

На правах рукописи

РГБ ОД

24 ЯНВ 2004

Стрельцова Ангелина Вадимовна

**ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ  
АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ  
ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И НОВЫХ  
ЭКСТРАГЕНТОВ**

Специальности: 15.00.02 – фармацевтическая химия,  
фармакогнозия; 14.00.25 – фармакология, клиническая  
фармакология

**Автореферат**  
**диссертации на соискание ученой степени**  
**доктора фармацевтических наук**

**Москва – 2003**

Работа выполнена в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, Самаркандском государственном медицинском институте им. акад. И.П.Павлова.

Научные консультанты:

академик РАО, доктор медицинских наук, профессор Н.В. Чебышев,  
доктор фармацевтических наук, профессор И.А. Самылина.

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук, профессор Д.А. Муравьева,  
доктор медицинских наук, профессор Р.Д. Сейфулла,  
доктор медицинских, профессор Н.А. Романенко.

Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений РАСХН.

Защита диссертации состоится 17 марта 2003 года в 15 часов на заседании Диссертационного совета Д.208.040.09 в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова по адресу: 121019, Москва, Никитский бульвар, д. 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ГОУ ВПО Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова (117998, Москва, Нахимовский проспект, 49).

Автореферат разослан "23" января 2003 г.

Ученый секретарь Диссертационного совета  
Д.208.040.09 доктор фармацевтических наук

Н.П. Садчикова

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы.** Тысячелетиями человечество использует лекарственные растения для лечения различных заболеваний. Обилие синтетических лекарственных препаратов, ставших причиной аллергических и хронических заболеваний, привели в настоящее время к возрастанию интереса к лекарственным растениям. Препараты лекарственных растений занимают значительный удельный вес в общем объеме лекарственных средств.

Перспективные лекарственные растения, на основе которых созданы препараты широкого спектра действия, заслуживают особого внимания исследователей.

Грецкий орех (*Juglans regia* L.) – лекарственное растение, которому посвящено более 10 тыс. литературных источников, отражающих использование его в народной медицине и ветеринарии. Применяется гомеопатический препарат югланс, изготовленный из листьев грецкого ореха (Кент Л.Т., 1997).

По данным Е. Barbas et al. (1993), D. Chenevard et al. (1994), Р.Э. Лойко и Т.С. Ширко (1994), З.А. Троян и соавт. (1999), плоды, листья грецкого ореха содержат большое количество биологически активных веществ, в том числе витамины, жирные кислоты, макро- и микроэлементы. Фармацевтическая наука еще недостаточно использовала лекарственные возможности этого растения.

А.Г. Маленков и соавт. (1995) запатентовали препарат тодикамп, полученный из плодов грецкого ореха молочно-восковой спелости с помощью нефтяной фракции ленефр, представляющей собой часть нефти, выкипающей при температуре до 150°С. Еще до этого более 30 лет керосиновый экстракт зеленых плодов грецкого ореха успешно применялся в народной медицине для лечения радикулита, простатита, цирроза печени, иммунодефицита, опухлей (Кашницкий С., 1990).

В настоящее время используются лекарственные препараты, полученные из нефтепродуктов. Так, например, вазелиновое масло – продукт очищенной нефти, применяется внутрь детям и взрослым при запорах (Машковский М.Д., 1989, 1999; Харкевич Д.А., 1993, 1999). В России и других странах применяется препарат петролеум, изготовленный из нефти (Шаретт Ж., 1997, Глаз В.Г., 1998), обладающий широким спектром фармакологического действия. Петролеум используется с 1913 г. (Френкель Л.Д., 1913, 1993) без побочного и токсического действия, а в настоящее время свободно реализуется в аптеках России.

По данным Г.Г. Онищенко (2000), в России ежегодно страдают паразитарными болезнями более одного млн людей. Такое заболевание как эхинококкоз сопровождается вторичным иммунодефицитом и функциональной недостаточностью печени (Гостищев В.К. и др., 1999, 2000, Бирюков Ю.В. и др., 1999–2002, Чебышев Н.В. и др., 1998–2002). Отсутствие достаточного количества отечественных препаратов на основе лекарственного раститель-

ного сырья, обладающих противоэхинококковым, гепатопротекторным, иммуностропным свойствами, делают проблему актуальной.

В Таджикистане в 90-х годах был изготовлен тодикамп, который поступил в реализацию в Узбекистане. Тодикамп и чеблин-СК-1 (ЧСК-1), полученный нами и представляющий собой керосиновый экстракт из зеленых плодов грецкого ореха молочно-восковой спелости, также стали использовать при лечении людей и животных. Ситуация не контролировалась медицинской и ветеринарной практикой и наукой. В связи с этим представляется целесообразным изучение токсичности и фармакологической активности препаратов на основе лекарственного растительного сырья и экстрагентов из нефтепродуктов. Требуется анализа клиническое испытание тодикампа и ЧСК-1.

**Цель исследования.** Целью исследования явилось изучение фармакологической активности и токсичности препаратов тодикампа и ЧСК-1, а также других лекарственных средств, изготавливаемых экстрагированием растительного сырья с помощью очищенных нефтепродуктов.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить химический состав плодов грецкого ореха в процессе созревания для определения оптимальных сроков заготовки сырья.
2. Провести экспериментальное исследование состава углеводородного экстракта зеленых плодов грецкого ореха.
3. Изучить острую токсичность при внутрижелудочном введении препаратов, полученных из лекарственного растительного сырья с использованием новых экстрагентов.
4. Изучить хроническую токсичность при длительных внутрижелудочных введениях и аппликаций кожи животным тодикампа и ЧСК-1.
5. Определить иммунотоксичность, аллергизирующую способность, эмбриотоксичность, тератогенность, мутагенность, ДНК-повреждающее действие тодикампа и ЧСК-1.
6. Изучить фармакологическое действие препаратов, полученных из растительного лекарственного сырья с использованием новых экстрагентов:
  - а) противопаразитарную активность изучаемых препаратов;
  - б) гепатопротекторное, иммуномодулирующее, противомикробное свойства изучаемых препаратов.
7. Разработать лабораторную модель для коррекции остаточной полости при эхинококкэктомии и применения противопаразитарных средств.
8. Разработать новый метод иммунодиагностики эхинококкозов.
9. Оценить клинические испытания тодикампа и ЧСК-1 в Республике Узбекистан.
10. Разработать рекомендации по использованию результатов исследований.

**Научная новизна.** Из плодов грецкого ореха в молочно-восковой зрелости на научной основе нами созданы препараты ЧСК-1, чеблин (Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Коваленко Ф.П. Способ получения средства для лечения ларвального и стробилярного эхинококкозов чеблин-СК-1 // Пат. РФ № 2136303. Бюл. – 1999. – №25; Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Коваленко Т.Ф. Способ получения препарата чеблин, обладающего противоскарлидным действием // Пат. РФ № 2136304. Бюл. – 1999. – №25; Гостишев В.К., Стреляева А.В., Чебышев Н.В. Способ коррекции остаточной полости при эхинококкэктомии у взрослых. – Патент РФ №2177443. – Бюл. – 2002. – № 1.) и показано, что по выраженности токсических свойств тодикамп и ЧСК-1 классифицировали по К.К.Сидорову (1973) как малотоксичные и практически нетоксичные (IV и V класс токсичности).

Изучена динамика накопления действующих веществ в плодах грецкого ореха и обоснованы сроки заготовки сырья.

Впервые раскрыты гепатопротекторные, иммуномодулирующие, противомикробные свойства тодикампа и ЧСК-1.

Установлена противогельминтная, противочесоточная активность тодикампа и ЧСК-1.

Разработан новый метод иммунодиагностики эхинококкоза животных на принципе реакции антигенсвязывания лимфоцитов. В производственных условиях в животноводческих комплексах ветеринарными специалистами апробирована лечебная эффективность препаратов тодикамп и ЧСК-1.

Создана лабораторная модель гидатидозного эхинококкоза животных для разработки способа коррекции остаточной полости при эхинококкэктомии и использования противопаразитарных средств.

В теоретическом плане создана предпосылка для развития нового направления в фармации по изысканию препаратов растительного сырья с использованием экстрагентов, полученных из нефтепродуктов, подвергнутых тщательной очистке от токсических веществ.

**Практическая значимость.** Фармакогностическими исследованиями нами установлено, что наибольшее количество биологически активных веществ содержится в зеленых плодах растения в середине мая. На примере препарата ЧСК-1 открывается возможность изготовления ряда лекарственных средств с использованием очищенного авиационного керосина и ленефра. Препараты тодикамп и ЧСК-1 перспективны для использования в медицине и ветеринарии.

**Результаты внедрения.** Препараты тодикамп и ЧСК-1 использованы в хирургической практике Республики Узбекистан для лечения больных эхинококкозом различной локализации, а также для обработки остаточной полости при эхинококкэктомии. В хирургических клиниках СамГосМи разработанный иммунологический метод диагностики эхинококкоза широко при-

меняется для выявления заболевания. Иммунотропные свойства препаратов тодикамп и ЧСК-1 использованы для иммунореабилитации больных.

Результаты исследований внедрены в учебный процесс кафедр общей биологии, генетики и паразитологии, фармакогнозии, фармакологии с курсом технологии лекарств ММА им. И.М. Сеченова.

Препараты тодикамп и ЧСК-1 апробированы специалистами ветеринарии и животноводства Республики Узбекистан для лечения больных животных.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Изучение состава липофильной и гидрофильной фракций плодов грецкого ореха в динамике накопления биологически активных веществ в процессе созревания.
2. Результаты исследования токсичности тодикампа и ЧСК-1.
3. Фармакологическая активность тодикампа и ЧСК-1 (противогельминтная, противочесоточная, гепатопротекторная, иммунотропная, противомикробная).
4. Результаты доклинических экспериментальных исследований тодикампа и ЧСК-1.

**Апробация работы.** Материалы диссертационной работы доложены на: Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Нагноительные заболевания легких и плевры» (Самарканд, 1998); научной конференции, посвященной 80-летию Института медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И.Марциновского ММА им. И.М.Сеченова (Москва, 2000); VII, VIII и IX Российских национальных конгрессах «Человек и лекарство» (Москва, 2000, 2001, 2002); международной научно-практической конференции «Проблемы эхинококкоза» (Махачкала, 2000); научной конференции «Проблемы эхинококкоза» (Джизак, 2001); научной конференции Научно-исследовательского института медицинской паразитологии им. Л.М.Исаева (Самарканд, 2002); научной конференции Самаркандского государственного медицинского института им. акад. И.П.Павлова (Самарканд, 2002); научных конференциях ММА им. И.М.Сеченова (2000, 2001, 2002).

#### **Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук**

Диссертационная работа выполнена согласно плану научно-исследовательских работ кафедры фармакогнозии ММА им. И.М.Сеченова по теме «Фармакогностическое изучение лекарственного растительного сырья, лекарственных сборов, лекарственных форм из сырья и разработка методов их стандартизации с учетом антропогенных факторов» (код темы 0407093) соответствует проблеме № 1006 АМН РФ (номер Государственной регистрации 01-93-000-69-76).

### Публикации

По теме диссертации опубликовано 66 работ, в том числе 3 монографии, 3 патента на изобретение, 10 тезисов, 50 статей.

#### Объем и структура диссертации

Диссертационная работа представляет собой рукопись объемом 325 страниц. Состоит из введения, семи глав собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 25 рисунками. Список литературы включает 320 источников на русском языке и 122 – на иностранных языках.

Принишу глубокую благодарность академику Н.В.Чебышеву, профессору И.А.Самылиной за консультативную помощь в работе над диссертацией. Очень признательна акад. РАН и РАМН, профессору, ректору ММА им. И.М.Сеченова М.А.Пальцеву и ректору РГМУ, акад. РАМН, профессору В.Н.Ярыгину, акад. РАМН, профессору А.П.Арзамасцеву за возможность представить диссертацию к защите в ММА им. И.М.Сеченова, фармакологам: члену-корреспонденту РАМН, проф. В.П.Фисенко, проф. Н.Д.Бунятян, Т.И.Муравьевой за совместные публикации работ и их редакцию.

Выражаю благодарность ученым: А.Г. Маленкову, Л.Ф. Шашкиной, М.И. Голубевой, А.К.Габченко, Л.А.Радкевич, Г.Н.Золотаревой, Г.П.Кудриной, Г.В.Танановой, Л.В.Нечушкиной за оказанную помощь в проведении исследований, а также хирургам: акад. В.К.Гостищеву, профессорам Ю.В.Бирюкову, С.А.Дадвани, А.С.Саламову, Б.У.Сабинову, А.М.Шамсиеву за совместные работы в области эхинококкоза и проф. В.П.Кротову, В.И.Королькову за совместную работу по клинико-физиологическому состоянию обезьян под воздействием препаратов. За оказанную помощь в экспериментах выражаю благодарность химику Л.Г.Нехамкиной, иммунологам Г.П.Кудриной, С.К.Абилеву.

Мы особо признательны акад. А.Г.Маленкову и соавторам за клиническое испытание тодикампа при лечении больных спортсменов и акад. Б.С.Турсунову, возглавившему комиссию по клиническому испытанию препаратов при лечении эхинококкоза и других паразитарных заболеваний.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследований

Обследовано 11 серий зеленых плодов, а также семян грецкого ореха (*Juglans regia* L.) по методикам, изложенным в Государственной фармакопее (ГФ X, XI). По рекомендациям и методикам, приводимыми А.И.Ермаковой (1972), проводили подготовку проб, сухое озонение, определение содержания сухого вещества, жирного масла (метод обезжиренного остатка), белкового азота (по Кьелдалю), фосфора и калия, сахаров. На приборе "Kjeltec" после

мокрого озеленения определяли общий азот. С помощью спектрофотометра "Плазма-100" атомноэмиссионным методом выявлялся минеральный состав. С целью количественного определения свободных и связанных аминокислот выполняли гидролиз сухой обезжиренной навески бн НСІ (1:100) в течение 24 ч при температуре 105°C, затем выводили аминокислотный спектр с использованием анализатора ААА-39.

Из плодов грецкого ореха в стадии молочной зрелости нами были получены препараты тодикамп, ЧСК-1 и чеблин (Стреляева А.В., Маленков А.Г., Чебышев Н.В., Самылина И.А., 1995, 1999).

Тодикамп изготавливали следующим способом. Плоды грецких орехов в стадии молочно-восковой зрелости измельчали до размера частиц в 1 мм и экстрагировали фракцией из нефтяного сырья с низким содержанием углеводородов при соотношении сырье – экстрагент (1:3) и интенсивном перемешивании.

Тодикамп представляет собой прозрачную жидкость от светло-желтого до насыщенного желтого цвета с характерным запахом. Кислотность от 0,1 до 0,3, не растворим в воде и спирте, без особого вкуса. Плотность от 0,720 до 0,750 г/см<sup>3</sup>. Стоек при хранении. Срок хранения 3 года.

Методика получения препарата ЧСК-1 отличается от способа получения препарата тодикамп тем, что в качестве экстрагента используется авиационный керосин, прошедший предварительную двухступенчатую очистку.

Методика получения препарата чеблин отличается от предыдущей тем, что добавляется подсолнечное масло в конечный продукт до общего содержания жирных масел –11%. Чеблин представляет собой прозрачную желтую жидкость с резким специфическим запахом, практически не растворим в воде, этиловом спирте, растворим в толуоле, хлороформе, гексане, с равным объемом ацетона образует осадок, растворимый в избытке ацетона. Физико-химические показатели: сухой остаток 0,63-0,85; вязкость 1,60-1,92; кислотное число 0,37-0,52; йодное число 1,64-1,86; эфирное число 72,62-78,49; число омыления 73,0-78,49; содержание каротиноидов (в мг%) 0,47-0,62 в пересчете на бета-каротин, содержание хлорофилла (мг%) 0,12-0,19; плотность от 0,750 до 0,770 г/см<sup>3</sup>. Стоек при хранении, не портится в течение 3 лет.

Методика получения препарата садлин-СК-3 отличается от способа приготовления препарата ЧСК-1 тем, что лекарственным сырьем служат корни аконита (*Aconitum napellus* L.) в соотношении 1:10 (1 часть аконита, 10 – экстрагента). Как при получении препаратов ЧСК-1 и чеблин, так и при изготовлении препарата садлин-СК-3 (СК-3) в качестве экстрагента использован керосин ТС-1 ГОСТ 10227 (1986 г). Была изучена с использованием современных методов токсичность этой марки авиационного керосина, что дало возможность считать его малотоксичным веществом.

Препарат СК-4 получают таким же способом, как и ЧСК-1, но в качестве сырья используют плоды горького миндаля *Amygdalus amara* L. в стадии молочной зрелости.



Препарат СК-5 получают таким же способом, как и ЧСК-1, но в качестве лекарственного сырья используются плоды сладкого миндаля *Amygdalus dulcis L.* в стадии молочной зрелости.

