

Министерство здравоохранения РСФСР
Ленинградский санитарно-гигиенический медицинский институт

Индекс УДК 615.5-002.73:615.31:547.279.2

Согласовано:
Проректор ЛСГМИ
по научной работе
профессор
[подпись]
Д. А. Головин/

Утверждаю:
Директор НИИ
по изучению лепры
Д. М. Н.
[подпись] А. А. Ющенко/

"СИНТЕЗ И ПЕРВИЧНОЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
СОПОЛИМЕРОВ СУЛЬФОНОВЫХ ПРЕПАРАТОВ"

Тема № 75/75

Научные руководители:

Зав. кафедрой фармакологии
с общей токсикологией ЛСГМИ,
Д. М. Н., профессор

[подпись]

Денисенко П. П.

Зав. лабораторией И. В. С.
К. М. Н.

[подпись]

Кропачёв В. А.

Исполнители:

ст. н. с. *[подпись]* Алфёрова Л. В.

аспирант *[подпись]* Долбня Т. И.

Ленинград
1977г.

СОДЕРЖАНИЕ

	стр.
1. ВВЕДЕНИЕ	3
2. ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ХИМИЧЕСКОМУ СИНТЕЗУ	4-6
3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1. Цель и задачи на 1977 год	7-8
3.2. Материалы и методы исследований (общая характеристика)	8-9
3.3. Основные фармакологические свойства	
3.3.1. Острая токсичность	10-12
3.3.2. Туберкулостатическая активность <i>in vitro</i>	12-13
3.3.3. Экспериментальная химиотерапия туберкулеза	14-15
3.3.3.1. Влияние на остroteкущий тубер- кулез мышей, вызванный <i>M. bovis</i> I09	16-20
3.3.3.2. Действие на вялотекущий тубер- кулез мышей, вызванным <i>M. marinum</i>	21-27
3.3.3.3. Химиотерапевтическая активность в отношении вялотекущего тубер- кулёза мышей, вызванного <i>M. bovis</i> I09	28-31
3.3.3.4. Влияние на вялотекущий процесс у мышей, зараженных <i>M. avium</i>	32-35
3.3.4. Определение концентрации в биологическом материале	36-41
3.3.5. Изменений диуреза	42-44
4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	
5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	45-47
6. ВЫВОДЫ	48
7. УКАЗАТЕЛЬ ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	49-51

I. ВВЕДЕНИЕ

В 1977 году с целью получения полимерных производных ряда физиологически активных соединений, обладающих противолепрозным действием, в соответствии с утвержденным планом были продолжены начатые в 1976 году исследования по получению полимерной формы диамино-дифенилсульфона (дапсона).

Для введения дапсона в полимерную цепь нами были использованы реакции, которые лежат в основе синтеза полиуретанов.

В 1977 году полимерную форму диаминодифенилсульфона получали путем его присоединения по конечным гидроксильным группам к полиэтиленоксиду с молекулярной массой 4.000, обладающим плазмозаменяющими свойствами.

Основной задачей фармакологических исследований в отчетном году являлось изучение лабораторного образца полимерного дапсона по 3-м основным признакам: специфическое влияние на возбудителя туберкулеза, способность к пролонгации и токсические свойства.

Согласно результатам наших исследований полимерное производное ДДС' обладало малой токсичностью, проявляло слабую специфическую активность; при однократном подкожном введении крысам в дозе 200 мг/кг (по ДДС') определялось в концентрации в несколько раз превышающей концентрацию фармакопейного дапсона, введенного в этой же дозе. Однако, окончательно решить вопрос о длительности действия полимерного дапсона позволят результаты исследований по определению динамики концентрации ПМ ДДС', проводимые нами в настоящее время.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ХИМИЧЕСКОМУ СИНТЕЗУ.

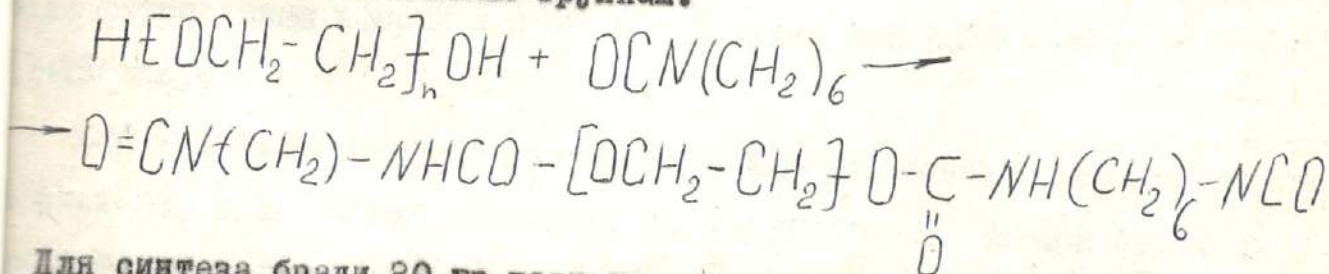
Дапсон является одним из основных препаратов для лечения лепры, но его существенным недостатком является высокая токсичность, нерастворимость в воде.

Имея ввиду, что при переводе в полимерное состояние как правило токсичность веществ снижается, целесообразно получение и исследование полимерных производных, полученных путем замещения по аминным группам дапсона.

С целью устранения указанных выше недостатков нами синтезирована полимерная форма дапсона путем его присоединения по конечным гидроксильным группам к полиэтиленоксиду с мол. массой 4.000.

Для введения Дапсона в полимерную цепь нами использованы реакции, которые лежат в основе синтеза полиуретанов.

Синтез полимерного дапсона осуществляли в две стадии. На I-ой стадии в результате взаимодействия полиэтиленоксида с диизоцианатом при соотношении 1:10 получали полимер с концевыми более реакционно-способными изоцианатными группам:

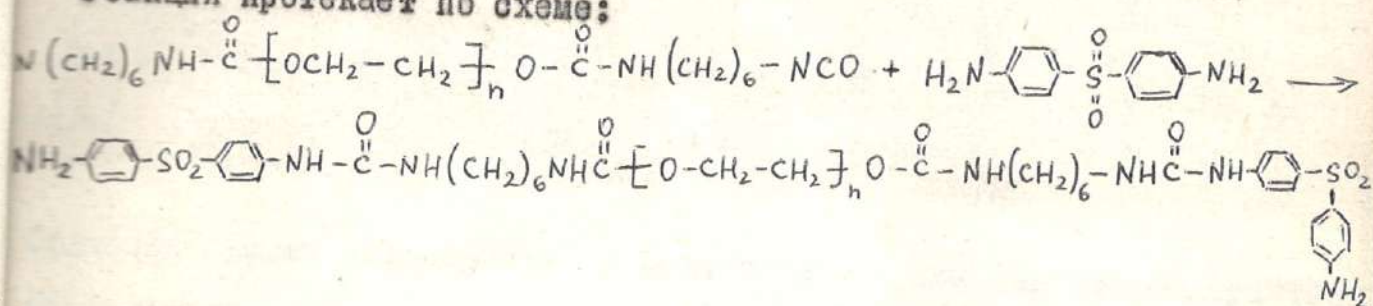


Для синтеза брали 30 гр полиэтиленоксида (м.в. 4000) 7,5 мл. моля, предварительно высушенного в вакууме при 50° и 12,6 г (75 м.молей) гексаметилендиизоцианата, растворенного в 200 мл. диоксана. Смесь кипятили при перемешивании в течение 3-х часов в токе аргона. Для очистки полимера от непрореагировавшего гексаметилендиизоцианата реакционную смесь осаждали 2-мя литрами петролейного эфира. Выпавший полимер промывали петролейным эфиром и после сушки в вакууме

при комнатной температуре этот полимер использовали для проведения второй стадии.

На второй стадии форполимер, имеющий на концах изоцианатные группы, обрабатывали дапсом при соотношении I:4.

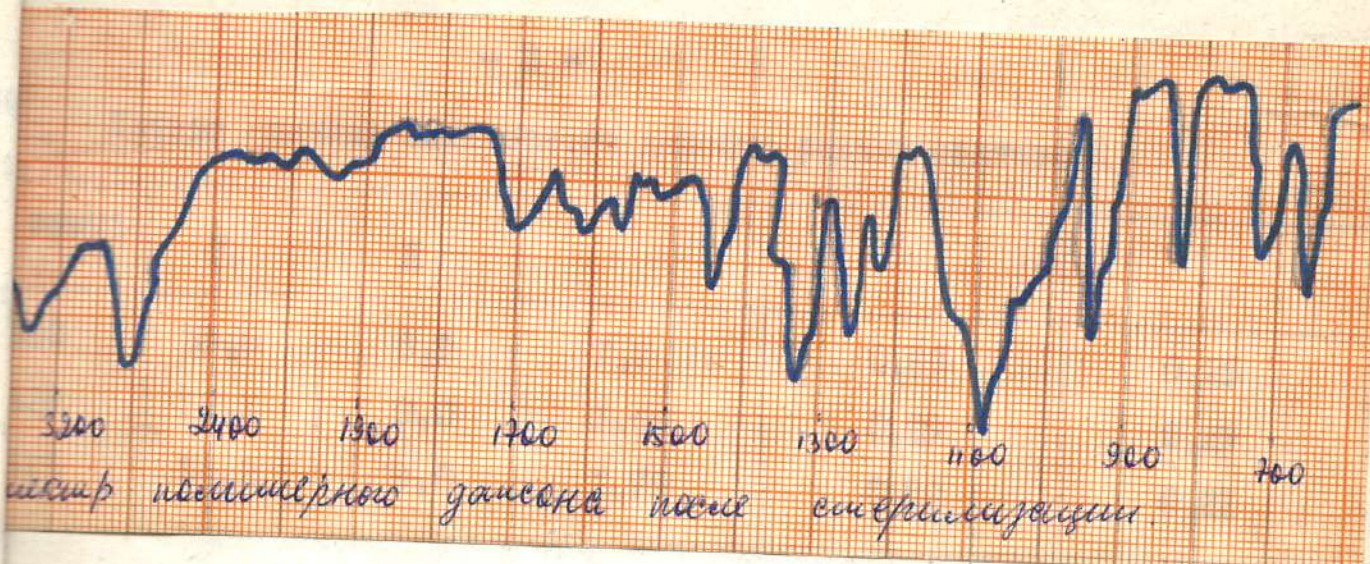
Реакция протекает по схеме:



Для синтеза полимерного дапсона брали 30 гр. полимера, содержащего изоцианатные группы, растворяли его в диоксане и помещали в 3-х литровую колбу, снабженную мешалкой и вводом для аргона. В раствор полимера при 60° и интенсивному перемешиванию приливали дапсона (6,6 г, 29,6 моля), растворенный в диоксане (в 400 мл). Реакционную смесь кипятили 3 часа. Полученный р-р полимера концентрировали до 100 мл. и осаждали 1,5л петролейного эфира. Выпавший полимер промывали петролейным эфиром и сушили в вакууме при 50°С в течение 12-15 часов.

