



УКРАЇНА

(19) UA (11) 25582 (13) C2

(51) 7 A61K35/78, A61P7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСІБ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГЕМАТОЦИТОПЕНІЧНИХ РЕАКЦІЙ ТЕПЛОКРОВНИХ ОРГАНІЗМІВ

(21) 97105089

(22) 17.10.1997

(24) 16.07.2001

(33) UA

(46) 16.07.2001, Бюл. № 6, 2001 р.

(72) Кірпенко Юрій Олексійович

(73) Кірпенко Юрій Олексійович

(56) Машковский М. Д. Лекарственные средства. - М. Медицина, 1993. Т. П.

(57) Засіб для лікування гематоцитопенічних реакцій теплокровних організмів, що містить природний

продукт, який **відрізняється** тим, що як природний продукт він містить хлорофіл-каротиновий концентрат, виділений з мікроводорості *Chlorella vulgaris*, і додатково хлорофілін натрію при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

Компоненти	Мас. %
хлорофіл -каротиновий концентрат	97 - 98
хлорофілін натрію	2 - 3

Винахід стосується медицини і може бути використаний для запобігання та лікування захворювань крові.

Система крові здебільшого найпершою реагує на вплив зовнішніх чинників. Нині найчастіше спостерігаються анемії, тромбоцитопенії, лейкопенії різного генезу. В умовах дії несприятливих екологічних факторів пошуки ефективних препаратів для лікування вказаних захворювань стають дедалі актуальнішими.

В залежності від виду захворювань застосовують різні засоби їх лікування. Для лікування гіпохромних анемій застосовують сполуки заліза (залізо відновлене, аскорбінат заліза), сполуки миш'яку (миш'яковий ангідрид, калію арсеніт, натрію арсенат); для лікування анемій використовують препарати, одержані з печінки й шлунку (камполон); для лікування злоякісних анемій застосовують вітамінні препарати (вітаміни В₆, В₁₂, В_с). Лейкопенії в клінічній практиці лікують за допомогою нуклеїнату натрію, пентоксилу, тезану, лейкогену [1].

Найбільш поширеним для лікування захворювань крові є препарат гемостимулін [1], до складу якого входять суха (ліофілізована) кров, лактат закисного заліза та сульфат міді. Строк лікування ним складає 4-5 тижнів. При застосуванні гемостимуліну часто як побічна дія можуть виникати подразнення слизової оболонки шлунку, нудота.

Задачею винаходу є створення нового більш ефективного засобу для лікування гематоцитопенічних реакцій, який би діяв у більш короткі строки й не мав побічної дії.

Поставлена задача вирішується в засобі для лікування гематоцитопенічних реакцій, що містить природний продукт, в якому згідно з винаходом, як

природний продукт міститься хлорофіл-каротиновий концентрат, виділений з мікроводорості *Chlorella vulgaris*, і додатково хлорофілін натрію при наступному співвідношенні компонентів, мас. %:

Компоненти	Мас. %
хлорофіл -каротиновий концентрат	97 - 98
хлорофілін натрію	2 - 3

Хлорофіл-каротиновий концентрат являє собою багатокомпонентний засіб, до складу якого входять:

Компоненти	Кількість
білок	45 - 50 %
ліпіди (з поліненасиченими жирними кислотами до 80 %)	8 - 10 %
каротиноїди	0,015 - 0,020 %
похідні хлорофілів	0,4 - 0,5 %
терпени	1,8 - 2,2 %

У токсикологічному відношенні це - нетоксична речовина, яка практично не має побічних ефектів.

Хлорофіл-каротиновий концентрат одержують згідно з авторським свідоцтвом СРСР № 820013.

Хлорофілін натрію являє собою порошок чорного кольору, розчинний у воді та спирті. Одержують його з хвойної лапки шляхом бензинової екстракції з подальшим нагріванням екстракту до 60-70° С та омиленням 30 %-ним розчином NaOH. Після закінчення омилення реакційну суміш розводять водою в співвідношенні 1:3 і двічі промивають бензином, після чого обробляють її водним розчином

(13) C2

(11) 25582

(19) UA

сірчаної кислоти до кислої реакції і піддають відстоюванню. Нерозчинний у воді хлорофілін-сирець тричі промивають бензином, відганяють розчинник і промивають хлорофілін до нейтральної реакції. Потім хлорофілін розчиняють у спирті й нейтралізують лугом, після чого спирт відганяють. Використовують хлорофілін натрію у вигляді водного чи спиртового розчину.

