



УКРАЇНА

(19) UA (11) 54287 (13) A

(51) 7 A61K9/02,

A61K31/661,

C07C275/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ЛІКУВАЛЬНИЙ ЗАСІБ "ВОСУРЕЛЬ"

1

2

(21) 2002075736

(22) 11 07 2002

(24) 17 02 2003

(46) 17 02 2003, Бюл. № 2, 2003 р.

(72) Шумейко Володимир Миколайович, Голубов Михайло Іванович, Бобкова Людмила Станіславівна, Литвин Володимир Петрович, Авдеева Лілія Василівна, Вишневський Олег Вадимович, Даниленко Валентина Пилипівна, Татяниченко Ірина Степанівна, Колядич Олена Павлівна, Овруцький Владислав Матвійович, Дніпрова Тетяна Миколаївна

(73) ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

(57) Лікувальний засіб, що проявляє антимікробну, фунгістатичну і протизапальну дію, який відрізняється тим, що виконаний у вигляді розчину, що містить водорозчинну біокислу метасилікагелеву суміш "Водозоль", диметилуреїдофосфорну кислоту та 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин і дистильовану воду при такому співвідношенні компонентів, мас %

диметилуреїдофосфорна кислота	1,0-2,0
2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин	0,5-1,0
вода дистильована	10,0-20,0
"Водозоль" (ТУ-У-46 15 055-94)	решта

Винахід відноситься до хіміко-фармацевтичної промисловості, а саме до створення лікарського засобу з компонентами, що забезпечують антимікробні, фунгістатичні та протизапальні властивості, і може бути використаний у терапевтичній практиці органів охорони здоров'я та ветеринарній медицині як засіб для місцевого застосування при лікуванні за допомогою нього уражень шкіри та слизових оболонок, викликаних мікробами та грибовою флорою.

Відома велика кількість лікувальних засобів, що виявляють антимікробну [1] або фунгістатичну [2, 8, 9] активність, а саме група антибактеріальних засобів для системного використання – цефалоспоринові антибіотики (цефалексин, цефазолін, цефокситин, цефуросим, цефамандол, цефаклор, цефадроксол, цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон, цефрадин тощо), сульфаниламідні і триметоприм (сульфаметоксазол і триметоприм бактрим, біселтол тощо), група антибактеріальних засобів хінолонів – фторхінолони (офлоксацин, цiproфлорксацин, норфлоксацин), група різних антибактеріальних засобів – глікопептидні антибіотики (вінкоміцин), похідні імідазолу (метронідазол, тинідазол, орнідазол), група протигрибкових засобів для системного використання – похідні імідазолу (кетоконазол), похідні триазолу (флуконазол, ітриконазол).

Недоліком відомих лікувальних антимікробних та фунгістатичних засобів є те, що, по-перше, більшість з них несумісні між собою і розраховані на індивідуальне використання як окремі препарати, тобто одночасне використання їх не можливе, по-друге, їх використання створює велике фармако-терапевтичне навантаження на організм, що може супроводжуватися побічною дією та викликати небажані ускладнення, по-третє, дані літератури свідчать про високий рівень резистентності до антибіотиків серед збудників інфекцій, які є основною причиною захворюваності [1, 2, 3].

Антибіотичні лікувальні засоби [1, 8] відносяться до різноманітних класів органічних сполук, однак мають спільний недолік – вони викликають звикання мікрофлори до їх дії. Жоден із них [1, 2, 9] не розрахований на тривале використання у якості аплікаційного засобу для зовнішнього застосування.

В Україні в залежності від нозологічної форми інфекції в 1998-1999 роках зареєстровано (22,2-74,1)% штамів, стійких до цефалоспоринових антибіотиків, (2,6-92,9)% штамів до аміноглікозидів. До фторхінолонових препаратів, які нещодавно заявили на ринку України, виявилися стійкими до 20% ізолятів [2, 8, 9].

