



УКРАЇНА

(19) UA (11) 41486 (13) C2

(51) 7 A61K35/78, A61P37/02

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД(54) КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ СТИМУЛЯЦІЇ РЕПАРАТИВНО-РЕГЕНЕРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ "АЛЬГОФІТ"
("ALGORHYT")

(21) 99084461

(22) 03.08.1999

(24) 17.09.2001

(46) 17.09.2001, Бюл. № 8, 2001 р.

(72) Чайко Олександр Леонідович

(73) Чайко Олександр Леонідович, UA

(56) UA, C1, № 0013945A, 25.04.1997 р.

(57) 1. Композиція для стимуляції репаративно-регенеративних процесів, що містить біомасу водорості, яка **відрізняється** тим, що вона містить бі-

омасу спіруліни та додатково біомасу женьшеню при їх масовому співвідношенні (0,1-100):1 за винятком співвідношення 1:1.

2. Композиція для стимуляції репаративно-регенеративних процесів по п. 1, яка **відрізняється** тим, що вона містить біомасу женьшеню, отриману при вирощуванні штаму культури клітин женьшеню японського (*Panax japonicus* C.A. Mey/var. *repens*) - ВСКК-ВР № 62.

Винахід відноситься до біології, медицини, харчової промисловості, ветеринарії, кормовиробництва та косметології, а саме до репаративно-регенеративних засобів, і може бути використаний з метою стимуляції відновних та імунних процесів організму.

Репаративно-регенеративні засоби, що мають імуномодулюючу, протизапальну, гематотропну, антимікробну дію та інтенсифікують процеси диференціації клітин, застосовуються при терапії ускладнень тканин різної етіології: термічних, хімічних, радіаційних опіків, ран, виразок, трофічних порушень, особливо ускладнених інфікуванням стійкою до хімпрепаратів мікрофлорою, а також для профілактики різних захворювань (крові, печінки, шлунково-кишкових, сечостатевої, ендокринних, імунодефіцитів, нервової, серцево-судинної систем тощо).

Практика свідчить, що найбільш ефективними серед ряду препаратів подібної дії є засоби природного, зокрема, рослинного, походження в порівнянні зі сполуками хімічного синтезу: внаслідок ідентичності їх метаболічних процесів обміну речовин у теплокровному організмі, а також зменшення числа обмежень і побічної дії при використанні. Препарати рослинного походження можуть виступати у ролі загальних адаптогенів, що значно підвищують неспецифічну резистентність організму до більшості негативних чинників. Найбільш перспективним методом отримання сировини для виготовлення препаратів з таким характером дії є біотехнологічний спосіб, оскільки він є високопродуктивним, екологічно чистим, контрольованим, незалежним від кліматичних умов та інших як абіотичних, так і біотичних чинників.

На сьогоднішній день арсенал засобів, що здатні стимулювати репаративно-регенеративні процеси організму, досить обмежений. Особливо це стосується фітокомпозицій з вищих і нижчих рослин, що, як правило, є більш ефективними, ніж їх окремі компоненти.

Відоме використання настоянки (1:10) з кореня женьшеню справжнього (Інструкція по примененню настойки из корня женьшеня. Утверждена Фармкомитетом СССР 25.01.89, № 67/554/134) та настоянки (1:10) з біомаси культури клітин штаму женьшеню справжнього ВСКК-ВР № 3 - ІФР ЖІ (БІО-2) - "Біоженьшень" (Інструкція по примененню настойки "Біоженьшень". Утверждена Фармкомитетом СССР 26.06.89, № 69.377.3) як адаптогенних засобів, що інтенсифікують загальні процеси обміну речовин в організмі, в першу чергу білкового. Настоянки містять такі фізіологічно активні речовини: специфічні для роду женьшеню тритерпенові глікозиди - панаксозиди або гінзенозиди, інші сапоніни, ефірні та жирні олії, пектинові речовини та інші вуглеводи, вітаміни групи В, які найбільш ефективно діють у комплексі.

Відомі хлорофіло-каротинова паста (25-50%) та мазь "Альгофін" на її основі (1:3), які найбільш близькі за фізіологічною дією до засобу, що заявляється (Патент України № 13945A. Спосіб одержання хлорофіло-каротинової пасти з репаративно-регенеративними властивостями, 1997; інструкція по медицинскому применению мази "Альгофін". Р.97/315/6). Препарат "Альгофін" містить суміш біомас мікроводоростей, до складу якого як діючі речовини входять натрієві солі поліненасичених жирних кислот, каротиноїди, похідні хлорофілів, плівко-утворювачі на основі природних це-

(19) UA (11) 41486 (13) C2

резинів. Мазь має бактерицидну дію до широкого спектру мікроорганізмів, протизапальні та гіперосмолярні властивості, підсилює репараційні та регенераційні процеси, знижує показники токсикозу у хворих з широкими опіками, трофічними порушеннями з різноманітними ускладненнями, радіаційними виразками. Цей засіб вибраний як прототип.