Для отделения непрореагировавшего дапсона полимер растворяли в бензоле, т.к. дапсом в бензоле не растворяется. Осадок отделяли центрифугированием, из маточного раствора полимерный дапсом осаждали петролейным эфиром и затем сушили в вакууме при 50°С. Выход полимера после 2-х стадийного синтеза составляет 50%.

Для каждой партии полимерного дапсона определяли элементный состав, ИК-спектры, УФ-спектры, характеристическую вязкость.



Согласно данным элементного анализа в полимерном дапсоне содержится 6% дапсона.

Полимерный дапсон растворяется в воде, в диоксане, в бензоле.

Низкомолекулярный дапсон в воде и бензоле не растворяется, в диоксане растворяется ограниченно.

С начала 1977 г. нами синтезировано 253,0 гр. полимерного дапсона и передано в Ленинградский Санитарно-Гигиенический медицинский ин-т на кафедру фармакологии и токсикологии.

Число	3/1-77г.	31/1	4/II	9/II	4/IV	7/IV	7/V	4/VI	20/ X
Гр.	16г.	13	30,8	6,7г.	10	14г.	60г.	52г.	51г

Для синтеза 253 гр. полимера было очищено, высушено и перечислено токе аргона 13 л. диоксана, 50л. бензола и 50 петролейного эфира.

После стерилизации полимерного дапсона элементный состав и вид И и УФ-спектров не изменился.

3. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Цель и задачи на 1977 год

Возможность включения известных лекарственных препаратов в структуру синтетических плазмозаменителей была теоретически обоснована С.Н.Ушаковым. Высказанная С.Н.Ушаковым идея пролонгации заключалась в том, что полимерные лекарственные соединения или остаются в кровяном русле, постепенно диффундируя через сосудистую стенку или постепенно отщепляются от полимерной основы за счёт ферментативных процессов. Поскольку применяемые в химиотерапии лепры сульфоновые препараты сравнительно быстро выводятся из организма, а для самой химиотерапии характерны длительные курсы, можно считать вполне оправданной попытку создать химические сочетания сульфонов с полимерными плазмозаменителями.

За последние годы были синтезированы и изучены высокомолекулярные лекарственные средства, из которых можно отметить полимерные производные ГИНК и ПАСК (Г.И.Вавилин, Т.Б.Ильина и др., 1968; В.А.Кропачев, 1970; Вавилин и др., 1971; М.М.Островский и др., 1971), сарколизина (И.Е.Ковалёв, 1971), сульфаниламидов (Капустянская А.М. и Шуковская Л.Л., 1971), антибиотиков (Хомяков К.П. и др., 1971, Панарин Е.Ф. и др., 1971, Реди Н.С., 1971), кумаринов (Бродский И.В. и др., 1971, Савельева Н.И. и др., 1976), инсулина (Шуковская Л.Л. и др., 1971) и некоторых других препаратов.

В 1976 году ИВС АН СССР передал нам для предварительной экспериментальной оценки образец полимерного дапсона, синтезированного на основе полимера циклических окисей (полиэтиленоксида).

Препарат содержит от 6 до 7,6% дапсона, отщепление активных групп от макромолекул происходит, как полагают, по связи углерод - кислород.

Важным элементом отбора полимерных модификаций лекарственных препаратов является их экспериментальная оценка, реализуемая поэтапно. Одно из ведущих мест в исследовательской работе по повышению эффективности действия полимерных сульфоновых препаратов должен занимать испытательский этап, так как он выявляет существенные химиобиологические зависимости.

В связи с вышеизложенным, мы поставили перед собой следующую цель - экспериментально проверить сохраняет ли полимерная модификация дапсона специфическую антимикробную активность.

Задачи:

- 1) Изучить специфическое действие ПМДДС (в сравнении с фармакопейным ДДС) *in vitro* и *in vivo*
- 2) определить острую токсичность
- 3) исследовать динамику концентрации препарата
- 4) выявить влияние ПМ ДДС на изменение диуреза

3.2. Материалы и методы исследований

Все эксперименты были проведены на нелинейных животных, содержащихся в обычных условиях вивария.

Исследуемые препараты применяли в виде водных растворов, которые приготавливались в необходимой концентрации для каждого опыта.

Острую токсичность определяли на белых мышах при подкожном введении с последующей обработкой данных по формуле Г.Н.Першина (1950).

Туберкулостатическую активность *in vitro* изучали на яичной среде Левенштейна.

Химиотерапевтический эффект оценивали на моделях остро-текущего и вялотекущего туберкулеза мышей, при заражении их штаммами *M. bovis* 109, *M. marinum*, *M. avium*.

Динамику концентрации препаратов в биологическом материале при однократном введении белым крысам определяли по методу Браттона и Маршала в модификации Браунли и Смита.

Изменение диуреза животных под влиянием воздействия препаратов исследовали на белых крысах по методу К.Д.Саргина (1938) с водной нагрузкой.

Статистическую обработку результатов проводили, используя непараметрические методы.

Более подробное описание методов исследований, доз и концентраций препаратов, видов и количества животных приводится в соответствующих главах раздела "Основные фармакологические свойства".

3.3. Основные фармакологические свойства

3.3.1. Острая токсичность

Острую токсичность изучали на 300 белых мышах-самках, весом 17-26 г при подкожном введении. Препараты исследовали в 8-10 дозах, каждую из которых вводили в дневное время 6-10 животным, находившихся в отдельных стеклянных боксах, объемом

около 5 дм³ при окружающей температуре 18-20°C. Результаты учитывали в течение суток. Препараты вводили подкожно в виде водных ДДС' - в концентрации 0,3 - 3% из расчета 100 - 1000 мг/кг (предварительно навеску ДДС' растирали в твин-80, так как ДДС' нерастворим в воде), концентрация полимерного ДДС' составляла 5 - 32,9% из расчета 1316 - 13160 мг/кг (по содержанию ДДС' - 100 - 1000 мг/кг).

Полимерные производные дапсона существенно отличались от фармакопейного дапсона по скорости и выраженности эффекта, срокам гибели животных. Так, при подкожном введении фармакопейного дапсона симптомы интоксикации развивались практически через 30 мин после инъекции. Клиника смертельного отравления после введения ДДС' включала в себя возбужденность, гиперемию видимых слизистых и кожи ушей и хвоста, гиперкинез, учащение и усиление дыхания, судорожные движения и подергивания, клонико-тонические судороги в виде неравномерных приступов, обездвиживание, урежение и угнетение дыхания, смерть. При аутопсии была обнаружена зернистость печени и анемия почек. Обычно гибель наступала в течение 6-18 часов с момента введения. Введение препарата в переносимых дозах характеризовалось возбуждением, менее выраженными судорогами и нарушением дыхания. К концу суток с момента введения препаратов признаки интоксикации, кроме возбуждения, полностью исчезали и животные выглядели вполне здоровыми.

При подкожном введении полимерного ДДС' наблюдали иную картину: не отмечалось изменения в поведении животных, однако, при действии внешних раздражителей у животных появились признаки сильного возбуждения, которые постепенно проходили,

если прекращал действовать внешний раздражитель.

Введение полимера в больших дозах характеризовалось угнетенным, пассивным состоянием, судорожными движениями и подергиваниями, нарушениями дыхания, обездвиживанием, урежением и угнетением дыхания, смертью. При аутопсии обращала на себя внимание выраженная зернистость печени. Обычно гибель наступала через 18-24 часа после инъекции препарата, т.е. намного позднее, чем после введения ДДС в токсической дозе. При введении переносимых доз поведение животных не изменялось.

Учитывая число летальных исходов у мышей, в зависимости от полученной дозы вещества вычисляли ЛД₅₀ - дозу, вызывающую смерть животных в 50% случаев.

Для этого использовали формулу Г.Н.Першина (1950). Результаты вычислений, характеризующие острую токсичность исследуемых веществ, приведены в табл. I.

Таблица I

В Острая токсичность в опытах на белых мышах

Вещество	максимально переносимая доза /мг/кг/	ЛД ₅₀ /мг/кг/	абсолютно смертельная доза /мг/кг/
полимерный ДДС	3948 (в пересчете на ДДС - 300)	7461 (в пересчете на ДДС - 567)	10528 (в пересчете на ДДС - 800)
фармакопейный ДДС	100	483,2	800

Согласно полученным данным, полимерное производное ДД оказалось менее токсичным при введении подкожно по сравнению с ДДС при этом же пути введения.

Максимально переносимая доза для ПМ ДДС в 3 раза выше, чем в ДДС, составляет 3948 мг/кг (в пересчете на ДДС - 300 мг/кг).

Таким образом, изучение острой токсичности показало, что присоединение дапсона к полиэтиленоксиду снижает его токсичность при подкожном пути введения.

3.3.2. Туберкулостатическая активность

Бактериостатическая активность полимерного дапсона изучалась нами на плотной яичной среде Левенштейна в лаборатории бактериологии Ленинградского НИИ туберкулеза. Для определения бактериостатической концентрации препарата - на плотной яичной среде Левенштейна к 30 мг яичной среды добавляли растворы полимерного дапсона с таким расчетом, чтобы получить концентрацию от 500 до 1 мкг/мл (в пересчете на чистый дапсон). Яичная масса разливалась из каждой колбы в 7 пробирок. Пробирки прогревались в специальном аппарате при температуре 85°C в течение 40 минут в наклонном положении. В качестве тест-микроба использовали 7 штаммов микобактерий:

- 1) человеческий тип H₃₇R_V
- 2) бычий тип 109
- 3) *M. marinum*
- 4) *M. fortuitum*
- 5) *M. kansasii*
- 6) *M. avium*
- 7) *M. scrofulaceum*

С каждым штаммом ставили 2 параллельных опыта. Взвесь микобактерий вносили в пробирки в количестве 0,1 мл (исходную взвесь 500 млн. микробных тел в 1 мл по оптическому стандарту разводили 1:10). Результаты опытов регистрировали через 2 не-

дели. За титр активности принимали наименьшую концентрацию исследуемого препарата, которая полностью подавляла рост микобактерий туберкулеза. Полученные данные, характеризующие туберкулостатическую активность препаратов, представлены в табл. 2.

