

Л. В. Крепкова, Т. А. Сокольская

ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ КОМПЛЕКСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФИТОПРЕПАРАТОВ, РАЗРАБОТАННЫХ НА ОСНОВЕ РАСТОРОПШИ ПЯТНИСТОЙ

ВНИИ лекарственных и ароматических растений, Москва

Проведено доклиническое изучение безопасности комплексных фитопрепаратов из расторопши пятнистой – сибектана, обладающего гепатозащитными свойствами, и камадола – противовоспалительного средства. По параметрам токсичности при однократном внутривнутрибрюшинном и внутривнутрижелудочном введении мышам, крысам и морским свинкам сибектан и камадол следует отнести к малотоксичным веществам. Введение сибектана в желудок крысам (субстанция) и собакам (таблетки по 0,1 г) в течение 1 и 4 мес., соответственно в широком диапазоне доз показало его низкую токсичность. Исследование камадола в хронических экспериментах на крысах и собаках при внутривнутрижелудочном введении в дозах 10 и 3 мл/кг соответственно, и в 3-месячном эксперименте на кроликах, получавших накожные аппликации камадола, не выявило у изучаемого лекарственного средства признаков общерезорбтивного действия и местнораздражающих свойств. При исследовании специфических видов токсичности у камадола не установлено мутагенных, аллергизирующих и иммунотоксических свойств.

Разработка новых лекарственных средств является одной из главных проблем современной медицины. В этом отношении определенный интерес представляет создание комплексных препаратов. Их применение дает возможность расширить диапазон фармакотерапевтического действия, усилить определенные стороны лечебного эффекта, снизить нежелательные токсические проявления. Среди подобных препаратов довольно широкое распространение в лечебной практике находят лекарственные средства растительного происхождения. К этому классу веществ следует отнести и комплексные фитопрепараты, полученные на основе расторопши пятнистой, — сибектан и камадол, которые нашли применение в терапии целого ряда заболеваний. Это, в первую очередь, заболевания гепатобилиарной системы, а также различные поражения кожи и слизистых оболочек [1 – 6].

Сибектан — комплексный препарат, содержащий сухие экстракты 4 растений: пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.), расторопша пятнистая (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum* L.), береза повислая (*Betula pendula* Roth). Благодаря своему химическому составу сибектан оказывает гепатозащитное, желчегонное и усиливающее процессы регенерации действие. Он также нормализует жировой обмен, способствует регенерации поврежденной слизистой оболочки желудка. В связи с вышесказанным сибектан назначают больным для лечения хронических гепатитов, холециститов, гипомоторной дискинезии желчного пузыря, цирроза печени. Готовая лекарственная форма сибектана — таблетки по 0,1 г [1 – 4, 7].

Камадол — лекарственное средство, разработанное на основе масла расторопши пятнистой (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) и экстрактов трав календулы лекарственной (*Calendula officinalis* L.) и ромашки аптечной (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert). Препарат облада-

ет выраженным ранозаживляющим, противовоспалительным, усиливающим процессы регенерации действием. Камадол рекомендован при заболеваниях кожи, ее механических и физических травмах; в стоматологии и гинекологии масло камадол используется при различных поражениях слизистых оболочек [1, 4, 5, 8].

При применении лекарственных средств в клинике возможно проявление нежелательных побочных эффектов, поэтому доклиническое исследование безопасности медицинских препаратов является необходимым компонентом лечебного процесса [9 – 11].

В настоящей статье представлены результаты изучения безопасности комплексных препаратов, разработанных на основе расторопши пятнистой, — сибектана и камадола.

Экспериментальная часть

Безопасность сибектана и камадола исследовали в соответствии с “Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ” [12].

Для исследования токсичности сибектана субстанцию смешивали с растительным маслом. Камадол вводили животным в виде готовой лекарственной формы.

Определение параметров токсичности камадола при однократном введении проводили на белых нелинейных мышах и крысах обоего пола. При изучении “острой” токсичности сибектана кроме мышей и крыс использовали морских свинок самцов. В этих экспериментах различные дозы субстанции сибектана вводили животным однократно внутривнутрибрюшинно или внутривнутрижелудочно, камадол — *per os*. Для оценки параметров “острой” токсичности исследуемых лекарственных средств применяли метод пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксона [13].

В условиях подострого эксперимента на 80 белых нелинейных крысах (по 20 животных в группе) изучали токсичность субстанции сибектана при ежедневном введении в течение 30 дней в желудок в дозах 50, 500 и 1000 мг/кг (максимальная — 100-кратная терапевтическая доза). В этом эксперименте контрольные животные получали растительное масло в том же режиме, что и подопытные.