Препарат СК-6 получают таким же способом, как и ЧСК-1, но в качестве лекарственного сырья используются свежие листья и зонтик с семенами в стадии молочной зрелости ферулы волючей (*Ferula assa-foetida L.*).

По методикам Т.В.Пастушенко и соавт. (1985), М.Д.Беленького (1963), J.T.Litchfield, F.J.Wilcoxon (1943), Б.М.Штабского и соавт. (1980) изучена, подсчитана токсичность препаратов группы СК. При изучении различных свойств препаратов мы придерживались статей "Руководства по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ" (М., 2000).

Коэффициент кумуляции ( $I_{\text{cum}}$ ) рассчитывали по формуле:

$$I_{\text{cum}} = \frac{LD_{50c}}{LD_{50oc}}$$

где  $LD_{50c}$  – значение летальной дозы, установленной в эксперименте по изучению хронической токсичности;

$LD_{50oc}$  – значение летальной дозы, установленной в эксперименте по изучению острой токсичности.

#### Химический состав зеленых плодов грецкого ореха

Нами по общепринятым методикам было исследовано 12 образцов зеленых плодов грецкого ореха на разных стадиях молочной зрелости. Использовано 12 деревьев 40-летнего возраста сорта, созданного учеными Института виноградарства и садоводства им. Шредера, с которых плоды срывались с 4 по 9 мая (первый сбор), с 16 – 19 мая (второй сбор), с 25 по 28 мая (третий сбор), с 1 по 7 июля (четвертый сбор), с 1 по 5 октября (пятый сбор).

Данные, представленные в табл.1, показывают, что наименьшее количество липофильных и гидрофильных биологически активных веществ содержится в плодах грецкого ореха в первой декаде мая. По мере созревания плодов идет увеличение количества этих веществ.

Содержание золы и некоторых веществ может несколько отличаться в зависимости от года сбора. Так, химический состав зеленых плодов ореха, собранных в первой декаде мая 1998 года (табл.1), несколько отличается по содержанию золы урожая 1999 года (табл.2). Количество минеральных веществ в плодах грецкого ореха в зависимости от времени года также подвергалось изменениям (табл. 2 и рис.1). Наибольшее количество золы, общего азота, фосфора и калия содержалось в семенах зрелого ореха в первых числах октября, наименьшее – в первой декаде мая. Микроэлементы в плодах ореха накапливаются по мере их созревания (рис. 2). Нами установлено, что в плодах грецкого ореха накапливаются в достаточном количестве как липо-

фильные, так и гидрофильные биологически активные вещества, что может служить основой для создания различных лекарственных средств.

Таблица 1

Результаты исследования химического состава плодов грецкого ореха  
(в % от массы)

Показатели	Исследования проведены				
	первая декада мая	вторая декада мая	третья декада мая	первая декада июля	первая декада октября
Сухой остаток	11,80±0,09	16,70±0,44	23,7±0,8	57,65±0,78	92,70±0,35
Зола	0,21±0,01	0,41±0,02	1,0±0,05	1,90±0,11	1,90±0,08
Сахара	0,22±0,01	0,44±0,01	0,9±0,04	1,78±0,08	4,04±0,11
Моносахариды	0,15±0,013	0,18±0,01	0,40±0,03	0,72±0,05	1,39±0,09
Сахароза	0,072±0,08	0,26±0,01	0,50±0,09	1,06±0,06	2,61±0,19
Дубильные вещества	0,26±0,02	0,52±0,03	1,10±0,22	1,40±0,07	1,60±0,08
Белок	0,38±0,022	0,76±0,05	1,60±0,08	3,20±0,16	11,34±0,24
Клетчатка	0,64±0,02	1,30±0,04	1,50±0,05	2,19±0,06	2,30±0,10
Жирные масла	1,10±0,05	2,30±0,1	4,70±0,22	9,50±0,41	65,91±0,23

Примечание. Разница между колонками цифр статистически достоверна:  $P < 0,05$  при  $t_{2,06} - 2,14$

Показано, что наибольшее количество витаминов накапливается в зеленых плодах грецкого ореха в третьей декаде мая, затем резко снижается, а в зрелых плодах (ядре) остаются следы некоторых витаминов (табл.3). Например, содержание аскорбиновой кислоты в первой декаде мая достигает 701 мг % на сырую массу, максимум регистрируется в третьей декаде мая – 2775,5 мг % на сырую массу, в зрелых плодах обнаруживаются её следы. Витамины: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР, каротин в максимальном количестве обнаруживаются в третьей декаде мая, а к сентябрю – октябрю их содержание снижается в несколько раз (рис. 3).

Выделенное нами из плодов грецкого ореха жирное масло светло-желтого цвета, приятного вкуса, со специфичным ароматным запахом.

Константы масла:  $d_{4}^{20}$  0,87;  $n_{D}^{20}$  1,1470, число омыления (мг КОН/г) 161,71; кислотное число 0,54; эфирное число 161,17, йодное число 127,5; число Рейхерта-Мейсселя 2,15; число Поленского 0,21; неомыляемые вещества 0,92%.

Таблица 2  
Минеральный состав плодов грецкого ореха (в % от массы)

Минералы	Исследования проведены				
	первая декада мая	вторая декада мая	третья декада мая	первая декада июля	первая декада октября
Зола, %	0,32±0,01	0,61±0,09	1,22±0,01	1,67±0,03	2,17±0,01
P, %	0,06±0,01	0,13±0,01	0,25±0,01	0,35±0,01	0,41±0,024
K, %	0,106±0,005	0,20±0,04	0,40±0,14	0,60±0,02	0,65±0,03
Mg, мг/0,1 кг	23,02±0,53	45,98±1,05	91,10±2,10	101,66±2,15	176,50±19,40
Ca, мг/0,1 кг	12,91±0,70	25,15±1,38	49,60±2,80	60,52±2,73	111,50±0,64
Fe, мг/кг	13,53±0,68	26,99±1,35	54,10±2,68	64,08±2,68	105,10±0,32
Mn, мг/кг	10,79±0,51	21,59±1,31	43,13±2,64	53,13±2,64	59,40±1,05
Ni, мг/кг	0,97±0,10	1,96±0,20	3,90±0,41	5,94±0,39	13,03±0,06
Zn, мг/кг	6,14±0,23	12,38±0,43	24,75±0,27	25,75±0,86	32,93±0,09
B, мг/кг	0,91±0,09	1,98±0,25	3,90±0,29	5,98±0,29	10,35±0,10
Cu, мг/кг	1,02±0,07	2,02±0,12	4,10±0,23	5,06±0,23	8,38±0,06
Al, мг/кг	11,23±0,73	22,42±1,5	41,60±1,21	61,53±1,21	58,30±0,18
Si, мг/кг	0,83±0,09	1,68±0,19	3,30±0,32	5,29±0,32	5,63±0,01
Sr, мг/кг	0,34±0,01	0,68±0,03	1,40±0,07	2,41±0,06	2,93±0,02

Примечание. Разница между колонками цифр статистически достоверна:  $P < 0,05$  при  $t$  2,06 – 2,14

Содержащиеся в масле органические соединения и их принадлежность к определенным классам соединений определяли методом ТСХ, сравнивая со свидетелями.

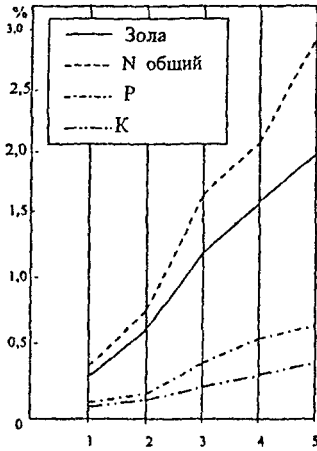


Рис. 1. Изменение количества отдельных минералов в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

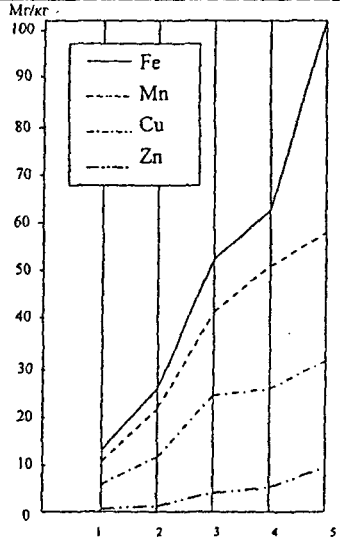


Рис. 2. Изменение содержания микроэлементов в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

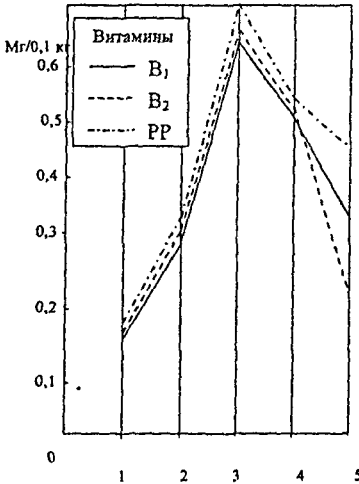


Рис. 3. Изменение содержания витаминов B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, PP в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

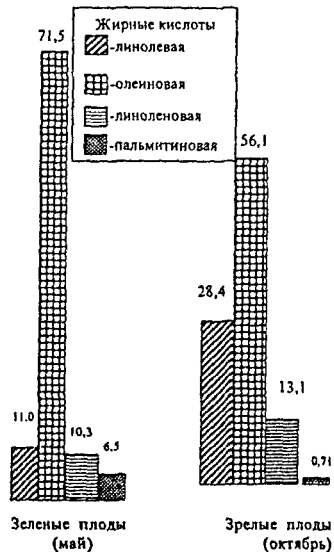


Рис. 4. Соотношение отдельных жирных кислот в плодах зеленого и зрелого грецкого ореха (%).

Проведенное фракционирование дало возможность выделить углеводороды (1–5-я фракции), соединения не идентифицированные, представляющие собой сложную смесь минорных компонентов (6–10-я фракции), триацилглицеролы (11–20-я фракции), свободные жирные кислоты (21–23-я фракции), свободные стиролы (24–30-я фракции).

Из масла плодов грецкого ореха нами были выделены следующие жирные кислоты: каприоловая (0,1–0,2%), лауриновая (0,1–0,2%), миристиновая (0,1–0,3%), пальмитиновая (0,7–6,4%), стеариновая (0,3–0,7%), пальмитолениновая (0,1–0,3%), олеиновая (11,0–28,4%), линолевая (56,1–71,5%), линоленовая (10,3–13,1%).

Соотношение жирных кислот в масле грецкого ореха по мере созревания плодов и образования семян изменяется. Так, в зеленых плодах грецкого ореха линолевой кислоты 71,5%, в зрелых плодах – 56,1%, в зеленых плодах содержание олеиновой кислоты 11,0%, в зрелых – 0,71% (рис. 4).

Нами изучен аминокислотный состав плодов грецкого ореха. Выделено 17 аминокислот: моноаминодикарбоновые (аспарагиновая и глутаминовая кислоты), диаминомонокрбоновые (лизин), ароматические (фенилаланин, тирозин), серосодержащие (цистин, метионин), циклические (пролин) и другие – глицин, серин, треонин, аланин, валин, лейцин, изолейцин, гистидин, аргинин, что полностью согласуется с данными Р.Э.Лойко и соавт. (1999). По мере созревания плодов грецкого ореха идет количественное накопление всех выявленных нами аминокислот (рис. 5 – 7).

Таблица 3  
Содержание витаминов в плодах грецкого ореха  
(в мг % на сырую массу)

Витамины	Исследования проведены				
	первая декада мая	вторая декада мая	третья декада мая	первая декада июля	первая декада октября
В <sub>1</sub>	0,136±0,004	0,267±0,003	0,530±0,006	0,436±0,003	0,300±0,011
В <sub>2</sub>	0,142±0,001	0,280±0,005	0,571±0,004	0,427±0,003	0,200±0,016
РР	0,152±0,003	0,306±0,003	0,60±0,001	0,489±0,009	0,40±0,0230
С	701,0±7,25	1401,0±14,3	2775,5±133,1	1295,0±8,44	0,177±0,027
Каротин	2,28±0,013	4,57±0,025	8,41±0,075	4,10±0,04	1,92±0,103

Примечание. Разница между колонками цифр статистически достоверна:  $P < 0,05$  при  $t$  2,06 – 2,14.

Высокое содержание в плодах грецкого ореха различных аминокислот дает основание считать их ценным диетическим продуктом питания, а также источником создания многих лекарственных форм.

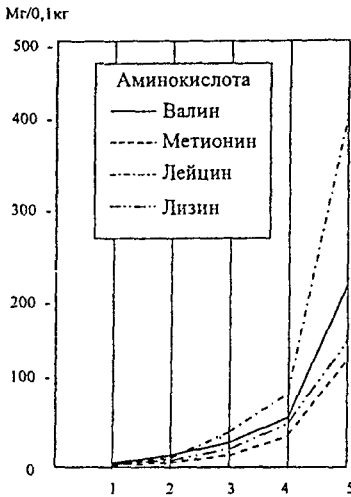


Рис. 5. Количественное изменение содержания валина, метионина, лейцина и лизина в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

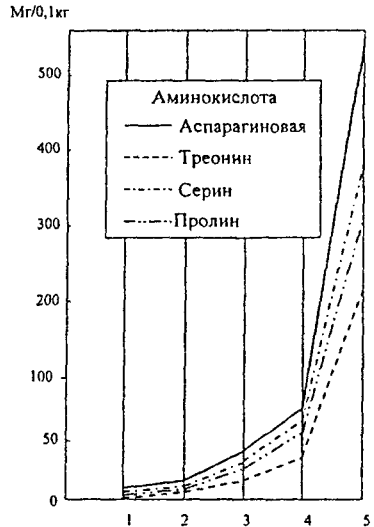


Рис. 6. Изменение количественного содержания треонина, серина, пролина и аспарагиновой кислоты в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

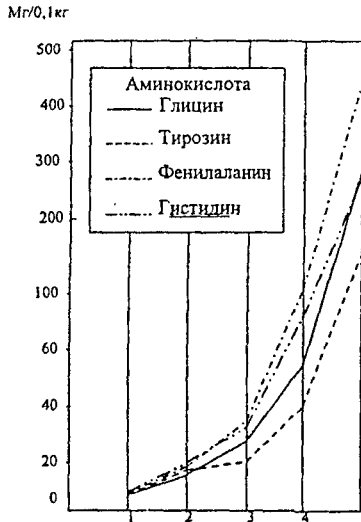


Рис. 7. Изменение количественного содержания глицина, тирозина, фенилаланина и гистидина в процессе созревания плодов грецкого ореха (1, 2, 3 – соответствующие декады мая, 4 – июль, 5 – октябрь).

Кроме того, из плодов зеленого грецкого ореха в стадии молочной зрелости нами выделены и идентифицированы: юглон (2,5%), эфирное масло (0,04%), галловая кислота (0,03%), эллаговая кислота (0,1%), бета-гидроюглон (0,4%), глюкозид альфа-гидроюглona  $C_{16}H_{18}O_8$  (0,7%), 3-арабинозид кверцетина  $C_{20}H_{18}O_8$  (0,2 %), 3-арабинозид кемпферола  $C_{20}H_{20}O_{12}$  (0,5%).

Определен состав эфирного масла (в %): альфа-пинен 10,95, бета-пинен 4,08, хлороформ 2,65, капроновый альдегид 5,29,  $\Delta^3$ -карен 4,75, карнофиллен 21,54, лонгифолен 15,12, гумулен 7,78, альфа-терпинеол 8,56, гамма-кадинен 7,34, сигма-кадинен 6,35, хамазулен 1,52.

Из масла зеленых плодов грецкого ореха были выделены токоферолы, которые идентифицированы с помощью стандартов токоферолов хлопкового и соевого масел. Соотношение токоферолов оказалось следующим: альфа-токоферолов – 37%, бета-токоферолов – 33%, гамма-токоферолов – 30%.

#### **Изучение состава углеводородного экстракта зеленых плодов грецкого ореха**

Исследованы три образца экстрактов, полученных по одинаковой технологии – обработкой измельченной массы плодов зеленого грецкого ореха фракцией, выделенной из керосина, выкипающей в диапазоне температур 100–150°C. Углеводородный экстрагент – фракция 100–150°C – содержит преимущественно парафиновые углеводороды – 80%, незначительное 6 – 8% количество ароматических углеводородов, остальное – углеводороды нафтенового ряда. Ароматические углеводороды представлены моноциклическими структурами, бензолами. Би-, три- и полициклические углеводороды находятся в следовых количествах. Сернистые соединения составляют сотые доли процента (0,01%). Состав образцов № 2 и №3 изучался в сравнении с образцом № 1.

Изучение состава указанных экстрактов проводилось в сравнении с чистым экстрагентом – углеводородной фракцией 100 – 150°C.

