

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ В ДЕЙСТВИИ ФИТОХИТОДЕЗОВ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПОВЫШЕНИЯ ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ

*Б.А. Комаров**, *К.А. Трескунов***, *Л.В. Погорельская****, *А.И. Албулов*****

*Институт проблем химической физики РАН, Черноголовка,
e-mail: komarov@icp.ac.ru

**Больница Научного центра в Черноголовке РАН, Черноголовка

***Российская медицинская академия последипломного образования, Москва

****Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
РАСХН, г. Щёлково, e-mail: bioprogress@mail.ru

SOME PECULIARITIES OF THE EFFECT OF PHYTOCHITODESE AND PROSPECTS FOR INCREASING THEIR EFFICIENCY

*B.A. Komarov**, *K.A. Treskunov***, *L.V. Pogorel'skaya****, *A.I. Albulov*****

*Institute of Problems of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Chernogolovka, Moscow Region, e-mail: komarov@icp.ac.ru

**Hospital of the Scientific Center in Chernogolovka, Russian Academy
of Sciences, Chernogolovka, Moscow Region

***Russian Medical Academy of Post-Diploma Education,
Ministry of Public Health, Moscow

****All-Russia Research and Technological Institute, Russian Academy of Agricultural
Science, Shchelkovo, Moscow Region, e-mail: bioprogress@mail.ru

ABSTRACT

The extended polytarget effect of phytochitodeses as compared to the phytotherapy methods is shown. Possible mechanisms of the polydirectional effect of the phytopreparations containing polydispersed chitosan are discussed. Some problematic questions of the further development in this area are arisen.

Фитотерапия известна столько, сколько помнит себя человечество. В настоящее время методы фитотерапии предполагают максимальное извлечение веществ из всех или отдельно взятых частей лекарственного растения. Известно, что состав экстрагируемых веществ отличается от растения к растению по содержанию органических компонентов, макро-, микро- и наноэлементов в легкоусваиваемой форме. Важно отметить, что умелое применение фитотерапии, особенно на основе многокомпонентных, веками проверенных сборов лекарственных растений, практически никогда не вызывает нежелательных осложнений. Именно поэтому к ней обращаются там и тогда, где и когда официальная медицина не в состоянии справиться с болезнью вообще и/или с осложнениями, сопутствующими, как известно, лучевой и химиотерапии, антибиотико- и гормонотерапии.

Примерно в конце 80-х — начале 90-х годов в России появились хитозансодержащие препараты американского и китайского производства. Позже начали завоевывать российский рынок отечественные препараты, например хитодез [1], полихит, хитан, «хитозан» альга-плюс, олигосахариды хитозана фирмы «Олигофарм» и др. Оказалось наиболее эффективным применение именно хитодеза с методами фитотерапии в результате простого и экономичного сочетания его с сухим экстрактом сборов лекарственных растений, что позволило получить в одном технологическом цикле так называемые фитохитодезы [2]. В настоящее время отработана технология получения около 60 различных серий хитодезов и фитохитодезов.

На примере лечения лекарственным сбором — «фитоколином» методами фитотерапии и фитохитодезами на его основе обнаружены явные преимущества фитохитодезотерапии, что наглядно демонстрируется данными таблицы. Очевидно, что фитохитодезотерапия не является панацеей от всех бед, однако повышенную эффективность при-

менения фитохитодезов следует подчеркнуть. Чем это обусловлено и существуют ли пути улучшения их действия?

Известно, что практически все заболевания, включая и инфекционные, сопровождаются процессами воспаления. Поэтому биоантиоксиданты всегда присутствуют в методах лечения. Исследования последних десятилетий показали универсальность связи между уровнем свободно-радикальных реакций и обменом липидами в мембранах при воздействии повреждающих факторов или антиоксидантов для всех внутриклеточных и клеточных мембран клеток животных, растительных организмов и микроорганизмов. Различие имеется лишь во времени релаксации системы – от минут до суток [4].

