



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41154 (13) A

(51) 7 A61K35/78, A61K31/355,  
A61K9/08, A61P35/00,  
A61P39/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) ЛІКУВАЛЬНИЙ ЗАСІБ "ГЕРМОГРАН-М" НА ОСНОВІ ОЛІЇ З ЗАРОДКІВ ПШЕНИЦІ

(21) 2001031566

(22) 06.03.2001

(24) 15.08.2001

(46) 15.08.2001, Бюл. № 7, 2001 р.

(72) Шумейко Олена Володимирівна, Овруцький  
Владислав Матвійович(73) ШУМЕЙКО ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА, ОВ-  
РУЦЬКИЙ ВЛАДИСЛАВ МАТВІЙОВИЧ(57) 1. Лікувальний засіб на основі олії з зародків  
пшениці, що містить допоміжні речовини, який  
відрізняється тим, що як допоміжні речовинимістить спирт етиловий та гліцерин при такому  
співвідношенні компонентів, мас. %:

олія з зародків пшениці 97,1 - 98,9

спирт етиловий 95% 0,9 - 1,0

гліцерин решта,

та одночасно виявляє протипухлинну та детокси-  
куючу дії.2. Засіб за п. 1, який відрізняється тим, що як олію  
з зародків пшениці містить Гермогран® ТУ-У-  
15.054.-94.

Винахід відноситься до медицини, зокрема,  
до фармакології речовин, які виявляють протипух-  
линну дію при введенні у організм, і може бути  
використаний у терапевтичній практиці органів  
охорони здоров'я та ветеринарній медицині.

Відома велика кількість лікувальних засобів і  
біологічно активних речовин, що виявляють деток-  
сикуючу [1] та протипухлинну активність [2]. Але  
більшість з них, по-перше, розрахована на  
використання у вигляді окремих препаратів, одно-  
часне використання яких під час неможливе, по-  
друге, створює велике фармакотерапевтичне на-  
вантаження на організм, що може супроводжува-  
тися побічною дією та викликати небажані усклад-  
нення, по-третє, є незручним для використання  
хворими, бо вимагає залучення медперсоналу, оскі-  
льки зазначені препарати належать до сильно-  
діючих лікувальних засобів.

Детоксикуючу дію [3] досягають шляхом  
використання сполук, які у різній мірі здатні:

- утворювати комплекси з отрутами-токси-  
кантами;
- підтримувати функції серцево-судинної  
системи і кровообігу;
- підвищувати опірність організму до фізич-  
них та "психічних" навантажень.

Так з рівня техніки відомий вітчизняний  
препарат унітіол, який виявляє детоксикуючу дію  
[4]. Його внутрішньом'язеве введення у кількості  
до 10 мл 5% розчину забезпечує введення тіоло-  
вих та сульфгідрильних груп, чим знижує кількість  
летальних випадків при отруєнні важкими метала-  
ми та серцевими глікозидами. Недоліком зазначе-

ного засобу є як його низька ефективність викорис-  
тання як засобу для запобігання розвитку токсич-  
ного ураження, так і відсутність протипухлинної дії.

Одним з аналогів за протипухлинною дією є  
натулан (прокарбазін) [5]. Його використовують  
для лікування пухлинної хвороби. Недоліками заз-  
наченого засобу є частий розвиток ускладнень  
(лейкопенія, блювання, запаморочення, інколи  
алергози), що зводить до використання в клінічній  
практиці та відсутності детоксикуючої дії.

Також з рівня техніки відомий засіб на основі  
олії з зародків пшениці, який одержують за "Спосо-  
бом безвідходної переробки зародка пшеничного"  
(Патент № 11000, МПК<sup>5</sup> A61K35/00, Бюл. № 4,  
1996) [6], що містить  $\alpha$ -токоферол 120–160 мг%;  
суму  $\beta$ -,  $\gamma$ -токоферолів 45–75 мг%;  $\delta$ -токоферол  
90–100 мг%, а також  $\beta$ -каротин 7–10 мг%. Також  
відомо, що вказаний засіб (торгівельна марка  
Гермогран® – ТУ-У-15.054.-94) застосовується у  
ветеринарній медицині, виявляє адаптогенні та  
біостимулюючі властивості, характеризується кар-  
діотонічною та детоксикаційною активністю [7].  
Наявність протипухлинної дії для зазначеного  
препарату на цей час не була виявлена.

Нами несподівано було виявлено, що олія з  
зародків пшениці виявляє, окрім детоксикуючої, й  
протипухлинну дію, що дозволяє здійснювати  
ефективну протипухлинну терапію без додатково-  
го залучення детоксикуючих засобів.

В основу винаходу поставлено задачу  
створити новий лікувальний засіб на основі олії із  
зародків пшениці, який одночасно виявляє як  
протипухлинну, так і детоксикуючу дії.

Поставлена задача досягається тим, що як лікувальний засіб, що має протипухлинну та детоксикуючу дію, застосовують олію з зародків пшениці.

Створення лікувального засобу, відповідно до винаходу, дозволяє розширити асортимент протипухлинних лікувальних засобів.

Відносно відомих протипухлинних препаратів, запропонований лікувальний засіб є більш переважним, оскільки він додатково виявляє детоксикуючу дію, що за рахунок синергічного ефекту, дозволяє ефективніше лікувати онкологічні захворювання та зменшити побічну дію, що виникає при застосуванні протипухлинних засобів.

Для одержання лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці, що має детоксикуючу та протипухлинну дію, використовують:

- олію з зародків пшениці (Гермогран – ТУ-У-15.054.-94);
- спирт етиловий, (Х Державна фармакопея СРСР, стор. 644–646);
- гліцерин (Х Державна фармакопея СРСР, стаття 309, Гліцерин, стор. 876).

Наступні приклади ілюструють даний винахід і не повинні розглядатися як такі, що обмежують даний винахід, викладений в наведеній формулі винаходу.

**Приклад 1.** Одержання лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці

Лікувальний засіб "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці виготовляють відповідно до вимог XI Державної Фармакопеї СРСР, том 2, стор. 160–161 [8].

Для виготовлення запропонованого лікувального засобу "Гермогран-М" використовують компоненти у такій кількості, мас. %:

Гермогран – ТУ-У-15.054.-94	97,1–98,9
спирт етиловий 95%	0,9–1,0
гліцерин	решта.

