



УКРАЇНА

(19) UA (11) 65518 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
G01N 25/00  
A61B 17/00  
A61K 9/00  
A61P 15/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ВАГІНАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО ЗАПАЛЕННЯ ПІХВИ**

1

(21) u201105766  
(22) 10.05.2011  
(24) 12.12.2011  
(46) 12.12.2011, Бюл.№ 23, 2011 р.  
(72) СТЕПАНОВА КАТЕРИНА ОЛЕКСАНДРІВНА,  
ДОЛЖИКОВА ОЛЕНА ВІКТОРІВНА, ДОБРОВА  
ВІКТОРІЯ ЄВГЕНІВНА, МАЛОШТАН АНАСТАСІЯ  
ВОЛОДИМИРІВНА  
(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-  
ВЕРСИТЕТ  
(57) Спосіб визначення протизапальної активності  
вагінальних лікарських засобів на моделі гострого  
запалення піхви наркотизованих дослідних тва-  
рин-самиць флогогену з подальшою оцінкою зміни  
стану запального процесу під впливом лікарських  
засобів, що досліджуються, у порівняння з контро-  
лем, який **відрізняється** тим, що додатково перед  
введенням флогогену скарифікують слизову обо-  
лонку піхви, визначають початкову локальну тем-  
пературу у піхві з наступним вимірюванням такої  
температури через задані проміжки часу, за мак-

2

симальною температурою визначають пік запа-  
лення, а протизапальну активність розраховують  
за емпіричною формулою:

$$ПА = (1 - \frac{\Delta T_k - \Delta T_d}{\Delta T_k - \Delta T_{mp}}) * 100\%, \text{ де}$$

ПА - протизапальна активність, виражена в про-  
центах;

$\Delta T_k$  - середнє арифметичне різниць між початко-  
вою локальною температурою та локальною тем-  
пературою через заданий проміжок часу у тварин  
контрольної групи;

$\Delta T_d$  - середнє арифметичне різниць між початко-  
вою локальною температурою та локальною тем-  
пературою через заданий проміжок часу у тварин  
дослідної групи;

$\Delta T_{mp}$  - середнє арифметичне різниць між почат-  
ковою локальною температурою та локальною  
температурою через заданий проміжок часу у тва-  
рин групи модельної патології.

Корисна модель належить до біології та меди-  
цини, а саме до способів вивчення протизапальної  
активності вагінальних лікарських засобів на мо-  
делі гострого запалення піхви, і призначена для  
використання при проведенні доклінічних дослі-  
дженнь зазначених засобів.

Запальні захворювання жіночих статевих ор-  
ганів (ЗЗЖСО) є однією з актуальних проблем сьо-  
годення. За даними ВООЗ ЗЗЖСО займають одне  
з перших місць серед захворювань, що зустріча-  
ються у хворих гінекологічного профілю. Проведе-  
ні численні дослідження, присвячені проблемі  
ЗЗЖСО, але й до сьогодні триває пошук ефектив-  
них лікарських засобів і методів терапії, що напро-  
влені на зменшення кількості ускладнень та реци-  
дивів, покращення репродуктивної функції.

Для лікування захворювань в акушерстві та гі-  
некології поряд із препаратами системної дії приз-

начають вагінальні засоби для місцевого застосу-  
вання (песарії, вагінальні креми та мазі, вагінальні  
капсули, тампони та т. ін.). Враховуючи те, що са-  
ме запалення відіграє головну роль у патогенезі  
розвитку ЗЗЖСО, обов'язковим є вивчення проти-  
запальних властивостей нових лікарських засобів,  
що пропонуються для лікування даної патології.

Протизапальну дію лікарських засобів визна-  
чають за офіційною методикою на моделі гострого  
асептичного запалення кінцівок у лабораторних  
тварин (щери, миші) з використанням різноманіт-  
них флогогенів: карагенін, формалін, декстран,  
серотонін, гістамін, трипсин, овальбумін, агар, ка-  
олін [1].

Недоліками даної методики можна вважати те,  
що за її допомогою неможливо об'єктивно оцінити  
локальну дію вагінальних лікарських форм, таких  
як: песарії, вагінальні таблетки, капсули і т. ін.,

(13) U

(11) 65518

(19) UA

безпосередньо у місці запалення.

