

# ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ДЕЙСТВИЯ НОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ТЕФЭСТРОЛА НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ КРЫС

С. С. Назруллаев, З. А. Хушбакова, В. Н. Сыров, Д. А. Алиева, Х. С. Ахмедходжаева<sup>1</sup>

Внутримышечное применение масляного раствора тефэстрола, как и введение внутрь таблеток тефэстрола и парентеральное синэстрола в дозах 0,01; 0,1; 1 и 5 мг/кг вызывает выраженный эстрогенный эффект на неполовозрелых и половозрелых (интактные и овариэктомированные) крысах. В дозе 0,01 мг/кг инъекционная лекарственная форма препарата превосходит по эстрогенной активности таблетки. Профилактическое введение инъекционной формы тефэстрола ускоряет время оплодотворения и наступления беременности. Инъекционная форма препарата имеет меньший латентный период и большую продолжительность эстрогенного эффекта, не вызывает нарушения имплантации плодов и не обладает эмбриотоксическим действием. Он не оказывает отрицательного влияния на продолжительность беременности, рост и развитие плодов.

**Ключевые слова:** сложные эфиры терпеноидных спиртов, ферутинин, тефэстрол, эстрогенная активность, половой цикл

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы выделен ряд индивидуальных соединений, относящихся к сложным эфирам терпеноидных спиртов. Один из них — ферутинин, обладающий выраженным эстрогенным действием, является действующим началом препарата тефэстрола, который разрешен для применения в акушерско-гинекологической практике [1, 2]. Благодаря тому что тефэстрол активирует процессы синтеза и секреции лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов, он эффективен при задержке полового развития, нарушении менструального цикла, климактерическом синдроме, бесплодии, подготовке женского организма к родам [3, 4]. Однако лекарственная форма тефэстрола в виде таблеток имеет ряд неудобств и некоторые ограничения при применении в комплексной терапии заболеваний женской половой сферы, прежде всего, в тех случаях, где необходимо получение быстрого эффекта и точность в дозировке препарата. Учитывая, что изменением пути введения вещества и разовой дозы можно добиться определенных позитивных сдвигов в выраженности эффекта, продолжительности латентного периода и длительности эффекта, имеющего для практического здравоохранения самостоятельное значение, в настоящей работе изучено эстрогенное действие масляного раствора тефэстрола, представляющего инъекционную лекарственную форму препарата.

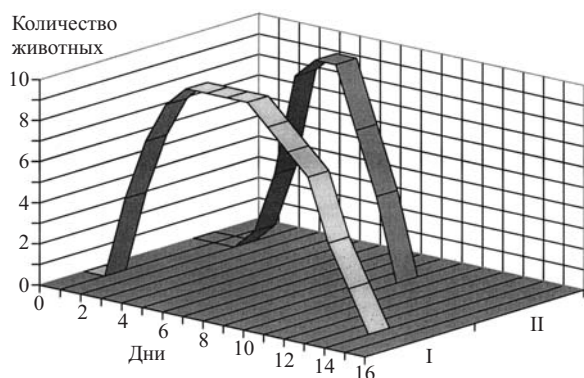
### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение эстрогенного действия инъекционной формы тефэстрола проводили на 50 неполовозрелых и 50 овариэктомированных крысах-самках. Эти исследования проведены сравнительно с эстрогенными препаратами — тефэстролом (таблетки) и синэстролом. Эстрогенную активность определяли на неполовозрелых крысах массой 30 – 40 г по методу J. Evans и соавт. [5], при котором показателем эффекта вещества является увеличение массы матки и яичников животных. Исследуемые вещества вводили в дозах 0,01; 0,1; 1 и 5 мг/кг один раз в сутки в течение трех дней. В опытах на овариэктомированных крысах-самках массой 170 – 200 г эстрогенную активность определяли по методу E. Allen и E. Dossy [6]. Овариэктомию производили под эфирным наркозом. В опыт были взяты животные, у которых в течение двух недель после кастрации в вагинальных мазках отмечалась фаза покоя. На основании появления в мазках фазы эструса судили о наличии эстрогенного действия у препаратов, которые вводили в течение 3 дней. У животных наблюдали сроки наступления эстрогенного эффекта и продолжительность действия препаратов после их отмены.

Влияние исследуемых препаратов на эстральный цикл проведено также на 30 половозрелых интактных крысах-самках массой 150 – 170 г с нормальным половым циклом. Препараты вводили в указанных выше дозах в течение 30 дней. Наблюдение за эстральным циклом (по исследованию вагинального мазка) проводилось в период введения препаратов и в течение месяца после прекращения их поступления в организм.