Для одержання лікувального засобу "Гермогран-М" брали 98 г олії з зародків пшениці та змішували протягом 30 хвилин при температурі 30°C з 1,0 г спирту етилового 95%. Потім додавали 1,0 г гліцерину при температурі 55°C.

Суміш ретельно перемішували протягом 15 хвилин при температурі не вище 60°C до отримання однорідного, гомогенного розчину.

Отримані 100,0 г засобу "Гермогран-М" у теплому вигляді розливали у стерильні флакони об'ємом по 50 мг кожний.

Лікувальний засіб "Гермогран-М" зберігали протягом 3 років при температурі + 4–8°C без втрати медико-біологічних властивостей.

**Приклад 2.** Вивчення гострої токсичності лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці

Вивчалися основні параметри токсикометрії запропонованого лікувального засобу "Гермогран-М" відповідно до вимог ГОСТ 12.1.007-76.

Згідно "Методичним рекомендаціям..." [9], гостра токсичність повинна вивчатись на "не менше ніж на 3-х видах тварин, але обов'язково на гризунах та негризунах". Оцінка безпечності впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці була розпочата з вивчення його відповідності вимогам ГОСТ 12.1.007-76. Використані для вивчення дози чи концентрації лі-

мітувались технічними умовами введення потенційного лікувального засобу.

Зразки лікувального засобу розігрівали до 30–32°C у стерильній мірній колбі об'ємом 50 мл та набирали у стерильний, теплий на дотик шприц. Після цієї операції розчини були застосовані для парентерального (внутрішньом'язевого і внутрішньочеревинного), наскрізного, перорального, ректального і вагінального введення за стандартними операційними процедурами. Підготовлені для використання зразки лікувального засобу вводили інгаляційно тваринам за допомогою ежекторного пристрою ЄГВ-ПАУ-м, що був розроблений у ГОСНІОХТ (Москва-Шихани, 1979 р.) для інгаляції у статичних та динамічних умовах. Пристрій придатний для введення загущених рецептур речовин, які мають здатність змінювати агрегатний стан (з рідини до гелю) та "залипати" на поверхнях.

Результати експерименту фіксувались на 7 та 14 добу спостереження.

В узагальненому вигляді показники гострої токсичності наведені у табл. 1.

Таким чином, можна констатувати, що при вивченні гострої токсичності лікувальний засіб "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці, незалежно від шляху аплікації при виконанні досліджень за ГОСТ 12.1.007-76, має властивості БАР 4-го класу небезпеки.

В подальшому у всіх випадках, для вивчення ефектів дії лікувальний засіб "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці та засоби порівняння вводились через рот, що відповідає передбачуваному шляху введення у терапевтичній практиці. Всі дози визначались у частках від показника середньолетальної дії (0,5; 0,25; 0,1; 0,01 чи  $Lim_{ac}$ ) при спостереженні за тваринами протягом 14 діб ( $LD_{50}^{h336}$ ). При цьому використовувались ефективні дози лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці для білих щурів: при значенні 0,5 $LD_{50}$  доза становила 4485 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини; для 0,25 $LD_{50}$  – 2242,5 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини; 0,1 $LD_{50}$ , – 897 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини, 0,01 $LD_{50}$ , – 89,7 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини. Ефективні дози для білих мишей при значенні 0,5 $LD_{50}$ , 0,25 $LD_{50}$ , 0,1 $LD_{50}$  та 0,01 $LD_{50}$  становили відповідно 4496,5 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини; 2248,25 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини, 899,3 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини та 89,9 мг "Гермогран-М" на кг маси тіла тварини.

**Приклад 3.** Випробування лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці на токсичність

Виготовлений відповідно до винаходу лікувальний засіб "Гермогран-М" призначається для перорального введення. Відповідно до вимог Державної фармакопеї СРСР XI випуску (вона залишається директивним документом в Україні при контролі якості лікувальних засобів) випробування лікувального засобу на токсичність проводяться на білих мишах обох статей після відповідного карантинного утримання з метою визначення стану їх здоров'я. Перевага надається перевірці при внутрішньочеревинному введенні чи введенні тим шляхом, яким препарат вводиться для використання у хіміотерапевтичній практиці.

Експерименти проводились на білих мишах з масою тіла від  $20 \pm 1$  г. Кожна серія дослідів випробовувалась на різних групах тварин, що кількісно складалась з 5 мишей.

За добу до проведення випробування тварини переносились у кімнату для виконання дослідів, де вони знаходились в умовах постійної температури та вологості.

Після зважування тварини протягом 2–4 годин не отримували корм та воду. Час, необхідний для внутрішньочеревинного введення, має становити не більше 2 хвилин.

Кожна з білих мишей у групах тварин (табл. 2) отримувала рівну за масовими показниками тест-дозу, що виготовлена з різних зразків "Гермогран-М", які передавались на токсикологічне випробування. Приготовані об'єми тест-доз вводились у черевну порожнину мишей у кількості 0,2 мл на одну тварину. Спостереження за білими мишами тривало 48 годин з моменту аплікації. На 24 та 48 годину візуально оцінювався стан інтегральних показників здоров'я мишей (активність, охайність, відношення до води та їжі, реакції на дотик, тургор м'язів). Тварини виводились з дослідів на 72 годину з моменту аплікації.

На основі вивчення гострої токсичності (приклад 2), такі зразки лікувального засобу, які не приводили до загибелі білих щурів протягом 2-х діб з моменту введення, вважаються такими, що пройшли випробування.

Таким чином, зразок лікувального засобу "Гермогран-М", виготовленого відповідно до винаходу, може вважатись таким, що витримав випробування на токсичність, оскільки при введенні 0,2 мл протягом 48 годин спостереження не загинула жодна з піддослідних білих мишей масою 20 г.

**Приклад 4.** Вивчення впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на меланому В16 на основі олії з зародків пшениці

Протипухлинні властивості запропонованого лікувального засобу вивчали на перевивних моделях пухлин за загальноприйнятими методами [10].

Дісліди *in vivo* були розпочаті з використання експериментальних пухлин на моделі трансплантованої метастазуючої меланоми В16. Штам метастазуючої меланоми В16 підтримували на мишах лінії СС57В1 шляхом внутрішньом'язового перещеплювання суспензій пухлинних клітин. В підготовчій стадії експерименту було проведено повторне пасивування штаму в умовах, які дозволяли досягати 100% розвитку пухлин.