Засіб, що пропонується, отримують шляхом механічного змішування.

З метою вивчення характеру дії засобу при гематоцитопеніях різного походження було поставлено досліди на білих неінbredних щурах двох статей, вагою 180-210 г ($n = 290$), при цьому використовували 3 моделі:

1. Для одержання гемічних анемії тваринам зроблено кровопускання з розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла. Вилучений об'єм крові компенсували введенням стерильного фізіологічного розчину в очеревинну порожнину.

2. Анемічну та лейкопенічну реакції одержували зовнішнім рентгенопромінням з розрахунку 5 Гр на тварину одноразово за допомогою апарату ІГУР.

3. Анемічну, лейкопенічну та тромбоцитопенічну реакції одержували за допомогою перорального введення бензолу по 2 мл/кг на протязі 5 діб.

Стан морфологічного складу периферійної крові та кісткового мозку контролювали загальноприйнятими методами за допомогою мазків з наступним забарвленням їх за Романовським-Гимза, Паппенгеймом.

Дослідні препарати вводили перорально з розрахунку 2,5 мл/кг маси тіла.

При лікуванні викликаних патологій запропонованим засобом з'ясувалось, що на тлі кровопускання через 5 діб явищ анемії не визначено; при рентгеновському опроміненні та введенні бензолу спостерігалась тенденція до зменшення еритроцитів (від 9,74 до 9,85 %), кількість яких відновлювалась до 10 доби (табл. 1).

Кількість лейкоцитів при кровопусканні та введенні запропонованого засобу залишалась без змін. При рентгенопромінюванні на 10 добу спостерігалась лейкопенія до 16,11 %, при лікуванні тварин запропонованим засобом кількість лейкоцитів повністю відновлювалась через 25 діб. На тлі бензольної лейкопенії кількість лейкоцитів відновлювалась через 15 діб (табл. 2).

Таблиця 1

Вплив запропонованого засобу та гемостимуліну на перебіг анемій різної етіології (еритроцити у 1 мм³, білі щури, n = 110)

Групи тварин з анеміями різної етіо- логії, фармакологічні втручання	Спостереження у динаміці					
	фон	через 5 діб	через 10 діб	через 15 діб	через 20 діб	через 25 діб
Кровопускання:						
1. контроль	9670440±592730	7484290±670810	6422810±586470	8410290±496370	8640480±582870	9310460±67628
2. ХКК	9872560±67840	9610520±576290	9720490±642260	9640980±574390	10282680±686410	11486360±59638
3. ХКК+ХН (2 %)	9736290±72420	9816240±64840	9460260±57340	10480710±62440	10629240±56890	10740360±6168
4. ХКК+ХН (2,5 %)	9844960±69470	9940860±58490	10681370±64760	10786220±56470	10484280±62740	10294190±6481
5. ХКК+ХН (3 %)	9636270±57840	9984670±149820	10292470±76810	10340470±66410	10270670±62280	10674840±7486
6. гемостимулін	9466730±498718	7210460±469560	893288±746212	9192684±576492	10142548±574492	10242826±49264
Ro-опромінення:						
1. контроль	8876970±572428	7216474±574248	6646472±642863	7467272±611239	6242129±596291	5847229±57247
2. ХКК	9278648±662396	9147277±672576	9249148±681412	9641288±584688	10149492±496833	10469728±74281
3. ХКК+ХН (2 %)	9472860±57810	9560290±62460	9720460±61790	9940290±57460	10416360±52860	10670280±5786
4. ХКК+ХН (2,5 %)	9216830±52460	9420890±61460	9884240±67660	10260490±62810	10540340±61860	10670420±5947
5. ХКК+ХН (3 %)	9147960±54610	9516290±59816	9864460±62390	10194290±64980	10262140±61980	10416840±5749
6. гемостимулін	9476292±572427	7484264±491386	7621734±539436	8864262±619741	9124366±547788	1034621±67351
Бензол:						
1. контроль	10241934±741363	8221368±644297	7641247±631496	7964816±539842	8634211±681436	9469176±69341
2. ХКК	9429164±421116	9192349±637447	9337249±583488	9842632±576383	10244126±532911	10416211±49839
3. ХКК+ХН (2 %)	9634810±62810	9570290±57860	9860260±59410	10194940±57260	10362440±56980	10684960±5986
4. ХКК+ХН (2,5 %)	9144830±54980	9446290±51720	9716290±58610	10219380±62450	10419290±67720	10682190±5786
5. ХКК+ХН (3 %)	9264130±54840	9134980±59760	10294480±62860	10467380±64710	10613240±62410	10846490±6126
6. гемостимулін	8988241±533813	7631247±618472	7149226±548272	7866211±532834	8229144±576721	8966844±54446

