

Предложенная модель гиперлипидемии и атеросклероза воспроизводит патологические процессы, происходящие в организме пожилых людей, и удачно подходит для экспериментальных токсикологических исследований лекарственных средств, предназначенных для лечения людей пожилого возраста.

Список литературы

1. *Базазян Г.Г.* Диетический фактор, атеросклероз и система свертывания крови. М. 1982.
2. *Крепкова Л.В.* Сравнительное токсикологическое изучение гипополипидемических препаратов растительного происхождения на интактных животных и на модели атеросклероза у крыс. Автореф. дис. канд.биол.наук. Купавна. 1988.
3. *Рыфф И.М., Крепкова Л.В., Арзамасцев Е.В. и др.* Патоморфологические критерии антиатеросклеротического действия некоторых сапонинов растительного происхождения в эксперименте. Бюлл. экспер.биол. 1988. № 9. С. 365-368.

Use of the hyperlipidemic and atherosclerosis models of rats in toxicological studies

L.V. Krepkova

For increasing reliability of preclinical investigation results of hypolipidemic drugs there was used a model hiperlipidemic and atherosclerosis for rats, caused by atherogenic diet in combination with mercasolil, calcium, vitamin D2. Experimental model of atherosclerosis in rats was characterized with development of hyperlipidemia, increased blood viscosit, atherosclerotic changes of the blood vessel walls and of internal organs. Use of the pathological models widen our knowledge on the mechanism of drugs action.

Key words: model hiperlipidemic and atherosclerosis for rats, toxicological studies

Экспериментальное изучение безопасности гипорамина – нового фитопрепарата противовирусного действия

В.В. Бортникова

ВНИИ лекарственных и ароматических растений Россельхозакадемии, Москва

Контактная информация: Терёшкина Ольга Ивановна oiter@rambler.ru

Гипорамин представляет собой сухой очищенный экстракт, получаемый из листьев облепихи крушиновидной (*Hipporhaerhamnoides L.*) семейства Лоховых (*Elaeagnaceae*), основными действующими веществами которого являются гидролизуемые танины. При однократном введении гипорамина внутривентриально и в желудок различным видам лабораторных животных, препарат является малотоксичным веществом. Изучение токсичности при длительном введении субстанции и готовых лекарственных форм препарата (сублингвальные и покрытые кишечнорастворимой оболочкой таблетки по 0,02 г, 0,5% мазь для местного применения, вагинальные и ректальные суппозитории по 0,05 г (для взрослых) и 0,03 г (для детей)) не выявило повреждающего действия гипорамина на организм половозрелых и развивающихся лабораторных животных. Препарат не проявляет аллергизирующие, эмбриотоксические, тератогенные, мутагенные, иммунотоксические и канцерогенные свойства.

Ключевые слова: гипорамин, субстанция, лекарственные формы, острая и хроническая токсичность.

Гипорамин – сухой очищенный экстракт, получаемый из листьев облепихи крушиновидной, действующими веществами которого являются гидролизуемые танины.

Гипорамин обладает широким спектром противовирусного действия. В основе его механизма действия лежит ингибирующий эффект на вирусную нейраминидазу.

Целью исследования явилось доклиническое токсикологическое изучение гипорамина.

Материалы и методы

Исследование «острой» токсичности субстанции гипорамина проведено на половозрелых белых мышах, крысах и морских свинках (самцы и самки), а

также на 3-недельных крысятах при внутривентриальном и внутрижелудочном способах введения. Полученные данные обрабатывали методом проб-анализа по Литчфилду и Уилкоксоу. Хроническая токсичность гипорамина изучена при введении субстанции препарата в желудок половозрелым белым крысам в течение 3 мес. и 3-недельным крысятам в течение 2 мес. Сублингвальные таблетки гипорамина по 0,02 г исследованы на собаках, мазь 1% и вагинальные суппозитории по 0,05 г изучены на кроликах при 3-мес. введении. Оценка безопасности применения детских лекарственных форм гипорамина дана в хронических экспериментах, проведенных на неполовозрелых животных – щенках (таблетки по 0,02 г, покрытые кишечнорастворимой оболочкой) и крольчатах (ректальные суппозитории по 0,03 г) при введении в течение 3 и 2 мес. При изучении общетоксического действия гипорамина использовали общепринятые интегральные, гематологические, биохимические и патогистологические методы исследования. Исследование потенциальных аллергизирующих, местнораздражающих, иммунотоксических, мутагенных, канцерогенных, эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата проведено в соответствии с современными требованиями ФГК МЗ РФ.

Результаты и их обсуждение

При однократном внутривентриальном введении гипорамина установлены следующие среднесмертельные дозы: 103-106 мг/кг для крысят и мышей, соответственно; 128-170 мг/кг – для морских свинок и крыс. ЛД₅₀ при введении препарата в желудок крысятам, мышам и крысам возрастают более чем

в 50 раз по сравнению с внутривентриальным введением и составляют 7751-9900 мг/кг, что может свидетельствовать о неполном всасывании изучаемого вещества или его инактивации в желудочно-кишечном тракте. Не установлено половых различий животных к действию препарата. Таким образом, субстанция гипорамина относится к малотоксичным веществам.

Введение субстанции гипорамина в желудок крысам в течение 3 мес. в дозах 10, 100 и 500 мг/кг и сублингвальных таблеток по 0,02 г собакам в дозе 15 мг/кг (7-кратная суточная терапевтическая доза), показало хорошую переносимость препарата животными.

Изучение мягких лекарственных форм гипорамина (1% мазь и вагинальные суппозитории по 0,05 г) в 3-мес. эксперименте на самках кроликов показало отсутствие токсического и местнораздражающего действия изученных лекарственных форм препарата.

2-мес. введение в желудок крысятам субстанции гипорамина в дозах 10 и 100 мг/кг (соответственно 4- и 40-кратные терапевтические дозы для ребенка 3 лет) и таблеток по 0,02 г, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, щенятам в дозах 20 и 50 мг/кг, ректальных суппозиторий по 0,03 г в дозе 20 мг/кг крольчатам – не изменяло основные интегральные и гематологические показатели, не вызывало нежелательных изменений функционального состояния их внутренних органов и систем организма, что подтверждено патогистологическими исследованиями.

У гипорамина не выявлено аллергизирующих, мутагенных, иммунотоксических, эмбриотоксических, тератогенных и канцерогенных свойств.