

(12) МЕЖДУНАРОДНАЯ ЗАЯВКА, ОПУБЛИКОВАННАЯ В СООТВЕТСТВИИ С
ДОГОВОР О ПАТЕНТНОЙ КООПЕРАЦИИ (РСТ)

(19) Всемирная Организация
Интеллектуальной Собственности
Международное бюро



(10) Номер международной публикации
WO 2017/003403 A1

(43) Дата международной публикации
05 января 2017 (05.01.2017) **WIPO IPCT**

(51) Международная патентная классификация :
A 61K 31/14 (2006.01) A 61P 31/00 (2006.01)
A 61P 1/00 (2006.01)

(21) Номер международной заявки : RST/UA20 16/000079

(22) Дата международной подачи :
02 июля 2016 (02.07.2016)

(25) Язык подачи : Русский

(26) Язык публикации : Русский

(30) Данные о приоритете :
а 2015 06522 02 июля 2015 (02.07.2015) UA
а 2016 06665 17 июня 2016 (17.06.2016) UA

(72) Изобретатель ; и

(71) Заявитель : ДЕРКАЧ, Наталия Мыколаивна (DER-
KACH, Nataliia Mykolaivna) [UA/UA]; ул. Клинична,
д. 23-25, кв. 173, Киев, 03110, Kiev (UA).

(74) Агент : ЯКОБЧУК, Олена Мыколаивна (IAKOVCHUK, Olena Mykolaivna); ул. Курска, 12-6-
13, Киев, 03049, Kyiv (UA).

(81) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида национальной охраны) : AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Указанные государства (если не указано иначе, для
каждого вида региональной охраны) : ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,
TZ, UG, ZM, ZW), евразийский (AM, AZ, BY, KG, KZ,
RU, TJ, TM), европейский патент (AL, AT, BE, BG, CH,
CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE,
IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Опубликована :

— с отчётом о международном поиске (статья 21.3)

(54) Title: THE USE OF DECAMETHOXIN AS A PHARMACEUTICALLY ACTIVE SUBSTANCE FOR ORALLY TREATING
GASTROINTESTINAL DISEASES AND INTESTINAL INFECTIONS

(54) Название изобретения : ПРИМЕНЕНИЕ ДЕКАМЕТОКСИНА КАК ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ АКТИВНОГО
ВЕЩЕСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА И КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ
ПЕРОРАЛЬНО

(57) Abstract: The invention relates to the oral use of decamethoxin as a pharmaceutically active substance for treating
gastrointestinal diseases, as well as intestinal infections with microbial and viral etiology.

(57) Реферат: Изобретение относится к пероральному применению декаметоксина как фармацевтически
активного вещества для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также кишечных инфекций
микробной и вирусной этиологии.



WO 2017/003403 A1

ПРИМЕНЕНИЕ ДЕКАМЕТОКСИНА КАК ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИ АКТИВНОГО
ВЕЩЕСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДОЧНО -КИШЕЧНОГО
ТРАКТА И КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПЕРОРАЛЬНО

5 Область техники

Техническое решение относится к новому применению декаметоксина , а именно , к применению как фармацевтически активного вещества для лечения заболеваний желудочно -кишечного тракта , а также кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии .

10 Предшествующий уровень техники

Декаметоксин - химическое соединение [1,10-декаметилен - бис (N, N - диметилментоксикарбонилметил) аммония дихлорид], белый кристаллический порошок со слабым запахом , легко растворимый в воде , по химической структуре и антимикробному действию близкий к этонию . Имеет широкий спектр антимикробного действия на грампозитивные (стафилококк , стрептококк , пневмококк) , грамотрицательные (гонококк , менингококк) кокки , коринебактерии дифтерии , энтеробактерии , псевдомонады , простейшие , дерматофиты , дрожжеподобные грибы рода Candida, хламидии и вирусы . В процессе применения очень медленно образуются резистентные к декаметоксину варианты микроорганизмов . (http://compendium.com.ua/akt/68/61_0/decametoxinum).

В связи с тем , что декаметоксин является поверхностно -активным веществом , он изменяет проницаемость мембраны микробной клетки , приводя к деструкции и гибели микроорганизмов , что обуславливает его бактерицидное действие [Pashynskaya V.A., 2002; Shchetina V.N., 1990]. Антисептическое действие вещества основывается не только на бактерицидной , но и на бактериостатической активности . Бактериостатическое действие обусловлено следующими механизмами :

а) . Инактивация экзотоксинов микроорганизмов , что было продемонстрировано на возбудителях дифтерии , и что позволило в 1994 году рекомендовать декаметоксин для борьбы с эпидемией дифтерии [Ковальчук В.П., 2002];

б) Снижение адгезии патогенных микроорганизмов [Жорняк О.И., Стукан О.К., Сухляк В.В., 2010; Жорняк О.И., Стукан О.К., 2010]. Так , например , декаметоксин в концентрации 10 мкг/мл резко снижает адгезию коринебактерий , сальмонел , стафилококков и эшерихий . Снижение адгезии может достигаться или конкурентным связыванием с бактериальными адгезинами , или с поверхностными рецепторами клеток хозяина .

в) Разрушение белков фимбрий , жгутиков , расположенных на поверхности мембран (как известно , главная функция фимбрий - обеспечение адгезии грамотрицательных бактерий к клеткам хозяина , а жгутиков - передвижения микроорганизмов) .

г) Блокирование функции клеточной стенки (трансмембранный транспорт метаболитов , питание , дыхание) , угнетение клеточного дыхания , синтеза белка и деления клетки . Так , было показано , что декаметоксин

блокирует дыхательную цепь синегнойной палочки [Bievskiĭ ; AN, 1994]; что в присутствии декаметоксина значительно снижается активность дегидрогеназ у кишечной палочки , синегнойной палочки , *Micrococcus lysodeikticus* [Shchetina VN, 1990], дегидрогеназ стафилококка и *Candida albicans* [Мороз В.М, 2002], что свидетельствует об угнетении аэробного окисления глюкозы , сукцината и пирувата , в то время как активность аспартата и аланинаминотрансферазы , напротив , растет [Shchetina VN, 1990]; формирует комплексы с бактериальной ДНК [Sorokin VA, 1990; Kukhar V.P., 1989]. Нарушение клеточного метаболизма и деления обеспечивает значительный лечебный эффект без лизиса микробной клетки [Пасечников С П .; Фещенко Ю .1., 2002].

Декаметоксин применяется для местного лечения заболеваний полости рта (стоматиты , язвенно -некротический гингивит , дистрофично -зажигательная форма пародонтоза I - II степени в стадии обострения) , глотки , гортани (при гингивите , кандидозе слизистой оболочки полости рта , фарингите , ларингите , тонзилитах) ; для санации полости рта , глотки , носоглотки у носителей патогенного стафилококку , дифтерийной палочки , кандиды ; профилактика вторичной инфекции после хирургических вмешательств в полости рта , зеве , гортани ; местно также для лечения гнойничковых бактериальных и грибковых заболеваний кожи , микробной экземы , гнойно -зажигательных поражений мягких тканей (абсцессы , карбункулы , флегмоны , фурункулы , гнойные раны , панариции). Также применяется эндобронхиально при абсцессе легких , бронхоэктатических болезнях , кистозной гипоплазии легких , усложненной нагноением , хроническом бронхите в фазе обострения . Местно применяется при проктите и язвенном колите . В офтальмологии в виде глазных капель применяется при конъюнктивите и блефароконъюнктивите и для обработки контактных линз . Декаметоксин применяется также для стерилизации медицинских инструментов , приборов , шовного материала , резиновых перчаток и для химической стерилизации и консервирования костно -сухожильных трансплантатов [<http://uk.wikipedia.org/>].

Нифуроксазид - кишечный антисептик , производное 5-нитрофурана ; активный относительно большинства возбудителей кишечных инфекций (в том числе штаммов -мутантов , стойких к другим противомикробным средствам). Проявляет локальное антибактериальное действие в просвете кишки относительно некоторых видов грамположительных бактерий из семейства *Staphylococcus* и некоторых видов грамотрицательных бактерий из семейства *Enterobacteriaceae* : видов *Yersinia* spp., *Escherichia* spp., *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. Недостатком средства является то , что в отличие от декаметоксину он не проявляет антибактериального действия на бактерии видов *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa* [<http://compendium.com.ua/info/172054/gedeon-richter/nifuroksazid-rikhter>].

Фталазол , как и другие сульфаниламидные препараты , препятствует включению ПАБК в синтез фолиевой кислоты микробной клетки . Это

- приводит к нарушению образования фолиевой кислоты, которая участвует в синтезе пуриновых и пиримидиновых основ, от которых зависит рост и развитие микроорганизмов. Этот эффект развивается постепенно, потому у микробной клетке есть некоторые запасы ПАБК. Поэтому фталазол нужно
- 5 вводить в достаточно высоких дозах. В ином случае могут образовываться стойкие штаммы возбудителей, которые не поддаются в дальнейшем действию сульфаниламидных препаратов. Имеет противопоказание: повышена индивидуальная чувствительность до препаратов сульфаниламидного ряда; болезни системы крови; диффузный токсичный
- 10 зоб; хроническая почечная недостаточность; гломерулонефрит; острый гепатит; кишечная непроходимость. И также имеет ряд косвенных действий со стороны: нервной системы, сердечно-сосудистой системы, системы крови, органов ЖКТ, дыхательной системы, мочевыделительной системы, аллергические и токсико-аллергические реакции
- 15 [http://www.rlsnet.ru/tnjindex_id_5378.htm].
- Фуразолидон - антибактериальное лекарственное средство группы нитрофуранов, синтетическое производное 5-нитрофурфурола, что владеет выраженной противомикробной активностью относительно грамотрицательных аэробных микроорганизмов, меньшей мерой
- 20 чувствительные к действию препарата грамположительные аэробные микроорганизмы, некоторые самые простые и грибы (в частности грибы рода *Candida*). Фармакологическое действие препарата непосредственно зависит от дозы, при применении невысоких доз фуразолидон предоставляет бактериостатический эффект, при увеличении дозы отмечается выраженная бактерицидная активность. Недостатками этого средства является то, что его
- 25 нельзя принимать долгосрочно, потому что при длительном применении препарата возможное развитие гемолитической анемии и метгемоглобинемии (преимущественно у новорожденных и грудных детей), а также одышки, кашля, гипертермии и нейротоксичных реакций. При применении повышенных доз препарата у пациентов возможное развитие
- 30 токсичных поражений печени, в том числе острого токсичного гепатита. Кроме того, возможное развитие полиневрита (нейротоксическое действие) и гематотоксичных действия фуразолидона
- [<http://www.piluli.kharkov.ua/drugs/drug/furazolidonum/>].
- Интестопан - препарат имеет антибактериальную и антипротозойную
- 35 (подавляет жизнедеятельность самых простых организмов) активностью и близкий за механизмом действия к хлорхинальдолу. Недостатком этого средства является наличие брома в молекуле действующего вещества, которое может привести к опасным косвенным действиям на организм
- [<http://www.piluli.kharkov.ua/drugs/drug/2211/>].
- 40 Невзирая на достаточно широкий спектр действия указанных в уровне техники средств для лечения кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии, а именно: сальмонеллез, дизентерия, дифтерия, энтерит, гастрит, гастроэнтерит, энтероколит, гастроэнтероколит, бруцеллез, проктит, сигмоидит, колит и проч., существуют некоторые заболевания, которые
- 45 лечатся лишь хирургическим путем, например, инфекционный колпроктит.

Инфекционный колoproктит - это воспаление тканей , которые окружают прямую кишку .

По различным причинам , а иногда и без имеющейся причины , в анальном канале образуется микроотверстие , через которое инфекция из просвета прямой кишки проникает в околопрямокишечную клетчатку .
Развивается воспаление , формируется гнойник , который поневоле раскрывается наружу или в просвет прямой кишки .

После обычного вскрытия гнойника при остром инфекционном колoproктите , без ликвидации его внутреннего отверстия , в 80-98% больных в дальнейшем формируются свищи прямой кишки (хронический инфекционный колoproктит) .

Острый инфекционный колoproктит обычно начинается остро , клиническая картина достаточно ярка : появляется ухудшение общего положения , слабость , недомогание , повышение температуры тела , озноб , боли в области заднего прохода и промежности . В зоне заднего прохода образуется небольшая болезненная припухлость , из которой позже развивается гнойник , который может находиться как непосредственно под кожей промежности , так и глубоко между мышцами промежности и ягодиц .

Если своевременно не проводят адекватное лечение , воспаление распространяется на смежные клетчаточные пространства , происходит прорыв гнойника в прямую кишку , или наружу через кожу промежности . Боли стихают , снижается температура тела , улучшается общее положение больного . Но прорыв гнойника не приводит к полному выздоровлению , болезнь продолжает прогрессировать с формированием новых свищей прямой кишки (хронический инфекционный колoproктит) .

Лечение острого инфекционного колoproктита - только хирургическое . Все без исключения пациенты нуждаются в экстренной хирургической помощи .

Основные принципы операции :
1) вскрытие и дренирование гнойника ;
2) ликвидация его внутреннего отверстия , через которое полость гнойника сообщается с прямой кишкой .

Операция проводится под наркозом .

После операции проводят перевязки , назначают антибиотики , витамины , средства , которые повышают иммунитет .

Вскрытие гнойника не является радикальной операцией : после нее , как правило , возникают повторные нагноения (формируется хронический инфекционный колoproктит) . Причина такого явления в сохранении зажимательного канала (свища) между прямой кишкой и окружающими тканями . При этом происходит повторное заражение кишечной флорой через внутреннее отверстие свища , который постоянно поддерживает воспалительный процесс .

Для полного лечения необходима повторная операция - радикальная , потому приводит к полному выздоровлению . В результате такой операции связь между полостью кишки и гнойника ликвидируется .

Длительное существование заживительного очага в промежности ведет к появлению раздражительности, бессонницы, головной боли, снижается работоспособность, возможное развитие невралгии, импотенции. Промедление ухудшает не только общее положение больного, но и прогноз, поскольку повышается вероятность распространения гнойного процесса по клетчаточным пространствам таза, разрушения мышечных структур сфинктера, тазового дна и стенки прямой кишки.

На сегодняшний день единственный метод лечения больных со свищами прямой кишки - радикальная операция, когда кроме вскрытия гнойника ликвидируется внутреннее отверстие, которое стало собственно источником этого заболевания [<http://www.doctor-maximov.ru/paraproktit/>].

Как отмечено выше, лечение острого инфекционного колпроктита возможно только хирургическим путем, во время операции осуществляется лишь механическое устранение гнойника и источника воспаления, выполняется дренирование гноя антисептическими средствами. Но это приводит лишь к частичному выздоровлению пациента, потому что микробы, которые находятся в просвете отделов ЖКТ могут легко попасть к уже поврежденному участку, который лишь начинает заживать, и это может привести к возобновлению воспалительного процесса и перехода острой формы заболевания к хронической.

Именно для того, чтобы избежать попадания бактерий из других отделов ЖКТ является целесообразным использование средств, которые имеют антимикробные свойства не только как местного средства, но и как перорального средства, которое будет уничтожать патогенную микрофлору в просвете всех отделов ЖКТ, которое может спровоцировать возобновление заболевания. Преимуществом перорального применения фармацевтически активного вещества является то, что его действие распространяется на все участки ЖКТ, потому что окутывает все слизистые оболочки при прохождении вещества от ротовой полости к прямой кишке, а не какую-то конкретную часть, как при использовании местно действующих средств. Следует отметить также то, что при использовании средств местного действия человек нуждается в помощи специалиста или специальных средствах для проведения манипуляции, что, безусловно, усложняет лечение заболевания. В этом случае пероральное применение имеет очень существенное преимущество, потому что не нуждается в посторонней помощи и может осуществляться больным самостоятельно и даже в домашних условиях.

Анализ публикаций на тему применения декаметоксина показал, что он никогда не использовался, как средство для перорального введения. Известные методы использования данного антисептика ограничивались лишь на недолгосрочном действии декаметоксина на поверхности кожи или слизистых оболочек. Эти методы включают: ингаляции, полоскания, санацию, дренаж растворами декаметоксина, примочки, нанесения мазей, гелей, паст, которые включают декаметоксин как один из компонентов.

Причиной того, что декаметоксин не использовался в качестве

пероральное лекарственное средство может быть отсутствие информации об острой токсичности декаметоксина, хроническую и специфическую токсичность при длительном энтеральном введении декаметоксина, возможное местнораздражающее и аллергизирующее действие, его всасываемость и влияние на активность холинэстеразы крови, также является неопределенной эффективностью декаметоксина как антимикробного средства *in vivo*, также основной причиной неиспользования декаметоксина - это принадлежность его к ПАВАм. Таким образом есть стойкое убеждение относительно использования декаметоксина исключительно, как ПАВ, то есть для обработки поверхностей, не для внутреннего приложения. Еще одной причиной неиспользования декаметоксина как внутреннего средства есть его очень горький и неприятный вкус.

Раскрытие изобретения

Задачей технического решения является совершенствование лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кишечных инфекций, в частности, микробной и вирусной этиологии. Также задачей этого технического решения является расширение ассортимента фармацевтически активных веществ для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кишечных инфекций. Еще одной задачей представленного технического решения является расширение ассортимента фармацевтически активных веществ для лечения инфекционного колoproктита без хирургического вмешательства.

Задача решается применением декаметоксина как фармацевтически активного вещества для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кишечных инфекций перорально.

Кроме того, декаметоксин может быть применено для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии.

Кроме того, декаметоксин может быть применено для лечения инфекционного колoproктита.

Кроме того, декаметоксин может быть применено в виде водного раствора с концентрацией декаметоксина 0,02-0,2 массовые %.

Кроме того, декаметоксин может быть применено в составе фармацевтической композиции.

Кроме того, декаметоксин может быть применено в составе фармацевтической композиции жидкого типа.

Авторами технического решения было предложено новое применение декаметоксину - применение для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и кишечных инфекций, исходя из проявленного им антимикробного действия на широкий спектр микробов, которые вызывают заболевание желудочно-кишечного тракта. Для этого были проведенные исследования относительно его токсичности при пероральном приложении, и относительно изучения его действия на ряд микроорганизмов, что вызывают заболевание желудочно-кишечного тракта. В результате были изучены новые свойства декаметоксина и его влияние на болезни, которые раньше не подлежали медикаментозному лечению, и доказанная возможность его использования

перорально благодаря отсутствию токсичного действия его на организм .

Краткое описание чертежей

Для определения эффективности и безопасности использования декаметоксина перорально для лечения заболеваний желудочно -кишечного

5 тракта были проведены исследования , результаты которых предоставлены дальше в виде схемы , графиков и таблиц . Схемы и графики изображены на фигурах 1-4.

Фиг. 1 - схема способа определения антихолинэстеразной активности ингибиторов за неизрасходованным ацетилхолином с использованием

10 индикаторной реакции соединенного окисляющего п- феноetidина (хромоген) пероксидом водорода , в котором использованы в качестве индикаторной реакции на ацетилхолин окисления п-фенетидину перуксусной кислотой , образованной в начальной реакции пергидролиза (с избытком пероксида водорода) , что позволяет контролировать активность фермента

15 холинэстеразы в присутствии экзогенного ингибитора - декаметоксина (Ингибитор) .

Фиг. 2 - график с кинетическими кривыми соединенного окисления п- феноetidину пероксидом водорода в присутствии ацетилхолина (дальше сокращенно АХ) - это контрольная проба , АХ + холинэстеразы (дальше сокращенно ХЭ) - это холостая проба , смеси (ХЕ + декаметоксин) + АХ - это

20 калибровочная проба , смеси (ХЕ + перфузат) + АХ - это испытуемая проба .

Фиг. 3 - график с кинетическими кривыми соединенного окисления п- феноetidину пероксидом водорода в присутствии АХ - это контрольная проба , смеси АХ и эндогенной ХЭ плазмы крови кролей контрольной группы

25 к, через 30 и 60 хв после введения 0,9%% раствора натрия хлорида .

Фиг. 4 - график с кинетическими кривыми соединенного окисления п- феноetidину пероксидом водорода в присутствии АХ - это контрольная проба , смеси АХ и эндогенной ХЭ плазмы крови кролей опытной группы к, через 30 и 60 хв после введения раствора декаметоксина .

30 Вариант (варианты) осуществления изобретения

Для определения безопасности использования декаметоксина перорально для лечения заболеваний желудочно -кишечного тракта (дальше сокращен ЖКТ) , авторами были проведены следующие исследования :

1. Исследование способности декаметоксина к всасыванию из

35 желудочно -кишечного тракта (резорбтивное действие) путем определения его концентрации в перфузате кишечника in situ и влиянию на активность ХЕ крови при оральном введении .

Опыты выполняли на 5 белых рандомизированных крысах -самцах и на 8 кроликах породы Шиншилла .

40 Изолированный участок кишки перфузировали раствором декаметоксина концентрацией 0,02-0,2%%, в течение 30 мин . В перфузате определяли содержимое декаметоксина по реакции ингибирования экзогенной ХЭ . Сравнивали степень ингибирования реакции в присутствии перфузата и раствора декаметоксина с концентрацией 0,02 массовые %%, что позволило

45 определить содержание последнего в перфузате . Снижение концентрации

декаметоксина в перфузате по сравнению с таким в исходном растворе указывает на всасывание этого соединения в кишечнике крыс.

В экспериментальной группе кролей способность раствора декаметоксина всасываться в кровь определяли за влиянием на активность ХЭ через 30 и 60 минут после однократного перорального введения в дозе 6 мл/кг, который отвечает 1,2 мг/кг декаметоксина. Пробы крови брали к, через 30 и 60 минут после введения раствора декаметоксина. Животным контрольной группы вместо раствора декаметоксина вводили 0,9%% раствор натрия хлорида.

В качестве индикаторной реакции на ацетилхолин использовали реакцию окисления п-фенетидина перуксусной кислотой ($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{H}$), образованной *in situ* во вспомогательной реакции пергидролиза (с избытком пероксида водорода) ацетилхолина - субстрата ферментативной реакции. Схема этого метода представлена на фиг. 1. Использован раствор ХЭ 200 АО/мл (ацилгидролаза сыворотки крови коня К.Ф.3.1.1.8 НПО "Биомед", Россия VI кл, флакон по 80 мг с активностью 25 АО/мг) и раствор субстрата - ацетилхолин. Определения проводили спектрофотометрично при 358 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Скорость данной реакции характеризует тангенс угла наклона прямолинейного начального участка кинетической кривой после индукционного периода в координатах "оптическая плотность продукта окисления п-фенетидина - час".