Обобщенные данные эффективности лечения «фитоколином»
и фитохитодезами серий 04, 04А, 04АС и 04АВ [3]

Вид терапии	Всего больных	Выраженность заболевания после лечения									
		30, 20, 10		31, 21		32		33, 22, 11		12, 13, 23	
		Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Фитотерапия	823	356	43,3	339	41,2	50	6,0	70	8,5	8	1,0
Фитохитодезтерапия	152	61	40,1	68	44,7	17	11,2	8	4	0	0

Выраженность заболевания: 3 — тяжелая форма, 2 — средней тяжести, 1 — легкая форма, 0 — отсутствие заболевания, 30 — переход из тяжелой формы к отсутствию заболевания в результате лечения, 31 — переход из тяжелой в легкую, 32 — переход из тяжелой в среднюю форму.

Поэтому, кроме антиоксидантов, одновременно для лечения применяются вещества специфического назначения, что приводит к полимишенности действующих начал. Этим целям отвечает направленный синтез «гибридных молекул», имеющих в своей структуре кроме антиоксидантных групп, фрагменты целенаправленного действия [4]. При синтезе гибридных молекул используется в основном «сшивание» антиоксидантов с молекулами веществ, действующих на специфические для данного заболевания мишени. При этом, как правило, достигается не только поставленная цель, но и существенно снижается токсичность.

Основные работы по синтезу, проверке токсичности и антиметастатического эффекта проведены в группе экспериментальной онкологии отдела химбио ИПХФ РАН в Черноголовке. Этим же коллективом испытана смесь глюкозамина с его димером в сочетании с цитостатиками в низких, неэффективных дозах по антиметастатическому действию. Такое применение оказалось наиболее эффективным: индекс ингибирования метастазов возрос от 57 до 98% [5].

Каков механизм синергетического эффекта? Не известно. Можно полагать, что действующим началом в этом случае являются комплексы цитостатиков с олигомерами хитозана. При этом мономер и димер могут выполнять роль проводника цитостатиков, а избыточное их количество (или все формы?) — роль антиоксиданта. Самое существенно то, что для получения эффекта не потребовалось образовывать ковалентную связь и создавать «гибридную молекулу»! Подобный синергизм может реализоваться и в действии фитохитодезов, в которых совмещаются различные органические и неорганические вещества с молекулами хитозана полифракционного состава от мономерного звена — глюкозамина до макромолекул весом 350000 Да.

Отметим, однако, что «гибридные молекулы» хитозана с экстрагируемыми веществами из лекарственных растений могут образовываться в самом процессе получения фитохитодезов, а именно на конечной стадии — лиофилизации. Удаление воды в вакууме может быть сравнимо с действием водоотнимающих средств в органическом синтезе. Подтверждением этому может быть простой эксперимент. Обнаружено образование ацетамидных групп [5] в солевой форме хитозана с уксусной (дейтероуксусной и хлоруксусной) кислотой при длительной сушке в обычных условиях.

Образование подобных контактов молекул хитозана возможно при наличии карбоксильных групп в экстрагируемых из растений веществах. В принципе возможно и

взаимодействие между NH_2 - и OH -группами звеньев хитозана в полярной среде с функциональными группами органических веществ под действием элементов и/или лектинов, способных выполнять роль катализаторов или ферментов.

Особенно эти реакции возможны в условиях экстракции лекарственных растений в присутствии добавок катионного или анионного полиэлектролита на основе хитозана с целью увеличения извлечения биологически активных веществ. В этом случае появляется дополнительная возможность взаимной активации функциональных групп аналогично тому, как это происходит, например, при активации аммоний-катионом спиртовой OH -группы в реакции уретанообразования посредством связи этого катиона с неподеленной электронной парой атома кислорода [4]. И это может быть проверено экспериментально.

