



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2006108965/15, 21.03.2006

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
21.03.2006

(43) Дата публикации заявки: 10.10.2007

(45) Опубликовано: 20.06.2008 Бюл. № 17

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **Легеза В.И. и др. Новая классификация противолучевых средств. Радиационная биология. Радиозэкология, 1998, вып.3, с.416-423. Реферат базы данных PubMed: Cai YJ et al. Antioxidative and free radical scavenging effects of ecdysteroids from *Serratula strangulata*. Can J Physiol Pharmacol. 2002 Dec; 80(12):1187-94 [on line] PMID: 12564645 [найдено (см. прод.)]**

Адрес для переписки:

167982, Республика Коми, г.Сыктывкар, ул.
Коммунистическая, 28, Институт биологии Коми
НЦ УрО РАН, пат. пов. Л.Б. Печерской

(72) Автор(ы):

Кудяшева Алевтина Григорьевна (RU),
Володин Владимир Витальевич (RU),
Шевченко Оксана Георгиевна (RU),
Загорская Надежда Гавриловна (RU),
Володина Светлана Олеговна (RU),
Башлыкова Людмила Анатольевна (RU),
Ермакова Ольга Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии
наук (RU)

(54) ПРОТИВОЛУЧЕВОЕ СРЕДСТВО

(57) Реферат:

Предложено использование смеси эkdистероидов 20-гидроксиэkdизона и 25S инокостерона, выделенной из серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) в медицине в качестве препарата, обладающего в дозе 50 мг/кг противолучевым действием при субклинических дозах облучения. Применение указанной смеси

после длительного низкоинтенсивного гамма-облучения приводит к нормализации фосфолипидной компоненты клеточных мембран печени и эритроцитов, к нормализации кортикостероидной функции надпочечников, значительно снижает генотоксический эффект, обусловленный облучением. 5 табл.

(56) (продолжение):

02.04.2007]. Yu.D.Kholodova Phytoecdysteroids: biological effects, application in agriculture and complementary medicine (as presented at the 14-th Ecdysone Workshop, July, 2000, Rapperswil, Switzerland) Укр. Біохім. Журн., 2001, т.73, №3, с.21-29. Кузьменко А.И. и др. Влияние витамина D3 и эkdистерона на свободнорадикальное окисление липидов. Биохимия, 1997, т.62, вып.6, с.712-715. Статья ecdysterone. Найдено в базе данных ChemIDplus Advanced Full record в Интернете по адресу <http://chem.sis.nlm.nih.gov/chemidplus>. [найдено 26.04.2006]. Зибарева Л.Н. Фитоэkdистероиды семейства Сагуорфиллацеае. Авто-реферат диссертации на соискание ученой степени доктора химических наук Новосибирск. 2003, с.26. ЭНЦИКЛОПЕДИЧЕСКИЙ СЛОВАРЬ МЕДИЦИНСКИХ ТЕРМИНОВ. - М.: Медицина, 2001, с. 667. ЗИБАРЕВА Л.Н. и др. Новые источники фитоэkdистероидов. ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ. - Новосибирск: 1998, с.27. RU 2214830, C2 27.10.2003. RU 2001132695 A, 10.08.2003. RU 2001132463 A, 27.07.2003. RU 2153346 C-1, 27.07.2000. GB 1190960, 06.05.1970. Реферат базы данных PubMed: Zhu TT. et al. Isolation and structure identification of C-25 epimers of inokosterone from *Achyranthes bidentata* Blume] Yao Xue Xue Bao. 2004 Nov; 39(11):913-6 [on line] PMID: 15696932 [найдено 19.04.2007].



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 31/565 (2006.01)*A61P 39/00* (2006.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21), (22) Application: **2006108965/15, 21.03.2006**(24) Effective date for property rights: **21.03.2006**(43) Application published: **10.10.2007**(45) Date of publication: **20.06.2008 Bull. 17**

Mail address:

**167982, Respublika Komi, g.Syktyvkar, ul.
Kommunisticheskaja, 28, Institut biologii
Komi NTs UrO RAN, pat. pov. L.B. Pecherskoj**

(72) Inventor(s):

**Kudjasheva Alevtina Grigor'evna (RU),
Volodin Vladimir Vital'evich (RU),
Shevchenko Oksana Georgievna (RU),
Zagorskaja Nadezhda Gavrilovna (RU),
Volodina Svetlana Olegovna (RU),
Bashlykova Ljudmila Anatol'evna (RU),
Ermakova Ol'ga Vladimirovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Institut biologii Komi nauchnogo tsentra
Ural'skogo otdelenija Rossijskoj akademii
nauk (RU)**

(54) **RADIOPROTECTION AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmacology.