Активность ХЭ в крови кроликов определяли описанным выше энзимокинетическим методом. Снижение активности ХЭ через 30 и 60 минут после введения животным раствора декаметоксина в сравнении с исходной и такой у животных контрольной группы служило маркером всасывания декаметоксина в желудочно-кишечном тракте.

Результаты исследования представлены на фигурах 2-4 и в таблицах 1-3. Значение тангенса угла наклона испытуемых проб и результаты количественного определения содержимого декаметоксина в перфузате кишечника крыс представлены в таблице 1. Разница значений тангенсов угла наклона кривой контрольной и холостой пробы - это диапазон, который отображает относительное изменение активности ХЭ от условных 100%% (холостая проба) до 0%% (контрольная проба).

Содержание декаметоксина в растворе представляет 0,200 мг/мл, в перфузате - $0,195 \pm 0,003$ мг/мл. Статистически значимые отличия между содержанием декаметоксина в исходном растворе и перфузате кишечника крыс отсутствуют. Это свидетельствует о том, что декаметоксин не всасывается в кишечнике.

В таблице 2 приведены полученные в опыте значения тангенсов угла наклона кинетических кривых проб и изменения тангенса угла наклона кинетической кривой, которая отвечает изменению активности холинэстеразы на 1%, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина. Исходная активность ХЭ, определенная в плазме крови кролей к введению раствора декаметоксина, принята за 100%.

Таблица 1

Изучение содержания декаметоксина в перфузате кишечника крыс

5	Исследуемые вещества	№ п/п животного	tgα, тангенс угла уклона кинетической кривой	Содержание декаметоксина в пробе		Среднее значение содержания, мг/мл
				%	мг/мл	
10	Аликвота перфузата кишечника крыс	1	0,0215	0,019	0,185	0,195±0,003
		2	0,0232	0,020	0,199	
		3	0,0229	0,020	0,197	
		4	0,0234	0,020	0,201	
		5	0,0225	0,019	0,193	
15	Раствор декаметоксина	–	0,0233	0,020	0,200	0,200

Таблица 2

20 Значение тангенсов угла наклона кинетических кривых проб и изменения тангенса угла наклона кинетической кривой, которая отвечает изменению активности холинэстеразы на 1 %

25	№ п/п	Значение tgα, тангенс угла наклона кинетической кривой				Δtg 1%
		Контрольная проба, tgα _к	Исходное состояние (холостая проба), tgα ₀	Через 30 мин. после введения раствора декаметоксина, tgα ₃₀	Через 60 мин. после введения раствора декаметоксина, tgα ₆₀	
30		0,0677	–	–	–	–
Контрольная группа (животные, которые получали 0,9% раствор натрия хлорида)						
35	1	–	0,0305	0,0274	0,0280	0,000372
	2	–	0,0307	0,0278	0,0303	0,000370
	3	–	0,0305	0,0281	0,0317	0,000372
	4	–	0,0306	0,0273	0,0301	0,000371
Исследуемая группа (животные, которые получали 0,02% раствор декаметоксина)						
40	1	–	0,0284	0,0273	0,0297	0,000393
	2	–	0,0313	0,0237	0,0299	0,000364
	3	–	0,0316	0,0313	0,0276	0,000361
	4	–	0,0273	0,0237	0,0316	0,000404

Результаты определения активности ХЭ приведены в таблице 3.

Таблица 3

Изменение активности холинэстеразы плазмы кроликов
в эксперименте под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина

10	Условия опыта, растворы	№ п/п	Активность холинэстеразы плазмы кроликов до и после введения раствора декаметоксина, %			Изменение активности холинэстеразы относительно исходного состояния после введения раствора декаметоксина, %	
			исходная	Через 30 мин	Через 60 мин	Через 30 мин	Через 60 мин
15	0,9% раствор натрия хлорида	1	100	108,3	106,7	8,33	6,72
		2	100	107,8	101,1	7,84	1,08
		3	100	106,5	96,8	6,45	-3,23
		4	100	108,9	101,3	8,89	1,35
		Среднее	100	107,8±0,5	101,5±2,0	7,88±1,48	1,48±2,04
20	Раствор декаметок- сина	1	100	102,8	96,7	2,80	-3,31
		2	100	120,9	103,8	20,88	3,85
		3	100	100,8	111,1	0,83	11,08
		4	100	108,9	89,4	8,91	-0,64
		Среднее	100	108,4±4,5	100,2±4,7	8,36±4,52	0,24±4,67

Статистически значимых отличий активности фермента плазмы кроликов после введения раствора декаметоксина между контрольной и опытной группами не выявлено. Это свидетельствует об отсутствии всасывания декаметоксина из желудочно-кишечного тракта кроликов, который подтверждает вышеприведенные данные об отсутствии его всасывания из тонкой кишки крыс. Результаты исследований относительно влияния раствора декаметоксина с концентрацией 0,2 массовых % имели приблизительно такие же результаты, как и для раствора декаметоксина с концентрацией 0,02 массовых %, потому для экономии эти данные не приведены.

Исходя из этого, можно сделать вывод, что применение декаметоксина перорально является безопасным - потому что он практически не всасывается в ЖКТ, действует лишь в просвете кишечника и не влияет на жизнедеятельность других систем органов.

Все исследования проводились на основе раствора декаметоксина в воде, для представления в материалах заявки выбраны концентрации с вариацией 0,02-0,2 массовых %, однако, для лечения разных степеней

болезней ЖКТ и кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии перорально, могут быть использованы другие концентрации, потому эти примеры приведены лишь для иллюстрации результатов исследований.

2. Исследование параметров острой токсичности раствора декаметоксина

Изучение острой токсичности раствора декаметоксина при пероральном введении проводили также на беспородных крысах обоего пола (n = 60) и беспородных мышах обоего пола (n = 72) с определением полулегальной дозы (ЛД₅₀). Пероральное введение крысам максимально допустимого объема (5 мл) раствора декаметоксина подтвердило отсутствие интоксикации в животных и невозможность установления ЛД₅₀. Определение ЛД₅₀ раствора декаметоксина на крысах (результаты исследования предоставлены в таблице 4) показало, что величина ЛД₅₀ раствора декаметоксина находится в интервале доз 500-750 мг/кг для крыс, и после дополнительного исследования составила 586 мг/кг при внутрижелудочном введении. В соответствии с общепринятой классификацией, раствор декаметоксина при однократном внутрижелудочном введении крысам относится к IV класса малотоксичных веществ (500 мг / кг < ЛД₅₀ < 5000 мг / кг).

20

Таблица 4

Заключительное исследование острой токсичности раствора декаметоксина на крысах при внутрижелудочном введении

25

№ п/п	Доза, мг/кг	Количество животных	Наблюдаемый эффект, Погибшие животные / количество животных
1	398	3	0/3
2	500	3	1/3
3	750	3	2/3
4	1000	3	2/3
5	1580	3	3/3

30

35

Определение влияния на функциональное состояние организма однократного внутрижелудочного введения токсичной дозы раствора декаметоксина, которая не вызывает гибель (400 мг/кг), проводили на 12 животных, после чего за животными наблюдали в течение 14 дней.

40

Оценивали общее положение животных, летальность, динамику массы тела, а по окончании опыта после выведения животных из эксперимента проводили макроскопическую оценку состояния внутренних органов и систем и рассчитывали коэффициенты массы внутренних органов, гистологическое исследование внутренних органов на 2 и 14 сутки после введения декаметоксина. Анализируя полученные макро- и микроскопические данные, можно сделать вывод о том, что однократное внутрижелудочное введение

45

раствора декаметоксина в дозе 400 мг/кг приводит в ранние сроки наблюдения (через 2 дни) к развитию признаков раздражения слизистой оболочки желудка, реактивным сдвигом в тимусе, некоторому напряжению адренокортикоцитов пучковой зоны коры и хромафинных клеток мозгового слоя надпочечников, незначительного снижения защитных возможностей слизистой оболочки тонкой кишки. Эти изменения носят временный характер и через 14 дни после внутрижелудочного введения раствора декаметоксина в дозе 400 мг/кг морфологические нарушения в перечисленных выше тканевых структурах не регистрируются. Со стороны других органов и систем видимых изменений в ни один из сроков исследования не выявлено. Результаты исследования представлены в таблицах 5-6.

Таблица 5

Динамика массы тела крыс обоего пола (г) после одноразового внутрижелудочного введения токсичной дозы раствора декаметоксина

Условия опыта	Исходные данные	3 дня	7 дней	14 дней
Самцы				
Интактный контроль	188±3	190±5	194±4	202±2
Декаметоксин, 400 мг/кг	190±4	192±4	196±4	204±3
Самки				
Интактный контроль	189±5	193±4	196±4	204±5
Декаметоксин, 400 мг/кг	191±6	195±6	198±5	205±5

Пероральное введение крысам максимально допустимого объема декаметоксина (0,02 массовых % раствора) подтвердило отсутствие интоксикации у животных. ЛД₅₀ раствора декаметоксина (586 мг/кг) позволяет отнести декаметоксин к IV класса малотоксичных соединений (500 мг/кг < ЛД₅₀ < 5000 мг/кг). Выявленные морфологические изменения при введении раствора декаметоксина в дозе 400 мг/кг (максимальная токсичная доза, которая не вызывает гибель животных) носят временный характер и через 14 дни не регистрируются. Исследование относительно влияния раствора декаметоксина с концентрацией 0,2 массовых % показали его ЛД₅₀ в 734 мг/кг - что позволяет отнести декаметоксин к IV класса малотоксичных соединений (500 мг/кг < ЛД₅₀ < 5000 мг/кг), кроме того выявлены морфологические изменения при введении раствора декаметоксина в дозе 400 мг/кг (максимальная токсичная доза, которая не вызывает гибель животных) носят временный характер и через 14 дни не регистрируются.

Полученные данные свидетельствуют о том, что декаметоксин в виде 0,02 массовых % раствора и 0,2 массовых % раствора при пероральном приложении является относительно безопасным.

Таблица 6

Коэффициенты массы внутренних органов крыс (г/100 г) обоего пола после одноразового внутрижелудочного введения токсичной дозы раствора декаметоксина

5	Органы		Самцы		Самки	
			Интактный контроль	Декаметоксин, 400 мг/кг	Интактный контроль	Декаметоксин, 400 мг/кг
	Печень		2,99±0,09	3,04±0,09	3,13±0,13	2,99±0,14
10	Почки	правая	0,36±0,01	0,37±0,01	0,38±0,01	0,38±0,01
		левая	0,35±0,01	0,36±0,01	0,38±0,01	0,38±0,01
	Сердце		0,39±0,01	0,40±0,01	0,39±0,01	0,36±0,02
	Легкие		0,79±0,01	0,79±0,01	0,79±0,00	0,78±0,01
15	Селезенка		0,59±0,01	0,58±0,01	0,59±0,00	0,59±0,00
	Надпочечники		0,041±0,002	0,044±0,001	0,044±0,001	0,043±0,001
	Тимус		0,078±0,003	0,083±0,001	0,084±0,001	0,083±0,001
20	Семенники	Правый	0,58±0,01	0,57±0,01	—	—
		Левый	0,57±0,01	0,58±0,01	—	—

Были проведенные исследования возможных проявлений местнораздражающей, алергизирующего действия декаметоксина. Изучения местнораздражающего действия при субконъюнктивном введении проводили на кролях породы Шиншилла (n = 9) и при пероральном введении - на беспородных крысах обоего пола (n = 48) со следующим патоморфологическим исследованием слизистой оболочки желудка и кишечника. Растворы декаметоксина 0,02 массовых % и 0,2 массовых %, в объеме 0,01 мл вводили в конъюнктивный мешок правого глаза кролика. Левый глаз служил контролем, у него в аналогичном объеме вводили дистиллированную воду. Результаты исследований представлены в таблице 7 и таблице 8 (примечание: 0 - реакция к животным отсутствует; n = 3 - это количество животных).

Таким образом, было определено, что 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы декаметоксина при местном применении в терапевтической дозе не дают местнораздражающего действия на слизистые оболочки лабораторных животных.

Исследования местнораздражающего действия декаметоксина (0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы) при пероральном введении изучали в рамках исследования хронической токсичности и проводили на крысах, которым внутрижелудочный вводили декаметоксин в дозах 3 мл/кг и 30 мл/кг в течение 28 суток ежедневно. Ежедневно оценивали летальность, поведение, активность, потребление еды и воды.

Таблица 7

Результаты изучения влияния раствора декаметоксина на
Состояние глаз у кроликов при местном применении, n = 3

Условия эксперимента	Количество, мл/животное	Роговая оболочка глаза										Радужная оболочка глаза				
		Замутнения (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Площадь повреждения роговой оболочки (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Оценка (количество животных с реакцией)/общее количество животных				
		15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час
Декаметоксин 0,02% раствор (правый глаз)	0,01	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Дистиллированная вода (левый глаз)	0,01	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

Продолжение таблицы 7

Условия эксперимента	Слизистая оболочка глаза															Общее количество баллов для каждого животного
	Покраснение (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Хемоз (отек) (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Выделения (количество животных с реакцией)/общее количество животных					
	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	
Декаметоксин, 0,02% раствор (правый глаз)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0
Дистиллированная вода (левый глаз)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0

Таблица 8

Результаты изучения влияния раствора декаметоксина на состояние
глаз у кроликов при местном приложении, n = 3

Условия эксперимента	Количество, мл/животное	Роговая оболочка глаза										Радужная оболочка глаза				
		Замутнения (количество животных с реакцией)/ общее количество животных					Площадь повреждения роговой оболочки (количество животных с реакцией)/ общее количество животных					Оценка (количество животных с реакцией)/ общее количество животных				
		15 мин	1 час	24 г час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час
Декаметоксин 0,2% раствор (правый глаз)	0,01	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Дистиллированная вода (левый глаз)	0,01	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

Продолжение таблицы 8

Условия эксперимента	Слизистая оболочка глаза															Общее количество баллов для каждого животного
	Покраснение (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Хемоз (отек) (количество животных с реакцией)/общее количество животных					Выделения (количество животных с реакцией)/общее количество животных					
	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	15 мин	1 час	24 час	48 час	72 час	
Декаметоксин, 0,2% раствор (правый глаз)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0
Дистиллированная вода (левый глаз)	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0

Морфологические исследования пищевода, желудка, тонкой, толстой и прямой кишок через 28 дней показали отсутствие любых изменений со стороны ЖКТ, который подтверждает отсутствие раздражающего действия 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов декаметоксина на перечисленные органы крыс.

Вывод. Таким образом, препарат в виде 0,02-0,2 массовые %% раствора декаметоксина при длительном (28 дней) пероральном введении не создает местнораздражающего действия на слизистые оболочки ЖКТ лабораторных животных в терапевтической дозе.

3. Изучения аллергизирующего действия декаметоксина проводили при пероральном пути введения на морских свинках ($n = 60$) и при парентеральном пути введения на мышах ($n = 40$) с использованием тестов "активная кожная анафилаксия", "конъюнктивная проба", "гиперчувствительность замедленного типа".

а) Испытание декаметоксина на модели активной кожной анафилаксии (АША) на морских свинках ($n = 30$) показало отсутствие реакции (смотреть таблицу 9). Модель АША является реакцией капилляров кожи на месте внутрикожного введения антигена (в данном случае 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов декаметоксина активно сенсibilизированным морским свинкам. Внутривенное введение раствора красителя, который легко разносится кровью по всему организму, и за счет выхода из кровяного русла в месте воспаления ткани (внутрикожного введения антигена) образует синее пятно. Отсутствие реакции показало, что декаметоксин не является потенциальным аллергеном, поскольку при пероральном введении в дозе 3 мл/кг и 30 мл/кг не вызывает сенсibilизации организма и развития анафилактической реакции немедленного типа.

Таблица 9

Определение аллергизирующего действия 0,2 массовых % раствора декаметоксина, на модели "Активная кожная анафилаксия", Me (Q25; Q75)

Группы животных	Доза, мл/кг	n	Площадь окрашенного пятна, мм ²	Критерий Краскела-Уолиса
контроль	—	10	7,1(0; 12,6)	p=0,15
0,2% раствор декаметоксина	3	10	0 (0; 0)	
0,2% раствор декаметоксина	30	10	7,1 (7,1; 19,6)	

б) Изучение аллергизирующего действия 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов декаметоксина в тесте "Конъюнктивная проба" на морских свинках ($n = 30$) показало отсутствие аллергической зажигательной реакции слизистой оболочки глаза (смотреть таблицу 10). Выразительность

офтальморекции зависит от способности аллергена (исследуемого препарата) сенсibilизировать организм и в месте введения завершающей дозы резко увеличивать проницаемость стенок капиллярных сосудов и вызывать, таким образом, отек тканей в месте введения антигена.

- 5 Сенсibilизированным перорально животным на 10-й, 20-й и на 30-й день проводили тестирование: вводили под верхнее веко животных 1 каплю исследуемого препарата, в концентрации, которая не вызывала у интактных животных местнораздражающего действия. Второй глаз служил контролем. Через 15 минут, 1 час (реакция гиперчувствительности немедленного типа) и 24 часа (гиперчувствительность замедленного типа) проводили оценку выраженности офтальморекции по бальной шкале (от 0 до 3 - от отсутствия реакции к покраснению всей конъюнктивы). Как свидетельствуют данные таблицы 10, у всех животных опытных групп наблюдали отсутствие аллергической зажигательной реакции слизистой оболочки глаза. Растворы декаметоксина 0,02 массовые % и 0,2 массовых % в дозах 3 и 30 мл/кг не вызывает сенсibilизацию организма и развитие аллергической реакции мгновенного и замедленного типа в тесте "Конъюнктивная проба"

Таблица 10

- 20 Определение алергизирующего действия 0,2 массовых % раствора декаметоксина в тесте "Конъюнктивная проба", Ме (Q25; Q75)

Группы животных	Доза, мл/кг	n	Выраженность офтальморекции, мм			Выраженность офтальморекции, мм			Выраженность офтальморекции, мм		
			10 сутки			20 сутки			30 сутки		
			15 мин	1 ч	24 ч	15 мин	1 ч	24 ч	15 мин	1 ч	24 ч
Конт-роль	—	10	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)
0,2% раствор декаметоксина	3	10	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)
0,2% раствор декаметоксина	30	10	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;0)

- в) Изучение алергизирующего действия 0,02 массовые % и 0,2 массовых % растворы декаметоксина в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГСТ) на мышах (n = 40) в дозе 1,3 мг/кг и 13 мг/кг, не сенсibilизирует организм животных и не вызывает развитие аллергического воспаления, которое протекает по замедленному типу гиперчувствительности. Данная реакция позволяет выявить способность исследуемого вещества сенсibilизировать лимфоциты-эффекторы, что приводит к выбросам из них медиаторов, под действием которых происходит инфильтрация ткани

клеточными элементами и локальный отек. Сенсибилизированным животным через 5 сутки в подушечку задней правой лапы (опытной) вводили 40 мкл суспензии исследуемой раствора декаметоксина в растворе Хенкса. В подушечку левой лапы (контрольной) - эквивалентный объем раствора Хенкса. Через 24 часа определяли местную зажигательную реакцию, которую оценивали за разницей массы опытной (Рд) и контрольной (Рк) лап. Количественную оценку реакции излагали индексом реакции (ИР) (смотреть таблицу 11).

10

Таблица 11

Изучение алергизирующих свойств 0,2 массовых % раствора декаметоксина в реакции ГСТ, Ме (Q25;Q75)

15

20

25

Группы животных	Сенсибилизирующая доза, мг/кг	Завершающая доза, мг/кг	n	Индекс реакции (ИР), % критерий Манна-Уитни
Не сенсибилизированный контроль	—	1,3	9	5,0(3,8;9,7)
Декаметоксин	1,3	1,3	8	2,9(1,7;7,0) p=0,29
Не сенсибилизированный контроль	—	13	7	33,1(9,0;38,6)
Декаметоксин	13	13	10	34,8(29,6;45,0) p=0,21

30

Полученные данные свидетельствуют о том, что введение раствора декаметоксина в дозе 1,3 мг/кг и 13 мг/кг, не сенсибилизирует организм животных и не вызывает развитие аллергического воспаления, которое протекает по замедленному типу гиперчувствительности. Таким образом, в реакции ГСТ на мышах установлено, что раствор декаметоксина при парентеральном введении не проявляет алергизирующих свойств.

35

Следовательно декаметоксин в виде 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы для перорального приложения не делают местнораздражающего действия на слизистые оболочки лабораторных животных при местном и пероральном приложении в терапевтической дозе. Анализ результатов изучения потенциального алергизирующего действия декаметоксина в виде 0,02%- 0,2 массовых %% растворов для орального приложения свидетельствует об отсутствии алергизирующих свойств.

40

4. Были проведенные исследования параметров хронической и специфичной токсичности декаметоксина за продолжительного энтерального введения, в том числе влияние на иммунную систему, мутагенные, гонадо-, эмбриотоксичные и тератогенные свойства.

45

Изучение хронической токсичности при пероральном введении в дозах 3 мл/кг (0,6 мг/кг по декаметоксину, условно -терапевтическая доза) и в 10

разы ее превышает - 30 мл/кг (6 мг/кг по декаметоксину) в течение 1 месяца проводили на беспородных крысах обоего пола (п = 36) с исследованием внешних интегральных показателей , клинико -лабораторных показателей (гематологических , биохимии крови , свертывания крови , выделительной функции почек , патоморфологических исследований). Результаты исследований представлены в таблицах 12-28.

Таблица 12

Летальные результаты у лабораторных крыс после внутрижелудочного введения 0,2 массовых % раствора декаметоксина при длительном наблюдении

№ группы	Экспериментальные группы	Доза, мл/кг	Вызванный эффект, погибшие животные / количество животных	
			самцы	самки
1	Контроль (растворитель)	30	0/8	0/8
2	0,2% раствор декаметоксина	3	0/8	0/8
3	0,2% раствор декаметоксина	30	0/8	0/8

Таблица 13

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на массу тела (г) крыс самцов ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Сроки исследования	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Исходное состояние	257±8	260±9	259±5
1 неделя	266±9	271±10	272±7
2 неделя	276±9	280±11	281±9
3 неделя	285±10	287±11	289±9
4 неделя	296±11*	303±12*	316±10*

Таблица 14

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на массу тела (г)
крыс самок ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

Сроки исследования	Контроль	0,0% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Исходное состояние	231±4	229±4	229±5
1 неделя	240±4	239±4	233±5
2 неделя	245±3	245±4	238±6
3 неделя	252±5*	252±3*	243±5
4 неделя	253±3*	254±7*	249±5*

Примечание : * - отклонения значимы относительно выходных данных , $p < 0,05$.

