



УКРАЇНА

(19) UA (11) 22549 (13) A

(51) 6 A 61 K 35/78

ДЕРЖАВНЕ  
ПАТЕНТНЕ  
ВІДОМСТВООПИС ДО ПАТЕНТУ  
НА ВІНАХІДбез проведення експертизи по суті  
на підставі Постанови Верховної Ради України  
№ 3769-XII від 23.XII. 1993 р.Публікується  
в редакції заявника

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ І ЛІКУВАННЯ ПАТОЛОГІЧНИХ СТАНІВ, СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ НА ОСНОВІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНОЇ РЕЧОВИНИ ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ЗА ДОПОМОГОЮ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ

(21) 97063373

(22) 27.06.97

(24) 17.03.98

(46) 30.06.98, Бюл. № 3

(47) 17.03.98

(72) Атаманюк Віктор Петрович, Новік Ана-  
толій Матвійович(73) Атаманюк Віктор Петрович, Новік Ана-  
толій Матвійович

(57) 1. Способ получения биологически активного вещества для профилактики и лечения патологических состояний, в котором в качестве растительного сырья используют зеленые части злаковых растений семейства Gramineae, включающий выделение водорастворимых фракций и фильтрацию, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что в качестве сырья используют зеленые части растений семейства Gramineae в виде смеси растений рода Calamagrostis Adans и рода Deschamsia Beauv, собранных после выметывания до начала цветения колосков, которые сначала сушат до содержания влаги 8-20%, выделение водорастворимых фракций проводят путем экстракции 92-99,8% этиловым спиртом при весовом соотношении сырья к спирту 1:(3-8), выдерживают при температуре 18-47°C без доступа воздуха и при достижении показателя преломления 1,362-1,364 очищают от твердых примесей до получения конечного продукта.

2. Способ по п.1, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что смесь злаковых растений берут в следующем соотношении, вес. %:

Calamagrostis Adans	40-60
Deschamsia Beauv	60-40

3. Способ получения фармакологической композиции на основе биологически активного вещества, включающий смешивание вещества с носителем непосредственно перед введением, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении (1:100)-(1:10 000).

4. Способ по п.3, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что в качестве носителя для орального введения фармакологической композиции используют дистиллированную воду, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении 1:(3-10000).

5. Способ по п.3, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что в качестве носителя для местного введения фармакологической композиции используют димексид, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении (1-100):(100-1).

6. Способ по п.3, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что в качестве носителя для внутримышечного введения фармакологической композиции используют изотонический раствор натрия хлорида для инъекций или раствор Рингера-Локка, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении 1:(10-20).

7. Способ по п.3, о т л и ч а ю щ и й с я тем, что в качестве носителя для внутривенного введения фармакологической композиции используют гемодинамические растворы или гемодез, а смешивание биологически активного вещества с носите-

(19) UA (11) 22549 (13) A

лем осуществляют при соотношении 1:(4,5-100).

8. Способ лечения злокачественных новообразований с помощью фармакологической композиции, полученной по п.3.

включающий введение пирогенного препарата, отличающийся тем, что сначала вводят пирогенный препарат и после проявления его действия осуществляют введение фармакологической композиции.

Изобретение относится к фармакологии и касается способа получения и применения фармакологической композиции для лечения и профилактики онкозаболеваний, воспалительных, аутоиммунных, иммунодефицитных заболеваний. Основным компонентом новой фармакологической композиции является биологически активное вещество (БАВ), полученное из растительного сырья.

В фармакологии широко известны способы получения различных БАВ из растительного сырья путем их выделения обычно методом экстракции водо- и жирорастворимых компонентов [Авт.св. СССР (SU) № 1228860, 05.07.86].

В известном аналоге приводится способ получения экстрактов из растительного сырья путем последовательного экстрагирования 96% этиловым спиртом, трихлорфторатаном, глицерином и дистиллированной водой при перемешивании и нагревании. Однако, несмотря на сложную многоступенчатую схему, в результате осуществления которой выделяется большой комплекс БАВ неспецифического назначения, этот способ не позволяет целенаправленно экстрагировать избирательно действующие вещества требуемой группы.

Наиболее близким к заявляемому является способ, описанный в заявке РСТ/AU91/00039, кл. А 61 К 35/78, опублик. в ИЗР 14-6, 1992, где представлена схема получения БАВ и способ получения фармакологической композиции на основе БАВ для лечения патологических состояний: опухолей, вирусных инфекций, в частности герпеса, путем внутримышечного, внутривенного или местного введения.

В качестве сырья используют зеленые части злаковых растений семейства Gramineae (например: ячмень, пшеница, и гибрид ячменя и ржи-triticale), собранные в определенный период вегетации – до образования узлов на стебле, которые обрабатывают до получения сока. Выделение водо- и жирорастворимых фракций осуществляют центрифугированием в течение двух часов с последующей очисткой путем ультрафильтрации.

Полученное БАВ стабилизируют в два этапа: сначала путем сгущения, или с помощью распылительной (сублимационной) сушки, а затем вводят специальный консервант – стабилизатор. Полученное БАВ смешивают с фармакологически приемлемым жидким носителем в определенных соотношениях до получения фармакологической композиции.

Несмотря на проведение множества операций, требующих высокотехнологичного оборудования и специальных реактивов, полученная известная фармакологическая композиция, хотя и обладает специфической противоопухолевой активностью, однако активность этой композиции при дозировке соответствующей половинной концентрации относительно низкая – продолжительность жизни обработанных животных – процент торможения – на 31% больше, чем у необработанных животных контрольной группы. Фактов полного рассасывания опухолей (полных ремиссий) не обнаружено.

При лечении патологических состояний известен способ с использованием пирогенного эффекта в крови, например, путем введения пирогенала [Машковский М.Д. Лекарственные средства. – Ч.2. – Кишинев, – 1990].