Введення у шлунок лікувального засобу "Гермогран-М" в усіх дослідях здійснювалось у дозі 0,01ЛД<sub>50</sub>. Введення розпочинали наступної доби після перещеплення пухлини і проводили 4 рази з інтервалом в 1 добу. Маса пухлин після введення "Гермогран-М" мала вигляд некробіотичних утворень. Враховуючи це, результати дослідів аналізували через 2 тижні після перещеплення пухлини. Пухлини перепарували, ретельно відділяючи тканину меланоми від неушкодженої м'язової тканини, після чого визначали масу пухлин.

Результати експерименту наведені у табл. 3.

Як бачимо з наведених даних, введення лікувального засобу "Гермогран-М" призводить до зменшення маси первинних пухлин меланоми В16

(63,69%). При цьому слід також зазначити, що у контрольній групі у 5 тварин з 8 на момент закінчення дослідів було виявлено по 3–4 метастатичних вузлів в легенях. У жодній тварині у дослідній групі, де використовували "Гермогран-М", ознак додаткової токсичності чи метастатичних вузлів у паренхіматозних органах не виявлено.

**Приклад 5.** Вивчення впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці та цитостатику натулану на саркому Уокера.

Дослідження протипухлинної активності лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці та цитостатичного препарату натулан виконано у двох дослідних групах на тваринах, яким перевивалась саркома Уокера. Експеримент проводився на білих мишах по 8 тварин в кожній групі. При проведенні дослідів враховувалось виживання тварин, термін їх загибелі, загальний стан, поведінка та маса тіла тварин.

Результати ефективності впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на пухлини оцінювали за відсотком гальмування росту пухлини (саркома Уокера) та за тривалістю життя.

Саркома Уокера трансплантувалась білим безпородним мишам підшкірно (25% гомогенатом пухлинної тканини у фізіологічному розчині) об'ємом 0,25 мл. Для лікування тварини "Гермогран-М" (у дозі 25 мг/кг) та протипухлинний препарат натулан (у дозі 25 мг/кг) вводили *per os* через добу після перевивки пухлин, щоденно, протягом 10 діб. Після закінчення курсу лікування тварин забивали, пухлини виділяли та зважували.

Результати виконаних *in vitro* експериментів свідчать про те, що лікувальний засіб "Гермогран-М", як і натулан, гальмує ріст пухлинної культури клітин. Зокрема, експериментально показано, що тривалість життя збільшувалась для "Гермограну-М" на  $28 \pm 1,2$  доби, а для натулану на  $29 \pm 1,0$  доби. Маса пухлин саркоми Уокера при введенні "Гермограну-М" зменшувалась на 35% через 12 діб, а при використанні натулану в той же термін – на 38%.

Таким чином, проведений експеримент свідчить, що лікувальний засіб "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці, як і цитостатичний препарат натулан, має протипухлинну дію при лікуванні саркоми Уокера.

**Приклад 6.** Дослідження впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародку пшениці на клінічні показники при лікуванні пухлин прямої кишки людини (підкапсульний тест).

Проведені дослідження щодо вивчення впливу лікувального засобу "Гермогран-М" на ріст пухлин прямої кишки людини (підкапсульний тест).

Імплантація матеріалу злоякісних пухлин прямої кишки людини, раку шийки та тіла матки та раку яєчника під капсулу нирки мишей лінії СВА здійснювалась інокулятами з масою в 1 мг. "Гермогран-М" вводили перорально у дозі 0,1ЛД<sub>50</sub> протягом 5-х днів, починаючи з 4-ої доби після трансплантації пухлинної тканини. В дослідях використані тварини СВА (СВА<sub>α</sub>, СВ<sub>7</sub>, ВС/0, F<sub>1</sub>), що були розведені у розпліднику НАН України (м. Глеваха), які отримували звичайний харчовий раціон. Маса тіла тварин складала  $21 \pm 1,1$  г. Миші

забивались евентерацією – гільйотинна дислокація. В клініко-експериментальних дослідженнях на ксенограмах пухлин хворих людей (операційний матеріал) був використаний метод Богдена і співавторів (підкапсульний тест).

Ефективність використання лікувального засобу "Гермогран-М" оцінювали через 10 діб після введення інюкуляту. Регресію пухлини визначали як відношення зміни маси пухлини у дослідних групах щодо контролю ("Гермогран-М" не використовували) у відсотках. Пухлина вважалась чутливою до потенційного хімотерапевтичного засобу, якщо її маса під його впливом була на 25% менше, ніж у контрольних тварин. Про ефективність використання "Гермограну-М" шляхом впливу на ріст пухлини прямої кишки людини (підкапсульний тест) свідчить табл. 4. Показником активності лікувального засобу "Гермогран-М" був відсоток гальмування росту гетеротрансплантів пухлини людини під капсулою нірки мишей лінії СВА при критерії значущості більше або на рівні 25%.

Як свідчать матеріали експериментального дослідження, при виконанні підкапсульного тесту шляхом трансплантації пухлинної тканини з прямої кишки на 10 добу спостереження при відсутності лікування маса трансплантата збільшується. Слід відзначити, що введення лікувального засобу "Гермограну-М" у дозі 0,1 ЛД<sub>50</sub> зменшувало масу пухлини у порівнянні з контролем.

Таким чином, застосування лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці в дозі 0,1 ЛД<sub>50</sub> зменшувало масу пухлини у порівнянні з контролем, гальмувало ріст пухлини прямої кишки людини.

**Приклад 7.** Вивчення детоксикуючої дії лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародку пшениці

Отруєння серцевими глікозидами, що є кардіотоніками рослинного походження, а за хімічною будовою органічними сполуками типу ефірів, як правило, виникають при пероральному та внутрішньовенному застосуванні. У малих, терапевтичних дозах вони підвищують силу скорочення міокарду, сповільнюють ритм скорочень серця, збільшують діастолу. При передозуванні різко підвищується збуджуваність міокарду, виникає екстрасистолія, тахікардія, що приводить до фібриляції шлуночків.