Как показали результаты опытов, специфическая активность ПМ ДДС' по сравнению с ДДС' отличается как по широте, так и по силе туберкулостатического эффекта. Так, если ДДС' подавляет рост всех штаммов, то ПМ ДДС' действует только на *M. avium*, именно на тот штамм, рост которого более всего подавляется ДДС'.

Туберкулостатическая активность ПМ ДДС'
в сравнении с ДДС'

Таблица 2

наименование культуры	туберкулостатическая активность в /мл	
	ПМ ДДС' (в пересчете на ДДС')	ДДС'
<i>M. H37 Rv</i>	не активен	100
<i>M. bovis 109</i>	не активен	250
<i>M. maximum</i>	не активен	500
<i>M. kansasii</i>	не активен	100
<i>M. avium</i>	500 - 250	10 - 100
<i>M. scrofulaceum</i>	не активен	250

Таким образом, химическое присоединение далсона к полиэтиленоксиду значительно снижает его специфическую активность как по широте, так и по силе туберкулостатического эффекта.

ю 3.3.3. Экспериментальная химиотерапия туберкулеза

Основой химиотерапевтического эксперимента является исследование действия изучаемых препаратов при экспериментальной инфекции животных. Поскольку исследуемый препарат имеет специфическое действие - туберкулостатическое, то для оценки химиотерапевтического эффекта была выбрана модель экспериментального туберкулёза белых мышей. Эта модель по своему патогенезу хотя и отличается от заболеваний человека, тем не менее она вполне пригодна для предварительной оценки химиотерапевтических свойств препаратов. При постановке опытов на мышах имеется возможность массового эксперимента (животные быстро размножаются, доступны, дешевы), что важно для правильной оценки активности препаратов. Кроме того, имеет значение и экономический эффект: меньший расход изучаемого препарата. Исследование химиотерапевтической активности проводили в лаборатории экспериментальной химиотерапии и патоморфологии Ленинградского НИИ туберкулёза. Было поставлено 4 серии опытов.

С целью более точной и правильной оценки испытуемого препарата в каждой серии выделяли группы животных, которые лечили фармакопейным сульфеном.

Эффективность препаратов оценивали на основании следующих показателей:

1. Выживаемость животных
2. Высеваемость микобактерий из внутренних органов и лимфатических узлов животных в конце опыта
3. Данные гистологического исследования внутренних органов
4. Данные макроскопического исследования внутренних органов

5. Динамика веса животных в контрольной и опытных группах
6. Сравнительная оценка веса внутренних органов леченных животных и контрольных (нелеченных)

3.3.3.1. Влияние на остротекущий туберкулёз мышей,
вызванный *M. bovis*

132 белых мыши весом 19-23 г были заражены в боковую вену хвоста высоковирулентным штаммом № 109 бычьего типа. Взвесь микобактерий 4-х недельной культуры вводили по 0,2 мл на мыш. Заражающая доза равна 0,1 мг культуры. Все зараженные животные были разделены на группы, представленные в таблице 3.

Схема лечения мышей, зараженных *M. bovis* Таблица 3

№ № группы	Кол-во мышей	Препарат	Доза в мг/кг	Частота введения	Способ введения
1	17	контроль заражения	-	-	-
2	15	фармакопейный ДДС	1	ежедневно	внутрь
3	20	фармакопейный ДДС	1	1 раз в 5 дней	внутрь
4	20	фармакопейный ДДС	5	1 раз в 5 дней	внутрь
5	20	полимерный препарат № 515 (7% ДДС)	14	1 раз в 5 дней	подкожно
6	20	"-	28	1 раз в 5 дней	подкожно
7	20	"-	71	1 раз в 5 дней	подкожно

Лечение начато на следующий день после заражения. Длительность лечения - 40 дней. Растворы исследуемых препаратов готовили непосредственно перед введением на стерильном физиологическом растворе. Растворы препаратов вводили с соблюдением

мер антисептики. Обычный ДД ζ вводили в виде 0,004% раствора из расчета 1 мг/кг ежедневно, внутрь, 0,09% раствора (2мг/кг) 1 раз в 5 дней внутрь, 0,02% раствора (5 мг/кг) 1 раз в 5 дней внутрь. Полимерный дапсон применяли в виде 0,06% раствора из расчета 14 мг/кг, 0,1% раствора (28 мг/кг), 0,3% раствора (71 мг/кг), растворы полимерного ДД ζ вводили подкожно, 1 раз в 5 дней.

Животных на протяжении всего опыта взвешивали 1 раз в неделю. Гибель животных в контрольной группе началась на 15 день после заражения, а в опытных на 17-20 день. Мышей, погибших по ходу опыта вскрывали, извлекали легкие, печень, селезенку, взвешивали, оценивали степень макроскопического поражения органов.

При макроскопическом исследовании органов животных, павших от инфекции, наблюдали увеличение легких в весе - в 4-5 раз, легкие содержали крупные очаги серого цвета, сливного характера с некротическим содержимым, что свидетельствовало о тотальном туберкулезном поражении легких. Селезенка увеличилась в весе в 1,5 - 2 раза, ткань её была гиперемирована.

После гибели всех контрольных мышей выживших животных забивали и вскрывали.

Эффективность лечения определяли по следующим показателям: 1) соотношение исходного числа животных в группе и выживших; 2) разница в весе мышей в начале и конце опыта; 3) вес лёгких; 4) наличие специфических поражений в лёгких; 5) продолжительность жизни животных в контрольной и опытных группах.

Полученные данные были обработаны статистически с применением непараметрических критериев оценки результатов исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализируя продолжительность жизни животных контрольной и опытных групп, наблюдали достоверное увеличение продолжительности жизни мышей только в случае лечения фармакопейным дапсоном в дозах 1 мг/кг ежедневно и 5 мг/кг 1 раз в 5 дней. Не достоверно различие в продолжительности жизни животных контрольной группы и групп животных, леченных полимерным ДДС. Это ставит под сомнение лечебный эффект данного препарата. В группах животных, леченных фармакопейным ДДС при переходе от группы, лечившейся ДДС в дозе 1 мг/кг к группе мышей с использованием ДДС в дозе 2 мг/кг 1 раз в 5 дней достоверно снижается продолжительность жизни мышей. Не достоверно различие в продолжительности жизни при испытании ДДС в дозе 1 мг/кг ежедневно и 5 мг/кг 1 раз в 5 дней. Зато при увеличении дозы препарата от 2 мг/кг 1 раз в 5 дней до 5 мг/кг 1 раз в 5 дней достоверно увеличивается выживаемость животных.

В группах мышей, леченных полимерным дапсоном, достоверно различие в продолжительности жизни животных при введении препарата в дозе 14 мг/кг и 71 мг/кг. Продолжительность жизни мышей в случае лечения ПМ ДДС дозой 71 мг/кг достоверно увеличивается.

При макроскопическом исследовании легких выживших животных обнаруживали наличие специфических изменений: от II до 20

некротических или большое количество серых, хорошо выраженных очагов. Результаты опыта приводятся в таблице 4.

Таблица 4
Результаты испытания лечебных свойств полимерного ДДС в сравнении с фармакопейным ДДС на модели экспериментального туберкулеза мышей, вызванного *M. bovis* 109

Группы животных	Число мышей	Среднее изменение веса мышей во время опыта (г)	Кол-во выживших мышей (%)	Легкие	
				Средний вес в мг	Индекс поражения
Первая (контрольная)	17	- 7,3	0	952,1 \pm 110,5	4,0
Вторая лечение фармакопейным ДДС 1мг/кг, внутрь, ежедневно	15	- 4,0	26,6	810,0 \pm 206,0	3,0
Третья лечение фармакопейным ДДС 2мг/кг, внутрь, 1 раз в 5 дней	20	- 8,5	5	905,7 \pm 125,8	3,0
Четвертая лечение фармакопейным ДДС 5мг/кг, внутрь, 1 раз в 5 дней	20	- 3,5	18	905,7 \pm 125,8	3,0
Пятая лечение полимерным ДДС 14мг/кг 1раз в 5 дн., п/к	20	- 1,9	20	815,9 \pm 116,2	3,0
Шестая лечение полимерным ДДС 28мг/кг 1раз в 5 дн., п/к	20	- 2,0	15	871,3 \pm 152,0	3,0
Седьмая лечение полимерным ДДС 71мг/кг 1раз в 5 дн., п/к	20	- 3,0	10	935,0 \pm 105,0	3,0

В связи с вышеизложенными результатами проведенного эксперимента, заключаем, что лечение экспериментального тубер-

кулеза белых мышей, вызванного *M. bovis* 109, как фармакопейным дапсоном, так и полимерным дапсоном в исследуемых дозах оказалось неэффективным.

3.3.3.2. Действие на вялотекущий туберкулез белых мышей, вызванный *M. mairium*

Эксперимент проводили с февраля по апрель на 75 белых мышах, которые были заражены внутривенно дозой 0,1 мг на мышь 4-х недельной культуры *M. mairium*

Животные были разбиты на группы, представленные в табл. 5

№ № группы	Кол-во животных	Препарат	Разовая доза (мг/кг)	Частота введения	Способ введения
I	20	не лечилась контроль заражения	-	-	-
2	15	обычный ДДС'	I	ежедневно	внутри
3	20	обычный ДДС'	5	I раз в 5 дней	внутри
4	20	полимерный препарат № 515 (7% ДДС')	7I	I раз в 5 дней	п/к

Полимерный препарат ДДС' применяли в виде 1%-ного раствора, вводили подкожно, фармакопейный ДДС' - внутри с помощью зонда. Лечение начато на следующий день после заражения. Срок наблюдения - 75 дней. В процессе лечения животных всех групп взвешивали I раз в неделю; отмечали изменения в поведении животных. При внешних осмотрах на протяжении всего опыта наблюдалась существенная разница между контрольными и опытными животными. Животные опытных групп выглядели совершенно

здоровыми, упитанными, с красивым блестящим мехом. Животные же контрольной группы - имели мех без блеска, были менее подвижны, чем опытные животные.

Как видно из рис. 1. динамика прироста веса мышей практически совпадает во всех группах.

Через 75 дней, когда в контрольной группе начали гибнуть животные, животные всех групп были забиты декапитацией и вскрыты.