Однако известно, что специфическая активность как пирогенала, так и эндогенных пирогенов, низкая. Кроме того, отсутствуют точные данные о том, является ли пирогенный эффект сам по себе, положительным или отрицательным для организма [Физиология человека/Под ред. Р.Шмидта, Г.Тевса, – М.: Мир, – 1996. – С.684].

В основу изобретения поставлена задача разработать простую технологию выделения высокостабильного БАВ из растений семейства Gramineae, а также получить фармакологическую композицию для местного, орального и парентерального введения с высоким лечебным эффектом, в частности, для лечения злокачественных новообразований.

Положительный результат при сравнении с известными аналогами заключается в следующем

– использование растений определенного рода из семейства Gramineae и определение конкретного периода вегетации для сбора растений, а также выделение водорастворимых компонентов и очистка от твердых примесей при разработанных приемах и условиях значительно упрощают технологию получения высокостабильной формы БАВ без дополнительных обработок;

– создание фармакологической композиции для различных форм введения, обладающей высоким лечебным эффектом;

– разработка нового более эффективного способа лечения злокачественных новообразований, в частности, значительно повышающего процент торможения и снижающего среднюю массу опухолей.

В соответствии с настоящим изобретением БАВ получают по следующей схеме.

В качестве сырья используют растения семейства злаковых Gramineae, рода *Calamagrostis* Adans и рода *Deschamsia* Beauv. в следующем соотношении, в вес. %:

<i>Calamagrostis</i> Adans	40–60
<i>Deschamsia</i> Beauv	60–40

Сбор этих растений осуществляют в конкретный период вегетации: после выметывания колосков до начала цветения собирают надземные части указанных растений. Собранные растения сушат отдельно до тех пор, пока влажность сырья не станет равной  $8 \pm 20\%$ . Высушенное сырье, взятое в соотношении, по весу, 40–60% *Calamagrostis* Adans и 60–40% *Deschamsia* Beauv помещают в сосуд с возможностью герметизации. Выделение водорастворимых компонентов – экстракцию осуществляют 92–99,8% спиртом (этиловый ректификованный), который заливают в сосуд при соотношении по весу сырья к экстрагенту от 1:3 до 1:8. После смачивания сырья производят герметизацию сосуда с целью исключения доступа воздуха. Экстракцию проводят путем мацерации в затемненном сосуде при термостатировании – температура  $18 \pm 47^\circ\text{C}$ , и контроле за показателями преломления экстракта.

Процесс прекращают, когда значение показателя преломления экстракта достигает  $1,362 \pm 1,364$ . Экстракт дополнительно контролируют по весу сухого остатка, который должен составлять  $(1,2 \pm 0,1)\%$ . Затем экстракт сливают через стеклянный крупнопористый фильтр в посуду для хранения. Полученное БАВ является высокостабильным средством.

Для получения фармакологической композиции БАВ смешивают с носителем в соотношении  $(100-1):(1-10000)$ . Выбор

носителя и соотношения БАВ к носителю определяют, исходя из формы введения полученной фармакологической композиции. Так, в частности:

– для орального введения фармакологической композиции используют дистиллированную воду, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении 1:(3–10000);

– для местного введения фармакологической композиции используют димексид, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении  $(1-100):(100-1)$ ;

– для внутримышечного введения фармакологической композиции используют изотонический раствор натрия хлорида для инъекций или раствор Рингера–Локка, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении 1:(10–20);

– для внутривенного введения фармакологической композиции используют гемодинамические растворы или гемодез, а смешивание биологически активного вещества с носителем осуществляют при соотношении 1:(4,5–100).

Новый способ лечения злокачественных новообразований с помощью фармакологической композиции, полученной по разработанной схеме, включает введение пирогенного препарата, и после проявления его действия введение новой фармакологической композиции.

Исследование получаемой в соответствии с изобретением фармакологической композиции показывает достигаемый лечебный эффект, а именно: процент торможения опухолей повышается до 47% и средняя масса опухолей снижается на 42%.

Предложенный новый способ лечения злокачественных новообразований с использованием пирогенного эффекта на основе получаемой фармакологической композиции, которая позволяет повысить процент торможения опухолей до 69,6–92,3% и снизить среднюю массу опухолей на 87,2%. Зафиксированы факты полной ремиссии.

Сравнение нового способа и известных аналогов показывает сходство и различие между ними.

Сходными признаками являются следующие:

– использование в качестве сырья для получения БАВ зеленых частей растений из семейства Gramineae в качестве сырья;

– выделение водорастворимых фракций и фильтрация;

– смешивание полученного БАВ с носителем для получения фармакологической композиции;

— для лечения злокачественных новообразований введение пирогенных препаратов.

Отличительными признаками являются следующие:

— для получения БАВ использование конкретного рода растений из рода Gramineae, а именно смесь *Calamagrostis* Adans и *Deschamsia* Beauv, причем выбирают для сбора определенный период вегетации — зеленые части растений, собранные после выметывания до начала цветения колосков;

— сушка перед выделением водорастворимых фракций до влажности сырья 8–20%;

— выделение водорастворимых фракций путем экстракции 92–99,8% этиловым спиртом при весовом соотношении сырья к спирту 1:(3–8), при поддержании температурного режима 18–47°C без доступа воздуха при постоянном контроле показателя преломления экстракта и при значениях его 1,362–1,364 очистка фильтрацией твердые примеси;

— использование для получения фармакологических композиций различных известных носителей в зависимости от формы введения, которые смешивают с БАВ в определенных соотношениях;

— для лечения злокачественных новообразований новую фармакологическую композицию вводят после проявления действия пирогенного препарата.

Новый способ получения БАВ при осуществлении всей совокупности операций обеспечивает получение следующего положительного эффекта:

— выделение стабильного вещества при значительном упрощении технологии, которое заключается в использовании простых методов выделения водорастворимых функций путем экстракции, а также путем очистки при фильтрации твердых примесей вместо ультрафильтрации в прототипе;

— сокращение количества проводимых операций (три простые операции вместо четырех сложных).

Новый способ получения физиологической композиции предопределяет достижение высокого лечебного эффекта: при использовании полученной композиции процент торможения до 47% вместо 31% у прототипа.