В модельних дослідях з глікозидом строфантином (вводився внутрішньовенно щурам з масою тіла більше 250 г, ЛД<sub>50</sub>=10 мг/кг) судоми розвивались на 7–10 хвилині, а загибель тварин зафіксована протягом перших 15–45 хвилин. Вона наступала внаслідок зупинки серця, якій передувала тахікардія (табл. 5). В разі загибелі тварин частота серцевих скорочень (ЧСС) збільшується на 35–55%. Виникали зміни електрокардіограми (ЕКГ) (зниження інтервалу S-T; характерне збільшення інтервалу P-Q; зменшення (до негативного) висоти зубця Т) реєстрували окремі шлуночкові екстрасистолії та явища, що нагадували миготіння передсердя та шлуночків.

Також слід звернути увагу на те, що використання лікувального засобу "Гермогран-М" у дозі 0,01ЛД<sub>50</sub> повністю запобігає розвитку летального ураження тварин строфантином у модельних дослідях.

Навіть при триразовому перевищенні дози строфантину (ЗЛД<sub>50</sub>=30 мг/кг маси тіла щура) загибелі тварин не спостерігалось. Хоча ці щури, протягом 2–3 годин були адинамічними, у деяких осіб (10–20% випадків) мали місце тремор подібні рухи без ознак судом. При зменшенні дози глікозиду до рівня ЛД<sub>50</sub> (10 мг/кг) розвиток зовнішніх ознак порушення здоров'я у щурів відсутній. Вплив показників ЕКГ наведений в табл. 6.

Розгляд експериментальних матеріалів (табл. 5 та 6) при їх порівнянні дозволяє стверджувати, що при використанні лікувального засобу "Гермогран-М" розвиток змін зубців Т, комплексу Р-Q не суттєвий. Зникає специфічність змін показників ЕКГ, що має місце при інтоксикації, викликаний введенням токсичних доз серцевих глікозидів. Збереження тенденції відносно зміни висоти зубця Т (на 15–45 хвилині) не має вираженого характеру (р=0,05). При використанні лікувального засобу "Гермогран-М", замість тахікардії має місце певна тимчасова брадикардія.

Серед ознак токсичної дії серцевих глікозидів зниження тиску є не тільки характерним проявом, але і суттєвою прогностичною ознакою неминучої загибелі тварин (дози строфантину (ЗЛД<sub>50</sub>=30 мг/кг маси тіла щура).

В дослідях з попереднім введенням лікувального засобу "Гермогран-М" щурам перед застосуванням строфантину (ЛД<sub>50</sub>), тварини виживали. Однак, певне зниження тиску мало місце. Хоча, як за абсолютним значенням, так і за фактом чіткої тенденції відновлення його значення (на 30 хвилині) і тим пояснюється, що тварини переживали гострий період (фіг. 1) тому можна говорити про запобіжну, антидотно-профілактичну дію лікувального засобу "Гермогран-М". Аналіз кардіодинаміки показує, що внутрішньосерцевий тиск при введенні строфантину падає. В умовах попереднього введення "Гермограну-М" тварини (фіг. 2) не тільки переживали гострий період, але і мали чітку направленість до збереження, а потім і відновлення значень Рроз (тиск розвиваємий).

На фіг. 3 наведені дані змін кардіогемодинаміки в умовах строфантинової інтоксикації (ЛД<sub>50</sub> – 0,1 мг на кг маси тіла білого щура) та при використанні лікувального засобу "Гермогран-М". Зміна показників швидкості внутрішньосерцевого тиску (dp/dtmax – максимального та dp/dtmin – мінімального) при інтоксикації серцевими глікозидами є критеріальними значеннями важкості наростання токсичного ураження. Для строфантинового отруєння (ЛД<sub>50</sub>) характерно падіння значень dp/dt max і dp/dt min. Пероральне застосування "Гермогран-М" у дозі, кратній 0,01 ЛД<sub>50</sub> забезпечує не тільки виживання всіх дослідних тварин, яким вводили токсичну дозу строфантину, але і нормалізацію показників швидкості внутрішньосерцевого тиску вже з 15 хв спостереження.

Таким чином, "Гермогран-М" виступає як кардіозахисний лікувальний засіб, що сприяє запобіганню розвитку інтоксикації, викликаній серцевими глікозидами шляхом нормалізації показників кардіогемодинаміки у серцевосудинній системі.

Лікувальний засіб "Гермогран-М" позитивно впливає на розвиток можливого ураження серцевими глікозидами внаслідок токсичної дії, яка виникає при їх передозуванні. Він нормалізує показ-

ники ЕКГ у дослідних тварин в модельному досліді та запобігає розвитку клінічних ознак інтоксикації і є детоксикуючим засобом.

**Приклад 8.** Визначення порівняльної детоксикуючої дії лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці.

Порівняльна ефективність використання детоксикаційного лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці (пероральне введення у дозі, кратній  $0,01LD_{50} \approx 90$  мг на 1,0 кг маси тварини) відносно препарату унітіолу (внутрішньом'язеве введення у кількості до 10 мл 5% розчину на 1,0 кг маси тіла тварини) досліджувалось на статевозрілих білих щурах ( $195,5 \pm 8,9$  г), які перорально отримували токсиканти. Як токсиканти були обрані: неорганічна сполука ртуті – сулема ( $2LD_{50}^{h72}$ ) та серцевий глікозид – строфантин ( $LD_{50}$ ).

Детоксикуючі засоби ("Гермогран-М" та унітіол) вводились з профілактичною метою один раз на добу протягом 3-х днів до введення токсикантів, а з лікувальною метою одноразово, через 13–15 хвилин після перорального введення токсикантів. Тривалість спостереження за дослідними тваринами складала 14 діб.

Як контрольні, виділялось 2 групи тварин, що отримували токсиканти у зазначених вище дозах, але були позбавлені введення детоксикуючих засобів. Кожна контрольна та всі дослідні групи тварин складались з 10 особин. Всі тварини в групах знаходились в однакових умовах стандартного лабораторного утримання.