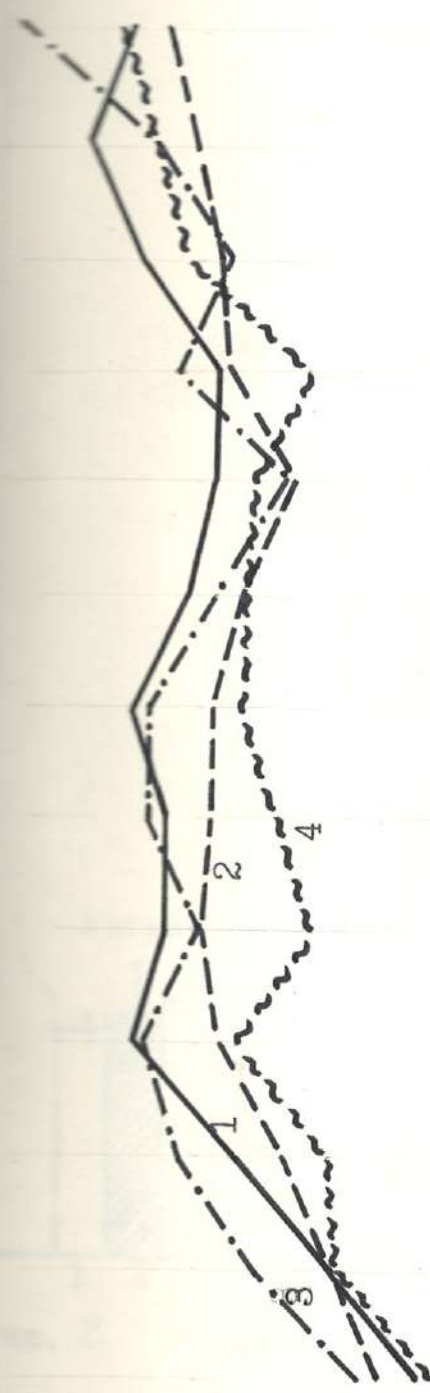
Кусочки органов (печень, почка, легкие, селезенка и лимфатические паховые узлы) от 5 животных взяты для бактериологического исследования. Материал для бактериологического исследования был обработан 10% серной кислотой, посев (каждый орган на две пробирки) производили на яичную среду Левенштейна. Результаты учитывали через 1 месяц инкубации посевов при 37°C в термостате. Количество выросших колоний микобактерий *M. talpae* оценивали по значению индексов (Першин Г.Н., Зыкова Т.Н., 1962). Кусочки органов для гистологического исследования помещали в 10% раствор нейтрального формалина с последующей общепринятой обработкой и заключением в парафин. Срезы толщиной 6 мк окрашивали гематоксилином и эозином. Всего было приготовлено, окрашено и просмотрено в световом микроскопе около 200 срезов.

Органы (печень, селезенка, почки, легкие) животных всех групп были осмотрены макроскопически и взвешены.

Результаты опыта представлены на рис. 2, где даны, в основном, средние величины с доверительными границами при $P = 0,05$.

- 1 - контроль
 2 - ДДС 1 мг/кг ежедн.
 3 - ДДС 5 мг/кг 1р./5дн.
 4 - ПМ ДДС 71 мг/кг 1р./5дн.

Стрелкой обозначено заражение и начало лечения.



Недели
 I II III IV V VI VII VIII IX X XI XII XIII XIV XV

Рис. 1
 Динамика веса белых мышей, зараженных М-патилит

вес (в мг)

- 1 - контроль
- 2 - ДДС 5 мг/кг 1р./5дн.
- 3 - ПМ ДДС 71 мг/кг 1р./5дн.

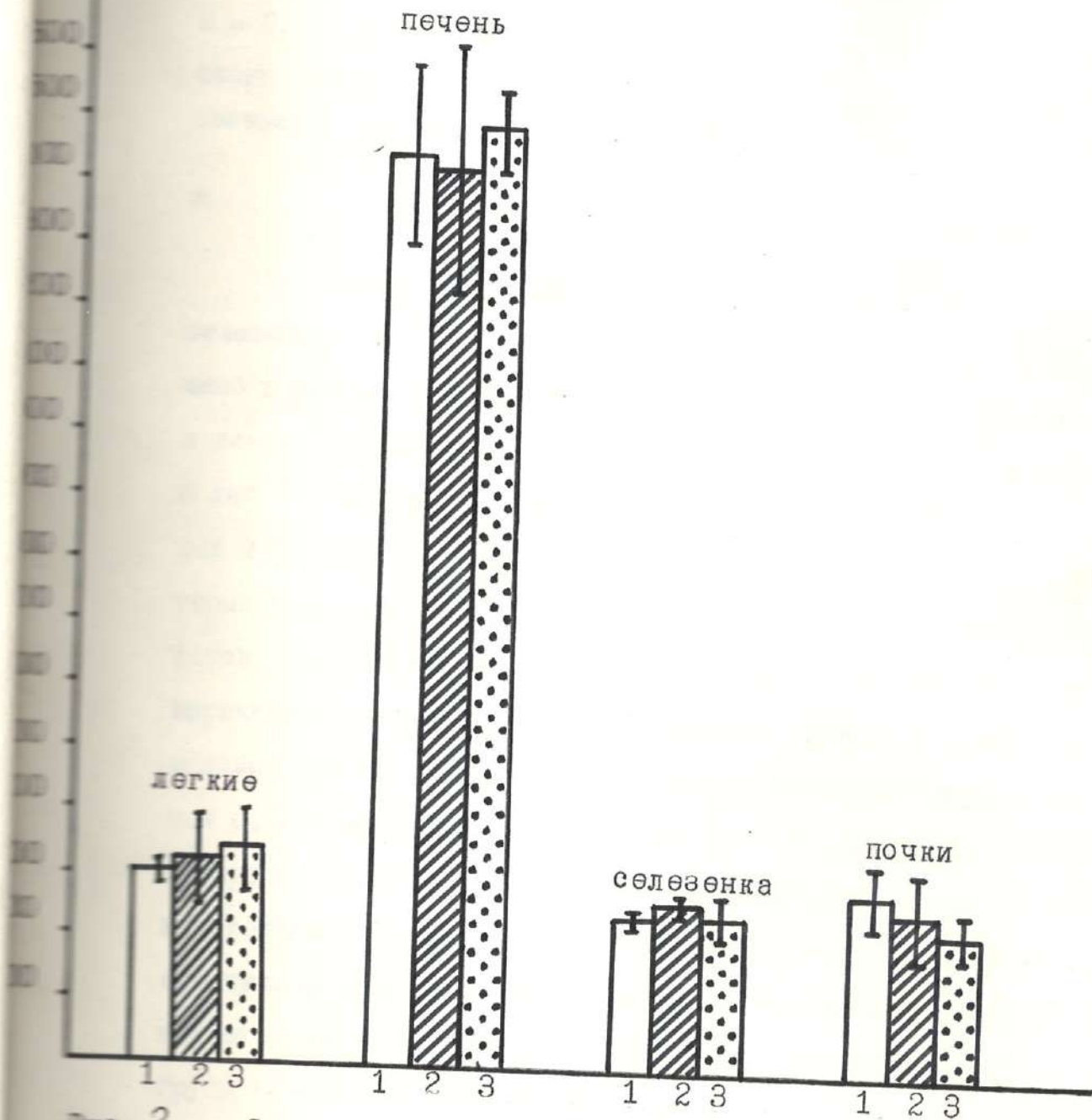


Рис. 2

Сравнительная характеристика веса органов белых мышей, зараженных *M-tachinits*

Макроскопическое исследование органов

При макроскопическом исследовании легких, печени, почки, селезенки в экспериментальных группах не обнаружено заметных отличий. При сопоставлении веса органов (рис. 2.) опытных и контрольных групп статистически достоверны различия (при $P = 0,05$) в весе легких контрольной и 3, 4 групп (леченных соответственно: ДДС' - 5 мг/кг и ПМ ДДС' - 71 мг/кг), в весе селезенки контрольной и 4 группы, в весе почек I и 3 группы.

Результаты гистологического исследования

При гистологическом исследовании легких, печени, почки, селезенки и лимфатических узлов наибольшее поражение обнаружено в печени и селезенке, незначительные изменения в легких и лимфатических узлах, нет патологических изменений в почках. В легких животных контрольной и 4 группы имеются перибронхиальная и периваскулярная лимфоидноклеточная инфильтрация, в некоторых препаратах мельчайшие очажки пневмонии, очажки из макрофагов, эритроцитов и лимфоцитов, указанные изменения более выражены в легких животных контрольной группы. В печени наблюдались до 50 и более в поле зрения мелких полиморфноклеточных инфильтратов и скоплений типа эпителиодных (мельчайшие бугорки), однако эти изменения более характерны для животных контрольной группы и менее всего для 4 группы. В селезенке отмечались диффузная гиперплазия ретикулярных клеток, заметных отличий в препаратах селезенки всех экспериментальных групп не было обнаружено. В лимфатических узлах рисунок смазан, имеется незначительная гиперплазия ретикулярных клеток.

Бактериологическое исследование

Большие различия в эффективности примененных методов подчеркивают бактериологические исследования (рис. 3).

В органах мышей, леченных полимерным дапсоном дозой 71 мг/кг, 1 раз в 5 дней, рост *M. marinum* только из печени и селезенки, т.е. из органов, которые имеют наибольшие патоморфологические изменения, но количество колоний невелико.

В группе, леченной ДДС' 5 мг/кг 1 раз в 5 дней, рост *M. marinum* отмечается из всех органов, но индекс высеваемости в органах этой группы достоверно ниже, чем в органах контрольных животных (при $P = 0,05$).

Таким образом, процесс, вызванный *M. marinum* слабый, вялотекущий, наиболее выражены данные бактериологического исследования; препараты по-разному действуют в выбранных дозах, наиболее эффективно лечение полимерным дапсоном в дозе 71 мг/кг 1 раз в 5 дней, но, однако, химиотерапевтическое действие ПМ ДДС' слабое.

- 1 - контроль
- 2 - ДДС 5 мг/кг 1р./5дн.
- 3 - ПМ ДДС 71 мг/кг 1р./5дн.