Роль «сшивателя» могут выполнять и прочные хелаты, и комплексы, образующиеся в растворах фитохитозидов. Все это будет приводить к расширению спектра действия на организм человека, появлению полимишенности, в немалой степени обусловливающейся и полифракционным составом хитозана.

Справедливости ради следует подчеркнуть, что методы фитотерапии всегда отличались полимишенным действием, что в немалой степени объясняет ее мягкое лечебное действие без нежелательных осложнений, конечно, при правильном научном приготовлении и применении доз и составов фитосборов.

Как мы видим, сочетание экстрактов фитосборов с водорастворимой формой хитозана полифракционного состава может приводить к более широкой многонаправленности действия благодаря образованию новых хелатов, комплексов и подобия «гибридных молекул» на основе новых амидных связей.

Но этим не ограничивается положительный вклад хитозана. Одно из самых важных его свойств – это коррекция иммунной системы [5]. Очевидно, такую роль выполняет не вообще хитозан, а та его фракция, которая может быстро усваиваться при пероральном применении. Проведем анализ возможного усваивания хитозана.

Известно, что в кровеносных капиллярах различают два вида пор: мелкие (диаметр 5–10 нм) и крупные (диаметр 20–70 нм). Мелкие поры обеспечивают транспорт воды и растворенных в ней небольших молекул, крупные — транспорт макромолекул. Существенно, что мелких пор в 103–104 раза больше, чем крупных. В мембранах внутриклеточных органоидов высших организмов обнаружены трансмембранные каналобразующие белки-тримеры (порины), которые имеют заполненные водой поры, проницаемые для молекул с М.м. 600 Да.

Установлено [6], что усвоение пищи происходит в «щеточной кайме» эпителия кишечника. На каждой клетке эпителия имеется две тысячи пальцевидных выпячиваний, которые хорошо видны только в электронном микроскопе. Поры между выпячиваниями настолько малы, что ни один микроб в них пробраться не сможет, так как самый маленький микроб в сто раз больше размера поры «щеточной каймы». Но туда свободно проходят дипептиды — осколки белков, молекулы сахара и мельчайшие пузырьки эмульгированного жира.

Недавно в эксперименте на мышах показано, что при пероральном применении олигомерного H^3 -хитозана с числом звеньев в цепи от 1 до 8 ($179 < \text{М.м.} < 1306$) в крови и практически во всех органах обнаруживаются молекулы олигомеров хитозана уже через 1 мин после приема, а через 3 мин достигается максимальное содержание [7]. Расчеты показывают, что в общей сложности усваивается около 2% от принимаемой перорально дозы. Учитывая высокую гидратированность полисахаридов и их олигомеров, можно предположить, что быстро могут усваиваться только мономер (М.м. = 179) и димер (М.м. = 340). Попадая в кровь, эти олигомеры быстро разносятся по всем органам человека. Крупные поры могут обеспечивать транспорт олигомеров хитозана с числом звеньев не больше 14–16 (М.м. ≤ 2700), но в количестве в 10^3 – 10^4 раз меньшем, чем глюкозамина и его димера. Эти расчетные предсказания еще не подтверждены экспериментально. А вот по глюкозамину есть подтверждение, полученное при исследовании фармакокинетики терафлекса.

Американский перорально применяемый препарат — терафлекс, предназначенный для профилактики и лечения заболеваний и травм опорно-двигательного аппарата, со-

стоит из гидрохлорида глюкозамина и хондроитинсульфата примерно в равных количествах (раньше этот препарат называли ХГК-комплекс). Было установлено, что при первом прохождении через печень усваивается 25% глюкозамина. Наибольшие его концентрации обнаруживаются в печени, почках и суставном хряще через 3–4 ч, а около 30% усвоенного количества длительно находится в костной и мышечной ткани. Период полувыведения — 68 ч, экскретируется в неизменном виде. По существу, все это подтверждает наши данные по исследованию усваивания меченного тритием по С–Н-связи хитозана на мышцах, за исключением временного фактора: усваивание хитозана мышцами происходит в 60–80 раз быстрее.