При исследовании образцов использовались методы тонкослойной хроматографии и хроматоспектрофотометрии, масс-спектрометрии с химической ионизацией и электронного удара с использованием прямого ввода образца в зону ионного источника масс-спектрометра (рис.8,9). Образец вводился после предварительного удаления нефтяной фракции – экстрагента. Экстракт в жидком виде вводился через баллон напуска в ионный источник масс-спектрометра. Для уточнения идентификации компонентов экстракта при разделении их методом тонкослойной хроматографии исходный образец подвергали предварительно адсорбционному разделению на активированном силикагеле в созданных нами условиях.

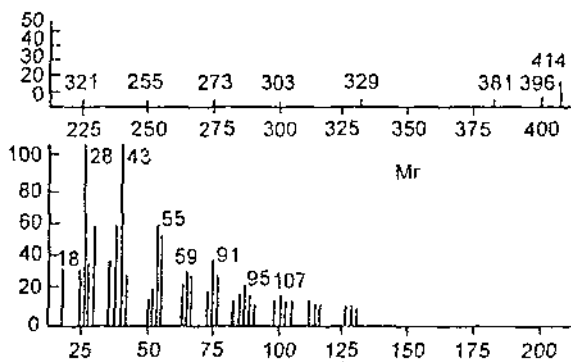


Рис. 8. Масс-спектр образца 2 (пик №2 на термограмме).

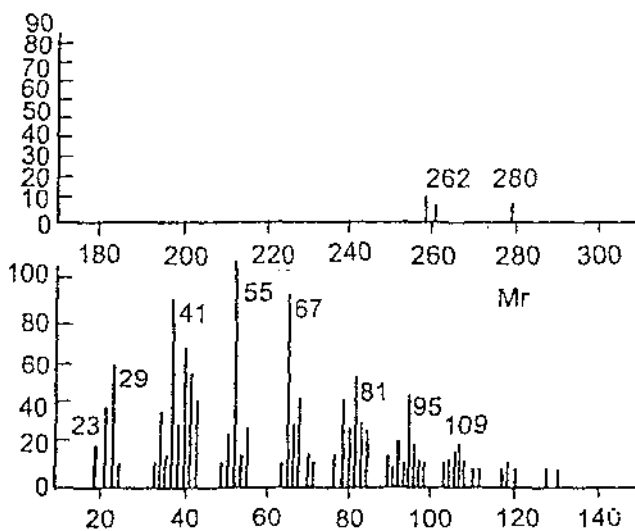


Рис. 9. Масс-спектр образца 2 (пик №1 на термограмме).



Образцы экстрактов орехов подвергались комплексному изучению с применением инструментальных методов анализа, указанных на схеме 1.

Схема исследования образцов включала: —

1. Прямой анализ экстрактов методами хроматографии и масс-спектрометрии электронного удара с использованием напуска вещества через баллон и непосредственно в зону ионного источника масс-спектрометра с помощью прямого ввода после предварительного удаления экстрагента — нефтяной фракции.

2. Анализ экстрактов, подвергнутых предварительному адсорбционному разделению на активированном силикагеле.

Условия проявления выбирали таким образом, чтобы показатели хроматографической подвижности компонентов находились в широком диапазоне:  $R_f = 0,1 - 0,7$ .

Необходимая эффективность разделения была достигнута при двухступенчатом проявлении пластины элементом указанного выше состава. Путем варьирования пути проявления (расстояния старт — финиш) обеспечивали высокую эффективность разделения с выделением нескольких групп соединений, общее число которых достигало 7.

Масс-спектры исходных экстрактов образцов 2 и 3, полученные на приборе LCB 2091 при температуре баллона напуска  $200^{\circ}\text{C}$ , были идентичны и совпадали с масс-спектром экстрагента (образец 1) нефтяной фракции  $100-150^{\circ}\text{C}$ .

В масс-спектрах фракций адсорбционного разделения (образец 2ГФ, 2ХФ, 2СХФ) зарегистрированы лишь пики соответствующих элементов — растворителей — гексана, хлороформа и этилового спирта.

Отсутствие в масс-спектрах каких-либо характерных пиков ионов, соединений, отличающихся от растворителей, можно объяснить или низкой концентрацией экстрагированного вещества, или его чрезвычайно низкой летучестью.

В хроматограммах исходного экстракта (образец 2) и фракций адсорбционного разделения (хлороформенной — образец 2ХФ и спиртохлороформенной — образец 2СХФ), как и в масс-спектрах, отсутствуют пики компонентов, отличающихся от растворителей, несмотря на повышение температуры колонки до  $280^{\circ}\text{C}$ .

При съемке масс-спектров исходного экстракта, особенно хлороформенной и спиртохлороформенной фракций, было отмечено, что при испарении растворителя образуется тонкий слой вещества. Для концентрирования вещества в специальную ампулу помещали 200 мкл экстракта и проводили испарение растворителя при комнатной температуре. На стенках ампулы образовывался налет вещества. Ампулу вводили непосредственно в область ионного источника масс-спектрометра. Программирование температуры нагрева ампулы с анализируемым веществом осуществляли от  $80$  до  $450^{\circ}\text{C}$  (рис. 8, 9).

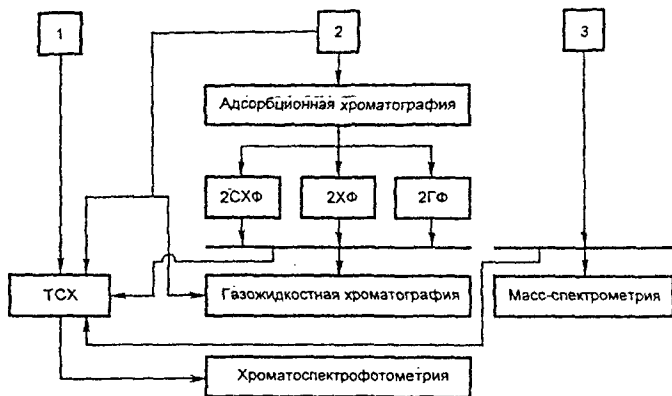


Схема 1. Методы исследований экстрагентов и препаратов.

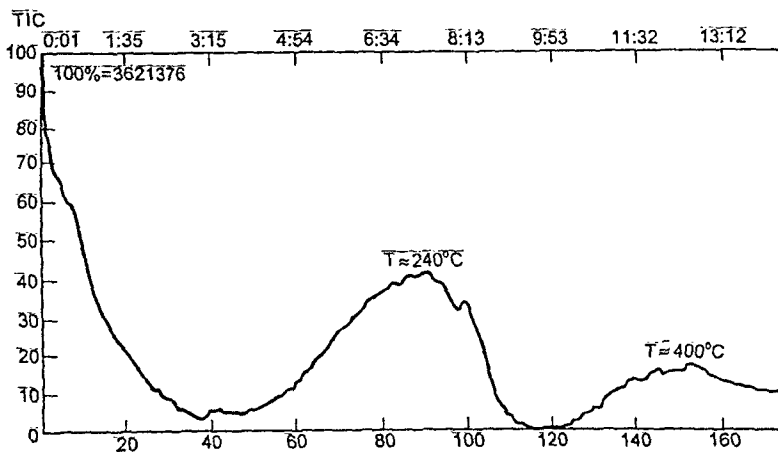


Рис. 10. Термограмма образца 2.

На рис. 10 приведена термограмма продуктов испарения анализируемого образца 2. На кривой наблюдаются два максимума испарения — первый при температуре 240 – 260°C, второй — при 390 – 430°C.

Исследование термограмм позволяет судить о наличии, по крайней мере, двух типов или групп соединений с избранными молекулярными массами 414 и 337.

Несмотря на жесткие условия испарения, полностью испарить вещество из ампулы не удалось. Большая его часть осталась на стенке ампулы.

Исследование масс-термограммы по всей кривой испарения с целью обнаружения 5-окси-1,4-цафтохинона (юглона) свидетельствовало об отсутствии соединения в сухом остатке экстракта (рис. 10).

На рис. 11, 12 представлены ТС-хроматограммы исходного экстракта (образец 2), его хлороформенной (образец 2ХФ) и спиртохлороформенной (образец 2СХФ) фракций, полученные по I способу разделения. Параллельно с ними в тех же условиях хроматографировали пробу экстрагента — нефтяной фракции 100 – 150°C (образец 1).

Как видно из хроматограммы, при I способе разделения обнаружено 5 групп соединений различной полярности и хроматографической подвижности. Показатели хроматографической подвижности компонентов имеют следующие значения:  $R_f = 0,02; 0,07; 0,14; 0,34; 0,50$ .

При хроматографии образца I проба полностью уходит на линию финиша. Примеси высших углеводородов, какие-либо гетероатомные соединения в образце не обнаружены.

Из сопоставления хроматограмм исходного экстракта (образец 2) и фракций его адсорбционного разделения (образцы 2ХФ, 2СХФ) видно, что они имеют близкий групповой состав. В каждом образце присутствует по 5 групп соединений с идентичными показателями хроматографической подвижности. По-видимому, в условиях адсорбционного разделения на силикагеле не удается обеспечить требуемой эффективности разделения.

Согласно данным литературы, в стандартных и направленно измененных условиях хроматографирования показатель  $R_f$  позволяет оценить принципиальные различия в составе разделенных продуктов. Так, порядок величины  $R_f$  дает возможность идентифицировать в составе образца 2 две группы соединений: I группу — слабополярные соединения (компоненты IV и V с  $R_f = 0,34$  и  $0,50$ ), которые могут быть представлены углеводородными структурами со слабополярными заместителями, преимущественно в боковой цепи и с низким содержанием гетероатомов; II группу — полярные высокомолекулярные соединения (компоненты I, II, III, с низким показателем  $R_f = 0,02; 0,07; 0,14$ ). Удлиненная форма хроматографических пятен последних, низкая величина  $R_f$  позволяют предположить, что они неоднородны или представлены соединениями широкого фракционного состава.

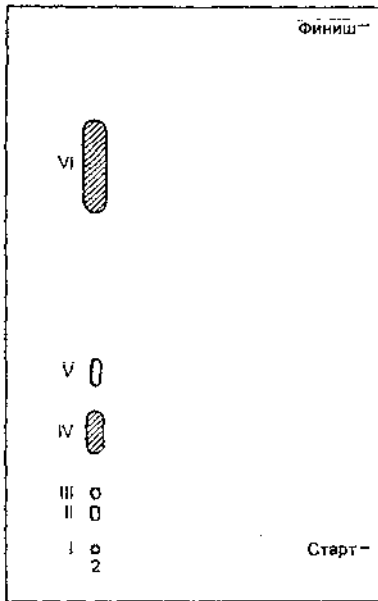


Рис.11. Тонкослойная хроматограмма исходного экстракта.

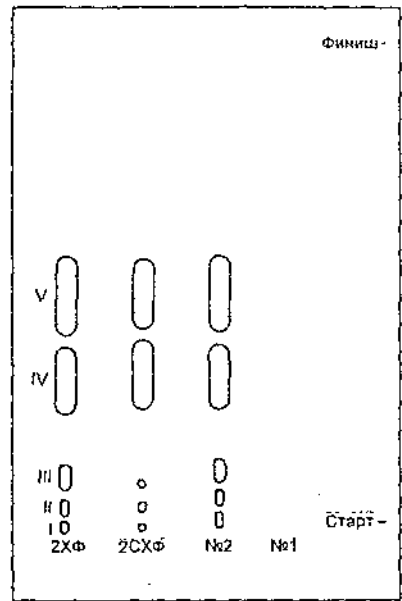


Рис.12. Тонкослойная хроматограмма различных фракций тодикампа.

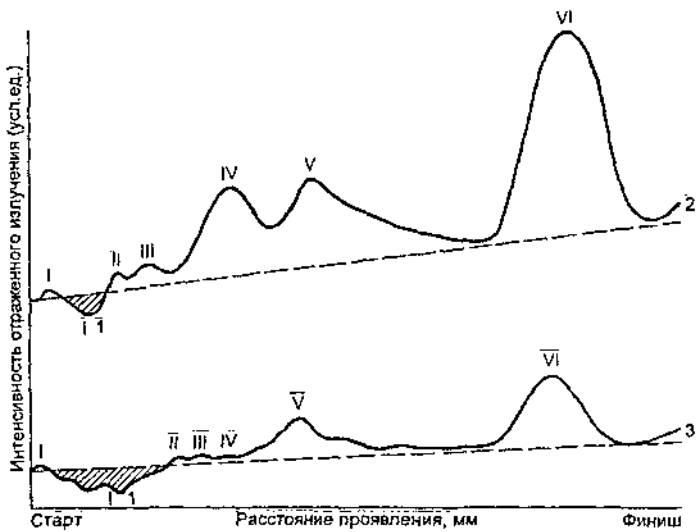


Рис. 13. УФ-спектры образцов 2 и 3 тодикампа.

Увеличением расстояния проявления на первой и второй ступенях были созданы условия для более эффективного разделения соединения II группы. Общий вид хроматограмм образцов 2, 2ХФ, 2СХФ, полученных отмеченными способами, представленных на рис. 12, 13, показывает, что в новых условиях разделения малополярные соединения – компоненты IV и V – сливаются в одно пятно ( $R_f = 0,60$ ), а высокополярные обнаруживают 5 групп соединений (вместо трех по 1 способу). По II способу проявления обнаруживается некоторая селективность адсорбционного разделения экстракта (образец 2) на силикагеле АСМ. Компонент III концентрируется с  $R_f = 0,08$  преимущественно в спиртохлороформенной фракции 2СХФ, а компонент IV ( $R_f = 0,19$ ) – в хлороформенной фракции (образец 2ХФ).

На рис. 13 представлены интенсивность отражаемого излучения образцов 2 и 3, полученная на спектрофотометре КМ-3 в УФ-области излучения ( $\lambda = 370$  нм).

На сканограмме образца 2 четко регистрируются основные компоненты I–IV, ранее обнаруженные методом ТСХ.

Наибольшую интенсивность имеет пик VI, что можно объяснить наличием ароматического кольца в структуре сопряженных связей, а также высокой концентрацией компонента.

Незначительно уступают ему по интенсивности пики IV и V ( $R_f = 0,19$  и  $0,21$ ). Пики полярных компонентов I, II, III ( $R_f = 0,02, 0,09$ ) носят характер низкой интенсивности.

Обращает на себя внимание появление на сканограмме пика 1<sup>1</sup>, который в отличие от остальных может принадлежать соединению, не поглощающему, а отражающему УФ-излучение.

Аналогичные «аномальные» пики с более широким основанием присутствуют и на сканограммах образца 3. Количественное определение компонентов экстракта, их идентификация потребуют разработки специальной методики разделения и наличия индивидуальных веществ-свидетелей.

Использованная нефтяная фракция для изготовления препарата тодикамп получила название ленефр. Она получена из нефти со следующими физико-химическими показателями, установленными нами: плотность при  $20^{\circ}\text{C}$   $\text{кг/м}^3$  – 807, температура начала кипения –  $51^{\circ}\text{C}$ , отгоняется при температуре  $75^{\circ}\text{C}$  – 3%, при  $100^{\circ}\text{C}$  – 10%, при  $150^{\circ}\text{C}$  – 28%, при  $175^{\circ}\text{C}$  – 36%, при  $200^{\circ}\text{C}$  – 42%, при  $250^{\circ}\text{C}$  – 53%, при  $300^{\circ}\text{C}$  – 65%, при  $350^{\circ}\text{C}$  – 76%, содержание хлористых солей – 2,5 мг/л, содержание механических примесей – 0,0064%, содержание серы – 0,12%.

Ленефр является однородной жидкостью, прозрачной, бесцветной, подвижной, с характерным бензиновым запахом, растворима в нефтепродуктах, ацетоне и других органических растворителях, не растворима в воде и спирте. С серной кислотой фракция не смешивается во всех концентрациях.

Нами определены физико-химические свойства ленефра: плотность от 740 до 760  $\text{кг/м}^3$  (при 20°C), показатель преломления – от 1,410 до 1,420 (при 20°C), вязкость – от 0,7 до 0,9  $\text{мм}^2/\text{с}$  (при 20°C), кислотность – от 0,06 до 0,3 мг КОН на 100  $\text{см}^3$  образца, предельные углеводороды – от 50 до 53%, нафтеновые углеводороды от 33 до 39%, в том числе моноциклические – от 31 до 36%, бициклические – от 2,0 до 5%, ароматические углеводороды – не более 11%, в том числе моноциклические (алкилбензолы) – не более 10,8%, инданы, тетралины – не более 0,2%, полициклические – отсутствие, массовая доля непредельных углеводородов – 1,4%, механические примеси – отсутствие, вода – отсутствие, серы – от 0,02 до 0,03%, содержание свинца – отсутствие до  $10^{-5}$ .