Токсичность камадола в условиях хронического эксперимента исследовали при внутрижелудочном введении в течение 3 мес крысам в дозе (по объему) 10 мл/кг, собакам — в дозе 3 мл/кг и при наружном нанесении на депиллированный участок размером 2 × 3 см кожи спины кроликов породы Шиншилла в дозе 1 мл/кг (терапевтическая доза).

Хроническую токсичность готовой лекарственной формы сибектана (таблетки по 0,1 г) исследовали при 4-месячном пероральном введении собакам в дозах 20 и 200 мг/кг (2- и 20-кратные, рекомендованные для человека). Таблетки сибектана давали собакам ежедневно (кроме субботы и воскресенья) вместе с кормом 1 раз в сутки. Во всех хронических экспериментах контролем служили интактные животные.

При изучении токсичности сибектана на крысах в условиях подострого эксперимента на 1-й и 4-й неделях проводили исследование ряда показателей периферической крови (количество эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, гематокрит, содержание гемоглобина, гемограммы, время свертывания крови на коагулографе Н-334), ряда биохимических показателей и активности ферментов сыворотки крови (общий белок, общий холестерин, триглицериды, мочевины, аланин- и аспартаттрансаминазы, щелочная фосфатаза, фруктозо-1,6-дифосфат альдолаза) с использованием общепринятых стандартных методов.

Функциональное состояние почек оценивали на фоне 3 % водной нагрузки, сердечно-сосудистой системы — при записи электрокардиограмм во II стандартном отведении, центральной нервной системы — по состоянию ориентировочных реакций в условиях “открытого поля” у крыс. После окончания подострого эксперимента и эвтаназии животных у последних определяли общее количество миелокариоцитов, миелограммы и проводили микроскопическое исследование внутренних органов.

В хронических экспериментах на собаках и кроликах при изучении безопасности сибектана и камадола, кроме ежемесячного исследования морфологических и биохимических показателей периферической крови, описанных выше, у собак в конце эксперимента проводили бромсульфалеиновую пробу. Патоморфологическое исследование внутренних органов всех животных проводили в конце эксперимента. Эти исследования выполняли на кафедре патологической анатомии РГМУ им. Н. И. Пирогова.

Для изучения потенциального алергизирующего действия лекарственного средства камадол использовали метод накожных аппликаций на морских свинках

и тест гиперчувствительности замедленного типа на белых мышах [12].

Влияние камадола на гуморальный иммунитет оценивали в микротесте гемагглютинации и по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей линии СВА по методу локального гемолиза в модификации Cunningham. Действие препарата на клеточный иммунитет изучали с помощью реакции “трансплантат против хозяина” (РТПХ) у мышей [12].

Потенциальные мутагенные свойства камадола исследовали в тестах по учету доминантных летальных мутаций, индуцированных препаратом в зародышевых клетках мышей, и учету хромосомных aberrаций, индуцированных камадолом в клетках костного мозга мышей [12].

Все полученные результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием *t*-критерия Стьюдента для определения достоверности различий с контролем.

Результаты и их обсуждение

Сибектан. Однократное внутрибрюшинное введение сибектана мышам, крысам и морским свинкам в дозах 1500 – 2000 мг/кг уже через несколько минут вызывало у животных двигательное возбуждение, одышку, тремор конечностей. Через 10 – 15 мин это состояние сменялось угнетением ЦНС: снижение двигательной активности, боковое положение.

При внутрижелудочном введении сибектана мышам, крысам и морским свинкам в дозах 8000 – 10000 мг/кг картина интоксикации оказалась менее выраженной и наблюдалась в более поздние сроки — через 30 – 40 мин после введения лекарственного средства.

Как при внутрибрюшинном, так и при внутрижелудочном введении сибектана уровня среднесмертельных доз достигнуть не удалось из-за сложности введения препарата. При внутрибрюшинном введении сибектана в максимально введенной дозе 2500 мг/кг погибла 1 мышь из 10 и 2 морских свинки из 10. При внутрижелудочном введении сибектана в дозе 10000 мг/кг (максимально возможная доза для введения) — гибели лабораторных животных в течение всего срока наблюдения не отмечено (таблица).

Таким образом, по показателям токсичности при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном

Показатели средних смертельных доз сибектана при однократном введении различным видам лабораторных животных

Препарат	Вид и пол животных	Показатели ЛД ₅₀ ± <i>m</i> при различных способах введения, мг/кг	
		Внутрибрюшинно	Внутрижелудочно
Сибектан	Мыши самцы	> 2500	> 10000
	Мыши самки	> 2500	> 10000
	Крысы самцы	> 2500	> 10000
	Крысы самки	> 2500	> 10000
	Морские свинки	> 2500	> 10000

способах введения мышам, крысам и морским свинкам сибектан следует отнести к классу малотоксичных веществ.