Відомий спосіб вивчення протизапальної активності лікарських засобів шляхом інтравагінального введення флогогенів [2], згідно з яким досліді проводяться на статевозрілих щурах-самцях вагою 180-200 г. Попередньо тварин наркотизують шляхом введення 1 % розчину барбіталу з розрахунку 1 мл на 100 г тварини. За допомогою зонду тварині у піхву вводять флогоген із розрахунку 0,2 мл / 100 г. Біологічно-активну речовину, що вивчають, вводять у попередньо обраному режимі введення. Через 8 годин після введення речовини, що вивчається, тварин виводять з експерименту, проводять препарування піхви та оцінюють протизапальну дію біологічно активних речовин за показниками місцевої дії (площею некрозу слизової оболонки, наявністю та ступенем набряку, гіперемії, наявністю та площею ерозій, крапкових крововиливів), оцінюючи показники у балах.

До недоліків відомого способу слід віднести низьку точність та обмежену достовірність одержаних результатів внаслідок суб'єктивності бальної оцінки, яку проводить лаборант, що присвоює бали у залежності від ступеня вираженості ознак. Спосіб також не містить чітких рекомендацій щодо часу введення флогогену та не враховує високу стресостійкість слизової оболонки піхви, за рахунок чого через 8 годин після введення флогогену у піхві майже не відбуваються зміни, що можуть бути зафіксовані візуально.

Задача корисної моделі полягає у створенні способу визначення протизапальної дії вагінальних лікарських засобів на моделі гострого запалення піхви у лабораторних тварин при проведенні доклінічних досліджень, який шляхом обчислення статистично доказової протизапальної активності за зміною локальної температури у піхві забезпечує об'єктивну оцінку протизапальної активності досліджуваного засобу безпосередньо у місці запалення.

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі визначення протизапальної активності вагінальних лікарських засобів, що включає моделювання гострого запалення шляхом введення у піхву наркотизованих дослідних тварин-самців флогогену з подальшою оцінкою зміни стану запального процесу під впливом лікарських засобів, що досліджуються, у порівнянні з контролем, згідно з корисною моделлю на відміну від прототипу додатково перед введенням флогогену скарифікують слизову оболонку піхви, визначають початкову локальну температуру у піхві з наступним вимірюванням такої температури через задані проміжки часу, за максимальною температурою визначають пік запалення, а протизапальну активність розраховують за емпіричною формулою:

$$ПА = (1 - \frac{\Delta T_k - \Delta T_d}{\Delta T_k - \Delta T_{mp}}) * 100\%, \text{ де}$$

ПА - протизапальна активність, виражена в процентах;

$\Delta T_k$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин контрольної групи;

$\Delta T_d$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин дослідної групи;

$\Delta T_{mp}$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин групи модельної патології.

Заявлений спосіб здійснюють наступним чином. Статевозрілим щурам-самцям вагою 180-200 г в одній фазі естрального циклу за годину до введення флогогену вводять досліджуваний засіб. Через годину після введення досліджуваного лікарського засобу тварин наркотизують у піхву на глибину 3-5 мм вводять напівжорсткий скарифікатор слизових оболонок, прокручують 5 разів та за допомогою зонду вводять у піхву розчин флогогену. Після цього тваринам одразу вимірюють початкову локальну температуру у піхві за допомогою придатного для цієї мети електронного термометра. Фіксують локальну температуру у піхві через задані проміжки часу. Протизапальну активність досліджуваного засобу визначають за різницею між початковою локальною температурою у піхві та локальною температурою, зафіксованою через заданий проміжок часу.

Протизапальну активність вагінальних засобів розраховують за формулою:

$$ПА = (1 - \frac{\Delta T_k - \Delta T_d}{\Delta T_k - \Delta T_{mp}}) * 100\%, \text{ де}$$

ПА - протизапальна активність, виражена в процентах;

$\Delta T_k$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин контрольної групи;

$\Delta T_d$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин дослідної групи;

$\Delta T_{mp}$  - середнє арифметичне різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин групи модельної патології.

Середнє арифметичне зазначених показників емпіричної формули розраховується відомим чином:

$$\Delta T_k = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{ki}}{n};$$

$$\Delta T_d = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{di}}{n};$$

$$\Delta T_{mp} = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{mpi}}{n}, \text{ де}$$

n - кількість тварин відповідно у контрольній, дослідній (ліковані тварини) та групі модельної патології (неліковані тварини).

Всі ознаки заявленої засобу визначені дослідним шляхом. Їх сукупність є новою, не відомою з

джерел інформації.