Таблица 15

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина
на показатели функционального состояния ЦНС
крыс самцов в тесте открытого поля ($\bar{X} (X_{\min} \div X_{\max})$)

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксину, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксину, 30 мл/кг
Количество пересеченных квадратов	13,63 (5÷34)	12,00 (4÷24)	12,63 (4÷26)
Количество вертикальных стоек	1,50 (0÷4)	3,50 (0÷8)	1,13 (0÷3)
Количество обследованных отверстий	5,50 (3÷9)	9,63 (2÷18)	5,75 (3÷11)
Количество дефекаций	1,63 (0÷5)	2,38 (0÷6)	0,88 (0÷3)
Количество уринаций	1 (0÷3)	2,75 (0÷15)	0,50 (0÷2)
Количество умываний	0,50 (0÷3)	0,25 (0÷1)	0,00 (0÷0)
Сумма всех активностей	23,75 (13÷51)	32,13 (7÷67)	20,88 (9÷38)

Таблица 16

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина
на показатели функционального состояния ЦНС крыс самок в
тести открытого поля $\{ \bar{X} (X_{\min} \div X_{\max}) \}$

5

10

15

Показники	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Количество пересеченных квадратов	12,87 (3÷23)	11,25 (4÷21)	9,50 (7÷15)
Количество вертикальных стоек	4,25 (1÷8)	4,00 (1÷7)	3,75 (0÷5)
Количество обследованных отверстий	7,38 (5÷11)	5,13 (2÷10)	6,13 (3÷10)
Количество дефекаций	0,88 (0÷3)	1,38 (0÷4)	0,88 (0÷2)
Количество уринаций	0,25(0÷1)	1,00 (0÷4)	0,25 (0÷1)
Количество умываний	0,50 (0÷2)	0,63 (0÷2)	0,75 (0÷3)
Сумма всех активностей	26,13 (13÷40)	23,38 (12÷41)	21,25 (16÷27)

20

Таблица 17

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на гематологические
показатели у крыс самцов $\{ \bar{X} (X_{\min} \div X_{\max}) , \bar{X} \pm S_{\bar{X}} \}$

25

30

35

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
гемоглобин, г/л	155,8±3	139,9±5	146,8±5
эритроциты, 10 ¹² /л	6,8±0,2	6,3±0,2	6,7±0,1
лейкоциты, 10 ⁹ /л	15,6±1,1	15,1±1,7	14,5±0,8
<i>Лейкоцитарная формула, %:</i>			
нейтрофилы палочкоядерные	0,0(0÷0)	0,3(0÷1)	0,2(0÷1)
нейтрофилы сегментоядерные	18,3(10÷27)	33,2(17÷60)	26,7(17÷51)
эозинофилы	1,8(0÷5)	3,2(1÷5)	3,3(0÷8)
лимфоциты	79,2(72÷87)	68,7(61÷79)	69,3(46÷77)
моноциты	0,7(0÷1)	0,5(0÷2)	0,5(0÷1)

40

45

Таблица 18

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на гематологические показатели у крыс самок ($\bar{X} (X_{\text{тин}} \div X_{\text{тах}})$, $\bar{\chi} \pm s_{\bar{\chi}}$)

5	Показатели	Контроль	0,02% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,02% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	гемоглобин, г/л	158,2±2,5	156,6±2,9	151,4±3,8
	эритроциты, 10 ¹² /л	6,1±0,2	5,7±0,1	5,6±0,1
10	лейкоциты, 10 ⁹ /л	9,2±1,3	8,6±0,6	8,4±0,3
	<i>Лейкоцитарная формула, %:</i>			
	нейтрофилы палочкоядерные	0,2(0÷1)	0,0(0÷0)	0,0(0÷0)
15	нейтрофилы сегментоядерные	29,3(23÷40)	24,0(14÷33)	29,0(20÷40)
	эозинофилы	3,8(2÷7)	3,2(1÷6)	6,0(1÷10)
	лимфоциты	66,2(54÷75)	72,2(63÷82)	64,5(53÷74)
	моноциты	0,5(0÷2)	0,7(0÷3)	0,5(0÷1)

20

Таблица 19

Влияние 0,2 массовые %% раствора декаметоксина на биохимические показатели сыворотки крови у крыс самцов ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

25	Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	Общий белок, г/л	71,83±1,03	69,82±0,66	71,76±1,48
	Альбумины, %	34,66±1,58	23,35±1,43*	26,51±1,97*
30	Глобулины, %	α ₁	5,72±0,94	6,37±0,62
		α ₂	14,4±1,37	16,08±1,10
		β	13,08±0,62	15,90±1,48
		γ	11,18±1,13	12,45±1,05
	АсАТ, ммоль/л·час	0,83±0,04	0,90±0,03	0,84±0,05
35	АлАТ, ммоль/л·час	0,69±0,02	0,72±0,03	0,65±0,04
	Креатинин, ммоль/л	0,1222±0,010	0,117±0,003	0,124±0,007
	Мочевина, ммоль/л	3,98±0,13	4,37±0,16	4,60±0,59
	Щелочная фосфатаза, мкмоль/л	6,99±0,82	7,47±0,95	7,93±0,74
40	Глюкоза, ммоль/л	6,84±0,21	6,66±0,17	6,50±0,22
	Холестерин, ммоль/л	1,06±0,18	0,94±0,14	1,21±0,13
	Общие липиды	1,85±0,10	1,68±0,13	1,69±0,14
	Хлориды, ммоль/л	86,54±3,34	93,32±7,41	82,57±2,91

45 Примечание . * - Отклонения значимы относительно контроля , р < 0,025.

Таблица 20

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на биохимические показатели сыворотки крови у крыс самок ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

5	Показатели		Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	Общий белок, г/л		69,58±2,62	66,06±1,58	70,13±0,71
10	Альбумины, %		32,54±4,87	31,31±6,22	27,73±2,89
	Глобулины, %	α_1	6,35±2,13	3,45±0,31	5,45±0,94
		α_2	19,03±1,58	14,92±1,66	14,98±1,57
		β	12,15±2,04	14,10±2,10	19,05±1,99
15		γ	14,57±0,85	12,98±1,96	17,8±0,82
	АсАТ, ммоль/л·час		0,88±0,03	0,80±0,03	0,82±0,04
	АлАТ, ммоль/л·час		0,53±0,02	0,60±0,03	0,57±0,02
	Креатинин, ммоль/л		0,161±0,004	0,155±0,006	0,150±0,005
20	Мочевина, ммоль/л		4,30±0,12	4,70±0,28	3,91±0,15
	Щелочная фосфатаза, мкмоль/л		4,24±0,34	5,62±0,25	5,44±0,74
	Глюкоза, ммоль/л		6,58±0,20	7,16±0,38	7,15±0,28
	Холестерин, ммоль/л		0,84±0,13	0,91±0,13	1,21±0,17
25	Общие липиды, г/л		1,68±0,12	1,57±0,23	1,93±0,20
	Хлориды, ммоль/л		82,07±3,69	82,64±2,64	81,21±3,42

Таблица 21

30 Результаты влияния 0,2 массовых % раствора декаметоксина на показатели гемостаза у крыс самцов ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

35	Показатели		Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	Время свертывания крови, мин		155,3±9,3	168,3±18,4	150,8±13,2
	Фибриноген, г/л		2,53±0,11	2,50±0,13	2,24±0,15
40	Протромбиновое время, с		15,54±0,99	15,13±0,83	14,95±0,52

Таблица 22

Результаты влияния 0,2 массовых % раствора декаметоксина

на показатели гемостаза у крыс самок ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

5

10

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Время свертывания крови, мин	155,3±9,3	168,3±18,4	150,8±13,2
Фибриноген, г/л	2,78±0,30	2,44±0,15	2,43±0,14
Протромбиновое время, с	18,39±1,25	16,21±0,77	16,40±0,48

15

Таблица 23

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на показатели

функционального состояния почек у крыс самцов в моче ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

20

25

30

35

40

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Диурез, мл/100г массы	1,54±0,17	1,91±0,18	1,85±0,10
рН мочи	7,33±0,17	7,42±0,40	7,67±0,21
Плотность	1,013±0,002	1,012±0,001	1,011±0,001
Креатинин, ммоль/л	0,62±0,11	0,90±0,19	0,96±0,13
СКФ, мл/мин на100 г массы	0,05±0,01	0,07±0,03	0,08±0,02
Реабсорбция воды, %	82,49±1,62	78,62±7,16	83,88±4,54
Экскреция мочевины, мкм/3 год на100 г массы	453,97±77,39	416,70±44,30	513,66±40,38
Хлориды, ммоль/л	18,11±4,11	13,38±4,40	12,51±1,35
Калий, ммоль/л	17,19±4,63	17,66±4,69	17,14±2,42
Экскреция калия, мкм/3 час на100 г массы	21,91±5,01	28,68±10,53	22,82±3,42
Натрий, ммоль/л	13,63±2,53	13,82±4,06	12,34±1,56
Экскреция натрия, мкм/3 час на100 г массы	28,27±8,66	36,74±12,04	31,10±3,78
Фильтрационный заряд натрия, мкмоль/мин на100 г	1182,9±170,7	1702,3±634,4	1938,3±528,0
Реабсорбция натрия, %	97,64±0,68	98,07±0,54	98,01±0,47

45

Таблица 24

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на показатели функционального состояния почек у крыс самок в моче ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

5

10

15

20

25

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Диурез, мл/100г массы	1,57±0,18	1,70±0,26	1,78±0,21
рН мочи	7,08±0,15	7,58±0,15	7,25±0,36
Плотность	1,011±0,001	1,011±0,002	1,010±0,001
Креатинин, ммоль/л	0,94±0,20	0,91±0,24	0,74±0,06
СКФ, мл/мин на100 г массы	0,05±0,01	0,05±0,01	0,04±0,01
Реабсорбция воды, %	75,46±7,38	74,02±5,83	77,33±2,5
Экскреция мочевины,	400,82±49,11	526,75±72,11	439,57±64,68
мкМ/3 час на100 г массы	8,54±1,38	12,05±2,64	7,73±0,87
Хлориды, ммоль/л	5,37±2,43	20,49±5,79	7,46±2,44
Калий, ммоль/л	10,70±5,76	31,55±7,41	13,59±4,55
Экскреция калия,	11,43±3,08	23,06±4,06	12,95±3,05
мкМ/3 час на100 г массы	21,08±8,07	38,07±7,37	22,36±5,35
Натрий, ммоль/л	1141,9±212,5	1032,9±186,0	1022,2±185,6
Экскреция натрия,	97,62±0,90	96,22±0,61	97,98±0,45

30

Таблица 25

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на показатели ЭКГ у крыс самцов ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

35

40

45

Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
ЧСС, уд/мин	501,63±21,96	461,54±17,41	498,23±25,10
СП, %	51,25±2,19	47,25±2,02	54,38±1,96
PQ, с	0,044±0,002	0,044±0,003	0,041±0,001
QRS, с	0,011±0,001	0,014±0,001	0,013±0,001
QT, с	0,061±0,001	0,061±0,001	0,065±0,002
R, мВ	0,49±0,03	0,52±0,05	0,063±0,10
P, мВ	0,09±0,01	0,10±0,01	0,13±0,01
T, мВ	0,16±0,02	0,14±0,01	0,18±0,01

Таблица 26

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на показатели ЭКГ
у крыс самок ($\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

5	Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	ЧСС, уд/мин	505,20±19,77	462,09±29,91	504,38±16,86
10	СП, %	51,63±2,21	47,63±2,43	50,63±1,75
	PQ, с	0,044±0,002	0,048±0,002	0,043±0,002
	QRS, с	0,013±0,001	0,015±0,001	0,010±0,003
	QT, с	0,063±0,001	0,061±0,001	0,060±0,000
15	R, мВ	0,50±0,06	0,66±0,06	0,049±0,05
	P, мВ	0,13±0,02	0,12±0,01	0,12±0,02
	T, мВ	0,15±0,02	0,16±0,01	0,12±0,01

Таблица 27

20 Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на коэффициенты массы
внутренних органов у крыс самцов ($\bar{X} (X_{min} + X_{max})$)

25	Показатели	Контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	Печень	3,54 (3,05÷3,97)	3,47 (2,99÷3,96)	3,52 (2,70÷3,95)
	Почки	прав.	0,32 (0,29÷0,36)	0,30 (0,28÷0,34)
		лев.	0,32 (0,30÷0,36)	0,30 (0,27÷0,34)
30	Сердце	0,31 (0,27÷0,36)	0,28 (0,26÷0,30)	0,29 (0,21÷0,33)
	Легкие	0,59 (0,48÷0,68)	0,62 (0,44÷0,99)	0,58 (0,39÷0,73)
	Селезенка	0,35 (0,25÷0,46)	0,37 (0,26÷0,56)	0,37 (0,22÷0,52)
	Надпочечник	0,015 (0,007÷0,024)	0,015 (0,009÷0,019)	0,016 (0,013÷0,020)
35	Тимус	0,109 (0,066÷0,176)	0,109 (0,068÷0,171)	0,090 (0,031÷0,138)
	Семенники	прав.	0,54 (0,44÷0,65)	0,53 (0,43÷0,61)
		лев.	0,54 (0,47÷0,64)	0,54 (0,43÷0,62)
40	Головной мозг	0,65 (0,55÷0,77)	0,59 (0,47÷0,72)	0,59 (0,52÷0,68)

Таблица 28

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на коэффициенты массы внутренних органов у крыс самок ($\bar{X} (X_{\min} \div X_{\max})$)

Показники		Контроль	0,2% розчин декаметоксину, 3 мл/кг	0,2% розчин декаметоксину, 30 мл/кг
Печень		3,32 (3,06+3,58)	3,47 (3,29+3,74)	3,46 (3,21+3,80)
Почки	прав.	0,29 (0,26+0,35)	0,30 (0,26+0,36)	0,31 (0,28+0,36)
	лев.	0,28 (0,24+0,35)	0,30 (0,27+0,35)	0,31 (0,26+0,36)
Сердце		0,30 (0,26+0,36)	0,30 (0,26+0,44)	0,33 (0,28+0,39)
Легкие		0,62 (0,51+0,87)	0,63 (0,50+0,98)	0,63 (0,53+0,79)
Селезенка		0,36 (0,25+0,50)	0,39 (0,30+0,52)	0,37 (0,30+0,47)
Надпочечник		0,029 (0,020+0,043)	0,030 (0,021+0,041)	0,034 (0,022+0,044)
Тимус		0,138 (0,059+0,194)	0,134 (0,074+0,192)	0,147 (0,093+0,203)
Головной мозг		0,72 (0,55+0,90)	0,70 (0,63+0,81)	0,71 (0,63+0,78)

Вывод. Результаты исследования показали, что пероральное введение условнотерапевтической дозы 3 мл/кг (0,6 мг/кг по декаметоксину) и дозы, что в 10 раз ее превышает, - 30 мл/кг (6 мг/кг по декаметоксину) не вызывает морфологических признаков кардиотоксической, нефротоксического, гепатотоксического действия на организм экспериментальных животных, не вызывает реактивных изменений коры надпочечников, не нарушает состояние легочной ткани, не оказывает влияния на морфофункциональное состояние органов иммунной системы, репродукции, сенсомоторной коры больших полушарий и не оказывает негативного влияния на внутренние органы животных при других исследуемых показателях.

Изучения кумулятивного действия при пероральном введении проводили на беспородных крысах обоего пола (n = 12), которым препарат вводили в течение 28 дней в растущих дозах от начальной дозы (0,1 лд 50), которая представляла 60 мг/кг. Каждые четыре дня дозу препарата увеличивали в 0,1; 0,15; 0,22; 0,34; 0,5; 0,75; 1,12 раза от лдво (600 мг / кг для крыс). Результаты приведены в таблицах 29 и 30.

Вывод. Результаты изучения кумулятивного действия 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы декаметоксину указывают на отсутствие гибели животных, которая свидетельствует не только об отсутствии кумулятивных свойств у препарата, но и о развитии адаптивных процессов, которые в результате длительного введения исследуемого фармацевтически активного вещества способствуют выживанию животных при введении дозы, которая превышает лд 50.

Таблица 29

Определение кумулятивного эффекта 0,2 массовых % раствора
 декаметоксина за методом Lim. Гибель животных в зависимости от
 суммарной дозы

5

	Дни экспери- мента	Доза ежедневная		Доза суммарная		Гибель животных
		в частях от дозы ЛД ₅₀	в мг/кг	в частях от дозы ЛД ₅₀	в мг/кг	
10	1	0,1	60	0,1	60	-
	2	"-	"-	0,2	120	-
	3	"-	"-	0,3	180	-
	4	"-	"-	0,4	240	-
15	5	0,15	90	0,55	330	-
	6	"-	"-	0,70	420	-
	7	"-	"-	0,85	510	-
	8	"-	"-	1,00	600	-
20	9	0,22	132	1,22	732	-
	10	"-	"-	1,44	864	-
	11	"-	"-	1,66	996	-
	12	"-	"-	1,88	1128	-
25	13	0,34	204	2,22	1332	-
	14	"-	"-	2,56	1536	-
	15	"-	"-	2,90	1740	-
	16	"-	"-	3,24	1944	-
30	17	0,5	300	3,74	2244	-
	18	"-	"-	4,24	2544	-
	19	"-	"-	4,74	2844	-
	20	"-	"-	5,24	3144	-
35	21	0,75	450	5,99	3594	-
	22	"-	"-	6,74	4044	-
	23	"-	"-	7,49	4494	-
	24	"-	"-	8,24	4944	-
40	25	1,12	672	9,36	5616	-
	26	"-	"-	10,40	6288	-
	27	"-	"-	11,60	6960	-
	28	"-	"-	12,72	7632	-

45

Таблица 30

Динамика массы тела животных при изучении кумулятивного действия

0,2 массовых % раствора декаметоксина ($\bar{X} \pm S_x$)

5

10

15

Сроки исследования	Крысы самцы	Крысы самки
Исходные данные	177,5±1,6	204,6±5,6
4 сутки	176,3±3,1	199,2±8,6
8 сутки	176,3±4,4	194,2±9,3
12 сутки	195,0±6,6	205,0±11,3
16 сутки	198,8±2,2*	204,6±10,7
20 сутки	193,3±2,4*	202,9±8,9
24 сутки	200,8±2,6*	204,2±9,4
28 сутки	200,0±1,8*	203,8±8,4

Примечание : * - отклонение достоверно относительно исходных показателей ; ;
0,05.

20

25

Изучения мутагенного действия проводили на беспородных мышах обоего пола (n = 24) при пероральном однократном введении в дозах 5 мл/кг (1 мг/кг) и 50 мл/кг (10 мг/кг) за 6, 24 и 48 часы к выведению из опыта с дальнейшим подсчетом клеток костного мозга из аберациями хромосом в стадии метафазы. За 2 часы до выведения животных из эксперимента с целью накопления клеток в метафазе деления внутрибрюшинно вводили 0,025% раствор колхицина. У каждого животного брали обе бедренные кости, из которых вымывали костный мозг. Результаты приведены в таблице 31.

30

35

Вывод. Пятидневное внутрижелудочное введение 0,02 массовые %% и 0,2 массовые %% растворы декаметоксину в дозах 5 мл/кг и 50 мл/кг самцам мышей стимулировало увеличение числа аберантных клеток, а так же не вызывало абераций хромосомного и хроматидного типов. Таким образом, результаты количественной оценки цитогенетической активности декаметоксина в клетках костного мозга мышей самцов при внутрижелудочном пути введения свидетельствуют об отсутствии мутагенных свойств.

40

Изучение имунотоксического действия препарата проводили при пероральном введении на беспородных мышах (n = 70) путем оценивания влияния на гуморальный и клеточный иммунитет.

45

Изучение токсического действия на клеточный иммунитет проводили на 40 половозрелых мышах (n = 40) в тесте "Реакция гиперчувствительности замедленного типа" (ГСТ) за методом КР Kitamura. Реакция нацелена на определение способности исследуемого вещества влиять на продукцию сенсibilизированными Т-лимфоцитами -эффекторами медиаторов, которые

вызывают инфильтрацию ткани клеточными элементами .

Таблица 31

Результаты оценки цитогенетической активности 0,2 массовых % раствора декаметоксина в тестах с учетом хромосомных абераций в клетках костного мозга мышей самцов , Me (Q25; Q75) (n = 6)

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	5 мл/кг	50 мл/кг,	p (по критерию Круска-Уоллиса)
1	2	3	4	5	6
Количество проанализированных метафаз	600	600	600	600	—
Единичные фрагменты	2(2;3)	2(2;3)	2(2;2)	2(2;3)	p=0,8545
Парные фрагменты	1(0;1)	1(0;2)	1(0;1)	1(0;2)	p=0,9703
Хромосомные обмены	2(1;2)	1,5(0;2)	2(1;3)	1(1;3)	p=0,7237
1	2	3	4	5	6
Хроматидные обмены	0(0;1)	0,5(0;1)	0,5(0;1)	0,5(0;1)	p=0,9227
Полипloidия	0(0;1)	0(0;0)	0(0;0)	0(0;1)	p=0,8370
Количество метафаз с аберациями	4(3;5)	5(4;5) p1 =0,5862	5(3;6) p1 =0,7815 p2=0,7892	4,5(4;7) p1 =0,5001 p2=0,8964	—
Ахроматические прогалины(гепы)	1,5(1;2)	1,5(1;2)	2(1;2)	1,5(1;2)	p=0,8983

Примечания :

1. p1 - уровень достоверности отличий по отношению к интактным контролю ,

2. p2 - уровень достоверности отличий по отношению к негативному контролю ,

3. n - количество наблюдений .

Введение антигена в подушечку лапки животного приводит к развитию локального отека . 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы декаметоксина вводили внутривенно один раз на сутки через час к и в течение всего периода иммунизации (5 суток) ко дню учета результатов в условнотерапевтической дозе 6,5 мл/кг (1,3 мг/кг по декаметоксина) и в 10 разы больше - 65 Мл/кг (13 мг/кг по декаметоксина) .

Животных иммунизировали одноразовым введением . суспензии

свежеотмытых эритроцитов барана (ЭБ). На 5-ые сутки для выявления иммунизации мышам под апоневротичну пластинку одной из задних конечностей вводили завершающую дозу антигена. В контралатеральну лапу вводили раствор Хенкса. Через 24 часа у выведенных из эксперимента животных проводили взвешивание отсеченных лап, на основании чего делали вывод о степени отека конечности в результате реакции гиперчувствительности замедленного типа. Результаты исследования влияния декаметоксина на функциональную активность Т-клеток-эффекторов в реакции гиперчувствительности замедленного типа приведены в таблице 32.