Детоксикуючу ефективність дії лікувальних засобів "Гермогран-М" та унітіол за описаних вище умов оцінювали за показниками:

1) виживання тварин як прояв профілактичної дії попереднього введення Гермограну-М або унітіолу щодо білих щурів, які отримували перорально сулему у дозі, кратній  $2LD_{50}^{h72}$  (70 мг сулеми на 1,0 кг маси тіла тварин);

2) виживання тварин як ефективність лікувальної дії "Гермогран-М" або унітіолу щодо білих щурів, які отримували перорально сулему у дозі, кратній  $2LD_{50}^{h72}$  (70 мг сулеми на 1,0 кг маси тіла тварин), а потім детоксикуючий засіб;

3) виживання тварин як прояв профілактичної дії попереднього введення "Гермогран-М" або унітіолу щодо білих щурів, які отримували перорально строфантин у дозі, кратній  $LD_{50}$  (0,1 мг строфантину на 1,0 кг маси тіла тварин);

4) виживання тварин як ефективність лікувальної дії "Гермогран-М" або унітіолу щодо білих мишей, які отримували перорально строфантин у дозі, кратній  $LD_{50}$  (0,1 мг строфантину на 1,0 кг маси тіла тварин), а потім детоксикуючий засіб;

5) оцінки інтегрального стану здоров'я всіх тварин (активність, ставлення до їжі та питва, відправлення фізіологічних функцій тощо), у балах;

6) ознаками прояву специфічних явищ інтоксикації (регургації, бокове положення, судоми, адинамія тощо) в відсотках до загальної кількості тварин у групі.

Матеріали експериментального дослідження наведені у табл. 7.

Аналіз експериментальних матеріалів свідчить про переваги детоксикуючого впливу

"Гермогран-М" відносно унітіолу. Так, лікувальний засіб "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці в умовах дослідження профілактичного застосування запобігав розвитку токсичного ураження модельними токсикантами (сулема, строфантин) яке б закінчувалось загибеллю щурів. При використанні порівнюваних засобів, як "Гермогран-М", так і унітіол, при їх лікувальному використанні протягом 15 хвилин після введення сулеми ( $2LD_{50}^{h72}$ ) запобігали розвитку летального процесу. "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці використований з метою лікування інтоксикації, яка викликана серцевими глікозидами, мав переваги перед унітіолом. Відсоток тварин, які мали ознаки строфантинової інтоксикації (виражений ціаноз, зміна частоти дихання, адинамія), що призводив до загибелі (у 60% випадків) при використанні унітіолу був значно більшим, ніж при застосуванні лікувального засобу "Гермогран-М" на основі зародків пшениці.

Таким чином, вивчення порівняльної дії лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії із зародків пшениці дозволяє віднести його до детоксикуючих лікувальних засобів, що має переваги до використання в умовах розвитку гострих отруєнь і профілактичного застосування.

**Приклад 9.** Вивчення антиоксидантної дії лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці.

Антиоксидантні властивості препарату оцінювали:

9.1.) за здатністю інгібувати хемолюмінісценцію модельної хемолюмінісцентної системи, якою служив спалах біохемолюмінісценції (біохемолюмінісценція природних біологічних об'єктів, обумовлена вільно-радикальними процесами у фосфоліпідних мембранах);

9.2.) за впливом лікувального засобу "Гермогран-М" на процеси пероксидації в мікросомах печінки;

9.1.) Мікросоми отримували звичайними стандартними методами. При додаванні "Гермограну-М" відбувались зміни інтенсивності та площі світлосуми біохемолюмінісценції. Вона фіксується внаслідок обриву початку ланцюга пероксидації, починаючи з 1 хвилини після застосування "Гермогран-М" у концентрації 10,0 мкг/мл. Зростає значення площі біохемолюмінісценції. Використаний препарат-контроль (вітамін Е виробництва "Польфа", 10,0 мкг/мл) давав аналогічні зміни інтенсивності та площі світлосуми. Сумарна інтенсивність біохемолюмінісценції мікросом печінки знижується під впливом "Гермограну-М" у 2 рази, а при впливі вітаміну Е у 2,3 рази. Сумарна площа спалахів знижується при дії "Гермогран-М" у 1,9 рази та достовірно відрізняється від контролю ( $p < 0,05$ ).

Таким чином, отримані результати свідчать про те, що "Гермогран-М" має антирадикальні властивості.

9.2.) Був проведений порівняльний аналіз характеру змін антиоксидантної системи при введенні "Гермогран-М" за вмістом малонового діальдегіду (МДА), який є одним з продуктів перекисного окислення ліпідів, у гомогенаті печінки. Зміни антиоксидантної активності визначались за змен-

шенням накопичення МДА в гомогенатах печінки білих щурів після інкубації при температурі 37°C.

Антиоксидантну активність лікувального засобу "Гермогран-М" у досліді порівнювали з активністю вітаміну Е.

Аналіз антиоксидантної активності проводили за такою методикою. Після промивання видаленої печінки фізіологічним розчином готували 10% гомогенат на 50 мМ трис-НСІ-буфері з рН 7,4 (500 мг тканин печінки + 5,0 мл буферу).

Для визначення швидкості спонтанного перекисного окислення брали 0,2 мл гомогенату, що відповідало 20,0 мг сирової тканини печінки, об'єм інкубованої суміші доводили трис-НСІ буфером до 2,0 мл. Проби переносили на водяну баню при температурі 37°C. Термін інкубації складав 60 хвилин, а після цього реакцію зупиняли додаванням 0,1 мл 100% трихлороцтової кислоти. Потім у пробірці доливали по 1,0 мл 30% трихлороцтової кислоти та 1,0 мл 0,75 тіобарбітурової кислоти. Суміш нагрівали на киплячій водяній бані протягом 15 хвилин та центрифугували 10 хв. при 3000 обертах на хвилину. Оптична щільність вимірювалась при 535 нм. У нульову пробу гомогенату додавали 0,1 мл трихлороцтової кислоти.

Для визначення антиоксидантного ефекту лікувальний засіб "Гермогран-М" і препарат порівняння дії у проби з гомогенатом печінки вносили від 100 до 1000 мкг кожного у 0,02–0,025 мл розчинника, а далі проводили ті самі операції, що і з одним гомогенатом печінки.

Кількість МДА розраховували за формулою:

$$\text{МДА} = (1000 \text{ Е}) : (K \cdot a) = X \text{ нмоль} / 1,0 \text{ г сирової тканини печінки} \quad (1),$$
 де Е – оптична щільність дослідної проби; К – коефіцієнт 0,156 см; а – наважка тканини у пробі; 1000 – показник перерахунку на 1,0 г тканини печінки.

