



ФАРМАКОЛОГИЯ. ТОКСИКОЛОГИЯ



УДК 615.451.16:615.24:615.322:616.379-008.64-085.24

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ ТОКСИЧНОСТИ НОВОГО АНТИДИАБЕТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ ГИМНЕМЫ ЛЕСНОЙ «ДИА-β»

А. А. Спасов, Л. И. Бугаева, М. П. Самохина, А. Е. Буланов *

*Кафедра фармакологии, НИИ фармакологии ВолГМУ, * Российский НИИ здоровья, г. Москва*

В статье приводятся данные по изучению хронической токсичности нового антидиабетического препарата «Диа-β». Состояние гомеостаза оценивали с помощью функциональных, гематологических, биохимических и патоморфологических методов. Выявлено, что шестимесячное применение препарата «Диа-β» в терапевтической и субтоксической дозах способствует достоверному снижению уровня глюкозы в крови, массы тела экспериментальных животных и уменьшению площади урежения и частичной потери шерстного покрова. Кроме того, применение препарата «Диа-β» в дозах 50; 280; 2800 мг/кг не вызывает патологических изменений в ЦНС, сердечно-сосудистой, детоксицирующей и выделительной системах, не изменяет качественного и количественного состава периферической крови, а также не влияет на биохимические показатели плазмы крови крыс.

Ключевые слова: диабет, Гимнема лесная, хроническая токсичность.

Новый потенциальный антидиабетический препарат «Диа-β» (№ патента 2289419 приоритет от 20.12.2004), представляющий собой лекарственную композицию на основе сухого экстракта *Gymnema sylvestre* (в сочетании с экстрактами гребней Винограда и Девясила Высокого). Результаты исследований антидиабетической активности субстанции препарата «Диа-β» позволяют предполагать наличие у него инкретиномиметического механизма гипогликемизирующего действия [3, 4]. Новое средство планируется использовать в составе комплексной терапии СД в течение длительного времени для лечения и профилактики развития поздних диабетических осложнений.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить хроническую токсичность препарата.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Субстанция препарата «Диа-β» [№ сертификата анализа ГУМ-030706 от 1.06.2003]. Препарат, содержащий 54,8 % сухого экстракта Гимнемы лесной, 33,3 % сухого экстракта Девясила и 11,9 % сухого экстракта гребней Винограда, исследовался в дозах 50; 280 и 2800 мг/кг. Эксперименты проводились на 160 половозрелых крысах обоего пола массой тела 180—200 г, доставленных из питомника НИИГТиП (г. Волгоград) и прошедших двухнедельный карантин в виварии

НИИ фармакологии ВолГМУ. Температура воздуха в виварии поддерживалась от +20 до +24°С, освещение — совмещенное. В период проведения экспериментов животные находились в стандартных пластмассовых клетках по 5 особей в каждой, обеспечивались полноценными кормами.

Группам экспериментальных животных (n=20) вводили препарат «Диа-β» внутривенно в течение 6 месяцев. Общая продолжительность хронического эксперимента составляла 7 месяцев (включая 1 месяц отставленных опытов — «отмены»). По ходу эксперимента проводили наблюдения за общим состоянием и поведенческой активностью животных, потреблением корма и воды, состоянием шерстного покрова, динамикой массы тела, регистрируемой два раза в месяц. Состояние гомеостаза оценивали с помощью функциональных, гематологических, биохимических и патоморфологических методов. Эксперименты проводились в соответствии с методическими рекомендациями проведения доклинических (токсикологических) исследований [1, 2] и правилами лабораторной практики в Российской Федерации (приказ № 267 от 19 июня 2003 г., ГОСТ 3 51000.3-96 и 51000.4-9).