SUBSTANCE: offered mixture of ecdysteroids 20-hydroxyecdysone and 25S inocosterone, extracted from crown saw-wort (*Serratula coronata* L.) is applied in medicine as radioprotection agent dosed 50 mg/kg for subclinic radiation dose. Specified mixture application following long-term

low intensity gamma irradiation normalises phospholipid component of liver cell membranes and erythrocytes, normalises corticosteroid function of adrenal glands.

EFFECT: considerably reduces genotoxic effect of radiation.

4 ex, 5 tbl

Изобретение относится к экидистероидсодержащим биологически активным веществам растительного происхождения и может быть использовано в медицине в качестве нового препарата, обладающего противолучевым действием в условиях длительного низкоинтенсивного гамма облучения.

5 Известно, что синтетические радиопротекторы обладают значительными побочными эффектами, и применение их при малых дозах облучения не всегда оправдано (Кудряшов Ю.Б. О химической защите от ионизирующей радиации низкой интенсивности // Радиационная биология. Радиоэкология, 1997. - Т.37. - Вып.4. - С.673-675; Заичкина С.И., Кондакова Н.В., Розанова О.И. и др. Тестирование противолучевого действия биологически активных веществ в диапазоне средних и малых доз облучения с использованием цитогенетического показателя микроядерного теста // Хим.-фарм. ж., 2004, Т.38, №8, стр.3-8).

10 В связи с этим в последнее время большое внимание уделяется поиску и изучению препаратов, обладающих противолучевыми свойствами в области малых доз облучения, особенно перспективно исследование биологически активных веществ (БАВ) природного происхождения (Легеза В.И., Владимиров В.Г. Новая классификация профилактических противолучевых средств // Радиационная биология. Радиоэкология, 1998. Т.38. - Вып.3. - С.416-425; Кудряшов Ю.Б. О химической защите от ионизирующей радиации низкой интенсивности // Радиационная биология. Радиоэкология, 1997. - Т.37. - Вып.4. - С.673-675).

15 Известно об участии экидистероидов в окислительных реакциях (Осинская Л.Ф., Саад Л.М., Холодов Ю.Д. Антирадикальные свойства и антиокислительная активность экидистерона // Укр. Биохим. Журн., 1992. - Т.64. - №1. - С.114-117.), а также о том, что биологическая активность этих природных соединений связана с воздействием на параметры физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах животных тканей (Коцюруба А.В., Буханевич О.М., Тараканов С.С. Механізми ранньої дії біологічно активних оксистеринів: кальцітриолу і екидистерону. Модуляція внутрішньоклітинних пулів арахіонової кислоти та продуктів її окиснювального метаболізму. - Укр. Биохим. Журн., 1995. - Т.67 - №2. - С.45-52; Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Володин В.В. Исследование антиоксидантных свойств 20-гидроксиэкидизона в модельных системах // Тез. Междунар. совещ. по фитоэкидистероидам. Сыктывкар, 2-6 сентября 1996. 126 с.; Антиоксидантные свойства экидистероидов в системах in vitro и in vivo / Шишкина Л.Н., Кудяшева А.Г., Загорская Н.Г., Кушнирева Е.В., Шевченко О.Г. // Тез. Док VI Межд. конф. "Биоантиоксидант", М., 16-19 апреля 2002. С.632-633; Involvement of 20-hydroxyecdysone in lipid free-radical oxidation: antioxidantizing and protection function / A.I.Kuzmenko, R.P.Morozova, I.A.Nikolenko, G.V.Donchenko, A.V.Palladin // Institute of Biochemistry, Ukrainian National Academy of Sciences, 2000.)