Новый способ лечения злокачественных новообразований еще более усиливает действие фармакологической композиции: процент торможения повышается до 69–92%, кроме того увеличивается количество ремиссий, которые не достигались при использовании фармако-

логической композиции, полученной по способу-прототипу.

Пример 1. Получение БАВ.

Неизмельченное сырье; высушенное до 14% содержания влаги, берут в количестве: *Calamagrostis* Adans — 500 г (50%) и *Deschamsia* Beauv — 500 г (50%) и помещают в мацерационный бак.

Сырье заливают спиртом этиловым ректификованным 96% (ГОСТ 5962–67), нагретым до температуры экстракции 30°C с количеством 4900 мл  $\pm$  1%, соотношение по весу 1:4.

После полного смачивания сырья мацерационный бак герметизируют и термостатируют при температуре 30°C. Экстракцию при настаивании (мацерации) производят при контроле показателя преломления ( $n_{20}^D$ ).

При достижении значения показателя преломления равного 1,362–1,364 мацерацию прекращают. Производят контроль веса сухого остатка, этот показатель равен 1,2%.

Готовый экстракт сливают через стеклянный крупнопористый фильтр. При температурах хранения +15 + 40°C в затемненной упаковке полученный экстракт является стабильной формой БАВ.

Примеры 2,3. БАВ получают в соответствии с описанным в примере 1 способом, но в режимах и при условиях, указанных в табл. 1.

Полученное БАВ — это жидкость темно-зеленого цвета, горьковатого вкуса. С равным объемом воды образует муть с выпадением хлопьевидного осадка зеленого цвета. Содержание спирта составляет (52 $\pm$ 2)% по объему. Определение проводят по фармакопейным методикам.

Определение признаков, характеризующих подлинность БАВ, производят с использованием физико-химических методов анализа: спектрофотометрии, метода тонкослойной хроматографии, метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Для проведения спектрофотометрии в видимой и ультрафиолетовой области спектра 1 мл БАВ помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл доводят объем раствора спиртом этиловым абсолютированным для спектроскопии до метки и перемешивают.

Видимый и ультрафиолетовый спектр поглощения полученного раствора в области от 210 до 720 нм должны иметь максимумы при длинах волн, 272 $\pm$ 2 нм, 332 $\pm$ 2 нм, 372 $\pm$ 2 нм, 415 $\pm$ 2 нм, 540 $\pm$ 2 нм, 615 $\pm$ 2 нм, 668 нм и плечо от 457 $\pm$ 2 нм до 485 $\pm$ 2 нм (фиг.1).

Тонкослойную хроматографию БАВ осуществляют на хроматографической пластине "Сифулор". На линию старта хроматографической пластины размером 3x15 см<sup>2</sup> наносят 2 мкл БАВ.

Пластинку сушат на воздухе в течение 5 мин, затем помещают в колбу со смесью растворителей хлороформ-этиловый спирт-бензол (9:1:5) и хроматографируют восходящим способом (смесь растворителей заливают в камеру непосредственно перед хроматографированием). Когда фронт растворителей пройдет 10 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу в течение 10 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 360 нм, при этом на хроматограмме должно появиться 2 пятна, флуоресцирующие сиреневым цветом и 5 пятен приобретают желто-зеленую окраску в видимом свете.

Одновременно, при тех же условиях, хроматографируют раствор смеси стандартных образцов рутина и кверцетина. При сравнении хроматограмм БАВ и смеси упомянутых веществ первые два пятна должны иметь одно и то же значение R<sub>f</sub> (фиг.2).

Хроматограмма БАВ, полученная методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматограф Waters 600), представлена на фиг. 3. Условия хроматографирования следующие:

- колонка размером 150x2 мм<sup>2</sup>, заполненная сорбентом Nova-Pak C<sub>18</sub> с размером частиц 4 мкм (фирма Waters) или аналогичная;

- подвижная фаза - метанол, элюируется с постоянной скоростью 0,3 мл/мин;

- температура колонки 20°C;

- масштаб регистрации - 0,15 единиц оптической плотности.

С целью подтверждения стабильности свойств, БАВ во времени проведено тестирование пяти производственных серий.

Результаты обобщены в табл.2, из которой следует, что в течение 15 месяцев описательные и основные физико-химические свойства всех пяти серий БАВ соответствуют описанным выше.

Фармакологическую композицию получают по схеме, описанной:

- для орального введения - в примерах 4,5,6,7 (табл.3);

- для местного введения - в примерах 8,9,10 (табл.4);

- для внутримышечного введения - в примерах 11,12,13 (табл. 5);

- для внутривенного введения - в примерах 14,15,16,17 (табл. 6).

Отнесение БАВ к определенному классу безопасности осуществляют на основании

материалов тестирования при трех возможных путях введения в организм. Лимитирующим является ингаляционно-токсическое действие - 3-й класс. При других путях введения (оральном, внутрибрюшинном, внутримышечном, внутривенном) БАВ действовало как мало опасное вещество с умеренно токсическими свойствами (4-й класс).

Среднелетальная доза (LD<sub>50</sub>) при парентеральном введении белым мышам составляла от 180 мг/кг до 350 мг/кг, а белым крысам от 170 мг/кг до 300 мг/кг. Полученное значение коэффициента междувидовой чувствительности (0,85 - которое меньше единицы) свидетельствует о возможности междувидовой экстраполяции полученных показателей токсичности.

БАВ по результатам тестирования отнесена к веществам со средней степенью проявления кумуляции.

Срок проявления апогея острой токсичности ограничен 48 часами с момента аппликации. Выявлено, что при тест-дозе, равной 0,2 мл, (внутрибрюшинное введение) не наблюдалось гибели животных в течение 48 часов. Эта доза служила базовой для последующих тестов на хроническую токсичность.

Кроме того, при сравнении разных образцов БАВ не выявлено отличий между ними за их токсикологическими свойствами и характером реакций-ответов.

