

Міністерство охорони здоров'я України  
Національний медичний університет /НМУ/  
01004, м.Київ-601, Шевченка, 13  
тел./044/234-69-75; факс (044)234-69-75

УДК: 615.00

КП

№ держреєстрації

Инв. №

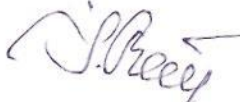


## З В І Т

### ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНИЦЬКУ РОБОТУ

**„Дослідження гепатопротекторної та антитоксичної дії мультинутрієнтної функціональної композиції "Грін Про І" та мультинутрієнтної функціональної композиції "Грін Мікс І".**

Науковий керівник теми,  
зав.кафедри фармакології та  
клінічної фармакології НМУ  
д.м.н. член-кор.НАН і НАМН України  
професор

 І.С.Чекман

2010

## ВСТУП

Починаючи з середини ХХ століття у світі розпочалось інтенсивне дослідження окремих речовин та сполук, які входять у харчові продукти, на біохімічні, фізіологічні та інші процеси в організмі. Одночасно були вивчені та встановлена роль в життєдіяльності мікро- та мікроелементів, вітамінів, жирних кислот. В кінці минулого століття розпочалось вивчення таких активних сполук як рослинні стерини, фітостаноли, фосфоліпіди, антиоксиданти, омега-3 жирні кислоти, флавоноїди, тощо. Описані та вивчені майже 700 компоненті їжі. Поряд з широким застосування цих речовин у якості біологічних добавок до їжі, встановлено, що деякі з них проявляють значний лікувальний ефект, особливо як протектори різних токсичних ускладнень[5,6].

Існуючі способи приготування їжі передбачають в основному використання високої температури, що супроводжується незворотними денатураційними змінами у будові білків, деструкцією або полімеризацією ліпідних утворень, руйнуванням значної кількості вітамінів та іншими небажаними змінами. При потраплянні нутрієнтів після традиційних способів обробки в організм людини зменшується їх засвоюваність як у травній системі, так і на рівні внутрішньоклітинного метаболізму [7,8].

У даному дослідженні вивчались фармакологічні та токсикологічні властивості препаратів муьтинутрієнтної функціональної композиції МНФК, "Грін Про І" та "Грін Мікс І" під загальною назвою "Грінізація", що виробляються фірмою World Grinization System inc. Оригінальна технологія приготування комплексу полягає в багатоступінчатій, низькотемпературній, не ферментативній обробці речовин. При цьому відбувається лише частковий гідроліз нуклеопротеїдних, ліпопротеїдних комплексів, білків з повним збереженням регуляторних пептидних комплексів, їх фізіологічних властивостей, але з втратою органної специфічності. Літературні дані вказують на те, що МНФК "Грінізація" проявляє різноманітний вплив на живий організм і, особливо, на детоксикуючі властивості печінки [9,10].

До складу МНФК "Грінізація" входять натуральні нутрієнти тварин, птахів, морських гідробіонтів: перепелині яйця, білки свинячого та перепелиного м'яса, натуральний кобилячий кумис, спіруліна, ламінарія, кукумарія, омега-комплекс жирів

морських риб, мідійний комплекс, масло обліпихи, льону, зародків пшениці, водні екстракти чабрецю, перцю, хвоща польового, коренів та листків петрушки, часнику; артишок, топинамбур, розторопша п'ятниста, стевія, лецитин, лактулоза, натуральні вітаміни, макро-, мікроелементи у природній (халатній формі).

Великий склад натуральних інгредієнтів не означає, що МНФК "Грінізація" їх проста суміш. "Грінізація" – це формула оптимального співвідношення сполук, що перероблені по спеціальній технології FSF™ (from start to finish) корпорації "WGS".

В технології приготування "Грін Про I" та "Грін Мікс I" відсутні хімічні та термічні фактори деструкції, що забезпечує руйнування білків, жирів та зберегти їх природні властивості.