20 В связи с этим, перспективно исследование экидистероидсодержащих препаратов в качестве радиопротекторов, поскольку при низких дозах облучения основной вклад в обеспечение радиорезистентности организма вносят показатели, отражающие состояние мембранных структур (параметров физико-химической системы регуляции ПОЛ) (Шишкина Л.Н. Особенности функционирования физико-химической системы регуляции перекисного окисления липидов в биологических объектах разной степени сложности в норме и при действии повреждающих факторов: Автореф. дис. д.х.н., Москва, 2003. 45 с.).

25 Противолучевые свойства были обнаружены у некоторых биологически активных препаратов растительного происхождения (Радиомодифицирующие эффекты корня женьшеня на функциональное состояние сердечно-сосудистой системы / Лобанок Л.М., Лукина Л.С., Русяев Л.А., Федорович В.А. // Биоантиоксидант: Междунар. симп. в рамках междунар. выст. "Мед. и охрана здоровья. Мед. техн. и аптека", Тюмень, 16-19 сент., 1997. С.76-77; Богданова Т.Б., Иванова И.К. Радиозащитные и антиоксидантные свойства фитосборов ТАН-1 и ТАН-10 // Материалы Межд. науч. конф. "Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств и организационных форм фармацевтической деятельности", Томск, 2000. С.127-128; Заичкина С.И., Кондакова Н.В., Розанова О.И. и др. Тестирование противолучевого действия биологически активных веществ в диапазоне

средних и малых доз облучения с использованием цитогенетического показателя микроядерного теста // Хим.-фарм. ж., 2004, Т.38, №8, стр.3-8).

Известно применение ферментного комплекса из биомассы культивируемых клеток женьшеня и полисициаса папоротниколистного в качестве противолучевого средства (RU патент №2123348, А61К 35/78).

Известно средство, обладающее противолучевой активностью, содержащее экстракт листьев *Gingo bilobo* (РСТ №92/14478, А61К 35/78).

Известно, что растительный экстракт, содержащий 20-гидроксиэкдизон, и сам препарат, выбранный за прототип, при пероральном введении крысам, облученным в дозе 8 Гр, увеличивает среднюю продолжительность жизни на 6-9 суток (Зибарева Л.Н. Фитоэкдистероиды растений семейства *Caryophyllacidae*. Автореф. дис. д.х.н., Новосибирск, 2003. 31 с.).

Неизвестно эффективное действие указанного препарата при пролонгированном хроническом действии малых доз ионизирующей радиации.

Задачей изобретения является создание противолучевого средства, полученного из растений *Serratula coronata* L., используемого при длительном действии ионизирующего излучения в малых дозах, расширение ассортимента препаратов, обладающих противолучевыми свойствами.

Применение нового средства после облучения в субклинических дозах приводит к нормализации фосфолипидной компоненты клеточных мембран печени и эритроцитов, кортикостероидной функции надпочечников, значительно снижает генотоксический эффект, обусловленный облучением.

Технический результат достигается тем, что в качестве действующего вещества, обладающего противолучевым свойством, используют смесь экдистероидов, содержащую 20-гидроксиэкдизон и 25S иннокостерон, выделенную из серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.)

Было установлено, что в наземных органах серпухи венценосной содержание фитоэкдистероидов, в частности, 20-гидроксиэкдизона (20E), на порядок выше, чем в левзее сафлоровидной. Смесь экдистероидов, выделяют по способу, описанному в патенте РФ №2153346. Способ позволяет получить 20-гидроксиэкдизона - не менее 75% и 25S-иннокостерона - не менее 10%.

Способ осуществляется следующим образом.

Заготовку сырья, предпочтительно листьев, осуществляют в фазу вегетации, массовой бутонизации или начала цветения. Экспериментально установлено, что в эти фазы развития содержание экдистероидов максимально. Исследование распределения экдистероидов в растениях серпухи венценосной проводили у средневозрастных генеративных особей. По содержанию экдистероидов серпуха венценосная намного превосходит рапontiкум сафлоровидный. Использование надземной части растения в отличие от корневищ рапontiкума, значительно облегчает заготовку и переработку экдистероид содержащего растительного сырья.