В исследованиях для приготовления 1 кг тодикампа нами использовано зеленых плодов грецкого ореха 1,7 кг, ленефра – 0,75 кг. В процентном отношении грецких орехов – 70%, ленефра – 30% (использован в этом исследовании один из вариантов изготовления тодикампа). При этом способе получения: тодикамп – прозрачная, подвижная жидкость, ярко желтого цвета с характерным запахом. Растворим в нефтепродуктах, ацетоне и других органических растворителях. Не растворим в воде, спирте и не смешивается с кислотами различных концентраций. Нами разработан способ определения подлинности тодикампа. С этой целью 3 мл тодикампа заливают водой до объема 50 мл. К 10 мл полученной смеси прибавляют 2 капли раствора хлорида окисного железа. Смесь окрасилась в зеленый цвет и выпал осадок. Затем 2 мл смеси заливают водой до объема 10 мл, в содержимое добавляют 2 капли раствора хлорида окисного железа. Зеленое окрашивание сохраняется.

Подлинность тодикампа также определяется спектральным методом в инфракрасном спектре. Сняты ИК-спектры ленефра, тодикампа, ЧСК-1. Спектры сняты в области от 400 до 6000  $\text{см}^{-1}$ .

В ИК-спектрах всех образцов наблюдаются интенсивные полосы поглощения при 2800-3000  $\text{см}^{-1}$  и 1460 и 1375  $\text{см}^{-1}$ , соответствующие колебаниям  $\text{CH}_2$  – и  $\text{CH}_3$  – групп. Полосы поглощения при 1600  $\text{см}^{-1}$  относятся к колебаниям скелета  $\text{C} = \text{C}$  ароматического кольца. Для ИК-спектра экстракта грецких орехов присутствует интенсивная полоса поглощения при 1740  $\text{см}^{-1}$ , что соответствует валентным колебаниям  $\text{C} = \text{O}$  и полосе поглощения при 1170  $\text{см}^{-1}$ , относящейся к колебаниям карбонильной группы ( $-\text{C} = \text{O}$ ) характерной для сложных эфиров карбоновых кислот.

Результаты наших исследований физико-химических свойств тодикампа: плотность при 20°C – от 760 до 770  $\text{кг/м}^3$ , показатель преломления при 20°C от 1,424 до 1,426, вязкость при 20°C – от 0,70 до 0,90  $\text{мм}^2/\text{с}$ , кислотность – от 1,5 до 3,0 мг КОН на 100 мл препарата, предельные углеводороды – от 47 до 52%, нафтеновые углеводороды, в том числе моно – от 27 до 37%, би-, три от 3 до 9%, ароматические углеводороды – не более 12%, массовая доля непредельных углеводородов – не более 1,4%, механические примеси – отсутствие, вода – отсутствие, содержание серы – от 0,02 до 0,03%, содержание

тяжелых металлов (ванадия, кобальта, молибдена) — отсутствие (до  $10^{-5}$  %), сухой остаток — не более 1,5%, содержание свинца — отсутствие — до  $10^{-5}$  %. В тодикампе относительное содержание жирных кислот общих липидов в процентах от суммы метиловых эфиров жирных кислот составило: линоленовой 10,3, линолевой 71,3, олеиновой 10,5, стеариновой 1,0, пальмитиновой 7,0, пальмитолоеиновой, пентадецеиновой и миристиновой — следы.

В препаратах тодикамп и ЧСК-1 сохранены биологически активные вещества зеленых плодов грецкого ореха.

### Изучение токсичности препаратов группы СК

Тодикамп в различных дозах вводили внутрижелудочно 50-ти самкам и 50-ти самцам аутбредным белым мышам живой массой 20 — 22 г и такому же количеству белым аутбредным крысам живой массой 190 — 210 г. Мыши и крысы были распределены на 10 групп, каждая из которых состояла из двух подгрупп по 5 самцов и 5 самок. Самцы и самки содержались раздельно. До введения препаратов было проведено взвешивание животных, а также исследование крови, которые показали, что группы по массе тела и показателям крови не имели статистически достоверной разницы.

Первая группа мышей составила контрольную группу, животным этой группы вводили внутрижелудочно физиологический раствор от 0,3 до 0,5 мл. Животным остальных групп однократно ввели от 2,0 до 18 г/кг массы тодикампа. После введения препарата на 2-3-и сутки в седьмой группе пало две мыши (один самец и одна самка), в 8-й группе — 5 мышей (2 самца и 3 самки), в 9-й группе — 8 мышей (3 самца, 5 самок), в 10-й группе — 10 мышей (5 самцов и 5 самок)

По Литтлфильду и Уилкоксоу были высчитаны летальные дозы тодикампа для белых мышей:  $LD_{50}$  составила  $14666 \pm 584,9$  мг/кг,  $LD_{16} = 11733,3$  мг/кг,  $LD_{34} = 16266,7$  мг/кг.

Было проведено патологоанатомическое вскрытие павших мышей. Гистологическим исследованием установлены изменения дисциркуляторного характера с очагами некроза клеток и тканей в мозгу, сердце, печени.

Аналогичные результаты были получены при внутрижелудочном введении тодикампа белым аутбредным крысам. Крысы первой группы служили контролем, им внутрижелудочно вводили от 3,0 до 4,0 мл физиологического раствора. Дозы тодикампа, введенного внутрижелудочно крысам, колебались от 2,0 до 18,0 г/кг. Крысы 2-5-й групп внутрижелудочное введение тодикампа перенесли хорошо, как и животные первой группы, которым вводился физиологический раствор.

На основании проведенных экспериментальных исследований высчитаны летальные дозы тодикампа при внутрижелудочном введении белым крысам:  $LD_{50} = 14760,0 \pm 501,42$  мг/кг,  $LD_{16} = 11674$  мг/кг,  $LD_{34} = 15560$  мг/кг.

На 15 поросятах 4-месячного возраста проведен эксперимент с использованием широкого спектра физиологических, гельминтологических, гематологических, биохимических методов исследований. Из числа этих поросят 5

оказались носителями аскарид и составили 3-ю группу. Первой группе 5-ти поросятам (контрольной) внутривентриально вводили по 10 г/кг физиологического раствора, второй группе (5 поросят) агельминтозным, клинически здоровым – по 10 г/кг тодикампа, а третьей группе – по 12 г/кг тодикампа. Комплексные исследования крови были проведены через 7, 14, 21, 30 суток после введения тодикампа. После введения препарата у третьей группы поросят в течение суток было собрано в фекалиях от 1 до 4-х экземпляров аскарид длиной от 11 до 14 см. Затем был проведен убой поросят с последующим исследованием их кишечника на наличие гельминтов. Все поросята освободились от аскарид.

На 10 щенятах породы бигл 4-месячного возраста, распределенных на две группы: 5 щенят (агельминтозные), 5 щенят (носители токсокар), было проведено испытание высокой дозы тодикампа. До введения препарата было проведено взвешивание животных и применен широкий спектр физиологических, гематологических и биохимических исследований. Первой группе щенят (контрольной) внутривентриально введен физиологический раствор в дозе 10 г/кг, второй группе – 10 г/кг тодикампа. В течение суток щенята освободились от токсокар. Их количество колебалось от 1 до 7 экземпляров длиной от 5 до 9 см. Освобождение щенят от гельминтов подтверждено вскрытием кишечника.

Изучение острой токсичности тодикампа на белых мышях и крысах, на обезьянах, поросятах, щенятах показало, что разовое введение внутривентриально тодикампа в дозах, превышающих в 100 раз терапевтическую антигельминтную (100 мг/кг), не обладает токсическим эффектом.

Хроническая токсичность тодикампа при внутривентриальном введении изучена на 100 белых мышях и 60-ти белых крысах, при суммарной дозе до 50-77 г/кг. Для белых мышей  $LD_{50}$  составила  $63667,7 \pm 1754,8$  мг/кг,  $LD_{16} = 58860$  мг/кг,  $LD_{84} = 72460$  мг/кг. Самки белых мышей оказались более чувствительными к хроническому отравлению тодикампом, чем самцы: для самок  $LD_{50} = 61875 \pm 980,3$  мг/кг, для самцов –  $LD_{50} = 64980 \pm 995,4$  мг/кг ( $P < 0,05$ ,  $t = 2,06$ ).

На основании проведенных исследований установлена для крыс  $LD_{50} = 75833,3 \pm 2924,7$  мг/кг,  $LD_{16} = 61166,7$  мг/кг,  $LD_{84} = 83833,3$  мг/кг. Самки крыс оказались более чувствительными к тодикампу в хроническом опыте, чем самцы: для самок  $LD_{50} = 74157,4 \pm 1575,7$  мг/кг, для самцов  $LD_{50} = 76978,3 \pm 1489,3$  мг/кг. При суммарной дозе тодикампа более 60,0 г/кг, введенного внутривентриально крысам, начинается гибель животных.

Подкожное введение тодикампа в область бедра изучено на 6-ти обезьянах, которым препарат вводили в утренние часы (10–12 часов) двукратно с интервалом в 13 дней в дозах 0,02 и 0,1 мл подкожно. Независимо от дозы препарата обезьяны бурно реагировали на его инъекцию. Для уменьшения возможности развития инфильтрата область бедра в месте введения препарата массировали в течение 3–5 мин. Лишь спустя 10–12 мин после инъекции



обезьяны успокаивались (обычно реакция обезьян на п/к или в/м инъекцию антибиотиков, витаминов и других препаратов не превышает 2–5 мин).

При частотном и амплитудном анализе ЭКГ, зарегистрированной в стандартных отведениях, не обнаружено нарушений возбудимости и проводимости в миокарде; ритм во время эксперимента оставался синусовым. Суточные колебания хронотропной деятельности сердца соответствовали изменениям, характерным для обезьян, находящимся в фиксированном состоянии в приматологическом кресле (рис. 14,15). Результаты комплексных исследований позволили нам сделать заключение, что препарат не проявил токсического воздействия на организм обезьян.

На 25-ти беспородных собаках и на 15-ти беспородных свиньях, зараженных экспериментально стробилиярным и ларвальным эхинококкозом по общепринятым методикам, нами была установлена противоэхинококковая активность тодикампа. При этом при лечении стробилиярного эхинококкоза собак  $ED_{50}$  оказалась равной 10 мг/кг, при лечении эхинококкоза легких и печени свиней  $ED_{50}$  – 20 мг/кг.

Опыты по изучению хронической токсичности тодикампа проведены на 15-ти щенятах, полученных от двух самок-собак породы бигл, и 15-ти поросят, полученных от одной беспородной свиноматки. Животные содержались в стандартных вивариях, обслуживаемых учеными зооинженерами и ветеринарными врачами.

Каждый вид животных был распределен на 3 группы: контрольной ежедневно однократно в течение 6 месяцев вводили внутрь дистиллированную воду, второй группе щенят – 10 мг/кг ( $ED_{50}$ ) тодикампа, второй группе поросят – 20 мг/кг ( $ED_{50}$ ) тодикампа, третьей группе щенят – 100 мг/кг ( $10ED_{50}$ ), третьей группе поросят – 200 мг/кг ( $10ED_{50}$ ) тодикампа. Исследование животных контрольных и экспериментальных групп проведено в соответствии со стандартным протоколом, рекомендованным МЗРФ (2000). Испытуемые агенты животных вводили ежедневно в течение 6-ти месяцев, после отмены препаратов наблюдения и исследования проведены в течение последующих 6-ти месяцев.

В течение всего эксперимента животные чувствовали себя хорошо, шерсть была блестящая, видимые слизистые бледно-розового цвета, мочеиспускание и дефекация нормальные, аппетит хороший, активность высокая, развитие и рост соответствовали нормативным показателям собак и свиней. Со стороны сердечно-сосудистой системы отклонений не было.

Статистическая обработка результатов исследований крови собак показала, что в количестве эритроцитов, ретикулоцитов, тромбоцитов, лейкоцитов, гемоглобине, в лейкоцитарной формуле, гематокрите, скорости свертывания крови, резистентности эритроцитов между контрольной и группами, получавшими тодикамп, статистически существенной разницы нет.

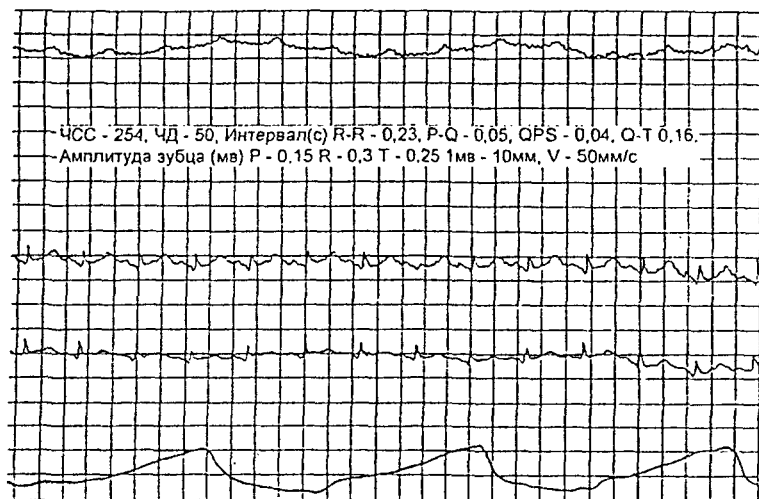


Рис. 14. ЭКГ обезьяны №2556 до введения тодикампа.

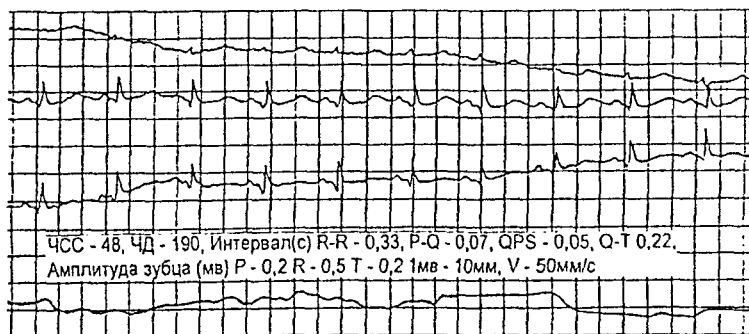


Рис. 15. ЭКГ обезьяны №2556 через 24 часа после подкожного введения 0,02 мл тодикампа.

Через месяц после внутрижелудочных введений тодикампа собакам в дозах 10 ЕД<sub>50</sub> наблюдалось статистически достоверное увеличение лейкоцитарного индекса шлоксикации (ЛИИ), количества холестерина, триглицеридов, АсАТ, АлАТ, ЛДГ ( $P < 0,05$ ).

Если у контрольных собак ЛИИ составил  $1,09 \pm 0,13$ , то у собак третьей группы он поднялся до  $1,44 \pm 0,02$ , содержание холестерина в крови у контрольных собак  $4,47 \pm 0,13$  ммоль/л, а у собак третьей группы —  $5,88 \pm 0,047$  ммоль/л, триглицеридов соответственно —  $1,32 \pm 0,5$  и  $1,75 \pm 0,06$  ммоль/л. По-видимому, отмеченные изменения некоторых показателей крови у собак под воздействием месячного введения тодикампа в дозе 10 ЕД<sub>50</sub> не связаны с токсическим действием испытуемого агента, а являются реакцией организма на введение биологически высокоактивного вещества, так как через 6 месяцев после ежедневных введений тодикампа произошла нормализация отмеченных биохимических показателей, и не было статистически достоверной разницы в изученных биохимических показателях между животными трех групп. Кроме того, наиболее высокой была живая масса животных, получавших тодикамп, по сравнению с контрольными.

У поросят под влиянием длительного внутрижелудочного введения тодикампа в таких же дозах, что и у собак, в изученных биохимических показателях крови, не произошло статистически достоверных отклонений в течение всего эксперимента по сравнению с контролем. Но в данных общего анализа крови у всех подопытных животных через 6 месяцев от начала эксперимента изменилось содержание количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и СОЭ. Если у поросят первой группы (контрольной) до введения тодикампа количество эритроцитов составляло  $7,5 \pm 0,16 \cdot 10^{12}/л$ , гемоглобина  $109,0 \pm 3,85$  г/л, лейкоцитов  $7,4 \pm 0,36 \cdot 10^9/л$ , СОЭ  $24,1 \pm 1,4$  мм/час, то через 6 месяцев от начала эксперимента эти показатели соответственно изменились: количество эритроцитов и гемоглобина снизилось соответственно до  $6,9 \pm 0,17 \cdot 10^{12}/л$  и  $97,0 \pm 3,74$  г/л, произошло повышение уровня лейкоцитов до  $9,60 \pm 0,13 \cdot 10^9/л$  и СОЭ до  $32,2 \pm 1,16$  мм/час. Такие же изменения произошли и у поросят второй и третьей групп. Подобные отклонения не связаны с побочным или токсическим действием тодикампа, а являлось отражением возрастной физиологии свиней, когда у молодых животных в крови увеличено количество эритроцитов и гемоглобина, снижено количество лейкоцитов и замедлена СОЭ, а к более старшему возрасту, например, шестимесячному увеличивается количество лейкоцитов и СОЭ и снижается количество эритроцитов и гемоглобина.