Технологія технології FSF™ (from start to finish) корпорації "WGS" базується на оригінальному принципі низькотемпературній, багатоступінчатій та багатофазній переробці (ультраподрібнення, гомогенізація, "кавітаційна" переробка, керована "мокра" та "суха" полисепарація, суперсублимація) натуральних продуктів на оригінальному апаратному комплексі "Grin-engine"

Вперше у практиці переробки харчових продуктів застосовані безколекторні високошвидкісні електродвигуни зі швидкістю до 50000 об/хв. Усі необхідні технологічні процеси проходять у одному апаратному комплексі в асептичних умовах, без доступу кисню, що запобігає руйнуванню кінцевого продукту [11].

Відомо, що в Україні різко зростає рівень захворюваності населення на туберкульоз. Використання сучасних протитуберкульозних препаратів, як ефективних, вимагає створення комбінацій з 4-5 препаратів та одночасним збільшенням дози, що призводить до токсичних ускладнень та нівелювання терапевтичної ефективності. Тому вивчення різних речовин, сполук, комплексів, які знижують токсичність різноманітних медикаментів, в тому числі протитуберкульозних, має велику практичну цінність.

Тому вивчення властивостей МНФК "Грінізація" має важливе теоретичне і практичне значення.

## 1. Матеріали та методи дослідження.

Об'єктом токсикологічних досліджень гострої токсичності була мультинутриєнтна функціональна композиція МНФК, "Грін Про І" та "Грін Мікс І" під загальною назвою "Грінізація, а також протитуберкульозні препарати ізоніазид та рифампіцин. Утримання, годування, спостереження, евтаназію тварин виконували згідно методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України.

Для вивчення гострої токсичності були вибрані 60 мишей лінії СВА/С57В16F<sub>1</sub> масою тіла  $21,4 \pm 0,5$  та 60 білих щурів обох статей лінії Вістар масою тіла 150-180 г, яких утримувались на стандартному раціоні віварії Національного медичного університету (м.Київ). Тварини мали вільний доступ до води та їжі протягом всього експерименту.

Після 14 денного карантину досліджували гостру токсичність вищезгаданих препаратів відповідно методичним рекомендаціям ДФЦ МОЗ України після внутрішньошлункового введення через зонд [68]. Застосовували токсикологічні, фармакологічні, методи дослідження. Визначення гострої токсичності проводили по методу В.Б Прозоровського [69]. Про токсичність препарату судили по виживаємості тварин, зовнішньому вигляді та по поведінці тварин а також по зміні маси тіла і зміні ваги внутрішніх органів. Статистичну обробку отриманих даних проводили з визначенням критерію Ст'юдента [72]. Для оцінки вірогідності отриманих результатів прийняли рівень значимості  $P < 0,05$ . Для визначення детоксикуючої функції печінки вивчали тривалість тіопенталового сну на щурах (40 тварин). Тварини були розділені на 4 групи: інтактні, яким вводили фізіологічний розчин, та 3 групи, яким попередньо протягом вводили МНФК в малій, середній та великій дозі. Тіопентал-натрію вводили в дозі 20 мг/кг внутрішньоочередово. Тривалість тіопенталового сну визначали у хвиликах. За пробудження приймали стан тварини, коли вона виходила з бокового положення.

Про вплив препарату на загальну працездатність щурів робили висновок на основі проби плавання, визначаючи час плавання в хвиликах з вагою, яка становить 10 % маси тіла у ванночці з водою при  $t^{\circ} - 28^{\circ} - 30^{\circ} \text{ C}$  [3]. Вивчення стану загальної працездатності тварин дає можливість винести оцінку про діяльність усіх органів і систем. Збільшення показників плавальної проби свідчить про збалансоване функціонування усіх органів і систем організму тварин. Тварини були розділені на 4 групи: інтактні, яким вводили фізіологічний розчин, та 3 групи, яким попередньо протягом вводили МНФК в малій, середній та великій дозі.

Отримані експериментальні данні оброблені статистично за [4] з визначенням критерію Стьюдента методом варіаційної статистики.

