



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **85548** (13) **C2**
(51) **МПК (2009)**
A61K 36/87 (2006.01)
A61P 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ЗАСТОСУВАННЯ ВОДНОГО ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ЧЕРВОНОГО ВИНОГРАДУ ДЛЯ ПОПЕРЕДЖЕННЯ АБО ЗАТРИМКИ ПЕРЕХОДУ ВІД КЛІНІЧНО НЕЗНАЧНИХ РАНИХ СТАДІЙ ДО I, II АБО III СТАДІЇ ХРОНІЧНОЇ ВЕНОЗНОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

1

2

(21) a200507494
(22) 12.12.2003
(24) 10.02.2009
(86) PCT/EP2003/014147, 12.12.2003
(31) 02029107.6
(32) 31.12.2002
(33) EP
(46) 10.02.2009, Бюл.№ 3, 2009 р.
(72) ЕСПЕРЕСТЕР АНКЕ, ШАЕФЕР ЕКХАРД, ЗАХЕР ФРИТЦ, КІЗЕВЕТТЕР ХОЛЬГЕР
(73) БЬОРИНГЕР ІНГЕЛЬХАЙМ ІНТЕРНАЦІОНАЛЬ ГМБХ
(56) FR 2276059 A, 23.01.1976
GB 934554 A, 21.08.1963
WO 01/28363 A, 26.04.2001
KIESEWETTER H ET AL: "EFFICACY OF ORALLY ADMINISTERED EXTRACT OF RED VINE LEAF AS 195 (FOLIA VITIS VINIFERAE) IN CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY (STAGES I-II) A RANDOMIZED, DOUBLE-BLIND, PLACEBO-CONTROLLED TRIAL" ARZNEIMITTEL FORSCHUNG. DRUG RESEARCH, EDITIO CANTOR. AULENDORF, DE, vol. 50, no. 2, 2000, pages 109-117
(57) 1. Застосування водного екстракту листя червоного винограду для приготування фармацевтичної або дієтичної композиції для попередження або затримки переходу від клінічно незначних ранніх стадій хронічної венозної недостатності (ХВН) до I, II або III стадії ХВН, де застосування включає введення ефективної кількості особі, яка цього потребує.
2. Застосування за п.1, у якому композиція є формою, придатною для перорального введення.
3. Застосування за п.1 або 2, у якому зазначений екстракт листя червоного винограду містить 2-20% флавоноїдів.
4. Застосування за п.3, у якому зазначений екстракт листя червоного винограду містить 2-10% флавоноїдів.
5. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому флавоноїди містяться в діапазоні від 0,1 до 15% від загальної маси композиції.

6. Застосування за п.5, у якому флавоноїди містяться в діапазоні від 1 до 10% від загальної маси композиції.
7. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому зазначений екстракт листя червоного винограду міститься в діапазоні від 1 до 90% від загальної маси композиції.
8. Застосування за п.7, у якому зазначений екстракт листя червоного винограду міститься в діапазоні від 1 до 70% від загальної маси композиції.
9. Застосування за п.5, у якому зазначений екстракт листя червоного винограду міститься в діапазоні від 1 до 50% від загальної маси композиції.
10. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому композиція знаходиться у формі, що придатна для таблеток з плівковим покриттям або капсул.
11. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому композиція вводиться в дозах, що відповідають від 80 до 1000мг екстракту на добу.
12. Застосування за п.11, у якому композиція вводиться в дозах, що відповідають 300-800мг екстракту на добу.
13. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому кількість екстракту розділена на 1-3 таблетки з плівковим покриттям на добу.
14. Застосування за будь-яким з попередніх пунктів, у якому водний екстракт листя червоного винограду одержують способом, що включає стадії:
(а) збір листя червоного винограду під час оптимально високого вмісту флавоноїдів;
(б) висушування та подрібнювання листя;
(в) розрізання листя на шматочки;
(г) екстрагування листя водою при підвищеній температурі впродовж 6-10год;
(д) необов'язкове концентрування одержаного екстракту.
15. Застосування за п.14, у якому листя на стадії (г) екстрагують водою при температурі від 60 до 80°C.

C2
(13)

85548
(11)

UA
(19)

Винахід стосується способу покращення кровообігу і/або постачання киснем нижніх кінцівок.

Хронічна венозна недостатність (ХВН) є прогредієнтним захворюванням й у багатьох пацієнтів приводить, особливо при відсутності лікування, до набряків, вінцевої флебектазії (стадія I за Widmer), гіперпігментації, індурації, ліподерматосклерозу, білої атрофії шкіри (стадія II за Widmer) або варикозних виразок ніг (стадія III за Widmer). Гемодинаміка глибоких і поверхневих вен, що порушується хронічно через обструкцію венозних сегментів або недостатність клапанів звичайно приводить до шкірних захворювань на внутрішній стороні щиколоток. Розлад мікроциркуляції в шкірі, як передбачається, є основною причиною змін у шкірі, пов'язаних із хронічною венозною гіперволемією та підвищеним венозним кров'яним тиском [Int Angiol 14, 1995, сс.18-22.; Int J Microcirc 16, 1996, сс.259-265].