При патологоанатомическом исследовании собак и свиней не обнаружено различия между контрольными и подопытными животными. Гистологические исследования головного мозга, сердца, печени, почек, легких, селезенки, тимуса, надпочечников, желудка, кишечника, мочевого пузыря, поджелудочной железы, костного мозга, щитовидной железы, лимфатических узлов, се-

менников у самцов, матки и яичников у самок не выявили различия между контрольными и опытными собаками и свиньями.

Таким образом, длительное, ежедневное шестимесячное введение внутрь собакам и свиньям тодикампа в дозах  $ED_{50}$  и  $10 ED_{50}$  не вызывает функциональных и морфологических изменений в жизненно важных органах.

Проведено две серии экспериментов по длительной аппликации (от 1-го до 6-ти месяцев) тодикампа и ленефра на кожу белых крыс и кроликов шиншилла. В каждой серии экспериментов использовано по 50 белых крыс и 30 кроликов, разделенных на 5 групп: группа крыс – 10 особей, группа кроликов – 6 особей. Все животные первой группы получали аппликацию на кожу дистиллированной воды, животные второй и третьей групп – ленефра, четвертой и пятой групп – тодикампа. Четные группы животных апплицированы ленефром и тодикампом в дозе  $ED_{50}$ , нечетные – в дозе  $10 ED_{50}$ . Применены методики, предусмотренные Фармкомитетом РФ (2000). Проведенные исследования показали, что тодикамп и ленефр при накожном длительном нанесении животным в дозе  $ED_{50}$  и  $10 ED_{50}$  не вызывают нарушений функций и морфологии жизненно важных органов. Отмечены незначительные отклонения биохимических показателей (увеличение содержания мочевины в сыворотке). После отмены препаратов наблюдали слабые изменения со стороны гематологических показателей (снижение количества ретикулоцитов, ускорение свертывания крови), но они носили обратимый характер.

При изучении иммунотоксического и аллергизирующего действия учитывались реакции: клеточного и гуморального иммунитета, гиперчувствительности «немедленного» и «замедленного» типов.

Двукратное введение тодикампа в дозах 0,002 и 0,01 мл/мышь не вызывает изменений количества антиэритроцитарных антител (гемагглютининов) в сыворотке крови. Сенсibilизация морских свинок тодикампом и растворителем в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг не влияла на развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и не оказывала влияния на реакцию активной кожной анафилаксии (АКА). Сенсibilизация морских свинок тодикампом и растворителем (0,1 и 0,02 мл/кг) при разрешающей внутрисердечной инъекции соответствующим тест-препаратом в дозе 0,04 мл/кг не вызывала анафилактической реакции у животных. У интактных морских свинок внутрисердечная инъекция исследуемыми тест-препаратами в дозе, превышающей сенсibilизирующую в 3 раза, вызывает 20% -ную гибель животных. Сенсibilизация морских свинок тодикампом (0,1 мл/кг) в комплексе с белковым антигеном (лош. IgG) не оказывает влияния на развитие анафилаксии, индуцированной IgG.

Установлено, что в терапевтических дозах тодикамп не обладает иммунной токсичностью и аллергизирующими свойствами.

Изучение эмбриотоксичности тодикампа в основном провели А.Г. Маленков и А.М. Торчинский (1995, 2002) на крольках породы шиншилла и белых крысах. Использовано 75 кроликов и 75 белых крыс. Исследования были

проведены согласно методическим указаниям по изучению репродуктивной токсичности фармакологических веществ (Любимов Б.И. и соавт., 2000). Установлено, что препарат не обладает эмбриотоксичностью и тератогенными свойствами.

В соответствии с указаниями А.Д.Дурнева и соавт. (2000) изучена способность тодикампа индуцировать генные мутации у бактерий в условиях метаболической активации *in vitro* и *in vivo*, абберации хромосом в клетках костного мозга мышей и доминантные летальные мутации в зародышевых клетках мышей. Мутагенный эффект препарата не обнаружен ни в одном из использованных методов.

Теми же методами, которыми изучалась токсичность тодикампа, изучен ЧСК-1. В экспериментах использованы различные виды животных: белые мыши и крысы, кролики, морские свинки, щенята, поросята, цыплята, обезьяны.

Эксперименты, выполненные по изучению острой и хронической токсичности ЧСК-1, показали, что токсичность ЧСК-1 по сравнению с таковой тодикампа оказалась несколько ниже.

В экспериментах на кроликах и крысах была доказана безвредность кожных аппликаций ЧСК-1 и его экстрагента в течение 30 дней. В экспериментах также было установлено, что ЧСК-1 не обладает иммуноотоксичностью и аллергизирующим действием, отсутствует также эмбриотоксичность и тератогенность препарата. В терапевтических дозах ЧСК-1 лишен мутагенной и ДНК-повреждающей активности.

На 50 морских свинках и 40 белых крысах изучена токсичность противочесоточных средств, содержащих бензилбензоат, с включением в их состав до 10% тодикампа или ЧСК-1. Под воздействием тодикампа и ЧСК-1 снижается токсичность бензилбензоата.

Проведены исследования по изучению острой токсичности препаратов СК-3 и СК-6.

Токсические дозы препарата СК-3 для белых мышей составили:  $TD_{16} = 0,85$  г/кг,  $TD_{84} = 2,2$  г/кг,  $TD_{50} = 1,53 \pm 0,17$  г/кг при  $P < 0,05$   $t = 2,06$ . Максимальная недетальная доза равна 3,0 г/кг. Препарат в дозах 0,05–0,80 г/кг не вызывал отрицательных сдвигов в показателях общего анализа крови.

Для белых крыс  $TD_{16} = 0,96$  г/кг,  $TD_{84} = 3,48$  г/кг,  $TD_{50} = 2,22 \pm 0,42$  г/кг при  $P < 0,05$   $t = 2,06$ . Под воздействием дозы препарата СК-3 более 1 г/кг у крыс проявлялось отравление, которое носило обратимый характер, было кратковременным, животные быстро самовыздоравливались.

Для 3-месячных цыплят породы ала-тау  $LD_{16} = 0,67$  г/кг,  $LD_{84} = 1,17$  г/кг,  $LD_{50} = 0,88 \pm 0,07$  г/кг при  $P < 0,05$   $t = 2,06$ . По сравнению с мышами и крысами цыплята оказались более чувствительными к токсическому действию препарата СК-3.

Для щенят породы бигл токсические дозы СК-3:  $TD_{16} = 1,1$  г/кг,  $TD_{84} = 2,8$  г/кг,  $TD_{50} = 1,95 \pm 0,28$  г/кг при  $P < 0,05$   $t = 2,06$ . При токсических дозах на-

ступало отравление собак, которое носило обратимый характер, через 3-5 дней наблюдали их самовыздоровление.

На основании проведенных экспериментальных исследований подсчитана острая токсичность препарата СК-6: для белых мышей -  $TD_{16} = 427$  мг/кг,  $TD_{84} = 1107$  мг/кг,  $TD_{50} = 767 \pm 87,7$  мг/кг, для белых крыс -  $TD_{16} = 560$  мг/кг,  $TD_{84} = 1240$  мг/кг,  $TD_{50} = 900 \pm 85,7$  мг/кг, для щенят -  $TD_{16} = 478,3$  мг/кг,  $TD_{84} = 1611$  мг/кг,  $TD_{50} = 1045 \pm 146,2$  мг/кг, для цыплят -  $TD_{16} = 261,85$  мг/кг,  $TD_{50} = 457,14 \pm 50,14$  мг/кг,  $TD_{84} = 651,4 \pm 146,2$  мг/кг.

Приведенные материалы показывают, что СК-3 и СК-6 по сравнению с тодикампом и ЧСК-1 обладают более высокой токсичностью, углубленные исследования по изучению этих препаратов были прекращены.

### **ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И НОВЫХ ЭКСТРАКТОВ**

#### **Гепатопротекторные свойства тодикампа и ЧСК-1**

Эксперименты проведены на 60 белых аутбредных мышках (масса 17-19 г), 40 белых крысах (180-200 г), 47 собаках (5-7 кг) и 34 поросятах (11-14 кг). У поросят острый гепатит возник вследствие отравления ядохимикатами. У мышей острую печеночную недостаточность получали путем подкожного введения четыреххлористого углерода, предварительно разведенного в стерильном подсолнечном масле в соотношении 1:1, в дозе 0,6 мл/кг в течение трех дней. У собак использовали дополнительную методику: вводили внутрь керосиновое извлечение из зеленой массы аконита в дозе 2,8 г/кг. Токсический гепатит у собак вызывали введением только одного агента. Свободные аминокислоты в сыворотке крови определяли по ранее описанным методам.

Препаратом сравнения служил эссенциале, который вводили внутрь в течение 10 дней подряд в дозе 25 мг/кг/сут. Препараты ЧСК-1 и тодикамп вводили по 0,1 мг/кг внутрь в течение 10 дней (использован гомеопатический принцип). На мышках, крысах и собаках нами был получен токсический гепатит, особенно выраженный у собак.

В контрольной группе мышей, где не применялись лечебные препараты, летальность достигла 50%. В группе мышей, которым вводили эссенциале, она снизилась до 20%. Под воздействием препарата ЧСК-1 летальность мышей не отмечалась, а на 6-й день после лечения проявилась тенденция нормализации показателей общего анализа крови. Это соответствует данным литературы о терапевтическом эффекте препарата ЧСК-1 и его аналога тодикампа при циррозах печени.

У подопытных нелеченых поросят летальность достигла 40%; в группе, леченной препаратом ЧСК-1, летальность не отмечалась.

У подопытных собак с токсическим гепатитом наблюдались диарея, снижение аппетита, повышение температуры тела, учащение пульса, частоты дыхания, изменение цвета видимых слизистых оболочек (иктеричность, цианотичность, анемичность).

Тяжелая степень поражения печени подопытных собак сопровождалась статистически достоверным снижением в крови количества гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов по сравнению с контрольными животными. Кроме того, в сыворотке крови собак с печеночной недостаточностью уменьшилось количество общего белка, альбуминов, глобулинов, снизился также лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ), но увеличилось количество мочевины, аммиака, триглицеридов, глюкозы, общего билирубина, креатинина, аланиновой аминотрансферазы (АлАТ), аспарагиновой аминотрансферазы (АсАТ), глутаминтрансферазы (ГГТП), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), калия, кальция; резко повысилась тимоловая проба; увеличилось в сыворотке крови количество лейцина, серина, уменьшилось содержание аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, валина, гистидина, лизина, метионина, тирозина, триптофана, треонина, фенилаланина, что статистически достоверно ( $P < 0,05$ ).

В группе нелеченых собак летальность достигла 60%, в группе животных, леченных эссенциале, она снизилась до 20%. В группе собак, леченных препаратом ЧСК-1, гибель животных не наблюдалась.

Через 10 дней после начала лечения собак препаратом ЧСК-1 отмечена тенденция нормализации гематологических и биохимических показателей крови, оцениваемых Л.В. Гладских (1997), как объективные тесты детоксикационной терапии при функциональной недостаточности печени. Одновременно проявилась нормализация содержания свободных аминокислот в сыворотке крови, что также, по-нашему мнению, следует считать объективным тестом определения функциональной недостаточности печени и проявления токсичности испытуемого агента.

При проведении детоксикационной терапии подопытных животных, наряду с улучшением лабораторных показателей, отмечалось улучшение их общего состояния.

Избежать летальности отравленных животных с выраженной функциональной недостаточностью печени способствовали гепатозащитные свойства препарата ЧСК-1, обусловившие улучшение иммунного статуса при наличии вторичного иммунодефицита у подопытных животных.

Таким образом, выраженная функциональная недостаточность печени у животных сопровождается диареей, снижением аппетита, повышением температуры тела, учащением пульса, частоты дыхания, изменением цвета видимых слизистых оболочек, изменениями биохимических, гематологических показателей, глубоким нарушением белково-аминокислотного обмена, что указывает на поражение печени.

Препарат ЧСК-1 обладает выраженным гепатопротекторным действием, предотвращая летальность животных, нормализует гематологические и биохимические показатели. Высокая детоксикационная эффективность препарата, возможно, связана с его иммуномодулирующими свойствами.

Гепатопротекторные свойства тодикампа и ЧСК-1 были установлены в экспериментах на обезьянах при изучении токсичности данных препаратов.

Изучая острую токсичность тодикампа на обезьянах (макаки-резус) живой массой от 4,4 до 5,2 кг пятимесячного возраста, уход и содержание их проводили согласно разработкам Государственного научного центра РФ Института медико-биологических проблем РАН с использованием методов физиологических, гематологических, биохимических исследований ГНЦ РФ ИМБП РАН. Одна группа из 5-ти обезьян была контрольной. Им вводили физиологический раствор в дозе 10 г/кг, 5-ти обезьянам внутривенно вводили по 10 г/кг тодикампа. До введения препарата через 7, 14, 21, 40 дней после введения испытуемого агента проводились комплексные исследования.

Обезьяны контрольной группы клинически здоровые. У обезьян опытной группы, в фекалиях методами гельминтологических исследований были выделены яйца сифачий. В живой массе они несколько отличались от обезьян контрольной группы, а в крови отмечено увеличение количества лейкоцитов, эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов, СОЭ, повышение активности аланиновой (АлАТ) и аспарагиновой (АсАТ) аминотрансфераз, снижение количества лимфоцитов и живой массы.

Через 14 суток после введения обезьянам испытуемого агента в крови животных проявилась тенденция к нормализации изучаемых показателей. Если у гельминтозной группы обезьян до введения тодикампа СОЭ была  $7,1 \pm 0,86$  мм/час, то через 14 суток после введения препарата она уменьшилась до  $4,5 \pm 0,6$  мм/час, если процент эозинофилов был  $7,6 \pm 0,5$ , то через 14 суток после введения тодикампа уменьшился до  $6,8 \pm 0,9$ , лимфоцитов увеличился с  $52,8 \pm 2,4\%$  до  $57,0 \pm 1,6\%$ . Через 21 сут. после введения тодикампа у инвазированных обезьян произошла нормализация СОЭ и процента содержания лимфоцитов и активности АлАТ и АсАТ.

При изучении токсичности 3-недельного курса лечения эхинококкоза препаратом ЧСК-1 в опытах на 9-ти обезьянах нами было установлено улучшение функционального состояния печени. После комплексных исследований первую неделю ежедневно обезьяны получали внутрь натошак по 150 мг/кг ЧСК-1, вторую неделю – 300 мг/кг, третью неделю – 450 мг/кг ЧСК-1. Препарат животные переносили легко, без побочного действия. До введения ЧСК-1 в фекалиях всех 9-ти обезьян обнаружены яйца сифачий (видовая принадлежность установлена заражением мышей).

В течение трёхнедельного курса введения обезьянам ЧСК-1 в возрастающих дозах не отмечено токсичности и побочного действия препарата.

Произошла также нормализация биохимических показателей крови обезьян под воздействием трёхнедельного лечения ЧСК-1 в возрастающих



дозах. Если до введения обезьянам ЧСК-1 активность АсАТ составила  $156,0 \pm 3,5$  нм/с.л., то через 98 сут. от начала введения она снизилась до  $126,0 \pm 9,7$  нм/с.л., что статистически достоверно ( $P < 0,05$ ). Снизилась также активность АлАТ. Таким образом, под воздействием ЧСК-1 произошла нормализация функционального состояния печени.

#### **Иммуотропные и противомикробные свойства ЧСК-1 и тодикампа**

Опыты проводили на белых беспородных аутбредных мышах-самцах массой 18-19 г. Мышей заражали зародышевыми элементами эхинококков от оперированных больных. Полиоксидоний применен как препарат сравнения с широким спектром иммуотропного действия.

Ампициллин вводили в дозе 50 мг/кг внутримышечно в течение 4 дней, циклофосфан – внутривентриально в дозе 50 мг/кг 5 раз, полиоксидоний – по 1 мг внутримышечно в течение 2 – 10 дней, левамизол – внутривентриально по 30 мг/кг в течение 5 – 6 дней, тодикамп и ЧСК-1 – внутривентриально в дозе 50 мг/кг в течение 2 – 10 дней. Миелопид вводили под кожу в дозе 1 мг/кг через день, всего 5 инъекций.

Влияние испытуемых препаратов на гуморальный иммунитет при эхинококкозе оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК) в селезенке мышей к эритроцитам барана по методу N.K. Jerne.

По реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к динитрохлорбензолу (ДНХБ) оценивали состояние Т-клеточного иммунитета. Тестом восстановления нитротетразолиевого синего (НСТ-тест) определяли способность к активации кислородзависимого метаболизма, а функциональную активность фагоцитов оценивали по способности поглощать частицы латекса.

