

ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ПОЛИПЕПТИДОВ МОРСКИХ ЕЖЕЙ

А.Е. Кательникова^{1, 2*}, **М.Н. Макарова**², доктор медицинских наук, **О.И. Авдеева**², кандидат фармацевтических наук, **В.В. Воробьева**¹, доктор медицинских наук, **О.Н. Пожарицкая**², кандидат фармацевтических наук, **А.Н. Шиков**^{1, 2}, доктор фармацевтических наук

¹Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; Российская Федерация, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

²Санкт-Петербургский институт фармации, Российская Федерация, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, п. Кузьмолловский, 245

Введение. Для лечения острого бронхита назначают лекарственные средства различных групп, включая антибиотики и иммуномодуляторы. В последние годы внимание исследователей приковано к препаратам, созданным на основе природного сырья, в частности морских гидробионтов. Пептид, полученный из морского ежа, в исследованиях *in vivo* и *in vitro* показал антибактериальное и противовоспалительное действия.

Цель исследования. Проведение доклинических исследований острой и хронической токсичности лекарственного средства на основе комплекса гликозилированных полипептидов (рабочее название – «Стронгилостин»), выделенного из морских ежей вида *Strongylocentrotus droebachiensis* (*S. droebachiensis*).

Материал и методы. Для определения острой токсичности препарат вводили крысам эндотрахеально в дозах 0,03, 0,1 и 0,2 мг/кг. Для более полной оценки токсических эффектов препарат вводили крысам и мышам внутрибрюшинно в дозах 0,1, 0,2, 1, 2 и 5 мг/кг. В исследовании хронической токсичности введение препарата осуществляли эндотрахеально 1 раз в сутки на протяжении 90 дней в дозах 0,03, 0,1 и 0,2 мг/кг. Оценку безопасности проводили по поведенческим реакциям животных, общим биохимическим и гематологическим показателям крови, массовым коэффициентам внутренних органов с последующей гистологической оценкой органов в динамике.

Результаты. При оценке острой токсичности препарата на аутбредных крысах и мышах значения LD₅₀ установить не удалось в связи с отсутствием гибели экспериментальных животных. Многократное, на протяжении 90 дней, эндотрахеальное введение препарата не оказывало негативного воздействия на организм животных: гематологические, биохимические и другие показатели, характеризующие состояние систем и органов у животных, получавших препарат, не имели статистически значимых отличий от аналогичных показателей контрольной группы.

Заключение. Препарат «Стронгилостин» следует признать перспективным с учетом установленного профиля безопасности для применения в отоларингологии и пульмонологии.

Ключевые слова: морские ежи, *Strongylocentrotus droebachiensis*, гликозилированные полипептиды, острая и хроническая токсичность.

*E-mail: katelnikova.ae@doclinika.ru

ВВЕДЕНИЕ

Согласно заключению Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), заболевания верхних дыхательных путей в 2011 г. включены в число 10 ведущих причин смертности в мире [1]. Одной из наиболее распространенных дыхательных патологий считается острый бронхит, который ежегодно поражает приблизительно 5% взрослого населения [2, 3]. В соответствии с клиническими рекомендациями для его лечения применяют лекарственные средства (ЛС) различных групп, включая антибиотики и иммуномодуляторы, оказывающие не только эффективное действие, но и имеющие побочные явления. Так как в основе патогенеза острого бронхита лежит острое воспаление слизистой оболочки, все еще актуальным остается поиск эффективных и безопасных ЛС, обладающих мембраностабилизирующим, про-

тивовоспалительным, иммунокорректирующим и другими свойствами [4].