Таблиця 2

Вплив запропонованого способу та гемостимуліну на перебіг лейкопеній різної етіології (білі щури, n=180)

Групи тварин, фармакологічні агенти, вивчені показники	Строки спостережень					
	фон	через 5 діб	через 10 діб	через 15 діб	через 20 діб	через 25 діб
Кровопускання:						
1. контроль - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12726±3622	6473±1648	8917±2416	10263±3687	10988±3639	12194±4293
ретикулоцити на 1 тис. клітин	768916±41269	892239±36434	846436±32637	872491±36737	839496±32478	786536±42788
2. ХКК -лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	11984±4367	12127±4819	12773±3687	12894±4837	12681±3688	12914±4937
ретикулоцити на 1 тис. клітин	761639±41728	796817±39734	812316±47821	837429±49217	841637±41986	856733±36981
3. ХКК+ХН (2 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	11649±4963	12464±5146	12863±5881	12916±5746	12982±5416	12984±5183
ретикулоцити на 1 тис. клітин	7445131±39816	812416±41419	846286±47136	872916±39784	894219±37883	899786±36142
4. ХКК+ХН (2,5 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	11739±3678	12146±4122	12678±4222	12972±3787	12678±3942	12976±4272
ретикулоцити на 1 тис. клітин						
5. ХКК+ХН (3 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	11416±3491	12148±3971	12413±3742	12782±3981	12916±4181	12899±4679
ретикулоцити на 1 тис. клітин	738149±42889	846216±36733	852473±39294	868419±41198	879284±42419	894196±37419
6. гемостимулін - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12428±4728	11739±3637	11482±4219	11374±3737	11982±4836	12474±3973
ретикулоцити на 1 тис. клітин	747681±49584	673481±57194	641812±43913	636767±42978	729631±42296	768284±54484
Ro-опромінення:						
1. контроль - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12636±1784	14108±2463	9433±2637	8262±2481	7396±1783	6327±2139
ретикулоцити на 1 тис. клітин	783961±27688	627168±24475	593422±19768	512316±16966	494739±18989	463837±21981

Групи тварин, фармако- логічні агенти, вивчені показники	Строки спостережень					
	фон	через 5 діб	через 10 діб	через 15 діб	через 20 діб	через 25 діб
2.ХКК -лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12683±1689	13127±1486	10639±1378	11784±1783	11982±2463	12841±1962
ретикулоцити на 1 тис. клітин	741629±63837	533347±71416	427736±83766	547879±62136	689932±57139	739579±47122
3. ХКК+ХН (2 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12464±2662	12682±2416	12873±1988	12933±2916	13286±2784	13316±2416
ретикулоцити на 1 тис. клітин	136292±56788	741487±54483	768293±53289	779416±49983	786312±51833	788473±53814
4. ХКК+ХН (2,5 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12384±1974	12746±2916	12782±1789	1288111619	12973±1718	12982±1988
ретикулоцити на 1 тис. клітин	139416±56842	746712±51428	752412±56477	768384±51417	789419±47799	793384±49633
5. ХКК+ХН (3 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12277±1866	12489±1786	12673±1649	12781±1499	13196±1784	13447±1648
ретикулоцити на 1 тис. клітин	746113±42728	762312±41733	781416±37899	796139±34337	798483±36914	797384±41484
6. гемостимулін - лейкоци- ти, М±m, тис. у мм ³	11986±3747	12643±4984	10894±4748	9649±3647	11147±4889	11849±4647
ретикулоцити на 1 тис. клітин	743511±57278	782347±48673	794568±58968	812357±67129	823672±54747	842759±67244
Бензол:						
1.контроль - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	12846±3462	6493±1966	563711439	6109±1378	9489±2618	11603±4806
ретикулоцити на 1 тис. клітин	746102±36722	691406±29741	612827±27703	598396±31639	547637±27106	596804±37439
2. ХКК -лейкоцити, М +m, тис. у мм ³	11986±2988	10637±1764	10434±2247	11788±1936	11849±1783	11981±2433
ретикулоцити на 1 тис. клітин	738421±29144	744279±27239	760127±19847	765243±21472	766483127129	763492±22481
3. ХКК+ХН (2 %) - лейкоцити, М±m, тис. у мм ³	11899±2149	11916±1788	12146±1984	12478±2916	12672±2144	12416±2016
-ретикулоцити на 1 тис. клітин	726834±24916	732429±29718	741327±21416	740294±24418	752136±21733	762436±27648