Аналоги винаходу. Аналоги за складом компонентів, що мають подібний спектр активності, в літературі не описані, серед відомих лікувальних засобів не виявлені.

Найбільш близьким за антимікробною дією, прийнятим за прототип, є антибіотик останнього

(13) A

(11) 54287

(19) UA

покоління – цефалоспорин Його недоліком є те, що він викликає резистентність мікрофлори, а інколи внаслідок алергізуючої дії є вкрай небезпечним для здоров'я і здатний викликати ускладнення (блювання, запаморочення, інколи алергози) [1, 2, 5, 8, 9]

В основу винаходу "Лікувальний засіб "Восурель" поставлено задачу розробити новий лікувальний засіб, до якого відсутня резистентність, для терапії захворювань, що передаються статевим шляхом, а також уражень шкіри

– шляхом використання диметилуреїдофосфорної кислоти, 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідину та водорозчинної метал-силікатної суміші ("Водозоль"),

– щоб забезпечити одночасну та ефективну антимікробну, фунгістатичну та протизапальну дію

Запропонований об'єкт – "Лікувальний засіб "Восурель" здійснюється наступним чином формування лікувального засобу "Восурель" проводиться у вигляді розчину, до якого входять Водозоль (ТУ-У-46 15 055-94 [4]), Диметилуреїдофосфорна кислота [3], 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-

триметоксибензил)піримідин) [1] і допоміжної речовини Вода [11]

Диметилуреїдофосфорна кислота, що входить до складу Восурелю, проявляє протипухлинну, інтерферогенну, протівірусну дію та характеризується низькою токсичністю [3, 6], але не має необхідної для запропонованого лікувального засобу протизапальної дії

Окрім того, до складу Восурелю введений 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин), який за даними літератури має антимікробні властивості [1, 5]

Попередньо були вивчені антибактеріальна та протигрибкова дія складових компонентів лікувального засобу "Восурель" у однакових умовах

Порівняння з ністатином протигрибкової активності суспензій в ДМСО (1,0мг/мл) як диметилуреїдофосфорної кислоти, так і 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідину в стандартних умовах [5, 9] показало, що на тест-культуру *Candida utilis* має місце їх статистично доведений тотожний вплив (на рівні антифунгальної дії біля 100мкг/л) (табл 1)

Таблиця 1

Порівняння протигрибкової активності зразків диметилуреїдофосфорної кислоти, 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідину та ністатину (суспензія в ДМСО 1,0мг/мл) по відношенню до тест-культури *Candida utilis*

ФАР	Зараженість, см		Активність, %
	Без обробки ФАР	Після обробки ФАР	
Диметилуреїдо-фосфорна кислота	72,9±2,4	0,2±0,001	99,725
2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил) піримідин	70,5±1,9	0,1±0,001	99,858
Ністатин	73,8±2,0	0,1±0,001	99,865

"Водозоль" використовується у ветеринарній практиці (тварини, птиця) Він є ефективним засобом для лікування респіраторних, кишково-шлункових, гнійно-запальних захворювань, в т ч і слизових оболонок Застосовують у вигляді напою 2-5% водного розчину у дозі 1мл на 1кг маси тіла 1-2 рази на добу протягом 3-5 днів Активною складовою частиною "Водозоль" є БМСС – водорозчинна біокисна метал-силікатна суміш, яка обумовлює одночасне знезараження – детоксикацію, дезинфекцію, дезактивацію і забезпечує фунгіцидний вплив на токсиканти

Отже, поставлена задача створення антимікробного та фунгістатичного лікувального засобу, до якого відсутня резистентність, досягається тим, що запропонований засіб містить Водозоль та диметилуреїдофосфорну кислоту і, відповідно до винаходу, додатково містить 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин при такому співвідношенні компонентів, мас %

Диметилуреїдофосфорна кислота	1,0-2,0
2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин	0,5-1,0
Вода дистильована	10,0-20,0

Водозоль

Решта

Запропонований лікувальний засіб відносно відомих препаратів має переваги, які полягають в ефективному лікуванні захворювань (в тому числі шкіри), що передаються статевим шляхом, інфекційних та запальних ускладнень