Однією з можливих причин зміни локальної температури тіла може бути запалення [3]. Автори вперше запропонували емпіричну формулу для достовірного визначення локальної протизапальної активності вагінальних лікарських засобів за зміною локальної температури у піхві під їх впливом.

Корисна модель ілюструється прикладом.

Приклад 1.

Досліди проводили на статевозрілих щурах-самцях вагою 180-200 г, яких відбирали у дослід в одній фазі естрального циклу. Тварин поділяли на три групи: 1 група - контрольна група (інтактний контроль), тварин якої лише наркотизували барбамілом, 2 група - група модельної патології, тваринам якої після наркотизації проводили скарифікацію піхви та вводили флогоген зимозан, 3 група - дослідна група тварин, яким за годину до наркотизації вводили досліджувані «Супозиторії з обліпиховою олією» у дозі 60 мг/кг, що була перерахована з терапевтичної дози для людини.

на з терапевтичної дози для людини.

Після наркотизації (1 % розчин барбамілу з розрахунку 0,7 мл на 100 г) тваринам другої та третьої груп у піхву на глибину 3-5 мм вводили напівжорсткий скарифікатор слизових оболонок, прокручували 5 разів (скарифікатор діаметром 2 мм та довжиною щітки 1 см являє собою пластмасовий стрижень з синтетичними напівжорсткими щетинками довжиною 2 мм, розташованими з кроком 1 мм) та за допомогою зонду вводили у піхву 0,2 мл/100 г розчин зимозану у вигляді 2 % розчину. Після цього тваринам усіх груп одразу вимірювали температуру у піхві за допомогою електронного термометра та фіксували початкове значення. Далі фіксували локальну температуру у піхвах тварин через півгодини, одну годину, півтори та дві години, розраховували середнє арифметичне різниць температур у групі між початковою локальною температурою та температурою у піхві у задані проміжки часу. Результати розрахунків зведені у таблицю 1.

Таблиця 1

Значення середнього арифметичного різниць між початковою локальною температурою та локальною температурою через заданий проміжок часу у тварин різних груп.

Група тварин n=10	Середнє арифметичне	Час вимірювання, годин			
		0,5	1	1,5	2
Контрольна група (інтактний контроль)	$\Delta T_k$	1,33±0,03	1,98±0,06	2,42±0,05	2,50±0,06
Модельна патологія (неліковані тварини)	$\Delta T_{мп}$	1,12±0,08	0,70±0,06	1,50±0,06	1,70±0,07
Дослідна група тварин (тварини, ліковані «Супозиторіями з обліпиховою олією»)	$\Delta T_d$	1,18±0,06	1,48±0,09	1,77±0,09	2,00±0,12

Протизапальну активність досліджуваних «Супозиторіїв з обліпиховою олією» розраховували у відповідності з заявленим способом за емпіричною формулою:

$$ПА = \left(1 - \frac{\Delta T_k - \Delta T_d}{\Delta T_k - \Delta T_{мп}}\right) \cdot 100\%.$$

Результати розрахунків наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Визначення протизапальної активності «Супозиторіїв з обліпиховою олією» за заявленим способом

Досліджуваний засіб	Протизапальна активність, %			
	Час вимірювання, годин			
	0,5	1	1,5	2
«Супозиторії з обліпиховою олією»	30,78 %	61,04 %	29,09 %	35,42 %

Отримані дані свідчать про виражену місцеву протизапальну активність «Супозиторіїв з обліпиховою олією». Максимальну активність досліджуваного засобу (61,04 %) реєстрували через годину після початку експерименту при максимальній локальній температурі (пік запалення) під час розвитку максимального запалення, викликаного зимозаном.

Таким чином заявлено спосіб визначення протизапальної активності вагінальних лікарських форм на моделі гострого запалення піхви. Спосіб дозволяє одержувати статистично доказову оцінку протизапальної активності вагінальних препаратів. Заявлений спосіб призначений для проведення

доклінічних досліджень нових вагінальних лікарських засобів та біологічно активних речовин.

Джерела інформації

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод., рек. / под. ред. О.В. Стефанов. - К.: Авіценна, 2001. - 528 с.

2. Методы экспериментального изучения биологически активных веществ на моделях вульвовагинита: метод., рек. / С.М. Дрововоз, А.Г. Цыпкун, В.В. Решетник и др. - К., 2003 - С. 8-9.

3. Причины изменения локальной температуры тела / Ю.П. Потехина, М.В. Головапова, Медицинский альманах № 2, 2010. - С. 297-298.

