



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **100294** (13) **U**

(51) МПК (2015.01)

A61K 9/14 (2006.01)

A61K 36/00

A61P 7/04 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2014 12782	(72) Винахідник(и): Волковой Валерій Аркадійович (UA), Остапець Марина Олександрівна (UA), Крючкова Тетяна Миколаївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 28.11.2014	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.07.2015	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.07.2015, Бюл.№ 14	

(54) ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ З ГЕМОСТАТИЧНОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ДІЄЮ

(57) Реферат:

Лікарський засіб з гемостатичною дією з вмістом біологічно активних речовин рослинного походження, виконаний у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної, та додатково має протизапальну дію.

UA 100294 U

Корисна модель належить до фармації та медицини, а саме до фармацевтичних препаратів рослинного походження, які проявляють гемостатичну активність та можуть бути використані для профілактики кровотеч різного генезу (маткових пубертатного періоду, гемороїдальних нерізко виражених).

Порушення балансу рівноваги між системою згортання та антизгортання крові призводить до розвитку кровотеч або тромбозів. На сьогоднішній день перед практичною медициною постає проблема вибору фармакологічних засобів, які були б найбільш ефективними при регулюванні процесів коагуляції та фібринолізу.

Незважаючи на велику кількість препаратів-гемостатиків, найбільш ефективними залишаються лікарські засоби синтетичного та тваринного походження: амінокапронова кислота, етамзилат, тромбін, плівка фібриногену, губка гемостатична та ін. [1, с.470-473]. Однак вони мають низку недоліків таких як: складність та трудомісткість технології виготовлення, значна собівартість сировини, що ускладнюють та обмежують їх використання.

Важливе місце серед гемостатичних засобів посідають лікарські засоби рослинного походження та витяжки з них, оскільки до їх складу входять біологічно активні речовини здатні впливати як на стадії гемокоагуляції, так і на проникність судинної стінки. Окрім цього, застосування лікарських рослин в медичній практиці дозволяє досягти максимальної виразності терапевтичного ефекту, довготривалого застосування, м'яко й безпечно впливати одночасно на системи організму, що задіяні в патологічному процесі.

З огляду на це, пошук і розробка нових гемостатичних засобів рослинного походження, які мали б високу специфічну активність і були б зручними та безпечними у застосуванні, є актуальною проблемою сучасної медицини та фармації.

На фармацевтичному ринку рослинні гемостатики представлені в основному настоянками та рідкими спиртовими екстрактами, а також зборами. Серед них препарати лагохїлусу, кропиви, деревію, гірчака перцевого, калини, арніки. Фармакотерапевтична дія цих фітопрепаратів обумовлена біологічно активними речовинами, які знаходяться в певному співвідношенні та проявляють виражений ефект на систему гемостазу [1, с. 473-474].

Проте слід відмітити, що до складу більшості рослинних екстрактів входять БАП, які підвищують артеріальний тиск та проявляють спазмолітичну активність, тому їх не рекомендують застосовувати в період вагітності.

З джерел інформації відомий засіб у формі екстракту з трави грициків звичайних, який використовується як кровоспинний засіб і застосовується при ниркових, легневих, маткових кровотечах. Трава грициків виступає в ролі антагоніста дикумарину, її гемостатична дія обумовлена наявністю вітаміну К та аскорбінової кислоти. Використовують грицики звичайні у вигляді настою чи рідкого екстракту трави (на 70 % етанолі). Недоліком цього засобу є те, що його не можна застосовувати під час вагітності, оскільки екстракт може спровокувати передчасні пологи. Трава грициків звичайних не впливає на гемостатичний механізм, який викликає клімактеричні кровотечі [2].

В основу корисної моделі поставлено задачу у розширенні асортименту кровоспинних засобів за рахунок створення лікарського засобу у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної з високою гемостатичною та з протизапальною активністю, яка є простою та безпечною як за складом компонентів, так і у технології виготовлення.

Поставлена задача вирішується таким чином, що лікарський засіб з гемостатичною дією з вмістом біологічно активних речовин рослинного походження, згідно з корисною моделлю виконаний у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної, та додатково має протизапальну дію.