10

Таблица 32

Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на первичный клеточный иммунный ответ мышей, иммунизированных эритроцитами барана

15

Группы животных	Дозы, мг/кг	n	Индекс реакции (Me (Q25; Q75) <i>тест Манна-Уитни</i>)
контрольное иммунизированный контроль	—	10	3,6 (2,4; 5,0)
Иммунизированный контроль (ЕБ)	—	8	14,6 (8,5; 19,8)*
0,2 масових % раствор декаметоксина	6,5	7	10,7 (8,3; 21,3)*
	65	8	9,8 (6,9; 14,8)*

20

25

Характер влияния 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворы декаметоксина на гуморальный иммунный ответ оценивали по количеству антителобразующих клеток (АОК) в селезенке и титров гемагглютинаина (А) в сыворотке крови 30 иммунизированных мышей. На 5-ые сутки после иммунизации определяли количество АОК в селезенке, в сыворотке крови - титры А. Определения количества АОК в селезенке проводили с помощью метода локального гемолиза в газле. Этот метод основан на способности лимфоидных клеток экспериментальных животных, иммунизированных инородными эритроцитами, секретировать антиэритроцитарные антитела, которые вызывают лизис эритроцитов в присутствии комплемента.

30

35

По количеству макроскопически видимых зон гемолиза вокруг антител ообразующих клеток определяли количество продуцентов антител на лимфоидный орган. Титры А в сыворотке крови иммунизированных животных определяли методом серийных разведений в полистироловых планшетах. Реакция агглютинации основывается на способности антител (агглютининов), которые содержатся в сыворотке крови иммунизированных животных, склеивать эритроциты барана, используемые как антиген. Результаты определения потенциальных иммунотоксичных свойств декаметоксина приведены в таблице 33.

45

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что декаметоксин в виде 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов при внутрижелудочном введении мышам в условнотерпевтической дозе 6,5 мл/кг (1,3 мг/кг по декаметоксину) и в 10 раз ее превышающей - 65 мл/кг (13 мг/кг по декаметоксину) - не обладает иммунотоксичным действием на гуморальный и клеточный иммунный ответ мышей.

Таблица 33

10 Влияние 0,2 массовых % раствора декаметоксина на первичный гуморальный иммунный ответ мышей, иммунизированных эритроцитами барана

Группы животных	Дозы, мл/кг	Количество на селезенку		Титри ГА, Log2	
		n	(mean ± St. er) Тест Ньюмена-Кейлса	n	(Me (Q25; Q75) тест Манна-Уитни)
Иммунизированный контроль (ЕБ)	—	10	17992,0±3506,5	10	11,0(9; 12)
0,2% раствор декаметоксина	6,5	9	16168,9±2631,2	10	9,5 (9; 11)
	65	9	20204,4±2976,2	10	11,0 (11; 12)

Изучение гонадотоксичности 0,02-0,2 массовых % раствора декаметоксина проводили на 72 крысах (40 самцы и 32 самки) путем перорального введения препарата один раз на сутки в дозах 3 и 30 мл/кг в течение 15 дней, что отвечает 3 астральным циклам самок, с дальнейшим изучением функционального состояния и микроструктуры яичников самок и семенников самцов крыс. Результаты исследования представлены в таблицах 34-36.

Таблица 34

Длительность астрального цикла у крыс самок, которым вводили 0,2 массовых % раствор декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг, Me (Q25; Q75) (n = 8)

Показатели	Доза, мл/кг	Продолжительность цикла, дни	
		до введения препарата	после введения препарата
Интактный контроль	—	4 (4; 5)	4,5 (4; 5)
Негативный контроль	—	4,5 (4; 5)	5 (4; 5)
0,2% раствор декаметоксина	3	4,5 (4; 5)	4,5 (4; 5)
0,2% раствор декаметоксина	30	5 (4,5; 5)	5 (4; 5)

Таблица 35

Макрометрические показатели яичников крыс самок, которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг, $M \pm m$ ($n = 5$)

5

10

15

Показатели	Доза, мл/кг	Коэффициент массы яичников, мг/100г
Интактный контроль	–	0,064±0,003
Негативный контроль	–	0,066±0,003
0,2% раствор декаметоксину	3	0,060±0,004
0,2% раствор декаметоксину	30	0,054±0,004

Таблица 36

Состав структурно -функциональных элементов яичников крыс самок, которые получали 0,2 массовых % раствор декаметоксина ($n = 5$)

20

25

30

35

40

45

Показатели	Экспериментальные группы							
	Интактный контроль		Негативный контроль		0,2% раствор декаметоксина			
					3 мл/кг		30 мл/кг	
	Me (Q25; Q75)	%	Me (Q25; Q75)	%	Me (Q25; Q75)	%	Me (Q25; Q75)	%
Примордиальные фолликулы и фолликулы с 1-м слоем гранулезных клеток	750 (650; 770)	36,9	710 (670; 750)	35,4	720 (670; 810)	36,8	550 (510; 640) *	32,4 *
Фолликулы с 2-м и больше слоями гранулезных клеток	70 (70; 80)	3,81	70 (65; 75)	3,58	70 (70; 75)	3,69	50 (45; 50) */**	2,83 */**
Зрелые фолликулы (Граафовы пузырьки)	5 (0; 5)	0,16	0 (0; 5)	0,10	5 (0; 5)	0,20	5 (0; 5)	0,17
Атрезующие фолликулы и атретические тела	1130 (1105; 1190)	58,5	1140 (1125; 1280)	60,2	1245 (1105; 1255)	58,6	1055 (1050; 1085)	63,8 *
Желтые тела	11 (10; 14)	0,63	15 (13; 16)	0,74	15 (13; 16)	0,70	12 (12; 18)	0,86
Общее количество генеративных форм	1974 (1841; 2030)	100	1948 (1885; 2136)	100	2096 (2003; 2100)	100	1702 (1511; 1768)	100

Примечания : 1. * - статистически значимые отличия относительно интактного контроля , ** - негативного контроля , критерий Манна -Уитни ($p \leq 0,05$),
2. n - количество животных в каждой группе

- 5 Вывод . Установлено , что внутрижелудочное введение 0,02 массовые % и 0,2 массовые % растворы декаметоксина самкам в терапевтической дозе 3 мг/кг не оказывает негативного влияния на структурную организацию яичников , не снижает резерв фолликулогенеза , не влияет на темпы развития яйцевых фолликулов , не повышает уровень атрезии фолликулов . Но в дозе 30 мг/кг, что в 10 раз превышает условно -терапевтическую , декаметоксин способствует снижению численности примордиальных и растущих фолликулов , и приводит к небольшому снижению массовых коэффициентов яичников , что можно расценить как проявление гонадотоксичного действия у самок .
- 15 Результаты исследования гонадотоксичности у самцов представлены в таблицах 37-39.

Таблица 37

- 20 Макрометрические показатели семенников крыс , которым внутрижелудочно вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мг/кг, $M \pm m$ (n=10)

Показатели		Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина	
				3 мг/кг	30 мг/кг
25 Коэффициент массы семенников, г/100 г	правый	0,573 $\pm$ 0,017	0,586 $\pm$ 0,018	0,560 $\pm$ 0,016	0,582 $\pm$ 0,013
	левый	0,582 $\pm$ 0,022	0,590 $\pm$ 0,016	0,567 $\pm$ 0,017	0,572 $\pm$ 0,019
30 Длина семенников, мм	правый	21,6 $\pm$ 0,2	22,3 $\pm$ 0,4	21,6 $\pm$ 0,3	21,9 $\pm$ 0,3
	левый	21,9 $\pm$ 0,1	22,3 $\pm$ 0,3	21,9 $\pm$ 0,2	22,2 $\pm$ 0,2
Коэффициент массы придатков семенников, г/100 г		0,182 $\pm$ 0,006	0,185 $\pm$ 0,005	0,185 $\pm$ 0,005	0,189 $\pm$ 0,005

- 35 Вывод . Анализируя полученные данные , можно констатировать , что 0,2 массовые % раствор декаметоксину в обеих изученных дозах не оказывает негативного влияния как на функциональное состояние сперматозоидов , так и на структуру тестикулярной ткани и процесс сперматогенеза , то есть не владеет гонадотоксичным действием на мужские гонады .

Таблица 38

Показатели функционального состояния сперматозоидов крыс ,
 каким внутрижелудочный вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина
 в дозах 3 и 30 мл/кг (n=10)

5

10

15

20

25

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина	
			3 мл/кг	30 мл/кг
Концентрация , млн/мл, $M \pm m$	52,9 $\pm$ 2,1	59,7 $\pm$ 4,3	56,6 $\pm$ 3,5	57,6 $\pm$ 1,8
Продолжительность подвижности, мин, $M \pm m$	399 $\pm$ 10	408 $\pm$ 6	393 $\pm$ 6	405 $\pm$ 5
Осмотическая резистентность, %, $Me (LQ;UQ)$	4,6 (4,4; 4,8)	4,8 (4,6; 4,8)	4,2 (4,2; 4,8)	4,4 (4,0; 4,6)
Кислотная резистентность, pH, $Me (LQ;UQ)$	3,8 (3,6; 3,9)	3,5 (3,3; 3,9)	3,9 (3,8; 4,0)	3,8 (3,4; 4,2)
Относительное количество патологических форм, %, $Me (LQ;UQ)$	60 (59; 64)	59 (57; 67)	67 (60; 70)	61 (59; 65)
Относительное количество неподвижных, %, $Me (LQ;UQ)$	7,5 (7; 8)	7,5 (5; 9)	9 (6; 11)	8 (7; 10)

Таблица 39

Морфометрические показатели процесса сперматогенеза крыс , которым
 внутрижелудочный вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина
 в дозах 3 и 30 мл/кг

30

35

40

45

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина	
			3 мл/кг	30 мл/кг
Количество нормальных сперматогоний, $M \pm m$	60,20 $\pm$ 0,89	60,81 $\pm$ 0,84	61,29 $\pm$ 0,86	60,94 $\pm$ 0,76
Индекс сперматогенеза, баллы, $Me (LQ;UQ)$	3,33 (3,33; 3,35)	3,33 (3,32; 3,34)	3,33 (3,33; 3,35)	3,34 (3,33; 3,34)
Количество канальцев с 12-ю стадией мейоза, %, $Me (LQ;UQ)$	4,0 (3,5; 4,5)	4,0 (3,5; 4,0)	4,0 (3,5; 4,0)	4,0 (3,0; 4,0)
Количество канальцев со слущенным эпителием, %, $Me (LQ;UQ)$	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 0,5)	0,0 (0,0; 0,0)

Изучение репродуктивной токсичности вещества проводили на 60 крысах -самцах и 120 самках со следующим определением влияния декаметоксину на стадии прогенеза : формирование мужских и женских гамет , нарушение полового поведения и транспорта продуктов зачатия . Результаты исследований на самцах представлены в таблицах 40-49

Таблица 40

Показатели оплодотворяющей способности у самцов , которые получали 0,2 массовых % раствора декаметоксина , при спаривании с интактными самками

Показатели	Интакт- ный контроль	Негатив- ный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Индекс плодовитости, %	93	86	93	96
Индекс фертильности, %	85	79	85	92

Таблица 41

Показатели , которые регистрируются при вскрытии беременных самок на 20-й день гестации , оплодотворенных самцами , которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Количество беременных самок	12	11	13	13
Количество желтых тел, $Me (LQ;UQ)$	12,5 (10,0; 13,0)	13,0 (12,0; 13,0)	12,0 (11,0; 13,0)	11,0 (10,0; 13,0)
Количество мест имплантации, $tMe(LQ;UQ)$	10,5 (9,5; 11,5)	12,0 (10,0; 13,0)	10,0 (9,0; 12,0)	10,0 (10,0; 11,0)
Количество мест резорбции, Me ($LQ;UQ$)	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0; 2,0)	1,0 (0; 1,0)	1,0 (0; 1,0)
Количество живых плодов, $Me (LQ;UQ)$	9,5 (9,0; 11,0)	11,0 (9,0; 12,0)	10,0 (9,0; 11,0)	9,0 (9,0; 11,0)
Количество мертвых плодов, $Me (LQ;UQ)$	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Кранио-каудальный размер, мм, $M \pm m$	29,9 $\pm$ 0,8	28,7 $\pm$ 0,4	29,6 $\pm$ 0,9	28,3 $\pm$ 0,7
Масса плодов, г, $M \pm m$	2,25 $\pm$ 0,12	2,23 $\pm$ 0,10	2,35 $\pm$ 0,15	2,14 $\pm$ 0,11
Масса плаценты, г, $M \pm m$	0,54 $\pm$ 0,02	0,54 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,02	0,59 $\pm$ 0,02
Плодово- плацентарный индекс, $M \pm m$	0,244 $\pm$ 0,009	0,241 $\pm$ 0,008	0,245 $\pm$ 0,017	0,283 $\pm$ 0,016

Таблица 42

Показатели эмбриолетального действия при введении 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг

5	Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
	Передимплантационная смертность, %, Me (LQ;UQ)	3,8 (0,0; 12,7)	0,0 (0,0; 9,1)	8,3 (0,0; 11,1)	0,0 (0,0; 10,0)
10	Постимплантационная смертность, %, Me (LQ;UQ)	9,2 (0,0; 11,1)	10,0 (8,3; 15,4)	8,3 (0,0; 12,5)	7,1 (0,0; 11,1)
	Общая эмбриональная смертность, % Me (LQ;UQ)	10,6 (9,2; 16,0)	14,3 (8,3; 23,1)	16,7 (8,3; 30,8)	10,0 (9,1; 18,2)

15

Таблица 43

Размер приплодов и половая принадлежность потомства самок, оплодотворенных самцами, которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг, Me (LQ;UQ)

20	Показатели Экспериментальная группа	n	Количество новорожденных в приплодах	Распределение по половому признаку	
				самцы	самки
25	Интактный контроль	10	8,0 (8,0; 9,0)	4,5 (4,0; 5,0)	4,0 (4,0; 6,0)
	Негативный контроль	8	10,0 (8,5; 11,0)	5,0 (4,0; 5,5)	5,5 (3,5; 6,5)
30	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	10	9,0 (8,0; 10,0)	5,0 (4,0; 5,0)	5,0 (3,0; 6,0)
	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг	10	9,0 (8,0; 10,0)	4,0 (4,0; 5,0)	4,5 (3,0; 5,0)

35

40

45

Таблица 44

Динамика массы тела потомства самок, оплодотворенных самцами, которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг, $M \pm t$

5

10

15

20

Срок наблюдения	Интактный контроль		Негативный контроль		0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг		0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг	
	n	масса тела, г	n	масса тела, г	n	масса тела, г	n	масса тела, г
1 день	89	6,01±0,10	81	6,31±0,14	72	6,21±0,07	82	6,04 ±0,09
7 день	89	13,7±0,4*	67	14,4±0,4*	72	14,4±0,4 *	82	13,0±0,4 *
14 день	88	23,1±0,7*	67	23,0±0,7*	70	24,8±0,7 *	82	24,4±0,7 *
21 день	88	37,0±1,0*	67	34,5±1,0*	70	39,8±1,0 *	82	37,0±1,2 *
28 день	88	56,5±1,5*	67	55,3±1,5*	70	59,4±1,6 *	82	59,6±0,6 *

Примечание : * - статистически значимые изменения относительно выходных данных , ≤ 005

Результаты исследования на самках представлены в таблицах 45-49.

25

Таблица 45

Показатели оплодотворяющей способности у самок, которые получали 0,2 массовых % раствора декаметоксина, при спаривании с интактными самцами

30

35

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Индекс плодовитости, %	97	93	93	93
Индекс беременности, %	83	68	71	82

40

45

Таблица 46

Показатели , которые регистрируются при вскрытии беременных самок на 20-й день гестации , которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг

5

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Количество беременных самок	12	8	10	12
Количество желтых тел, $Me (LQ;UQ)$	10,5 (9,0; 13,0)	12,0 (10,5; 13,5)	12,0 (10,0; 15,0)	11,0 (10,0; 12,5)
Количество мест имплантации, $Me (LQ;UQ)$	10,0 (8,0; 11,5)	11,5 (10,0; 13,0)	10,5 (10,0; 12,0)	10,0 (8,0; 11,5)
Количество мест резорбции, $Me (LQ;UQ)$	1,0 (0,5; 2,0)	1,0 (0; 2,0)	1,0 (0; 3,0)	0,5 (0; 1,0)
Количество живых плодов, $Me (LQ;UQ)$	8,0 (7,0; 10,5)	10,5 (8,5; 11,5)	9,0 (8,0; 12,0)	10,0 (6,0; 11,0)
Количество мертвых плодов, $Me (LQ;UQ)$	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)
Кранио-каудальный размер, мм, $M \pm m$	30,9 $\pm$ 0,4	30,2 $\pm$ 1,0	29,4 $\pm$ 0,5	30,3 $\pm$ 0,3
Масса плодов, г, $M \pm m$	2,49 $\pm$ 0,08	2,33 $\pm$ 0,13	2,25 $\pm$ 0,08	2,41 $\pm$ 0,06
Масса плаценты, г, $M \pm m$	0,60 $\pm$ 0,02	0,54 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,02	0,60 $\pm$ 0,03
Плодово-плацентарный индекс, $M \pm m$	0,243 $\pm$ 0,008	0,234 $\pm$ 0,012	0,249 $\pm$ 0,012	0,250 $\pm$ 0,011

Таблица 47

Показатели эмбриолетального действия самок , которым вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл / кг

30

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг
Передимплантационная смертность, %, $Me (LQ;UQ)$	4,6 (0,0; 11,1)	7,6 (0,0; 9,2)	3,3 (0,0; 23,53)	3,9 (0,0; 31,7)
Постимплантационная смертность, %, $Me (LQ;UQ)$	12,5 (3,6; 23,2)	9,4 (0,0; 16,8)	10,0 (0,0; 27,3)	4,2 (0,0; 9,7)
Общая эмбриональная смертность, % $Me (LQ;UQ)$	20,7 (9,6; 33,3)	16,8 (11,3; 24,3)	15,0 (7,7; 36,4)	13,3 (0,0; 40,0)

45

Таблица 48

Размер приплодов и половая принадлежность потомства самок ,
каким вводили 0,2 массовых % раствоар декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг,
Me (LQ;UQ)

5

10

15

Показатели Экспери- ментальна группа	п	Количество ново родженных у приплодах	Распределение по половому признаку	
			самцы	самки
Интактный контроль	12	8,0(6,5; 8,0)	3,0(2,0; 5,0)	3,5(3,0; 5,0)
Негативный контроль	9	8,0(7,0; 9,0)	3,0(2,0; 5,0)	4,0(3,0; 7,0)
0,2% раствор декаметоксина, 3 мл/кг	10	9,0(8,0; 10,0)	4,0(3,0; 6,0)	5,0(4,0; 5,0)
0,2% раствор декаметоксина, 30 мл/кг	11	9,0(7,0; 9,0)	5,0(3,0; 5,0)	4,0(3,0; 5,0)

20

Таблица 49

Динамика массы тела потомства самок , оплодотворенных самцами , которым
вводили 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл / кг, $M \pm t$

25

30

35

Срок наблюдения	Интактный контроль		Негативный контроль		0,2% раствор декаметоксина, в дозе 3 мл/кг		0,2% раствор декаметоксина, в дозе 30 мл/кг	
	п	масса тела, г	п	масса тела, г	п	масса тела, г	п	масса тела, г
1 день	90	5,91 $\pm$ 0,08	76	6,04 $\pm$ 0,10	86	5,86 $\pm$ 0,10	88	6,10 $\pm$ 0,08
7 день	87	13,4 $\pm$ 0,3*	68	13,9 $\pm$ 0,3*	84	14,0 $\pm$ 0,3 *	76	14,5 $\pm$ 0,8 *
14 день	86	24,1 $\pm$ 0,5*	63	24,8 $\pm$ 0,7*	83	24,8 $\pm$ 0,5 *	75	24,5 $\pm$ 0,6 *
21 день	85	38,4 $\pm$ 1,0*	63	39,9 $\pm$ 1,1*	83	36,1 $\pm$ 0,7 *	75	37,2 $\pm$ 0,9 *
28 день	85	57,2 $\pm$ 1,4*	63	54,4 $\pm$ 1,3*	80	53,8 $\pm$ 1,4 *	75	54,1 $\pm$ 1,2*

Примечание : * - изменения статистически значимы относительно выходных
данных , ≤ 0,05

40

Вывод . Изучение влияния перорального введения 0,02 массовых % и
0,2 массовых % растворов декаметоксина в дозах 3 и 30 мл / кг в течение 60
дней самцам и 15 дни самкам крыс показало отсутствие негативного действия
относительно репродуктивной функции животных .

45

Изучения эмбриотоксичности и тератогенности проводили на 160

- беспородных крысах (40 самцах и 120 самках) путем перорального введения 0,02 массовых %х раствора декаметоксина в условнотерапевтической дозе 3 мл/кг и в дозе, которая отвечает 10-ти кратной (максимальной дозе), - 30 мл/кг, со следующим определением параметров эмбриотоксичности
- 5 (эмбриолетальное действие, отклонение в развитии: изменение массы тела, кранио-каудального размера плодов, задержке осификации скелета) и тератогенности (наличие видимых внешних аномалий развития и гематом, аномалии костной системы и центров окостенения). Результаты представлены в таблицах 50-53.
- 10 Результаты исследования показали отсутствие эмбриотоксического действия 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов декаметоксина в терапевтической дозе 3 мл/кг. Введения токсичной дозы 0,02 массовых % и 0,2 массовых % растворов декаметоксина 30 мл/кг, в 10 раз превышает терапевтическую, оказало негативное влияние на эмбрионы в первом
- 15 триместре гестации. Это выразалось в повышении передимплантационной смертности, так и при введении в период имплантации и органогенеза (6-16 день), что выразалось в уменьшении массы плодов и их кранио-каудального размера. Установлено тератогенное действие декаметоксина при введении его в обеих дозах в период имплантации и органогенеза, который дает
- 20 основание не рекомендовать применения препарата для лечения кишечных инфекций у беременных.