Антиоксидантну активність (АОА) лікувального засобу "Гермогран-М" та препарату порівняння розраховували за формулою:

$$\text{АОА} = (\Delta D_{\text{гом.}} - \Delta D_{\text{гом.}} + \text{препарат}) : (\Delta D_{\text{гом.}}) 100\% \quad (2),$$
 де: АОА – антиоксидантна активність у відсотках;

$$\Delta D_{\text{гом.}} = D_{\text{гом.}} - D_{\text{гом.}}^0 \quad (\text{оптична щільність гомогенату після інкубації});$$

$$\Delta D_{\text{гом.}} + \text{препарат} = D_{\text{гом.}}^t - D_{\text{гом.}}^0 \quad (\text{оптична щільність гомогенату з додаванням препарату після інкубації}) + \text{препарат}.$$

В табл. 8 наведені дані антиоксидантної активності "Гермогран-М" та препарату порівняння.

Таким чином, в результаті проведених експериментальних робіт встановлено, що лікувальний засіб "Гермогран-М" виявляє антирадикальні властивості, рівень яких за антиоксидантною активністю узгоджується із зафіксованими у вітаміні Е.

Виходячи з наведеного вище, можна стверджувати, "Гермогран-М" є природним антиоксидантом, використання якого є перспективним як у медичній, так і ветеринарній практиці. За своїми властивостями з урахуванням вивчення його нешкідливості, він не поступається засобам, які дозволені до використання у фармакотерапевтичній практичній діяльності та ветеринарній медицині України та СНД.

Список використаної літератури:

1. Арнаудов Г.Д. Лекарственная терапия. София.: Медицина и физкультура. – 1978. – С. 874–881.
2. Индекс онкология. Bristol.: Myers Squibb. – 1999. – С. 3–52.
3. Шумейко В.М. та ін. Екологічна токсикологія. К.: Столиця. – 1998. – С. 223–231.
4. Ефимова Л.К., Бора В.М. Лекарственные отравления у детей К.: Здоров'я. – 1995. С. 145–155.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Часть 2. М.: Медицина. – 1985. – С. 448.
6. Патент України № 11000 від 25.12.96 р., Бюл. № 4, 1996.
7. Шумейко В.М. та ін. Екологічна токсикологія. К.: Столиця. – 1998. – С. 237–238.
8. XI Державна фармакопея СРСР, том 2, с. 160–161.
9. Методичні рекомендації по представленню документації на лікарські засоби у Фармакологічний комітет МОЗ України під редакцією Кондратюка В.І. – К.: МОЗ України. – 1993. – 36 с.
10. Шумейко В.М. Экологическая фармакология. К.: ДІПК – 1998. – 265 с. перевивка пухлин.

Таблиця 1

Токсикометричні показники згідно із ГОСТ 12.1.007-76

Показник ефекту дії "Гермогран-М"	Вид тварин	Термін визначення ефекту дії	
		7 доба	14 доба
Середня летальна доза При введенні у шлунок, (LD <sub>50</sub> ), мг/кг	Білі щурі	більше 5000,0	8970,0 ± 450,0
	Білі миші	більше 5000,0	8993,0 ± 203,0
	Морські свинки	більше 5000,0	більше 10000,0
	Кролі	більше 5000,0	більше 15000,0
	Коти	більше 5000,0	більше 15000,0
Середня летальна доза При наскірній дії, (LD <sub>50</sub> ), мг/кг	Білі щурі	більше 2500,0	Більше 2500,0
	Білі миші	більше 2500,0	Більше 2500,0
	Кролі	більше 2500,0	Більше 2500,0
Середня летальна концентрація у повітрі: – статистична, (CL <sub>50</sub> ), мг/м <sup>3</sup> ; – динамічна, (LCt <sub>50</sub> ), мг хв/л* Динамічна, (LCt <sub>50</sub> ), мг хв/л*	Білі щурі	Більше 50000,0	52700,0 ± 4571,3
	Білі миші	Більше 50000,0	Більше 52700,0
	Коти	–	Більше 52700,0
	Білі щурі	–	763,6 ± 66,3
	Білі миші	–	653,4 ± 27,6

Продовження табл. 1

Показник ефекту дії "Гермогран-М"	Вид тварин	Термін визначення ефекту дії	
		7 доба	14 доба
Середня летальна доза при внутрішньом'язевому введенні, (ЛД <sub>50</sub> ), мл/кг**	Білі щурі	28,7±3,2	8,4±0,6
	Білі миші	35,9±2,6	8,2±0,9
Клас небезпеки за ГОСТ 12.1.007-76		4	4
Коефіцієнт видової чутливості (КВЧ)	дигестивно	1,0	0,997
	парентерально	0,799	1,024

Примітки: 1. \* - інгаляція апаратом "Електрозоль-2м", заряд негативний;  
2. \*\* – перерахунок мл/кг у мг/кг шляхом множення на 1,32.

Таблиця 2

Вплив тест-доз різних зразків лікувального засобу "Гермогран-М" на білих мишей з масою тіла 20 г

Зразок лікувального засобу Серія	Розподіл загибелі (%) у різні терміни (год)			Оцінка стану дослідних тварин
	24	48	72	
110496	0	0	0	Задовільний
161298	0	0	0	Задовільний
020699	0	0	0	Задовільний

Таблиця 3

Вплив лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці на розвиток перещепленої меланоми В16 у мишей

№ п/п	Маса пухлини, мг	
	Контрольна група	Дослідна група
1	890	452
2	950	125
3	765	274
4	972	305
5	832	285
6	775	352
7	684	452
8	950	230
Середнє	852,25±35,27	309,38±43,36*
% змін відносно контролю		63,69

Таблиця 4

Вплив лікувального засобу "Гермограну-М" на ріст пухлини прямої кишки людини в підкапсульному тесті

№ групи	Умови дослідів	Кількість тварин	Маса пухлини, мг	Гальмування росту, %
1	контроль	6	1,05±0,02	–
	дослід	3	0,45±0,03	57,1
2	контроль	6	1,20±0,02	–
	дослід	3	0,57±0,03	52,7
3	контроль	6	1,58±0,02	–
	дослід	3	0,89±0,01	43,7
4	контроль	6	1,60±0,01	–
	дослід	3	0,54±0,02	66,2
5	контроль	6	1,38±0,02	–
	дослід	3	0,81±0,03	41,3
6	контроль	6	1,32±0,02	–
	дослід	3	0,65±0,03	50,7
Середнє	контроль		1,355±0,019	–
	дослід		0,652±0,015	51,95 ±6,72