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

Приклад 1 Виготовлення лікувального засобу "Восурель"

Лікувальний засіб "Восурель" виготовлений відповідно до вимог Державної Фармакопеї України 2001 року [12]

Композиція 1 Для виготовлення 100,0мл "Восурелю" необхідно використати компоненти у такій кількості

– диметилуреїдофосфорна кислота	– 2,0г,
– 2,4-діаміно-5-(3',4',5'-триметоксибензил)піримідин	– 1,0г,
– вода дистильована	20,0г,
– Водозоль	– 77,0г

Перша складова частина засобу Для його ут-

ворення 1,0г 2,4-діаміно-5-(3¹,4¹,5¹-триметоксибензил)піримидин змішують з 5,0г дистильованої води та ставлять на 120 хвилин для розчинення при температурі 40°C. Потім доводять температуру до 55-60°C, ретельно перемішують до однорідної маси і залишають при кімнатній температурі.

Другу складову частину засобу готують паралельно. Для цього у воді, взятій у кількості із урахуванням використаної для приготування першої складової частини (залишок 15,0г), розчиняють 5,0г диметилуреїдофосфорної кислоти при температурі 55-60°C. Все перемішують до повного розчинення при температурі до 50°C.

Першу та другу складові частини засобу змішують до однорідної, гомогенної маси при температурі не вище 50-60°C.

Потім до гомогенної маси додають по частинам Водозоль (ТУ-У-46 15 055-94) 77,0г. Перемішують та отримують розчин.

Отриманий розчин розливають у ампули по 5,0мл кожна. Ампули зберігають у захищеному від прямого світла місці при температурі плюс 4-5°C.

Маса вмісту однієї ампули не повинна перевищувати 5,053±0,021г та розцінюється, як нативний розчин, що придатний для розведення дистильованою водою безпосередньо перед застосуванням.

Вміст однієї ампули розрахований на одну примочку за допомогою ватно-марлевого тампону

розміром 5X10см чи 5X5см терміном 30-45хв після розведення у 4-16 разів (в залежності від стану ураженої шкіри).

Приклад 2. Вивчення гострої токсичності лікувального засобу "Восурель".

Вивчалися основні параметри токсикометрії запропонованого лікувального засобу при різних шляхах його аплікації і відповідно до вимог ГОСТ 12 1 007-76.

Згідно із "Методичним рекомендаціям" [6], гостра токсичність повинна вивчатись на "не менше, ніж на 3-х видах тварин, але обов'язково на гризунах та не гризунах". Оцінка безпечності впливу "Восурелю" була розпочата з вивчення його відповідності вимогам ГОСТ 12 1 007-76. Використані для вивчення дози чи концентрації лімітувались технічними умовами введення потенційного лікувального засобу.

Зразки були застосовані для наскрізного, перорального, вагінального введення за стандартними операційними процедурами. Підготовлені для використання "Восурелі" вводили інгаляційно тваринам за допомогою ежекторного пристрою ЭГВ-ПАУ-м, що був розроблений у ГОСНИОТ (Москва-Шихани, 1979 р.) для інгаляції у статичних умовах. Результати експерименту фіксувались на 7 та 14 добу спостереження.

В узагальненому вигляді показники гострої токсичності наведені у табл. 2.