## **2. Результати експериментальних досліджень**

### **2.1 Вивчення впливу (МНФК) "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на гостру токсичність ізоніазиду та рифампіцину.**

Дослідження виконані згідно з вимогами [1]. Вивчення впливу (МНФК) "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на гостру токсичність ізоніазиду та рифампіцину проведені на 54 мишах(по 6 у кожній групі), масою 18-22 г лінії СВА/С57В16F<sub>1</sub>, обох статей, які утримувались на стандартному раціоні віварію Національного медичного університету. Для визначення протекторного впливу (МНФК) "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на токсичність ізоніазиду та рифампіцину застосовували метод В.Б.Прозоровського [1]. Визначали ДЛ<sub>50</sub> та ступінь її помилки за спеціальними таблицями. (МНФК) "Грін Про І" та "Грін Мікс І", ізоніазид та рифампіцин вводились мишам внутрішньошлунково спеціальним зондом. Тварини були розділені на такі групи: інтактні, яким вводився фізіологічний розчин, 2 контрольні групи, яким вводився ізоніазид та рифампіцин в токсичних дозах однократно та 6 дослідних груп, яким попередньо перед введенням ізоніазиду та рифампіцину на протязі 10 днів вводився МНФК "Грінізація" в різних дозах:

2 групам по 6 тварин - МНФК "Грін Про І" в дозі 200 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 150 мг/кг (мала доза); 2 групам по 6 тварин водився МНФК "Грін Про І" в дозі 400 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 300 мг/кг(середня доза) та 2 групи по 6 тварин, яким вводився МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг(велика доза). Перед введенням порошок та суспензія змішувались та розводились дистильованою водою до необхідної концентрації. Усі лабораторні тварини що вижили (по всіх групах), спостерігалися протягом двох тижнів.

Таблиця 1.1

**Гостра токсичність ізоніазиду в експериментах на білих мишах**

Доза ізоніазиду, мг/кг	Кількість тварин	Кількість тварин, що загинули	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
160	6	1	208(160÷280)
200	6	3	
250	6	3	
320	6	6	

Таблиця 1.2

### Гостра токсичність рифампіцину в експериментах на білих мишах

Доза ізоніазиду, мг/кг	Кількість тварин	Кількість тварин, що загинули	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
800	6	1	1120(850÷1480)
1000	6	2	
1300	6	3	
1600	6	5	

Результати вивчення гострої токсичності ізоніазиду при попередньому щоденному внутрішньошлунковому протягом 10 днів введені МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" в різних дозах представлені в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

### Вплив попереднього введення у різних дозах МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на гостру токсичність ізоніазиду в експериментах на мишах

Доза ізоніазиду, мг/кг	Кількість тварин	Кількість тварин, що загинули	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
МНФК "Грін Про І" в дозі 200 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 150 мг/кг			
160	6	1	228 (170÷290)
200	6	2	
250	6	3	
320	6	6	
МНФК "Грін Про І" в дозі 400 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 300 мг/кг			
200	6	0	238 (190÷290)

250	6	2	
320	6	3	
400	6	5	
МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг			
200	6	1	248 (200÷300)
250	6	2	
320	6	2	
400	6	4	

У разі попереднього профілактичного введення МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" в різних дозах на токсичність ізоніазиду встановлено, що захисний індекс МНФК в малих дозах становить 1,09, у середніх - 1,14, у великих - 1,19.

Результати попереднього профілактичного введення МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на токсичність ріфампіцину представлені у таблиці 1.4

Таблиця 1.4

**Вплив попереднього введення у різних дозах МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на гостру токсичність ріфампіцину в експериментах на мишах**

Доза ріфампіцину, мг/кг	Кількість тварин	Кількість тварин, що загинули	ДЛ <sub>50</sub> , мг/кг
МНФК "Грін Про І" в дозі 200 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 150 мг/кг			
800	6	1	1228 (1040÷1140)
1000	6	2	
1300	6	3	
1600	6	6	
МНФК "Грін Про І" в дозі 400 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 300 мг/кг			
1000	6	0	1296 (1010÷1800)
1300	6	1	
1600	6	3	
2000	6	5	
МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг			

1000	6	1	1320 (1100÷1550)
1300	6	2	
1600	6	2	
2000	6	4	

У разі попереднього профілактичного введення МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" в різних дозах на токсичність рифампіцину встановлено, що захисний індекс МНФК в малих дозах становить 1,13, у середніх - 1,14, у великих - 1,18.

Таким чином, проведені дослідження також показали, що захисний ефект МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" як при інтоксикації ізоніазидом, так і при інтоксикації рифампіцином був дозозалежним. Зі збільшення доз підвищується і захисний індекс МНФК. В максимальних дозах показник захису при інтоксикації ізоніазидом зростає на 19% , а при інтоксикації рифампіцином на 18%.