Измельченное растительное сырье (надземная часть растения рода *Serratula* семейства *Asteraceae*) неоднократно экстрагируют водой при температуре не выше 100°C не более 1 ч при постоянном перемешивании и соотношении сырье: экстрагент - 1:10 соответственно. Густой водный экстракт упаривают при пониженном давлении, обрабатывают смесью этилацетат-метанол, взятой при соотношении 4:1 или хлороформ-метанол при соотношении 6:1. Процедуру повторяют до полного извлечения экдистероидов из густого экстракта. Органические извлечения упаривают досуха, затем экдистероиды очищают путем хроматографии на оксиде алюминия в системе хлороформ-метанол или этилацетат-метанол возрастающей полярности и перекристаллизацией в системе этилацетат-метанол или этилацетат-этанол при соотношении 9:1.

Предлагаемое противолучевое средство, представляет собой белый кристаллический порошок, не имеющий запаха, мало растворимый в воде, хорошо растворимый в метаноле и 70%-ном этаноле.

Проверку противолучевых свойств препарата из смеси эрдистероидов, названного «Серпистен», проводили ранней весной (март-апрель) на 85 половозрелых одновозрастных (2.5-3 мес) самцах белых беспородных мышей, содержащихся в стандартных условиях вивария. Животные были разбиты на 8 групп, средняя масса зверьков каждой группы была одинаковой. Маркировку проводили окраской шерсти. Содержали по восемь особей в каждой клетке.

Животных экспонировали в течение 30-и дней от двух источников ^{226}Ra (активность источников составляла 0.474-106 и 0.451.106 кБк). Общая поглощенная доза за месяц облучения составила 22.6 сГр. Серпистен мыши получали в водном растворе в дозах 5 мг/кг и 50 мг/кг массы тела зверьков либо в течение десяти дней до облучения, либо в течение 10 дней после облучения.

Были рассмотрены следующие варианты: I группа - контрольная; II группа - подвергалась облучению; III группа получала противолучевое средство Серпистен в дозе 5 мг/кг; IV группа получала Серпистен - 50 мг/кг; V группа получала Серпистен - 5 мг/кг и затем подвергалась облучению; VI группа получала Серпистен - 50 мг/кг и подвергалась облучению; VII группа подвергалась облучению с последующим приемом Серпистена в дозе 5 мг/кг; VIII группа подвергалась облучению с последующим приемом Серпистена - 50 мг/кг. В период проведения эксперимента исследовали динамику массы тела животных. После декапитации зверьков проводили биохимический, гистоморфологический, цитогенетический анализ.

Пример 1. Динамика массы тела мышей. В процессе проведения эксперимента животных взвешивали через каждые двое суток, наблюдая за изменениями массы тела. У животных, получавших в течение 10 дней вместо питьевой воды раствор Серпистена (5 и 50 мг/кг, соответственно, варианты III и IV) не произошло заметных изменений в массе тела по отношению к контролю (вариант I). Взвешивание животных, в течение месяца подвергавшихся облучению, не показало достоверного прироста массы тела за весь период наблюдений (напротив, отмечали некоторое снижение массы к концу эксперимента), тогда как масса контрольных зверьков увеличилась в среднем на 2 г.

30

35

Таблица 1. Прирост массы тела самцов белых беспородных мышей в различных вариантах эксперимента				
Вариант	Число животных	Прирост массы за период облучения, г	Прирост массы за время употребления препарата, г	Прирост массы за весь период, г
I контроль	16 8			2.6 1.6
II облучение	8	-1.1		-1.1
V 5 мг/кг + обл.	8			-0.1
VI 50 мг/кг + обл.	8			1.7
VII обл. + 5 мг/кг	8	-0.1	1.9	1.8
VIII обл. + 50 мг/кг	8	-1,3	1.0	-0.3

40 Анализ динамики массы тела мышей показал, что введение Серпистена после облучения в дозах 5 (вариант VII) и 50 мг/кг (вариант VIII) вызывает существенный прирост массы тела (на 1-1.9 г). К концу эксперимента, увеличение массы тела опытных зверьков либо приближается к контрольным показателям (вариант VII), либо масса животных остается на исходном уровне (вариант VIII), в зависимости от того, насколько снизилась масса зверьков за время облучения и какова доза препарата. Использование Серпистена до облучения (вариант V) также препятствовало снижению массы тела, а в варианте VI способствовало ее приросту, близкому к контрольным показателям. Итак, во всех случаях применение Серпистена препятствовало снижению массы животных, обусловленному длительным облучением, что подтверждает наличие противолучевых свойств у данного препарата.