Групи тварин, фармакологічні агенти, вивчені показники	Строки спостережень					
	фон	через 5 діб	через 10 діб	через 15 діб	через 20 діб	через 25 діб
4. ХКК+ХН (2,5 %) - лейкоцити, $M \pm m$, тис. у mm^3	11781 \pm 1789	12384 \pm 1811	12416 \pm 1981	12511 \pm 1733	12618 \pm 1648	12738 \pm 1419
-ретикулоцити на 1 тис. клітин	731483 \pm 34811	741293 \pm 29716	751046 \pm 27418	756142 \pm 24713	762316 \pm 21419	772292 \pm 29519
5. ХКК+ХН (3 %) - лейкоцити, $M \pm m$, тис. у mm^3	11276 \pm 1784	11988 \pm 1974	12344 \pm 1733	12476 \pm 2016	12788 \pm 2149	12972 \pm 2416
-ретикулоцити на 1 тис. клітин	742836 \pm 24719	756149 \pm 21733	761219 \pm 24822	778048 \pm 21419	786194 \pm 29292	788216 \pm 27419
6. гемостимулін -лейкоцити, $M \pm m$, тис. у mm^3	12648 \pm 4394	11106 \pm 5696	10607 \pm 5106	11419 \pm 5226	11526 \pm 6428	12418 \pm 5436
-ретикулоцити на 1 тис. клітин	729632 \pm 37412	677419 \pm 41986	684216 \pm 139828	691427 \pm 41728	716427 \pm 36422	734842 \pm 37427

Лікування за допомогою гемостимуліну виявилось значно менш ефективним. Так, при кровопусканні препарат сприяв відновленню кількості еритроцитів через 20 діб, при рентгенівському опроміненні й бензольній інтоксикації - через 25 діб. Лейкопенічні реакції компенсувались при всіх моделях патології через 25 діб.

При аналізі формули крові у контрольних тварин спочатку спостерігались відносний лімфцитоз, який змінювався лімфопенією, тромбоцитопенією, ретикулоцитопенією, зрушенням формули крові ліворуч. Застосування запропонованого засобу запобігало появі ретикулоцитопенії, що свідчить про наявність компенсаторних можливостей, тому що ці формені елементи є поліпотентними клітинами.

У кінці експерименту у 25 % тварин вивчено мієлограми. При кровопусканні мієлограми мало відрізнялись від показників контрольних тварин. При зовнішньому рентгенопромінненні та бензольній інтоксикації зафіксовано у контрольній групі тварин пригнічення майже всіх ростків крові. Особливо це стосується еритро-, лімфо- та гранулоцитопоезу.

При введенні запропонованого засобу та гемостимуліну не спостерігалось значних змін з боку

гранулоцитарних елементів, дещо зменшувалась кількість лімфоїдних клітин при відсутності впливу на інші гемопоетичні ростки. У селезінці та лімфовузлах спостерігалась тенденція до зменшення кількості лімфоцитів і локального розвитку стромы.

Аналогічна картина спостерігалась при вивченні дії запропонованого засобу на культуру кісткового мозку цуценят через 6, 12, 24 години від початку дії препарату.

Таким чином, з наведених даних видно, що запропонований препарат у порівнянні з відомими на фоні цитопенічних реакцій діє більш ефективно і значно скорочує строки компенсації патологій, що виникли під впливом зовнішніх чинників. Загалом, засіб сприяє оптимізації кровотворної функції при кровопусканнях, бензольній інтоксикації, зовнішньому іонізаційному опроміненні за рахунок стимуляції гемопоетичних ростків, про що свідчить досить значний ретикулоцитоз у периферійній частині крові.

Джерела інформації:

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Т. I-II.- М.: Медицина, 1993.

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