Таблиця 2

Токсикометричні показники згідно із ГОСТ 12 1 007-76

Показник ефекту дії	Вид тварин	Термін визначення ефекту дії	
		7 доба	14 доба
1	2	3	4
Середня летальна доза при введенні у шлунок (ЛД ₅₀), г/кг	Білі щури Білі миші Коти	82,2±5,5 55,6±1,0	70,2±1,0 51,2±1,3
Середня летальна доза при наскрізній дії, (ЛД ₅₀), мг/кг	Білі щури Білі миші Кролі	Більше 5,0	
Середня летальна концентрація у повітрі Статика, (ЛК ₅₀), мг/м ³	Білі щури Білі миші Коти	>2500,0 >2500,0 >2500,0	>2500,0 >2500,0 >2500,0
Внутрішньочеревинно(ЛД ₅₀ ^{h336}), мг/кг	Білі щури Білі миші	>50000,0 >50000,0	>50000,0 >50000,0
Вагінально(ЛД ₅₀ ^{h336}), мг/кг	Білі щури Білі миші	>50000,0	>52000,0
		165,0±3,36 230,0±5,51 350,0±12,0 300,0±25,5	
Показник ефекту дії	Вид тварин	Термін визначення ефекту дії	
		7 доба	14 доба
Оцінка небезпеки використання		Помірно небезпечні	Помірно небезпечні
Прогнозоване ГДК _{фв} , мг/м ³		>10,0	
Зона гострої дії		Від 15 до 42	Середнє 23,6
Клас небезпеки, ГОСТ 12 1 007 -76		3 - помірно токсичний	3 - помірно токсичний

Отже, можна констатувати, що при вивченні гострої токсичності лікувальний засіб "Восурель", незалежно від шляху аплікації при виконанні досліджень за ГОСТ 12 L007-76, має властивості біологічно активної речовини 3-го класу небезпеки.

Приклад 3. Випробування на токсичність лікувального засобу "Восурель".

Виготовлені відповідно до винаходу засоби "Восурель" призначаються для використання при дії на шкіру статевих органів. 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 19 до 21 г. Кожна серія супозиторіїв випробовувалась на різних групах тварин, що кількісно складались 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.

Зразки 3-х серій "Восурель" розігрівались у ампулі до 30-32°C. Далі готували тест-дозу – 0,2 мл з стандартної ампули на 5,0 мл (приклад 1).

Кожна з білих мишей у групах тварин (табл. 3) отримувала рівну за масовими показниками тест-дозу, що виготовлена з різних зразків "Восурель", 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 досліду 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.

Таблиця 3

Вплив тест-доз різних зразків лікувального засобу "Восурель" 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	
120501	0	0	0	Задовільний
141201	0	0	0	Задовільний
220402	0	0	0	Задовільний

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

Приклад 4. Вивчення протизапальної дії лікувального засобу "Восурель".

Протизапальні властивості заявлено засобу вивчали на моделях карагенінового та формалінового набряку, які моделювали шляхом субплантарного введення щурам 0,1 мл 1% розчину караге-

ніну чи 0,1 мл 10% розчину формаліну. Лікувальний засіб "Ліварекс" вводили ректально в дозі 0,1 ЛД₅₀ або 0,01 ЛД₅₀. Як препарат порівняння використовували вольтарен в терапевтичній дозі. Критерієм оцінки був відсоток інгібування набряку, який вимірювали волюметрично.

Дослідження проведено на білих неплінних мишах та щурах з масою відповідно 20±2 г та 140±20 г. Тварини утримувались на стандартному харчовому раціоні і одержували їжу та питво ad libitum.

Отримані результати наведені в табл. 4.

Таблиця 4

Вплив лікувального засобу "Восурель" на карагеніновий та формаліновий набряк та запалення

Модель набряку	Лікувальний засіб	Приріст набряку, мл	Зниження набряку, %
Карагеніновий набряк	Контроль	1,55±0,4	-
	Вольтарен	0,47 ±0,2	70,39
	0,01 ЛД ₅₀ "Восурель"	0,89±0,6	45,25
Формаліновий набряк	Контроль	1,45±0,3	-
	Вольтарен	0,54 ±0,1	60,74
	0,01 ЛД ₅₀ "Восурель"	0,86±0,4	56,82

Отже, проведені дослідження, результати яких наведені в табл. 3, свідчать, що лікувальний засіб

"Восурель" виявляє певну протизапальну активність у порівнянні із специфічною дією препарату

вольтареном

Приклад 5 Вивчення протимікробної дії лікувального засобу "Восурель"

Дослідження проводили методом серійних розведень з використанням однієї і тієї ж серії м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) із вмістом аміноного азоту 226мг % і рН 7,2-7,4 для бактерій, крім *Enterococcus faecalis* і середовища Сабуро – для грибів. Для вивчення активності сполук по відношенню до *E faecalis* використовували МПБ з 1% вмістом глюкози.