50 Пример 2. Анализ одного из параметров системы регуляции процессов перекисного окисления липидов - состава фосфолипидов. Для выделения липидов из гомогенатов органов животных использовали метод Блая и Дайера в модификации Кейтса (Кейтс М. Техника липидологии. М.: Мир, 1975. 322 с.). Содержание фосфолипидных компонентов в

липидов тканей определяли методом тонкослойной хроматографии (Молочкина Е.М. Определение эффективности антиоксидантов по их влиянию на реакции окисления ненасыщенных липидов, катализируемых гомосодержащими соединениями // Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo. - М.:

5 Наука, 1992. - С.62-64).

Помимо анализа количественного соотношения различных фракций ФЛ (%), оценивали обобщенные показатели состава ФЛ: содержание ФЛ в составе общих липидов (% ФЛ) отношение фосфатидилхолина к фосфатидилэтаноламину (ФХ/ФЭ), отражающее структурное состояние мембранной системы органа; отношение сумм более легкоокисляемых к более трудноокисляемым фракциям ФЛ (Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ), отражающее способность липидов к окислению. Данные экспериментов обработаны методами вариационной статистики (Лакин Г.Ф. Биометрия. - М.: Высшая школа, 1980. - 293 с.; Сусликов В.И. Об усилении смертности млекопитающих от кишечного синдрома и частичном экранировании кроветворной системы или постлучевой трансплантации кроветворных клеток // Радиобиология, 1973. - Т.13. - Вып.6. - С.880-883).

10 При различных комбинациях последовательного действия Серпистана и хронического облучения наблюдаемый эффект в значительной степени зависел от концентрации вещества, времени его поступления в организм (до или после облучения) и исследуемого органа. Более существенные изменения как по отдельным фракциям фосфолипидов, так и по обобщенным показателям липидного обмена обнаружены в эритроцитах, по сравнению с печенью. Так, введение серпистана в обеих дозах (5-50 мг/кг) до облучения животных вызывало существенный рост (в 3.7-4.1 раза) доли лизофосфатидилхолина (ЛФХ) в мембранах эритроцитов. Между тем, использование этих же доз препарата после облучения, напротив, не приводило к достоверным изменениям в содержании ЛФХ (5 мг/кг), либо способствовало исчезновению данной фракции (50 мг/кг). Известно, что увеличение доли лизоформ фосфолипидов обусловлено активацией фосфолипазы Ад, вызывающей гидролиз ФЛ. ЛФХ обладает детергентным действием и в большом количестве токсичен для клетки. Эритроциты, имеющие в своем составе ЛФХ, обладают пониженной осмотической устойчивостью. Увеличение доли лизоформ наблюдали в липидах различных тканей животных, подвергнутых как острому облучению в эксперименте, так и у грызунов, отловленных на радиоактивно загрязненных территориях (Биологические эффекты радиоактивного загрязнения в популяциях мышевидных грызунов / А.Г.Кудяшева, Л.Н.Шишкина, О.Г.Шевченко, Л.А.Башлыкова, Н.Г.Загорская. Екатеринбург, 2004. 214 с.; Биохимические механизмы радиационного поражения природных популяций мышевидных грызунов / А.Г.Кудяшева, Л.Н.Шишкина, Н.Г.Загорская, А.И.Таскаев. СПб.: Наука, 1997. 156 с.).

