



<https://doi.org/10.70728/a.series.tab.v08.i09.261>

ВЛИЯНИЕ КОНЬЮГАЦИИ ДОКСОРУБИЦИНА С ПОЛИСАХАРИДОМ НА ЕГО НЕЙРОТОКСИЧНОСТЬ

*Тагайалиева Н.А. *, Махмудов Л.У., Рахмонова Г.Г., Мухитдинов Б.И.,
Усмонов Ш.Т., Баратов К.Р., Якубова Р.А., Амонова Д.М., Тураев А.С.*

Институт биоорганической химии АН РУз

**e-mail: nigora.tagayalieva@gmail.com*

В Институте биоорганической химии АН РУз разработан новый биоконъюгат доксорубицина (DOX) с полисахаридным носителем на основе полигалактуронана и галактозы (Галакторубицин, ГР). В ходе комплексной оценки нейротоксичности DOX (10 мг/кг) и ГР (117,6 мг/кг) при однократном внутривенном введении мышам по модификации действия судорожных (коразол, стрихнин) и снотворных (этаминал-натрия, хлоралгидрат) препаратов было показано развитие более тяжелых функциональных поражений ЦНС при использовании DOX по сравнению с ГР.

Ключевые слова: доксорубицин, полисахарид, конъюгат, нейротоксичность

O‘R FA Bioorganik kimyo institutida poligalakturonan va galaktoza asosidagi polisaxarid tashuvchisi bilan doksorubitsin (DOX)ning yangi biokon'yugati — Galaktorubitsin (GR) ishlab chiqilgan. Sichqonlarga DOX (10 mg/kg) va GR (117,6 mg/kg)ni bir marta vena ichiga yuborishdan so‘ng ularning neyrotoksikligini kompleks baholash ko‘razol, strixnin kabi tirishishga olib keluvchi preparatlar hamda etaminal-natriy va xloralgidrat kabi uyqu chaqiruvchi preparatlar ta’sirining o‘zgarishini aniqlash orqali amalga oshirildi. Tadqiqot natijalari DOX qo‘llanganda GRga nisbatan markaziy asab tizimining funksional buzilishlari yanada yaqqol namoyon bo‘lishini ko‘rsatdi.

Калит so‘zlar: doksorubitsin, polisaxarid, kon'yugat, neyrotoksiklik.

A novel doxorubicin (DOX) bioconjugate with a polysaccharide carrier based on polygalacturonan and galactose, Galactorubicin (GR), has been developed at the Institute of Bioorganic Chemistry, AS RUz. A comprehensive assessment of the neurotoxicity of DOX (10 mg/kg) and GR (117.6 mg/kg) following a single intravenous administration to mice was performed by evaluating their effects on convulsant drugs (pentylenetetrazole and strychnine) and hypnotic agents (etaminal sodium and chloral hydrate). The results demonstrated more pronounced functional disturbances of the central nervous system following administration of DOX compared with GR.

Keywords: doxorubicin, polysaccharide, conjugate, neurotoxicity.

Доксорубицин (DOX) является одним из наиболее широко используемых химиотерапевтических препаратов для лечения множества видов рака. Он вызывает гибель клеток за счет образования активных форм кислорода, аддуктов ДНК, ингибирования топоизомеразы II и др. [1]. Для снижения токсического влияния DOX на здоровые клетки организма разработаны лекарственные формы DOX - липосомы, полимерные наночастицы, конъюгаты полимер-лекарственное средство, полимерные мицеллы и наноформулы, доступные в продаже, а также находящиеся на стадии клинической разработки. Хотя некоторые нанопродукты на основе DOX в настоящее время используются в клинической практике, очевидно, что необходимы дальнейшие исследования для достижения прогресса в лечении рака [2].

Разработанный в Институте биоорганической химии АН РУз биоконъюгат Галакторубицин (ГР) представляет собой «конъюгат полимер-доксорубицин», где роль полимера выполняет полисахаридный носитель на основе полигалактуроновой кислоты и галактозы. ГР показал бóльшую противоопухолевую активность на мышах с привитой аденокарциномой Эрлиха по сравнению с DOX [3], и меньшую токсичность [4, 5].

DOX характеризуется ограниченным прохождением через гематоэнцефалический барьер, поэтому его нейротоксическое действие преимущественно обусловлено периферическими механизмами, проявляющимися когнитивными нарушениями, анатомическими изменениями в структурах головного мозга и периферической нервной системы, и проявлялось чаще всего в виде головной боли, судорог, энцефалопатии и нарушения зрения [6, 7]. В связи с чем, данная работа посвящена изучению функционального состояния ЦНС при внутривенном введении ГР и DOX по модификации действия снотворных и судорожных средств.

Материалы и методы

В исследованиях использованы мыши CD-1, массой тела $20 \pm 2,0$ г, по 10 особей в каждой группе, находившиеся в условиях вивария со свободным доступом к воде и корму на обычном рационе. Манипуляции с лабораторными животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях.