Таблица 50

- Показатели, которые регистрируются при вскрытии беременных самок на 20-й
- 25 день гестации, после введения 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг в разные периоды беременности

30	Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 1-6 день 30 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 6-16 день 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 6-16 день 30 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 16-19 день 30 мл/кг
	Количество беременных самок	18	19	19	16	15	18
35	Количество желтых тел, <i>Me (LQ;UQ)</i>	12,0 (10,0; 13,0)	11,0 (10,0; 13,0)	11,0 (10,0; 13,0)	10,0 (9,5; 11,5)	11,0 (10,0; 13,0)	11,0 (10,0; 13,0)
40	Количество мест имплантации, <i>Me (LQ;UQ)</i>	10,0 (9,0; 12,0)	11,0 (9,0; 11,0)	10,0 (8,0; 10,0)	9,0 (9,0; 10,5)	10,0 (9,0; 12,0)	11,0 (10,0; 12,0)
45	Количество мест резорбции, <i>Me (LQ;UQ)</i>	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 1,0)	0,0 (0,0; 1,5)	1,0 (0,0; 1,0)	1,0 (0,0; 2,0)

5	Количество живых плодов , Me (LQ;UQ)	9,0 (8,0; 11,0)	10,0 (9,0; 11,0)	9,0 (7,0; 10,0)	9,0 (8,0; 10,0)	9,0 (8,0; 10,0)	9,5 (9,0; 11,0)
	Количество мертвых плодов , Me (LQ;UQ)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
10	Кранио - каудальный размер , мм, M±t	31,4±0,4	31,7±0,4	29,6±0,8	30,0±0,4	29,2±0,4**	29,7±0,6
	Масса плодов , г, M±t	2,59±0,05	2,55±0,05	2,51±0,13	2,32±0,06	2,19±0,06*/**	2,29±0,08
15	Масса плаценты , г, M±t	0,62±0,01	0,65±0,03	0,67±0,03	0,60±0,01	0,61±0,04	0,57±0,01
	Плодово - плацентарный индекс , M±t	0,24±0,00	0,25±0,01	0,27±0,01	0,26±0,01	0,28±0,02	0,25±0,01

- Примечания : 1. * - статистически значимые отличия при сравнении с группой интактного контроля , критерий Ньюмана -Кейлса ($p \leq 0,05$),
2. ** - статистически значимые отличия при сравнении с группой негативного контроля , критерий Ньюмана -Кейлса ($p \leq 0,05$)

Таблица 51

- 25 Показатели эмбриолетального действия при введении 0,2 массовых % раствора декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг в разные периоды беременности

30	Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина, 1-6 день 30 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 6-16 день 3 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 6-16 день 30 мл/кг	0,2% раствор декаметоксина, 16-19 день 30 мл/кг
	Количество беременных самок	18	19	19	16	15	18
35	Передимплантационная смертность, %, Me (LQ;UQ)	0,0 (0,0; 18,1)	9,0 (0,0; 15,3)	11,1 (9,0; 35,7) *	8,7 (0,0; 12,1)	0,0 (0,0; 10,0)	8,0 (0,0; 10,0)
	Постимплантационная смертность, %, Me (LQ;UQ)	8,3 (0,0; 11,1)	9,0 (0,0; 11,1)	0,0 (0,0; 16,6)	0,0 (0,0; 9,1)	10,0 (0,0; 14,2)	10,0 (0,0; 16,6)
40	Общая эмбриональная смертность, %, Me (LQ;UQ)	10,0 (7,1; 25,0)	15,3 (9,0; 30,7)	22,2 (10,0; 35,7)	10,0 (0,0; 25,1)	12,5 (9,0; 25,0)	18,1 (10,0; 23,0)

- 45 Примечание : * - статистически значимые отличия при сравнении с группой интактного контроля , критерий Манна -Уитни ($p \leq 0,05$).

Таблица 52

Состояние внутренних органов плодов самок 20-го дня гестации ,
после внутринежелудочного введения 0,2 массовых % раствора
декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг в разные периоды беременности ,
Me (LQ; UQ)

5

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина			
			1-6 30 мг/кг	6-16 3 мг/кг	6-16 30 мг/кг	16-19 30 мг/кг
10 Количество осмотренных плодов	81	82	74	66	65	81
Подкожные гематомы, %	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
15 Увеличение размеров мочевого пузыря, %	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
Кровоизлияния у внутренние органы, %	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
20 Увеличение желудочков Головного мозга, %	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
Гидронефроз, %	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Таблица 53

25 Состояние скелетной системы плодов самок 20-го дня гестации ,
после внутринежелудочного введения 0,2 массовых % раствора
декаметоксина в дозах 3 и 30 мл/кг в разные периоды беременности

Показатели	Интактный контроль	Негативный контроль	0,2% раствор декаметоксина			
			1-6 30 мг/кг	6-16 3 мг/кг	6-16 30 мг/кг	16-19 30 мг/кг
1	2	3	4	5	6	7
30 Количество осмотренных плодов	90	93	81	78	73	77
35 Снижение количества костных закладок пясти, %, M(Q25;Q75)	0 (0; 20)	0 (0; 0)	0 (0; 20)	30 (0; 77) */**	40 (0; 75) */**	0 (0; 50)
40 Снижение количества костных закладок плюсны, %, M(Q25;Q75)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 10)	0 (0; 20)	0 (0; 0)
45 Отсутствие окостенения в	0 (0; 0)	16 (0; 50)	0 (0; 0)	0 (0; 20)	0 (0; 40)	0 (0; 0)

	подъязычной кости , %, $M(Q25;Q75)$					
5	Задержка окостенения в лобковой кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 6)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
10	Отсутствие окостенения в лобковой кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 20)	10 (0; 33,3)	45 (10; 77.5)	40 (0; 80)
	Задержка окостенения седалищной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 10)	0 (0; 0)
15	Отсутствие окостенения седалищной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 10)	0 (0; 50) **
20	Задержка окостенения затылочной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
25	Отсутствие окостенения затылочной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 50)
30	Задержка окостенения межтеменной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 12)	0 (0; 40)
	Отсутствие окостенения межтеменной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 33)
35	Задержка окостенения теменной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 20)	0 (0; 0)	0 (0; 40)	10 (0; 37)	0 (0; 75)
40	Отсутствие окостенения теменной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 33)
	Задержка окостенения лобной кости , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 10)	0 (0; 50)
45						

5	Отсутствие окостенения у дугах позвонков поясничного отдела позвоночника , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 12)	0 (0; 20)	0 (0; 0)
10	Отсутствие окостенения у телах позвонков поясничного отдела позвоночника , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 20)	0 (0; 0)
15	Отсутствие окостенения в дугах позвонков крестцового отдела позвоночника , %, $M(Q25;Q75)$	17 (0; 20)	0 (0; 40)	29 (0; 60)	50 (0; 100) ***	75 (40; 100) */**	33 (0; 83)
20	Отсутствие окостенения в телах позвонков крестцового отдела позвоночника , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 28)	0 (0; 20)	29 (0; 60) *	66 (20; 100) */**	20 (0; 80)
25	Количество центров окостенения в поясничному отделе позвоночника , $M \pm t$	17,9±0,02	17,9±0,05	17,5±0,46	17,2±0,47	17,2±0,39	17,4±0,35
30	Количество центров окостенения в крестцовому отделе позвоночника , $M \pm t$	10,97±0,50	9,89±0,75	9,81 ±0,78	8,0±0,83 *	7,74±0,80 *	9,26±0,78
35	Количество центров окостенения в груди , $M \pm t$	3,35±0,28	3,20±0,30	2,85±0,32	1,64±0,37 *	1,57±0,27 *	2,41 ±0,36
40	Наличие 14-го рудиментарного ребра , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 20)
45	Укорочение 13-	0	0	0	0	0	0

	го ребра , %, $M(Q25;Q75)$	(0; 0)	(0; 0)	(0; 0)	(0; 0)	(0; 0)	(0; 0)
	Увеличение темени , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 20)	0 (0; 16)	0 (0; 20)	12 (0; 70)	60 (0; 80) */**	0 (0; 33)
5	Слияние дуг , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 20)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
	Отсутствие грудных дуг , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)
10	Перерыв в ленте , %, $M(Q25;Q75)$	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	0 (0; 0)

Примечание : * - статистически значимые отличия с интактным ,

** - с негативным контролем , критерий Манна -Уитни (p < 0,05).

15 Такие микроорганизмы как *Pseudomonas aeruginosa*, *Burgholderia cepacia*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *C.albicans*, *Klebsiella pneumoniae*, вызывают следующие заболевания ЖКТ :

- *Pseudomonas aeruginosa* : энтерит , колит , дисбактериоз , энтероколит ;
- 20 - *Burgholderia cepacia* : перитонит ;
- *Staphylococcus aureus* : диарея , колопроктиты ;
- *E.coli*: дисбактериоз , эшерихиозы ;
- *C.albicans*: кандидоз ;
- *Klebsiella pneumoniae* : дисбактериоз , гастрит , гастродуоденит ,

25 острый энтерит , энтероколит .

Для определения эффективности использования декамтоксина перорально для лечения заболеваний ЖКТ , которые вызываются отмеченными микроорганизмами , авторами были проведены следующие исследования :

- 30 1. Были проведенные исследования специфической антимикробной активности декамтоксина на нескольких научно -исследовательских базах :
- а) Проводили исследование *in vitro* разных концентраций декамтоксина на 8 музейных штаммах микроорганизмов и 14 штаммах -
- 35 клинических изолятах методом серийных разведений в твердой питательной среде и методом диффузии в агар .

Результаты исследования представлены в таблицах 54-62.

40

45

Таблица 54

Влияние разных концентраций декаметоксина (в массовых %)
на *Pseudomonas aeruginosa*

№п/п	Вид микроорганизма	Наличие и интенсивность роста при посеве на среду с разной концентрацией препарата				
		0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	Контроль
5	1 P.aeruginosa 2293	+	+	-	-	+
	2 P.aeruginosa 1299	+	+	-	-	+
	3 P.aeruginosa 1327	+	±	±	-	+
	4 P.aeruginosa 1642	+	+	±	-	+
	5 P.aeruginosa 1645	+	+	+	-	+
10	6 P.aeruginosa 1644	+	+	±	-	+
	7 P.aeruginosa 2268	+	±	±	-	+
	8 P.aeruginosa 2306	+	+	±	-	+
	9 P.aeruginosa 6756	+	+	-	-	+
15	10 Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	+	+	-	-	+
	11 Pseudomonas aeruginosa 6218	+	+	-	-	+

- 25 «+» - интенсивный рост микроорганизмов ;
 «±» - незначительный рост (одиночные колонии);
 «-» - отсутствие роста ;

Таблица 55

30 Влияние разных концентраций декаметоксина (в массовых %)
на *Burgholderia cepacia*

№п/п	Вид микроорганизма	Наличие и интенсивность роста при посеве на среду с разной концентрацией декаметоксина				
		0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	Контроль
35	1 Burgholderia cepacia 317	-	-	-	-	+
	2 Burgholderia cepacia 312	-	-	-	-	+
	3 Burgholderia cepacia 311	+	+	-	-	+
40	4 Burgholderia cepacia 321	+	-	-	-	+

Таблица 56

Влияние разных концентраций раствора декаметоксина (в массовых %) на *S. aureus*, *E.coli*, *C.albicans*

5

10

15

20

№п/п	Вид микроорганизма	Наличие и интенсивность роста при посеве на среду с разной концентрацией препарата				
		0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	Контроль
1	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	+
2	<i>Staphylococcus aureus</i> 1273	-	-	-	-	+
3	<i>Staphylococcus aureus</i> 1629	-	-	-	-	+
4	<i>Staphylococcus aureus</i> 6538	-	-	-	-	+
5	<i>Staphylococcus aureus</i> 1260	-	-	-	-	+
6	<i>E.coli</i>	-	-	-	-	+
7	<i>C.albicans</i>	-	-	-	-	+

Таблица 57

Установление противомикробной активности разных концентраций раствора декаметоксина (в массовых %) по отношению к клинически -изолированным штаммам *Pseudomonas aeruginosa* методом диффузии в агар ("метод лунок")

25

30

35

40

45

Nsn/n	Вид микроорганизма	Зона задержки роста (в мм) для разных концентраций декаметоксина				
		0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	Контроль
		1	2	3	4	
1	<i>P.aeruginosa</i> 2293	0	14	16	18	0
2	<i>P.aeruginosa</i> 1299	14	16	18	20	0
3	<i>P.aeruginosa</i> 1327	12	15	18	19	0
4	<i>P.aeruginosa</i> 1642	15	16	18	20	0
5	<i>P.aeruginosa</i> 1645	13	14	16	17	0
6	<i>P.aeruginosa</i> 1644	12	15	19	21	0
7	<i>P.aeruginosa</i> 2268	13	16	20	23	0
8	<i>P.aeruginosa</i> 2306	13	16	19	21	0
9	<i>P.aeruginosa</i> 6756	0	13	16	18	0
10	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	15	17	19	20	0
11	<i>P. aeruginosa</i> 6218	15	17	20	22	0

Таблица 58

5 Установление противомикробной активности разных концентраций раствора
декаметоксина (в массовых %) по отношению к музейным культурам
Burgholderia cepacia методом диффузии в агар ("метод лунок ")

10	№п/п	Вид микроорганизма	Зона задержки роста (в мм) для разных концентраций декаметоксина				
			0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	Контроль
15	1	Burgholderia cepacia 311	0	15	19	21	0
	2	Burgholderia cepacia 312	13	21	23	24	0
	3	Burgholderia cepacia 317	18	21	24	24	0
	4	Burgholderia cepacia 321	17	19	21	27	0

Таблица 59

20 Установление противомикробной активности разных концентраций раствора
декаметоксина (в массовых %) по отношению к клинически -изолированным
штаммам Staphylococcus aureus и музейных культур S.aureus, E.coli, Candida
albicans методом диффузии в агар ("метод лунок ")

25	№п/п	Вид микроорганизма	Зона задержки роста (в мм) для разных концентраций декаметоксина				
			0,02%	0,05%	0,1%	0,2%	контроль
30	1	Staphylococcus aureus ATCC 25923	18	20	22	24	0
	2	Staphylococcus aureus 1273	17	20	22	24	0
	3	Staphylococcus aureus 1629	18	20	21	23	0
	4	Staphylococcus aureus 6538	19	21	22	25	0
	5	Staphylococcus aureus 1260	20	22	24	25	0
35	4	E.coli	15	17	19	21	0
	5	C.albicans	18	20	22	23	0

40

45

Таблица 60

Установление "времени гибели" музейного и клинически -изолированных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в зависимости от концентрации декаметоксина (в массовых %) во времени его влияния на микроорганизм

5

10

15

20

25

№п/п	Штамм м/о	Наличие и интенсивность роста при посеве														
		Через 1 час					Через 3 часа					Через 24 часа				
		0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	контроль	0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	контроль	0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	контроль
1	<i>P. aeruginosa</i> 2293	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
2	<i>P. aeruginosa</i> 1299	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
3	<i>P. aeruginosa</i> 1327	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
4	<i>P. aeruginosa</i> 1642	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
5	<i>P. aeruginosa</i> 1645	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
6	<i>P. aeruginosa</i> 1644	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
7	<i>P. aeruginosa</i> 2268	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+
8	<i>P. aeruginosa</i> 2306	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+
9	<i>P. aeruginosa</i> 6756	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
10	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
11	<i>P. aeruginosa</i> 6218	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+

Таблица 61

Установление "времени гибели" музейных культур *Burgholderia ceracia* в зависимости от концентрации декаметоксина (в массовых %) и времени его влияния на микроорганизм

35

40

45

№п/п	Штамм м/о	Наличие и интенсивность роста при посеве														
		Через 1 час					Через 3 часа					Через 24 часа				
		0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	контроль	0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	контроль	0,02%	0,05%	0,2%	0,2%	Контроль
1	<i>B. ceracia</i> 311	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
2	<i>B. ceracia</i> 312	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
3	<i>B. ceracia</i> 317	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+
4	<i>B. ceracia</i> 321	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+

Таблица 62

Установление "времени гибели" клинически -изолированных штаммов *Staphylococcus aureus*, музейных культур *S.aureus*, *E.coli*, *Candida albicans* в зависимости от времени влияния

5 0,2 массовых % раствора декаметоксина на микроорганизмы

№п/п	Штамм м/о	Наличие и интенсивность роста при посеве				
		Через 30 мин.	Через 1 час	Через 3 часа	Через 24 часа	Контроль росту
10	1 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	-	-	-	-	+
	2 <i>Staphylococcus aureus</i> 1273	±	-	-	-	+
	3 <i>Staphylococcus aureus</i> 1629	+	±	±	-	+
	4 <i>Staphylococcus aureus</i> 6538	-	-	-	-	+
15	5 <i>Staphylococcus aureus</i> 1260	-	-	-	-	+
	6 <i>E.coli</i>	+	+	-	-	+
	7 <i>C.albicans</i>	+	+	±	-	+

20 Выводы по результатам исследований .

1. Наибольшую чувствительность к раствору декаметоксина проявляют стафилококки и грибы рода *Candida*, меньшую - буркгольдерии . Наиболее резистентными оказались музейные и клинические штаммы псевдомонад .

25 2. Декаметоксин в концентрации 0,02 массовых % активный относительно стафилококков и грибов рода *Candida*; в концентрации 0,05 массовых % - относительно буркгольдерий и некоторых штаммов псевдомонад ; в концентрации 0,1 массовых % - относительно всех использованных микроорганизмов .

30 3. Установлена корреляция антимикробного действия декаметоксина на разные виды микроорганизмов от времени влияния его раствора . При контакте с микроорганизмами в течение 24 часов декаметоксин обнаруживает выраженное бактерицидное действие даже на мультирезистентные клинически -изолированные штаммы *P.aeruginosa* в минимальной концентрации - 0,02 массовых % .

35 б) Проводили исследование специфической активности *in vitro* путем определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) декаметоксина методом серийных разведений и чувствительности к декаметоксину методом диффузии в агар на 6 штаммах микроорганизмов и исследования *in vivo* (на 64 крысах) на 2 моделях инфекционного колoproктита , вызванного *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* со следующим определением внешних , клинико -лабораторных , микробиологических показателей .

40 Результаты определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) минимальной бактерицидной концентрации (МБК) 0,02%% раствора

декаметоксину методом серийных разведений представлены в таблице 63.

Таблица 63

Характеристика антимикробной активности 0,02 массовых % раствора декаметоксина методом кратных серийных разведений

5

10

15

Показатели	МИК, мкг/мл	МБК, мкг/мл
Микроорганизм		
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,7±1,2	3,2±2,3
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2,2±1,8	4,1±2,4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	166,6±64,5	208,3±64,5
<i>Escherichia coli</i>	10,4±4,0	15,6±8,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,6±0,9	2,7±1,1
<i>Bacillus subtilis</i>	18,2±6,3	26,0±18,9
<i>Candida albicans</i>	9,75±4,7	15,6±8,5

Результаты изучения антимикробной активности декаметоксину методом колодцев приведены в таблице 64.

20

Таблица 64

Характеристика антимикробной активности 0,02 массовых % раствора декаметоксина за влиянием на зону роста микроорганизмов методом диффузии в агар (колодцев)

25

30

35

Показатель	Зона задержки роста микроорганизма, мм
Микроорганизм	
<i>Staphylococcus aureus</i>	41,16±4,79
<i>Streptococcus pyogenes</i>	38,20±13,70
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	14,60±2,30
<i>Escherichia coli</i>	24,50±2,70
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	34,30±11,70
<i>Bacillus subtilis</i>	23,60±2,80
<i>Candida albicans</i>	29,00±4,50

40

45

По результатам проведенных исследований установлено, что декаметоксин в виде раствора проявил выраженную антимикробную активность, относительно грамположительных (*S.aureus*, *S.pyogenes*, *B.subtilis*), так и грамотрицательных (*E.coli*, *K.pneumoniae*) микроорганизмов. По отношению к *P.aeruginosa* антимикробная активность менее выражена. Относительно грибов рода *Candida* декаметоксин проявил выраженную фунгистатическую активность. Таким образом, декаметоксин проявляет выраженную противомикробную активность в условиях *in vitro* и может быть

рекомендованный для лечения кишечных инфекций .

2. Были проведенные исследования эффективности декаметоксина in vivo на моделях инфекционного колoproктита у крыс (n=32), вызванного S. aureus и P. aeruginosa, с морфологической верификацией по сравнению с Нифуроксазидом .

Результаты исследований на модели колoproктита , вызванного S. Aureus, представленные в таблице 65-70.

Таблица 65

- 10 Дизайн изучения антимикробной активности 0,02 массовых % раствора декаметоксина в условиях модели инфекционного колoproктита у крыс , вызванного S.aureus

15	Экспериментальные группы	инфицирующая доза микроорганизмов S.aureus	Доза раствора, мл/кг	Количество крыс в группе
	Интakтный (оперируемый) контроль (ИОК)	—	—	8
20	Контрольная патология (КП)	1×10^8	—	8
	0,02% раствор декаметоксина	1×10^8	3,0	8
	Нифуроксазид	1×10^8	1,2	8

25

Таблица 66

Динамика массы тела крыс в условиях инфекционного колoproктита , вызванного S.aureus, под воздействием декаметоксина и Нифуроксазида

30	Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
	Исходное состояние	131±4	131±4	131±3	131±3
	1 сутки	118±4	119±4	113±2	121±3
	4 сутки	127±5	131±4	134±3	129±5
35	7 сутки	147±4	136±3*	151±5**	133±5

Примечания .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль , КП - контрольная патология .

* - Отклонения значимы относительно ИОК , p 0 ,05.

** - Отклонения значимы относительно КП, p <0,05

40

45

Таблица 67

Динамика степени инфицирования фекалий крыс в условиях инфекционного колoproктита, вызванного *S.aureus*, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина и Нифуроксазида

Показатели	Колониеобразующих единиц, КОЕ/мл			
	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
3 сутки	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$8,6 \cdot 10^7$
6 сутки	$2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^6$	$5,3 \cdot 10^5$	$3,9 \cdot 10^6$

Примечание . ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

Таблица 68

Гематологические показатели крыс в условиях инфекционного колoproктита, вызванного *S.aureus*, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина и Нифуроксазида ($\bar{X}(X_{min} \div X_{max})$, $\bar{X} \pm S_x$)

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
Гемоглобин, г/л	155,58±4,39	150,35±2,98	156,63±7,00	166,74±2,68
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,02±0,08	5,06±0,10	5,03±0,14	5,46±0,07
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	23,39±2,32	18,61±1,09	22,00±2,36	19,70±1,71
Лейкоцитарная формула, %:				
Нейтрофилы палочкоядерные	1,0 (0,0÷2,0)	5,3 (4,0÷6,0)*	2,7 (0,0÷6,0)	3,8 (1,0÷6,0)*
Нейтрофилы сегментоядерные	12,0 (8,0÷19,0)	26,1 (22,0÷31,0)*	24,4 (21,0÷29,0)*	31,3 (11,0÷58,0)*
Эозинофилы	0,83 (0,0÷2,0)	4,0 (3,0÷6,0)*	1,3 (0,0÷3,0)**/****	3,5 (2,0÷6,0)*
Лимфоциты	84,5 (77,0÷90,0)	59,5 (54,0÷64,0)*	68,0 (64,0÷75,0)*/**	59,8 (39,0÷81,0)*
Моноциты	1,7 (1,0÷3,0)	5,0 (3,0÷6,0)*	4,1 (1,0÷6,0)*/**	1,5 (0,0÷3,0)**

ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

* - Отклонения значимы относительно оперируемого контроля, $p < 0,05$

** - Отклонения значимы относительно контрольной патологии, $p < 0,05$.

*** - Отклонение значимые относительно препарата сравнения, $p < 0,05$.

Таблица 69

Показатели гемостазу крыс в условиях инфекционного колoproктита ,
вызванного S.aureus, под воздействием 0,02 массовых % раствора
декаметоксина и Нифуроксазида

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
Время свертывания, с	149,33±10,43	153,29±14,61	164,43±14,03	155,71±7,97
Фибриноген, г/л	3,52±0,77	3,37±0,56	4,12±0,66	3,37±0,56
Протромбино- вое время, с	23,98±4,78	28,90±6,36	20,67±3,16	27,78±6,58

Примечание . ИОК - интактный (оперируемый) контроль , КП - контрольная
патология

Таблица 70

Биохимические показатели сыворотки крови крыс при инфекционном
колопроктите , вызванному S.aureus, под воздействием 0,02 массовых %
раствора декаметоксина и Нифуроксазида $\{\bar{X} \pm S_{\bar{X}}\}$

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
Мочевина, ммоль/л	4,61±0,11	4,14±0,22	4,43±0,30#	5,12±0,24**
АлАТ, ммоль/л·час	0,38±0,02	0,47±0,02*	0,45±0,02*	0,55±0,02*
АсАТ, ммоль/л·час	0,76±0,04	0,85±0,05	0,81±0,04	0,82±0,02
Креатинин, ммоль/л	0,091±0,008	0,082±0,004	0,076±0,005	0,082±0,006
Общий белок, г/л	64,63±1,43	57,71±1,52	56,69±2,74	56,64±2,49
Щелочная фосфатаза, мкмоль/л	7,18±1,27	6,03±0,61	5,26±0,43	8,66±0,85

Примечания .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль , КП - контрольная патология .