Очевидно, що шкірна мікроангіопатія клінічної значимості, наприклад, розширені, звивисті капіляри, оточені мікро-набряками, сприяє ураженням шкіри в нижніх кінцівках і визначає курс ХВН [Int Angiol 14, 1995, сс.18-22; Int J Microcirc 16, 1996, сс.259-265].

Застосування лазерного доплерівського методу при венозних розладах добре проілюстровано [Microvasc Res 58, 1999, сс.83-88; World J Surg 12, 1988, сс.724-731].

Були розроблені різні способи дослідження мікроциркуляції у двох функціонально різних шарах шкіри: більш глибокому, переважно теплорегулюючому шарі, та поверхневому живильному шарі. Порушення мікроциркуляції в поверхневому живильному шарі вкрай важливі для трофічних змін у шкірі [World J Surg 12, 1988, сс.724-731; Eur J Clin Invest 29, 1999, сс.708-716].

[У патенті GB 934554] описано, що капілярна резистентність у морських свинок, що страждають від недостачі вітамінів, може бути підвищена шляхом внутрішньочеревного введення спиртового екстракту виноградної лози.

[У заявці на патент WO 01/28363] описаний спосіб попередження або зменшення дискомфорту, що пов'язаний із слабкою або середньою хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок, за допомогою водних екстрактів лози червоного винограду.

У ході клінічних досліджень несподівано було виявлено, що мікроциркуляція та постачання киснем переважно порушуються в області щиколоток у пацієнтів із ХВН і можуть істотно покращитись в результаті перорального введення водних екстрактів лози червоного винограду.

У зв'язку з цим, даний винахід стосується способу посилення кровообігу і/або доставки кисню до нижніх кінцівок, у якому передбачене введення ефективної кількості фармацевтичної або дієтичної композиції, що містить водний екстракт лози червоного винограду, суб'єкту, що потребує цього.

Іншим об'єктом даного винаходу є спосіб попередження змін у шкірі, включаючи попередження появи кров'яних згустків у венах або запальних реакцій у малих судинах, асоційованих із хроні-

чною венозною недостатністю, хронічною венозною гіперволемією і/або підвищеного венозного кров'яного тиску в нижніх кінцівках; спосіб включає введення ефективної кількості фармацевтичної або дієтичної композиції, що містить водний екстракт лози червоного винограду, суб'єкту, що потребує цього.

Даний винахід також стосується способу попередження або затримки переходу від клінічно несуттєвих ранніх стадій хронічної венозної недостатності (ХВН) до стадій ХВН I, II або III; спосіб включає введення ефективної кількості фармацевтичної або дієтичної композиції, що містить водний екстракт лози червоного винограду суб'єкту, що потребує цього.

Фіг.1 показує схему проведеного клінічного дослідження.

Фіг.2 показує вплив екстракту лози винограду на мікроциркуляцію, яка вимірюється лазерною доплерівською флоуметрією (ЛДФ 10-37 кГц).

● 360мг AS195

○ плацебо.

Фіг.3 показує вплив екстракту лози винограду на черезшкірний парціальний тиск кисню (pO₂).

● 360мг AS195

○ плацебо.

Композиція відповідно до даного винаходу переважно містить рослинні інгредієнти, які одержані шляхом водної екстракції лози червоного винограду (*folia vitis viniferae*; *Extractum Vitis viniferae e folium spissum et siccum*) та придатний носій. Такий екстракт містить флавоно(ол)-глікозиди, -глюкуроніди та флавоноїди, серед яких основними активними інгредієнтами є кверцетин-3-О-β-D-глюкуронід та ізокверцитрин (кверцетин-3-О-β-глюкозид). Діапазон їх фармакологічної активності ще повністю не з'ясований, але в дослідженнях *in vitro* встановлено, що вони мають антиоксидантні та протизапальні властивості та інгібують агрегацію тромбоцитів і гіалуронідазу, а також зменшують набряклість, можливо за рахунок зниження проникності капілярів. Передклінічні експерименти *in vivo* виявили протизапальну дію і дію, спрямовану на потовщення стінок капілярів.

У кращому варіанті здійснення даного винаходу композиція представлена у формі, придатній для перорального введення, зокрема у твердій дозовій формі, наприклад, у формі капсули або таблетки, і містить від 20 до 60% водного екстракту лози червоного винограду з високим вмістом флавоноїдів - 2-15%. Іншою кращою дозовою формою є краплі, що містять від 3 до 90% екстракту. Також прийнятними формами для введення можуть бути таблетки з покриттям, сиропи і т.п. Найбільш кращими є капсули та таблетки з плівковим покриттям.