Задачею винаходу є створення нового більш ефективного комплексного засобу для стимуляції репаративно-регенеративних процесів.

Поставлена задача досягається тим, що дана композиція містить біомасу міководорості спіруліни, а також кореня або культури клітин женьшеню при їх масовому співвідношенні (0,1-100,0):1. При цьому фізіологічна активність речовин з цих біомас значно підвищується при їх одночасному застосуванні. Це пояснюється тим, що біохімічний склад спіруліни доповнюється унікальними речовинами з біомаси женьшеню, що призводить до синергічного ефекту їх комплексної дії.

Для роботи було обрано біомасу спіруліни з колекції водоростей Інституту гідробіології НАНУ (*Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. HPDP-60/128), а також кореня женьшеню справжнього (*Panax ginseng* C.A. Mey) плантаційного вирощування і нововиведеного штамму культури клітин женьшеню японського (*Panax japonicus* C.A. Mey/repens) P₃₋₄ - ВСККВР № 62, задепонованому у Всеросійській спеціалізованій колекції клітин вищих рослин.

Визначено, що біомаса спіруліни має високий вміст білка (55-70%) з усіма незамінними амінокислотами, вуглеводів (15-20%), у тому числі біологічно активних полісахаридів (зокрема з антибіотичними, протівірусними, антиоксидантними, протипухлинними властивостями), жирів (3-8%) з підвищеною часткою ненасичених жирних кислот, макро- і мікроелементів (7-10%), пігментів (хлорофілів, фікоціанінів), вітамінів (A, C, B₁, B₂, B₆, B₁₂, B_c, E), органічних кислот.

Біомаси женьшеню містять панаксозиди у кількостях відповідно 1,5-2,0% від сухої маси (корінь плантаційного вирощування) та 0,1-1,8% (штам P₃₋₄), а також інші сапоніни, ефірні олії, незвичні олігопептиди та жирні кислоти, поліацетиленові похідні, низькомолекулярні пектини, вітаміни групи B.

Таким чином, вирішення поставленої задачі забезпечується також тим, що у композиції використовується біомаса спіруліни, що містить комплекс різних активних сполук, разом з біомасою женьшеню з різним вмістом панаксозидів, у тому числі підвищеним, а також інших фізіологічно активних речовин.

Ефективність та можливість практичної реалізації винаходу підтверджується конкретними прикладами.

Приклад 1

Біомасу женьшеню японського з культури клітин штамму P₃₋₄ одержували шляхом його вирощування у стерильних умовах на твердому або рідкому середовищах Мурасіге і Скуга такого складу (мг/дм³):

NH ₄ NO ₃	1145-1850;
KNO ₃	1490-2100;
CaCl ₂ × 2H ₂ O	420-500;
MgSO ₄ × 7H ₂ O	350-400;
KH ₂ PO ₄	150-210;

H ₃ BO ₃	4,2-8,0;
MnSO ₄ × 4H ₂ O	15,6-26,7;
ZnSO ₄ × 7H ₂ O	6,0-10,3;
KI	0,53-0,90;
NaMoO ₄ × 2H ₂ O	0,15-0,30;
CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,02-0,075;
CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,02-0,075;
FeSO ₄ × 7H ₂ O	25,0-30,0;
Na ₂ EDTA	26,1-40,1;
тіамін-хлорид	0,08-0,12;
нікотинова кислота	0,45-0,55;
піридоксин	0,08-0,12;
мезоінозит	80,0-100,0;
α-нафтилоцтова кислота	1,8-2,2;
2,4-дихлорфеноксицтова кислота (тільки для лінії P ₃)	0,18-0,20;
кінетин	0,8-1,2;
гідролізат казеїну	500-700;
сахароза	2-5%;
агар-агар (для твердого середовища)	0,6-0,8%;
pH середовища (до автоклавування)	5,5-5,9.

Вирощування проводили в темряві при температурі 26±1°C та відносній вологості повітря 67±4%.

При поверхневому культивуванні використовували банки місткістю 250 см³ з об'ємом поживного середовища 40-60 см³. Кількість калусного інокуляту складала 6,0-7,5 г сухої маси/дм³ середовища, цикл вирощування - 30-35 діб.