Перспективными ЛС считаются препараты, созданные на основе природного сырья, в частности морских гидробионтов. Так, по последним исследованиям биологически активные вещества (БАВ), выделенные из морских организмов, содержат антиоксиданты, а также новые молекулярные соединения, действующие на циклооксигеназу и транскрипционный фактор NF-κB [5–7]. Например, экстрагированные из морской губки *Suberites mammillaris* 4 моно- или дийодированные полиацетиленовые кислоты обладают противовоспалительной активностью, ингибируя выработку нитрита в LPS-стимулированных макрофагах клеток RAW 267,4 [8]. Пептид, полученный из зеленого морского ежа *Strongylocentrotus droebachiensis* (*S. droebachiensis*), в исследованиях *in vivo* и *in vitro* оказывал антибактериальное и противовоспалительное действия [9]. Кроме того, есть данные, подтвержда-

ющие иммуномодулирующие свойства биополимеров, полученных из гидробионтов [10]. Исследование безопасности противодиабетического препарата КЛС-073, представляющего собой комплекс из гонад морских ежей, на фоне 12-месячного введения крысам показало очень хороший профиль [11]. Таким образом, БАВ морских гидробионтов можно рассматривать как новые ЛС для лечения острого бронхита.

Цель исследования – доклиническое изучение обшетокического действия ЛС на основе комплекса гликозилированных полипептидов, выделенного из морских ежей вида *S. droebachiensis*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследуемый препарат (рабочее название «Стронгилюстин», далее – СГ) – 0,02% раствор, представляющий собой пептидно-аминокислотный комплекс, выделенный из зеленых морских ежей вида *S. droebachiensis*. Методами хроматографии установлено, что комплекс содержит 10–15% пептидов, 35–45% аминокислот, 4–8% фосфолипидов, микроэлементы, сахара [12, 13].

При проведении исследования СГ руководствовались действующими методическими рекомендациями по доклиническому изучению обшетокического действия новых фармакологических средств [14]. Эксперименты выполнены согласно методическим руководствам и нормативным документам, правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации и одобрены на заседании биоэтической комиссии Санкт-Петербургского института фармации [15].

Острую токсичность препарата СГ изучали на 100 аутбредных крысах (50 самцов и 50 самок) и 60 аутбредных мышах (30 самцов и 30 самок), полученных из питомника РАМН «Рапполово». Животных содержали в виварии в стандартных условиях (температура воздуха – 19–25°C, относительная влажность – 30–70%), $\text{NH}_3 \leq 10 \text{ мг/м}^3$, $\text{CO}_2 \leq 0,15 \text{ об.}\%$. Световой режим составлял 12 ч света и 12 ч темноты. Крысы находились в стандартных прозрачных пластиковых клетках группами по 5 особей одного пола, мыши – по 10 особей. Животные получали полнорационный сбалансированный по содержанию питательных веществ корм для лабораторных животных (по ГОСТ Р 50258-92). Препарат СГ вводили эндотрахеально крысам в дозах 0,03; 0,1 и 0,2 мг/кг. Кроме того для более полной оценки токсических эффектов препарата использовали подкожное введение у крыс и внутрибрюшинное у мышей в дозах 0,1; 0,2; 1; 2 и 5 мг/кг. Высшая исследуемая доза была определена максимально возможным объемом для однократного введения животному в сутки при указанных путях введения [14]. С учетом концентрации раствора препарата СГ (0,2 мг/мл) максимально возможный объем при эндотрахеальном введении составил 1 мл/кг, при внутрибрюшинном и

подкожном введении – 25 мл/кг. После введения препарата за всеми животными наблюдали на протяжении 14 дней. Животных взвешивали до начала исследования и затем – на 2-й, 7-й и 15-й дни. На 15-й день исследования животных подвергали эвтаназии и некропсии с осмотром внутренних органов. Дополнительно проводили гистологическую оценку органов и тканей в месте введения тестируемого препарата.