<sup>1</sup> Институт химии растительных веществ АН Республики Узбекистан, Ташкент.

Институт акушерства и гинекологии МЗ Республики Узбекистан, Ташкент, 700124, пр. Х. Абдуллаева, 132а.



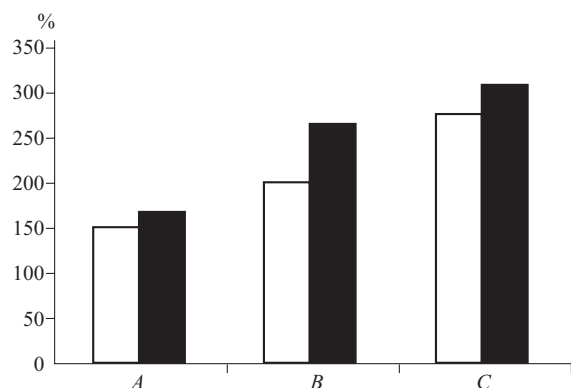
**Рис. 1.** Влияние трехдневного введения тefэстрола (парентерально — I, внутрь — II) в дозе 1 мг/кг на динамику восстановления и продолжительность нормального полового цикла у овариэктомированных экспериментальных животных.

У крыс вагинальные мазки брали ежедневно, окрашивали по методу Гимза – Романовского и осматривали под микроскопом с целью определения фазы эстрального цикла. В проведенных экспериментах тefэстрол и синэстрол вводили внутримышечно, а тefэстрол также внутрь.

Влияние препарата на имплантацию и эмбриогенез изучали в опытах на половозрелых крысах-самках, согласно указаниям по тестированию тератогенной и эмбриотоксической активности новых лекарственных веществ [7]. Исследуемые препараты вводили в дозах 0,1 и 1 мг/кг в различные сроки беременности: с первого по восьмой день, охватывающий период имплантации; с восьмого по шестнадцатый день (период эмбриогенеза); с первого по двадцатый день (в течение всей беременности). В отдельной серии экспериментов препараты вводили в дозах 50 и 100 мг/кг на девятнадцатый день беременности. На двадцатый день беременности самок декапитировали и определяли места имплантации, количество живых и погибших плодов, число желтых тел в яичниках. Эти исследования проведены в сравнении с тefэстролом (таблетки), а также с эстрогенным средством синэстролом. Достоверность различий между опытными и контрольными группами определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты проведенных экспериментов показали, что инъекционное введение тefэстрола оказывает выраженный эстрогенный эффект на неполовозрелых и половозрелых овариэктомированных животных. Средний прирост массы матки без жидкости у неполовозрелых крысят под действием внутримышечных инъекций тefэстрола составлял 62 – 364 %, а с жидкостью 79 – 800 %. Выраженность эстрогенного эффекта тefэстрола при парентеральном введении находится в прямой зависимости от применяемой дозы. Этот эффект тefэстрола сопоставим с действием, наблюдаемым при введении внутрь эквивалентных доз тefэстрола, а также при инъекционном применении синэст-



**Рис. 2.** Влияние 13-дневного введения тefэстрола в виде инъекций (темный столбик) и в таблетках (светлый) в дозах 0,1 (A), 1 (B) и 5 мг/кг (C) на общее количество дней с эструсом у экспериментальных крыс (в %) по отношению к соответствующему контролю.

рола (табл. 1). Определение активности на овариэктомированных крысах по методу, который является классическим для стандартизации эстрогенных препаратов, показало, что парентеральное введение тefэстрола в дозе 0,01 мг/кг вызывало эструс у восьми из десяти подопытных животных, тогда как введение тefэстрола (таблетки) в эквивалентной дозе — лишь у шести.

С повышением доз до 0,1; 1 и 5 мг/кг испытуемых препаратов эстрогенный эффект отмечался у всех подопытных животных. Однако были отмечены некоторые различия в сроках его наступления. Так, при парентеральном введении тefэстрола в дозе 1 мг/кг у 4 из 8 крыс на второй день фаза проэструса сменялась фазой эструса, тогда как у животных, получавших тefэстрол (таблетки) в этой же дозе эстрогенный эффект на второй и третий день не проявлялся ни у одного подопытного животного. В среднем через  $3,5 \pm 0,19$  дня у всех животных, получавших парентерально тefэстрол, наблюдалась фаза эструса. В то же время при введении таблеток тefэстрола аналогичное действие отмечалось лишь на  $5,25 \pm 0,3$  дни. После прекращения введения препаратов в зависимости от их лекарственной формы наблюдалась и различная длительность последствий. Так, после введения инъекционной лекарственной формы продолжительность фазы эструса наблюдалась в течение 9 – 10 дней. Затем отмечалось чередование фазы эструса и после течки с наступлением фазы покоя на  $13,75 \pm 0,36$  сутки. После прекращения введения тefэстрола внутрь фаза эструса продолжалась 5 – 6 дней. Фаза покоя у этих животных наступала на  $10,5 \pm 0,2$  сутки (рис. 1).