Поведенческую активность у животных изучали по методу Я. Буреш, О. Бурешовой (1991) в тесте «открытое поле». *Состояние сердечно-сосудистой системы* оценивали по электрокардиограмме во втором стандартном отведении. *Для оценки*

функционального состояния печени, почек, сердца использовали комплекс биохимических методов исследований плазмы крови с использованием наборов «Био-Ла Тест» (Чехия, Лахема диагностика) и определяли содержание глюкозы, количество общего белка (биуретовая реакция), мочевины (диацетилмоноксимным методом), креатинина (цветная реакция Яффе), а также трансаминаз методом Райтмана в реакции 2,4-динитрофенилгидразином с помощью наборов «АлАТ-» и «АсАТ-Импакт» (г. Москва). Проводили тестовые диагностические пробы — с бромсульфалеином по методу Л. И. Израйлет (1976), феноловым красным по рекомендациям Е. Б. Берхина и Ю. И. Иванова (1972) и в тесте «гексеналовый сон» по методу М. С. Гижлярян (1976). В периферической крови у крыс подсчитывали количество эритроцитов и лейкоцитов (мкл), лейкоцитарную формулу по методу Романовского (Е. А. Кост, 1968), измеряли уровень гемоглобина (цианметогемоглобиновый метод, гр/л), цветной показатель эритроцитов (у.е). Влияние препарата на свертывающую систему крови оценивали по методу Мас-Магро (Кост Е. А., 1968) и определяли время свертываемости крови (с).

Статистическую обработку данных проводили с помощью парного t-критерия Стьюдента для сравнения двух или более экспериментальных групп с использованием пакета программ «Statistica 6,0».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При наблюдении за животными в период шестимесячного внутрижелудочного введения препарата «Диа-β» крысам выявлено их удовлетворительное состояние в течение всего хронического эксперимента. Гибели среди подопытных групп не обнаружено. У испытуемых животных отсутствовали пониженные реакции на звук и тактильные воздействия. Внешнее состояние животных (частота шерстного покрова, состояние слизистых) в течение первых двух месяцев введения препарата не отличалось от группы крыс, находящейся в контроле. Начиная с третьего месяца и в течение 4—5 месяцев эксперимента, как у самок, так и у самцов в группе, получавшей максимальную дозу препарата, превышающую суточную в 10 раз (2800 мг/кг), фиксировались потускнение, постепенное урежение и частичная потеря шерстного покрова. Так, к концу шестого месяца эксперимента аллопеции обнаруживались у 35 % крыс этой группы в области головы, холки, задних конечностей. После отмены введения изучаемого препарата внешний вид экспериментальных животных соответствовал экстерьеру контрольных животных.

При анализе результатов измерений массы тела крыс в трехмесячный период хронического эксперимента было отмечено замедление темпов

прироста массы тела у животных получавших дозы 50 и 280 мг/кг на 10 и 15 % соответственно, $p \leq 0,05$. Начиная с 4-го месяца эксперимента, масса тела крыс практически не изменялась и была аналогична уровню интактного контроля. В исследованиях, проведенных после отмены введения препарата «Диа-β», темпы прироста массы тела крыс существенно изменились, превалируя над контрольными значениями в 1,5—2 раза.

Поведенческая активность животных несущественно изменялась в группах, получавших вещество в дозах 50 и 280 мг/кг. Прослеживались тенденции ее активации у животных в первый месяц эксперимента (повышение горизонтальной и норковой активности в 2 раза), тогда как в последующие периоды исследований все изменения были на уровне контрольных величин. В исследованиях, проведенных на 3-й и 6-й месяцы эксперимента, достоверных изменений не обнаружено.

При анализе данных исследований электрокардиограмм крыс, получавших изучаемый препарат, в хронических экспериментах существенных изменений не обнаружено.

По результатам исследований периферической крови, отчетливо прослеживается отсутствие существенного влияния на периферическую кровь крыс, получавших препарат в дозах 50, 280 и 2800 мг/кг. В исследованиях, проведенных на 6-й месяц, выявлено, что препарат «Диа-β» в дозе 280 и 2800 мг/кг способствует дозозависимому снижению уровня гемоглобина и росту общего числа лейкоцитов. Вместе с тем данные сдвиги в составе периферической крови оказались в пределах порога физиологической нормы и восстанавливались в исследованиях «после отмены» препарата.