По результатам тестов на хроническую токсичность определена максимально переносимая доза при многократном введении, а именно на уровне доз составляющих 0,1 от среднелетальной дозы (LD<sub>50</sub>). Кроме того, определен показатель порога хронического приспособительно-физиологического действия (L<sub>lim</sub> хрон.) БАВ, который равен дозе 90 мг (0,1 мл) на килограмм массы тела. Указанная доза является базовой при определении специфических эффектов влияния. За результатами тестирования, БАВ не отличается по действию на животных при парентеральных и пероральном путях введения.

Выбор носителя и соотношение БАВ к носителю проводят путем тестирования, на острую и хроническую токсичность по известным методикам.

Оральное введение.

Приготовление БАВ для орального введения осуществляют перед применением их темпоре и в качестве носителя выбирают дистиллированную воду. Необходимую дозу фармакологического средства смешивают с дистиллированной водой в соотношении (по объему) от 1:3 до 1:10000. Нижний предел соотношения определяется разведением со-

храняющим стабильность фармакологической композиции. Верхний предел соотношения (1:10000) определяется возможностью терапии биотическими или гомеопатическими дозами.

**Пример 4.** Рекомендованная доза БАВ для приема в целях профилактики, т.е. 0,1 от порогового значения дозы для хронического введения (0,1 от  $L_{im}$  хрон.), составляет 1 мл (45 капель) в сутки. Разовую дозу (15 капель) готовят для приема путем разведения не менее, чем в одном миллилитре дистиллированной воды при соотношении по объему 1:3. Разведение осуществляют перед применением *ex tempore*.

**Пример 5.** Приготовление для приема в биотических дозах осуществляют следующим образом: в одном миллилитре 45 капель. При соотношении 1:10000 одну каплю БАВ добавляют к 223 мл дистиллированной воды и взбалтывают до равномерного растворения.

**Пример 6.** Проводят аналогично описанию примера 5, однако соотношение БАВ к носителю берут 1:5000.

**Пример 7.** Для определения специфического иммуностимулирующего действия фармакологической композиции на сурфактантную систему легких готовят тест-дозы для мышей: LD50, 0,5, LD50, 0,1 LD50,  $L_{im}$  исходя из того, что LD50 = 9435 мг/кг или 1,2 мл на 100 г веса. Введение осуществляют орально, причем выбранную дозу фармакологической композиции разводят носителем – дистиллированной водой в соотношении 1:10.

Спустя 12 и 24 часа после введения фармакологической композиции определяют показатели содержания альвеолярных макрофагов (МФ), пользуясь известными методами. Результаты приведены на фиг.4. Данные, представленные на фиг.4, показывают, что количество альвеолярных макрофагов увеличивается при введении меньших доз, по сравнению с LD50, фармакологической композиции. При введении доз на уровне  $L_{im}$  количество МФ по сравнению с контролем возрастает на 10%, т.е. происходит стимуляция неспецифического иммунитета.

**Местное введение.**

**Пример 8.** При приготовлении раствора для компрессов используют 10% димексид. Производят забор димексида в количестве (по объему) 50% от необходимого объема для приготовления аппликации. Далее добавляют 50% БАВ (соотношение 50:50) и взбалтывают до равномерного растворения.

Соотношения по смешиванию БАВ с димексидом при различных локализациях патологического процесса обобщены в табл.4.

**Примеры 9,10.** Для кожного применения используют соотношение от 100:1 до 50:50, а при локализации патологического процесса во внутрикожном и/или подкожном слоях используют соотношение от 50:50 до 1:100, причем % содержание димексида 10, 50, 100% определяют в соответствии с инструкцией по применению для конкретной локализации патологического процесса.

**Внутримышечное введение.**

**Примеры 11 – 13 (табл.5).** При приготовлении фармакологической композиции для внутримышечного введения в качестве носителя выбирают раствор натрия хлорида изотонический для инъекций (пример 11,13) или раствор Рингера-Локка (пример 12).

Раствор для внутримышечного введения готовят перед введением (*ex tempore*), для чего необходимое количество БАВ смешивают с носителем в соотношении по объему 1:10 (пример 11), 1:15 (пример 12), 1:20 (пример 13) и взбалтывают в шприце до полного растворения. Нижний предел разведения (1:10) определяют ограничениями физиологии на количество содержание спирта в растворе для внутримышечного введения. Верхний предел разведения (1:20) определяют ограничением количества жидкости допустимого для внутримышечного введения.

**Внутривенное введение.**

**Примеры 14–17 (табл.6).** При приготовлении фармакологической композиции для внутривенного введения в качестве фармакологически приемлемого носителя выбирают:

– амические растворы, например, реополиглюкин (Rheopolyglucinum) или полиглюкин (Polyglucinum) или реоглюман (Rheoglumanum) или гемодез (Haemodesum). Разведение фармакологического средства с носителем осуществляется в соотношении по объему от 1:4,5 до 1:100 перед введением (*ex tempore*).

Нижний предел разведения (1:4,5) обусловлен ограничениями физиологии на содержание спирта в растворе для внутривенного введения. Верхний предел разведения (1:100) определяется ограничениями по количеству жидкости, допустимому для разового внутривенного введения капельным путем (путем капельной инфузии).

**Пример 14.** Производим забор в шприц 0,1 мл БАВ. Далее в тот же шприц производим забор реополиглюкина в коли-

честве 1 мл (соотношение 1:10), взбалтываем до равномерного растворения.

Приготовление фармакологической композиции для внутривенного введения с реополиглюкином. Перед введением в шприц производят забор БАВ в соотношении к реополиглюкину 1:10 по схеме, описанной ниже (от 0,1 мл до 0,8 мл) далее в тот же шприц производят забор реополиглюкина (от 1 мл до 8 мл) (Rheopolygluelnum).

Смесь взбалтывают до равномерного растворения. Исходя из результатов тестирования на токсичность целесообразно применять схему введения с нарастающими дозировками. В этом случае раствор для введения в конкретном примере соотношения 1:10 готовят каждый раз перед введением по схеме:

1-й день — 0,1 мл фармакологического средства + 1 мл реополиглюкина.