Исследуемые вещества вводили однократно внутривенно в хвостовую вену в объеме 0,3 мл: контрольной группе – растворитель (изотонический раствор для инъекций), опытной - ГР в дозе 117,6 мг/кг, группе сравнения - DOX в дозе 10 мг/кг. Препараты со снотворным действием (этаминал-натрия в дозе 50 мг/кг, хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг для развития снотворного эффекта у 90% животных) вводили внутривенно через 30 мин. и фиксировали показатели: латентный период, продолжительность сна и количество уснувших животных. Препараты с судорожным действием (коразол в дозе 80 мг/кг, вызывающей судороги у 50% животных, стрихнин в дозе 70 мг/кг, вызывающей судороги у 70% животных) вводился подкожно в область затылка через 60 мин. и фиксировали показатели: латентный период коразоловых судорог, количество животных с судорогами, летальность мышей в течение 6 часов. Статистический анализ проведен методами вариационной статистики, результаты

представлены в виде средней арифметической (М) и ошибки средней арифметической (m). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований

Модификация действия снотворных препаратов. После применения этаминала-натрия в контрольной группе животных спали 9 мышей (90%), средняя продолжительность сна составила $79,44 \pm 4,1$ мин при латентном периоде $6,90 \pm 0,08$ мин (табл. 1). На фоне введения DOX наблюдаются изменения фиксируемых показателей: значимо укорачивается латентный период ($5,98 \pm 0,10$, $p < 0,0001$) и значимо удлиняется продолжительность сна ($93,75 \pm 4,56$ мин, $p = 0,035$), что говорит о возможном усилении торможения в ЦНС за счет повышения чувствительности к барбитуратам на фоне DOX, в том числе и по причине токсических изменений в нейронах. Связывание DOX с полигалактуроновой кислотой приводит к отмене этих проявлений с развитием обратного эффекта: на фоне введения ГР в дозе 117,6 мг/кг происходит статистически значимое удлинение латентного периода по сравнению с контролем - до $7,15 \pm 0,03$ мин ($p = 0,0175$), и с DOX ($p < 0,0001$), а также значимое укорочение продолжительности сна относительно DOX ($76,88 \pm 8,2$ мин, $p = 0,04$). При этом оба препарата не повлияли на долю уснувших, в обоих случаях 8 животных из 10. Обратная картина наблюдается при применении хлоралгидрата: введение DOX в дозе 10 мг/кг вызвало ослабление снотворного эффекта данного препарата, отмечается двукратное удлинение латентного периода (с $17,7 \pm 1,7$ мин в контроле до $37,0 \pm 4,84$ мин, $p = 0,0016$) и значимое укорочению продолжительности сна (с $125,5 \pm 7,0$ мин в контроле до $103,0 \pm 7,9$ мин, $p < 0,05$) (табл. 1). Введение ГР приводит к развитию тех же событий: к увеличению времени наступления сна до $22,7 \pm 4,7$ мин (но без значимых различий с контролем), и к укорочению самого сна до $94,4 \pm 9,1$ мин ($p = 0,016$). Доля уснувших во всех трех группах значимо не отличалась друг от друга, составляя 90-100%.

Таблица 1

Модификация действия снотворных препаратов при введении DOX и ГР
($M \pm m$, $n=10$, мыши)

Препараты, доза	Латентный период, мин	Продолжительность сна, мин	Доля уснувших животных, %
Этаминал натрия			
Контроль	$6,90 \pm 0,08$	$79,44 \pm 4,1$	90
DOX, 10 мг/кг	$5,98 \pm 0,10$, $p_k < 0,0001$	$93,75 \pm 4,56$, $p_{cp} = 0,035$	80
ГР, 117,6 мг/кг	$7,15 \pm 0,03$ $p_k = 0,0175$, $p_{cp} < 0,0001$	$76,88 \pm 8,2$, $p_{cp} = 0,04$	80
Хлоралгидрат			
Контроль	$17,7 \pm 1,7$	$125,5 \pm 7,0$	90
DOX, 10 мг/кг	$37,0 \pm 4,8$, $p_k = 0,0016$	$103,0 \pm 7,9$, $p_k < 0,05$	100
ГР, 117,6 мг/кг	$22,7 \pm 4,7$	$94,4 \pm 9,1$, $p_k = 0,016$	90

Примечание: показатель значимости различий с контролем – p_k , с препаратом сравнения DOX – p_{cp}

Таким образом, результаты двух экспериментов показывают выраженное влияние DOX на течение процессов, вызванных снотворными препаратами. При этом степень проявления и направленность этих изменений определяются механизмом действия примененного снотворного средства. Конъюгация DOX с полисахаридным носителем приводит к ослаблению этих эффектов. Суммируя вышесказанное можно предположить, что оба препарата не просто оказывают токсическое воздействие на ЦНС, но и влияют на метаболизм снотворных препаратов, чувствительность рецепторов к ним.