При изучении влияния 30-дневного парентерального и энтерального введения тefэстрола в дозах 0,1; 1 и 5 мг/кг на эстральный цикл у взрослых интактных крыс отмечено, что исследуемые лекарственные формы, не оказывая существенного влияния на длительность фазы покоя в период введения препарата, в раз-

ной степени выраженности удлиняют фазу эструса. Так, при введении исследуемых препаратов в дозе 0,1 мг/кг, они вызывали почти в одинаковой степени удлинение фазы эструса на 100 и 72 %. Применение инъекционной формы тефэстрола в дозе 1 мг/кг удлиняет фазу эструса на 262 %, а 5 мг/кг — на 395 %, по сравнению с контролем. Введение тефэстрола внутрь в этих же дозах вызывало менее выраженный эффект, чем введение инъекционной формы. Увеличение фазы эструса составляло лишь 190 и 259 % соответственно. Интересная картина выявилась при подсчете у опытных крыс общего количества дней с эструсом, наблюдаемых в течение 30 дней введения препаратов. При этом исследуемые препараты, наряду с увеличением продолжительности фазы эструса, вызывали уменьшение количества половых циклов. За период наблюдения (30 дней) количество половых циклов в зависимости от вводимых доз инъекционной формы тефэстрола уменьшалось на 18,8 – 59 %, а при использовании внутрь на 13,8 – 44,7 % по сравнению с соответствующим контролем (табл. 2). При применении тефэстрола парентерально в дозе 0,1 мг/кг общее количество дней

с эструсом в течение 30 дней составляло — 10, при введении 1 мг/кг — 16,4; 5 мг/кг — 17,4 дней (в контроле — 5,9; 6,1 и 5,6 дней соответственно), тогда как при введении тефэстрола внутрь — 9, 12,1 и 15 дней соответственно. Из представленного рис. 2 видно, что при введении крысам инъекционной лекарственной формы в дозах 0,1; 1 и 5 мг/кг общее количество дней с эструсом увеличивается на 69, 168 и 211 %, тогда как при получении препарата (эквивалентная доза) в виде таблеток, это увеличение составило 51, 102 и 177 %.

При изучении влияния на оплодотворение инъекционной формы тефэстрола препарат вводили в дозах 0,1 и 1 мг/кг в течение 5 дней. По истечении этого срока животных в стадии эструса подсаживали к самцам. Обнаружение сперматозоидов во влагалищных мазках считали первым днем беременности. Установлено, что у 8, получавших препарат в дозе 0,1 мг/кг, и у 10 из 10 опытных самок, получавших тефэстрол в дозе 1 мг/кг инъекционно в течение пяти дней, наступало оплодотворение. В контрольной группе время осеменения удлинялось до 7 – 8 дней. Все осемененные крысы оказывались беременными с нормально разви-

Таблица 1. Влияние тефэстрола (парентерально и внутрь) в сравнении с синэстролом на массу матки и яичников неполовозрелых крыс ( $M \pm m$ ;  $n = 8 - 10$ ).