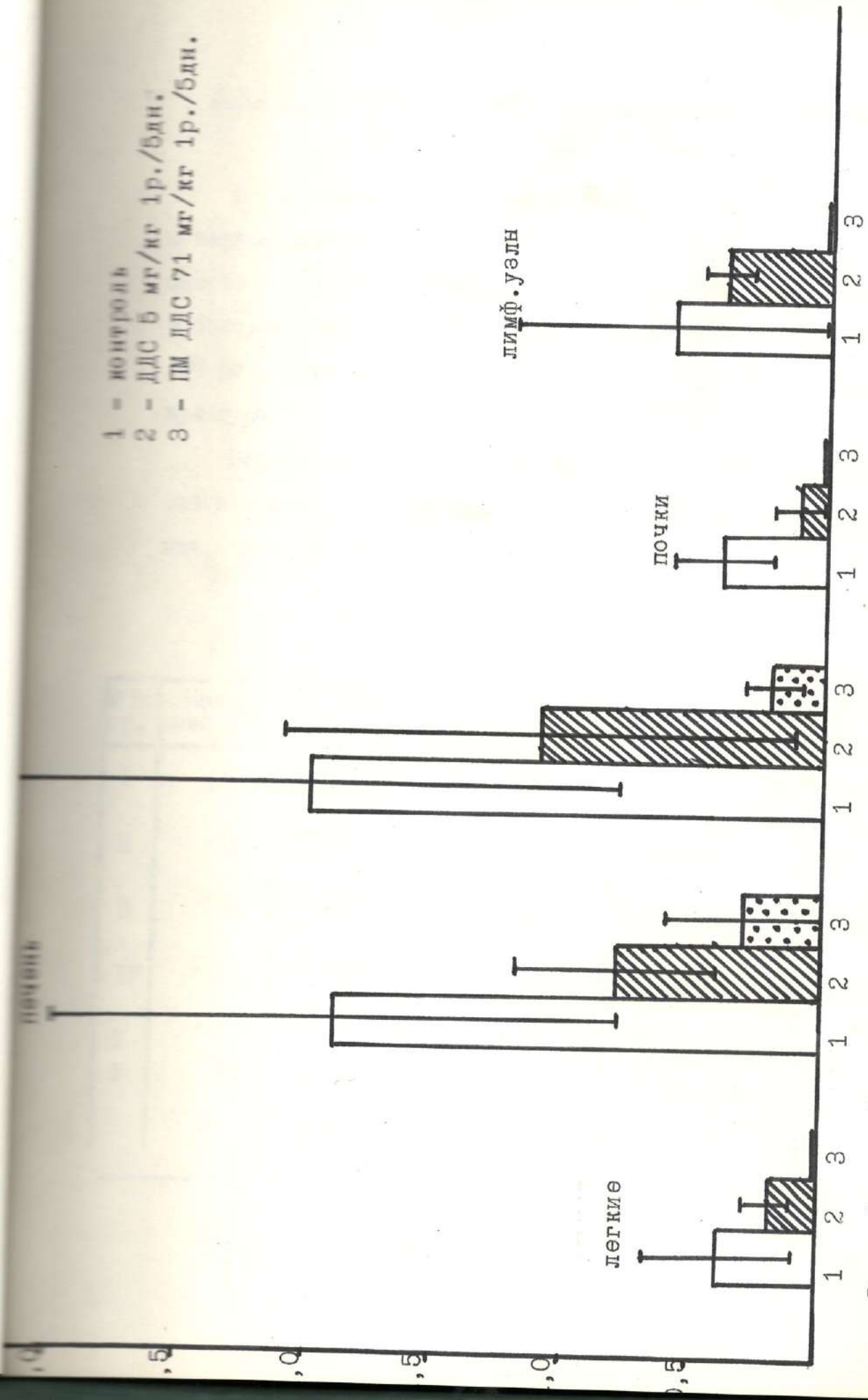


Рис. 3. Всеваемость М-антигена из органов белых мышей.

3.3.3.3. Химиотерапевтическая активность вялотекущего процесса, вызванного *M. bovis* I09

В эксперименте было использовано 100 белых мышей-самцов с первоначальным весом 18-19,7 г, содержащихся по 20 штук в клетке в условиях обычного вивария. Животные были заражены в боковую вену хвоста взвесью 4-х недельной культуры *M. bovis* I09 по 0,2 мл на мыш. Заражающая доза былар равна 0,01 мг культуры.

Всех зараженных животных разделили на группы по 20 мышей в каждой. Лечение начато на следующий день после заражения, схема лечения приводится в табл. 6.

Таблица 6.

Схема лечения мышей, зараженных *M. bovis* I09

№ гр.	Кол-во животных	Вид препарата	Доза мг/кг	Частота введения	Способ введения
I	20	контроль заражения	-	-	-
II	20	фармакопейный ДДС	1 мг/кг	ежедневно	подкожно
III	20	фармакопейный ДДС	5 мг/кг	I раз в 5 дней	подкожно
IV	20	полимерный ДДС /содержание ДДС - 7%	14 мг/кг	I раз в 5 дней	подкожно
V	20	полимерный ДДС /содержание ДДС - 7%	28 мг/кг	I раз в 5 дней	подкожно

Длительность лечения - 4 месяца. Растворы исследуемых препаратов готовили на стерильной физиологическом растворе, вводили растворы с соблюдением правил антисептики; фармопейный ДДС¹ использовали в дозе 1 мг/кг ежедневно и 2 мг/кг 1 раз в 5 дней в виде 0,05% растворов; полимерный ДДС - в виде 0,14% и 0,28% растворов из расчета 14 и 28 мг/кг соответственно

На протяжении всего опыта животных взвешивали 1 раз в неделю. Мышей, погибших по ходу опыта, вскрывали и учитывали при условии, что среди контрольных животных к этому сроку уже наблюдались случаи развившегося туберкулеза. Гибель животных в контрольной группе началась на 38 день после заражения. На 118 день после заражения, когда в контрольной группе животных отмечалась смерть 85% мышей, всех выживших животных в контрольной и опытной группах забили, вскрыли. Паренхиматозные органы были извлечены и взвешены, отмечали степень пораженности органов. На рис. 4 видно, что макроскопически туберкулезные поражения обнаружены только в легких. Эффективность лечения определяли по следующим показателям:

- 1) количество выживших мышей в опытных и контрольной группах, выраженное в процентах по отношению к исходному количеству мышей в данной группе
- 2) разница в весе мышей в начале и в конце опыта
- 3) вес легких
- 4) наличие специфических поражений в легких

Полученные данные оформлены в виде таблицы.

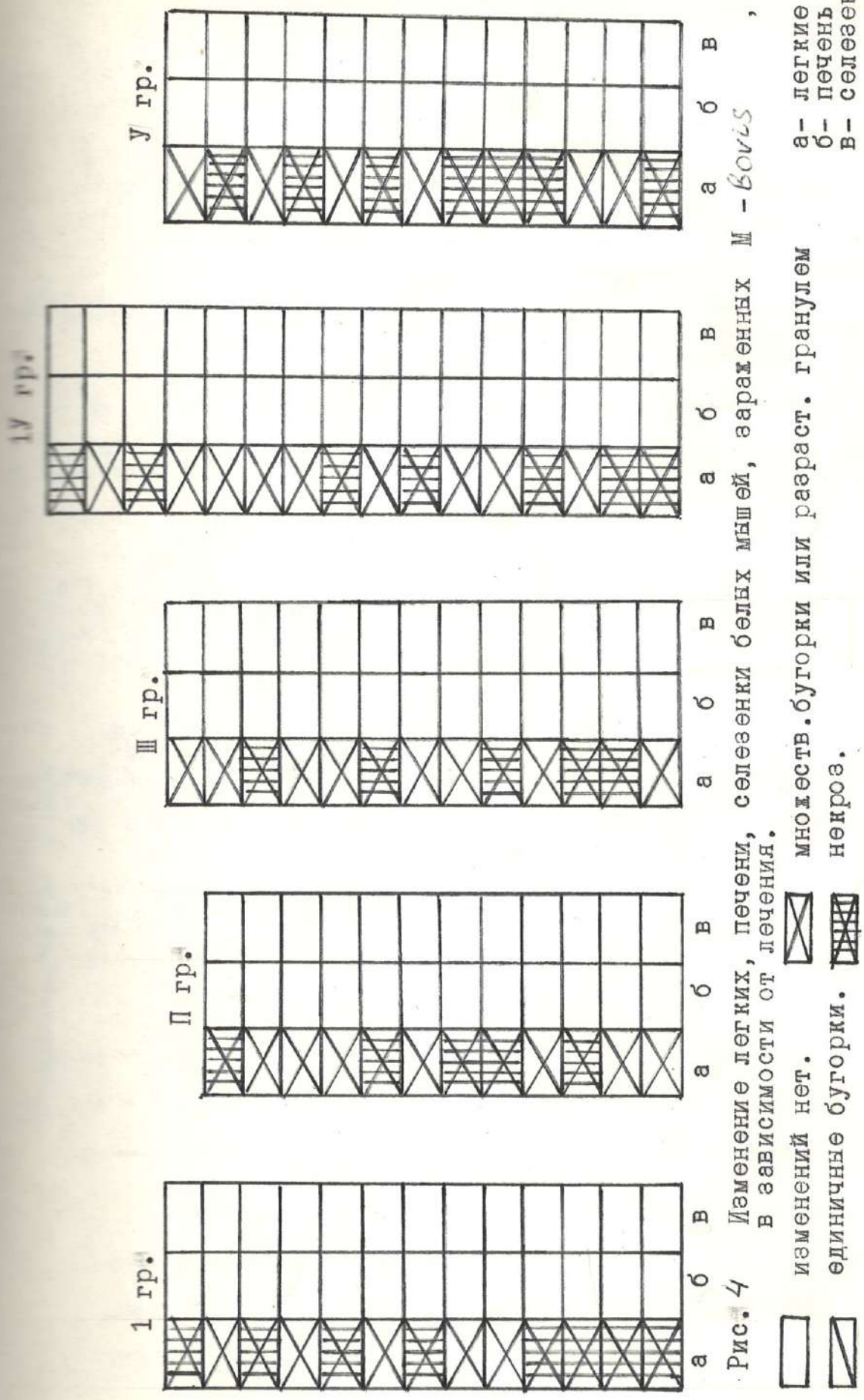


Таблица 7.

Результаты испытания лечебных свойств полимерного ДДС' в сравнении с фармакопейным ДДС на модели экспериментального туберкулёза мышей, зараженных *M. bovis* 109

Группы мышей	Число мышей	Среднее изменение веса мышей во время опыта (г)	Число выживших мышей (%)	Легкие	
				средний вес легких в мг	индекс поражения
Первая (контрольная)	20	+ 5,6	15	849,3±72	4,0
Вторая лечение фармакопейным ДДС' 1 мг/кг, п/к, ежедневно	20	+ 3,9	40	795 ± 54	3,0
Третья лечение фармакопейным ДДС' 1 мг/кг, п/к 1 раз в 5 дней	20	+ 3,9	25	781,5±72	3,0
Четвертая лечение ПМ ДДС' 14 мг/кг, п/к, 1 раз в 5 дней	20	+ 9,1	10	844,4±75,6	3,0
Пятая лечение ПМ ДДС' 28 мг/кг, п/к, 1 раз в 5 дней	20	+ 5,3	10	790±100,8	3,0

Учитывая приведенные в таблице результаты, можно заключить, что исследуемые препараты ПМ ДДС' и ДДС' не оказывают лечебного действия при туберкулезе белых мышей, вызванного *M. bovis* 109.