Изучение хронической токсичности препарата при его длительном введении выполнялось на 240 аутбредных крысах (120 самцов и 120 самок) с массой тела на начало исследования 180–220 г. Для проведения эксперимента животных распределяли на 4 экспериментальных группы по 30 самцов и 30 самок в каждой группе. Введение препарата и плацебо выполняли эндотрахеально с помощью заэрозоллера модель IA-1B-R (Penn-Century Inc., USA) на протяжении 3 мес (90 дней). Плановую эвтаназию животных по 10 самцов и 10 самок из каждой группы осуществляли на 31-й и 91-й дни исследования, а также на 121-й день спустя 30 дней после последнего введения изучаемого вещества (отсроченное наблюдение). 1-я группа животных (контрольная) получала физиологический раствор, 2-я группа – исследуемый препарат СГ в дозе 0,03 мг/кг, 3-я группа – в дозе 0,1 мг/кг и 4-я – в дозе 0,2 мг/кг. Высшая или максимально переносимая доза была определена с помощью максимально возможного суточного объема для однократного эндотрахеального введения животному массой 200 г и составила 0,2 или 1 мл/кг.

Установили следующие критерии оценки хронической токсичности: число павших животных и сроки их гибели, внешние проявления интоксикации, поведенческие реакции, масса тела и данные клинико-лабораторных исследований. Оценили отсроченное влияние введения исследуемого препарата на организм экспериментальных животных спустя 30 дней после последнего введения. Повреждающее действие препарата на внутренние органы и ткани животных при его многократном применении определяли в ходе патолого-анатомического исследования (макро- и микроскопическая оценка) внутренних органов (тимус, сердце, легкие, печень, селезенка, надпочечники, почки, желудочно-кишечный тракт, головной мозг) павших крыс и крыс, подвергнутых плановой эвтаназии. Дополнительно, с целью исключения возможного иммунотоксического действия препарата, выполняли гистологическое исследование подмышечных и подчелюстных лимфатических узлов (региональных к месту введения). Животных эвтаназировали путем обескровливания из полостей сердца после наркотизации препаратом «Золетил 100» (Virbac S.A., Франция) в дозе 10 мг/кг.

Материал для гистологического исследования фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч, после чего по общепринятой мето-

дике заливали в парафин. Затем изготавливали срезы толщиной 5–7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином (ГЭ). Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили при помощи светооптического микроскопа Carl Zeiss Axio Scope A1. Микрофотографирование выполняли при помощи встроенной в микроскоп цифровой фотокамеры (Carl Zeiss).

Гематологические показатели определяли в цельной крови с антикоагулянтом на гематологическом анализаторе «ABACUS juniorvet», биохимические показатели – на биохимическом анализаторе «А-25» с использованием реагентов фирмы BioSystems на 31-й, 91-й и 121-й дни исследования.

Результаты исследований сравнивали с данными, полученными у крыс контрольной группы, где вводили физиологический раствор. Статистическую оценку результатов показателей крови, массы тела и массовых коэффициентов внутренних органов осуществляли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), с последующим межгрупповым сравнением (posthoc) и использованием теста Тьюки (posthoc Tukey's). Для всех показателей вычисляли групповое среднее арифметическое (М) и стандартную ошибку среднего (m). Различия были определены при 0,05 уровне значимости. Статистический анализ данных выполняли с помощью программного обеспечения Статистика 6.0.

Результаты и обсуждение

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам исследования острой токсичности препарата СГ на аутбредных крысах и мышах значение ЛД₅₀ установить не удалось, так как экспериментальные животные не погибали. Отклонений в состоянии здоровья экспериментальных животных после однократного эндотрахеального, внутрибрюшинного и подкожного введения в исследуемых дозах не наблюдалось. При некропии никаких макроскопических повреждений внутренних органов обнаружено не было. При гистологическом изучении тканей, непосредственно контактировавших с препаратом (трахея, легкие с бронхами, кожа, серозная оболочка), признаков местно-раздражающего действия препарата не обнаружено.