При изучении токсичности сибектана в 30-дневном эксперименте на крысах все испытанные дозы препарата не вызывали у животных каких-либо видимых изменений. Крысы оставались активными, хорошо прибавляли в массе. У них сохранялся нормальный мышечный тонус, гладкий шерстный покров. Длительное введение сибектана не отражалось на морфологических и биохимических показателях крови, функциональной деятельности печени, почек, сердечно-сосудистой и центральной нервной систем, результатах гистологического исследования внутренних органов животных, эвтаназированных в конце эксперимента.

Анализ показателей, полученных в результате 4 мес введения собакам готовой лекарственной формы сибектана — таблеток по 0,1 г в дозах 20 и 200 мг/кг, не выявил существенных различий в функциональной деятельности внутренних органов и систем организма ни по одному из примененных тестов между исследуемыми показателями животных контрольной группы и собак, получавших сибектан.

Результаты проведенного доклинического токсикологического исследования свидетельствуют о том, что отечественный комплексный препарат растительного происхождения сибектан малотоксичен при однократном и длительном введении лабораторным животным.

Камадол. Токсичность камадола исследовали при однократном введении в желудок мышам и крысам. Максимально возможные дозы камадола (по объему) — 20 мл/кг не вызывали у животных признаков интоксикации. Лишь у нескольких животных в течение 10–15 мин отмечался небольшой тремор конечностей, затем их состояние нормализовалось. Гибель животных в течение 14 дней не наступала. По полученным данным камадол может быть отнесен к классу малотоксичных веществ.

В хроническом 3 мес эксперименте на крысах, получавших ежедневно внутрижелудочно по 10 мл/кг камадола, не обнаружено признаков токсического действия препарата. Морфологические и биохимические показатели крови, данные электрокардиографических исследований, результаты функционального исследования почек, центральной нервной системы у контрольных крыс и получавших препарат, статистически достоверно не различались, что подтверждено и патогистологическими исследованиями внутренних органов подопытных животных.

При изучении хронической токсичности камадола на собаках, получавших в течение 3 мес по 3 мл/кг лекарственного средства, по всем исследуемым показателям также не выявлено признаков, указывающих на токсичность камадола.

Исследование токсичности камадола на кроликах при наружном нанесении препарата на депилированный участок кожи животных в течение 3 мес в дозе 1 мл/кг не изменяло общего состояния и поведения животных. В течение всего эксперимента кролики, по-

лучавшие аппликации камадола, практически не отличались от контрольных. Они имели гладкий шерстный покров, хороший аппетит, сохраняли обычную двигательную активность. Не отмечено раздражающего действия камадола при его длительном нанесении на кожу. По всем исследуемым тестам у камадола при наружном нанесении не установлено общерезорбтивного действия. Проведенное в конце эксперимента патоморфологическое исследование внутренних органов также не выявило каких-либо нарушений, свидетельствующих о токсичности камадола. При микроскопическом изучении участка кожи, взятого с места ежедневного нанесения препарата, показано, что эпидермис, дерма и придатки кожи имеют нормальные структурные признаки. Таким образом, камадол при длительном наружном нанесении на кожу кроликов не обладает местнораздражающим действием.

В экспериментах по изучению специфических видов токсичности проводили исследование иммунологических свойств камадола, его влияние на гуморальный и клеточный иммунный ответ.

Как показали результаты исследования, введение камадола мышам в дозах 0,1, 1 и 10 мл/кг в течение 4 дней не оказывало действия на число антителообразующих клеток в селезенке и обратный титр гемагглютининов в сыворотке крови мышей, что свидетельствует об отсутствии влияния препарата на гуморальное звено иммунитета.

При исследовании свойств камадола в тесте “трансплантат против хозяина” при внутрибрюшном введении мышам в дозах 1 и 10 мл/кг, у препарата не обнаружено токсического действия на клеточное звено иммунитета.

Таким образом, проведенные исследования показали, что препарат камадол не обладает иммунотоксическими свойствами.

В эксперименте на морских свинках, которым в течение 1 мес ежедневно наносили на выстриженный участок кожи камадол в дозе 1 мл/кг (метод накожных аппликаций), при визуальном исследовании через 2 и 4 недели после многократного нанесения препарата не наблюдали отека, гиперемии и каких-либо других проявлений сенсibilизирующего действия исследуемого лекарственного средства.

В тесте гиперчувствительности замедленного типа на морских свинках у камадола также не выявлено аллергизирующих свойств.

Таким образом, проведенные эксперименты свидетельствуют об отсутствии у камадола сенсibilизирующей активности.

Для изучения потенциального мутагенного действия камадола в тесте по учету доминантных летальных мутаций, индуцированных препаратом в зародышевых клетках мышей, камадол вводили внутрижелудочно однократно в дозе 0,2 мл на мышью (10 мл/кг). В основу заключения о степени мутагенной активности были положены данные постимплантационной смертности на самой чувствительной стадии сперматогенеза. Полученные результаты эксперимента показали,

что препарат камадол не индуцирует доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей.