Исход в отношении инфекции оценивали внутривентриальным заражением мышей *Proteus mirabilis* – 4641 в дозе 140 – 200 млн. микробных тел суточной культуры, что соответствует 1,25 – 2 ЛД<sub>50</sub>. ЛД<sub>50</sub> возбудителя оценивали по Литчфильду – Уилкоксоу. Выживаемость животных устанавливали наблюдением за ними до летального исхода после заражения.

В результате проведенных экспериментов установлено, что циклофосфан у подопытных мышей вызывает иммуносупрессию. По сравнению с контролем в группе мышей, зараженных эхинококкозом, статистически значимо ( $P < 0,05$ ) уменьшилось количество АОК и спленоцитов в селезенке, что свидетельствует об иммуносупрессии.

Ампициллин на фоне циклофосфана и эхинококкоза не изменил апттелогенез. На фоне циклофосфана и эхинококкоза ампициллин, левамизол, тактивин не изменяют выраженность реакции ГЗТ к ДНХБ. Эти препараты на фоне циклофосфана или эхинококкоза не изменили числа АОК и количества спленоцитов.

Полиоксидоний на фоне циклофосфана или экспериментального эхинококкоза увеличил количество АОК и спленоцитов в селезенке подопытных животных, что можно оценивать как выраженную иммунокоррекцию.

Ампициллин, тативин, левамизол на фоне циклофосфана или эхинококкоза не изменил фагоцитарную активность нейтрофилов и макрофагов мышей. Напротив, полиоксидоний на фоне циклофосфана или эхинококкоза проявил тенденцию к нормализации фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов.

Мыши контрольной группы, зараженные эхинококкозом, и группы, которой вводили циклофосфан, под воздействием инфекции погибли в течение суток.

Тативин на фоне эхинококкоза или циклофосфана продлил жизнь инфицированных мышей по сравнению с контролем на  $5,53 \pm 0,55$  суток. Во всех группах ампициллин продлевал жизнь инфицированных мышей от  $2,29 \pm 0,76$  до  $5,74 \pm 0,85$  суток. Полиоксидоний на фоне циклофосфана после введения инфекции продлил жизнь мышей почти до трех суток. Самая высокая продолжительность жизни мышей под воздействием протейной культуры микроорганизмов оказалась в группах, зараженных эхинококкозом и леченных полиоксидонием, тодикампом и ЧСК-1.

Таким образом, эхинококкоз мышей, вызванный человеческими штаммами паразита, сопровождается иммуносупрессией, при которой иммуномодуляторы способствуют нормализации нарушенных звеньев клеточного и гуморального иммунитета. Из рассматриваемых в работе препаратов наиболее эффективными оказались полиоксидоний, тодикамп и ЧСК-1.

При иммуносупрессии, вызванной циклофосфаном или эхинококкозом, полиоксидоний, тодикамп и ЧСК-1 проявляют тенденцию к нормализации клеточного и гуморального звена иммунитета, а также фагоцитоза нейтрофилов и макрофагов.

Изучение иммунного статуса 28 хлопковых крыс (7 интактных, 21 зараженная альвеолярным эхинококкозом) дало возможность судить о препарате ЧСК-1 как о современном иммунокорректоре.

Как показали наши исследования, у хлопковых крыс, зараженных альвеолярным эхинококкозом, статистически достоверно увеличивается в крови количество Т-супрессоров, иммуноглобулинов А, М, G и циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), но снижается количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов.

Семь хлопковых крыс, зараженных альвеолярным эхинококкозом, в течение трех недель получали внутрь препарат ЧСК-1 в возрастающих дозах (первая неделя – ежедневно внутрь  $0,1 \text{ г/кг}$ , вторая неделя –  $0,26 \text{ г/кг}$ , третья неделя –  $0,34 \text{ г/кг}$ ), другая группа таких же крыс была пролечена в течение трех недель тативинном, который вводился парентерально ежедневно в дозе  $0,2 \text{ мл}$  на одно животное.

Под воздействием препарата ЧСК-1 в крови хлопковых крыс статистически достоверно по сравнению с зараженными контрольными животными увеличилось количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов, уменьшилось количество иммуноглобулинов А, М, G и ЦИК. Под воздействием тативина прояви-

лась тенденция к нормализации иммунного статуса у зараженных животных, но иммунокорректирующие его свойства оказались значительно слабее по сравнению с ЧСК-1. Например, под воздействием тактивина в крови зараженных альвеолярным эхинококкозом крыс увеличилось количество Т-лимфоцитов и эта разница статистически достоверна по сравнению с зараженными нелечеными контрольными животными, но в то же время количество Т-лимфоцитов оказалось статистически достоверно меньшим по сравнению с показателями крыс, леченных ЧСК-1. Показатели гуморального иммунитета крыс, леченных тактивинном, оказались неизменными. Вскрытиями установлено, что тактивин не вызвал торможения роста паразитарных ларвоцист. Противозачиноккозное действие препарата ЧСК-1 неразрывно связано с его иммунокорректирующими свойствами, он резко замедлил рост паразитарных ларвоцист. Результаты исследований на крысах были нами подтверждены на поросятах, зараженных в эксперименте эхинококкозом и пролеченных по указанной методике ЧСК-1, причем препаратом сравнения служил полиоксидоний. В эксперименте с поросятами по иммунокорректирующим свойствам ЧСК-1 не уступил полиоксидонию.

Противомикробная активность тодикампа и ЧСК-1 подтверждена нами определением чувствительности патогенной микрофлоры, выделенной из жидкости эхинококков, паразитировавших у овец (28 голов) и свиней (22 головы). Установлена резистентность общей микрофлоры к кефалиду у 2-х животных (4%), гентамицину – 28-ми (56%), эпоцеллину – 14-ти (28%), кефзолу – 8-ми (16%), клафорану – 10-ти (20%), тодикампу – 8-ми (16%), ЧСК-1 – 10-ти (20%), пенициллину – 40 (80%), эритромицину – 44-х (88%). В клинических условиях А.Х.Рахимов и соавт. (2002) другим путем подтвердили противомикробную активность тодикампа и ЧСК-1 на уровне кефалида при лечении температурающих больных эхинококкозом, которых прооперировали, а в ларвоцистах выявили патогенную микрофлору, определив чувствительность ее к антибиотикам. Б.У.Сабилов и соавт. (2002) таким же путем установили противостафилококковую активность ЧСК-1 и тодикампа.

### Противопаразитарная активность изучаемых препаратов

Антигельминтная эффективность препаратов группы СК изучена на лабораторных моделях гельминтозов (сифачиоз, гименолепидоз и трихоцефалез белых мышей, аскаридоз и гетеракидоз кур, эхинококкозы крыс и свиней), а также на животных, спонтанно заразившихся гельминтозами. Строго соблюдались рекомендации Б.А.Астафьева и соавт. (1989, 2002). Мы считаем, что большинство наших материалов по противопаразитарной активности носит предварительный характер, даже по той причине, что клинические испытания тодикампа и ЧСК-1 проведены крупными учеными Республики Узбекистан. Нам переданы акты, протоколы, выписки из историй болезней, подлинники историй болезней по клиническому испытанию препаратов. Мы строго соблюдали решение экспертного совета по медицине ВАК РФ «О по-

рядке проведения биомедицинских исследований у человека» (Бюл. ВАК РФ, М., 2002. – №3. – С. 73–76).

Сначала в эксперименте противозхинококковая эффективность ЧСК–1 была установлена на поросятах и хлопковых крысах, зараженных эхинококкозами. Затем был выполнен эксперимент на 12 группах хлопковых крыс, в каждой группе по 7 животных. Крысы первой группы не заражались альвеолярным эхинококкозом. Животные 2–12 групп были заражены альвеолярным эхинококкозом по вышеописанным методикам. (Б.А.Астафьев и соавт., 2000). На животных второй группы была установлена 10-дневная длительность экспериментальной инвазии (ДЭИ) с определением массы паразитарных ларвоцист (ПЛ). Третья группа – контрольная, антигельминтики не вводились.

После определения ДЭИ хлопковым крысам четвертой группы в течение первой недели внутрижелудочно вводился ЧСК–1 в дозе 100 мг/кг, вторую неделю – 260 мг/кг и третью неделю – 340 мг/кг, крысам пятой группы в таких же дозах – тодикамп, шестой – СК–3, седьмой – СК–4, восьмой – СК–5, девятой – СК–6, десятой и одиннадцатой группам крыс вводились препараты сравнения: мебендазол – 10-й, албендазол – 11-й в течение трёх недель в возрастающих дозах (первую неделю 20 мг/кг, вторую неделю – 40 мг/кг, третью – 60 мг/кг). Крысам 12-й группы вводился очищенный керосин в дозах ЧСК–1 и тодикампа. Животные были усыплены через 40 дней после заражения.

В этом же эксперименте индексы торможения роста паразитарных ларвоцист (ИТРПЛ) для ЧСК–1 оказались следующими: ИТРПЛ–1 – 87,88%, ИТРПЛ–2 – 91,13%, ИТРПЛ–3 – 92,81%, для тодикампа соответственно 86,96; 90,56; 91,56%; для СК–3 – 83,27; 87,70; 86,25%; для СК–4 – 49,27; 66,66; 65,52%; для СК–5 – 67,06; 80,61; 67,50%; для СК–6 – 82,35; 79,21; 71,56%; для албендазола – 47,3; 74,33; 60,0%; для мебендазола – 65,35; 79,21; 71,56%; для экстрагента – 40,05; 47,33; 50,94%. Самая высокая противозхинококковая активность из числа испытываемых агентов установлена у ЧСК–1, тодикампа и СК–3.

На 45-ти овцах, спонтанно заразившихся эхинококкозом, был апробирован трёхнедельный курс лечения эхинококкоза тодикампом или ЧСК–1. 15 овец составили контрольную группу, им препараты не вводились, 15 овцам в течение трёх недель внутрижелудочно вводился тодикамп в возрастающих дозах, 15 больным эхинококкозом овцам – ЧСК–1. Первую неделю ежедневно вводилось по 100мг/кг, вторую неделю – 260мг/кг, третью неделю – 340 мг/кг испытываемого агента. Через 15 дней курс лечения повторили. Через три месяца после окончания эксперимента животные были убиты и проведены гельминтологические исследования. Эхинококки локализовались в лёгких и печени, величина кист от 0,5 до 3,5 см у леченых и контрольных животных. У леченых животных кисты потеряли упругость, были дряблыми, спавшимися, сморщенными, у контрольных с выраженным внутрипузырным давлени-

ем (упругие, плотные). Под воздействием тодикампа и ЧСК произошла гибель зародышевых элементов на 70 – 80%.

15 обезьян пятимесячного возраста были заражены внутрижелудочным введением яиц эхинококков от собаки-донора, заражённой эхинококком от прооперированного больного. Доза на одно животное 3000 яиц. Через 15 дней после заражения у всех 15-ти обезьян была положительная реакция сколексопреципитации и антигенсвязывания лимфоцитов на эхинококкоз. Через 30 дней после заражения 8-ми обезьянам проведён трёхнедельный курс лечения в возрастающих дозах ЧСК-1 и 7-ми обезьянам – в возрастающих дозах тодикампом. Дозы аналогичны, вводимым крысам и овцам при эхинококкозах. Через месяц после проведённого лечения произошло угасание иммунологических реакций, а через 90 дней после заражения они были отрицательными. Животные в здоровом состоянии выведены из эксперимента. Используя известные методы, мы произвели заражение 30 белых аутбредных крыс гидатидозным эхинококкозом (ГЭ) и 30 белых мышей – альвеолярным эхинококкозом (АЭ).

Через 10 дней после заражения у 5-ти белых крыс и 5-ти белых мышей была определена исходная масса развившихся паразитарных ларвоцист (ПЛ). В течение трех недель в возрастающих дозах 10-ти зараженным ГЭ крысам вводили внутрижелудочно тодикамп, 10 – ЧСК-1. Дозы препаратов одинаковые. Первую неделю ежедневно по 0,2 г/кг, вторую неделю – 0,52 г/кг, третью неделю – 0,64 г/кг. Суммарная доза по каждому препарату составила 9,8 г/кг.

В таких же дозах 10-ти зараженным АЭ мышам внутрижелудочно вводили тодикамп, 10 – ЧСК-1. 5 зараженных ГЭ крыс и 5 зараженных АЭ мышей составили контрольные группы. Им антигельминтики не вводили. По дозе препаратов вводилась дистиллированная вода. Токсического действия препаратов не проявилось, ИГРПЛ оказались выше 90 % для испытуемых агентов.

Результаты наших исследований на животных перепроверены руками других ученых (Лось Д.П., 1998; Погосов А.Г., 1998; Турсунов Б.С. и др., 2000; Габченко А.К. и др., 2000; Сабиров Б.У. и др., 2000; Мамутов С. и др., 2002) и получено подтверждение противоэхинококкового эффекта тодикампа и ЧСК-1.

При экспериментальном сифачнозе и гименолепидозе белых мышей препараты тодикамп и ЧСК-1 в дозе 100мг/кг полностью, как показало вскрытие, освободили животных от инвазии. Однако, при трихоцефалезе мышей дозы препаратов в 300 мг/кг оказались неэффективными. Даже дозы 500мг/кг не освободили всех животных от инвазии.

На 6-ти группах кроликов по 7 животных в каждой, спонтанно заразившихся чесоткой, проведено противопаразитарное испытание 20%-ной эмульсии бензилбензоата, тодикампа и ЧСК-1. Первая группа кроликов была контрольной и апплицировалась дистиллированной водой. Вторая группа животных обрабатывалась 20%-ной эмульсией бензилбензоата, третья – тоди-

кампом, четвертая – смесью 20%-ной эмульсией бензилбензоата и тодикампа (эмульсии 90%, тодикампа 10% по массе), пятая – ЧСК–1, шестая – 20%-ной эмульсией бензилбензоата и ЧСК–1 (эмульсии 90%, ЧСК–1 – 10% по массе) три раза с интервалом в сутки. После лечения в контрольной группе все семь кроликов остались больными, во второй – выздоровели 4 кролика, в третьей – 5, в четвертой – 7, в пятой – 4, в шестой – 7. Таким образом, тодикамп и ЧСК–1 обладают противочесоточными свойствами на уровне 20%-ной эмульсии бензилбензоата. Под воздействием 10% тодикампа или ЧСК–1 усиливается противочесоточная активность бензилбензоата.

Б.С.Турсунов и соавт. (2002) несмотря на то, что возбудитель чесотки специфичен для вида хозяина, провели клиническое испытание тодикампа и ЧСК–1 в сочетаниях препаратов, примененных нами в эксперименте, на 67-ми больных чесоткой в клинических условиях, подтвердив наш результат.

Тодикамп и ЧСК–1, превратившись в средства народной медицины, стали самостоятельно изготавливаться населением и применяться самовольно. В нашей работе приведены материалы по лечению эхинококкоза людей и других паразитарных заболеваний тодикампом и ЧСК–1, принадлежащие профессорам Республики Узбекистан: Б.У.Сабирову, Б.С.Турсунову, А.Р.Саламову, С.А.Абдуллаеву, А.К.Габченко, доцентам: О.М.Мамышеву, Э.Э.Кабилу, З.И.Муртазаеву, Э.Мамараджабову, О.Х.Одилову, С.И.Нарзуллаеву и другим. По поводу этих материалов мы делаем заключение, что противопаразитарная и иммунокорректирующая способность тодикампа и ЧСК–1 должна быть обязательно проверена в клиниках России с разрешения Фармкомитета РФ, а приводимые нами в диссертации материалы следует учитывать как доклинические исследования.

В задачу наших исследований входило также применить биологический подход и осуществить совместно с хирургами В.К.Гостищевым, Ю.В.Бирюковым, С.А. Дадвани создание способа коррекции остаточной полости при эхинококкэктомии печени у взрослых, позволяющего снизить травматичность операции, исключить повреждение желчных и кровеносных сосудов, предупредить образование вторичных непаразитарных и паразитарных кист в послеоперационном периоде и применить для обработки остаточной полости препараты, обладающие противозхинококковым и ранозаживляющим свойствами.

Поставленная задача решена путем иссечения фиброзной капсулы по всему периметру, включая здоровую паренхиму печени толщиной 1–3мм, удаления хитиновой оболочки и эхинококковой жидкости с зародышевыми элементами, обеззараживания полости препаратом ЧСК–1 или тодикампом, ушивания кровотокающих сосудов резецированных краев печеночной ткани тонкими отдельными узловыми кетгутowymi швами.

Практически способ осуществляют следующим образом. Под эндотрахеальным наркозом больному животному проводят лапаротомию и обнажают выступающую над поверхностью печени эхинококковую кисту с белесоватой

фиброзной капсулой. С помощью троакар-дренажа производят пункцию и аспирацию содержимого ларвоцисты. Соединительнотканная оболочка паразита, непокрытая печёночной тканью, белесоватого цвета рассекается в продольном направлении по всему диаметру. Удаляется остаточная эхинококковая жидкость, а полость обеззараживается ЧСК-1, тодикампом или глицерином. В дальнейшем иссекается выступающая белесоватая часть фиброзной капсулы вместе с паренхимой печени толщиной 1–3 мм.