* - Отклонения значимы относительно ИОК , $p < 0,05$.

** - Отклонения значимы относительно КП , $p < 0,05$.

- Отклонение значимые относительно препарата сравнения , $p < 0,05$.

В условиях инфекционного колoproктита , вызванного S.aureus, при
пероральном применении 0,02 массовых % раствор декаметоксина проявляет
выраженные антимикробные свойства , которые превосходят антимикробную
активность Нифуроксазида и способствуют возобновлению функционального
состояния организма животных .

Так , в отличие от Нифуроксазида , декаметоксин вызывает

достоверное по сравнению с группой контрольной патологии увеличения на 11 % массы тела животных .

5 Выраженная антимикробная активность декаметоксина подтверждается снижением по сравнению с группой контрольной патологии почти на порядок (в 7,5 раза) числа колониеобразующих единиц возбудителя на 6-й день эксперимента , в то время как под воздействием Нифуроксазида этот показатель остается на уровне группы контрольной патологии .

10 При выраженности антимикробного действия декаметоксин превосходит референтный нифуроксазид в 7,4 раза . О терапевтическом эффекте и антимикробном действии декаметоксина свидетельствует достоверное по сравнению с группой контрольной патологии возобновления показателей лейкоцитарной формулы : эозинофилов , лимфоцитов и моноцитов . Декаметоксин имеет заметный позитивный эффект на развитие патологического процесса в толстой кишке крыс . Он способствует очистке 15 поверхности слизистой оболочки от очагов колонизации микроорганизмов , препятствует разрушению поверхностного эпителия , уменьшает заживательную клеточную инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки . По лечебному эффекту декаметоксин превосходит препарат сравнения "Нифуроксазид " на модели инфекционного колoproктита , 20 вызванного *S. Aureus*.

Результаты исследований на модели инфекционного колoproктита , вызванного *P.aeruginosa*, представлены в таблицах 71-76.

Таблица 71

25 Дизайн изучения антимикробной активности 0,02 массовых % раствора декаметоксина в условиях модели инфекционного колoproктита у крыс , вызванного *P.aeruginosa*

30	Экспериментальные группы	Инфицирующая доза микроорганизмов <i>P.aeruginosa</i>	Доза, мл/кг	Количество крыс в группе
	Интakтный оперированный контроль (ИОК)	—	—	8
	Контрольная патология (КП)	1×10^8	—	8
35	0,02% раствор декаметоксина	1×10^8	3,0	8
	Нифуроксазид	1×10^8	1,2	8

40

45

Таблица 72

Динамика массы тела крыс в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *P.aeruginosa*, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина и Нифуроксазида

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствора декаметоксина	Нифуроксазид
Исходное состояние	131±4	131±4	133±3	135±5
1 сутки	118±4	119±4	119±3	121±5
4 сутки	127±5	131±4	140±4	143±5
7 сутки	147±4	136±3*	155±6**	148±8

Примечания .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

* - Отклонения значимы относительно ИОК, $p < 0,05$.

** - Отклонения значимы относительно КП, $p < 0,05$.

Таблица 73

Динамика степени инфицирования крыс в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *P.aeruginosa*, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксина и Нифуроксазида

Показатели	Колониеобразующие единицы, КОЕ/мл			
	ИОК	КП	0,02% раствора декаметоксина	Нифуроксазид
3 суток	$4 \cdot 10^3$	$9 \cdot 10^7$	$5,9 \cdot 10^7$	$20,1 \cdot 10^7$
6 суток	$3 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^6$	$3,3 \cdot 10^6$	$17,8 \cdot 10^7$

Примечание . ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология

Таблица 74

Гематологические показатели крыс в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *P.aeruginosa*, под воздействием 0,02 массовых % раствора декаметоксину и Нифуроксазиду ($\bar{X} (X_{\text{тт}} \div X_{\text{таx}})$, $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$)

5

10

15

20

25

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствора декаметоксина	Нифуроксазид
Гемоглобин, г/л	155,58±4,39	144,94±4,65	146,05±3,43	162,51±5,45
Эритроциты, 10 ¹² /л	5,02±0,08	4,88±0,07	4,96±0,08	5,30±0,13
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	23,39±2,32	21,42±0,94	19,38±1,70	20,25±1,17
<i>Лейкоцитарная формула, %:</i>				
Нейтрофилы палочкоядерные	1,0 (0,0÷2,0)	5,3 (4,0÷7,0) *	1,5 (0,0÷3,0) **/***	4,4 (2,0÷5,0)
Нейтрофилы сегментоядерные	12,0 (8,0÷19,0)	29,0 (22,0÷36,0) *	28,3 (21,0÷37,0) */***	16,0 (7,0÷26,0) */**
Эозинофилы	0,83 (0,0÷2,0)	3,5 (2,0÷5,0) *	0,6 (0,0÷2,0) **	2,4 (0,0÷6,0)
Лимфоциты	84,5 (77,0÷90,0)	58,5 (50,0÷78,0) *	64,7 (57,0÷72,0) */***	74,9 (62,0÷85,0) */**
Моноциты	1,7 (1,0÷3,0)	3,8 (3,0÷4,5) *	4,8 (2,0÷9,0) */***	2,4 (1,0÷3,0) **

Примечания .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

* - Отклонения значимы относительно оперируемого контроля, $p < 0,05$.

** - Отклонение значимые относительно контроля патологии, $p < 0,05$.

30 *** - Отклонение значимые относительно препарата сравнения, $p < 0,05$.

Таблица 75

Показатели гемостазу крыс в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *P.aeruginosa*, под воздействием 0,02 массовые %% раствору декаметоксину и Нифуроксазида

40

45

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
Время свертывания крови, с	149,33±10,43	174,50±8,55	149,33±10,72	149,67±7,95
Фибриноген, г/л	3,52±0,77	4,30±0,70	5,62±0,25*	5,17±0,17*
Протромбиновое время, с	23,98±4,78	23,94±3,62	22,18±2,77	15,93±3,49*

Примечание .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

* - Отклонения значимы относительно оперируемого контроля, $p < 0,05$.

5

Таблица 76

Биохимические показатели сыворотки крови крыс в условиях инфекционного колoproктита, вызванного *P.aeruginosa*, под воздействием 0,02 массовых % раствору декаметоксина и Нифуроксазида ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$)

10

Показатели	ИОК	КП	0,02% раствор декаметоксина	Нифуроксазид
Мочевина, ммоль/л	4,61±0,11	6,60±0,36*	5,98±0,74	6,96±0,61*/**
АлАТ, ммоль/л*час	0,38±0,02	0,39±0,03	0,46±0,02*	0,60±0,08*/**
15 АсАТ, ммоль/л*час	0,76±0,04	0,88±0,06	0,75±0,04	0,88±0,06
Креатинин, ммоль/л	0,091±0,008	0,078±0,005	0,091±0,004	0,083±0,010
Общий белок, г/л	64,63±1,43	60,70±1,62	59,71±2,81	67,49±3,75
20 Щелочная фосфатаза, мкмоль/л	7,18±1,27	4,70±0,51	5,15±0,61	4,78±0,51

Примечания .

ИОК - интактный (оперируемый) контроль, КП - контрольная патология.

* - Отклонения значимы относительно ИОК, $p < 0,05$.

25

** - Отклонения значимы относительно КП, $p < 0,05$.

- Отклонение значимые относительно препарата сравнения, $p < 0,05$.

Аналогичные результаты были получены и при исследовании концентраций до 0,2 массовых % декаметоксина.

30

В условиях инфекционного колoproктита, вызванного *P.aeruginosa*, при пероральном применении 0,02-0,2 массовых % раствора декаметоксина проявляет выраженные антимикробные свойства, которые превосходят антимикробную активность Нифуроксазида и способствуют возобновлению функционального состояния организма животных. Так, в отличие от

35

Нифуроксазида декаметоксин вызывает достоверное по сравнению с группой контрольной патологии увеличения на 11 % массы тела животных. Гиперфибриногенемия на фоне как декаметоксина, так и Нифуроксазида, не приводила к повышению свертывания крови, так как время свертывания не испытывало изменений. Выраженная антимикробная активность

40

декаметоксина подтверждается снижением против группы контрольной патологии в 1,8 раза числа колониеобразующих единиц на 6-й день эксперимента, в то время как под воздействием Нифуроксазида данный показатель остается на уровне группы контрольной патологии. При выраженности антимикробного действия декаметоксин превосходит

45

референтный Нифуроксазид в 54 раза. О терапевтическом эффекте

декаметоксина свидетельствует достоверное по сравнению с группой контрольной патологии возобновления показателей лейкоцитарной формулы : нейтрофилов палочкоядерных и эозинофилов . Результаты морфологических исследований свидетельствуют , что декаметоксин имеет выраженный

5 лечебный эффект на развитие патологического процесса в толстой кишке крыс . Способствует очистке поверхности слизистой оболочки от очагов колонизации микроорганизмов , уменьшает заживательную клеточную инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки , препятствует разрушению поверхностного эпителия . Декаметоксин превосходит препарат

10 сравнения "Нифуроксазид " по благоприятному влиянию на развившуюся экспериментальную патологию - колопроктит , вызванный синегнойной палочкой .

3. Проводили исследование определения антимикробной активности декаметоксина in vitro на штаммах микроорганизмов кишечной

15 группы (*S. aureus*, *P. aeruginosa* и *E. coli*., *C. albicans*, *S. paratyphi*) при разных значениях pH среды , влияние декаметоксина на пленкообразование и накопление биомассы

Результаты исследования представлены в таблицах 77-79.

20

Таблица 77

Антибактериальная активность раствора декаметоксина

25

Микроорганизмы	МИК, мкг/мл			
	Грампозитивные бактерии			
<i>S. aureus</i> 042012	pH 5,1±0,2	pH 6,3±0,4	pH 7,15±0,2	pH 8,0±0,1
	1,25	1,25	0,62	0,62
Грамотрицательные бактерии				
<i>E. coli</i> 1512	12,5	6,25	6,25	3,12
<i>S. paratyphi</i> B 252	0,62	1,25	1,25	0,62
<i>P. aeruginosa</i> 2094	50,0	50,0	50,0	25,0

30

35

Таблица 78

Антифунгальная активность раствора декаметоксина

40

Микроорганизм	МИК, мкг/мл			
	pH 4,1±0,3	pH 5,1±0,2	pH 6,3±0,4	pH 7,15±0,2
<i>C. albicans</i> 1486	25,0	6,25	6,25	6,25

45

Таблица 79

Диаметры зон задержки роста микроорганизмов в присутствии декаметоксина
при условии разных значений pH ($M \pm m$)

5	Микроорганизмы	Дозы	Зона задержки роста (d, мм)			
			pH 8,0±0,1	pH 7,15±0,2	pH 6,4±0,3	pH 5,1±0,2
	1	2	3	4	5	6
10	E. coli 1512	100,0 мкг	24,2±1,08	23,8±2,58	21,2±0,08	22,3±0,25
		50,0 мкг	22,7±0,33	22,2±1,08	18,7±0,08	20,0±0,08
		25,0 мкг	20,7±0,33	19,7±0,08	17,2±0,08	17,5±0,05
		10,0 мкг	18,5±0,05	17,2±0,08	13,3±0,33	13,7±0,25
15	P. aeruginosa 2094	100,0 мкг	24,8±0,08	20,3±0,33	11,7±0,33	-
		50,0 мкг	21,5±0,25	17,8±0,08	-	-
		25,0 мкг	18,7±0,08	14,7±0,58	-	-
		10,0 мкг	14,0±3,0	-	-	-
20	S. aureus 042012	100,0 мкг	29,8±1,12	30,2±0,08	29,2±1,08	30,5±0,25
		50,0 мкг	29,3±1,12	29,0±1,75	27,8±0,08	28,5±0,25
		25,0 мкг	28,0±0,5	27,5±0,75	26,0±0,05	26,3±0,58
		10,0 мкг	26,0±0,5	25,2±0,58	24,0±0,25	23,6±0,58
25	S. paratyphi B 252	100,0 мкг	29,2±0,08	28,7±0,58	27,7±0,58	32,8±0,58
		50,0 мкг	27,0±0,05	26,7±1,33	26,2±0,58	30,3±0,58
		25,0 мкг	25,3±0,33	24,5±0,75	24,5±0,25	28,0±0,25
		10,0 мкг	23,8±0,08	22,8±0,58	22,3±0,08	25,5±0,08
30	C. albicans 1486		pH 7,15±0,2	pH 6,3±0,4	pH 5,1±0,2	pH 4,1±0,3
		100,0 мкг	21,8±0,08	20,3±0,08	20,0±0,05	#
		50,0 мкг	20,2±0,08	18,7±0,08	19,3±0,33	#
		25,0 мкг	18,0±0,25	16,8±0,08	17,5±0,75	#
		10,0 мкг	17,3±1,33	15,3±2,33	15,8±1,08	#

Примечание : "-" - зона задержки роста отсутствует ;

"#" - исследования не проводились .

Выводы .при результатами исследованиях .

35 1. Установлено , что раствору декаметоксина присущая выраженные противомикробные свойства по отношению к P. aeruginosa, E. coli, S. aureus, S. paratyphi и C. albicans. Степень выраженности ингибирующего эффекта раствора декаметоксина зависит от вида микроорганизма и показателя pH. Антибактериальная активность декаметоксина относительно тестовых штаммов бактерий и грибов усиливалась в щелочной среде . .

40 2. Декаметоксин во всех исследованных в разных дозах (10,0 мкг, 25,0 мкг, 50,0 мкг 100,0 мкг) проявляет выраженные антимикробные свойства . Диаметры зон задержки роста тестовых микроорганизмов изменяются в зависимости от вида микроорганизма и показателя pH. Наибольшая активность
45 раствора декаметоксина по отношению к P. aeruginosa, S. aureus, E. coli

наблюдается при pH 8,0±0,1, относительно *C. albicans* - при 7,15±0,2, по отношению к *S. paratyphi* при значениях pH 8,0±0,1 и 5,1±0,2.

3. Раствор декаметоксина дозозависимо нарушает пленкообразование микроорганизмов. По степени ингибирующего влияния по отношению к биопленкам *P. aeruginosa* и *E. coli* активность исследуемого раствора декаметоксина изменялась в зависимости от показателя pH. Наиболее выраженное ингибирующее действие декаметоксина регистрируется при показателе pH 8,0±0,1 в концентрации 10,0 МИК.

4. Установлено, что формирование биомассы микроорганизмов при действии декаметоксина зависит от концентрации вещества, времени экспозиции и pH среды. Угнетение прироста биомассы *E. coli* наблюдается уже через 1 час при значениях pH 8,0±0,1 и усиливается с увеличением срока инкубации. Выраженное ингибирующее действие относительно *S. paratyphi* наблюдается через 24 и 48 часов в кислой и щелочной среде. Ингибирование роста и размножения *P. aeruginosa* наблюдается начиная с 6 часов действия декаметоксина при pH 6,3±0,4 и усиливается с увеличением срока инкубации. *S. aureus* обнаруживает чувствительность к действию декаметоксина в первые часы действия (через 6 час) при pH 5,1±0,2. Через 24 и 48 часов наиболее выраженное угнетение прироста биомассы золотистого стафилококка регистрируется при pH 5,1±0,2 и pH 6,3±0,4. Установлено, что значение pH практически не влияет на чувствительность грибов *C. albicans* к действию декаметоксина.

4. Основные патогенные вирусы человека можно подразделить на 3 категории по отделам ЖКТ, в которых они привлекаются к патологическим процессам:

- вирусы, которые вызывают острые гастроэнтериты, главным образом у детей: ротавирусы, калицивирусы, кишечные аденовирусы, астровирусы, торовирусы;
- вирусы, которые поражают слизистую оболочку толстой кишки, вирус простого герпеса типа 2 и цитомегаловирус;
- вирусы, которые вызывают изменения в эпителии анального канала и перианальной кожи, в т.ч. вирус папилломы человека.

Были проведенные исследования цитотоксичности и вирулоцидного действия декаметоксина на некоторые виды вирусов.

Изучения цитотоксичности на культурах клеток проводили на двух научно-исследовательских базах:

1) Изучали на культуре аденокарциномы человека (HEP-2) и клеточной линии почки собаки (MDCK); 2) Цитотоксичность изучали на 4 культурах клеток человека: CFTE 29 (трахеальный эпителий), АГС (эпителиальные клетки желудка, аденокарцинома), HGEPr.05 (эпителий ясен), HBER.05 (эпителий мочевого пузыря) с помощью МТТ-теста, NR-теста, теста Бредфорда.

Результаты исследования представлены в таблицах 80-84. CD50

(цитотоксическая концентрация) определяли как таковую концентрацию действующего вещества декаметоксина в мкг/мл, который вызывает цитотоксический эффект в половине из обработанных им клеточных монослоев через 72 часов наблюдения. Минимальная подавляющая концентрация (МПК) - наименьшая концентрация антибиотика (в мг/л или мкг/мл), которая *in vitro* полностью подавляет видимый рост микроорганизмов.

Результаты исследования цитотоксичности 0,02 массовых % и 0,05 массовых % декаметоксина на культуре аденокарциномы человека (HEP-2) и клеточной линии почки собаки (MDCK) показало, что чувствительность клеток к декаметоксину зависит от вида культуры клеток, и по показателям CD_{50} и МПК в культуре клеток MDCK декаметоксин был у несколько раз меньше токсичным, чем в культуре HEP-2.

CD_{50} декаметоксин в культуре HEP-2 составила 3,213 мкг / мл, а в культуре MDCK - 12,5 мкг / мл (причем конечная концентрация декаметоксина с учетом разведения в культуральной среде составила 0,01 массовых %, то есть в 2 раза меньше минимальной антисептической концентрации). МПК декаметоксина в культуре HEP-2 составила 1,563 мкг / мл, а в культуре MDCK - 6,25 мкг/мл. В обеих клеточных культурах цитотоксическое действие декаметоксина полностью реализовалось через 24 часа экспозиции и оставалось неизменным в течение 48 и 72 часов наблюдения.

Результаты исследования свидетельствуют, что декаметоксин в концентрации 0,05 массовых % имеет выраженный цитотоксический эффект на жизнеспособность клеток линии CFTE290 уже начиная со срока влияния 30 сек, декаметоксин в концентрации 0,02 массовых % - начиная со срока влияния 1 минуту ($P < 0,05$ относительно референтного препарата), декаметоксин в концентрации 0,05 массовых % - начиная со срока влияния 5 минут ($P < 0,05$ относительно референтного препарата). Подобные цитотоксические эффекты проявляют и референтные препараты Дезин (0,02 % и 0,05 %), Мирамистин (0,01 %) и Ксилометазолин (0,10 %) - увеличение срока инкубации с этими препаратами до 30 минут приводит к полной гибели клеток линии CFTE290. Препарат Сальбутамол (0,10 %) проявлял наименьший цитотоксический эффект. Декаметоксин в концентрациях 0,05 массовых % и 0,02 массовых % имеет достоверно высшую цитотоксичность относительно соответствующей концентрации Хлоргексидина при краткосрочном влиянии (0,5 и 1 минут на клетки линии AGS. Исследование влияния декаметоксина на жизнеспособность эпителиальных клеток человека линий HGEp и HBEp показало, что в концентрациях 0,02 массовых % и 0,05 массовых % достоверной разницы между цитотоксическим влиянием декаметоксина и Дезину на клетки отмеченных линий выявлено не было.