Таблиця 5

Вплив строфантину ( $LD_{50}$ ) на показники електрокардіограми у динаміці

Умови досліджу	ЧСС, уд/хв	Висота зубців, mV			Ширина зубців, mV			Інтервали, с			
		P	R	T	P	R	T	PQ	QT	RR	QRS
Контроль	442,0 ± 23,5	0,20 ± 0,01	0,521 ± 0,001	0,29 ± 0,02	0,017 ± 0,002	0,016 ± 0,002	0,070 ± 0,006	0,056 ± 0,007	0,092 ± 0,021	0,165 ± 0,001	0,020 ± 0,001
Строфантин, 15 хв	581,5 ± 18,6	0,12 ± 0,01	0,480 ± 0,005	0,09 ± 0,01	0,027 ± 0,003	0,011 ± 0,003	0,047 ± 0,001	0,066 ± 0,001	0,088 ± 0,002	0,196 ± 0,002	0,025 ± 0,001
p	<0,05	<0,05	=0,05	<0,05	<0,05	>0,05	<0,05	=0,05	=0,05	<0,05	=0,05
Строфантин, 30 хв	502,2 ± 45,3	0,15 ± 0,02	0,390 ± 0,020	0,12 ± 0,08	0,030 ± 0,001	0,012 ± 0,001	0,054 ± 0,002	0,083 ± 0,004	0,100 ± 0,002	0,222 ± 0,003	0,018 ± 0,001
p	<0,05	=0,05	<0,05	>0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	=0,05	=0,05	=0,05
Строфантин, 45 хв	497,8 ± 52,0	0,17 ± 0,01	0,550 ± 0,076	0,11 ± 0,02	0,023 ± 0,004	0,013 ± 0,001	0,051 ± 0,002	0,080 ± 0,018	0,100 ± 0,002	0,220 ± 0,005	0,028 ± 0,004
p	<0,05	=0,05	>0,05	<0,05	=0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	=0,05
Строфантин, 60 хв	322,9 ± 35,3	0,18 ± 0,01	0,670 ± 0,060	0,07 ± 0,02	0,030 ± 0,001	0,014 ± 0,002	0,070 ± 0,005	0,098 ± 0,003	0,105 ± 0,006	0,240 ± 0,018	0,030 ± 0,002
p	=0,05	>0,05	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05	<0,05	>0,05	<0,05	<0,05

Таблиця 6

Вплив лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці на розвиток інтоксикації, що викликана строфантином ( $LD_{50}$ ), за показниками ЕКГ у динаміці

Умови досліджу	ЧСС, уд/хв	Висота зубців, mV			Ширина зубців, mV			Інтервали, с			
		P	R	T	P	R	T	PQ	QT	RR	QRS
Контроль	442,0 ± 23,5	0,20 ± 0,01	0,521 ± 0,001	0,29 ± 0,02	0,017 ± 0,002	0,016 ± 0,002	0,070 ± 0,006	0,056 ± 0,007	0,092 ± 0,021	0,165 ± 0,001	0,020 ± 0,001
Строфантин, 60 хв	322,9 ± 35,3	0,18 ± 0,01	0,670 ± 0,06	0,07 ± 0,02*	0,03 ± 0,001	0,017 ± 0,002	0,070 ± 0,005	0,098 ± 0,003*	0,105 ± 0,006	0,240 ± 0,018*	0,030 ± 0,002*
"Гермогран-М" + строфантин, 15 х	389,6 ± 36,6*	0,13 ± 0,02*	0,666 ± 0,009	0,23 ± 0,02**	0,015 ± 0,001**	0,013 ± 0,001	0,062 ± 0,009	0,061 ± 0,006**	0,084 ± 0,002	0,170 ± 0,004**	0,021 ± 0,003
"Гермогран-М" + строфантин, 30 х	391,8 ± 43,1*	0,13 ± 0,01*	0,694 ± 0,001**	0,24 ± 0,002**	0,014 ± 0,002*	0,016 ± 0,001	0,064 ± 0,001	0,062 ± 0,002**	0,090 ± 0,016	0,190 ± 0,002	0,022 ± 0,002
"Гермогран-М" + строфантин, 45 х	405,5 ± 43,1*	0,15 ± 0,01*	0,657 ± 0,123*	0,25 ± 0,04	0,015 ± 0,002**	0,020 ± 0,004	0,068 ± 0,012	0,058 ± 0,003**	0,106 ± 0,003	0,200 ± 0,037	0,019 ± 0,003
"Гермогран-М" + строфантин, 60 х	399,8 ± 23,6*	0,17 ± 0,02	0,550 ± 0,012**	0,23 ± 0,03**	0,019 ± 0,002**	0,021 ± 0,003	0,069 ± 0,004	0,055 ± 0,001**	0,095 ± 0,002	0,200 ± 0,021	0,23 ± 0,004
"Гермогран-М" + строфантин, 90 х	440,2 ± 53,4	0,18 ± 0,01	0,485 ± 0,013**	0,24 ± 0,02**	0,020 ± 0,004	0,02 ± 0,006	0,068 ± 0,004	0,053 ± 0,001**	0,102 ± 0,005	0,190 ± 0,015	0,27 ± 0,004
"Гермогран-М" + строфантин, 120 х	421,7 ± 21,6*	0,18 ± 0,02	0,602 ± 0,079	0,21 ± 0,03	0,021 ± 0,006	0,021 ± 0,008	0,066 ± 0,001	0,54 ± 0,002**	0,106 ± 0,004	0,200 ± 0,021	0,28 ± 0,003

Примітка: \* – статистично достовірні зміни відносно інтактних тварин ( $p < 0,05$ );\*\* – статистично достовірні зміни відносно тварин, яким вводили строфантин ( $p < 0,05$ ).