Также не отмечено существенных изменений и по результатам биохимических исследований. Однако под действием препарата «Диа-β» у крыс выявлено достоверное снижение уровня глюкозы во всех опытных группах. Так, в первый месяц исследований в крови крыс-самок зафиксировано (в пределах физиологической нормы) понижение уровня глюкозы ($p \leq 0,05$). Аналогичные сдвиги наблюдались у самок и на 6-й месяц исследований. Данный показатель у крыс-самцов достоверно снижался (на 12 %) лишь в первый месяц эксперимента, тогда как в остальные периоды исследований содержание у самцов глюкозы соответствовало контрольным значениям. В исследованиях, проведенных «после отмены», не обнаружено достоверных изменений в величине активности трансаминаз, уровня белка, мочевины, креатинина и холестерина.

При анализе данных функциональных испытаний с наркотическим средством «гексенал», красителем «феноловый красный» и «бромсульфалеином» у подопытных животных выявлены эффекты разной степени выраженности, зависящие как от

дозы вещества и пола крыс, так и от длительности эксперимента. Так, в тесте с *гексеналовым наркотом* у самцов, получавших исследуемое вещество в течение 3 месяцев, прослеживалось дозозависимое увеличение длительности наркотического сна (от 30 % — в дозе 280 мг/кг до 70 % — в дозе 2800 мг/кг, $p < 0,05$). На 6-й месяц исследований достоверное увеличение длительности гексеналового сна и укорочение латентного периода зафиксировано практически у всех тестируемых животных. Однако указанные эффекты полностью нивелировались в исследованиях «после отмены». Длительность «гексеналового сна» у крыс самок и самцов практически соответствовала контрольным значениям. В тесте с *бромсульфалеином*, позволяющем оценить состояние поглотительно-выделительной функции печени в период введения препарата, у подопытных крыс изменений не наблюдалось.

По результатам исследований влияния препарата «Диа-β» на *выводящую функцию почек крыс*, выявлено увеличение экскреторной функции у крыс, получавших препарат в дозе 50 и 280 мг/кг. При этом в дозе 2800 мг/кг скорость выведения красителя замедлялась только в группе самцов ($p \leq 0,05$). У самок экскреторная активность была недостоверно снижена, но количество выделяемого почками красителя не изменялось относительно контрольных значений. После отмены введения «Диа-β», во всех исследуемых группах прослеживалось восстановление до уровня контрольных величин скорости выведения фенолового красного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований можно заключить, что препарат «Диа-β» относится к классу малотоксичных (достоверно токсической дозы для препарата «Диа-β» не установлено). Кроме того, шестимесячное применение препарата «Диа-β» в терапевтической и субтоксической дозах способствует достоверному снижению уровня глюкозы в крови, массы тела экспериментальных животных и уменьшению площади урежения и частичной потери шерстного покрова. Применение препарата «Диа-β» в дозах 50, 280, 2800 мг/кг не вызывает патологических изменений в ЦНС, сердечно-сосудистой, детоксицирующей и выделительной системах, не изменяет качественного и количественного состава периферической крови, а также не влияет на биохимические показатели плазмы крови крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р. У. Хабриева, И. А. Денисова, В. Б. Герасимова, В. Г. Кукеса. — М., 2005. — 359 с.
2. Саноцкий И. В., Уланова И. П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений. — М.: Медицина, 1975. — 328 с.
3. Спасов А. А., Самохина М. П., Снигур Г. Л. и др. // Матер. III съезда фармакологов России. — 2007. — Т. 7, № 2. — С. 1964.
4. Spasov A. A., Kosolapov V. A., Samokhina M. P. et al. // International conference on diabetes. — 2007. — P. 7—12.