



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **88526** (13) **U**

(51) МПК (2014.01)

A61K 9/02 (2006.01)

A61K 36/28 (2006.01)

A61K 36/61 (2006.01)

A61P 29/00

A61P 37/04 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 09927	(72) Винахідник(и): Ярних Тетяна Григорівна (UA), Рухмакова Ольга Анатоліївна (UA), Мельник Галина Миколаївна (UA), Яковлева Лариса Василівна (UA), Кошева Олена Юріївна (UA)
(22) Дата подання заявки: 09.08.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 25.03.2014	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 25.03.2014, Бюл.№ 6	(73) Власник(и): НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(54) ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ У ФОРМІ РЕКТАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ З ІМУНОТРОПНОЮ ДІЄЮ

(57) Реферат:

Фармацевтична композиція у формі ректальних супозиторіїв з імунотропною дією містить густий екстракт солодкового кореня і додатково ефірні олії ромашки та чайного дерева. Компоненти супозиторної основи вибрані з переліку: твердий жир типу А, твін-80, лецитин, вода очищена.

UA 88526 U

Корисна модель належить до фармації та медицини, а саме до засобів рослинного походження у формі дитячих ректальних супозиторіїв, який виявляє імунотропну дію.

Для ефективного лікування захворювань імунної системи дітей необхідні безпечні та ефективні лікарські засоби. Більшість імунотропних засобів, що застосовуються у педіатричній практиці, мають синтетичне походження (лаферобіон [8, с. 753], аміксин [8, с. 75], арбідол [8, с. 123], генферон лайт [8, с. 331] та ін.) і часто здатні викликати розвиток різних побічних ефектів. Цього недоліку позбавлені, як правило, рослинні препарати, проте арсенал таких лікарських засобів є недостатнім.

Відомою лікарською сировиною є солодка гола, корні якої містять лікуразид, гліциризинову кислоту, флавоноїди, пектини, цукри, крохмаль, слизи та інші біологічно активні речовини. Досліджено їх протизапальну, спазмолітичну, ранозагоювальну дії.

Традиційно препарати з коренів солодки використовуються як протизапальні, противиразкові та відхаркувальні засоби, які призначаються при лікуванні бронхітів, пневмонії, бронхоектатичної хвороби, гіперацидного гастриту, пептичної виразки шлунка та дванадцятипалої кишки.

Одержано ректальні супозиторії з густим екстрактом кореня солодки (ГЕСК) для дорослих із вмістом ГЕСК 0,75 г на гідрофільній основі з 1,25 г поліетиленгліколю-6000 і 0,25 г поліетиленглікольстеарату, що мають протизапальну дію, а також позитивним впливом на гормональний статус і копулятивну функцію [9].

До недоліків вказаного засобу можна віднести відсутність імунотропної дії, а у випадку використання гідрофільної супозиторної основи - можливість розвитку гіперосмолярної дії. Тому не бажано застосовувати супозиторії на ПЕО-основах, зокрема у педіатрії, особливо на стадії гострого запалення.

Найближчим аналогом за імунотропною дією фармацевтичної композиції у формі ректальних супозиторіїв серед синтетичних імунотропних лікарських засобів для дітей є ректальні супозиторії "Віферон", які мають противірусну, імуномодельючу і антипроліферативну дію [8, с. 294].

До недоліків вказаного засобу можна віднести можливість розвитку шкірних алергічних реакцій, таких як свербіж та кропив'янка, що обмежує їх використання у педіатричній практиці.

Задачею корисної моделі є створення нового засобу у формі дитячих ректальних супозиторіїв імунотропної дії, який завдяки новій сукупності діючих компонентів рослинного походження при використанні збалансованої супозиторної основи є ефективним нетоксичним засобом з імунотропною дією для застосування у педіатричній практиці.

Поставлена задача вирішується таким чином, що фармацевтична композиція у формі ректальних супозиторіїв з імунотропною дією, у відповідності з корисною моделлю, як комплекс біологічно активних речовин містить ГЕСК і додатково ефірні олії ромашки та чайного дерева при наступному співвідношенні компонентів (мас. %):

густий екстракт солодкового кореня	0,2-0,3
ефірна олія ромашки	0,008-0,012
ефірна олія чайного дерева	0,008-0,012
супозиторна основа	до 1,15.

Корисною моделлю передбачено, що компоненти супозиторної основи вибрані з переліку: твердий жир типу А, твін-80, лецитин, вода очищена.

Оптимальним варіантом у відповідності з корисною моделлю є композиція наступного складу (мас. %):

густий екстракт солодкового кореня	0,25
ефірна олія ромашки	0,01
ефірна олія чайного дерева	0,01
твін-80	0,05
лецитин	0,1
вода очищена	0,1
твердий жир типу А	до 1,15.

Якісний і кількісний склад компонентів заявленої композиції визначено експериментальним шляхом.

Вміст ГЕСК у складі заявленої композиції менший за 0,2 мас. % призводить до зниження фармакологічної активності засобу в цілому. Збільшення його вмісту понад 0,3 мас. % є недоцільним, бо, з одного боку, не викликає збільшення фармакологічної активності, а з іншого -

можливе виникнення порушення фізико-хімічних властивостей та стабільності заявленого засобу. Оптимальний вміст ГЕСК становить 0,25 мас. %.

Введені до складу композиції ефірні олії ромашки та чайного дерева відіграють роль антимікробних консервантів заявленої корисної моделі. При введенні цих компонентів у кількостях менших за 0,008 мас. % кожного може спостерігатися зниження ефективності консервуючої дії. Введення ефірних олій у сумарній кількості понад 0,012 мас. % неприпустиме з технологічної точки зору. Оптимальний вміст ефірних олій ромашки та чайного дерева - по 0,01 мас. % кожної.

