

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ АЛКЕНИЛГЛИКОЗИДОВ

© 2000 г. А.И. Сливкин, В.А. Николаевский, В.Л. Лапенко, В.Н. Бузлама, Л.И. Искра

Воронежский государственный университет

Исследована способность ненасыщенных О- и N-гликозидов моносахаров повышать общую резистентность организмов. Изучалась зависимость адаптогенного эффекта от структурной принадлежности гликозидов к α - и β -форме. Эффективность гликозидов определялась при влиянии различных повреждающих факторов – растворов солей фторида и хлорида натрия, хлорофоса, эфира. Изучалось стрессопротективное действие синтетических адаптогенов, а также их влияние на повышение работоспособности, возрастание выносливости, скорость восстановления сил. Для рассматриваемых гликозидов при их низкой токсичности установлена адаптогенная активность, сравнимая с элеутерококком. Подобно природным адаптогенам гликозиды с ненасыщенным агликоном обладают иммуностимулирующей активностью, стрессопротективным действием и уменьшают токсичность ксенобиотиков. Рассмотрено влияние длительного применения повышенных доз некоторых алкенилгликозидов на животный организм.

На фармацевтическом рынке России средства общетонизирующего действия и биогенные стимуляторы представляют, в основном, сложные комплексы экстрактивных веществ растений (биопрепараты женьшеня, элеутерококка, родиолы розовой, лимонника, эликсиры и др.) и тканей животных (пантокрин, рантарин и др.). Данные препараты характеризуются большой терапевтической широтой, укреплением защитных сил и поддержанием нормального физиологического состояния организма, общетонизирующим действием, повышением умственной и физической работоспособности, профилактикой простудных и других респираторных заболеваний, повышением устойчивости организма к инфекционным заболеваниям, регуляцией обменных процессов организма и функции системы иммунитета, отсутствием отрицательных эффектов, таких как токсическое действие на организм, аллергические реакции, отсутствием привыкания при длительном применении.

Среди общетонизирующих средств адаптогены занимают достойное место [3], в то же время общетонизирующим действием обладают ноотропы, антидепрессанты [4], а также азотсодержащие О-гликозиды. Эти соединения на протяжении последних лет изучаются на кафедре фармацевтической химии и технологии лекарственных средств Воронежского государственного университета.

Проведено исследование эффекта общей резистентности организмов при действии ненасыщенных гликозидов и некоторых аналогов на их основе в условиях реализации потенциальных возможностей организма. Основной задачей было выяснение адаптогенной активности этих соединений в сравнении с известными смесями растительных гликозидов элеутерококка. Адаптогены действуют на общие неспецифические молекулярные механизмы, независимо от степени биологической организации организма и характера повреждающего фактора. Исследования проводились на клеточном уровне и животных объектах при использовании α - и β -форм D-гексозидов (глюкоза, галактоза, манноза) и D,L-пентозидов (L-арабиноза и D-ксилоза). По этому ряду гликозидов активность убывает в 1,4 раза. Установлено, что β -форма на 16-18% активнее α -формы гликозидов. Изучение ненасыщенных аналогов алкенилгликозидов (виниловых эфиров аллил-D-глюкозида) показало, что защитное действие таких производных в 1,8 раза превосходит тот же показатель для элеутерококка. Действие синтетических гликозидов в условиях повреждения клеток *ragaresium gaudatum* растворами NaF (0,17%) и NaCl (1,2%) демонстрирует их защитные функции, сравнимые с аналогичными показателями для элеутерококка (табл. 1).

Исследование выносливости и скорости восстановления сил у белых беспородных мышей при по-

вторном плавании с грузом (5% от массы тела) показало, что α -аллил-D-глюкозид как элеутерококк и дибазол в 1,2-1,6 раза повышает эти показатели (табл. 2).

Таблица 1. Защитное действие адаптогенов при повреждении клеток фторидом (0,7%) и хлоридом (1,2%) натрия

Препарат	Контроль*	Концентрация, %	
		0,1	0,01
Элеутерококк (сухой остаток)	$\frac{3,2}{1,000}$	$\frac{5,2}{1,625}$	$\frac{4,7}{1,469}$
D- α -Аллилглюкозид	$\frac{3,2}{1,000}$	$\frac{5,5}{1,719}$	$\frac{4,5}{1,406}$
D-Кротилманнозид	$\frac{3,0}{1,000}$	$\frac{6,2}{2,067}$	$\frac{5,0}{1,667}$

* в числителе - средняя продолжительность жизни в минутах, в знаменателе - коэффициент защиты по сравнению с контролем

Таблица 2. Выносливость и скорость восстановления сил у белых мышей при повторном плавании с грузом 5% от массы тела при 20°C