Из резецированных краев печёночной ткани кровоточащие сосуды ушиваются отдельными тонкими узловыми кетгутовыми швами. Краевая резекция печени выполняется с целью стимуляции регенераторных процессов в резецированной области. Кроме того, ввёрнутые внутрь резецированные края и свободные участки паренхимы печени не подшиваются ко дну полости, поскольку такая фиксация может вызвать торможение процесса регенерации печени, и не исключает повреждение желчных протоков и кровеносных сосудов. В послеоперационном периоде применяются противозачиноккозные препараты: ЧСК-1 или тодикамп.

Клиническому применению предшествовали эксперименты по созданию лабораторной модели эхинококкоза, удобной для хирургов. Применена разработанная нами методика заражения поросят эхинококкозом. С этой целью 24 белым нелинейным мышам обоего пола вводили внутрибрюшинно по 2000 протосколексов из эхинококка от оперированного больного. На 260-й день после заражения мыши вскрыты и из развившихся кист добыты живые зрелые протосколексы и ацефалоцисты, которыми 18 поросят 15-дневного возраста заражены внутрибрюшинно путем введения им по 1000 протосколексов и по 100 ацефалоцист, а также внутрь по 100 яиц эхинококков от собак-доноров. Через 6 мес. после заражения провели УЗИ органов брюшной полости поросят. У 15-ти животных выявлены эхинококки в печени диаметром до 7–11 см. Животные оперированы по нашей методике. Использованы для обработки остаточной полости ЧСК-1 или тодикамп.

Хирурги Узбекистана: А.М.Шамсиев и соавт. (1995), Н.С.Баймуратов (1997), М.С.Мелиева (1997), Б.У.Сабиров и соавт. (1999), А.А.Рафиков, (1999), Г.А.Хайдаров (1999) прооперировали предложенным способом более 300 больных в возрасте от 3-х до 60-ти лет без осложнений и побочного действия препаратов тодикамп и ЧСК-1.

Нами впервые разработана и применена для диагностики эхинококкоза у животных реакция антигенсвязывания лимфоцитов (АСЛ).

Принцип метода заключается в образовании комплекса антигенсвязывающих лимфоцитов с эритроцитами, нагруженными антигенами эхинококка. Для проверки чувствительности АСЛ была исследована кровь животных с подтвержденным диагнозом – эхинококкоз. В качестве антигена использовали отцентрифугированную свежую эхинококковую жидкость, которую нагружали на эритроциты. После контакта сенсibilизированных лимфоцитов с указанными эритроцитами возникает характерная фигура розетки, которую

легко идентифицировать под микроскопом, что отражает количество АСЛ, способных специфически реагировать на данный антиген. В параллельных тестах изучали контрольный антиген (альбумин), и по разности между опытной и контрольными пробами вычисляли число АСЛ, реагирующих с данным антигеном. Следует иметь в виду, что обнаружение АСЛ в реакции с различными антигенами в крови у здоровых животных не должно удивлять, так как в организме имеются антигенраспознающие клетки, генетически запрограммированные на реакцию против любого антигена. Эти клетки способны циркулировать через крово- и лимфоток. Для каждого вида животных выводят разность АСЛ между больными и здоровыми животными и на основании её ставится точный диагноз. Специфичность реакции для диагностики эхинококкоза у животных не менее 98%, у людей – 99% (Шамсиев А.М. и др., 1997–2000; Гостищев В.К. и др., 1999, 2000).

### **Противовоспалительное, анальгезирующее, местнораздражающее свойства тодикампа и ЧСК-1**

А.Г.Маленков и соавт. (1995) сообщили о проведенном клиническом испытании тодикампа на спортсменах, страдавших обострением пояснично-крестцового радикулита.

Клинические испытания тодикампа (на добровольцах) проводили в сравнении с мазью аписартрон (Германия) с целью выявления противовоспалительного и местнораздражающего действия у спортсменов с обострением пояснично-крестцового радикулита.

Все обследуемые спортсмены проходили диспансеризацию.

До лечения спортсмены прошли широкий спектр физиологических, биохимических, инструментальных исследований. Эти исследования проведены в процессе и после окончания лечения. Из наблюдений исключались спортсмены, у которых выявлены аллергические заболевания.

Больным спортсменам проводилась аппликация тодикампом области болевой зоны в поясничном отделе с предварительной экспозицией в 5 минут с целью подбора индивидуальной пороговой чувствительности для каждого спортсмена. Положительной считалась экспозиция с появлением гиперемии и ощущением жжения, тепла и покалывания. Время экспозиции составляло от 5 до 60 минут. Продолжительность лечения в течение 10 сут.

В результате был установлен выраженный положительный эффект, что выразилось в уменьшении болевых симптомов у 14-ти больных, удовлетворительный результат у 6-ти спортсменов, у одного больного эффект отсутствовал в связи с толерантностью к препарату, у двух спортсменов в начале лечения – ожог 1-й и 2-й степени.

Б.У.Сабилов и соавт. (2000), Б.С.Турсунов и соавт. (2000) испытали препарат ЧСК-1 в виде компрессов при лечении 117 больных эхинококкозом. Возраст больных от 18 до 50 лет. У этих больных, по данным авторов, наружное применение препарата ЧСК-1 при лечении артралгии, миалгии, ра-



дикулита, люмбаго, ушибов и растяжений, острого бурсита и тендовагинита не уступило традиционному лечению с использованием препарата сравнения финалгоновой мази.

Оценивая результаты вышеотмеченных авторов, можно сделать заключение, что тодикамп обладает хорошей терапевтической активностью при обострении пояснично-крестцовых радикулитов различной этиологии. Препарат является достаточно эффективным противовоспалительным, анальгезирующим и местнораздражающим средством. Обладает хорошим согревающим и миорелаксирующим эффектом, что позволяет его применять также в качестве средства для профилактики перенапряжения нервно-мышечного аппарата после интенсивных физических нагрузок. ЧСК-1 обладает противовоспалительным, анальгезирующим, местнораздражающим и иммуномодулирующим свойствами. При лечении артралгии, миалгии, радикулита, люмбаго, ушибов и растяжений, острых бурситов, тендовагинитов ЧСК-1 не уступил финалгоновой мази.

### **Применение препаратов тодикампа и ЧСК-1 в ветеринарии**

Не осталась в стороне в испытании тодикампа и ЧСК-1 и ветеринарная наука. По просьбе руководителей животноводства и ветеринарии Республики Узбекистан нами были переданы для производственного испытания препараты тодикамп и ЧСК-1. Была создана авторитетная комиссия, в состав которой вошли доктора ветеринарных наук, а также представители медицинской науки. Был составлен акт о результатах испытания препаратов тодикамп и ЧСК-1 для лечения различных заболеваний животных. Приводим содержание этого документа.

Препараты тодикамп и ЧСК-1 испытали при лечении 97 голов истощенного молодняка крупного рогатого скота, не поддающегося лечению антибиотиками и другими препаратами. Это были ослабленные животные, которые отставали в росте и развитии. Обычно такие животные погибают. Препарат вводился в течение 5-ти дней ежедневно внутривентрально в дозе по 0,1 мл/кг. Все животные выздоровели.

Тодикамп и ЧСК-1 испытаны на 500 цыплятах, пораженных аскаридозом и гетеракидозом. 250 цыплят лечили тодикампом, 250 цыплят лечили ЧСК-1. Доза 0,5 мл/кг внутривентрально. Все цыплята выздоровели.

1250 голов овец, выбракованных из стада, но как показали специальные исследования, большие эхинококкозом, были поставлены на откорм. 620 пролечены тодикампом, 630 - ЧСК-1. Применен 3-недельный курс лечения в возрастающих дозах: первую неделю 0,1 мл/кг, вторую неделю 0,2 мл/кг, третью неделю 0,3 мл/кг. У животных наступило выздоровление, на вскрытии большинство эхинококков и зародышевых элементов погибло. Получен высокий экономический эффект.

На 28-ми овцах, больных эхинококкозом, успешно использован тодикамп и ЧСК-1 для коррекции остаточной полости, что внедрено в медицинскую хирургию при лечении эхинококкоза.

Трехнедельным курсом тодикампом и ЧСК-1 успешно пролечены 30 овец с поражением саркоzystозом сердца, на вскрытии установлена гибель паразитов.

75 поросят-заморышей со вторичным иммунодефицитом получили в течение недели по 0,5 мг/кг препаратов (41 – тодикамп, 34 – ЧСК-1). Животные выздоровели – получен хороший экономический эффект. Препараты также оказались эффективными при лечении аппликациями пораженных копыт (75 телят, 150 ягнят, 35 жеребят).

Очень эффективными испытуемые лекарства оказались при лечении болезней суставов телят неизвестной этиологии (87 телят), у них был выражен вторичный иммунодефицит.

На 37 собаках, больных токсокарозом, токсаскаридозом, проверен тодикамп в дозе 0,3 мл/кг. Все животные освободились от паразитов с последующим выздоровлением. 57 коров вылечены от тимпаниа такой же дозой.

На 39 свинях, пораженных аскаридозом, испытан тодикамп в дозах 0,2 мл внутрь, все животные выздоровели.

При любых иммунодефицитных состояниях, гастритах, гепатитах и функциональной недостаточности печени животных в малых дозах эффективны тодикамп и ЧСК (0,05 мг/кг), а при паразитарных заболеваниях дозу препаратов надо увеличивать до 0,1 – 0,3 мл/кг. Препараты нетоксичны, не обладают побочным действием.

## ВЫВОДЫ

1. Обнаружены в плодах грецкого ореха биологически активные вещества: белок, аминокислоты, дубильные вещества, сахара, клетчатка, жирные масла, витамины. Из плодов грецкого ореха в стадии молочно-восковой зрелости выделено жирное масло светло-желтого цвета, приятного вкуса, со специфичным ароматным запахом. Константы масла:  $d_{4}^{20}$  0,87;  $n_{D}^{20}$  1,1470; число омыления (мг КОН/г) 161,71; кислотное число 0,54; эфирное число 161,17; йодное число 127,5; число Рейхерта-Мейсселя 2,15; число Поленского 0,21; неомыляемые вещества 0,92%. В масле плодов грецкого ореха идентифицированы следующие жирные кислоты: каприловая (0,1–0,2%), лауриновая (0,1–0,2%), миристиновая (0,1–0,3%), пальмитиновая (0,7–6,4%), стеариновая (0,3–0,7%), пальмитолеиновая (0,1–0,3%), олеиновая (11,0–28,4%), линолевая (56,1–71,5%), линоленовая (10,3–13,1%). Зеленые плоды грецкого ореха богаты витаминами: С, РР, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, каротином.

2. Из плодов зеленого грецкого ореха в стадии молочной зрелости нами выделены: юглон (2,5%), эфирное масло (0,04%), галловая кислота (0,03%), эллаговая кислота (0,1%), бета-гидроюглон (0,4%), глюкозид альфа-гидроюглона C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> (0,7%), 3-арабинозид кверцетина C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub> (0,2%), 3-арабинозид кемпферола C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>O<sub>12</sub> (0,5%). Состав эфирного масла (в %): аль-

фа-пинен 10,95, бета-пинен 4,08, хлороформ 2,65, капроновый альдегид 5,29,  $\Delta^3$ -карен 4,75, карнофиллен 21,54, лонгифолен 15,12, гумулен 7,78, альфа-терпинеол 8,56, гамма-кадинен 7,34, сигма-кадинен 6,35, хамазулен 1,52. Масло зеленых плодов грецкого ореха содержало альфа-токоферолов – 37%, бета-токоферолов – 33%, гамма-токоферолов – 30%.

3.С использованием комплекса методов адсорбционной, тонкослойной хроматографии, масс-спектрометрии в составе экстрактов из зеленых плодов грецкого ореха в стадии молочно-восковой зрелости выявлено 7 групп соединений с различной полярностью, относящихся к липофильной фракции.

4.Летальные дозы тодикампа при внутрижелудочном введении белым мышам:  $LD_{50}$  составила  $14666 \pm 584,9$  мг/кг,  $LD_{16}$  = 11733,3 мг/кг,  $LD_{84}$  = 16266,7 мг/кг, а при введении белым крысам:  $LD_{50}$  = 14760,0  $\pm$  501,42 мг/кг,  $LD_{16}$  = 11674 мг/кг,  $LD_{84}$  = 15560 мг/кг. Тодикамп обладает низкой кумулятивной способностью. Тодикамп не обладает иммунотоксичностью, эмбриотоксичностью, мутагенной и ДНК-повреждающей активностью, аллергизирующими свойствами. Длительная аппликация кожи животных тодикампом не приводит к функциональным и морфологическим изменениям жизненно важных органов. Еще более низкой токсичностью обладает ЧСК–1. По выраженности токсических свойств тодикамп и ЧСК–1 классифицировали по К.К.Сидорову (1973) как малотоксичные и практически нетоксичные (IV и V класс токсичности).

5. На лабораторных моделях сифачиоза и гименолепидоза белых мышей тодикамп или ЧСК–1 в дозе 100 мг/кг при разовом внутрижелудочном введении освобождает всех животных от инвазии. Такая же доза тодикампа или ЧСК–1 оказалась совершенно не эффективной при лечении экспериментального трихоцефалеза белых мышей. При экспериментальном альвеолярном эхинококкозе хлопковых крыс индексы торможения роста паразитарных личинок достигали 90%. При спонтанной чесотке животных тодикамп и ЧСК–1 проявили противопаразитарную активность на уровне 20%-ной эмульсии бензилбензоата. Включение 10% тодикампа или ЧСК–1 в состав 20%-ной эмульсии бензилбензоата усиливает противочесоточную активность эмульсии, снижая ее токсичность.

6.При экспериментальном токсическом гепатите белых мышей под воздействием внутрижелудочного введения тодикампа или ЧСК–1 летальность снижалась на 20–40%. При экспериментальном токсическом гепатите собак под воздействием внутрижелудочного введения терапевтических доз ЧСК–1 наступала нормализация биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени животных. В эксперименте с обезьянами с функциональной недостаточностью печени под воздействием изучаемых препаратов происходила в крови нормализация уровня аминотрансфераз.

7.Эхинококкоз мышей, вызванный человеческими штаммами паразита, сопровождался иммуносупрессией, при которой иммуномодуляторы способ-

ствовали нормализации нарушенных звеньев клеточного и гуморального иммунитета. При этом наиболее эффективными оказались полиоксидоний, тодикамп и ЧСК-1. При иммуносупрессии, вызванной циклофосфаном или эхинококкозом, полиоксидоний, тодикамп и ЧСК-1 проявляют тенденцию к нормализации клеточного и гуморального звена иммунитета, а также фагоцитоза нейтрофилов и макрофагов. Экспериментальный альвеолярный эхинококкоз хлопковых крыс сопровождается вторичным иммунодефицитом. Трехнедельное внутрижелудочное введение терапевтических доз ЧСК-1 приводит к нормализации показателей иммунитета.

8.Тодикамп и ЧСК-1 обладают противомикробными свойствами при внутрибрюшинном заражении мышей *Proteus mirabilis* – 4641, так как продлевают продолжительность жизни мышей. Патогенная микрофлора, выделенная из жидкости ларвоцист эхинококка, оказалось чувствительной к тодикампу и ЧСК-1 на уровне кефзола, клафорана, кефадима.

9.Тодикамп является достаточно эффективным противовоспалительным, анальгезирующим и местнораздражающим средством. Препарат тодикамп рекомендуется для применения в практике спортивной медицины. ЧСК-1 обладает противовоспалительным, анальгезирующим, местнораздражающим и иммуномодулирующим свойствами. При лечении артралгии, миалгии, радикулита, люмбаго, ушибов и растяжений, острых бурситов, тендовагинитов ЧСК-1 не уступил финалгоновой мази. Благодаря своей высокой проницаемости ЧСК-1 при наружном применении сохранил иммуномодулирующие свойства.

10.Тодикамп и ЧСК-1 успешно применены в ветеринарии при лечении гельминтозных заболеваний, а также при токсическом гепатите и заболеваниях дорогостоящего молодняка крупного рогатого скота неизвестной этиологии, сопровождающихся вторичными иммунодефицитами.

### Практические рекомендации

1. При изготовлении новых лекарственных форм из зеленых плодов грецкого ореха молочно-восковой зрелости рекомендуем использовать плоды во второй половине мая, когда накапливается наибольшее количество биологически активных веществ. Перспективно изучение новых экстрагентов, полученных из очищенной, нетоксичной фракции нефти, с использованием их при экстрагировании лекарственных растений.