40

45

50

Таблица 2 Состав фосфолипидов и обобщенные показатели липидного обмена в печени половозрелых самцов беспородных мышей в различных вариантах опыта						
Фракция (показатель)	Контроль n=29	5 мг/кг(10 сут) + хр. облуч. (1 мес) n=17	50 мг/кг (10сут)+ хр. облуч. (1 мес) n=16	Хр. облуч. (1 мес) + 5 мг/кг (10 сут) n=23	Хр. облуч. (1 мес) + 50 мг/кг (10 сут) n=23	
ЛФХ	3.44±0.14	4.35±0.7	2.78±0.21	2.92±0.27	3.09±0.29	
СМ	3.9±0.11	7.21±0.7*	3.87±0.12	3.16±0.28	4.50±0.29	
ФХ	52.19±0.52	39.43±2.03*	52.74±1.1	51.57±0.79	51.06±0.83	
ФИ+ФС	9.17±0.28	10.58±0.5	9.86±0.17	9.06±0.18	9.16±0.26	
ФЭА	27.72±0.33	28.79±0.5	26.29±1.2	28.89±0.40	27.87±0.35	
КЛ+ФК	3.57±0.22	9.64±0.9*	4.46±0.2	4.40±0.22	4.30±0.47	
% ФЛ	48.42±1.02	77.86±2.3*	50.49±0.67	49.64±0.84	52.57±1.1	
ФХ/ФЭА	1.89±0.04	1.38±0.08	2.10±0.17	1.79±0.04	1.83±0.03	
Σ ЛОФЛ/ Σ ТОФЛ	0.68±0.01	0.98±0.05*	0.71±0.01	0.74±0.01	0.71±0.01	
N - число хроматографических дорожек; * - достоверность различий от контроля при P<0.05						

Введение Серпистана после облучения препятствовало не только накоплению в мембранах изученных тканей токсичных лизоформ фосфолипидов, но и падению доли основной структурной фракции (ФХ), а также способствовало сохранению нормальных

соотношений ФХ/ФЭ и ΣЛОФЛ/ΣТОФЛ (особенно в липидах печени), отражающих соответственно структурное состояние мембранной системы и способность липидов к окислению. Данные характеристики имеют большое значение при оценке способности клетки к нормальному функционированию, особенно в условиях хронического воздействия низкоинтенсивного излучения, когда создаются предпосылки для чрезмерной интенсификации процессов перекисного окисления липидов.

Таблица 3
Отдельные показатели состава фосфолипидов и обобщенные показатели липидного обмена в печени половозрелых самцов беспородных мышей при различных вариантах опыта

Фракция (показатель)	Контроль n=29	5 мг/кг (10 сут) + хр. облуч. (1 мес) n=17	50 мг/кг (10 сут)+ хр. облуч. (1 мес) n=16	Хр. облуч. (1 мес) + 5 мг/кг (10 сут) n=23	Хр. облуч. (1 мес) + 50 мг/кг (10 сут) n=23
ЛФХ	2.03±2.03	6.10±0.57*	5.18±2.79	2.91±2.54	0
КЛ+ФК	5.03±1.16	2.35±0.58*	1.69±0.51**	3.14±0.30	5.16±1.80
%ФЛ	10.23±2.42	16.36±0.30**	22.89±5.42	-	10.57±4.25
ФХ/ФЭА	4.06±0.97	3.43±0.30	4.27±0.33	3.42±0.06	3.03±0.70
Σлофл/Σтофл	0.375±0.09	0.355±0.019	0.211±0.005	0.340±0.005	0.355±0.075

Из четырех рассмотренных нами вариантов последовательного действия γ-облучения и Серпистена наиболее предпочтительным оказалось применение последнего в дозе 50 мг/кг после прекращения действия облучения, что привело к нормализации фосфолипидной компоненты клеточных мембран по большинству изученных нами показателей.

Пример 3. Содержание гормонов (глюкокортикоидов и альдостерона) в ткани надпочечника мышей.

При определении кортикостероидных гормонов применяли метод микроколоночной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), который позволяет проводить анализ стероидных гормонов в небольших количествах биологического материала. В гомогенатах ткани надпочечника определяли содержание кортикостерона, 11-дегидрокортикостерона и альдостерона.

Полученные данные показали, что использованный режим хронического облучения вызывает почти двукратный подъем уровня кортикостерона в ткани надпочечника. Параллельно отмечено значительное снижение уровня альдостерона - гормона клубочковой зоны, регулирующего водно-солевой обмен.