3.3.3.4. Влияние на вялотекущий процесс у мышей,

вызванный *M. avium*

Согласно литературным данным Rist и сотр. (1940) дапсон проявляет химиотерапевтический эффект у кроликов, зараженных *M. avium*. В наших пробирочных опытах ДДС' и ПМ ДДС' оказывали туберкулостатическое действие на *M. avium*. Поэтому было интересно изучить химиотерапевтический эффект ДДС' и ПМ ДДС' на модели экспериментального туберкулёза белых мышей, вызванного *M. avium*

Исследования проводили на 72 белых мышак-самцах весом 21-23 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животные были заражены в боковую хвостовую вену 0,5 мг на мышь 3-х недельной культурой *M. avium*. Животные были разбиты на группы, представленные в табл. 8

Таблица 8.

Схема лечения мышей, зараженных *M. avium*

№ № Гр.	Кол-во животных	Вид препарата	Доза в мг/кг	Частота введения	Способ введения
1	18	контроль заражения	-	-	-
2	18	фармакопей- ный ДДС	-	ежедневно	п/к
3	18	то же	2	1 раз в 5 дней	п/к
4	18	полимерный ДДС	28	1 раз в 5 дней	п/к

Лечение начато на следующий день после заражения. Длительность лечения - 4 месяца. Вещества вводили с соблюдением мер антисептики, растворы препаратов готовили на стерильном физиологическом растворе.

Обычный ДДС вводили в виде 0,01%-ного раствора из расчета 1 мг/кг ежедневно, подкожно и 0,02%-ного раствора (доза составляла 2 мг/кг) 1 раз в 5 дней. Полимерный ДДС вводили 1 раз в 5 дней подкожно, в виде 0,28%-ного раствора (28 мг/кг). Животных на протяжении всего опыта взвешивали 1 раз в неделю. Через 11 недель после заражения, из каждой группы забивали по 5 мышей декапитацией, вскрывали и извлекли печень, легкие, селезенку для посева на питательную среду. Для определения высеваемости *M. avium* органы от каждой мыши помещали в фарфоровой ступке, обрабатывали 5% раствором серной кислоты, отмывали стерильной дистиллированной водой и растирали. Полученную суспензию засеивали в 2 пробирки со средой Левенштейна-Йенсена. Результаты посевов оценивали через 4 недели инкубации в термостате при 37°C.

Результаты предварительного бактериологического исследования

Через 4 недели инкубации посевов органов животных в термостате отмечался сплошной рост *M. avium* как в пробирках с посевами органов контрольных мышей, так и в пробирках с посевами органов леченных животных. Исходя из результатов проведенного бактериологического исследования был сделан вывод о нецелесообразности дальнейшего лечения животных.

Поэтому животные всех групп были забиты декапитацией. Забитых животных вскрывали, паренхиматозные органы были взвешены, отмечена степень макроскопического поражения органов. Результаты опыта приводятся в таблице. Оценку степени пораженности легких и высеваемости из легких производили по 4-балльной системе (Першин Г.Н., 1972).

Результаты испытания лечебных свойств полимерного ДДС в сравнении с фармакопейным ДДС на модели экспериментального туберкулёза мышей, зараженных *M. avium*

Группы мышей	Число мышей	Среднее изменение веса мышей во время опыта/г/	л е г к и е		
			средний вес в мг	индекс поражения	индекс высеваемости
Первая /контрольная/	18	+ 6,4	449,3±36,8	3,0	4,0
Вторая лечение фармакопейным ДДС 1мг/кг, п/к, ежедневно	18	+ 7,2	417,7±55,8	3,0	4,0
Третья лечение фармакопейным ДДС 2мг/кг, п/к, 1раз в 5 дней	18	+ 7,5	427,2±57,4	3,0	4,0
Четвертая лечение полимерным ДДС (содержание ДДС - 7%) 28мг/кг, п/к, 1раз в 5 дней	18	+ 6,3	397,2±68	3,0	4,0

Таким образом, на основании результатов, приведенных в таблице, можно сделать вывод, что лечение экспериментального туберкулёза мышей, вызванного *M. avium*, фармакопейным ДДС в дозе 1 мг/кг ежедневно, 2 мг/кг 1 раз в 5 дней, а также его полимерной модификацией в дозе 28 мг/кг 1 раз в пять дней, не эффективно. Но, поскольку фармакопейный ДДС и полимерный ДДС в опытах *in vitro* оказывали преимущественно туберкуло-статическое действие на *M. avium*, то можно предполагать,

что они должны быть эффективны в опытах *in vivo*. Таким образом, вопрос об эффективности исследуемых препаратов в отношении экспериментального туберкулёза, вызванного *M. avium*, можно решить, поставив дополнительную серию экспериментов с использованием препаратов в более высоких дозах.

3.3.4. Определение концентрации в биологическом материале

О длительности нахождения препаратов в организме, что важно для решения вопроса об интервалах введения, судят по концентрации веществ в крови и в тканях. Для определения концентрации лекарственных препаратов используют химические методы. Большинство химических методов основано на образовании химиотерапевтическими веществами характерных окрашенных соединений с теми или другими реактивами. Интенсивность окраски в растворах измеряют методами колориметрии и по её результатам судят о количестве лекарственного препарата.

Поскольку предполагают, что полимерный дапсон в организме будет постепенно гидрализироваться на полимерные фрагменты и дапсон, то, следовательно, используя известные химические методы для определения сульфонов в биологическом материале, можно решить вопрос о длительности нахождения полимерной модификации дапсона в организме, а тем самым и о величине пролонгирующего эффекта.

В своих опытах мы воспользовались методом Браттона и Маршалла в модификации Брауна и Смита, который основан на способности сульфонов давать окрашенные соединения после их диазотирования и сочетания с двусоляновислым \mathcal{N} -(1-нафтил)-этилендиамином.

В эксперименте использовано 80 белых крыс-самок весом 120-200 г.

Полимерный дапсон вводили подкожно в виде 30%-ного водного раствора в дозе 200 мг/кг (в пересчете на содержание активного вещества).

Фармакопейный дапсон использовали также в дозе 200 мг/кг подкожно в виде 2%-ного раствора. На каждый исследуемый интервал времени брали группу из 12 крыс. Через 1, 3, 6, 12 и 24 часа у крыс собирали мочу (0,5 мл), затем их декапитировали, брали по 0,5 мл крови. У забитых животных извлекали печень, легкие, почки, мозг, брали кусочек кожи. Органы и кожу дважды промывали в физиологическом растворе, обсушивали фильтровальной бумагой. Навеску органов и тканей (500 мг) размельчали в присутствии 1 N раствора HCl (5 мл) в стеклянном гомогенизаторе, белки осаждали 120-ным раствором трихлоруксусной кислоты (2 мл), немедленно фильтровали через бумажные фильтры, предварительно смоченные водой. В пробирки наливали по 3 мл фильтрата, диазотировали 0,3%-ным раствором азотистокислого натрия, затем добавляли 1,5% раствор сульфата аммония и 1%-ный раствор реактива -Браттона-Маршалла. Интенсивность развившейся розовой окраски определяли на ФЭК-56М (при зеленом фильтре) через 30 минут. В качестве растворов сравнения (0-раствор) служила дистиллированная вода. По калибровочной кривой, построенной на основании измерений растворов рабочего стандарта исследуемых препаратов с известными концентрациями (от 5 до 50 мгк/мл) вычисляли содержание препарата в каждой пробе. Полученные данные были статистически обработаны с использованием непараметрических критериев оценки результатов.

Результаты опытов представлены графически в виде кривых на рис. 5, 6.

Из рис. 5 видно, что содержание дапсона в моче после однократного введения ПМ ДД S' и ДД S' в дозе 200 мг/кг существенно различаются.