У тварин, які вижили, протягом 14 діб спостереження рефлекторна активність не була порушена, вони були активними, не спостерігалось зміни частоти дихання, серцева діяльність зберігалась в нормі, екскреція, приймання води і їжі не змінювались. У тварин, яким вводили рифампіцин з часом і зникла забарвленість слизових та випорожнень.

## **2.2. Вивчення детоксикуючої функції печінки за тривалістю тіопенталового сну.**

При введенні ізоніазиду через 3-6 годин у контрольній групі тварин проявились ознаки інтоксикації: у частина тварин порушилась координація рухів, спостерігались різкі пересування тварин по клітці, тварини не втримувались на верхній металевій сітці. Після появи судомних посмикувань лапок та хвоста спостерігалась загальна загальмованість, тварини не реагували на звукові подразнення. Дихальні рухи рідшали та поступово припинялись. На секції загиблих тварин макроскопічно ознак уражень органів не відмічено. Поведінка та смерть тварин при введенні ізоніазиду та рифампіцину суттєво не різнилась. Але відмічено зміну кольору слизових оболонок під впливом рифампіцину. Випорожнення також набували оранжевого

кольору. Результати гострої токсичності ізоніазиду та рифампіцину наведені в таблицях 1.1 та 1.2.

Антитоксичну функцію печінки оцінювали по тривалості тіопенталового сну. Тіопентал-натрію вводили внутрішньочеревинно в дозі 20 мг/кг. Отриманні данні, які приведені у таблиці вказують на те, що порівняно з контролем тривалість тіопенталового сну зменшується при малій дозі на 53%, при введенні середніх доз на 62 % і при введенні у великих дозах ("Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг) тварини не спали взагалі. Поведінка тварин була загальмовано, не агресивна, та вони швидко виходили з бокового положення. Тобто при попередньому введенні МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" навіть у малих дозах достовірно зростають показники гепатопротекторної функції печінки – а саме тривалість тіопенталового сну.

Таблиця 2.1

**Вплив попереднього введення у різних дозах МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на тривалість тіопенталового сну в експериментах на щурах**

№ з/п	Умови експерименту (n=10)	Тривалість тіопенталового сну
1	Контрольна група	32±3 хв
2	МНФК "Грін Про І" в дозі 200 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 150 мг/кг	15±2 хв*
3	МНФК "Грін Про І" в дозі 400 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 300 мг/кг	12±6 хв *
4	МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг	Не заснули

**2.3. Вивчення толерантності до фізичного навантаження під впливом попереднього введення МНФК "Грінізація" ,**

Відомо, що толерантність до фізичного навантаження чітко корелює з інтенсивністю відновлюваних процесів, що відбувається в живому організм при різних патологічних станах, наприклад, гіпоксії. Поліпшення загальної працездатності організму є непрямым відображення функціонального стану серцевого м'яза,

дихального апарату, стану печінки, ефективності процесів енергетичного обміну у м'язах та швидкості накопичення макроергічних сполук.

Одним з найбільш доступних та легко створюваних видів фізичного навантаження у лабораторних тварин є плавальна проба. Саме тому, з метою оцінки фізичної витривалості щурів та загального стану організму під впливом попереднього введення МНФК "Грінізація" у різних дозах досліджували толерантність до фізичного навантаження, використовуючи плавальну пробу.

Таблиця 1.6

**Вплив попереднього введення у різних дозах МНФК "Грін Про І" та "Грін Мікс І" на тривалість плавальної проби в експериментах на щурах**

№ з/п	Умови експерименту (n=10)	Тривалість плавальної проби хв
1	Контрольна група	16,0 ± 4,1
2	МНФК "Грін Про І" в дозі 200 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 150 мг/кг	24,0 ± 3,6*
3	МНФК "Грін Про І" в дозі 400 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 300 мг/кг	25,0 ± 3,8*
4	МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг	26,0 ± 4,7*

Як видно з даних, які представлені у таблиці 1.6 середня тривалість плавальної проби у контрольної групи становить 16,0 ± 4,1 хв. Попереднє профілактичне ведення МНФК "Грінізація" в різних дозах достовірно збільшує загальну працездатність експериментальних тварин (у малих дозах приріст становить 50%). Але дозо залежного ефекту не відмічено. Приріст тривалості плавальної проби при попередньому профілактичному введенні МНФК "Грінізація" у великих дозах становить 62%.