Таблица 1

**КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС-САМЦОВ
НА 91-й ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ (n=20)**

Показатели	Контрольная группа	Препарат СГ в дозе, мг/кг		
		0,03	0,1	0,2
WBC Лейкоциты, 10 ⁹ /л	7,5±0,3	7,9±0,3	8,0±0,3	7,7±0,3
GRA Гранулоциты, %	67,6±0,8	68,5±0,9	69,0±1,0	68,8±0,8
MID Моноциты/Эозинофилы, %	5,7±0,3	5,9±0,2	6,0±0,3	5,3±0,3
LYM Лимфоциты, %	26,6±0,8	25,6±0,9	25,0±0,9	26,0±0,8
RBC Эритроциты, 10 ¹² /л	8,2±0,2	8,2±0,2	8,2±0,2	8,3±0,2
HGB Гемоглобин, г/л	149±3	150±2	150±3	148±2
HCT Гематокрит, %	48,4±0,7	47,5±0,7	48,1±0,9	47,6±0,8
PLT Тромбоциты, 10 ⁹ /л	641±28	628±28	644±26	599±17

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 n – количество животных в исследуемой группе; СГ – исследуемый препарат.

В условиях хронического эксперимента многократное введение на протяжении 90 дней препарата СГ в дозах 0,03, 0,1 и 0,2 мг/кг не приводило к гибели животных, отсутствовали также внешние проявления интоксикации, не было отмечено снижения массы тела в течение периода введения (90 дней) и отсроченного наблюдения (30 дней).

Таблица 2

**КЛИНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС-САМОК
НА 91-й ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ (n=20)**

Показатели	Контрольная группа	Препарат СГ в дозе, мг/кг		
		0,03	0,1	0,2
WBC Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,1±0,3	7,9±0,2	8,1±0,3	7,5±0,2
GRA Гранулоциты, %	69,3±0,9	68,1±0,9	69,5±0,8	69,5±1,2
MID Моноциты/Эозинофилы, %	5,1±0,3	5,1±0,2	4,7±0,2	4,5±0,3
LYM Лимфоциты, %	25,6±0,8	26,8±0,9	25,9±0,8	26,0±1,1
RBC Эритроциты, 10 ¹² /л	7,7±0,2	7,6±0,1	7,8±0,1	7,7±0,2
HGB Гемоглобин, г/л	147±2	145±1	143±2	144±2
HCT Гематокрит, %	47,3±0,7	46,6±0,7	47,0±0,6	46,9±0,7
PLT Тромбоциты, 10 ⁹ /л	600±24	647±21	616±19	588±25

По результатам клинических и биохимических исследований крови животных на 31-й, 91-й и 121-й дни эксперимента изменений показателей на фоне эндотрахеального введения исследуемого препарата, свидетельствующих о токсическом поражении внутренних органов, выявлено не было (табл. 1–4).

Однофакторный дисперсионный анализ данных гематологических и биохимических показателей периферической крови показал отсутствие статистически значимых отличий

чий у животных контрольной и экспериментальных групп, получавших исследуемый препарат во всех дозах ($p>0,05$). При сравнении массовых коэффициентов внутренних органов крыс в группах, получавших препарат СГ в исследуемых дозах, с контрольной группой животных статистически значимых отличий не выявлено ни в один из дней эвтаназии (31-й, 91-й и 121-й день).

При патолого-анатомическом исследовании животных, получавших физиологический раствор и препарат СГ в исследуемых дозах и подвергнутых эвтаназии на 31-й, 91-й и 121-й дни эксперимента с макроскопической оценкой состояния внутренних органов и тканей животных, патологических изменений во внутренних органах и тканях крыс (сердце, легкие, печень, надпочечники, почки, желудочно-кишечный тракт, головной мозг) не выявлено. В единичных случаях в легких крыс во всех исследуемых группах на 91-й и 121-й дни исследования встречалась умеренная перибронхиальная лимфоцитарная инфильтрация. В респираторном отделе легкие были представлены альвеолами с тонкой межальвеолярной перегородкой и сохраненным аэрогемагическим барьером. Острые воспалительные изменения легочной ткани отсутствовали.