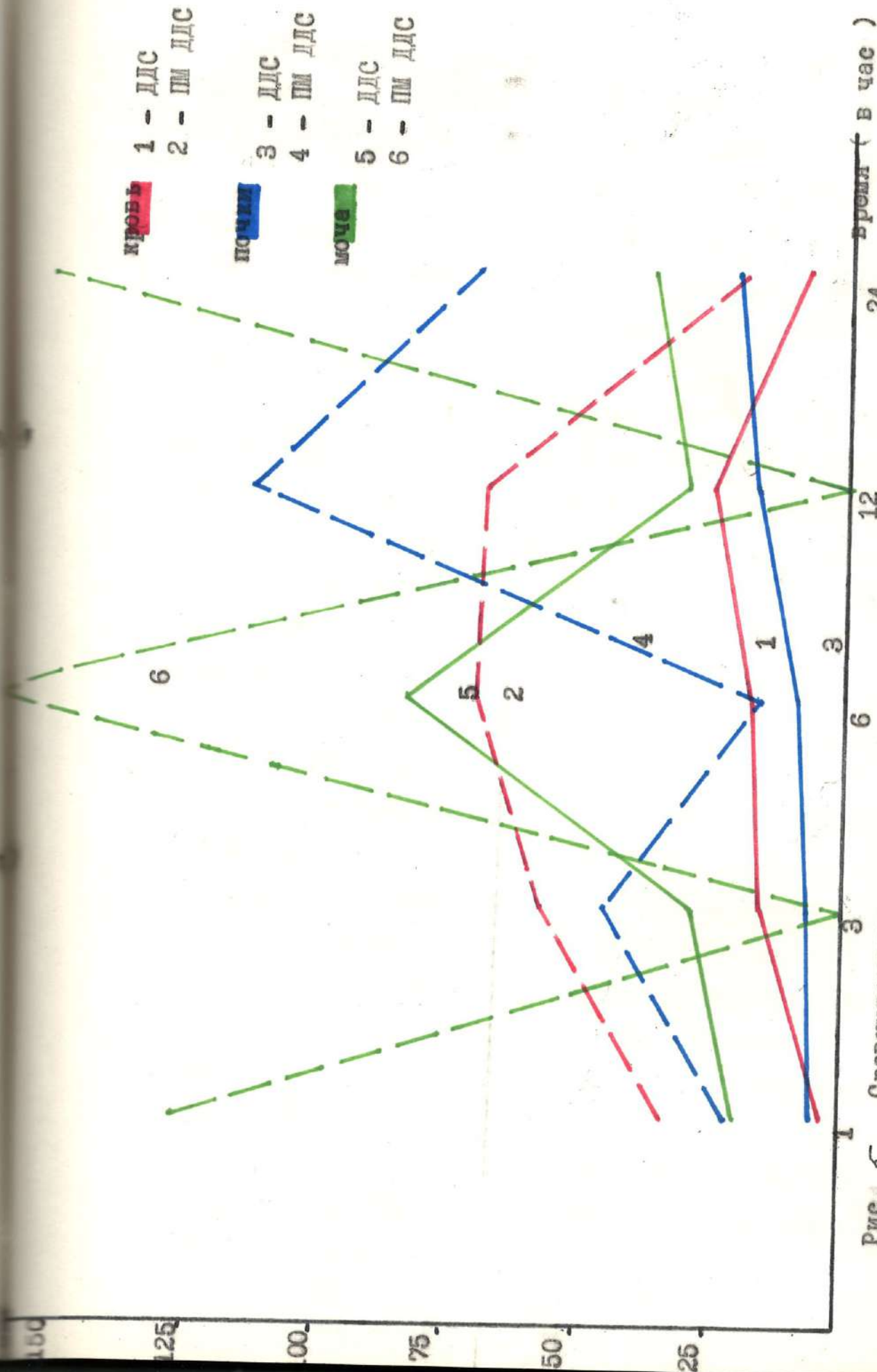


Рис. 5 Сравнительная динамика концентрации обычного ДДС и ПМ ДДС (в пересчете на ДДС) в органах и тканях крысы (в мг/мл)

Так, увеличение концентрации дапсона, после однократного введения DD_3S' идет постепенно, пик концентрации приходится на 6 часов, затем идет снижение уровня дапсона и через 24 часа содержание препарата приблизительно равно содержанию, определенному через 1 час после введения DD_3S' . Концентрация дапсона в моче после введения полимерной модификации DD_3S' имеет 3 пика: 1-й определялся через 1 час, 2-ой - через 6 часов, 3-й пик приходится на 24 часа.

Динамика концентрации дапсона в крови после введения ПМ DD_3S' и DD_3S' идентична: содержание препарата увеличивается постепенно при переходе от интервала 1 час к интервалу 12 часов (максимальное содержание через 3-12 часов), через 24 часа определяется минимальная концентрация препарата. Однако, следует отметить, что после введения полимерного DD_3S' в крови создается концентрация дапсона в 10-12 раз выше, чем после введения фармакопейного DD_3S' в той же дозе.

В почках после введения фармакопейного DD_3S' имеет место плавное увеличение концентрации, максимальное содержание определяется через 24 часа. Содержание дапсона после введения полимерного DD_3S' существенно отличается от обычного DD_3S' ; во-первых, концентрация дапсона здесь в 3-6 раз выше (на протяжении всех исследованных интервалов), во-вторых, имеет 2 пика, первый приходится на 3 часа (45 /мл), второй - на 12 часов (112,7 /мл), через 24 часа уровень содержания препарата резко падает до 71,6 /мл.

На рис. 6. видно как меняется содержание дапсона в остальных исследованных органах после применения фармакопейного DD_3S' и полимерного DD_3S' .

легкие I - ДДС
 2 - ПМ ДДС
 печень 3 - ДДС
 4 - ПМ ДДС
 мозг 5 - ДДС
 6 - ПМ ДДС
 кожа 7 - ДДС
 8 - ПМ ДДС

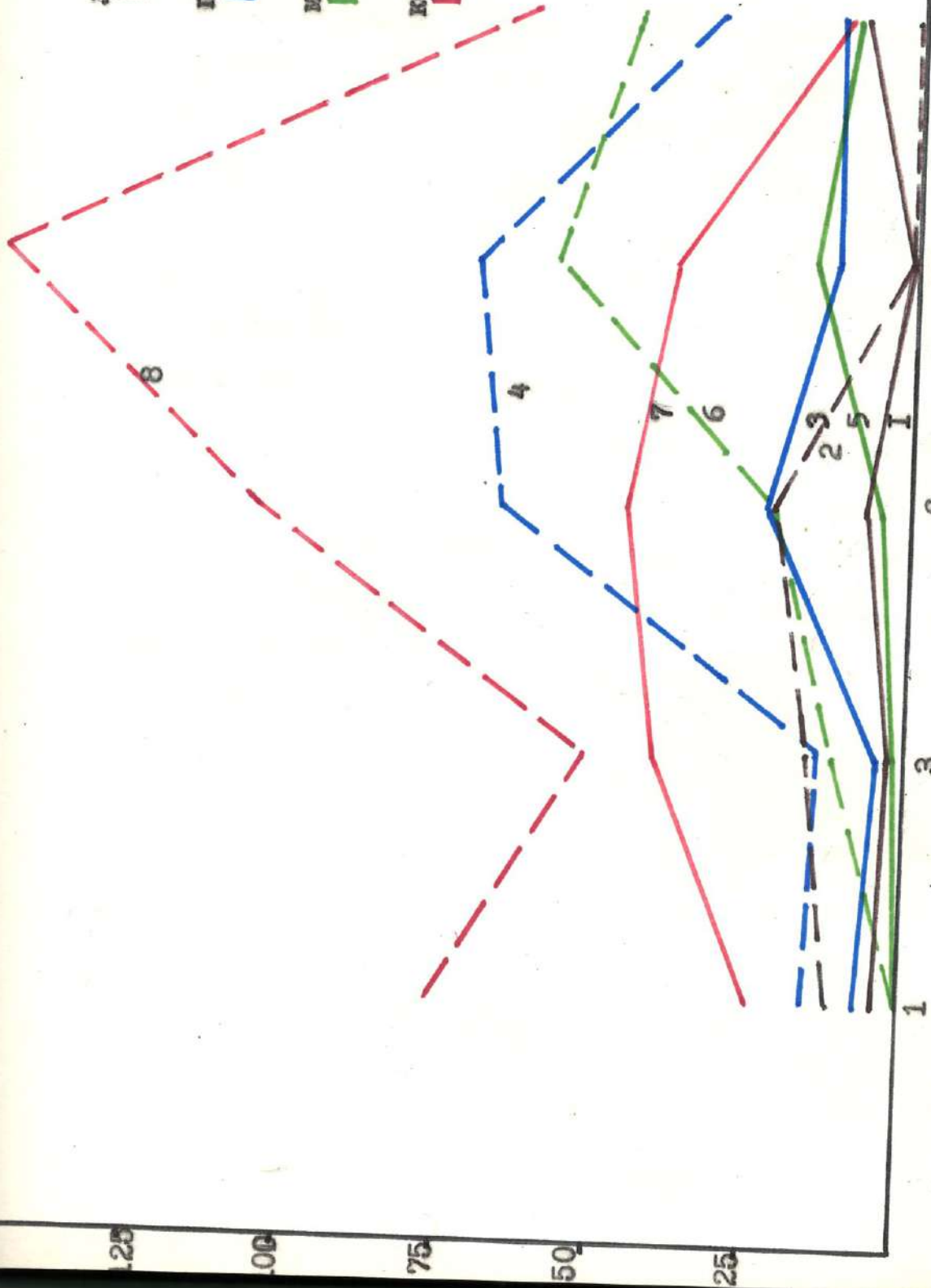


Рис. 6. Сравнительная динамика концентраций обычного ДДС и ПМ ДДС (в пересчете на ДДС)
 в органах и тканях крыс (в мкг/мл)

Максимальное содержание препарата определяется в коже как при введении ДДС, так и ПМ ДДС, минимальное — в легких. Динамики концентрации дапсона в случае применения ДДС и ПМ ДДС соответствуют друг другу, однако, уровень содержания ПМ ДДС в 3 раза выше, чем фармакопейного ДДС.

Таким образом, химическое присоединение дапсона к полимеру-плазмозаменителю ведёт к изменению фармакодинамики препарата. Так, хотя и фармакопейный ДДС и полимерный ДДС вводили в одинаковых дозах (200 мг/кг — по содержанию активного вещества), но после применения ПМ ДДС во всех органах и тканях на протяжении исследованных интервалов создавалась концентрация полимерного дапсона, в 3-10 раз превышающая уровень фармакопейного дапсона в этих же органах и в те же интервалы.

К сожалению, судить о пролонгирующем эффекте можно будет только после проведения дополнительных исследований: определения концентрации дапсона в биологическом материале через 48, 72 часа и более вплоть до полного исчезновения следов препарата в органах и тканях.

3.3.5. Изменение диуреза

При изучении действия ПМ ДДС на диурез животных мы исходили из того, что для большинства синтетических полимеров выделение через высокопористую гломерулярную мембрану почек затруднено и полимеры с молекулярными массами свыше 80 - 100 тысяч не могут пройти через трубчатый эпителий. Молекулярная масса полимерной основы наших образцов равнялась 6 тыс., т.е. можно предположить, что полимерная основа будет без каких-либо затруднений выделяться почками.

В наших опытах мы предледовали цель выяснить влияние полимерного дапсона на диурез животных, не касаясь детального изучения механизма этого влияния.

Для решения поставленной задачи был выбран метод К.Д. Саргина (1938) с водной нагрузкой.

Опыты были поставлены на крысах (42 шт.). Животные были разбиты на следующие группы:

- I группа - получала водную нагрузку через 3 часа после введения препарата;
- II группа - вводили препарат, создавали водную нагрузку; в течение суток животные лишались воды и пищи, а на вторые сутки собирали выделенную мочу.
- III группа - после инъекции препарата и водной нагрузки животные этой группы сутки содержались на обычном рационе, на вторые сутки их лишали воды и пищи, а на третьи сутки у животных собирали выделенную мочу.

Полимерный ДДС вводили подкожно в виде водного 1% раствора, из расчета 71 мг/кг (по содержанию ДДС - 5 мг/кг), а контрольным животным - физ.раствор в соответствующем объеме. Водную нагрузку создавали путем введения теплой водопроводной воды через зонд в желудок в количестве 5% к весу тела животного. Затем крыс помещали на укрепленную на штативе воронку, а сверху накрывали другой воронкой, также укрепленной на штативе. Мочу собирали каждый час на протяжении 4-х часов и через 24 часа. Количество выделенной мочи выражали в процентах ко всему количеству введенной крысе воды.

В контрольных опытах установлено, что наибольшее количество мочи выделялось животными всех групп в течение второго часа - в среднем - 39,6 - 28%, а за 4 часа - 75,9 - 50,9% введенного объема воды. Данные опытов с применением полимерного дапсона представлены в таблице 10.