Враховуючи вищесказане, основним об'єктом даного винаходу є композиція для попередження хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок у слабкій або помірній формі, а також для зниження пов'язаного з нею дискомфорту.

Також об'єктом даного винаходу є композиція для попередження слабкої або помірної форми

хронічної венозної недостатності нижніх кінцівок і/або зниження пов'язаного з нею дискомфорту, що включає рослинні інгредієнти; композицію одержують відповідно до контрольованого процесу, що дозволяє зберегти цілющі властивості рослинних інгредієнтів.

Ще одним об'єктом даного винаходу є композиція, що попереджує і/або зменшує дискомфорт, пов'язаний із хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок у слабкій або помірній формі.

Крім того, об'єктом даного винаходу є композиція, що попереджує і/або зменшує дискомфорт, пов'язаний із хронічною венозною недостатністю нижніх кінцівок у слабкій або помірній формі, що включає рослинні інгредієнти й має мінімальні побічні ефекти, або не має їх, і тому безпечна для прийому усередину.

Основне завдання даного винаходу полягає в приготуванні композиції для перорального введення, що містить водний екстракт, приготовлений із сухих листя червоного винограду. Сухе листя винограду містить велику кількість біологічно активних флавоноїдів - від 2 до 20%, переважно від 2 до 10%.

У контексті даного винаходу поняття «суб'єкт, що потребує цього» означає суб'єкта, у якого є присутнім хронічна венозна недостатність (ХВН) на ранній, що клінічно не оцінюється як значима, стадії - I або II за Widmer. Як правило, такі пацієнти є дорослими людьми у віці від 30 до 80 років, краще від 32 до 76 років, середній вік становить (\pm середньоквадратичне відхилення) $55,2 \pm 7,7$ років.

Для більш докладного пояснення даного винаходу нижче приводяться приклади. Ці приклади приводяться тільки як ілюстрації варіантів здійснення даного винаходу та не призначені для будь-якого обмеження його меж.

Приклади, що далі приводяться, є ілюстративними і, за рішенням спеціаліста в даній галузі, конкретні умови можуть бути модифіковані, якщо, щодо окремих композицій, у цьому є потреба. Матеріали, що використовуються в тестах, які нижче приводяться, або комерційно доступні, або можуть бути легко приготовлені спеціалістом у даній галузі з комерційно доступних матеріалів.

Основу композиції складає водний екстракт листя червоного винограду (*foliae Vitis viniferae* L.). Листя червоного винограду, що є вихідним матеріалом для приготування екстракту, збирають під час оптимального вмісту флавоноїдів. Звичайно цей час збігається зі збором винограду. Листя ретельно висушують, і подрібнюють. Для екстракції листя ріжуть на шматочки, розмір яких переважно становить від 5 до 10 мм. Для досягнення високого вмісту флавоноїдів екстракцію проводять при підвищеній температурі, краще при температурі від 60° до 80° , впродовж, щонайменше, від 6 до 10 год. Кращим є спосіб, що дозволяє здійснювати повну екстракцію.

Одержуваний у ході екстракції так називаний рідкий екстракт можна безпосередньо використовувати для приготування рідких дозових форм. Для того, щоб одержати більш концентрований екстракт, бажано видаляти частину розчинника шляхом використання прийнятної випарника.

Густий екстракт, одержуваний на цій стадії, також можна безпосередньо використовувати для приготування рідких дозових форм.

Для приготування твердих дозових форм густий екстракт висушують, наприклад, за допомогою камерного вакуумного сушіння або вакуумного конвеєра для висушування. Носії або ексципієнти можуть додаватися в ході сушіння для поліпшення подальшої переробки екстракту. Такими носіями або ексципієнтами можуть бути діоксид кремнію, мальтдекстрин, глюкозний сироп, целюлоза та ін.

Композицію для перорального введення одержують за допомогою звичайних технологій, що застосовуються у харчовій і фармацевтичній промисловості. Кращими формами для введення є таблетки, включаючи таблетки з покриттям, або капсули. Однак також можуть застосовуватися рідкі препарати, краще краплі.

Найбільш кращими є таблетки з плівковим покриттям, що містять від 300 до 500 мг, краще від 320 до 400 мг, найбільш краще приблизно 360 мг висушеного водного екстракту листя червоного винограду (4-6:1) (*extractum vitis viniferae foliae aquosum siccum*) і наступні ексципієнти: гіпромелоза, тристеарат гліцерину, діоксид титану (E171), тальк, червоний оксид заліза (E172), мікрокристалічна целюлоза, кроскармелоза натрію, кальцій фосфорнокислий двозаміщений (безводний), колоїдний кремній (безводний), стеарат магнію.