Определенная часть усваиваемых олигомеров хитозана находится в печени. Это приводит к образованию их комплексов с гепарином, что оказывает, прежде всего, антикоагулирующее действие, а также активирует ферменты, устраняет очаги воспаления, способствует дезинтоксикации, регенерации и восстановлению работоспособности печени. С этой точки зрения весьма важно дальнейшее изучение обнаруженной нами тенденции увеличения содержания ^3H -хитозана в крови при его пероральном введении совместно с экстрактом фитосбора [7].

Современная антибиотикотерапия приводит к быстрому бактерицидному эффекту и увеличению образования бактериального липополисахарида, а далее к неконтролируемой эндотоксемии. Известно, что в этом случае положительную роль выполняет мощное противополисахаридное действие гелевого хитозана [5]. Эффективность гелевых форм хитозана может быть усилена путем применения хитозана полифракционного состава с экстрактами лекарственных растений, что должно быть весьма полезным при подагре, артрозах, травмах, ушибах и т. д.

С целью снижения концентрации полимера при сохранении эффективности важно создание редко сшитой сетчатой структуры путем, например, частичного превращения солевых форм аминокрупп звеньев хитозана с многоосновными карбоновыми кислотами в ковалентные амидные связи. Очевидно, что комплексное применение новых гелевых форм хитозана в сочетании с фитохитозедами повысит эффективность фитохитозедтерапии.

Уместно отметить, что эффективность гелевых форм хитозана в существенной степени может определяться конформационным состоянием молекул хитозана в растворе. Известно, что в водном растворе дихлоруксусной кислоты [8] макромолекулы хитозана имеют фибриллярную структуру и в определенных условиях могут принимать стержневидную форму. Этот эффект может проявляться и в случае сочетания хитозана с экстрактами лекарственных растений, что должно приводить к увеличению поверхности цепи и, соответственно, к увеличению площади контакта молекул хитозана с растворимыми и нерастворимыми веществами и усилению комплексообразующих, хелатообразующих и адсорбционных свойств.

Известно, что основными защитными реакциями организма человека являются воспаление и фагоцитоз — поглощение и переваривание микроорганизмов, чистка альвеол в легких от пыли, сажи, смолы. Роль «чистильщиков» и «мусорщиков» выполняют разбросанные по всем тканям макрофаги двух систем: подвижные гранулоциты и моноциты и фиксированные в тканях печени, селезенки, лимфатических узлах мононуклеарные клетки.

Адсорбируясь на поверхности, хитозан способствует притяжению инородных тел и облегчает первичное взаимодействие макрофагов, увеличивает таким образом их активность в связывании таких тел. Кроме того, экспериментально установлено, что хитозан активирует выработку макрофагами окиси азота [9], что также должно облегчать их работу в данном случае по перевариванию. Очевидно, что эту функцию хитозана может выполнять быстроусваиваемая его фракция при пероральном применении — смесь мономера и его димера.

С точки зрения повышения эффективности фитопрепаратов на основе хитозана немаловажным может быть оптимизация некоторых фитохитозедов, например противоонкологического, при иммунодефиците, при подагре, при артрозо-артритах, хитозед с сабельником болотным и других по концентрации в них глюкозамина и его димера.

С позиций максимального извлечения БАВ из лекарственного сырья для каждой серии фитохитодезов важно установить оптимальную среду экстракции и наличия в ней добавок природных водорастворимых полисахаридов в виде катионного или анионного полиэлектролита. Отметим, что в этом случае возможно образование «гибридных молекул» и как следствие, возможно не только повышение антиоксидантной емкости (АОЕ), но и расширение полимишенного действия целевых препаратов — фитохитодезов. В первую очередь, возможен брутто-контроль по величине АОЕ жидких и сухих экстрактов, полученных лиофилизацией без и в присутствии добавок олигомеров хитозана и/или хитодеза на основе хитозана полифракционного состава.