Препарат	Доза, мг/кг	Коэффициент защиты
Элеутерококк (сухой остаток)	0,1	1,29
	1,0	1,26
	10,0	1,25
	100,0	1,54
Дибазол	1,0	1,10
	10,0	1,88
α -O-Аллил- D-глюкозид	1,0	1,18
	10,0	1,61
	100,0	1,18
α -O-Кротил- D-маннозид	1,0	1,27
	10,0	1,88

В ряду 12 исследованных соединений найдено два перспективных N-гликозида с адаптогенной активностью: АГА-I и АГА-II. Соединения АГА-I и АГА-II в дозе 5 мг/кг в опытах на белых крысах не влияют на ориентировочную реакцию, что говорит об отсутствии стимулирующего действия на ЦНС (табл. 3,

Таблица 3. Динамика ориентировочной реакции у белых крыс линии Vistar при пероральном введении АГА-I и АГА-II

Субстанция	n	Ориентировочная реакция (норковый рефлекс)				
		Фон (до введения)	Период наблюдения (сутки)			
			1	10	20	30
Изотонический раствор хлорида натрия (контроль)	10	11,6 \pm 3,26	13,6 \pm 3,65	15,0 \pm 2,93 p<0,05	12,24 \pm 1,47	14,0 \pm 2,45
АГА-I	10	15,4 \pm 2,27	11,75 \pm 2,85	13,0 \pm 4,0	15,4 \pm 3,651	15,4 \pm 3,18
АГА-II	10	11,2 \pm 3,46	9,6 \pm 2,18	11,4 \pm 2,31	15,4 \pm 3,651	15,4 \pm 3,18

p<0,005). В дозах, сравнимых с терапевтическими дозами элеутерококка по влиянию на физическую работоспособность они превосходят элеутерококк, причем повышение работоспособности наблюдается и через 24 часа после введения субстанций (табл. 4, p>0,05).

Таблица 4. Влияние АГА-I и АГА-II на физическую работоспособность тренированных мышей (бег в третбане) при внутрибрюшинном введении

Препарат, Субстанция	n	Доза, мг/кг	Контроль	Время пробега по отношению к контролю в %	
				Через 30 мин после введения	Через 24 часа после введения
Элеутерококк (сухой остаток)	10	5	100	65 \pm 5,7	-
АГА-I	10	2,5	100	88 \pm 9,1	21,5 \pm 12,3
	10	5		44,3 \pm 5,0	-
АГА-II	10	2,5	100	43,9 \pm 12,9	29,4 \pm 15,4
	10	5		61 \pm 6,1	61 \pm 6,1

Примечание: среднее время пробега животных в контроле составило 150 \pm 5,7 мин.

Особенностью действия АГА-I и АГА-II является способность вызывать дозозависимое повышение порога болевой чувствительности по сравнению с исходной величиной после действия паров эфира (табл. 5).

Некоторые алкенил-гликозиды обладают выраженным антитоксическим действием. α -O-Аллил-D-глюкозид и α -O-Кротил-D-маннозид на 17-22% увеличивают выживаемость животных при остром отравлении хлорофосом (табл. 6). В условиях проведения сравнительных опытов установлено также защитное действие ненасыщенных гликозидов при недостатке кислорода, эмоциональной нагрузке, при попадании в организм ядов (мединал, сапонин, окисленная олеиновая кислота, атропин), а также при лучевой болезни. Токсичность α -O-аллил-D-глюкозида устанавливалась при однократном внутрибрюшинном введении белым мышам. LD50=3000-10000 и LD100 =12000-15000 мг/кг (шестой класс токсичности).

Таблица 5. Устойчивость белых мышей к действию паров эфира при введении АГА-I и АГА-II

Субстанция, раствор	n	Доза, Мг/кг	Длительность нахождения в боковом положении	Величина тока V/%необходимая для получения ответной реакции		
				До вдыхания паров эфира	Сразу после выхода из бокового положения	Через 24 часа после введения субстанции
Изотонический	15	-	2,8±0,14	17,8±2,8	17,6±1,8	17,4±1,9
АГА-I	15	2,5	3,0±0,13	10,8±2,8	$\frac{21,3\pm 18}{21\%}$	-
	15	5	3,6±0,16	17,2±2,5	$\frac{24,8\pm 35}{14,7\%}$	$\frac{21,0\pm 10,0}{14,7\%}$
АГА-II	15	2,5	3,5±0,15	17,0±2,5	$\frac{45,5\pm 3,5}{27,6\%}$	-
	15	5	3,0±0,16	17,2±2	$\frac{51,0\pm 12,0}{29,6\%}$	$\frac{41,0\pm 15}{24,0\%}$

Таблица 6. Защитное действие адаптогенов при остром отравлении белых мышей хлорофосом

Показатели	Контроль	Элеутерококк	α -Аллил-D-глюкозид	α -Кротил-D-маннозид
Количество животных в группе	35	34	35	35
Из них пало	32	20	26	24
Процент выживаемости	9	41	26	31

Примечание:

1. Дозы адаптогенов - 50 мг/кг внутрибрюшинно.
2. Хлорофос вводили подкожно в дозе 500 мг/кг через 1 час после введения адаптогенов.