У тексті даного винаходу нижче таблетки з плівковим покриттям називаються «AS 195».

Для посилення кровообігу і/або доставки кисню до нижніх кінцівок композицію слід застосовувати в дозах, що містять від 80 до 1000 мг екстракту, краще 300-800 мг, найбільш краще 350-750 мг на добу. Загальна добова кількість екстракту може бути представлена в складі від 1 до 3 капсул або таблеток (або у вигляді еквівалентної дози в рідкій формі). Добову дозу слід застосовувати однократно, краще ранком.

Виражене покращення симптомів можна очікувати не пізніше ніж через 6 тижнів постійного застосування. Оптимальний результат досягається або підсилюється при більш тривалому застосуванні.

Методи

Пацієнти

Залучалися чоловіки та жінки у віці 18 років і більше з установленим діагнозом ХВН або ХВН I за Widmer, підтвердженням не менше року тому. Супутніх істотних захворювань не було. Не залучалися пацієнти, які застосовують лікарські засоби для поліпшення симптомів ХВН впродовж 4 тижнів або які лікувалися теофіліном, діуретиками, серцевими глікозидами, інгібіторами ангіотензінконвертуючого ферменту (АКФ) або антагоністами кальцію впродовж 8 діб до першого дослідження. Компресійний биндаж або супутня терапія при хворобах вен були заборонені під час участі в дослідженні.

Схема та методи

Було проведено подвійним сліпим методом рандомізоване з плацебо-контролем перехресне дослідження на основі принципів Гельсінської де-

кларації та Міжнародної конференції з гармонізації сумлінної клінічної практики.

Кожен пацієнт бере участь у дослідженні впродовж 17 тижнів: один тиждень лікарські засоби не приймають (приймають плацебо), потім 6 тижнів займає період лікування (в 1 групі починають приймати AS 195, в 2 групі починають приймати плацебо), впродовж наступних 4 тижнів лікарські засоби не приймають (приймають плацебо) і потім впродовж 6-тижнів триває другий період лікування (в 1 групі продовжують приймати плацебо, в 2 групі AS 195).

AS 195 (таблетки з плівковим покриттям, що містять по 360мг сухого екстракту листя червоного винограду) або таблетки плацебо беруть по рандомізованій схемі у вигляді однократної дози, що приймається вранці. Таблетки обох типів ідентичні за розміром, формою, вагою, виглядом внутрішнього вмісту та смаку.

Для лазерної доплерівської флоуметрії устаткування було поставлено фірмою LMТВ, Берлін, Німеччина (Lasemedizin 12, 1996, сс.163-171). Устаткування являє собою оснащений комп'ютером мобільний блок із частотою генерації лазера 785нм. Лазерний зонд фіксують на внутрішній поверхні щиколотки найбільш ураженої ноги на відстані 3,5см. Для адаптації до кімнатної температури пацієнти сидять впродовж 30хв., потім стоять впродовж 10хв., після чого починають проводити вимірювання (256 точок вимірювань, тривалість вимірювань: приблизно 0,4сек.). Відбите світло поглинається двома діодами в діапазоні частот між 0,2 та 37,2кГц. Дані обробляються за допомогою швидкого перетворення Фур'є. У підсумку забезпечується пропускну здатність частот у діапазоні від 0,2 до 10,0кГц для судин ретикулярного венозного сплетення (більші, переважно теплорегулюючі, судини з діаметром більше ніж 30мкм) і в діапазоні частот від 10,1 до 37,2кГц для капілярів у підсосочковому венозному сплетенні (поверхневі малі живильні судини діаметром від 6 до 30мкм).

Черезшкірний тиск кисню (ptO₂) вимірюють, використовуючи модифіковані полярографічні електроди Кларка, що містять катоди із благородного металу та аноди з срібла/хлориду срібла (TCM 3, фірма Radiometer Copenhagen, Brønshøj, Данія). Нагрівальний елемент, що знаходиться рядом з анодом, підтримує температуру тіла 43°C. При цій температурі артеріоли максимально розширені, ptO₂ наближається до ptO₂ артеріальний крові (World J Surg 12, 1988, сс.724-731).

Електрод приєднують до поверхні шкіри за допомогою сполучного кільцевого пристрою, запов-

неного фізіологічним розчином, на відстані 3,5см від лазерного доплерівського зонда. Для адаптації до кімнатної температури пацієнти сидять впродовж 30хв., потім стоять впродовж 10хв., після чого починають проводити вимірювання. Вимірювання займають приблизно 15хв. Значення ptO₂ виражають у мм ртутного стовпчика (мм.рт.ст.). Нормальні значення для верхньої поверхні стопи пацієнтів, що не мають ХВН, варіюються у діапазоні від 40 до 80мм.рт.ст.