2-й день — 0,2 мл фармакологического средства + 2 мл реополиглюкина. с 3-го дня по 7-й день ежедневное увеличение фармакологического средства на 0,1 мл, а реополиглюкина на 1 мл.

8-й день — 0,8 мл фармакологического средства + 8 мл реополиглюкина, с 9-го дня по 14 день дозировки такие же, как на 8-й день.

**Пример 15.** Приготовление фармакологической композиции осуществляют по схеме, описанной в примере 14, но соотношение к реополиглюкину берут 1:4,5.

**Пример 16.** Приготовление фармакологической композиции для введения с гемодезом путем капельной инфузии.

В подготовленный для капельного введения флакон с гемодезом (Haemodesum) емкостью 500 мл вводится шприцом рекомендованное количество БАВ, 5 мл исходя из расчета 0,1 мл на 50 кг веса, (соотношение 1:100). Флакон взбалтывается до равномерного растворения БАВ в гемодезе и далее производится введение по методике принятой для капельного введения гемодеза

**Пример 17.** Приготовление фармакологической композиции осуществляют по описанию примера 16, но соотношение БАВ к носителю берут 1:50.

С целью повышения специфической противоопухолевой активности целесообразно применение полученного в соответствии с настоящим изобретением фармакологической композиции в сочетании с пирогеналом (Pyrogenalum). Причем пирогенал применяют по известной схеме в соответствии с инструкцией на пирогенал. После введения пирогенала, спустя 3–4 часа необходимые для возникновения пирогенного эффекта вводят фармакологическую

композицию в физиологически приемлемых дозировках, определенных из тестов по хронической токсичности. Приготовление фармакологической композиции для введения в ткани тела и/или сосуды осуществляют способами, описанными в настоящем изобретении.

**Пример 18** (табл. 7). Тесты на специфическую активность выполнены на 80 лабораторных крысах-самцах массой тела  $130 \pm 10$  г, которым по стандартной методике подкожно в области правого бедра задней конечности перевивали карцином Герена в виде 20%-ной взвеси опухолевых клеток в физиологическом растворе, полученной из десятидневной опухоли, освобожденной от капсул сосудов и соединительнотканых прослоек. Животных разделяют на четыре группы по 20 крыс:

1. Опухолевый контроль — без введения каких-либо препаратов.

2. На девятые сутки после перевивки, с появлением пальпируемых опухолей, начат курс введения фармакологической композиции, полученной в соответствии с настоящим изобретением.

3. На девятые сутки после перевивки, с появлением пальпируемых опухолей начат курс введения пирогенала внутримышечно (в левую заднюю конечность из расчета 0,1 мл на крысу).

4. На девятые сутки после перевивки вводят пирогенал и спустя три часа фармакологическое средство.

Введение осуществляют внутрибрюшинно, вводят 1,8 мл смеси БАВ с дистиллированной водой в соотношении 1:4,8.

Курс введения продолжается до 20 суток после перевивки (всего было сделано 7 инъекций животным второй и третьей групп и 14 инъекций животным четвертой группы). На 21-е сутки тестирования все животные были забиты, а опухоли выделены и взвешены. Динамика роста объемов опухолей по группам и средние массы опухолей на 21-е сутки представлены в табл. 7.

Как видно из табл. 7, во второй, третьей и четвертой группах получено отчетливое торможение роста опухоли (карциномы Герена) относительно медленного контроля, выразившееся в более медленном росте опухолей и в уменьшении средней их массы на 21-е сутки тестирования.

Во второй группе полная ремиссия (рассасывание) опухолей не была достигнута ни у одного животного, в третьей группе полная ремиссия достигнута у двух крыс из 20, т.е. в 10% случаев, а в четвертой группе полная ремиссия достигнута у 12 крыс из 20-ти, т.е. в 60% случаев.

Процент торможения роста карциномы Герена при введении фармакологического средства колебался в пределах 63% (3-е сутки); 34 (5-е сутки); 47,1% (7-е сутки); 30,4% (10-е сутки). При введении пирогенала соответствующие значения торможения роста опухоли составили: 69,6%; 90,3%; 80,8%, 70,0%, при сочетанном введении пирогенала и фармакологической композиции: 69,6%, 92,3%, 90,0%, 90,4%.

Средняя масса опухолей на 21-е сутки тестирования снизилась под влиянием введения фармакологической композиции на 42,0% (в 1,7 раза), под влиянием пирогенала

на 67,2%, т.е. в 3,0 раза, а под влиянием комбинации пирогенала и фармакологической композиции на 87,2%, т.е. в 7,8 раза.

5 Таким образом, по всем использованным критериям специфическая активность повышается при сочетанном применении полученного в соответствии с настоящим изобретением фармакологической композиции и пирогенала. Описанное в настоящем примере сочетанное применение дает высокий стабильный процент торможения роста опухоли и максимальный выход полных ремиссий.

15

Таблица 1

Условия режимов	Пример		
	1	2	3
Количество Calamag. Adans. %	50	40	60
Количество Descham. Beauv. %	50	60	40
Влажность сырья, %	20	8	14
Весовое соотношение сырья и спирта	1:4	1:8	1:3
Этиловый спирт, об. %	96	92	99,8
Температура, °C	30	18	47
Показатель преломления экстракта	1,362 – 1,364	1,362 – 1,364	1,362 – 1,364

Таблица 2

№ серии	Дата изготовления	Время проверки	Описание	Подлинность			Спирт, об. %	Сухой остаток, %
				Спектрофотометрия	ТСХ	Рефрактометрия		
1	12.95	12.95	Соответствует	Соответствует	Соответствует	1,363	50	1,2
		через 3 мес.	То же	То же	То же	1,364	50	1,2
		через 6 мес.	—"	—"	—"	1,362	50	1,2
		через 9 мес.	—"	—"	—"	1,364	50	1,2
		через 1 год	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
		через 1 год 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
2	12.95	12.95	—"	—"	—"	1,362	51	1,1
		через 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	51	1,1
		через 6 мес.	—"	—"	—"	1,364	51	1,1
		через 9 мес.	—"	—"	—"	1,363	51	1,1
		через 1 год	—"	—"	—"	1,363	51	1,1
		через 1 год 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	51	1,1