Таблица 80

Исследование цитотоксического действия декаметоксина (0,02 массовых % раствор) в культурах клеток НЕР-2 и MDCK

5

10

15

20

25

30

35

40

Исследуемый образец декаметоксина	Разведение	Концентрация, мкг/мл	Количество исследуемых клеточных монослоев	Наличие цитотоксического эффекта	CD ₅₀ мкг/мл	МПК мкг/мл
Культура клеток НЕР-2						
Декаметоксин	2 ⁻¹	100	4	4/4	3,213 (от 2,627 до 3,716)	1,563 (от 1,314 до 1,858)
	2 ⁻²	50	4	4/4		
	2 ⁻³	25	4	4/4		
	2 ⁻⁴	12,5	4	4/4		
	2 ⁻⁵	6,2	4	4/4		
	2 ⁻⁶	3,125	4	2/4		
	2 ⁻⁷	1,563	4	0/4		
	2 ⁻⁸	0,780	4	0/4		
	2 ⁻⁹	0,390	4	0/4		
	2 ⁻¹⁰	0,195	4	0/4		
Контроль клеток		нет	4	0/4		
Log ₂ CD ₅₀ =L-d(S-0,5)= -1-1(5,5-0,5)= -6,0±0,25 (от -6,25 до -5,75)						
CD ₅₀ =200,0 мкг/мл * 2 ^{-(6,0±0,25)}} =3,213 (от 2,627 до 3,716) мкг/мл						
Log ₂ МПК = -7,0±0,25 (от -7,25 до -6,75)						
МПК = 200 * 2 ^{-(7,0±0,25)}} = 1,563 (от 1,314 до 1,858)						
Культура клеток MDCK						
Декаметоксин	2 ⁻¹	100	4	4/4	12,5 (от 10,51 до 14,87)	6,25 (от 5,26 до 7,43)
	2 ⁻²	50	4	4/4		
	2 ⁻³	25	4	4/4		
	2 ⁻⁴	12,5	4	2/4		
	2 ⁻⁵	6,25	4	0/4		
	2 ⁻⁶	3,125	4	0/4		
	2 ⁻⁷	1,563	4	0/4		
	2 ⁻⁸	0,780	4	0/4		
	2 ⁻⁹	0,390	4	0/4		
	2 ⁻¹⁰	0,195	4	0/4		
Контроль клеток		нет	4	0/4		
Log ₂ CD ₅₀ =L-d(S-0,5)= -1-1(3,5-0,5)= -4,0±0,25 (от -4,25 до -3,75)						
CD ₅₀ =200,0 мкг/мл * 2 ^{-(4,0±0,25)}} =12,50 от 10,51 до 14,87) мкг/мл						
Log ₂ МПК = -5,0±0,25 (от -5,25 до -4,75)						
МПК = 200 * 2 ^{-(5,0±0,25)}} = 6,25 (от 5,26 до 7,43) мкг/мл						

45

Таблица 81

Реализация цитотоксического действия декаметоксина (0,02 массовых % раствор) в зависимости от длительности его влияния на монослой клеток

5	Культура клеток	CD ₅₀ , мкг/мл			МПК мкг/мл		
	Длительность экспозиции	24	48	72	24	48	72
	HEP-2	3,213	3,416	3,542	1,563	1,571	1,600
10	MDCK	12,50	12,70	13,09	6,25	6,74	6,42

Таблица 82

Исследование цитотоксического действия декаметоксина (0,05 массовых % раствор) в культурах клеток HEP - 2

15

Исследуемый образец декаметоксина	Концентрация, %	CD ₅₀ мкг/мл	МПК мкг/мл
Декаметоксин	0,05%	3,250 (от 2,627 до 3,716)	1,570 (от 1,314 до 1,858)

20

Таблица 83

Исследование цитотоксического действия декаметоксина (0,05 массовых % раствор) в культурах клеток MDCK

25

Исследуемый образец декаметоксина	Концентрация, %	CD ₅₀ мкг/мл	МПК мкг/мл
Декаметоксин	0,05%	12,70 (от 10,51 до 14,87)	6,50 (от 5,26 до 7,43)

30

Таблица 84

Реализация цитотоксического действия декаметоксина (0,05 массовых % раствор) в зависимости от длительности его влияния на монослой клеток

35

Культура клеток	CD ₅₀ , мкг/мл			МПК мкг/мл		
Длительность экспозиции	24	48	72	24	48	72
HEP-2	3,250	3,500	3,650	1,570	1,650	1,723
MDCK	12,70	12,85	13,20	6,50	6,85	6,980

40

Изучения вирулицидного действия декаметоксина проводили также на вирусе цитомегаловирус и на кишечном аденовирусе. Установлено, что декаметоксин обладает вирулицидным действием относительно вышеупомянутых вирусов, полностью инактивирует их 100-1000 инфекционные дозы при длительности экспозиции в течение 5 минут. Результаты исследования представлены в таблице .85.

45

Таблица 85

Определение вирулицидного действия декаметоксина по отношению
к цитомегаловирусу и кишечному аденовирусу

5

10

15

20

25

30

35

Разведение супернатантной жидкости	Количество предусмотренных инфекционных доз вируса	Длительность воздействия декаметоксина			Контроль инфекционного титра вируса
		5 минут	10 минут	30 минут	
Цитомегаловирус					
10-1	100	-	-	-	4+
10-2	10	-	-	-	4+
10-3	1	-	-	-	2+
10-4	0,1	-	-	-	-
10-5	0,01	-	-	-	-
10-6	0,001	-	-	-	-
Контроль клеток	Нет	-	-	-	-
Контроль полноты нейтрализации дезинфектанту	Нет	-	-	-	-
Кишечный аденовирус					
10-1	10000	-	-	-	4+
10-2	1000	-	-	-	4+
10-3	100	-	-	-	4+
10-4	10	-	-	-	4+
10-5	1	-	-	-	2+
10-6	0,1	-	-	-	-
Контроль клеток	Нет	-	-	-	-
Контроль полноты нейтрализации дезинфектанту		-	-	-	Цитотоксичное действие не выявлено

Для изучения влияния декаметоксина при пероральном приеме на развитие инфекционных болезней ЖКТ, было проведено исследование на пациентах.

Произведенные опыты показали неожиданный результат, который заключается в позитивных результатах лечения инфекционного колопроктита под действием декаметоксина как фармацевтически активного вещества *in vivo* при пероральном применении.

Исследовались 2 группы пациентов лечения инфекционного колопроктита:

1 группа - лечение с помощью хирургического вмешательства

2 группа - лечение без хирургического вмешательства ..

Исследование первой группы пациентов с лечением с помощью хирургического вмешательства :

В исследовании приняли участие 30 пациенты . Всем пациентам был поставлен диагноз острый инфекционный колoproктит вызван бактериями *Staphylococcus aureus*. Пациентам было назначено хирургическое вмешательство : во время операции была раскрыта гнойная полость , абсцесс , эвакуирован гной и поставлен дренаж . В дальнейшем рана заживала сама или на нее накладывались швы в зависимости от размера гноиника .

Для предотвращения перехода острой формы инфекционного колoproктита в хроническую форму проводили послеоперационную терапию : в первые дни после операции больных не кормили , давали только жидкость , начиная с 3 дня , назначалась диета .

Все включенные в исследование пациенты были разделены на 2 клинические группы (смотреть таблицы 86-87) по 15 человек : пациентам группам 1 в качестве послеоперационной терапии было назначено Нифуроксазид , пациентам группы 2 назначали 0,02-0,2 массовых % раствор декаметоксина перорально . Результаты исследований приведены в таблицах 86-88.

Таблица 86

Распределение пациентов по полу

Показатели	Группа 1	Группа 2
Мужчины	7	6
Женщины	8	9

Таблица 87

Средний возраст пациентов исследуемых групп

Показатели	Группа 1	Группа 2
Мужчины	55±3	54±1
Женщины	50±4	52±3

Таблица 88

Динамика массы тела пациентов в условиях инфекционного колoproктита , кг

Показатели	Группа 1	Группа 2
Исходное состояние	93,0	90,0
1 сутки	91,5	89,0
4 сутки	92,5	89,7
7 сутки	93,0	93,0

Исходя из данных таблице 88 видно , что по сравнению с исходным состоянием средняя масса тела пациентов при лечении Нифуроксазидом не изменилась , а при лечении раствором декаметоксина средняя масса тела пациента увеличилась на 4%.

Из отмеченной выше информации видно , что декаметоксин влияет на течение заболевания лучше Нифуроксазид : лучше заживают раны в кишечнике , налаживается усвоение питательных веществ , которое приводит к набору массы пациентов .

Таблица 89

Динамика степени инфицирования фекалий пациентов в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *Staphylococcus aureus*

Показатели	Колониеобразующих единиц, КОЕ/мл		
	Норма	Группа 1	Группа 2
3 суток	$1 \cdot 10^3$	$8,6 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$
6 суток		$3,9 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^3$

Исходя из данных в таблице 89, видно , что раствор декаметоксина лучше средства сравнения Нифуроксазид влияет на развитие *Staphylococcus aureus* в кишечнике человека , уменьшая количество колониеобразующих бактерий к норме .

Уменьшение уровню фибриногена в крови в сравнении с нормой показывает , что в организме человека имеется острая инфекция , потому увеличение его количества при послеоперационной терапии говорит об уменьшении количеству инфекционных возбудителей в организме и его выздоровлении . Как видно из таблицы 91 декаметоксин быстрее приводит уровень фибриногена к норме , что показывает его явное преимущество перед средством сравнения Нифуроксазидом .

Увеличение протромбинового времени показывает , что в организме человека не усваивается витамин К и развитие дисбактериоза в кишечнике . В этом случае видно , что декаметоксин улучшает состояние кишечника в 4 раза быстрее чем Нифуроксазид .

Как видно из данных в таблице 92, показатели печеночных и почечных проб пациентов находятся в пределах нормы , но явно видно , что при использовании Нифуроксазиду показатели сильно сдвигаются к нижнему пределу нормы , а при использовании раствора декаметоксину показатели почти не изменяются , что показывает значительное преимущество использования декаметоксину без вреда для метаболизма человека .

Таблица 90

Гематологические показатели пациентов в условиях
инфекционного колoproктита , вызванного S.aureu

5

10

15

20

25

30

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 суток	6 суток	3 суток	6 суток
Гемоглобин, г/л	137,0-171,0	160,0	162,0	158,0	159,0
Эритроциты, 10^{12} клеток/л	4,1-5,5	4,3	4,6	5	5,1
Лейкоциты, 10^9 клеток/л	4,0-10,0	15	12	15	10
Лейкоцитарная формула, %:					
Базофилы	0-1	0	0	0	0
Эозинофилы	0,5-5,0	0,2	0,4	0,2	0,8
Миелоциты	0	0	0	0	0
Юнни нейтрофилы	0	0	0	0	0
Нейтрофилы палочкоядерные	1,0-6,0	9	6	10	5
Нейтрофилы сегментоядерные	45,0-72,0	58,8	64,6	56,8	64,2
Лимфоциты	19,0-37,0	18	19	18	22
Моноциты	1,0-10,0	14	11	15	8

Таблица 91

Показатели гемостаза пациентов в условиях
инфекционного колoproктита , вызванного S.aureus

35

40

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 суток	6 суток	3 суток	6 суток
Время свертывания, мин	5-10	5,5	5	5,2	5,6
Фибриноген, г/л	2-4	1,8	2,3	1,8	2,5
Протромбиновое время, с	12-20	24	20	25	15

45

Таблица 92

Биохимические показатели сыворотки крови пациентов при инфекционном колoproктите, вызванному *S.aureus*

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 суток	6 суток	3 суток	6 суток
Мочевина, ммоль/л	3,3-6,6	3,3	4,3	4,5	4,5
АлАТ, ммоль/л·час	0,1-0,68	0,31	0,44	0,45	0,45
АсАТ, ммоль/л·час	0,1-0,45	0,2	0,32	0,39	0,39
Креатинин, ммоль/л	0,044-0,177	0,72	0,72	0,83	0,825
Общий белок, г/л	65-85	65	70	72	76
Щелочная фосфатаза, мкмоль/л	1-3	1,5	2,3	2,2	2,3

Исследование второй группы пациентов с лечением без хирургического вмешательства.

В исследовании приняли участие 30 пациенты. Всем пациентам был поставлен диагноз - острый инфекционный колoproктит, вызванный бактериями *Staphylococcus aureus*.

Все включенные в исследование пациенты были разделены на 2 клинические группы (смотреть таблицы 93-94) по 15 человек: пациентам группы 1 в качестве терапии было назначено Нифуроксазид, а пациентам грппы 2 - 0,02-0,2 массовых % раствор декаметоксина перорально.

Таблица 93

Распределение пациентов по полу

Покаатель	Группа 1	Группа 2
Мужчины	10	8
Женщины	5	7

Таблица 94

Средний возраст пациентов исследуемых групп

Покаатели	Группа 1	Группа 2
Мужчины	56±3	54±1
Женщины	50±3	51±4

Таблица 95

Динамика массы тела пациентов в условиях инфекционного колoproктита , кг

Показатели	Группа 1	Группа 2
Исходное состояние	96,3	89,0
1 сутки	94,0	89,4
4 сутки	94,8	90,7
7 сутки	96,3	92,7

Из данных в таблице 95 видно , что по сравнению с исходным состоянием средняя масса тела пациентов при лечении Нифуроксазидом не изменилась , а при лечении раствором декаметоксина средняя масса тела пациента увеличилась на 4%.

Из отмеченной выше информации видно , что декаметоксин влияет на течение заболевания лучше чем Нифуроксазид : лучше заживляются раны в кишечнике , налаживается усвоение питательных веществ , которое приводит к набору массы пациентов .

Таблица 96

Динамика степени инфицирования фекалий пациентов в условиях инфекционного колoproктита , вызванного *Staphylococcus aureus*

Показатели	Колониеобразующих единиц, КОЕ/мл		
	Норма	Группа 1	Группа 2
3 суток	$1 \cdot 10^3$	$8,6 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^7$
6 суток		$8,9 \cdot 10^5$	$4,9 \cdot 10^3$

Из данных в таблице 96 видно , что раствор декаметоксина лучше средства сравнения Нифуроксазид влияет на развитие *Staphylococcus aureus* в кишечнике человека , уменьшая количество колониеобразующих бактерий к норме .

Из данных таблицы 97 и 98 видно , что Нифуроксазид и декаметоксин не влияют на время свертывания крови . Уменьшение уровня фибриногена в крови в сравнении с нормой показывает , что в организме человека имеется острая инфекция , потому увеличение его количества при терапии говорит об уменьшении количества инфекционных возбудителей в организме и его выздоровления . Как видно из таблицы 98 декаметоксин быстрее приводит уровень фибриногена к норме , что показывает его явное преимущество перед средством сравнения Нифуроксазидом .

Таблица 97

Гематологические показатели пациентов в условиях
инфекционного колoproктита, вызванного S.aureus

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 суток	6 суток	3 суток	6 суток
Гемоглобин, г/л	137,0-171,0	160,0	162,0	158,0	159,0
Эритроциты, 10^{12} клеток/л	4,1-5,5	4,3	4,6	5	5,1
Лейкоциты, 10^9 клеток/л	4,0-10,0	15	12	15	10
Лейкоцитарная формула, %:					
Базофилы	0-1	0	0	0	0
Эозинофилы	0,5-5,0	0,2	0,4	0,2	0,8
Миелоциты	0	0	0	0	0
Юнни нейтрофилы	0	0	0	0	0
Нейтрофилы палочкоядерные	1,0-6,0	9	6	10	5
Нейтрофилы сегментоядерные	45,0-72,0	58,8	64,6	56,8	64,2
Лимфоциты	19,0-37,0	18	19	18	22
Моноциты	1,0-10,0	14	11	15	8

Таблица 98

Показатели гемостаза пациентов в условиях
инфекционного колoproктита, вызванного S.aureus

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 сутки	6 суток	3 сутки	6 суток
Время свертывания, мин	5-10	5,5	5	5,2	5,6
Фибриноген, г/л	2-4	1,8	2,3	1,8	2,5
Протромбиновое время, с	12-20	24	20	25	15

Увеличение протромбинового времени показывает, что в организме человека не усваивается витамин К и развитие дисбактериоза в кишечнике. В этом случае видно, что декаметоксин улучшает состояние кишечника в 4 раза быстрее за Нифуроксазид.

Таблица 99

Биохимические показатели сыворотки крови пациентов
при инфекционном колoproктите, вызванному *S.aureus*

Показатели	Норма	Группа 1		Группа 2	
		3 сутки	6 сутки	3 сутки	6 сутки
Мочевина, ммоль/л	3,3-6,6	3,3	4,3	4,5	4,5
АлАТ, ммоль/л·час	0,1-0,68	0,31	0,44	0,45	0,45
АсАТ, ммоль/л·час	0,1-0,45	0,2	0,32	0,39	0,39
Креатинин, ммоль/л	0,044-0,177	0,72	0,72	0,83	0,825
Общий белок, г/л	65-85	65	70	72	76
Щелочная фосфатаза, мкмоль/л	1-3	1,5	2,3	2,2	2,3

Как видно из данных таблицы 99 показатели печеночных и почечных проб пациентов находятся в пределах нормы, но явно видно, что при использовании Нифуроксазида показатели сильно сдвигаются к нижнему пределу нормы, а при использовании раствора декаметоксина показатели почти не изменяются, что показывает значительное преимущество использования декаметоксина без вреда для метаболизма человека.

Из результатов исследований видно, что в условиях инфекционного колoproктита, вызванного *S.aureus*, при пероральном применении 0,02-0,2 массовых % раствора декаметоксина, он проявляет выраженные антимикробные свойства, которые превосходят антимикробную активность Нифуроксазида и способствуют возобновлению функционального состояния организма пациентов. Так, в отличие от Нифуроксазида декаметоксин вызывает достоверное по сравнению с исходным состоянием увеличение на 4% средней массы тела пациентов. Выраженная антимикробная активность декаметоксина подтверждается снижением к норме числа колониеобразующих единиц возбудителя на 6-й день эксперимента, в то время как под воздействием Нифуроксазида этот показатель не достигает нормы. По выраженности антимикробного действия декаметоксин превосходит референтный Нифуроксазид в 7,4 раза.

О терапевтическом эффекте и антимикробном действии декаметоксина свидетельствует достоверное по сравнению с действием Нифуроксазида возобновление показателей лейкоцитарной формулы: эозинофилов, лимфоцитов и моноцитов. Декаметоксин оказывает заметный позитивный эффект на развитие патологического процесса в толстой кишке человека, способствует очистке поверхности слизистой оболочки от очагов колонизации микроорганизмов, препятствует разрушению поверхностного эпителия, уменьшает клеточную инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки. По лечебному эффекту декаметоксин превосходит препарат сравнения "Нифуроксазид" при лечении инфекционного

колопроктита , вызванного *S. Aureus*.

Также из приведенных опытов на пациентах видно , что декаметоксин одинаково хорошо лечит инфекционный колопроктит , как при использовании в послеоперационной терапии , так и при лечении инфекционного колопроктита без хирургического вмешательства , что позволяет исключить необходимость назначения операционного вмешательства и что значительно упрощает процесс лечения инфекционного колопроктита .

Приведены оезультаты исследований и выводы свидетельствуют о том , что декаметоксин можно использовать перорально для лечения заболеваний ЖКТ , он практически не всасывается в ЖКТ , действует лишь в просвете кишечника и не влияет на жизнедеятельность других систем органов .

Общие выводы относительно действия декаметкосина при пероральном приеме для лечения заболеваний ЖКТ :

- При длительном (28 дней) пероральном введении декаметкосин не оказывает местнораздражающего действия на слизистые оболочки ЖКТ лабораторных животных в терапевтической дозе .

- По результатам проведенных исследований установлено , что декаметоксин в виде раствора проявляет выраженную антимикробную активность , относительно грамположительных (*S.aureus*, *S.pyogenes*, *B.subtilis*), так и грамотрицательных (*E.coli*, *K.pneumoniae*) микроорганизмов . По отношению к *P.aeruginosa* антимикробная активность менее выражена . Относительно грибов рода *Candida* декаметоксин проявил выраженную фунгистатическую активность . Таким образом , декаметоксин проявляет выраженную противомикробную активность в условиях *in vitro* и может быть рекомендован для лечения кишечных инфекций .

- В условиях инфекционного колопроктита , вызванного *S.aureus*, при пероральном применении 0,02 массовых % раствора декаметоксина , он проявляет выраженные антимикробные свойства , которые превосходят антимикробную активность Нифуроксазида и способствует возобновлению функционального состояния организма . О терапевтическом эффекте и антимикробном действии декаметоксина свидетельствует достоверное по сравнению с группой контрольной патологии возобновление показателей лейкоцитарной формулы : эозинофилов , лимфоцитов и моноцитов . Декаметоксин оказывает заметный позитивный эффект на развитие патологического процесса в толстой кишке . Он способствует очистке поверхности слизистой оболочки от очагов колонизации микроорганизмов , препятствует разрушению поверхностного эпителия , уменьшает клеточную инфильтрацию собственной пластинки слизистой оболочки . По лечебному эффекту декаметоксин превосходит препарат сравнения "Нифуроксазид " на модели инфекционного колопроктита , вызванного *S. Aureus*.

- В условиях инфекционного колопроктита , вызванного *P.aeruginosa*, при пероральном применении 0,02-0,2 массовых % растворов декаметоксина , он проявляет выраженные антимикробные свойства , которые превосходят антимикробную активность Нифуроксазида и способствует

возобновлению функционального состояния организма .

- Установлено , что раствору декаметоксина присущи выраженные противомикробные свойства по отношению к *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. paratyphi* и *C. albicans*. Степень выраженности ингибирующего эффекта раствора декаметоксина зависит от вида микроорганизма и показателя pH. Антибактериальная активность декаметоксина относительно тестовых штаммов бактерий и грибов усиливалась в щелочной среде .

- Декаметоксин во всех исследованных дозах (10,0 мкг, 25,0 мкг, 50,0 мкг, 100,0 мкг) проявляет выраженные антимикробные свойства .

10 Диаметры зон задержки роста тестовых микроорганизмов изменяются в зависимости от вида микроорганизма и показателя pH. Наибольшая активность раствора декаметоксина по отношению к *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* наблюдается при pH 8,0±0,1, относительно *C. albicans* - при 7,15±0,2, по отношению к *S. paratyphi* при значениях pH

15 8,0±0,1 и 5,1±0,2.

- Раствор декаметоксина дозозависимо нарушает пленкообразование микроорганизмов . По степени ингибирующего влияния по отношению к биопленкам *P. aeruginosa* и *E. coli* активность исследуемого раствора декаметоксину изменялась в зависимости от показателя pH.

20 Наиболее выразительное ингибирующее действие декаметоксина регистрируется при показателе pH 8,0±0,1 в концентрации 10,0 МИК .

- Установлено , что формирование биомассы микроорганизмов при действии декаметоксина зависит от концентрации соединения , времени экспозиции и pH среды . Угнетение прироста биомассы *E. coli* наблюдается уже через 1 час при значениях pH 8,0±0,1 и усиливается с увеличением срока инкубации . Выраженное ингибирующее действие относительно *S. paratyphi* наблюдается через 24 и 48 часов в кислой и щелочной среде . Ингибирование роста и размножения *P. aeruginosa* наблюдается начиная с 6 часов действия декаметоксина при pH

25 6,3±0,4 и усиливается с увеличением срока инкубации . *S. aureus* обнаруживает чувствительность к действию декаметоксина в первые часы действия (через 6 часов) при pH 5,1±0,2. Через 24 и 48 часов наиболее выраженное угнетение прироста биомассы золотистого стафилококка регистрируется при pH 5,1±0,2 и pH 6,3±0,4.

30 Установлено , что значение pH практически не влияет на чувствительность грибов *C. albicans* к действию декаметоксина .

Таким образом , вышеприведенное убедительно свидетельствует о том , что декаметоксин при пероральном применении для лечения заболеваний ЖКТ является высокоэффективным средством , относительно

40 безопасным и перспективным для внедрения в медицинскую практику , в качестве нового фармацевтически активного вещества для лечения кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии . Также декаметоксин является новым фармацевтически активным веществом для лечения инфекционного колoproктита без хирургического вмешательства и для улучшения лечения

45 инфекционного колoproктита при хирургическом вмешательстве .