Локальна температура тіла вимірюється за допомогою терморезистора, що закріплюється поруч із електродом кисню в області щиколотки. Для мінімізації ефектів шкірної перфузії вимірювання лазерної доплерівської флоуметрії (ЛДФ) та ptO₂ проводять при локальній температурі шкіри в діапазоні від 28 до 32°C.

Окружності ікр і щиколоток вимірювали за допомогою сантиметра. Вимірювання щиколотки проводять у латеральному та медіальному напрямках, ікру заміряють посередині.

Суб'єктивні симптоми ХВН (утомлені важкі ноги, почуття напруженості, почуття поколювання та біль) вимірюють, використовуючи умовну шкалу в 10см, за якою 0см означає «зовсім ні», а 10см означають «дуже сильно».

В цілому ефективність лікування оцінюється пацієнтами та дослідниками за 4-бальною умовною шкалою (гарна, задовільна, незадовільна та погана) наприкінці кожного періоду лікування.

Загальна переносність оцінюється пацієнтами та дослідниками за 4-бальною умовною шкалою (гарна, задовільна, незадовільна та погана). При кожному візиті пацієнтів опитують про самопочуття в загальних термінах.

Лабораторні захисні обстеження (гематологічні, клінічної біохімії та аналіз сечі) і загальний фізичний стан визначають під час дослідження двічі. Кров'яний тиск і пульс при сидінні у положенні пацієнта визначають при кожному візиті.

Результати

Сімдесят один пацієнт, жінки та чоловіки у віці від 32 до 76 років, у яких була виявлена ХВН I та II стадії за Widmer, включені в дослідження. Середній вік (\pm середньоквадратичне відхилення) становить 55,2 \pm 7,7 років; 55 жінок та 16 чоловіків. Флебологічний статус показує помірний або важкий варикоз в 47 (67,1%), пігментацію в 27 (38,6%), набряк щиколоток в 26 (37,1%) і набряк ніг в 25 (35,7%) пацієнтів. Слабкі ознаки атрофії спостерігаються в 13 пацієнтів (18,6%), випадків екземи не було (Табл. 1).

Таблиця 1

Демографічні і показники та вихідний рівень ХВН

	AS 195/плацебо (n=36)	Плацебо/AS 195 (n=35)
Безперервні випадкові величини (середнє значення (область значень, що замірюються))		
Вік (у роках)	66 (32-76)	66 (37-76)
Ріст (см)	168(150-186)	165(150-191)
Вага (кг)	76,5 (48-97)	73 (55-120)
Індекс маси тіла (кг/м ²)	27,6 (20,6-32,0)	26,7(20,1-42,5)
Систолічний тиск (мм.рт.ст.)	130(100-150)	135 (120-140)
Діастолічний тиск (мм.рт.ст.)	80 (60-90)	80 (65-90)

Продовження таблиці 1

Категорійні змінні (п(%))		
Жінки	24 (66,7)	31 (88,6)
Що курять	4(11,1)	1 (2,9)
Стадія ХВН		
I стадія	26 (72,2)	23 (65,7)
II стадія	10 (27,8)	12 (34,3)
Флебологічний статус (помірний або важкий)		
Варикоз	26 (72,2)	22 (62,9)
Пігментація	11 (30,6)	17 (48,6)
Атрофія	0 (0,0)	0 (0,0)
Екзема	0 (0,0)	0 (0,0)
Набряк щиколоток	13 (36,1)	14 (40,0)
Набряк нижніх кінцівок	12 (33,3)	14 (40,0)

Один 76-літній чоловік помер від серцевого нападу під час гри в теніс (одержував плацебо). Цей пацієнт був виключений з дослідження. У пацієнтів, що залишилися, не було зафіксовано порушень протоколу. Таким чином, всі 70 пацієнтів, що залишилися, продовжили дослідження (Фіг.1). Виходячи з характеристик пацієнтів, вони були рівномірно розподілені на дві групи (1 група та 2

група), за винятком половової ознаки (12 чоловіків у групі 1, 4 чоловіків у групі 2) (табл. 1). Вихідні показники для лазерних доплерівських параметрів, черезшкірної оксиметрії та суб'єктивні симптоми зіставляють для групи 1 і групи 2 (табл. 2). Відповідність становила приблизно 100% в обох серіях лікування.