Продолжение табл. 2

№ серии	Дата изготовления	Время проверки	Описание	Подлинность			Спирт, об. %	Сухой остаток, %
				Спектрофотометрия	ТСХ	Рефрактометрия		
3	12.95	12.95	Соответствует	Соответствует	Соответствует	1,363	50	1,2
		через 3 мес.	То же	То же	То же	1,363	50	1,2
		через 6 мес.	—"	—"	—"	1,362	50	1,2
		через 9 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
		через 1 год	—"	—"	—"	1,362	50	1,2
		через 1 год 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
4	12.95	12.95	—"	—"	—"	1,363	53	1,3
		через 3 мес.	—"	—"	—"	1,362	53	1,3
		через 6 мес.	—"	—"	—"	1,363	53	1,3
		через 9 мес.	—"	—"	—"	1,362	53	1,3
		через 1 год	—"	—"	—"	1,362	52	1,3
		через 1 год 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	53	1,3
5	12.95	12.95	—"	—"	—"	1,364	51	1,2
		через 3 мес.	—"	—"	—"	1,364	50	1,2
		через 6 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
		через 9 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
		через 1 год	—"	—"	—"	1,363	50	1,2
		через 1 год 3 мес.	—"	—"	—"	1,363	50	1,2

Таблица 3

Способ введения	Наименование носителя	Соотношение по примеру			
		4	5	6	7
Оральный	Дистиллированная вода	1:3	1:10000	1:5000	1:10

Таблица 4

Способ введения	Наименование носителя	Соотношение по примеру		
		8 (внутрикожная)	9 (накожная)	10 (подкожная)
Местный	Димексид	50:50	100:1	1:100

Таблица 5

Способ введения	Наименование носителя	Соотношение по примеру		
		11	12	13
Внутри-мышечный	Изотонический раствор хлорида натрия для инъекций	1:10		1:20
	Раствор Рингера-Локка		1:15	

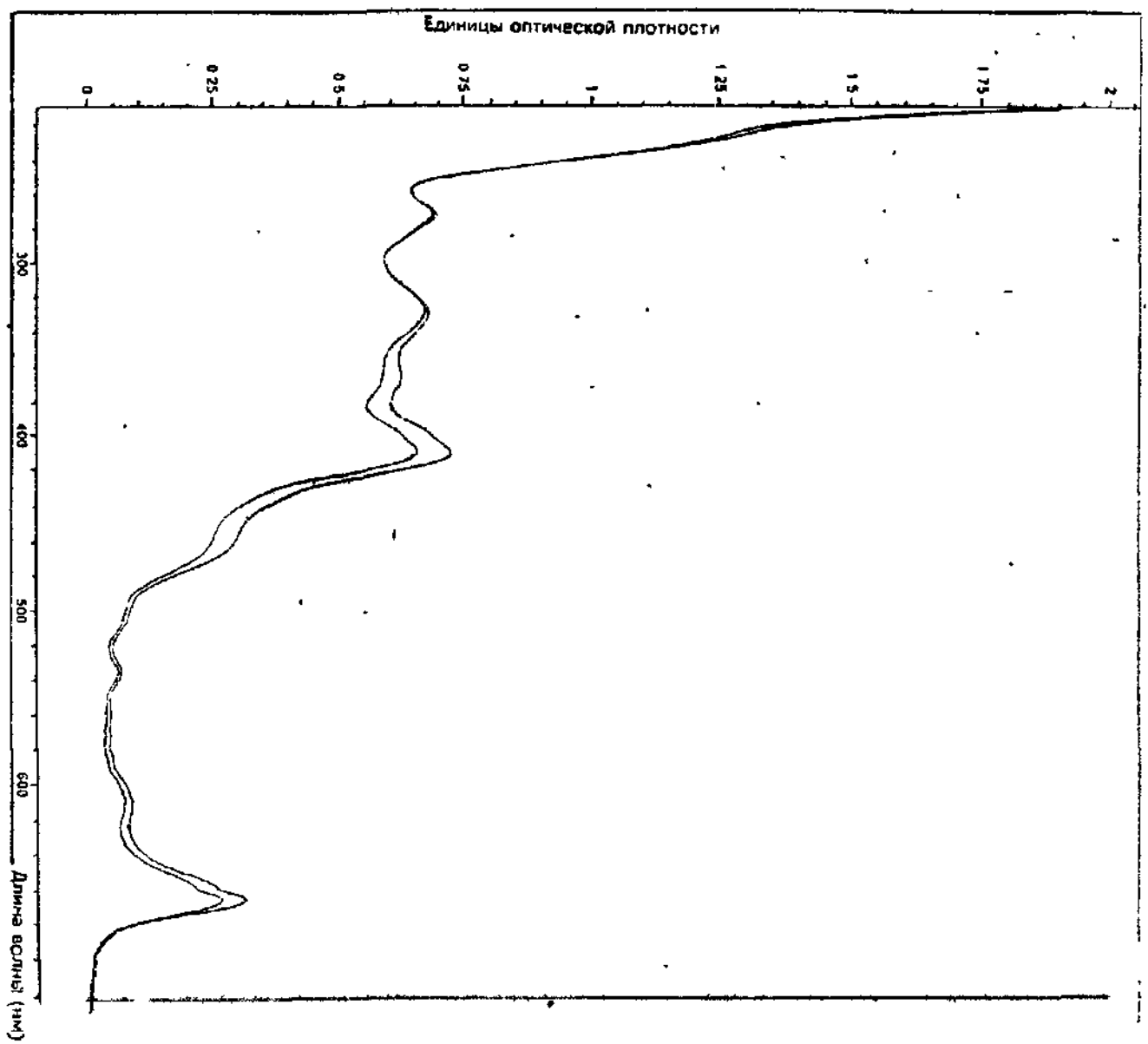
Таблица 6

Способ введения	Наименование носителя	Соотношение по примеру			
		14	15	16	17
Внутри-венный	Гемодинамический раствор	1:10	1:4,5		1:50
	Гемодез			1:100	