При употреблении продуктов из морских ежей возрастает риск развития аллергических реакций за счет сенсибилизации организма, поскольку они могут содержать гистамин и другие БАВ [11, 12]. Поэтому при применении препарата из морских ежей важна оценка иммунной системы. С этой целью, помимо основных органов для изучения хронической токсичности, было проведено гистологическое исследование подчелюстных и подмышечных лимфатических узлов (региональные к месту введения).

При микроскопическом исследовании органов иммунной системы (тимус, селезенка, подчелюстные и подмышеч-

ные лимфатические узлы), забранных для изучения на 31-й, 91-й и 121-й дни исследования у крыс, получавших препарат СГ и плацебо, дистрофических, деструктивных, очаговых склеротических изменений не выявлено. Лимфатические узлы всех экспериментальных крыс имели правильное гистологическое строение, снаружи покрыты тонкой волокнистой соединительнотканной капсулой с небольшим количеством клеточных элементов. В корковом веществе обнаруживались лимфоидные фолликулы с центра-

Таблица 3

**БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС-САМЦОВ
НА 91-й ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ (n=20)**

Показатель	Контрольная группа	Препарат СГ в дозе, мг/кг		
		0,03	0,1	0,2
Креатинин, мг/дл	0,50±0,02	0,50±0,02	0,54±0,02	0,54±0,01
Мочевина, ммоль/л	7,6±0,2	7,9±0,1	7,5±0,1	8,0±0,2
Аспартатаминотрансфераза, Е/л	149±3	145±4	143±5	155±4
Аланинаминотрансфераза, Е/л	69,1±1,9	66,3±2,3	66,1±3,0	73,3±2,8
Щелочная фосфатаза, Е/л	306±10	315±17	281±13	289±13
Билирубин общий, мг/дл	2,4±0,1	2,3±0,2	2,6±0,1	2,6±0,1
Холестерин, ммоль/л	1,87±0,06	2,04±0,07	1,87±0,07	1,98±0,09
Триглицериды, ммоль/л	1,06±0,04	1,15±0,05	1,03±0,04	1,09±0,05
Общий белок, г/л	66,7±0,7	64,7±1,1	65,8±0,6	68,6±1,4
Альбумин (А), г/л	26,6±0,5	25,5±0,8	27,1±0,6	27,6±0,7
Глобулины (G), г/л	40,1±0,6	39,3±1,1	38,7±0,6	41,0±1,2
Отношение А/G	0,66±0,02	0,66±0,03	0,71±0,02	0,68±0,02

Таблица 4

**БИОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КРОВИ КРЫС-САМОК
НА 91-й ДЕНЬ ИССЛЕДОВАНИЯ (n=20)**

Показатель	Контрольная группа	Препарат СГ в дозе, мг/кг		
		0,03	0,1	0,2
Креатинин, мг/дл	0,50±0,02	0,52±0,01	0,53±0,01	0,49±0,02
Мочевина, ммоль/л	7,8±0,2	7,6±0,2	8,1±0,2	8,1±0,2
Аспартатаминотрансфераза, Е/л	150±5	148±5	146±7	161±5
Аланинаминотрансфераза, Е/л	65,4±2,4	62,8±1,9	60,0±2,0	67,9±2,1
Щелочная фосфатаза, Е/л	285±19	289±11	276±15	310±17
Билирубин общий, мг/дл	2,9±0,1	3,0±0,1	3,2±0,2	3,2±0,2
Холестерин, ммоль/л	1,89±0,09	1,88±0,07	1,93±0,09	1,81±0,08
Триглицериды, ммоль/л	1,05±0,04	1,08±0,04	1,12±0,05	1,07±0,04
Общий белок, г/л	64,3±1,1	64,0±0,9	64,8±0,8	65,4±2,0
Альбумин (А), г/л	28,4±0,9	28,0±0,7	29,4±0,5	30,2±1,9
Глобулины (G), г/л	36,0±0,8	36,0±0,8	35,4±0,7	35,2±1,0
Отношение А/G	0,80±0,03	0,79±0,03	0,84±0,02	0,88±0,06
Глюкоза, мг/дл	0,50±0,02	0,52±0,01	0,53±0,01	0,49±0,02