Таблиця 2

Середні базові показники (\pm середньоквадратичні відхилення) кожного періоду лікування

	Період 1		Період 2	
	AS 195 (n=36)	Плацебо (n=34)	AS 195 (n=34)	Плацебо (n=36)
Лазерна доплерівська флоуметрія (AU)				
10-37кГц	303,5 (135,2)	333,5 (153,0)	275,4 (126,4)	293,3(119,9)
< 10 кГц	352,7 (87,7)	370,8 (120,0)	174,7 (77,0)	189,4(67,6)
Черезшкірна оксиметрія (пт О ₂ , мм.рт.ст.)				
	32,1 (7,0)	32,3 (6,4)	30,1 (6,2)	30,8 (6,4)
Окружність (см)				
Щиколотка	20,3 (2,2)	20,4 (2,4)	20,2 (2,6)	20,3 (2,2)
Кірка	34,7(3,1)	34,2 (3,0)	34,0(3,1)	34,6 (3,2)
Суб'єктивні симптоми (см)				
Утомлені/важкі ноги	4,3 (2,8)	3,7 (2,9)	4,6 (2,9)	5,2 (2,6)
Біль у ногах	4,0 (3,2)	3,2(3,1)	4,5 (2,7)	4,9(3,1)
Почуття напруженості	4,5 (2,9)	4,1 (2,8)	4,5 (2,6)	5,1 (2,5)
Почуття поколювання	3,3 (3,1)	2,7 (2,9)	3,7 (2,6)	4,2 (2,8)

Результати вимірювань методом лазерної доплерівської флоуметрії при частоті 10-37кГц були вибрані як основна кінцева точка. Ці частоти розглядають як такі, що визначаються числом еритроцитів та їх рухом (швидкістю потоку) у капілярах верхнього шару шкіри ніг. Через 6 тижнів лазерні

доплерівські частоти (10-37кГц) зросли в групі, у якій приймали AS 195 (плюс $241,8 \pm 18,7$ AU), але знизилися в групі, у якій приймали плацебо (мінус $41,0 \pm 18,7$ AU, $p < 0,0001$) (табл. 4). Цей ефект спостерігають через три тижні після початку лікування ($p < 0,0001$) (табл. 3, Фіг.2).

Таблиця 3

Середнє відхилення (\pm SEM) від базової лінії, пристосоване для періодичних ефектів, 95% довірчий інтервал для зіставлення лікувань і значення p через 3 тижні застосування 360 мг AS 195 або плацебо

	Лікування		Зіставлення лікування		
	AS 195 (n=70)	Плацебо (n=70)	Різниця (n=70)	Довірчий інтервал (n=70)	P значення
Через 3 тижні					
Лазерна доплерівська флоуметрія (AU)					
10-37кГц	132,2 (11,9)	-28,2(11,9)	160,5	від 127,0 до 194,0	<0,0001
<10кГц	-3,7 (9,2)	-99,9 (9,2)	96,2	від 70,2 до 122,2	<0,0001
Черезшкірна оксиметрія(мм.рт.ст.)	0,62 (0,97)	-3,84 (0,97)	4,46	від 1,72 до 7,20	0,0018

Продовження таблиці 3

Окружність (см)					
Щиколотки	-0,19 (0,09)	0,21 (0,09)	-0,40	від -0,65 до -0,15	0,0025
ікри	-0,24 (0,04)	0,04 (0,04)	-0,28	від -0,40 до -0,17	<0,0001
Суб'єктивні симптоми					
Утомлені/важкі ноги	-0,94 (0,25)	0,21 (0,25)	-0,73	від -1,42 до -0,04	0,0396
Біль у ногах	-1,17 (0,23)	-0,24 (0,23)	-0,94	від -1,59 до -0,28	0,0061
Почуття напруженості	-1,00 (0,24)	-0,52 (0,24)	-0,49	від -1,17 до 0,19	0,1588
Почуття поколювання	-0,99 (0,26)	-0,20 (0,26)	-0,79	від -1,52 до -0,06	0,0335

Таблиця 4

Середнє відхилення (\pm SEM) від базової лінії, пристосоване для періодичних ефектів, 95% довірчий інтервал для зіставлення лікувань і значення Р через 6 тижнів застосування 360мг AS 195 або плацебо

	Лікування		Зіставлення лікування		
	AS 195 (n=70)	Плацебо (n=70)	Різниця (n=70)	Довірчий інтервал (n=70)	Р значення
Через 6 тижнів					
Лазерна доплерівська флоуметрія(AU)					
10-37кГц	241,8 (18,7)	-41,0(18,7)	282,8	від 229,9 до 335,7	<0,0001
<10кГц	57,0 (12,4)	-107,7 (12,4)	164,7	від 129,7 до 199,7	<0,0001
Черезшкірна оксиметрія (мм.рт.ст.)	1,35 (0,97)	-7,27 (0,97)	8,63	від 5,88 до 11,38	<0,0001
Окружність (см)					
Щиколотки	-0,39 (0,09)	0,29 (0,09)	-0,68	від -0,94 до -0,43	<0,0001
Ікри	-0,54 (0,05)	0,14(0,05)	-0,68	від -0,83 до -0,53	<0,0001
Суб'єктивні симптоми					
Утомлені/важкі ноги	-0,78 (0,33)	-0,94 (0,33)	0,16	від -0,76 до 1,09	0,7285
Біль у ногах	-0,76 (0,35)	-0,86 (0,35)	0,10	від -0,88 до 1,09	0,8323
Почуття напруженості	-0,96 (0,35)	-1,40(0,35)	0,44	від -0,46 до 1,44	0,3819
Почуття поколювання	-0,55 (0,30)	-0,66 (0,30)	0,11	від -0,75 до 0,96	0,8044