Модификация действия судорожных препаратов. В контрольной группе после применения коразола у половины животных наблюдались судороги (5/10) с последующим летальным исходом животных (5/10), латентный период коразоловых судорог составил $7,22 \pm 0,19$ мин. Введение DOX в дозе 10 мг/кг вызывает значительное ухудшение состояния животных: повышается как доля мышей с судорогами (100%, $p=0,039$), так и смертность среди них – до 80%, но при этом значимо увеличивается латентный период – до $8,33 \pm 0,2$ мин, $p=0,0017$, т.е. судороги возникают позже, но протекают тяжелее. Использование ГР приводит к снижению нейротоксического влияния цитостатика: уменьшается число животных с судорогами до 80% и смертность среди них до 70%, хотя латентный период сохранился в тех же пределах ($7,98 \pm 0,06$ мин, $p=0,004$ относительно контроля).

Таблица 2

Модификация судорожного действия коразола и стрихнина при введении DOX и ГР ($M \pm m$, $n=10$, мыши)

Препараты, доза	Латентный период, мин	Доля животных с судорогами, %	Смертность, %
Коразол			
Контроль	$7,22 \pm 0,19$	50	50
DOX, 10 мг/кг	$8,33 \pm 0,2$, $p=0,0017$	100, $p^*=0,039$	80
ГР, 117,6 мг/кг	$7,98 \pm 0,06$, $p=0,004$	80	70
Стрихнин			
Контроль	$16,19 \pm 0,14$	70	40
DOX, 10 мг/кг	$14,97 \pm 0,31$	90	50
ГР, 117,6 мг/кг	$15,49 \pm 0,30$	80	50

Примечание: **p** - показатель значимости различий с контролем, **p*** - с поправкой Йейтса для малых чисел

Применение стрихнина вызвало судороги у 70% животных в среднем через $16,19 \pm 0,14$ мин после его введения, с последующей гибелью 4 из 10 мышей. На фоне DOX отмечается ухудшение всех трех показателей, но без достижения статистической значимости: доля животных с судорогами увеличивается до 90%, латентный период уменьшился до $14,97 \pm 0,31$ мин, смертность мышей составила 50%. Введение ГР несколько уменьшило токсические эффекты DOX, но все три изученных показателя в обоих случаях оставались в пределах контрольных значений, т.е. смеем предполагать, что DOX и его конъюгат не изменяют чувствительность животных к стрихнину.

Таким образом, DOX, влияя на функциональное состояние центральной нервной системы, приводит к повышению частоты и тяжести коразол-индуцированных судорог, тогда как конъюгация DOX с полисахаридом вызывает менее выраженное усиление судорожного действия коразола. В тоже время DOX и его конъюгат не изменяют чувствительность животных к стрихнину. Результаты комплексной оценки нейротоксичности DOX и его конъюгированной формы с использованием чувствительных тестов показали развитие более тяжелых функциональных поражений ЦНС при использовании DOX по сравнению с ГР. Особые указания: ГР при внутривенном введении терапевтической дозы должен с осторожностью применяться со снотворными и успокаивающими средствами, так как укорачивает терапевтическое действие данных препаратов, снимая их тормозящее влияние на мозг.

Использованная литература

1. Sritharan S., Sivalingam N. A comprehensive review on time-tested anticancer drug doxorubicin //Life sciences. – 2021. – Vol. 278. – P. 119527.
2. Cagel M., Grotz E., Bernabeu E. et al. Doxorubicin: nanotechnological overviews from bench to bedside //Drug discovery today. – 2017. – Vol. 22. – №. 2. – P. 270-281.
3. Мухитдинов Б. И. Макромолекулярные системы с направленным противоопухолевым действием на основе полисахаридов и их биологическая активность: автореф. дис.... докт. хим. наук: 02.00.10. – Ташкент, 2023. – 69 с.
4. Тагайалиева Н. А., Баратов К. Р., Якубова Р. А. и др. Определение острой токсичности препарата доксорубицин и его конъюгата Р-DOX на мышцах //Farmatsiya. – 2024 - №3. – С. 77-82.
5. Тагайалиева Н.А., Якубова Р. А., Баратов К.Р. и др. Действие доксорубицина и его полигалактуронан-производного Р-DOX на клетки костного мозга мышей, *in vivo* // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2024. – Т. 87. – №. 5. – С. 14-19.
6. Kamińska K., Cudnoch-Jędrzejewska A. A review on the neurotoxic effects of doxorubicin //Neurotoxicity research. – 2023. – Vol. 41. – №. 5. – P. 383-397.
7. Radeva L., Yoncheva K. Doxorubicin toxicity and recent approaches to alleviating its adverse effects with focus on oxidative stress //Molecules. – 2025. – Vol. 30. – №. 15. – P. 3311.