Герань болотна (*Geranium palustre*) родини Геранієвих (*Geraniaceae*) - дикоросла багаторічна трав'яниста рослина. За літературними даними трава і кореневийча рослини містять комплекс біологічно активних сполук таких як: дубильні речовини, флавоноїди, хінони, аскорбінова кислота, що мають широкий спектр фармакологічної активності (трава герані болотної проявляє гемостатичну, протизапальну, в'язучу та знеболюючу дію). В народній медицині вона застосовується при маткових, легневих, носових кровотечах, ревматизмі, подагрі, діареї [3].

Лікарський засіб у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної проявляє виражену гемостатичну та протизапальну дію та має наступний хімічний склад: сума дубильних речовин (в перерахунку на галову кислоту) 31,5 %, сума флавоноїдів (в перерахунку на рутин) 8,4 %, вільні моносахариди 18,6 %, водорозчинні полісахариди 11,9 %, амінокислоти 17,4 %, ліпіди 1,4 %, неорганічні домішки 6 %, волога та леткі компоненти 4,8 %.

Дубильні речовини володіють вираженою протизапальною та кровоспинною дією, яка базується на їх здатності викликати часткове згортання білків слизової оболонки та призводити

до утворення плівки, яка захищає чутливі нервові закінчення оточуючих тканин, знижувати поріг больової чутливості, місцево звужувати судини, а також безпосередньо ущільнювати клітинні мембрани, що призводить до зменшення запальної реакції

Антигеморагічна дія фенольних сполук в першу чергу обумовлена ущільненням, збільшенням міцності судинно-тканинних бар'єрів. Елагова кислота зменшує тривалість кровотечі. Флавоноїди підвищують кількість в крові іонів кальцію, який бере участь майже в усіх стадіях гемокоагуляції. Прискорення згортання крові може бути досягнуто опосередковано - адреналін сприяє утворенню кров'яних згустків, а фенольні сполуки - захищають його від інактивації в кров'яному руслі.

Як відомо, флавоноїди володіють Р-вітамінною активністю, тобто здатні зменшувати проникність та ламкість капілярів, підвищувати їх резистентність. Механізм їхньої дії пояснюється тим, що сполуки з Р-вітамінною дією знижують рівень гіалуронідази, запобігають окисненню аскорбінової кислоти і адреналіну, який підвищує міцність кровоносних судин. Поліфеноли та аскорбінова кислота доповнюють та потенціюють взаємну дію на капіляри.

Флавоноїди також гальмують розвиток запалення. Вони сприяють місцевому збільшенню вироблення вільних радикалів, виведенню медіаторів запалення, проліферації клітин, ангіогенезу та гальмують апоптоз [4].

Сухий екстракт з трави герані болотної одержано вперше, його склад та спектр фармакологічної дії є новим, невідомим з джерел інформації.

Лікарський засіб у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної отримували наступним чином: траву герані болотної заготовляли на початку цвітіння в травні, висушували природним шляхом. 100 г сухої трави подрібнювали до розміру частинок, що мали б проходити крізь сито з отворами 5 мм, погрожали в ексікатор та заливали етанол 70 % у співвідношенні 1:10 (1 літр). Настоявали 12 годин. Екстракт зливали через марлю (700 мл), сировину повторно заливали екстрагентом, другий злив отримували через 12 годин (1050 мл). Екстракти об'єднували та упарювали частинами на ротівому випаровувачі під вакуумом при температурі 60-80 °С в круглодонній колбі ємністю 600 мл досуха (колбу попередньо зважували). Вихід готового продукту 20,5 г. При розрахунку відсотка виходу враховується вологість сировини (тобто втрата в масі висушуванні, яка експериментально встановлено та складає 4,8 %).

Екстракт розчиняли в 100 мл 70 % етанолу та переносили у випарювальну чашку, сушили при температурі 50 °С без вакууму не менше 8 годин. Вологість сухого екстракту складала 4,8 %.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Визначення гемостатичної активності.

Оцінка гемостатичної активності сухого екстракту з трави герані болотної проводилась за методом, який базується на визначенні часу появи перших ниток фібрину у порівнянні з контролем - дистильованою водою та препаратом порівняння. Досліди проводили на нелінійних щурах масою 180-205 г. Всіх експериментальних тварин було поділено на групи (в кожній групі по 6 тварин): 1 група - інтактні тварини, отримували дистильовану воду; 2 група - тварини, які отримували досліджуваний екстракт в дозах 1, 3, 5, 7, 10 мг/кг маси; 3 група - тварини, які отримували препарат порівняння екстракт грициків звичайних в дозах 1, 3, 5, 7, 10 мг/кг маси. Досліджуваний екстракт та препарат порівняння вводили перорально у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80.