Вимірювання лазерного доплерівського потоку в діапазоні частот нижче 10кГц проводять для визначення числа еритроцитів та їх пересування (швидкість течії) у капілярах у більш глибокому, переважно теплорегулюючому шарі шкіри ніг. Через 6 тижнів лазерні доплерівські частоти, що лежать нижче 10кГц, зростають у групі, у якій приймають AS 195 (плюс 57,0 \pm 12,4 AU), і знижуються в групі, у якій приймають плацебо (мінус 107,7 \pm 12,4 AU, $p<0,0001$) (табл. 4). Ймовірно, цей ефект залежить від кліматичних умов під час періоду лікування. При помірній температурі під час дослідження (квітень/травень) лазерні доплерівські виміри (<10кГц) залишаються незмінними в групі, у якій приймають AS 195, після падіння напруги при включенні до номінальної робочої напруги, у той час як вимірювання в групі, у якій приймають плацебо, стають нижчими ($p<0,0001$). При підвищеній температурі (липень/серпень) лазерні доплерівські виміри (<10кГц) зростають у групі, у якій приймають AS 195, і залишаються постійними в групі, у якій приймають плацебо. ($p<0,0001$).

Черезшкірний тиск кисню зростає в групі AS 195 (плюс 1,35 \pm 0,97мм.рт.ст.), але знижується в групі плацебо (мінус 7,27 \pm 0,97мм.рт.ст., $p<0,0001$). Це спостереження підтверджувалося в обидва періоди лікування й, отже, могло точно відповідати лазерному доплерівському потоку в живильному поверхневому шарі шкіри (тобто 10-37кГц) (табл. 3, 4, Фіг.3).

Статистично достовірне та клінічно значиме зниження окружності щиколотки (через 3 тижні: AS 195 мінус 0,19 \pm 0,09см, плацебо плюс 0,21 \pm 0,09см,

$p=0,0025$) і окружності ікри (через 3 тижні: AS 195 мінус 0,24 \pm 0,04см, плацебо плюс 0,04 \pm 0,04см, $p=0,0001$) показують початок дії починаючи з 3 тижнів після початку лікування (табл. 3). Цей ефект стає більш вираженим по закінченні 6 тижнів (AS 195, щиколотка: мінус 0,39 \pm 0,09см, ікра: мінус 0,54 \pm 0,05; плацебо, щиколотка: плюс 0,29 \pm 0,09см, ікра: плюс 0,14 \pm 0,05см, $p<0,0001$) (табл. 4).

Не було достовірних змін прояву суб'єктивних симптомів, що стосуються ХВН, через 6 тижнів лікування. Цей результат узгоджується з результатом попереднього дослідження, у якому суб'єктивні симптоми, що вимірювалися за суб'єктивною шкалою, знизилися тільки після більш тривалого лікування (12 тижнів).

Побічні ефекти в даному дослідженні спостерігають нечасто. Тринадцять із 71 пацієнта відзначали побічні ефекти, щонайменше, один раз; з них 12 пацієнтів відзначали початок прояву побічних ефектів, хоча їх лікували плацебо, і один на фоні лікування AS 195 (помірного прояву бронхіт, за оцінкою експериментатора не пов'язаний з лікарським засобом). Пацієнта, що помер від серцевого нападу, лікували плацебо (у цьому дослідженні він ніколи не одержував AS 195). За оцінкою всіх пацієнтів загальна переносність була гарною або задовільною. Лабораторні параметри в ході дослідження не змінювалися.