Введение препарата Серпистен и последующее облучение животных (варианты V, VI), так же как прием препарата после облучения (варианты VII, VIII), приближает результат по содержанию гормонов надпочечника к контрольному уровню, снижая уровень кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона. Обращает на себя внимание тот факт, что введение препарата до облучения приводит к уменьшению уровня кортикостерона по сравнению с интактными животными, тогда как введение препарата в концентрации 50 мг/кг после облучения практически восстанавливает уровень кортикостерона и 11-дегидрокортикостерона до контроля. При этом наблюдается повышение содержания альдостерона в ткани надпочечника, превосходящее контрольный уровень, тогда как облучение приводило к снижению содержания данного гормона.

Таблица 4
Содержание кортикостероидных гормонов в надпочечниках в различных вариантах опыта

Варианты эксперимента	Кортикостерон, нг/орган	11-дегидрокортикостерон, нг/орган	Альдостерон, нг/орган
Контроль	90±11	10,7±3,7	72±18
Обл. + экд. 5 мг/кг	61±20	4,0±0,63	94±44
Обл. + экд. 50 мг/кг	103±17	13±6	136±40
Экд. 3 мг/кг + обл.	74±12	3±1	82±29
Экд. 50 мг/кг + обл.	79±16	2,6±0,4	137±33

Таким образом, Серпистен при комбинированном действии с облучением, оптимизирует кортикостероидную функцию надпочечников, препятствуя ее функциональному истощению.

Пример 4. Цитогенетические показатели в клетках костного мозга мышей.

Поскольку в нашу задачу входило исследование возможных противолучевых свойств Серпистена, мы провели оценку цитогенетических эффектов хронического излучения в

малой дозе с использованием микроядерного теста (Hedlle J.A. A rapid in vivo test for chromosomal damage // Mutation Research. 1973. V.18. P.187-190.). Было обнаружено, что хроническое облучение в течение одного месяца (накопленная доза - 22.6 сГр) оказывает значительный генотоксический эффект, увеличивая частоту микроядер в 2,5

5 раза.

Применение Серпистена в дозе 50 мг/кг как до облучения, так и после него привело к значительному снижению генотоксического эффекта облучения. При этом частота микроядер, возникающих при облучении (12.9%), снижалась в два раза.

10

Варианты эксперимента	Число животных	Σ клеток	Частота микроядер (%)	Митотический индекс (%)
Контроль	26	26000	5.0 \pm 0.35	3.0 \pm 0.41
Облучение 1 мес.	8	8000	12.9 \pm 3.76*	4.3 \pm 0.84
Облучение 1 мес + Серпистен 5 мг/кг	8	8000	4.6 \pm 1.00	3.6 \pm 0.61
Облучение 1 мес + Серпистен 50 мг/кг	8	8000	6.7 \pm 1.11	4.8 \pm 0.52*
Серпистен 5 мг/кг + Облучение 1 мес	8	8000	12.6 \pm 2.52*	2.3 \pm 0.70
Серпистен 50 мг/кг + Облучение 1 мес	8	8000	6.0 \pm 1.15	2.5 \pm 0.50

15

*) достоверность различий от контроля при P<0.05

20

Противолучевой эффект Серпистена в минимальной дозе (5 мг/кг) проявлялся только в условиях его применения после облучения - в этом случае частота микроядер в клетках костного мозга снижалась до контрольного уровня - (4.6% и 5% соответственно).

Таким образом, смесь экдистероидов, выделенная из серпухи венценосной, обладает выраженным противолучевым эффектом в области низкоинтенсивного облучения.

25

- использование препарата в дозе 50 мг/кг после действия облучения приводит к нормализации как фосфолипидной компоненты клеточных мембран печени и эритроцитов по большинству изученных показателей, так и кортикостероидной функции надпочечников;

- применение препарата в дозе 50 мг/кг в течение десяти дней как до, так и после облучения значительно снижает мутагенный эффект, вызванный облучением.

30

Формула изобретения

Применение смеси экдистероидов 20-гидроксиэкдизона и 25S инокостерона, выделенной из наземной части серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.), в дозе 50 мг/кг в качестве противолучевого средства при субклинических дозах облучения.

35

40

45

50