Як тест-мікроорганізми використовували еталонні штами *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *E faecalis* ATCC 292/2, *Candida albicans* 663/885. Суспензії відповідних тест-мікроорганізмів вносили в кожну пробірку ряду з розрахунку 10^5 колонієутворюючих одиниць (КУО) в 1мл. Для цього готували по стандарту мутності суспензії мікроорганізмів, що вміщувала 10 КУО/мл, додавали 0,1мл цієї суспензії до 9,9мл

фізіологічного розчину NaCl і далі по 0,05мл останньої вносили в кожну пробірку ряду Контролем слугували пробірки з різними концентраціями препарату, але без культури, пробірки з відповідними розведеннями розчинника, а також пробірки з відповідним поживним середовищем без сполуки, але з культурою тест-мікроорганізму. Результати досліду враховували через 18-20 годин культивування в термостаті при температурі 37°C по ступеню помутніння середовища. Мінімальною інгібуючою ріст тест-мікроорганізмів концентрацією сполук (МК) вважали максимальне розведення, при якому не спостерігали росту мікроорганізмів.

В результаті проведених досліджень Восурелью встановлено, що він затримував ріст усіх без винятку взятих для дослідження видів тест-мікроорганізмів, навіть у нативній концентрації (100мкг/мл) та розведеннях. Звернемо увагу на його активність, що була встановлена методом дифузії у агарі (табл. 5).

Таблиця 5

Активність засобу Восурель, що встановлена методом дифузії в агарі

Тест-культури	Діаметр затримки росту (мм) навколо лунок з при розведенні (% , кратність розведення)						
	100,0%	50,0%	25,0%	12,5%	6,25%	3,1%	1,6%
	нативний	1 2	1 4	1 8	1 16	1 32	1 64
<i>S aureus</i>	38,0	30,0	26,0	16,0	12,0	10,0	8,0
<i>E coli</i>	35,0	28,0	26,0	18,0	16,0	12,0	10,0
<i>P aeruginosa</i>	38,0	31,0	25,0	18,0	15,0	12,0	10,0
<i>E faecalis</i>	36,0	30,0	23,0	19,0	12,0	10,0	8,0
<i>C albicans</i>	41,0	40,0	38,0	22,0	20,0	18,0	15,0
<i>C utitis</i>	40,0	40,0	38,0	20,0	18,0	15,0	12,0

Порівняємо отримані результати (табл. 4) із дією цефалоспарину (табл. 6) у аналогічних умовах досліду.

Таблиця 6

Активність цефалоспарину, що встановлена методом дифузії в агарі

Тест-культури	Діаметр затримки росту (мм) навколо лунок з при розведенні (% , кратність розведення)						
	100,0%	50,0%	25,0%	12,5%	6,25%	3,1%	1,6%
	нативний	1 2	1 4	1 8	1 16	1 32	1 64
<i>S aureus</i>	40,0	30,0	20,0	13,0	11,0	9,0	8,0
<i>E coli</i>	34,0	25,0	21,0	14,0	12,0	9,0	8,0
<i>P aeruginosa</i>	36,0	30,0	24,0	16,0	13,0	10,0	9,0
<i>E faecalis</i>	37,0	29,0	26,0	19,0	12,0	9,0	8,0

Отже, засобу Восурель має виражену активність по відношенню до грампозитивних, включаючи *E faecalis*, та грамнегативних, в тому числі *P aeruginosa*, бактерій, а також грибів роду *Кандида*.