ФОРМУЛА

- 5 1. Применение декаметоскина как фармацевтически активного вещества для лечения заболеваний желудочно -кишечного тракта и кишечных инфекций перорально .
- 10 2. Применение декаметоксина по пункту 1, которое отличается тем , что декаметоксин применяют для лечения заболеваний желудочно -кишечного тракта и кишечных инфекций микробной и вирусной этиологии .
- 15 3. Применение декаметоксина по пункту 1, которое отличается тем , что декаметоксин применяют для лечения инфекционного колoproктита .
- 20 4. Применение декаметоксина по пункту 1, которое отличается тем , что декаметоксин применяют в виде водного раствора с концентрацией декаметоксина 0,02-0,2 массовых %.
- 25 5. Применение декаметоксина по пункту 1, которое отличается тем , что декаметоксин применяют в составе фармацевтической композиции .
- 30 6. Применение декаметоксина по пункту 1, которое отличается тем , что декаметоксин применяют в составе фармацевтической композиции жидкого типа .

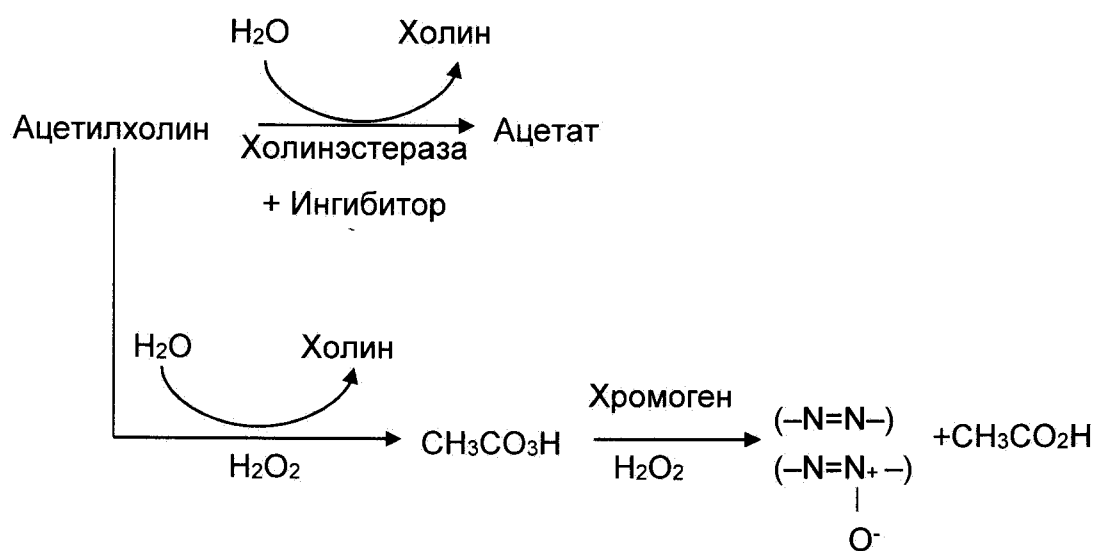
25

30

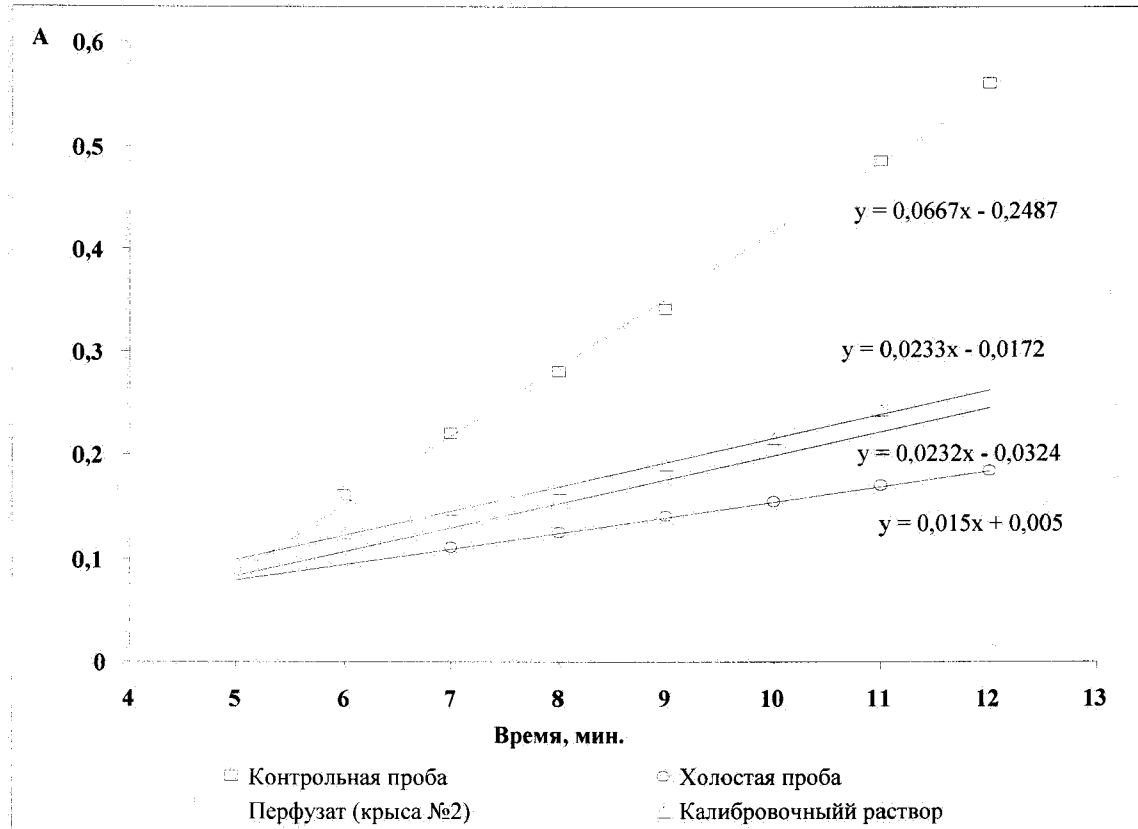
35

40

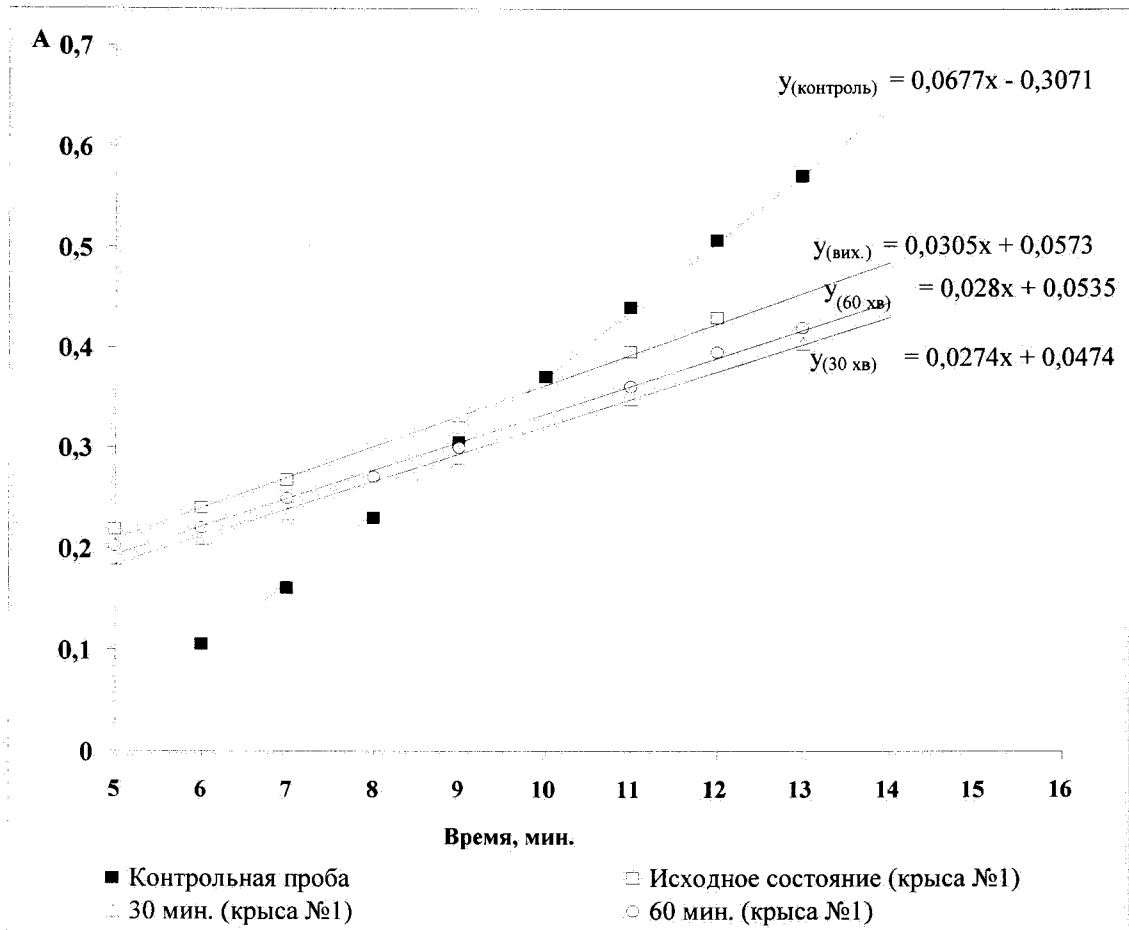
45



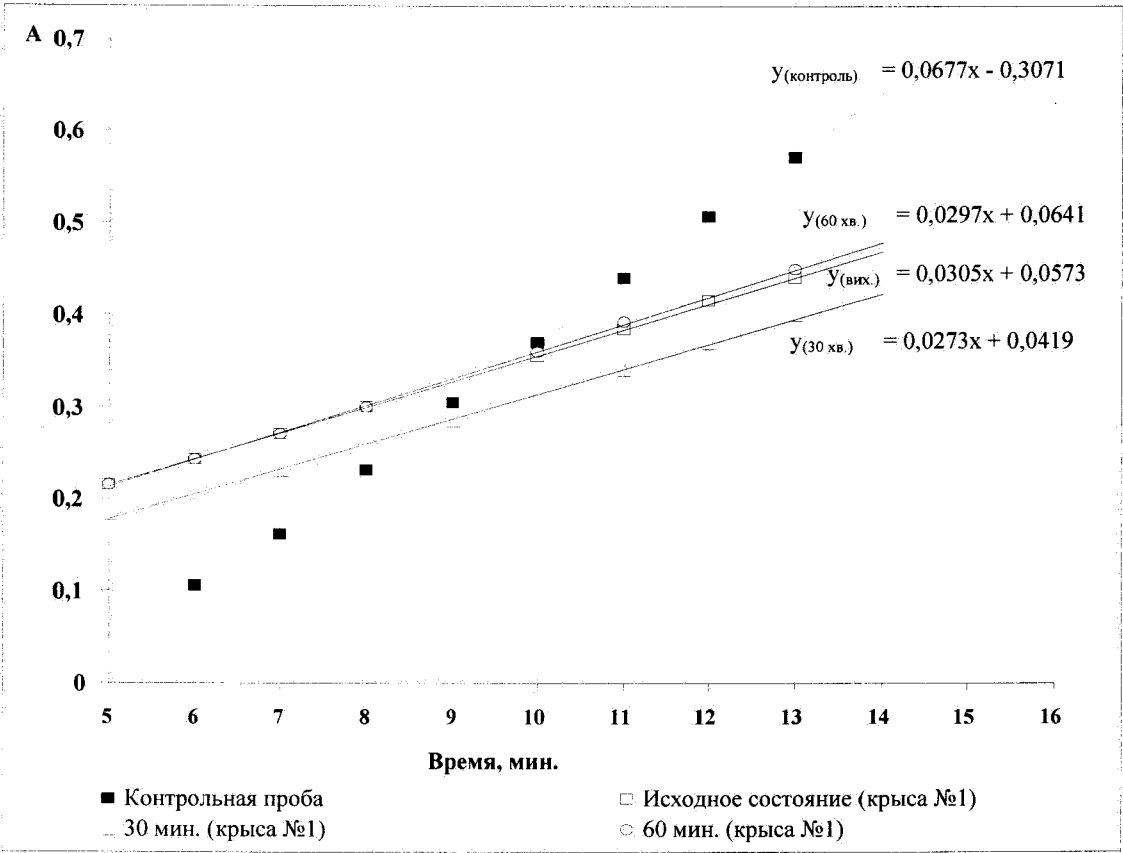
Фигура 1



Фигура 2



Фигура 3



Фигура 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/UA 201 6/000079

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61 K 31/14; A61 P 1/00; A61 P 31/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC: A61 K 31/14; A61 P 1/00; A61 P 31/00

CPC: A61 K 31/14; A61 P 1/00; A61 P 31/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Issledovanie antimikrobnii aktivnosti novogo preparata, kotoryi sodержit dekametoksin, i ego effektivnosti na modeli infektsionnogo koloproktita / N.N. Derkach, SIU. Shtrygol, N.I. Filimonova, IU.B. Larianovskaia, O.M. Maliutin // Farmatsevticheskaya mikrobiologiya i klinicheskaya laboratornaya diagnostika: tezis dokladov Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, 27-28 November 2014 goda - Kharkov: Natsionalnyi Farmatsevticheskii Universitet, 2014. - S. 36-37 (see. whole document)	1-6
X	Antiinfektsionnaya khimioterapiya salmonelleza / V. P. Malyi, G.K. Palii, D.V. Palii, A.IU. Volianskii // Infektsionnye bolezni. - 2010. - N°4. - S. 38-41 (see. abstract; p. 39, left column, last paragraph)	1-2, 4-6
Y		3
X	UA 27543 C2 (GOLIK GEORGII ANDFEEVICH [UA]) 15 September 2000 (15.09.2000) (p. 4, left column, first paragraph; p. 4, right column, last two paragraphs - p. 5, left column, first three paragraphs ; p. 6, table 2	1-2, 5-6
Y		3



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T"

later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y"

document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 October 2016 (18.10.2016)

Date of mailing of the international search report

20 October 2016 (20.10.2016)

Name and mailing address of the ISA/

UA

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/UA 201 6/000079

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Effektivnost antisepticheskogo preparata Dekasan / G.K. Palii, V.P. Kovalchuk, N.N. Derkach, D.V. Palii, A.V. Kryzhanovskaya // Biomedical and biosocial anthropology. - 201 0. - .N° 15. - p. 8-1 1 (see. p. 10, 2nd paragraph)	1-6
A	Primenenie antiseptika Dekasana pri gnoinykh infektsiiakh pararektalnoi oblasti / M.P. Zakharash, N.D. Kucher, M.I. Krivoruk, I.A. Yaremchuk // Klinicheskaya khirurgiya. - 201 1. - N° 4. - S. 18-20 (see whole document)	1-6
A	Antisepticheskii preparat Dekasan v profilaktike i lechenii mestnykh gnoino-vospalitelnykh porazhenii / I.I. Feshchenko, N.I. Gumeniuk, A. A. Mukhin, N.N. Nedlinskaya, G.B. Kapitan, V.G. Slabchenko, L.V. Chechel // Ukrainskii khimioterapevticheskii zhurnal. - 2002. - N° 1(13). - p. 63-67 (see p. 66, left column, 4th paragraph)	1-6
A	DEKASAN [Internet-publikatsiya], <UFTL: https://web.archive.org/web/20141221_035810/http://www.piluli.kharkov.ua/drug/dekasan > (preserved Way Back Machine 21.12.2014, retrieved 25.08.201 6)	1-6
A	Obosnovanie effektivnosti antisepticheskogo preparata Dekasan v lechenii bolnykh gnoino-vospalitelnyimi zabolevaniyami / G.K. Palii, B. P. Kovalchuk, N.N. Derkach, D.V. Palii // Ukrainskii khimioterapevticheskii zhurnal. - 201 0. - N° 1-2(23). - p. 78-82 (see. p. 80, right column, 2-nd paragraph)	1-6
A	Effektivnost primeneniia dekametoksina u bolnykh khronicheskim gastritom i gastrodoudenitom v sochetanii s zabolevaniyami zhelchevyvodiashchikh putei / I.K. Mokhun, I.K. Vladkovskii, D.G. Lukianchuk, A.A. Shubravskii, V.A. Gaidukov, N.S. Sobolev // Vrachebnoe delo. - 1982. - N° 4. - S. 23-26 (see whole document)	1-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

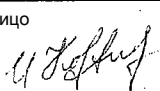
PCT/UA 201 6/000079

UA 27543 C2

15.09.2000

RU 2139060 CI

10.10.1999

A. КЛАССИФИКАЦИЯ ОБЪЕКТА ИЗОБРЕТЕНИЯ A 61K 31/14; A 61P 1/00; A 61P 31/00		
В соответствии с Международной патентной классификацией (МПК) или национальной классификацией и МПК		
B. ОБЛАСТЬ ПОИСКА Минимум поисковой документации (система классификации и классификационные индексы) IPC: A 61K 31/14; A 61P 1/00; A 61P 31/00 CPC: A 61K 31/14; A 61P 1/00; A 61P 31/00		
Документация, по которой проводился поиск, иная, чем минимум документации, в случае, если она входит в область поиска		
Электронная база данных, принятая во внимание при проведении международного поиска (наименование базы данных и, если применимо, использованные ключевые слова)		
C. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ		
Категория *	Ссылка на документ с указанием, если необходимо, релевантных отрывков	Номер релевантного пункта формулы
X	Исследование антимикробной активности нового препарата, который содержит декаметоксин, и его эффективности на модели инфекционного колoproктита / Н.Н. Деркач, С.Ю. Штрыголь, Н.И. Филимонова, Ю.Б. Ларьяновская, О.М. Малютин // Фармацевтическая микробиология и клиническая лабораторная диагностика: тезисы докладов Международной научно-практической конференции, 27-28 ноября 2014 года - Харьков: Национальный Фармацевтический Университет, 2014. - С. 36-37 (см. весь документ)	1-6
X	Антиинфекционная химиотерапия сальмонеллеза / В.П. Малый, Г.К. Палий, Д.В. Палий, А.Ю. Волянский // Инфекционные болезни. - 2010. - № 4. - С. 38-41 (см. реферат; стр. 39, левая колонка, последний абзац)	1-2, 4-6
Y		3
X	UA 27543 C2 (ГОЛИК ГЕОРГИЙ АНДРЕЕВИЧ [UA]) 15 сентября 2000 (15.09.2000) (стр. 4, левая колонка, первый абзац; стр. 4, правая колонка, два последних абзаца - стр. 5, левая колонка, три первых абзаца; стр. 6, таблица 2)	1-2, 5-6
Y		3
☒ Другие документы перечислены в продолжении графы C. ☒ См. приложение, касающееся патентного семейства.		
* Особые категории цитируемых документов: "А" документ, определяющий общий уровень техники и не рассматриваемый в качестве особо релевантного "Е" более ранняя заявка или патент, но опубликованная на дату международной подачи или позднее "L" документ, который может вызвать сомнения касательно заявленного приоритета или цитируемый с целью установления даты публикации другого цитируемого документа, или по другой особой причине (как указано) "О" документ со ссылкой на устное раскрытие, использование, выставку или другие факты "Р" документ, опубликованный до даты международной подачи, но позднее даты заявленного приоритета "Т" более поздний документ, опубликованный после даты международной подачи или даты приоритета и не противоречащий заявке, но цитируемый для понимания принципов или теории, лежащих в основе изобретения "Х" документ особой релевантности; заявленное изобретение не может считаться новым или обладающим изобретательским уровнем, если документ взят отдельно "У" документ особой релевантности; заявленное изобретение не может считаться обладающим изобретательским уровнем в сочетании с одним или более документами, когда такое сочетание очевидно для специалиста в данной области техники "&" документ, являющийся членом того же патентного семейства		
Дата фактического завершения международного поиска		Дата отправки отчета о международном поиске
18 октября 2016 г. (18.10.2016)		20 октября 2016 г. (20.10.2016)
Наименование и адрес МПО / ГП «Украинский институт интеллектуальной собственности» ул. Глазунова, 1, Киев -42, 01601, Украина Факс: +380 (44) 494-05-06		Уполномоченное лицо  И. КАРПЕЦ Телефон: +380 (44) 494-05-62

С (продолжение). ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ		
Категория *	Ссылка на документ с указанием, если необходимо, релевантных отрывков	Номер релевантного пункта формулы
A	Эффективность антисептического препарата Декасан / Г.К.Палий, В.П. Ковальчук, Н.Н. Деркач, Д.В. Палий, А.В. Крыжановская // Biomedical and biosocial anthropology. - 2010. - № 15. - С. 8-11 (см. стр. 10, 2-й абзац)	I 1-6
A	Применение антисептика Декасана при гнойных инфекциях параректальной области / М.П. Захараш, Н.Д. Кучер, М.И. Криворук, И.А. Яремчук // Клиническая хирургия. - 2011. - № 4. - С. 18-20 (см. весь документ)	1-6
A	Антисептический препарат Декасан в профилактике и лечении местных гнойно-воспалительных поражений / Ю.И. Фещенко, Н.И. Гуменюк, А.А. Мухин, Н.Н. Недлинская, Г.Б. Капитан, В.Г. Слабченко, Л.В. Чечель // Украинский химиотерапевтический журнал. - 2002. - № 1(13). - С. 63-67 (см. стр. 66, левая колонка, 4-й абзац)	1-6
A	ДЕКАСАН [Интернет -публикация], <URL: https://web.archive.org/web/2014_12_25/https://www.piluli.kharkov.ua/dmgs/drug/deccasan/ > (сохранено Way Back Machine 21.12.2014, найдено 25.08.2016)	1-6
A	Обоснование эффективности антисептического препарата Декасан в лечении больных гнойно-воспалительными заболеваниями / Г.К.Палий, В.П. Ковальчук, Н.Н. Деркач, Д.В. Палий // Украинский химиотерапевтический журнал. - 2010. - № 1-2(23). - С. 78-82 (см. стр. 80, правая колонка, 2-й абзац)	1-6
A	Эффективность применения декаметоксина у больных хроническим гастритом и гастродуоденитом в сочетании с заболеваниями желчевыводящих путей / И.К. Мохунь, И.К. Владковский, Д.Г. Лукьянчук, А.А. Шубравский, В.А. Гайдуков, Н.С. Соболев // Врачебное дело. - 1982. - № 4. - С. 23-26 (см. весь документ)	I 1-6

Номер международной заявки

Дата публикации

10.10. 1999