У попередньому дослідженні було показано (WO 01/28363), що екстракт AS 195, одержаний з листя червоного винограду, знижує набряклість ніг, зменшує окружність ікр, а також поліпшує су-

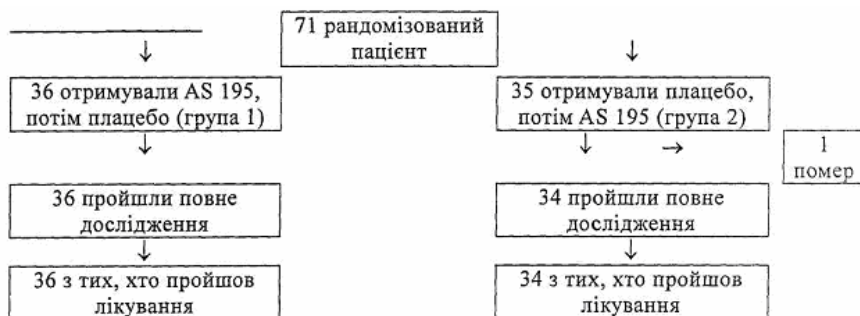
б'єктивні симптоми, пов'язані із хронічною венозною недостатністю, у пацієнтів, що приймали цей екстракт раз на добу впродовж 12 тижнів⁷. Дане дослідження було проведено для отримання додаткової інформації про механізм, що лежить в основі дії, в зв'язку з чим була досліджена мікроциркуляція, що є клінічно значимим сурогатним параметром, пов'язаним із проблемами ХВН ніг. Дане дослідження є першим, яке проведене на пацієнтах з ХВН і яке націлене на вивчення крім зниження набряклості ніг також на клінічно значимі прояви, пов'язані з лікуванням екстрактом листя червоного винограду. Знижений венозний дренаж виникає в результаті ослабленої шкірної мікроциркуляції із трофічними ураженнями шкіри. Якщо не лікувати ХВН, такий стан може навіть привести до венозних виразок ніг. Лазерна доплерівська флоуметрія, що використовувалася в даному винаході, є інформативним і чутливим методом для точного визначення результатів лікування, які можуть бути пов'язані із суб'єктивно оцінюваним зниженням симптомів захворювання через три місяці лікування.

Одержані результати відповідають відомим клінічним властивостям AS 195, і привносять нові

дані, що стосуються початку дії. Об'єм ноги, що є об'єктивним параметром, знижується, що клінічно значимо й статистично вірогідно після 6 тижнів лікування. Такий же результат був опублікований раніше при використанні екстракту насіння кінського каштана (Lancet 347, 1996, сс.292-294.) та рокитника (*Ruscus aculeatus* L.) (Drag Res 52, 2002, сс.243-250.).

У даному дослідженні було показано, що параметри лазерної доплерівської флоуметрії, окружності щиколотки та ікри, а також черезшкірний тиск кисню змінювалися після 3 тижнів лікування. Із навпаки, суб'єктивні симптоми ХВН, що оцінювалися візуально, істотно не відрізнялися від плацебо⁸ після 6 тижнів лікування, на відміну від попереднього дослідження. Потрібна тривалість лікування в 12 тижнів для відчутного зниження прояву суб'єктивних симптомів ХВН.

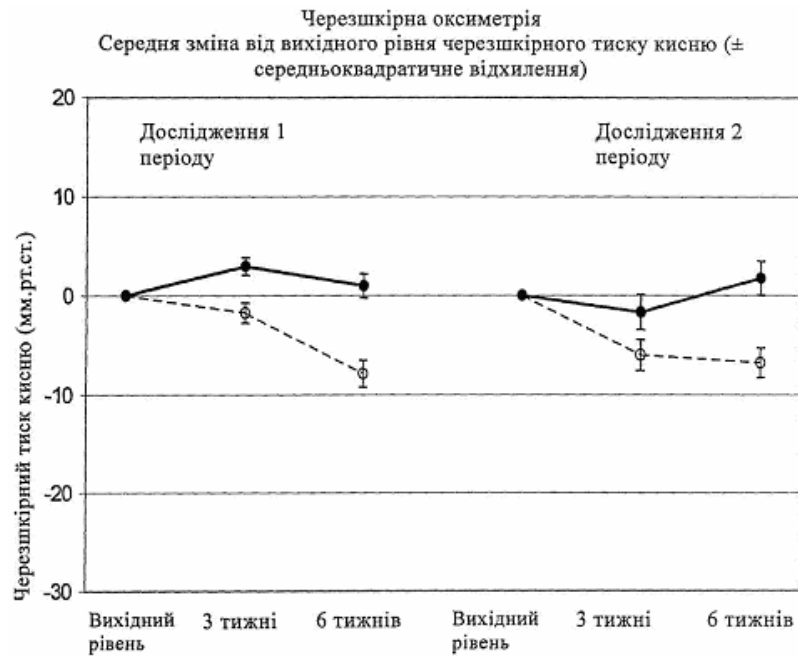
Представлені результати свідчать про велику роль екстракту листя червоного винограду в попередженні прогресування ХВН та появи трофічних шкірних уражень, а також його здатності навіть попереджати або припиняти перехід від клінічно незначних ранніх стадій ХВН до стадії І ХВН.



ФІГ. 1



ФІГ. 2



ФІГ. 3