Через 1 годину у фіксованої тварини забиралась 1 крапля крові із хвостової вени на підігріте до температури 37 °С знежирене предметне скло. Через кожні 15-20 с ін'єкційною голкою проводили по краплі крові, фіксуючи появу перших ниток фібрину (час спонтанного згортання крові). Розрахунок гемостатичної активності проводили за формулою:

$$A = [(T_{\text{інт}} - T_{\text{експ}}) / (T_{\text{інт}} - T_{\text{пр.пор}})] \times 100 \%,$$

де: A - гемостатична активність, %;

$T_{\text{інт}}$ - час спонтанного згортання крові в інтактній групі тварин, с

$T_{\text{експ}}$ - час спонтанного згортання крові в експерименті (досліджуваний екстракт в різних дозах), с

$T_{\text{пр.пор}}$ - час спонтанного згортання крові тварин, що отримували препарат порівняння, с [5].

Отримані дані оброблені загальноприйнятими методами варіаційної статистики по t-критерію Стюдента та представлені в таблиці 1 [6].

Таблиця 1

Визначення гемостатичної активності сухого екстракту з трави герані болотної (n=6)

Досліджувана сполука	Доза, мг/кг	Час згортання крові, с	Скорочення часу згортання крові (% до контролю)
Контроль (дистильована вода)		217,16±1,85	100
Сухий екстракт з трави герані болотної	1	117,33±1,05 ^{*/**}	54,03
	3	106,66±0,88 ^{*/**}	49,11
	5	125,50±1,26 ^{*/**}	59,79
	7	143,17±1,08 ^{*/**}	65,93
	10	159,20±1,25 ^{*/**}	73,31
Екстракт грициків звичайних	1	190,83±1,25 [*]	87,87
	3	186,5±0,96 [*]	85,88
	5	172,5±1,26 [*]	79,43
	7	164,50±1,26 [*]	75,75
	10	168,33±1,30 [*]	77,74

Примітки: * - достовірність результатів у відношенні до контрольної групи, $p < 0,001$; ** - достовірність результатів у відношенні до препарату порівняння грициків звичайних, $p < 0,001$.

Сухий екстракт з трави герані болотної викликає активацію процесу згортання крові: у дозі 1 мг/кг скорочує час згортання крові на 100 с; 3 мг/кг на 111 с; 5 мг/кг на 92 с; 7 мг/кг на 74 с; 10 мг/кг на 58 с у порівнянні з контролем.

Ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної за гемостатичної активністю є 3 мг/кг. У цій дозі досліджуваний засіб перевищує препарат порівняння - екстракт грициків звичайних в 1,54 рази.

Даний екстракт може бути використаний для профілактики та лікування кровотеч різного генезу (маткових пубертатного періоду, гемороїдальних не різко виражених).

Приклад 2. Вивчення протизапальної активності.

Антиексудативний ефект сухого екстракту з трави герані болотної вивчали на експериментальній моделі гострого запального набряку стопи, викликаного субплантарним введенням флогогену - карагеніну. Серії дослідів було поставлено на білих нелінійних щурах масою 200-230 г [7].

Досліджуваний екстракт вводили внутрішньошлунково однократно у вигляді водного розчину за 1 годину до індукції запалення у дозах 5, 10, 20 мг/кг маси тварин. Інтактним тваринам вводили дистильовану воду. Через 1 годину під апоневроз задньої стопи щура вводили по 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. За допомогою механічного онкометра по А.С. Захаревському вимірювали об'єм стопи до початку досліду та в момент максимального розвитку набряку - через 4 години. Дана модель являється найбільш інформативною, оскільки дозволяє розглянути в динаміці розвиток карагенінового набряку та вплив біологічно активних речовин герані болотної на протікання запалення.