Надзвичайно цікавим є те, що Восурель активний по відношенню до *P aeruginosa* та *E faecalis*, які в сучасний період є актуальними збудниками інфекцій, в тому числі внутрішньопікарних хвороб тим більше, що спектр дії антибактеріальних препаратів для лікування інфекцій, викликаних перерахованими вище мікроорганізмами, є незначним. Для прикладу, діаметр затрим-

ки росту чутливого штаму ентерококів навколо дисків з ванкамцином, який на сьогодні є єдиним препаратом, активним по відношенню до 100,0% штамів цих мікроорганізмів, дорівнює 19,0мм. Діаметр затримки росту чутливого штаму синьогнійної палички навколо диска із цефалоспорином – препаратом широкого вибору для лікування інфекцій, викликаних синьогнійною паличкою, дорівнює 18,0мм.

Отже, у розведенні 1:8 активність потенційного ЛЗ по відношенню до бактерій рівноцінна активності антибіотиків широкого спектру дії таких, як цефалоспорино 3-го покоління.

Приклад 6 Порівняльне визначення протимікробної дії лікувального засобу "Восурель" на штами збудників, що поширені у тваринництві та рибгоспах в Україні

Визначення антимікробних властивостей за-

собу Восурелю на штами збудників, що поширені у тваринництві та рибгоспах в Україні проводилось методом послідовних розведень у МПБ і ростом культури в термостаті, були одержані цікаві результати (табл 7)

Таблиця 7

Антимікробна активність та дія (ДЗЗр, мм) антиоксидантів на основі Водозолі - Восурелю

Антимікробна активність та дія (ДЗЗр, мм) антиоксидантів на основі Водозолі (третя доба спостереження) Тест-культура	Без використання антиоксидантів (Восурелю, Водозолі)	Восурель
<i>E. coli</i>	Тотальний ріст тест-культур в усіх контрольних дослідах	32,0
<i>Salm. Dublin</i>		23,0
<i>Klebsiella pn</i>		35,0
<i>Proteus vulg</i>		30,0
Штам "Березань"		27,0
<i>S. aureus</i>		35

Як із данні приведених вище, найбільш активним по відношенню до мікроорганізмів кишечника тварин та риб проявив себе Восурель. У порівнянні з контролем "Восурель" показав досить високу активність.

Приклад 7 Визначення прогрибкової дії лікувального засобу "Восурель"

Спинимось на методиці проведення вивчення специфічної активності з врахування дії на грибову флору. На основі приготованої суспензії тест-культури грибів, зокрема *Candida utilis* проводили зараження поживного середовища та розлив його у чашки Петрі.

Умови збереження тест-культур температура від 4 до 10 °C на м'ясо-пептонному агарі (МПА) при pH ~ 7,0 та пересіви кожні 30 діб. Засів тест-культур проводили при температурі, що не перевищувала 50 °C. Далі, готували робочі розчини Восурелю з дослідних зразків та зразка порівняння наносили у луночки добової тест-культури у поживному середовищі МПА в чашках Петрі та поміщали терміном на 48 годин у термостат при температурі від 36° до 38 °C. Враховували, що у твердому поживному середовищі антиоксидант може дифундувати як в його товщу так і по радіусу, чим буде пригнічувати

ріст тест-культури. Проводили вимір зони росту тест-культур у контролі (без внесення ЛЗ) та за умови, коли тест-культура оброблялась суспензією. Після цього був проведений розрахунок активності препарату у відсотках. Зазначимо, що зняття показників активності впливу Восурелю на тест-культуру проводили лише через 48 годин після перебування дослідного матеріалу у термостаті. Визначення розміру площ виконували методом прямого виміру. Кількість дослідних (тест-культури і зразків) та контрольних чашок Петрі (тільки тест-культура) на кожний із зразків складала по 10 штук.

Враховуючи, що площа, яку займала тест-культура при відсутності обробки її дослідними зразками, була приблизно однакова у порівнянні з величиною середніх значень навіть при обробці ЛЗ має місце статистичне доведений ефект впливу на *Candida utilis*. Отримані дослідні матеріали зведені у табл. 7.