Мутагенные свойства камадола проверяли также в тесте по учету хромосомных aberrаций в клетках костного мозга мышей. Степень мутагенного эффекта в данном тесте определяли путем регистрации видимых структурных нарушений хромосом в клетках на стадии метафазы. Камадол вводили мышам однократно внутривентрикулярно в дозе 10 мл/кг. В результате эксперимента в костном мозге мышей после введения камадола не выявлено достоверного увеличения числа хромосомных aberrаций по сравнению с контролем.

Проведенные исследования указывают на отсутствие у камадола мутагенных свойств.

Таким образом, экспериментальная оценка потенциально возможных специфических видов токсичности камадола показала, что исследуемое лекарственное средство не обладает мутагенными, аллергизирующими и иммунотоксическими свойствами.

Результаты проведенного доклинического токсикологического исследования свидетельствуют о том, что отечественные комплексные препараты растительного происхождения сибектан и камадол малотоксичны при однократном и длительном введении лабораторным животным; обладают хорошей переносимостью.

Полученные экспериментальные данные послужили основанием для проведения клинических испытаний этих препаратов, подтвердивших их безопасность и надежную эффективность при различных заболеваниях печени (сибектан), а также кожи и слизистых оболочек (камадол).

ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Багинская, В. К. Колхир, А. А. Шкаренков и др., В сб. научн. трудов ВИЛАР: *Химия, технология, медицина*, Москва (2000), сс. 282 – 291.
2. С. А. Вичканова, Т. А. Сокольская, В. К. Колхир, Н. М. Крутикова, В сб. научн. трудов ВИЛАР: *Химия, технология, медицина*, Москва (2006), сс. 449 – 453.
3. В. К. Колхир, А. И. Багинская, С. А. Вичканова и др., *Тезисы X Российского нац. Конгресса “Человек и лекарство”*, Москва (2003), с. 121.
4. В. А. Куркин, *Хим.-фарм. журн.*, **37**(4), 27 – 41 (2003).
5. Т. А. Сокольская, *Дисс. докт. фарм. наук*, Москва (2000).
6. F. Rainone, *Am. Fam. Physician.*, **72**(7), 1285 – 1288 (2005).
7. В. Э. Колла, Г. Л. Билич, в сб.: *Фармакологическая регенерация процессов в эксперименте и клинике*, Горький (1978), сс. 3 – 10.
8. В. И. Глызин, Н. В. Тареева, В. Н. Давыдова и др., *Тезисы I Российского нац. Конгресса “Человек и лекарство”*, Москва (1992), с. 198.
9. Л. В. Крепкова, В. В. Бортникова, В. К. Колхир, А. А. Шкаренков, *II съезд токсикологов*, сб. трудов, Москва (2003), сс. 467 – 468.
10. Л. В. Крепкова, В. В. Бортникова, В. К. Колхир и др., *Материалы научно-практической конф. “Клиническая фармакология в России: достижения и перспективы”*, Москва (2004), сс. 112 – 114.
11. Л. В. Крепкова, В. В. Бортникова, А. А. Шкаренков и др., *8 Международный съезд ФИТОФАРМ*, Материалы съезда, Миккели, Финляндия (2004), сс. 111 – 113.
12. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2005), сс. 28 – 216.
13. М. Л. Беленький, *Элементы количественной оценки фармакологического эффекта*, Ленинград (1963), сс. 19 – 32.

Поступила 12.03.07

PRECLINICAL INVESTIGATION OF THE SAFETY COMPLEX MEDICINAL PHYTOPREPARATIONS WHAT HAVE BEEN CREATED ON BASIS OF SILIBUM MARIANUM FRUITS (SMF)

L. V. Krepkova, T. A. Sokol'skaya

All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Moscow, Russia

A preclinical study of the phytopreparations from SMF of hepatoprotective action sibecktan and antiinflammatory action kamadol was carried out. The substance of all the drugs was a low toxic compound at a single intragastric or intraperitoneal administration to the laboratory both sex rats, mice and guinea pigs. Intragastric administration of sibecktan to rats for 1 month in doses of 50, 500, 1000 mg/kg accordingly was a low toxic too. Intragastric administration of sibecktan to dogs for 4 months in doses of 20 and 200 mg/kg didn't produce in animals functional changes of the heart, liver, kidneys, blood and nervous system. Intragastric administration of kamadol to rats in dose of 10 ml/kg, to dogs in dose of 3 ml/kg for 3 months and also external application of kamadol to rabbits in dose of 1 ml/kg for 3 months didn't produce in animals total toxic and local irritant effects. Kamadol didn't cause remote consequences mutagenic effect, allergic and immunotoxic reactions.