При однократном и длительном применении в адаптогенных и десятикратно превышающих дозах гликозиды не оказывают неблагоприятного действия на общее состояние животных, беременность, не обладают тератогенным и эмбриотоксическим действием, однако АГА-I и АГА-II в дозах, превышающих в 10 раз возможные терапевтические в опытах на мышях значительно снижают физическую работоспособность, которая восстанавливается спустя один месяц. Эти данные не противоречат литератур-

ным, т.к. известно, что неадекватное увеличение дозы элеутерококка снижает последнюю [1].

Известно, что адаптогены при профилактическом приеме жидкого экстракта элеутерококка, наряду с человеческим лейкоцитарным интерфероном, продигозаном, витаминами и др. повышают резистентность организма к вирусной инфекции при гриппе и ОРЗ и препятствуют развитию вторичных иммунодефицитных состояний [2]. Это связано с иммуномодулирующими свойствами препаратов элеутерококка колючего [5] и сопровождается усилением фагоцитоза в опытах *in vitro*. Увеличением количества В-лимфоцитов, а также уровня суммированных антител в ответ на введение альбумина бычьей сыворотки у мышей, при дифтерийной гипериммунизации лошадей, при иммунизации животных штаммами сальмонелл, тифа и др. [6, 7, 8, 9, 10]. Изучалось влияние на иммунный ответ синтетических гликозидов по их действию на продуцирование антителообразующих β -лимфоцитов к эритроцитам барана (табл. 7). Полученные данные свидетельствуют о том, что препарат АГА-I двухкратно усиливает уровень антителообразования.

Таблица 7. Влияние гликозидов на образование антителообразующих клеток к эритроцитам барана у мышей линии СВА

Препарат	Суточная доза, мг/кг	Число Мышей	Количество АОК на 10^7 в селезенке (уровень достоверности 95%)	P	Коэффициент иммуностимуляции, КИО*
Контроль	-	20	1623±11	-	-
α-О-Аллил- D-глюкозид	10	20	2548±12	<0,05	1,57
	5	20	2434±12	<0,05	1,50
АГА-I	10	20	2954±12	<0,05	1,82
	5	20	3148±12	<0,05	1,99
Полимерная форма АГА-I	10	20	2856±12	<0,05	1,76
	20	20	2824±12	<0,05	1,74

КИО* - количество АОК в опытной группе/количество АОК в контрольной группе. Путь введения - внутривенно.

Таблица 8. Влияние α-О-аллил-D-глюкозида и АГА-II на РНК печени крыс при длительном применении

Показатель	Контроль	Опыт	
		α-аллил-D-глюкозид	АГА-II
Тотальная РНК	73,8±1,1	79,8±1,3	64,2±1,4
И-РНК	2,05±0,08	2,47±0,019	2,22±0,5
Р-РНК	73,6±0,6	86,2±0,4	88,4±0,4
Ядерная РНК, мг/10 ⁶ ядер	6,8±0,7	4,6±0,4	4,8±0,2
РНК, мкг/мг белка:			
Ядерная	60,7±2,3	55,3±2,6	58,2±1,8
Митохондриальная	17,8±0,7	32,8±0,3	19,6±1,2
Микросомальная	71,2±1,6	63,7±2,2	60,4±1,4
Надосадочной жидкости	18,4±0,5	18,3±0,4	16,3±0,5

Повышение общей резистентности при длительном применении адаптогенов связано с субклеточными механизмами. При изучении состояния интактных животных в условиях повышения общей резистентности адаптогенами типа ненасыщенных гликозидов отмечено уменьшение холестерина, увеличение содержания АТФ в печени, повышение энергетического заряда и биогенеза митохондрий, увеличение содержания РНК гепатоцитов. В таблице 8 представлено влияние длительного применения α-О-аллил-D-глюкозида на увеличение содержания информационной рибосомальной РНК, ее выход из ядра, накопление в митохондриях и микросомах.

Проведенные исследования подтвердили положение о том, что адаптогены не оказывают выражено-

го влияния на интактный организм, а проявляют свое действие только на функционально измененном фоне. Действительно, при введении некоторых производных алкенилгликозидов повышение резистентности по большому набору физиологических, морфологических и биохимических показателей крови на субклеточном и молекулярном уровнях выявлены у животных в условиях неблагоприятного воздействия (физическая нагрузка, биогенез митохондрий, состав РНК, энергетический потенциал, действие ксенобиотиков).