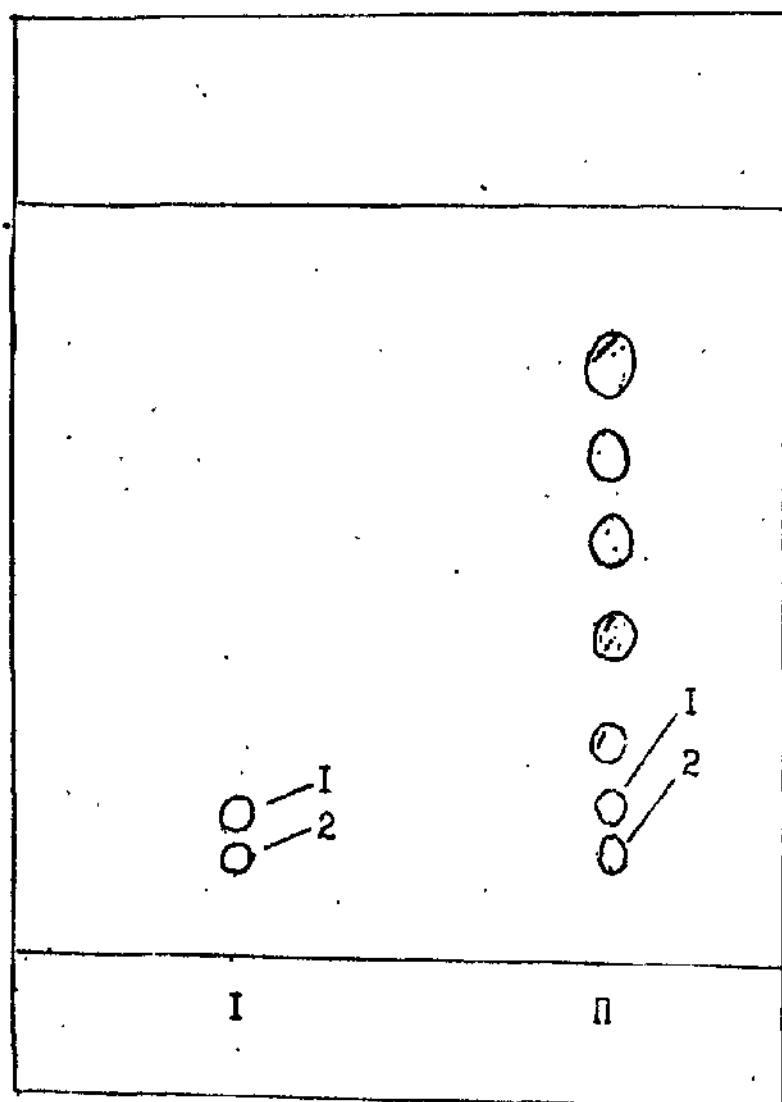
Таблица 7

К-во крыс	Объемы опухолей					Масса опухолей
	До введ.	3-и сутки	5-е сутки	7-е сутки	10-е сутки	
20	0,8±0,03	6,7±0,9	39,1±4,2	53,7±5,1	73,1±6,7	41,16±3,3
20	0,8±0,04	2,47±0,3*	25,9±2,2*	28,4±1,9*	50,8±6,1*	24±2,8*
20	0,7±0,02	2,1±0,2*	3,8±0,9*	10,3±0,9*	22±2,1*	13,5±2*
20	0,7±0,03	2,1±0,3*	3,1±0,5*	5,2±0,6*	7,1±0,7	5,25±1,4*

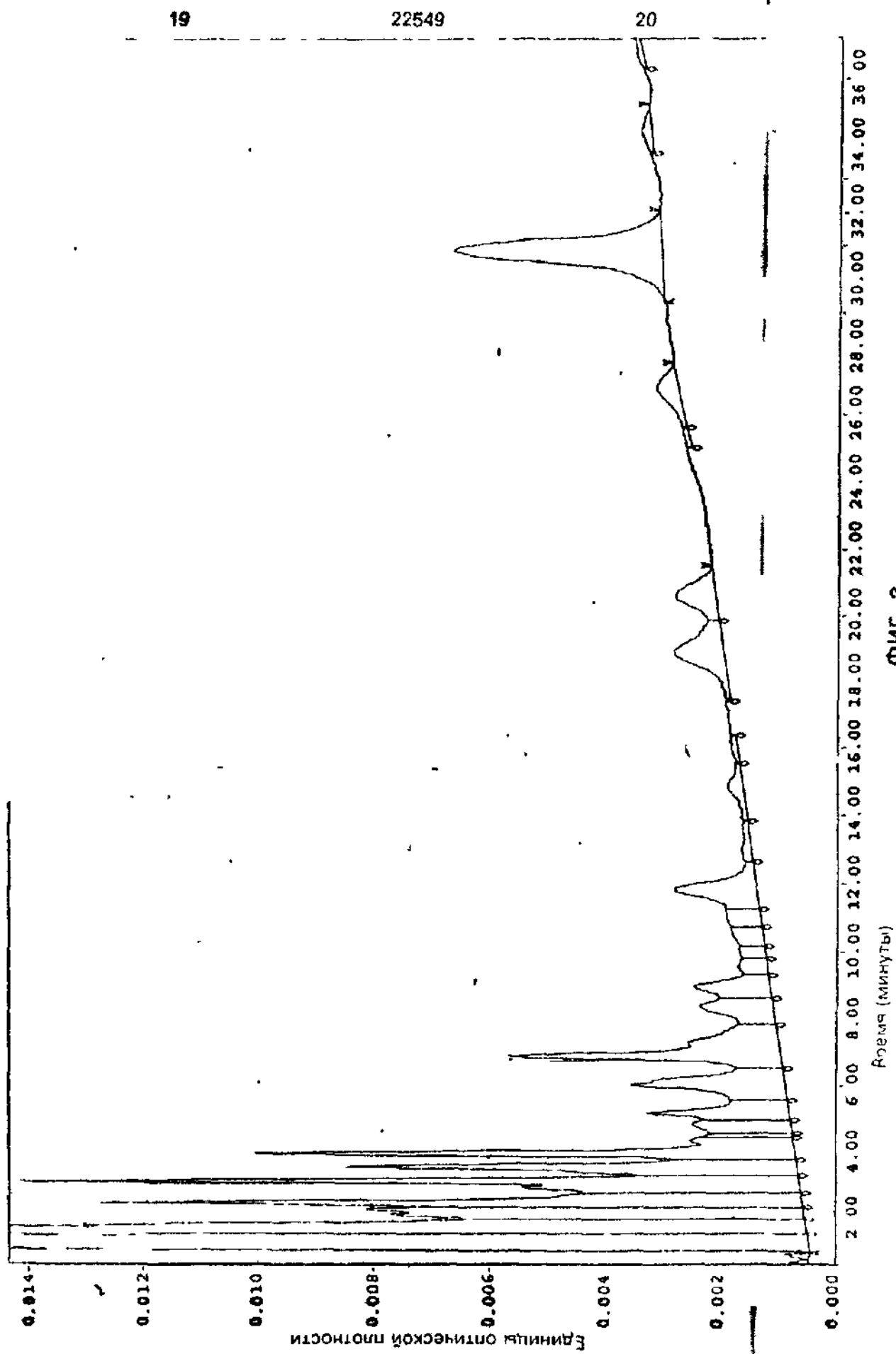
\* Отличие от контроля достоверно.