Таблица 10.

Влияние полимерного дапсона на диурез крыс

Номер группы		Кол-во наблюдений	Выведенное количество воды в % к водной нагрузке					
			1-й час	2-й час	3-й час	4-й час	Всего за 4 часа	Всего за сутки
I	опыт	6	26,4	39,6	4,4	5,5	75,9	95,7
	контроль	3	41,3	29,3	4,3	-	74,9	93,4
II	опыт	6	13,3	33,7	11,2	4,1	62,3	78,6
	контроль	3	13,6	39,8	12,5	-	65,9	88,6
III	опыт	6	3,1	28,0	16,8	3,0	50,9	58,4
	контроль	3	9,4	24,7	5,9	4,7	44,7	54,1

Как видно из приведенных в таблице результатов (в каждом наблюдении было использовано не менее 6 животных) препарат в дозе 71 мг/кг изменял картину водного диуреза крыс. Лишь в первый час наблюдения отмечена незначительная задержка выделения мочи в I-й и 3-й группах. Общее количество мочи, выделенной за 4 и 24 часа было сходным с контрольными опытами.

Таким образом проведенные опыты на крысах с водной нагрузкой показали, что полимерный дапсон не влияет на диурез животных, а, следовательно, и на функцию почек.

5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Далсон (4,4-диаминодифенилсульфон) является наиболее активным и широко используемым препаратом как при индивидуальном лечении лепры, так и при противолепрозных кампаниях. При рациональном применении этот препарат является малотоксичным, но, однако, как свидетельствуют об этом экспериментальные и клинические данные, он не лишен побочного действия, а быстрая элиминация его создает ряд неудобств в режимах и организационных формах химиотерапии. Устранить эти недостатки можно используя химические водорастворимые полимеры.

Цель наших исследований заключалась в экспериментальной проверке сохранения специфической активности далсона при его сополимеризации с полиэтиленоксидом.

Задачей работы являлось фармакологическое изучение нового оригинального полимерного производного далсона в сравнении с фармакопейным далсоном по 3-х звеньевой схеме, характеризующей следующие главные признаки: специфическое влияние на возбудителя туберкулеза (*in vitro* и *in vivo*), токсические свойства и способность к пролонгации.

В опытах на белых мышах было показано, что острая токсичность полимерного производного далсона ниже чем у фармакопейного далсона, при подкожном пути введения.

В опытах *in vitro* исследовали туберкулостатическую активность ПМ ДДС в отношении 7 штаммов микобактерий туберкулеза и показали, что в результате химического присоединения далсона к полиэтиленоксиду специфическая активность его снижается как по широте, так и по силе туберкулостатического эффекта.

Так полимерный дапсон в больших концентрациях (250-500 /мл) задерживал рост только одного штамма - *M. avium*.

Согласно результатам наших исследований по изучению химиотерапевтической активности полимерного дапсона на моделях ост-ротекующего туберкулеза у мышей, зараженных *M. bovis* 109, и вя-лотекующего процесса, вызванного *M. bovis* 109, *M. marinum* и *M. avium*, полимерный дапсон оказывал слабый лечебный эф-фект только в отношении процесса, вызванного *M. marinum*. На других моделях как полимерный ДДС, так и фармакопейный ДДС оказались неэффективны.

Химическое присоединение дапсона к полимеру - плазмозаме-нителю ведет к изменению фармакодинамики препарата. В опытах по определению динамики концентрации препарата в биологическом материале было показано, что при введении крысам полимерного дапсона и обычного дапсона в дозе 200 мг/кг (по ДДС), во всех органах и тканях концентрация полимерного ДДС в 3-10 раз пре-вышала концентрацию обычного ДДС. Однако, эти результаты недо-статочны для суждения о длительности нахождения препарата в ор-ганизме; поэтому в настоящее время проводятся исследования по изучению динамики концентрации полимерного ДДС в органах и тка-нях крыс через 48, 72 часа и более.

В опытах на крысах с водной нагрузкой предполагали выяс-нить наличие или отсутствие изменения диуреза животных, следо-вательно, функции почек под влиянием полимерного ДДС. Оказа-лось, что диурез животных не изменяется, т.е. можно предполо-жить, что полимерная основа выделяется без каких-либо затруд-нений почками.

Таким образом, для окончательного решения вопроса о биологической активности полимерной модификации необходима детальная характеристика образца в токсикологическом отношении (изучение влияния многократного введения ПМ ДД₅ на морфофункциональные показатели у животных) и изучение пролонгирующих свойств через 48, 72 и более часов при однократном и многократном введении ПМ ДД₅. Кроме того, необходима существенная доработка ПМ ДД₅ и в "химическом" отношении: как-то - синтез полимерного образца с большим содержанием активного вещества, а также использование в качестве полимерной основы олимеров с низкой молекулярной массой.

6. ВЫВОДЫ

1. Полимерный дапсон обладает низкой токсичностью в сравнении с фармакопейным дапсоном.
2. В результате химического присоединения дапсона к полиэтиленоксиду специфическая активность его снижается как по широте, так и по силе туберкулостатического эффекта.
3. Полимерный дапсон оказывает слабый химиотерапевтический эффект.
4. Химическое присоединение дапсона к полимеру ведет к изменению его фармакодинамики, концентрация полимерного дапсона в биологическом материале в 3-10 раз выше, чем обычного ДД₅ (при условии введения обоих препаратов в эквивалентных дозах).
5. Полимерная модификация ДД₅ не изменяет диуреза животных с водной нагрузкой, не влияет на функцию почек.
6. Для детальной оценки биологической активности полимерного ДД₅ необходимо изучить влияние многократного введения препарата на морфофункциональные показатели у животных.
7. Необходима доработка полимерного ДД₅ в "химическом" отношении: синтез образца с большим содержанием активного вещества, а также использование в качестве полимерной основы полимеров с низкой молекулярной массой.

7. УКАЗАТЕЛЬ ЦИТИРОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вавилин Г.И.,
Васильев А.В.,
Ильина Т.Б.,
Кропачев В.А.,
Лаврентьева Е.М.,
Рабинович И.М.,
Трухманова Л.Б.
 - Использование полимеров для модификации антибактериальных препаратов. Физиологически и оптически активные полимерные вещества. Рига, 1971, 175-180
2. Вавилин Г.И.,
Ильина Т.Б.,
Рабинович И.М.,
Кропачев В.А.,
Трухманова Л.Б.
 - Проблемы туберкулеза, 1968, № 4, 74-77.
3. Гублер Е.В.,
Генкин А.А.
 - Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. Л., 1973, 19-127.
4. Западнюк И.П.,
Западнюк В.И.,
Захария Е.А.
 - Лабораторные животные. Киев, 1974, 304
5. Капустянская А.М.,
Шуковская Л.Л.
 - Полимерные производные сульфаниламидов. III-й симпозиум по физиологически активным синтетическим полимерам и макромолекулярным моделям биополимеров, Рига, 1971.
6. Каргин В.А.,
Плате Н.А.
 - Полимеры в медицине.- Вестник АН СССР 1969, 74, 6, 74-78.
7. Ковалёв И.Е.
 - Действие сарколизинсодержащих полимерных соединений на антителообразование и реакцию отторжения аллотрансплантата № III-й симпозиум по физиологически активным синтетическим полимерам и макромолекулярным моделям биополимеров, Рига, 1971, 32-33.

8. Островский М.М.,
Бройтман А.Я.,
Вавилин Г.И.,
Златкина Т.И.,
Кропачёв В.А.,
Рабинович И.М.,
Трухманова Л.Б.
9. Панарин Е.Ф.,
Соловский М.В.,
Полякова М.Т.
10. Першин Г.Н.
11. Рабинович И.М.
12. Рабинович И.М.
13. Рабинович И.М.
14. Реди Н.С.
15. Савельева Н.ИИ
и др.
- Влияние структуры низкомолекулярных и полимерных гидразидов изоникотиновой кислоты, обладающих пролонгированным действием, на их побочную биологическую активность. III-й симпозиум по физиологически активным синтетическим полимерам и макромолекулярным моделям биополимеров, Рига, 1971, 8.
 - Изучение некоторых свойств водорастворимых полимерных производных пенициллинов. - Физиологически и оптически активные полимерные вещества. Рига, 1971, 181-186.
 - Методы экспериментальной химиотерапии. "Медицина", М, 1971.
 - Пути пролонгирования действия лекарственных препаратов. Ж. Всесоюзного химического общества им. Менделеева, 1965, 10, № 6, 687-691.
 - Изучение возможностей пролонгирования действия некоторых химиопрепаратов на основе полимеров. Автореф. канд. дисс., Л., 1966, 70с.
 - Применение полимеров в медицине. Л., 1972, 197с.
 - Синтез и свойства полимерных препаратов противогрибкового антибиотика леворина. - Физиологически и оптически активные полимерные вещества, Рига, 1971, 187-190.
 - О гипотензивных свойствах бета-карболинов, кумаринов и их сополимеров с винилпирролидоном. - Фармакология - здравоохранению. Тезисы IV Всесоюзного съезда фармакологов, Л., 1976, 179-180.

16. Ушаков С.Н. - Синтетические полимеры лекарственного назначения. Л., 1962, 42 с.
17. Ушаков С.Н. - Полимерные лекарственные соединения. - Мед. промышленность, 1963, 17, 8, 5-13.
18. Ушаков С.Н.,
Давиденкова В.В.,
Богомолова Л.Г.,
Чаплыгина З.А.,
Петров И.Р. - О синтезе поливинилпирролидона и его полимеров для плазмозаменяющего раствора. - Акт.вопр.переливания крови, Плазмозамещ.растворы., Л., 1954, 107-111.
19. Филатов А.Н.
(ред.) - Кровезаменители. - Л., 1975, 178 с.
20. Чаплыгина З.А.,
Теодорович В.П.,
Седова Л.А.,
Тхорисевская З.С.,
Михайлова Л.Г. - Изучение свойств некоторых синтетических полимеров и сополимеров с целью выявления их физиологической активности. - Физиологически и оптически активные полимерные вещества. Рига, 1971, 82-88.
21. Шуковская Л.Л.,
Кропачёв В.А.,
Кленин С.И.,
Болотина И.А.,
Чубарова Н.И.,
Беловинцева М.Ф. - Химическая модификация инсулина полимерами. III-й симпозиум по физиологически активным синтетическим полимерам и макромолекулярным моделям биополимеров, Рига, 1971, 39-40.