Изучались изменения в организме животных с применением адаптогенов при стрессе. Наименьшая стабильность гомеостаза отмечается на стадии тревоги. В это время проявляется повышение общего уровня резистентности, наблюдается уменьшение гипергликемии и эозинопении. Опыты с кроликами на модели гипоксической гипертермии показывают, что на фоне введения терапевтических доз производных алкенил-гликозидов реакция тревоги в любом случае не приводит к существенному изменению содержания эритроцитов, гемоглобина крови, общего кислотного и щелочного гемостаза красных клеток. При этом уменьшается латентный период гемолиза: время кислотного гемолиза возрастает, а щелочного - сильно уменьшается. Это указывает на возрастание проницаемости клеточных мембран, что, очевидно, при стрессе является целесообразным.

Известно, что стресс вызывает диспротеинемию в сыворотке крови, характеризующуюся уменьшением количества альбуминов, β-глобулинов и увеличением α- и γ-глобулинов. Адаптогены усиливают та-

кую направленность изменений белкового состава крови. В виду того, что γ -глобулины являются переносчиками углеводов и гликопротеинов, их увеличение при действии адаптогенов при стрессе является полезным. Повышение удельного веса γ -глобулинов связано с формированием иммунитета. Соответственно росту γ -глобулинов в крови животных происходит значительное увеличение содержания лизоцима. При резком возрастании гистаминаксического индекса сыворотки крови отражающего способность организма к избыточной нейтрализации гистамина, применение адаптогенов уменьшает возрастание указанного индекса. Стресс сопровождается увеличением в крови и уменьшением в надпочечниках содержания холестерина и уменьшение в ткани надпочечников количества РНК [1]. Изученные адаптогены оказывают нормализующий эффект, препятствуя резкому изменению состояния гипофиз-адреналовой системы. Повышение общей резистентности при длительном введении α -О-аллил-Д-глюкозида и препаратов АГА-1 смягчает отрицательные эффекты реакции тревоги, интенсификации защитного ответа. Показатели непосредственно не связанные с действием повреждающего фактора, не изменяются на различных уровнях резистентности, а меняющиеся при стрессе в условиях действия адаптогенов возвращаются к исходному уровню. Проведенные опыты на животных подтвердили, что повышение общей резистентности адаптогенами благоприятно влияет на течение стресса, что может быть перспективным при использовании их для профилактики и комплексной терапии инфекционных и других заболеваний.

Все исследованные соединения являются малотоксичными субстанциями.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований свидетельствуют о том, что синтезированные соединения обладают выраженной адаптогенной активностью сравнимой и превышающей активность элеутерококка, проявляют иммуностимулирующую активность, малотоксичны, потенцируют анальгетическое действие эфира для наркоза, ослабляют токсическое действие ксенобиотиков, обладают стресспротективным действием. Это позволяет придти к заключению о перспективности создания препаратов на основе синтетических гликозидов и о целесообразности дальнейшего поиска потенциальных адаптогенов в ряду ненасыщенных гликозидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брехман И.И. Элеутерококк // Наука. Ленинград. 1968. 183 с.
2. Гагаринова В.М., Пискарева Н.А., Игнатъева Г.С. и др. // Журнал «Микробиологии, эпидемиологии и иммунологии». 1990. № 1. С. 92 - 96.
3. Гордейчук Т.Н. Влияние элеутерококка на эмбриотическую активность некоторых тератогенов у крыс: Автореф. дис. канд. биол. наук // Рос. АМН НИИ эксперим. мед. 1993. 19 с.
4. Еляков Г.Б., Оводов Ю.С. // Гликозиды аралиевых. Химия природных соединений. 1972. № 6. С. 697 - 709.
5. Моисеева Г.Ф., Беликов В.Г. // Фармация. 1992. Т. 41. № 3. С. 79 - 84.
6. Попов Ф.С., Филюнина Е.В., Голшмид В.К. и др. Материалы к изучению женьшеня и других лекарственных средств Дальнего Востока. // Владивосток. 1967. Вып.8. С. 108 - 112.
7. Соловьева А.И. Лекарственные средства Дальнего Востока. // Хабаровск. 1970. Вып. 10. С. 49 - 56.
8. Ji-nian Fang, Proksch A., Wagner H. // Rhytochemistry. 1985. Vol. 24. P. 2619 - 2622.
9. Rensheng X., Sheng-chu F., Zhiyin F. // Planta med. 1980. V. 39. P. 278.
10. Xu R. Sh et al. // Chem. Abstsr. 1983. V. 98. № 122836.