## **Висновки.**

1. Попереднє, профілактичне введення МНФК "Грінізація" зменшує токсичність протитуберкульозних препаратів (ізоніазид, рифампіцин). Захисний індекс для обох препаратів при введенні МНФК у великих дозах становить 1,18-1,19, тобто токсичність протитуберкульозних препаратів (ізоніазид, рифампіцин) зменшується на 1/5.

2. МНФК "Грінізація" при попередньому введенні покращує детоксикуючу активність печінки. При вивченні тіопенталової проби виявили протекторний дозозалежний ефект МНФК "Грінізація". У великій дозі (МНФК "Грін Про І" в дозі 600 мг/кг та "Грін Мікс І" в дозі 450 мг/кг) тварини практично не спали, що вказує на значну гепатопротекторну дію комплексу "Грінізація".

3. При попередньому введенні МНФК "Грінізація" збільшується загальна працездатність експериментальних тварин. Даний показник зростає на 50-60% порівняно з інтактними тваринами.

4. Проведенні дослідження є підставою для подальшого клінічного вивчення МНФК "Грінізація" у якості препаратів, що зменшують негативну дію основних протитуберкульозних препаратів, та у якості гепатопротекторів для покращення детоксикуючої функції печінки.

## Посилання.

1. Доклиническое исследование лекарственных средств (методические рекомендации): под ред. Член-кор. АМН Украины А.В. Стефанова – К.: Авицена, 2002.- 568 с.
2. Прозоровский В.Б. Табличный экспресс метод определения средних эффективных мер воздействия на биологические объекты // Токсикол. вести – 1998.- №1.- С.28-32.
3. Сперанський С.В.//Фармакол. И токсикоз.-1965.-№1.-С.123-124
4. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. - Л.: Медгиз, 1963. С. 152.
5. Зайцева Н.Е. Использование мультинутриентных функционально-пептидных комплексов в реабилитации больных хроническим гепатитом // Зайцева Н.Е., Малолетняя С.В., Линник Н.И.// Аллергология и иммунология (Россия, Москва). – Том 7, №1, 2006. – С.103
6. Мясоедов Д.В. О показаниях к использованию мультинутриентных функционально-пептидных комплексов в целях коррекции метаболических нарушений у больных злокачественными образованиями // Мясоедов Д.В., Линник Н.И., Гребиник Н.Н.//Аллергология и иммунология (Россия, Москва). – Том 7, №1, 2006. – С.123
7. Myasoedov D.V.. About recommendations concerning the use of the multi nutrient functional peptide complex for the purpose of correction of the metabolic disorders in the patients with cancerous (Malignant) formations // Myasoedov D.V., Linnik N.I., Grebinyk N.N. // International Journal on Immunorehabilitation. (Tenerife, Canady Island, Spain). – Vol. 8, №1, 2006
8. Bulavka A.V. The possibilities of use of «Grinization» multivitamin functional peptide complex to prevent ageing // Bulavka A.V., Linnik N.I., Boyko O.G. // Rejuvenation Research Journal (Queens' College, Cambridge, England). – Vol. 10, 2007, № 3 – S-19, S-53.
9. Лисяный Н.И. Изучение возможности иммунокоррекции путём улучшения метаболических процессов// Лисяный Н.И., Печенка А.М., Лисяный А.Н., Булавка А.В., Потапова А.И. // "Нейроиммунология" (Россия, Санкт-Петербург). – Том 7, №1, 2009. – С. 20.
10. Lozitsky V. Anti-influenza action of multi-nutrient functional peptide complex (MFPC) «Grinization» // Lozitsky V., Gomolyako I., Pozdnyakov S., Fedchuk A., Gridina T., Socheslo L., Pushkina V., Klochkova N., Shestakov V. // Antiviral research (San-Francisco, California, USA).– Vol. 86
11. Byelyayeva V. New Therapeutic Approaches in treatment of Chronic Pancreatitis (CP) on the background of obesity// Journal of the Japan Pancreas Society (Japan, Fukuoka). – 2010, Vol.25, №3, pp. 76.