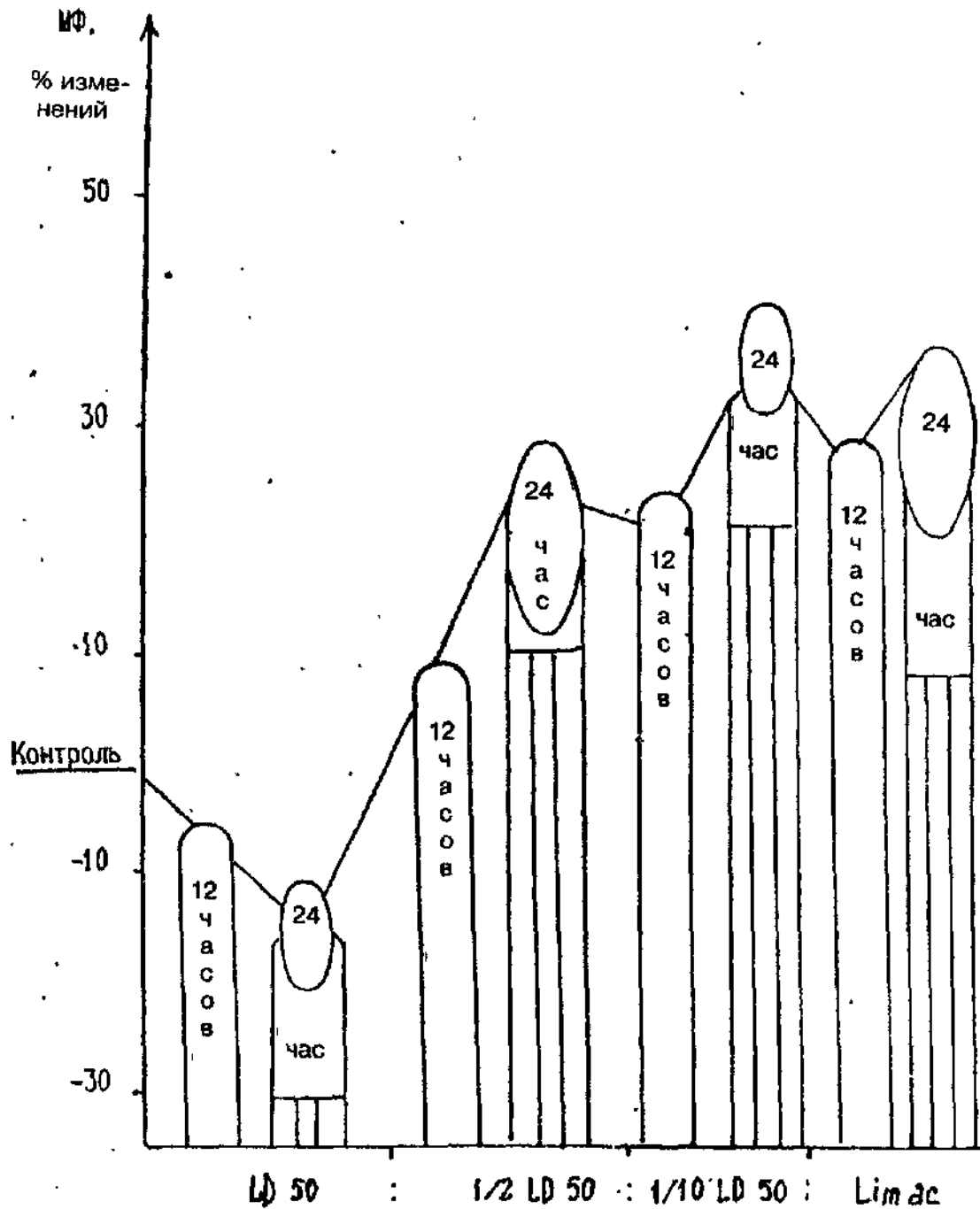


ФИГ. 1



ФИГ. 2





Фиг 4.

Доза препарата

Упорядник

Техред М.Келемеш

Коректор О. Обручар

Замовлення 4493

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,  
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл., 8

Відкрите акціонерне товариство "Патент", м. Ужгород, вул.Гагаріна, 101