2. Предлагаем использовать созданную новую лабораторную модель эхинококкоза поросят, пригодную для хирургов при разработке новых оперативных вмешательств. Заражение поросят одновременно внутрибрюшинной имплантацией живыми протосколексами и *per os* яйцами эхинококков приводит к интенсивному росту ларвоцист в жизненно важных органах.

3. Для диагностики эхинококкоза в хирургических клиниках рекомендуем применять реакцию антигенсвязывания лимфоцитов (АСЛ), точность показаний достигает 99%.

4. При эхинококкэктомии печени предлагаем использовать новый способ коррекции остаточной полости с обработкой последней препаратами тодикампом и чеблин-СК-1, что обеспечивает профилактику осложнений рецидивов.

5. Результаты исследований внедрить в учебный процесс кафедр общей биологии, генетики, паразитологии, фармакогнозии медицинских академий и вузов России.

**Основные результаты работы представлены в следующих публикациях:**

1. Бирюков Ю.В., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Коваленко Ф.П., Расулов С.М., Погосов А.Г., Лось Д.П., Эшанкулов У. Биологический подход к хирургическому лечению эхинококкоза легких // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1998 – №5. – С.49 – 52.

2. Гостищев В.К., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Лось Д.П., Погосов А.Г., Эшанкулов У.С. Биологический подход к хирургическому лечению эхинококкоза печени // Анналы хирургии. – 1998. – №6. – С. 45 – 50.

3. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Коваленко Ф.П., Самылина И.А., Разakov Ш.А., Ганизода Х.Г., Сабилов Б.У. Экспериментальный эхинококкоз и альвеококкоз и испытание препарата СК-1 // Медицина. паразитол. и паразитар. болезни. – 1998. – №2. – С. 38 – 41.

4. Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Погосов А.Г. Экспериментальный имплантированный пороссятам эхинококкоз от человека и испытание лечебного препарата СК-1 // Медицина. паразитол. и паразитар. болезни. – 1998. – № 4. – С. 42 – 44.

5. Tursunov B.S., Strelyaeva A.V., Sadikov V.M. Modern approach to lung festering echinococcosis treatment // Suppurative diseases in lungs and pleura. – Samarkand, 1998. – P. 152.

6. Бирюков Ю.В., Стреляева А.В., Садыков Р.В., Сабилов Б.У., Турсунов Б.С., Расулов С.М. Современный подход к диагностике и хирургическому лечению эхинококкоза легких // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 1999. – № 4. – С. 46 – 50.

7. Ганизода Х.Г., Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Садыков В.М. Свободные аминокислоты при алкогольных и паразитарных поражениях печени. – М., 1999. – 420 с.

8. Гостищев В.К., Стреляева А.В., Шамснев А.М., Баймурадов Н.С., Сабилов Б.У., Садыков Р.В., Эшанкулов У.С. Иммунный статус, иммунодиагностика и иммунокоррекция при хирургическом лечении эхинококкоза печени // Анналы хирургии. – 1999. – №4. – С. 39 – 47.

9. Самылина И.А., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М. Изучение острой токсичности препарата чеблин-СК-1 // Фармация. – 1999. – № 2 – С. 34 – 37.

10. Стреляева А.В., Самылина И.А. Изучение острой токсичности очищенного авиационного керосина – нового экстрагента лекарственного растительного сырья // Фармация. – 1999. – № 1. – С. 18 – 21.

11. Стреляева А.В. Изучение применения препарата чеблин–СК–1 при лечении болезней собак и его токсичности // Проблемы экологии здоровья, паразитологии и фармации. – М., 1999. – С. 16 – 23.

12. Стреляева А.В. Изучение острой токсичности неочищенного авиационного керосина // Там же. – С. 23 – 27.

13. Стреляева А.В. Изучение эффективности препаратов группы СК при сифачиозе и энтеробиозе // Там же. – С. 27 – 31.

14. Стреляева А.В. Испытание препаратов группы СК при гименолепидозе // Там же. – С. 31 – 36.

15. Стреляева А.В. Испытание препаратов группы СК при аскаридозе и гетеракидозе кур // Там же. – С. 36 – 39.

16. Стреляева А.В. Испытание препаратов группы СК при экспериментальном трихоцефалезе белых мышей // Там же. – С. 39 – 43.

17. Стреляева А.В. Содержание свободных аминокислот при поражении печени у лабораторных животных и испытании препаратов СК–1 // Там же. – С. 73 – 80.

18. Стреляева А.В., Самылина И.А. Физико-химические свойства препарата СК–1 // Там же. – С. 172 – 183.

19. Стреляева А.В. Влияние препарата чеблин–СК–1 на иммунный статус молодняка крупного рогатого скота // Там же. – С. 207 – 208.

20. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Бунятян Н.Д. Наиболее распространенные и опасные заболевания, вызываемые плоскими червями. Издание ММА. – М., 1999. – 27 с.

21. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Коваленко Ф.П. Способ получения средства для лечения ларвального и стробилиярного эхинококков чеблин–СК–1 // Пат. РФ № 2136303. Бюл. – 1999. – №25.

22. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Самылина И.А., Садыков В.М., Коваленко Т.Ф., Погосов А.Г. Способ получения препарата чеблин, обладающего противоаскаридным действием // Пат. РФ № 2136304. Бюл. – 1999. – №25.

24. Бирюков Ю.В., Стреляева А.В., Шамсиев А.М. Иммунокоррекция при хирургическом лечении эхинококкоза легких // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2000. – № 1. – С. 53 – 62.

25. Бирюков Ю.В., Стреляева А.В., Ильхамов Ф.А., Исламбеков Э.С., Мусаев Г.Х., Кабилов Э.Э. Опыт хирургического лечения эхинококкоза легких и применение препарата чеблин–СК–1 // Там же. – № 2. – С. 48 – 57.

26. Бирюков Ю.В., Стреляева А.В., Садыков В.М., Коваленко Ф.П., Турсунов Б.С., Расулов С.М. Обработка полости кист при гидатидном эхинококкозе (экспериментально-клиническое исследование) // Хирургия. – 2000. – № 5. – С. 27 – 29.

27. Гостищев В.К., Стреляева А.В., Бунятян Н.Д., Чебышев Н.В., Ильхамов Ф.А., Исламбеков Э.С., Сабилов Б.У. Иммунокоррекция при хирургическом лечении эхинококкоза печени с использованием препарата чеблин-СК-1 // *Анналы хирургии.* – 2000. – № 5. – С. 41 – 46.

28. Дадвани С.А., Стреляева А.В., Гостищев В.К., Муртазаев З.И., Сабилов Б.У. Малоинвазивные оперативные вмешательства и химиотерапия при эхинококкозе // *Анналы хирургии.* – 2000. – №4. – С. 38 – 46.

29. Садыков В.М., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Бирюков Ю.В., Коваленко Ф.П., Расулов С.М., Эшанкулов У.С. Совершенствование нового способа хирургического лечения эхинококкоза // *Мед. паразитол. и паразитар. болезни.* – 2000. – №3. – С. 40 – 43.

30. Садыков В.М., Стреляева А.В., Гостищев В.К., Ильхамов Ф.А., Кабилов Э.Э., Буриева Н. Коррекция с помощью препарата чеблин-СК-1 аминокислотного обмена при хирургическом лечении эхинококкоза печени // *Проблемы биологии и медицины.* – 2000. – № 1. – С. 68 – 73.

31. Садыков В.М., Стреляева А.В., Саламов А.С., Кабилов Э.Э., Мамышева Н.О. Экспериментально-клиническое исследование эхинококкоза // *Журнал теоретической и клинической медицины.* – 2000. – № 6. – С. 16 – 18.

32. Саламов А.С., Стреляева А.В., Бирюков Ю.В., Юсупов Ш.А., Мамышева Н.О., Садыков Р.В., Кабилов Э.Э., Садыков В.М., Эшанкулов У.С. Иммунокоррекция при хирургическом лечении эхинококкоза легких с помощью препарата чеблин-СК-1 // *Журнал теоретической и клинической медицины.* – 2000. – № 5. – С. 94 – 100

33. Самылина И.А., Стреляева А.В. Изучение острой токсичности бытового керосина на белых крысах // *Эхинококкоз с позиций хирургии, паразитологии и фармации.* – М., 2000. – С. 86 – 89.

34. Самылина И. А., Стреляева А. В., Фисенко В.П., Бунятян Н.Д., Садыков В.М. Использование препарата чеблин-СК-1 в лечении эхинококкоза. // *Человек и лекарство. VII Российский национальный конгресс.* – М., 2000. – С. 542.

35. Стреляева А.В. Коррекция аминокислотного обмена и иммунного статуса при вторичных иммунодефицитах с применением препарата чеблин-СК-1 // *Фармация.* – 2000. – № 4. – С. 46 – 48.

36. Стреляева А.В., Садыков В.М., Бирюков Ю.В. Иммуитет при введении препарата чеблин-СК-1 на фоне эхинококковой иммунодепрессии // *Вестник врача общей практики.* – 2000. – № 2. – С. 82 – 85.

37. Стреляева А.В. Эхинококкоз с позиций хирургии, биологии и фармации. – М., 2000. – 220 с.

38. Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Бирюков Ю.В., Садыков В.М., Коваленко Ф.П., Турсунов Б.С. Использование гомеопатического препарата чеблин-СК-1 в патогенетической терапии эхинококкоза // *Мед. паразитол. и паразитар. болезни.* – 2000. – № 4. – С. 29 – 33.

39. Шамсиев А.М., Стреляева А.В., Расулов С.М., Садыков В.М. Применение реакции антигенсвязывания лимфоцитов (АСЛ) для диагностики эхинококкоза // Проблемы эхинококкоза. – Махачкала, – 2000. – С. 137 – 138.

40. Бунятян Н.Д., Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Маленков А.Г., Кацитадзе Н.Ш., Муравьева Т.И. Иммуностимулирующие свойства препарата чеблин-СК-1 при остром токсическом гепатите белых мышей // Матер. VIII Росс. нац. конгресса “Человек и лекарство”. – М., 2001. – С. 550.

41. Гостищев В.К., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Погосов А.Г., Лось Д.П. Способ коррекции остаточной полости при эхинококкэтомии печени у взрослых. – Патент РФ № 2177743. – Бюл. 2001. – № 17.

42. Дадвани С.А., Стреляева А.В., Мусаев Г.Х., Сабиров Б.У. Иммуно-реабилитация больных с эхинококкозом легких // International Journal on Immunorehabilitation. – 2001– Vol.3.– № 3.– С. 40–49.

43. Самылина И.А., Стреляева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М., Погосов А.Г. Изучение острой токсичности препарата садлин-СК-3 // Фармация – 2001. – № 3. – С. 26–28.

44. Стреляева А.В., Муртазаев З.И., Садыков Р.В. Использование препарата чеблин-СК-1 при хирургическом лечении одиночного эхинококкоза печени // Хирургия Узбекистана. – 2001. – № 3. – С. 79.

45. Стреляева А.В. Иммуотропные свойства препарата чеблин-СК-1 // Фармация. – 2001. – № 1. – С. 29 – 30.

46. Стреляева А.В. Коррекция функции печени с помощью препарата чеблин-СК-1 // Фармация. – 2001. – № 2. – С. 26 – 27.

47. Стреляева А.В. Иммунокоррекция при лечении сочетанно-множественного эхинококкоза с помощью препарата чеблин-СК-1 // Фармация. – 2001– № 6.– С. 19 – 23.

48. Стреляева А.В., Бунятян Н.Д., Самылина И.А., Бирюков Ю.В., Ибадова Д.Н. Иммунитет при введении иммуномодуляторов на фоне эхинококковой иммуносупрессии // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2001. – Т. 64. – № 5. – С. 43 – 45.

49. Стреляева А.В., Муртазаев З.И., Садыков Р.В. Использование препарата чеблин-СК-1 при хирургическом лечении одиночного эхинококкоза печени // Хирургия Узбекистана. – 2001. – № 3. – С. 79.

50. Бирюков Ю.В., Исламбеков Э.С., Стреляева А.В., Сагиева А.Т. Эхинококкоз средостения // Хирургия. – 2002. – № 1. – С. 32 – 33.

51. Бирюков Ю.В., Маленков А.Г., Сабиров Б.У., Стреляева А.В., Садыков Р.А., Сагиева А.Т., Нарзуллаев С.И. Экспериментально-клиническое изучение эхинококкоза сердца и попытка его моделирования // Грудная и сердечно-сосудистая хирургия. – 2002. – №4. – С. 40 – 46.

52. Бунятян Н.Д., Маленков А.Г., Стреляева А.В., Шашкина Л.Ф., Голубева М.И., Чебышев Н.В., Самылина И.А. Хроническая и острая токсичность тодикампа // Матер. IX Росс. нац. конгресса “Человек и лекарство”. – М., 2002. – С. 589.



53. Бунятян Н.Д., Маленков А.Г., Самылина И.А., Радкевич Л.А., Стрелева А.В., Чебышев Н.В. Коррекция аминокислотного обмена при эхинококкозе с помощью препарата чеблин-СК-1 // Там же. – С. 589.

54. Дадвани С.А., Маленков А.Г., Стрелева А.В., Гостишев В.К., Мусавев Г.Х., Ильхамов Ф.А., Турсунов Б.С., Мамадалиев А.М. Иммунореабилитация больных эхинококкозом в зависимости от методов хирургического вмешательства и примененных иммуномодуляторов // International Journal on Immunorehabilitation. – 2002. – Vol.4. – N 1. – С.12 – 19.

55. Маленков А.Г., Стрелева А.В., Чебышев Н.В., Самылина И.А., Кудрина Г.П., Бунятян Н.Д. Иммунокорректирующие свойства тодикампа при эхинококкозе // Матер. IX Росс. нац. конгресса “Человек и лекарство”. – М., 2002. – С. 589.

56. Маленков А.Г., Стрелева А.В., Кротов В.П., Корольков В.И., Чебышев Н.В., Самылина И.А., Бунятян Н.Д., Радкевич Л.А. Клинико-физиологическое состояние обезьян после введения препаратов тодикампа и чеблин-СК-1 // Там же. – С. 655.

57. Маленков А.Г., Маленков Д.А., Стрелева А.В., Золотарева Г.Н., Кудрина Г.П., Бунятян Н.Д., Абилов С.К. Изучение потенциальной мутагенной активности препаратов тодикампа и чеблин-СК-1 // Там же. – С. 654.

58. Маленков А.Г., Маленков Д.А., Кудрина Г.П., Золотарева Г.Н., Абилов С.К., Бунятян Н.Д. Изучение цитогенетической и ДНК-повреждающей активности препаратов тодикампа и чеблин-СК-1 // Там же. – С. 654.

59. Маленков А.Г., Стрелева А.В., Чебышев Н.В., Садыков В.М. Изучение местнораздражающего действия препарата тодикамп и его влияние на функции жизненно важных органов // Фармация. – 2002. – N2. С. 27 – 30.

60. Самылина И.А., Стрелева А.В., Маленков А.Г. Химический состав зеленых плодов грецкого ореха // Проблемы экологии, здоровья, паразитологии и фармации. – М., 2002. – С. 124 – 129.

61. Стрелева А.В., Маленков А.Г., Самылина И.А., Чебышев Н.В., Торчинский А.М., Бунятян Н.Д. Эмбриотоксичность препарата тодикампа // Матер. IX Росс. нац. конгресса “Человек и лекарство”. – М., 2002. – С. 704.

62. Стрелева А.В., Маленков А.Г., Радкевич Л.А., Самылина И.А., Чебышев Н.В., Бунятян Н.Д. Коррекция функции печени с помощью препарата тодикамп // Там же. – С. 705.

63. Стрелева А.В., Маленков А.Г., Шашкина Л.Ф., Голубева М.И., Чижова Е.Т. Изучение токсичности тодикампа при аппликациях на кожу животных // Проблемы экологии, здоровья, паразитологии и фармации. – М., 2002. – С.3 – 32

64. Чебышев Н.В., Стрелева А.В., Садыков В.М., Бунятян Н.Д., Самылина И.А., Сабиров Б.У. Противомикробные, противозхинококковые и иммуностимулирующие свойства препарата чеблин-СК-1 // Мед. паразитол. и паразитар. болезни. – 2002. – №1. – С. 33 – 35.

65.Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Маленков А.Г., Садыков В.М., Исламбеков Э.С. Эхинококкоз органов грудной полости // Медицина. – М., 2002. – 420 с.

66.Чебышев Н.В., Стреляева А.В., Маленков А.Г., Шашкина Л.Ф., Голубева М.И., Чижова Е.Т. Изучение острой токсичности тодикампа – нового противозхинококкового препарата // Проблемы экологии, здоровья, паразитологии и фармации. – М., 2002. – С. 47 – 71

---

Подписано в печать 4.01.2003 г. Формат 60х90, 1/32.

Объем 2,0 п.л. Тираж 100 экз.

Отпечатано в Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова,  
119992, Москва, Б. Пироговская, д. 2-6.