



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **99553** (13) **C2**  
(51) МПК  
**G01N 33/15** (2006.01)  
**G09B 23/28** (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки: <b>а 2011 05765</b>	(72) Винахідник(и): <b>Степанова Катерина Олександрівна (UA), Должикова Олена Вікторівна (UA), Доброва Вікторія Євгенівна (UA), Малоштан Анастасія Володимирівна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>10.05.2011</b>	(73) Власник(и): <b>НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ,</b> вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: <b>27.08.2012</b>	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: RU 2198653 C1, 20.02.2003 US 4387724 A, 14.06.1983 Потехина Ю.П., Голованова М.В. Причины изменения локальной температуры тела// Медицинский альманах. - апрель 2010. - №2(11). - С. 297-298 Бутко Я.О., Дроговоз С.М., Дикий І.Л. Обґрунтування складу нової комбінованої мазі з амікацином для лікування ран// Український біофармацевтичний журнал. - 2008. - Том 1, №1. - С. 6-9. Вороніна Л.М., Стрельченко К.В., Сенюк І.В.. Вивчення протизапальної та антиоксидантної активності екстракту, отриманого з гички буряка звичайного// Український біофармацевтичний журнал. - 2008. - Том 1, №1. - С. 9-12.
(41) Публікація відомостей про заявку: <b>10.10.2011, Бюл.№ 19</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>27.08.2012, Бюл.№ 16</b>	

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

### (57) Реферат:

Винахід належить до біології та медицини, стосується способів вивчення протизапальної активності вагінальних лікарських засобів і може бути використаний при проведенні доклінічних досліджень зазначених засобів. Згідно із заявленим способом моделюють гостре запалення шляхом введення у піхву наркотизованих дослідних тварин-самиць флогогену із попередньою скарифікацією слизової оболонки піхви, потім визначають початкову локальну температуру у піхві з наступним вимірюванням такої температури через задані проміжки часу. Протизапальну активність визначають за емпіричною формулою, що враховує зміни локальної температури у тварин відповідно контрольної групи (інтактний контроль), дослідної групи (тварини, ліковані досліджуваним засобом) та групи модельної патології (неліковані тварини).

UA 99553 C2



Винахід належить до біології та медицини, а саме до способів вивчення протизапальної активності вагінальних лікарських засобів на моделі гострого запалення піхви і призначений для використання при проведенні доклінічних досліджень зазначених засобів.

Запальні захворювання жіночих статевих органів (ЗЗЖСО) є однією з актуальних проблем сьогодення. За даними ВООЗ ЗЗЖСО займають одне з перших місць серед захворювань, що зустрічаються у хворих гінекологічного профілю. Проведені численні дослідження, присвячені проблемі ЗЗЖСО, але й до сьогодні триває пошук ефективних лікарських засобів і методів терапії, що направлені на зменшення кількості ускладнень та рецидивів, покращення репродуктивної функції.

Для лікування захворювань в акушерстві та гінекології поряд із препаратами системної дії призначають вагінальні засоби для місцевого застосування (песарії, вагінальні креми та мазі, вагінальні капсули, тампони та т.і.). Враховуючи те, що саме запалення відіграє головну роль у патогенезі розвитку ЗЗЖСО, обов'язковим є вивчення протизапальних властивостей нових лікарських засобів, що пропонуються для лікування даної патології.

Протизапальну дію лікарських засобів визначають за офіційною методикою на моделі гострого асептичного запалення кінцівок у лабораторних тварин (щери, миші) з використанням різноманітних флогогенів: карагенін, формалін, декстран, серотонін, гістамін, трипсин, овальбумін, агар, каолін [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.і., безпосередньо у місці запалення.

Відомий спосіб вивчення протизапальної активності лікарських засобів шляхом інтравагінального введення флогогенів [2], згідно з яким досліди 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 тварин 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 ступеню вираженості ознак. Спосіб також не включає 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.

Задачею винаходу є створення 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 етапу запального процесу під впливом лікарських засобів, що досліджуються, у порівняння з контролем, згідно з винаходом, 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:

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

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;

$\Delta T_{мп}$  – 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-самцями 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:

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

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;

$\Delta T_{мп}$  – 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:

$$\Delta T_k = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{ki}}{n}; \Delta T_d = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{di}}{n}; \Delta T_{мп} = \frac{\sum_{i=1}^n \Delta T_{mpi}}{n},$$

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

Всі ознаки заявленого 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.

Винахід ілюструється прикладом.

Приклад

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.

Після наркотизації (1 % розчин барбамілу з розрахунку 0.7 мл на 100 г) тваринам другої та третьої групи у піхву на глибину 3-5 мм вводили напівжорсткий скарифікатор слизових оболонок, прокручували 5 разів (скарифікатор діаметром 2 мм та довжиною щіточки 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
Моделна патологія (неліковані тварини)	$\Delta T_{mp}$	1,12±0,06	0,70±0,06	1,50±0,06	1,70±0,07
Дослідна група (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:

$$5 \quad \text{ПА} = \left(1 - \frac{\Delta T_l - \Delta T_d}{\Delta T_k - \Delta T_{mp}}\right) * 100\%$$

Результати розрахунків наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Визначення протизапальної активності "Супозиторіїв з обліпиховою олією" 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 %

10 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.

15 Таким чином заявлено спосіб визначення протизапальної активності вагінальних лікарських форм па 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:

20 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. Решетняк и др. - К., 2003. - С. 8-9

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

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

30 Спосіб визначення протизапальної активності вагінальних лікарських засобів, що включає моделювання гострого запалення шляхом введення у піхву наркотизованих дослідних тварин-самиць флогогену з подальшою оцінкою зміни стану запального процесу під впливом лікарських засобів, що досліджуються, у порівнянні з контролем, який **відрізняється** тим, що 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:

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

5 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

10 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.

---

Комп'ютерна верстка М. Мацело

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601