ми размножения, состоящими преимущественно из крупных лимфоцитов и плазматических клеток, окруженных малыми лимфоцитами мантийной зоны. Расположенная глубже паракортикальная зона — без расширения, была представлена лимфоцитами и интердигитирующими клетками ретикулаума. Между лимфоидными фолликулами в редких случаях определялись островки плазмоцитоподобных моноцитов.

Таким образом, согласно результатам гистологического исследования, исследуемый препарат СГ при длительном (90 дней) введении не оказывал негативного воздействия на иммунную и дыхательную системы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе изучения хронической токсичности препарата «Стронгилостин» при его эндотрахеальном введении самцам и самкам крыс в дозах 0,03; 0,1 и 0,2 мг/кг не было обнаружено его отрицательного влияния на органы иммунной системы и дыхательные пути. При сравнительном анализе гематологических и биохимических показателей крови животных, получавших стронгилостин, и контрольных животных не было выявлено отличий. Отсутствие токсических эффектов в условиях острого и хронического (3 мес) токсикологического эксперимента позволяет признать препарат «Стронгилостин» перспективным с точки зрения установленного профиля безопасности.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Информационный бюллетень № 310 Всемирной организации здравоохранения. Июль 2013 г. (Newsletter № 310, World Health Organization. July, 2013 (in Russian)).
2. Stocks N., McElroy H., Sayer G., Duszynski K. Acute bronchitis in Australian general practice: a prescription too far? *Australian Family Physician*, 2004; 33 (1–2): 91–3.
3. Wenzel R.P., Fowler III A.A. Acute bronchitis. *New England Journal of Medicine*. 2006; 355 (20): 2125–30.

4. Чучалин А.Г. Пульмонология: национальное руководство. Краткое издание. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014; 800. (Chuchalin A.G. Pulmonology: national guidelines. Brief edition. Moscow: GEOTAR-Media, 2014; 800 (in Russian)).
5. D’Orazio N., Gammone M.A., Gemello F., Girolamo M., Cusenza S., Riccioni G. Marine Bioactives: Pharmacological Properties and Potential Applications against Inflammatory Diseases. *Mar. Drugs*. 2012; 10: 812–33.
6. Terracciano S., Aquino M., Rodriguez M., Chiara Monti M., Casapullo A., Riccio R., Gomez-Paloma L. Chemistry and biology of anti-inflammatory marine natural products: molecules interfering with cyclooxygenase, NF-κB and other unidentified targets. *Current medicinal chemistry*. 2006; 13 (16): 1947–69.
7. Abad M. J., Alcaraz M. J., Fernández M. D., Cabrera B., Bermejo P., Payá M., Llanio, M. The marine plant thalassiatestudinum possesses anti-inflammatory and analgesic properties, 2006.
8. Blunt J.W., Copp B.R., Keyzers R.A., Munro M.H., Prinsep M.R. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.*, 2015; 32 (2): 116.
9. Björn C., Hakansson J., Myhrman E., Sjöstrand V., Haug T., Lindgren K., Blencke H-M., Stensvag K., Mahlapuu M. Anti-infectious and anti-inflammatory effects of peptide fragments sequentially derived from the antimicrobial peptide centrocin 1 isolated from the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*. *AMB Express*. 2012; 2: 67.
10. Кузнецова Т.А. Коррекция нарушений иммунитета и гемостаза биополимерами из морских гидробионтов (экспериментальные и клинические аспекты): Дис. ... докт. мед. наук. М., 2009; 296. (Kuznetsova T.A. Correction of immunity and homeostasis by biopolymers from sea hydrobionts (experimental and clinical aspects): Dis. ... d-ra m. nauk. Moscow, 2009; 296 (in Russian)).
11. Макаренко И.Е., Авдеева О.И., Ванатиев Г.В., Фаустова Н.М., Уракова И.Н., Пожарицкая О.Н. Оценка безопасности применения препарата КЛС-073 в качестве инкретиномиметики. *Биомедицина*, 2015; 2: 65–72. (Makarenko I.E., Avdeeva O.I., Vanatiev G.V., Faustova N. M., Urakova I.N., Pozharitskaja O.N. Evaluation of the safety of long-term use of the drug KLS-073 as incretinomimetics. *Biomedicina*, 2015; 2: 65–72 (in Russian)).
12. Патент РФ № 2432956 С 1, 08.07.2010.
13. Патент РФ № 2481119 С 1, 05.03.2012.
14. Миронов А.Н. Руководство по доклиническим исследованиям лекарственных средств. Часть первая. М.: Грифик, 2012; 944. (Mironov A.N. Guidelines for conducting pre-clinical trials of medicinal products. Part one. Moscow: Grif and K, 2012; 944 (in Russian)).
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union / Luxembourg: Publications Office of the European Union*, 2010; 53: 33–79.