Зазначимо, щодо грибів, то навіть у розведенні 1:16 Восурель проявив активність адекватну сучасним антибіотикам (табл. 5). Поглиблене вивчення впливу на гриби вказує на фунгостатичну дію Восурелю (табл. 8).

Таблиця 8

Вивчення фунгостатичних властивостей Восурелю за даними ДЗЗР (мм)

Вид грибів	Фунгостатична дія (ДЗЗр, мм)
<i>Fusarium macroceras</i>	30,0
<i>Fusarium culmorum</i>	25,0-30,0
<i>Cladophialophora bantiana</i>	25,0-30
<i>Aspergillus niger</i>	30,0
<i>Aspergillus flavus</i>	30,0-35,0
<i>Aspergillus fumigatus</i>	135,0-40,0
<i>Candida albicans</i>	30,0-33,0
<i>Microdermia</i>	30,0
<i>Trichophyton roseum</i>	25,0-30,0
<i>Trichophyton viridae</i>	25,0-28,0
<i>Microsporium canis</i>	30,0-35,0
<i>Penic. Citrinbm</i>	25,0
<i>Penicxhrysogenum</i>	25,0

За результатами послідовних розведень було встановлено, що мінімальна бактерицидна концентрація Восуреля по відношенню до *S. dublin* складала 18,0мкг/мл, а мінімальна бактерістатична концентрація складає 16,0мкг/мл. Аналогічно по відношенню до *E. coli* МБцК складала 20,0мкг/мл, МБсК відповідно 18,0мкг/мл.

Шляхом постановки двократної постановки біологічної проби на білих мишах з внутрішньочеревним введенням їм по 500,0 млн. мікробних клітин зазначених збудників і одночасного введення Восурелю було встановлено, що лікувальні дози нового лікувального засобу Восурель попереджають розвиток інфекційної хвороби у дослідних тварин.

Отримані результати досліджень властивостей Восурелю дають можливість перейти до науково-виробничих дослідів по застосуванню цього засобу.

Таким чином, проведені дослідження показали, що запропонований лікувальний засіб "Восурель" виявляє антимікробну та фунгістатичну і протизапальну дію та може бути використаний в клінічній практиці органів охорони здоров'я та ветеринарної медицини для ефективного лікування захворювань (в тому числі шкіри), що передаються статевим шляхом і їх інфекційних та запальних ускладнень.

Література

- 1 Pharmindex. Лекарственные препараты К, Морион – 1998 – 1038 с.
- 2 XI Державна фармакопея СРСР, том 1 та 2.
- 3 Патент України 21453 А від 16.12.1997 р.
- 4 Патент 26531 Україна від 11.10.1999 Бюл. № 6.
- 5 Шумейко В.М., Овруцький В.М. Пухлинна хвороба: напрями протидії інтоксикації. Монографія – К: ЕКОРЕГІО – ЕТХі, 2001 – 108 с.
- 6 Шумейко В.М. Екологічна токсикологія і тероризм. Біотоксиканти. Монографія – К: ЕКОРЕГІО – ЕТХі – 2002 – 140 с.
- 7 Екологічна токсикологія. Підручник / Овруцький В.М., Шумейко В.М., Бобкова Л.С. та ін. – К: Столиця, 1998 – 168 с.
- 8 Екологічна токсикологія. Підручник / Шумейко В.М., Глуховський І.Г., Овруцький В.М. та ін. – К: Столиця, 1998 – 203 с.
- 9 Экологическая фармакология. Учебник / Шумейко В.П., Овруцкий В.М., Чекман И.С., Горчакова Н.А., Шумейко Е.В. – К: Столиця, 1998 – 268 с.
- 10 Методичні рекомендації по представленню документації на лікарські засоби у Фармакологічний комітет МОЗ України під редакцією Кондратюка В.І. – К: МОЗ України – 1993 – 36с.
- 11 X Державна фармакопея СРСР, стаття 73, Вода дистильована, стор. 107-108.
- 12 Державної Фармакопеї України 2001 року.