Условия эксперимента	Доза, мг/кг	Масса матки, мг	Прирост массы матки, % к контролю	Масса яичников, мг	Прирост массы яичников к контролю, %	Процент овариэктомированных крыс с течкой
Контроль, тефэстрол (парентерально)	—	67,2 ± 4,2	—	42,5 ± 2,2	—	—
	0,01	108,7 ± 11,7 *	61,7	48,5 ± 2,7	14,1	80
		120,2 ± 15,4 *	78,8			
	0,1	178 ± 16,2 *	164	43,2 ± 2,3	1,6	100
		285,3 ± 11,5 *	324,5			
1	229,1 ± 11,3 *	245,7	50,0 ± 1,5 *	17,6	100	
	434,4 ± 9,07 *	546,4				
5	321,2 ± 15,6 *	364,5	51,4 ± 2,5 *	20,9	100	
	605,3 ± 43,0 *	800,7				
Контроль, тефэстрол (внутри)	—	64,6 ± 2,3	—	38,9 ± 0,6	—	—
	0,01	102,8 ± 3,7 *	51,1	42,8 ± 3,2	10,0	60
		125,4 ± 8,5 *	94,1			
	0,1	170 ± 13,2 *	163	42,6 ± 3,2	9,5	100
		289,7 ± 11,6 *	348,4			
1	246,8 ± 10,4 *	245,7	56,4 ± 2,5 *	44,9	100	
	404,5 ± 22,5 *	526,1				
5	299,0 ± 6,2 *	362,8	52,1 ± 1,6 *	33,9	100	
	581,9 ± 11,6 *	800,7				
Контроль, синэстрол (парентерально)	—	67,2 ± 4,2	—	42,5 ± 2,2	—	—
	0,01	123,5 ± 11,5 *	83,5	45,7 ± 2,4	7,5	100
		171,3 ± 19,6 *	154,9			
	0,1	153,1 ± 3,32 *	127,8	47,8 ± 1,1	12,5	100
		215,4 ± 6,15 *	220,5			
1	275,8 ± 14,1 *	310,4	55,1 ± 1,9 *	29,6	100	
	423,2 ± 28,2 *	529,7				
5	250,0 ± 13,0 *	272,0	55,0 ± 1,9 *	29,4	100	
	564,3 ± 20,5 *	739,7				

Примечание. В числителе указана масса матки без жидкости, в знаменателе — с жидкостью. \* — достоверно по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2. Влияние 30-дневного парентерального введения тефэстрола (I) в сравнение с его введением внутрь (II) на эстральный цикл половозрелых интактных крыс ( $M \pm m$ ;  $n = 9 - 10$ ).

Условия эксперимента	Доза, мг/кг	Количество циклов в течение 30 дней	Продолжительность в днях	
			Эструса	Покоя
Контроль, тефэстрол (I)	—	5,35 ± 0,1	1,1 ± 0,02	2,0 ± 0,08
	0,1	4,5 ± 0,1	2,2 ± 0,2	1,99 ± 0,09
<i>p</i>		< 0,25	< 0,01	> 0,5
Контроль, тефэстрол (I)	—	5,3 ± 0,1	1,16 ± 0,08	2,0 ± 0,1
	1	3,9 ± 0,32	4,2 ± 0,5	1,8 ± 0,05
<i>p</i>		< 0,001	< 0,001	> 0,05
Контроль, тефэстрол (I)	—	5,1 ± 0,1	1,1 ± 0,04	1,7 ± 0,02
	5	3,2 ± 0,1	5,45 ± 0,19	1,6 ± 0,4
<i>p</i>		< 0,001	< 0,001	> 0,5
Контроль, тефэстрол (II)	—	5,35 ± 0,2	1,1 ± 0,04	2,0 ± 0,04
	0,1	4,7 ± 0,15	1,9 ± 0,24	2,5 ± 0,08
<i>p</i>		< 0,25	< 0,05	< 0,001
Контроль, тефэстрол (II)	—	5,5 ± 0,1	1,1 ± 0,04	2,1 ± 0,06
	1	3,8 ± 0,15	3,2 ± 0,4	1,65 ± 0,15
<i>p</i>		< 0,001	< 0,001	< 0,001
Контроль, тефэстрол (II)	—	5,2 ± 0,15	1,0 ± 0,06	2,0 ± 0,09
	5	4,0 ± 0,2	3,7 ± 0,14	1,5 ± 0,08
<i>p</i>		< 0,001	< 0,001	< 0,001

тыми плодами. Изучаемая инъекционная форма препарата не влияла на продолжительность беременности и количество приплода. Общее физическое состояние

новорожденных крысят в опытных группах не отличалось от состояния таковых в контрольной группе.

При изучении влияния инъекционной формы тефэстрола на имплантацию и эмбриогенез у крыс при различных сроках беременности установлено, что применение препарата в дозах 0,1 мг/кг при всех сроках беременности не проявляло существенного влияния на имплантацию и эмбриогенез. Введение тефэстрола (инъекционно и внутрь) как и синэстрола в дозе 1 мг/кг вызывало нарушение имплантации и постимплантационного развития плодов (табл. 3). Инъекционная форма тефэстрола в этих экспериментах не проявляла тератогенного действия. Однократное введение его на девятнадцатый день беременности в этих и в более высоких дозах — 50 и 100 мг/кг, не оказывало эмбриотоксического влияния на сформировавшиеся плоды.