При суспензійному вирощуванні на шейкері (115-120 об./хв, радіус обертання - 6,0-8,5 мм) використовували конічні колби місткістю 1 дм³ з об'ємом поживного середовища 240-300 см³. Кількість суспензійного інокуляту складала 1,0-1,5 г сухої маси/дм³, цикл вирощування - 17-18 днів.

Одержану біомасу відокремлювали від середовища за допомогою фільтрації, промивали дистильованою водою та висушували при температурі 40-55°C або ліофільно до повітряно сухого стану.

Спіруліну вирощували на стерильному середовищі Зарукка такого складу (г/дм³):

NaHCO ₃	16,8;
K ₂ HPO ₄ × 3H ₂ O	1,0;
NaNO ₃	2,5;
K ₂ SO ₄	1,0;
NaCl	1,0;
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,2;
CaCl ₂ × 6H ₂ O	0,04.

До комплексу солей основного середовища після стерилізації додавали розчини сумішей мікроелементів 1 та 2 по 1 см³ кожного, які виготовляли таким чином (г/дм³):

Розчин 1

H ₃ BO ₃	2,86;
MnCl ₂ × 4H ₂ O	1,81;
ZnSO ₄ × 7H ₂ O	0,22;
CuSO ₄ × 5H ₂ O	0,08;
MoO ₃	0,015.

Розчин 2

NH ₄ VO ₃	0,023;
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ × 24H ₂ O	0,096;
NiSO ₄ × 7H ₂ O	0,048;
Na ₂ WO ₄ × 2H ₂ O	0,018;
Ti ₂ (SO ₄) ₃	0,040;
Co(NO ₃) ₂ × 6H ₂ O	0,044.

pH середовища - 8,2-8,4 (після автоклавування і додавання мікроелементів). Кількість інокуляту - 0,1-0,3 г сухої маси/дм³ середовища.

Водорість вирощували у напівперіодичному режимі в біореакторах АКЛ-10 з щоденним відбором 1/4-1/3 загального об'єму (10 дм³) та додаванням такої ж кількості чистого середовища. Перемішування суспензії проводили за допомогою механічної мішалки (50-100 об./хв). Температуру підтримували у межах 28-35°C. Освітлення здійснювали лампами типу ЛБ (сума 100-200 Вт або 8-12 клк). Альгологічну чистоту перевіряли мікроскопічним методом.

Відокремлення біомаси від середовища проводили центрифугуванням при 8 тис. об./хв. Сконцентровану біомасу промивали від залишку солей дистильованою водою, знову відокремлювали центрифугуванням і ліофільно висушували.

Біомаси спіруліни та женьшеню ретельно розтирали та змішували у масових співвідношеннях 0,1:1, 1:1, 50:1 та 100:1.

Приклад 2

Біомасу з кореня женьшеню справжнього отримували шляхом плантаційного вирощування рослин у Миронівському районі Київської області протягом 5 років за стандартним методом (на сірих підзолистих ґрунтах з використанням світлозахисних щитів). Після збирання коренів їх ретельно очищали від бруду, подрібнювали та висушували.

Біомасу спіруліни одержували та приготування композиції проводили так, як описано у прикладі 1.

Приклад 3

Для перевірки біологічної активності та репаративно-регенеративного ефекту композицій, виготовлених так, як описано у прикладах 1 та 2, було проведено досліді на лабораторних тваринах (кролях), яким попередньо наносили рани різного виду (прості, інфіковані за стандартною методикою, травматично-трофічні за феноменами Шварцмана та Артюса-Сахарова).

При цьому робили настоянки біомас зазначених композицій. До сумішей біомас додавали розчини 20-70% етилового спирту у співвідношенні

1:10. Матеріал настоювали протягом 7-10 діб при кімнатній температурі з періодичним перемішуванням, а далі відокремлювали супернатант центрифугуванням при 8 тис. об./хв.

Екстракти, мазь "Альгофін" (прототип) та 20-70% розчин спирту (контроль) наносили на раневі поверхні двічі на день за допомогою стерильних марлевих тампонів.

Результати досліджень наведено у таблиці.

З даних цієї таблиці видно, що мазь "Альгофін" (прототип) та дана композиція в усіх досліджених співвідношеннях її компонентів зменшують час загоєння ран та підвищують швидкість епітелізації ран. Максимальний ефект дії композиції спостерігається на ускладнених ранах за феноменами Шварцмана та Артюса-Сахарова, коли він достовірно перевищує вплив препарату "Альгофін", а також окремих компонентів композиції (синергетичний ефект). Це пояснюється більшими можливостями інтенсифікації різних імунних механізмів та стимуляції процесів дедиференціації клітин при дії всього комплексу біологічно активних речовин спіруліни та женьшеню, що спричиняє синергізм їх впливу на організм та найбільш повну реалізацію властивостей неспецифічних адаптогенів.