Известно, что хитозан активирует синтезируемые в клетках соединительной ткани ферменты, ответственные за транспорт питательных веществ и продуктов жизнедеятельности клеток в матриксе. По существу, хитозан таким образом активирует лимфодренаж и повышает эффективность фитотерапии в системе эндозкологической реабилитации. Но какой хитозан эту активацию выполняет наилучшим образом? И какова роль в этом смысле того олигомерного хитозана, который быстро проникает в кровь и во все органы при пероральном применении? Можно полагать, что в этой области также возможны экспериментальные проверки. Особенно в вопросе проникновения в кровь через крупные поры размером 20–70 нм, какое здесь ограничение в М.м.?

Исследователи в Японии давно отметили, что наибольшей биологической активностью обладают образцы хитозана со степенью деацетилирования (СД), равной 70%. Это близко к соотношению: одно звено с ацетамидной связью на три звена с аминогруппой. Чем это обусловлено? Можно предположить, что это связано со структуроузнаваемостью, лучшей адсорбируемостью на рецепторах мембраны клеток и оптимальной для организма сорбцией токсинов и тяжелых металлов. Какова роль на самом деле СД хитозана в процессах усваивания и физиологической активности?

Ответы на поставленные вопросы позволят повысить эффективность фитопрепаратов на основе хитозана полифракционного состава, которые уже зарекомендовали себя в течение многолетнего применения фитотерапевтами в клинической практике как надежные многоцелевые препараты, практически не вызывающие осложнений и нежелательных побочных явлений.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Комаров Б.А., Албулов А.И.* Способ получения водорастворимых форм хитозана. Патент РФ № 2215749 от 14.06.2001.
2. *Комаров Б.А., Албулов А.И., Трескунов К.А. и др.* Способ получения фитохитодезов. Патент РФ № 2204402 от 14.06.2001.
3. *Трескунов К.А., Комаров Б.А., Мартиросян Д.М. и др.* Фитоколин и фитохитодезы на его основе. Применение в лечении и профилактике заболеваний // Материалы 6-й Междунар. науч. конф. «Фитотерапия, биологически активные вещества естественного происхождения в современной медицине». 14–15 декабря 2006 г. Черноголовка. РИО ИПХФ РАН. С. 264–281.
4. *Бурлакова Е.Б.* Гибридные антиоксиданты. «Биоантиоксидант» // Материалы 7-й Междунар. науч. конф. 25–26 октября 2006 г., Москва.— М: Изд-во РУДН. С. 3.
5. *Комаров Б.А., Трескунов К.А., Погорельская Л.В. и др.* Эффективность фитохитодезов и возможности ее повышения // Материалы Междунар. форума «Интегративная медицина 2008». Ч. 3. Лекарственные растительные средства. Фитотерапия. 6–8 июня 2008 г., Москва. С. 131–146.
6. *Уголев А.М.* Физиология и патология пристеночного (контактного) пищеварения. — Л: Наука, 1967.
7. *Погорельская Л.В., Комаров Б.А., Костенко А.А. и др.* Средство для лечения инфекционных заболеваний. Патент РФ № 2273484 от 22.03.2004.
8. *Titova E.F., Belavcheva T.H., Gamzazade A.I., Skljjar A.M., Pavlova S.A., Rogozin S.V.* Investigation of the structure formation of chitosan in solution by transmission electron microscopy. Acta Polimerica. 1986. V. 37. №.2. P. 121–124.
9. *G. Peluso, O. Petillo, M. Ranieri, M. Santin, L. Ambrosio, D. Calabro, B. Avvalone and G. Balsamo.* Chitosan-mediated stimulation of macrophage function. Biomaterials. 1994. V. 15. № 15. P. 1215.