## ВЫВОДЫ

1. Тефэстрол в инъекционной лекарственной форме и в таблетках оказывает эстрогенный эффект на половозрелых и половозрелых овариэктомированных и интактных животных

2. Инъекционная лекарственная форма тефэстрола имеет меньшую продолжительность латентного периода эстрогенного эффекта и большую продолжительность действия, чем тефэстрол в таблетках.

3. Профилактическое введение инъекционной формы тефэстрола, и таблеток ускоряет время оплодотворения и наступления беременности. Препарат не ока-

Таблица 3. Влияние тефэстрола (парентерально (I) и внутрь (II) в различные сроки беременности) и синэстрола на эмбриональное развитие плодов крыс

Исследованные препараты, дозы (мг/кг) и дни введения	Количество желтых тел	Количество эмбрионов						Количество живых плодов
		имплантировавшихся		погибших до имплантации		погибших после имплантации		
		Абсолютное число	Абсолютное число	%	Абсолютное число	%	Абсолютное число	
Контроль, тефэстрол (I)	72	71	99,8	3	4,2	3	4,1	71
0,1 мг/кг, 1 – 20	90	87	96,6	3	3,3	4	4,4	83
1 мг/кг, 1 – 8	65	42	64,6	23	35,3	42	90,4	4
8 – 16	60	48	80	12	20	16,6	33,3	32
1 – 20	66	60	90,9	6	9	56	93,3	4
Контроль, тефэстрол (II)	74	73	98,6	1	1,3	3	4,1	70
0,1 мг/кг, 1 – 20	75	73	97,3	2	2,7	1	1,4	72
1 мг/кг, 1 – 8	117	107	91,4	10	8,5	107	91,5	—
8 – 16	94	66	80,2	28	29,8	11	16,6	55
Контроль, синэстрол	69	66	95,6	3	4,3	20	3	62
0,1 мг/кг, 1 – 20	98	96	97,9	2	2,04	41	42,7	55
1 мг/кг, 1 – 8	63	56	88,8	7	11	40	71,4	16
8 – 16	61	59	96,7	2	3,2	19	32,2	—

зывает отрицательного влияния на продолжительность беременности, количество приплода, рост и развитие плодов.

Работа выполнена при финансировании Государственным Акционерным Концерном "Узфармсаноат" и Государственным комитетом по науке и технике Республики Узбекистан.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. И. Саидходжаев, Г. К. Никонов, *Химия природ. соедин.*, № 1, 28 – 31 (1973).
2. С. С. Назруллаев, З. А. Хушбактова, В. Н. Сыров, *Хим.-фарм. ж.*, 34(10), 25 – 27 (2000).
3. В. Я. Игнатков, Х. С. Ахмедходжаева, В. Н. Бабичев, *Фармакол. и токсикол.*, № 4, 37 – 39 (1990).
4. Х. С. Ахмедходжаева, *Автореф. дис. докт. мед. наук*, Ташкент (1987).
5. J. Evans, F. Boger, R. Verney, F. Koch, *Endocrinol.*, 23(6), 747 – 752 (1944).
6. E. Allen and E. Dossy, *J. Amer. Med. Ass.*, 81, 819 (1923).
7. *Методические указания по изучению эмбриотоксического действия фармакологических веществ и влияние их на репродуктивную функцию* / А. П. Дыбан, В. Ф. Пучков, А. М. Торчинский и др. (ред.), Москва (1986).

Поступила 18.03.05

## EXPERIMENTAL EVALUATION OF THE EFFECT OF A NEW MEDICINAL FORM OF TEFESTROL ON REPRODUCTION IN RATS

S. S. Nazrullaev, Z. A. Khushbaktova, V. N. Syrov, D. A. Alieva, and Kh. S. Akhmedkhodzhaeva

Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, 700124 Uzbekistan

Institute of Obstetrics and Gynecology, Ministry of Public Health, Prospect Kh. Abdullaeva 132, Tashkent, 700124 Uzbekistan

Intramuscular injection of an oil solution of tefestrol, as well as the oral administration of tefestrol tablets and the parenteral administration of sinestron in doses of 0.01, 0.1, 1, and 5 mg/kg led to a pronounced estrogen effect in both nonpubertate and pubertate (intact and ovariectomized) rats. In the minimum dose, the estrogen activity of the injection preparation exceeded that of tablets. Preliminary tefestrol injections accelerated the fertilization and pregnancy. The injection form has a shorter latent period and produces a longer estrogen effect, while not violating fetus implantation, producing no toxic action, and having no negative influence on the pregnancy terms and the development of fetus.