Поступила 8 августа 2016 г.

EVALUATION OF THE SAFETY OF MEDICINES BASED ON A COMPLEX OF SEA URCHIN POLYPEPTIDES A.E. Katelnikova^{1, 2}; M.N. Makarova², MD; O.I. Avdeeva², PhD; V.V. Vorobyeva¹, MD; O.N. Pozharitskaya², PhD; A.N. Shikov^{1, 2}, PhD

¹I.I Mechnikov North-Western State Medical University; 41, Kirochnaya St., Saint Petersburg 191015, Russian Federation;
²Saint Petersburg Institute of Pharmacy; 245, Kuzmolovsky Settlement, Vsevolozhsky District, Leningrad Region 18866, Russian Federation

SUMMARY

Introduction. Different groups of drugs, including antibiotics and immunomodulators, are used to treat acute bronchitis. In recent years the attention of researchers has been riveted on the medicines based on raw natural materials, sea hydrobionts in particular. A peptide derived from a sea urchin, has shown antibacterial and anti-inflammatory effects in in vivo and in vitro studies.

Objective: to conduct preclinical studies of the acute and chronic toxicity of the drug based on a complex of glycosylated polypeptides (working name, Strongylostin) isolated from sea urchins of the species *Strongylocentrotus droebachiensis* (*S. droebachiensis*).

Material and methods. Rats were endotracheally injected with the drug at doses of 0.03, 0.1, and 0.2 mg/kg to determine its acute toxicity. For a more complete assessment of its toxic effects, the drug at doses of 0.1, 0.2, 1.2, and 5 mg/kg was intraperitoneally injected to rats and mice. In a chronic toxicity study, the drug was endotracheally administered at doses of 0.03, 0.1, and 0.2 mg/kg once daily for 90 days. The safety of the drug was evaluated from the animals' behavioral reactions, the common blood biochemical and hematological parameters, the mass coefficients of visceral organs, followed by histological assessment of the organs over time.

Results. Evaluation of the acute toxicity of the drug in outbred rats and mice could not establish the LD50 values because of the absence of their death. The multiple endotracheal administrations of the drug for 90 days had no negative impact on the animals: the hematological, biochemical, and other indicators characterizing the status of systems and organs in the animals receiving the drug had no statistically significant differences from those in the control group.

Conclusion. With regard to its established safety profile, strongylostin should be considered promising for use in otolaryngology and pulmonology.

Key words: sea urchins, *Strongylocentrotus droebachiensis*, glycosylated polypeptides, acute and chronic toxicity.