Таблиця 7

Порівняльна характеристика детоксикуючої дії лікувального засобу "Гермогран-М" на основі олії з зародків пшениці та унітіолу в дослідах на білих щурах (термін спостереження 14 діб)

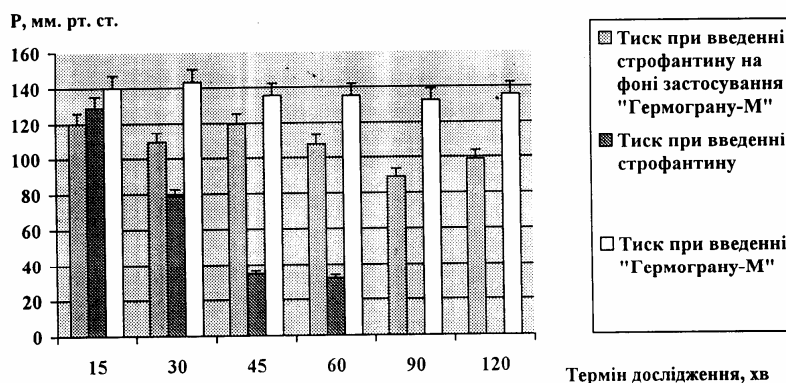
Умови досліджу	Відсоток тварин з ознаками інтоксикації	Стан здоров'я тварин у балах	Відсоток тварин, що загинули
Контроль при введенні сулеми, 2ЛД <sub>50</sub> <sup>172</sup>	100,0	Дуже поганий = 1	100,0
Контроль при введенні строфантину, ЛД <sub>50</sub>	100,0	Дуже поганий = 1	70,0
Профілактична дія "Гермогран-М" при введенні сулеми	20,0 (1 доба спостереження)	Добрий = 4	Загибелі не було
Профілактична дія "Гермогран-М" при введенні строфантину	0,0	Дуже добрий = 5	Загибелі не було
Профілактична дія унітіолу при введенні сулеми	50,0	Задовільний = 3	30,0
Профілактична дія унітіолу при введенні строфантину	100,0 (1–5 доба спостереження)	Поганий = 2	90,0
Лікувальна дія "Гермогран-М" при введенні сулеми	10,0 (1 доба спостереження)	Добрий = 4	Загибелі не було
Лікувальна дія "Гермогран-М" при введенні строфантину	0,0	Дуже добрий = 5	Загибелі не було
Лікувальна дія унітіолу при введенні сулеми	30,0 (1–4 доба спостереження)	Задовільний = 3	Загибелі не було
Лікувальна дія унітіолу при введенні строфантину	70,0 (1–2 доба спостереження)	Важкий = –3	60,0

Таблиця 8

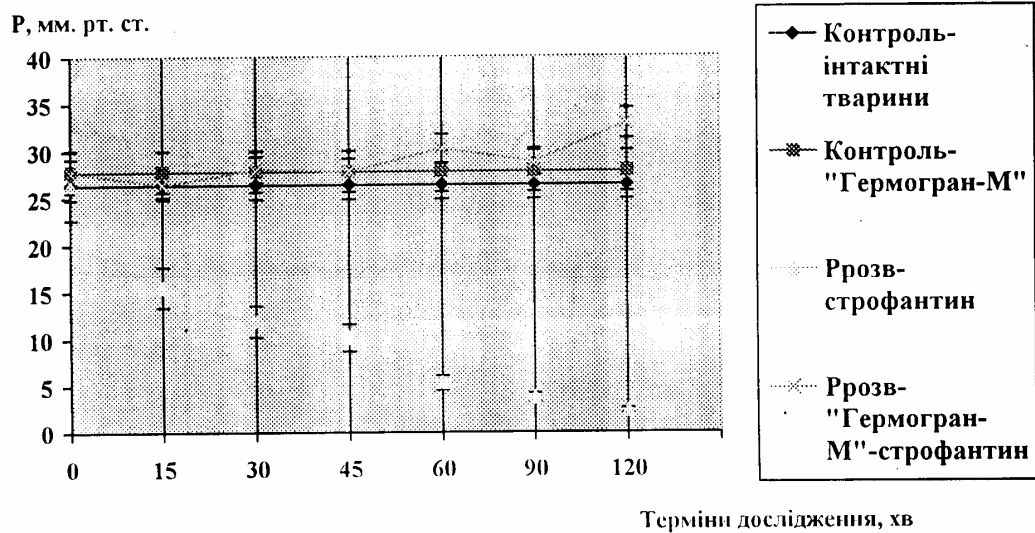
Вплив лікувального засобу "Гермогран-М" на вміст малонового діальдегіду (МДА) у гомогенаті печінки статевозрілих білих щурів

Препарати	Кількість препарату, мкг	МДА, нмоль/г печінки	МДА, нмоль/г білка	Антиоксидантна активність, %
Гермогран-М	250,0	78,5±15,9*	0,70±0,12	46,60±5,54
Вітамін Е	250,0	66,7±11,2*	0,57±0,12 p<0,01	46,78±3,81
Контроль (гомогенат печінки)	-	137,5±3,5	1,19±0,11	-

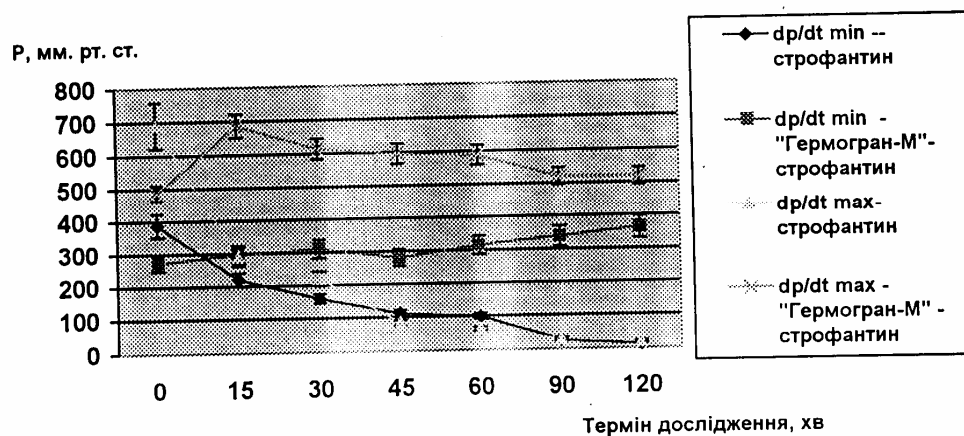
Примітка: 1. \* – статистично достовірні зміни відносно контролю (p<0,05),  
2. – за 100% прийнято показники інтактних тварин.



Фіг. 1



Фіг. 2



Фіг. 3

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»  
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101  
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03