Антиексудативну активність визначали по ступеню зменшення експериментального набряку в дослідних тварин у порівнянні з контрольною групою та виражали у відсотках. В якості препарату порівняння використовували класичний інгібітор ЦОГ - диклофенак натрію в його ефективній дозі 8 мг/кг. Розрахунок проводили за формулою:

$$A = 100 \% - (M_{нд} - M_{зд}) \times 100 / (M_{нк} - M_{зк})$$

де: А - антиексудативна активність;

$M_{нд}$ - маса набряклої стопи в досліді;

$M_{зд}$ - маса здорової стопи в досліді;

$M_{нк}$ - маса набряклої стопи в контролі;

$M_{зк}$ - маса здорової стопи в контролі [8].

Результати дослідження протизапальної активності наведено в таблиці 2.

Таблица 2

Антиексудативна активність сухого екстракту
з трави герані болотної на моделі карагенінового набряку (n=90)

Об'єкт дослідження	Доза, мг/кг	Приріст об'єму лапки через 2 год.	У % до контролю	Протизапальна активність	Приріст об'єму лапки через 4 год.	У % до контролю	Протизапальна активність
Контроль		12,67±1,09	100,00		18,16±1,01	100,00	
Екстракт	5	11,00±1,06*	86,92	13,18	13,50±1,26*	74,33	25,66
з трави герані	10	9,5±1,23*	74,98	25,02	11,67±1,22*	63,87	36,12
болотної	20	11,17±1,08*	88,2	11,8	14,66±0,88*	80,72	19,27
Диклофенак натрію	8	7,50±1,12*	59,19	40,80	8,8±1,08*	48,45	51,54

Примітки: * - достовірність результатів у відношенні до контрольної групи, $p < 0,001$; ** - достовірність результатів у відношенні до препарату порівняння диклофенаку натрію, $p < 0,001$

У контрольній групі тварин, яким вводили тільки карагенін, максимум набряку стопи щурів відмічено на 4-й годині після його введення. Аналіз отриманих даних вказує, що сухий екстракт з трави герані болотної в дозі 10 мг/кг маси тварини проявляє протизапальну дію в порівнянні з диклофенаком натрію (36,12 % і 51,54 % відповідно).

Як відомо, у перші 30-90 хв. у патогенезі запалення беруть участь гістамін та серотонін, в інтервалі між 1,5-2,5 годинами - кініни, а між 2,5-5,5 годинами - простагландини. Тому можна припустити, що сухий екстракт з трави герані болотної виступає як інгібітор циклооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти та проявляє протизапальну активність.

Таким чином заявлено новий лікарський засіб у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної, який володіє вираженою гемостатичною та протизапальною активністю; та має наступні переваги: доступність сировинної бази, легкість та безпечність при застосуванні, відсутність токсичності та алергічних реакцій, низька вартість, придатність до тривалого застосування. Засіб може бути рекомендовано для профілактики кровотеч різного генезу (маткових пубертатного періоду, гемороїдальних не різко виражених).

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. - М.: ООО "Новая волна", 2006. - Т. 1.

2. Тихонов В.Н. Лекарственные растения, сырье и фитопрепараты / В.Н. Тихонов, Г.И. Калинкина, Е.Н.Сальникова. - Томск: Сиб. ГМУ, 2004. -116 с.

3. Разаренова К.Н. Определения содержания экстрактивных веществ и динамика их накопления в надземной и подземной частях герани болотной, герани лесной, герани луговой / К.Н. Разаренова, Е.В. Жохова // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции.-2011. - № 66. - С. 167-171.

4. Qyvind M. Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications / M. Qyvind, R. Markham. - London: Taylor and Francis, 2006.-1197 p.

5. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / За ред.чл.-кор. О.В. Стефанова. - К.: Авіцена, 2001.-525 с

6. Dunnett CD. Biostatistics in pharmacological testing selected pharmacological testing methods / CD. Dunnett. - London: Edward Arnold, 1968. -p. 7-48.

7. Perianayagam J. B. Anti-inflammatory activity of trichodesma indicum root extract in experimental animals / J. B. Perianayagam, S.K. Sharma, K.K. Pillai // Journal of Ethnopharmacology.-2006. - Vol. 104(3). - p. 410-414.

8. Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н.Сернов, В.В. Гацура. - М., 2000.-352 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Лікарський засіб з гемостатичною дією з вмістом біологічно активних речовин рослинного походження, який **відрізняється** тим, що виконаний у вигляді сухого екстракту з трави герані болотної, та додатково має протизапальну дію.

Комп'ютерна верстка Л. Бурлак

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

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