Цей приклад наведено виключно для ілюстрації суті винаходу і тому не може обмежувати його обсягу.

Таким чином, зазначеними експериментами доведено синергетичну репараційно-регенеративну активність композиції біомас спіруліни та женьшеню, що пов'язано з різними механізмами впливу фізіологічно активних речовин, які в них містяться, на ряд різних обмінних процесів в організмі теплокровних тварин.

Це призводить до посиленої стимуляції різних імунних та відновних реакцій, що дозволяє широко використовувати зазначену композицію у практиці медицини, харчової промисловості, ветеринарії, кормовиробництва та косметології.

Композиція має спеціальну кодову назву "Альгофит" ("Algophyt", "Algophytum").

Таблиця

Вплив композицій біомас спіруліни та женьшеню, а також мазі "Альгофін" на швидкість загоєння ран різного походження у лабораторних тварин (кролі, n=400), %

Варіанти	Середній час загоєння ран	Середня швидкість епітелізації ран
Прості рани (кролі, n=100)		
Контроль	100,0±6,1	100,0±7,3
Препарат "Альгофін"	87,5±11,4	133,3±11,0
Спіруліна	90,4±9,3	113,7±9,2
Женьшень (1)	85,5±7,8	127,7±11,9
Женьшень (2)	85,0±8,3	130,5±10,9
Спіруліна+женьшень (1) 0,1:1	80,4±10,0	158,1±10,2
Спіруліна+женьшень (1) 1:1	77,2±12,3	160,0±9,4
Спіруліна+женьшень (1) 50:1	70,0±9,8	169,3±10,9
Спіруліна+женьшень (1) 100:1	82,9±7,1	150,1±7,2
Спіруліна+женьшень (2) 100:1	81,3±8,9	153,7±9,0
Інфіковані рани (кролі, n=100)		
Контроль	100,0±10,1	100,0±11,0
Препарат "Альгофін"	64,4±7,3	161,9±8,6

Варіанти	Середній час загоєння ран	Середня швидкість епітелізації ран
Спіруліна	68,9±11,8	151,5±13,1
Женьшень (1)	92,2±12,2	131,5±16,0
Женьшень (2)	85,9±10,1	141,0±11,9
Спіруліна+женьшень (1) 0,1:1	60,0±5,9	170,0±9,7
Спіруліна+женьшень (1) 1:1	53,1±10,1	180,2±9,4
Спіруліна+женьшень (1) 50:1	48,0±9,0	187,1±12,9
Спіруліна+женьшень (1) 100:1	56,7±7,7	179,9±8,8
Спіруліна+женьшень (2) 100:1	53,9±9,8	181,8±10,5
Рани за феноменом Шварцмана (кролі, n=100)		
Контроль	100,0±7,2	100,0±11,2
Препарат "Альгофін"	60,4±8,8	148,8±11,8
Спіруліна	63,2±6,7	140,1±8,4
Женьшень (1)	66,4±5,7	139,6±10,2
Женьшень (2)	64,9±7,0	140,0±11,0
Спіруліна+женьшень (1) 0,1:1	48,1±3,4	178,7±10,0
Спіруліна+женьшень (1) 1:1	47,0±4,4	194,9±10,7
Спіруліна+женьшень (1) 50:1	45,2±5,8	200,0±12,1
Спіруліна+женьшень (1) 100:1	47,7±3,7	185,5±9,9
Спіруліна+женьшень (2) 100:1	47,3±4,0	189,7±10,9
Рани за феноменом Артюса-Сахарова (кролі, n=100)		
Контроль	100,0±6,8	100,0±16,0
Препарат "Альгофін"	49,9±4,0	165,4±9,1
Спіруліна	53,1±4,6	165,2±8,1
Женьшень (1)	56,5±6,5	147,5±13,9
Женьшень (2)	55,1±5,0	154,3±10,1
Спіруліна+женьшень (1) 0,1:1	42,3±3,5	185,4±10,5
Спіруліна+женьшень (1) 1:1	41,0±4,0	206,0±21,4
Спіруліна+женьшень (1) 50:1	39,7±4,1	212,3±17,8
Спіруліна+женьшень (1) 100:1	41,9±3,9	188,8±12,9
Спіруліна+женьшень (2) 100:1	41,8±3,4	192,4±14,7

Примітка. Женьшень (1) - біомаса, отримана, як описано у прикладі 1;
женьшень (2) - біомаса, отримана, як описано у прикладі 2

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60x84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22