На вивільнення та біодоступність активних компонентів дитячих ректальних супозиторіїв в основному впливає супозиторна основа. Авторами визначено збалансований якісний та кількісний склад компонентів основи заявленої композиції, який забезпечує як фармакологічні, так і фізико-хімічні, реологічні властивості супозиторіїв.

Твін-80 та лецитин у складі основи виконують роль емульгаторів.

Твердий жир типу А утворює масляну фазу емульсійної системи основи, він є хімічно індіферентним, термостабільним, стійким до зміни рН середовища.

Вода очищена утворює гідрофільну фазу емульсійної системи основи та використовується як розчинник ГЕСК.

Експериментальним шляхом було визначене кількісне співвідношення компонентів у складі основи. Зміна їх кількісного вмісту може призвести до порушення фізико-хімічних, технологічних, біофармацевтичних та фармакологічних властивостей заявленого засобу у формі дитячих ректальних супозиторіїв.

Активні компоненти і компоненти основи заявленої композиції представлені дозволеними до використання фармацевтично прийнятними речовинами, проте їх якісне та кількісне співвідношення є новим, не відомим з джерел інформації, а виявлена авторами імунотропна дія засобу є неочевидною з огляду на відомі властивості компонентів.

Вивчення імунотропної дії супозиторіїв з ГЕСК, одержаних за заявленим способом включало оцінку впливу засобу на гуморальну та клітинну ланки імунітету щурів з нормальним імунним статусом.

З огляду на те, що композиція призначена для застосування в педіатричній практиці дослідження проводили на щурах самцях одномісячного віку масою 60,0-80,0 г. За методичними рекомендаціями [4] вік щурів 1 місяць відповідає віку людини 4-7 років та є оптимальним для вивчення імунологічних властивостей засобів, призначених для використання у педіатрії [1, 2].

Під час експерименту тварини знаходилися у віварії при $t^{\circ}=18-24^{\circ}\text{C}$, вологості 50-60 %, природному світловому режимі "день-ніч", у пластикових клітках, на збалансованому харчовому раціоні відповідно до діючих норм. Дослідження проведені з дотриманням правил "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1986 р).

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Корисна модель здійснюється наступним чином (технологія приготування наведена для 10 супозиторіїв). Відважують твердий жир типу А у кількості 0,50 г з урахуванням коефіцієнта заміщення ГЕСК ($1/E_{\text{ж}}=0,76$), поміщають у фарфорову чашку та розплавляють на водяній бані. Відважують ГЕСК у кількості 0,25 г, поміщають у ступку і змішують із 0,1 мл води очищеної. Відважують твін-80 у кількості 0,05 г та лецитин у кількості 1,00 г, додають в ступку і перемішують із розчином ГЕСК при розтиранні до утворення емульсії, додають розплав твердого жиру та змішують при розтиранні до однорідності. Після чого отриману масу переносять назад у фарфорову чашку, підправляють при температурі $(35,0\pm 1,0)^{\circ}\text{C}$, додають відважені ефірні олії ромашки і чайного дерева у кількості по 0,01 г кожної та перемішують до однорідності.

Готову супозиторну масу розливають у контурну упаковку з полівінілхлоридної плівки або у підготовлені форми. Заповнену форму витримують протягом 15-20 хв. при кімнатній температурі, а потім поміщають в холодильник і охолоджують при температурі $(2-8^{\circ}\text{C})$ протягом 30-40 хв. Після охолодження виймають супозиторії, проводять контроль їх якості.

Супозиторії правильної форми "торпеди" з гладкою поверхнею коричневого кольору, однорідні, на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення, у деяких випадках спостерігається наявність повітряного стрижня.

Приклад 2. Оцінку впливу супозиторіїв з ГЕСК на гуморальну ланку імунітету щурів проводили за кількістю антитілоутворюючих клітин (АУК) у селезінці та за титрами гемаглютинінів (ГА) у сироватці крові імунізованих тварин. Як препарат порівняння використовували настоянку ехінацеї у дозі 1 мл/кг.

Використовували наступні групи по 8 тварин у кожній: 1) група імунізованих тварин; 2) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили ректально супозиторії з ГЕСК у дозі 30 мг/кг (за вмістом діючої субстанції у супозиторії); 3) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили ректально супозиторії з ГЕСК у дозі 50 мг/кг (за вмістом діючої субстанції у супозиторії); 4) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили настоянку ехінацеї у дозі 1 мл/кг.

Для визначення кількості АУК і ГА щурів імунізували однократним внутрішньоочеревинним введенням 3 % суспензії ЕБ у дозі 1,0 мл/100 г маси тіла тварини. На 5-у добу після імунізації визначали кількість антитілопродуцентів у селезінці та титри гемаглютининів у сироватці крові [3, 4, 7].

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм "Statistica, v. 6,0" [5, 6]. Для значень кількості АУК вираховували середнє арифметичне та його стандартну помилку ($\text{mean} \pm \text{St. er}$). Узагальнені дані з визначення титрів ГА контрольних і дослідних груп виражали як медіану та верхній і нижній квартилі (Me (LQ; UpQ)). Для отримання статистичних висновків при порівнянні вибірок відносних перемінних (кількості АУК) застосовували однофакторний дисперсійний аналіз та критерій Ньюмана-Кейлса, або непараметричні методи: Крускал-Уолліса та критерій Вілкоксона Манна-Уїтні (для значень ГА). Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Визначення кількості АУК в селезінці проводили за методом локального гемолізу в гелі. Цей метод засновано на здатності лімфоїдних клітин експериментальних тварин, що імунізовані чужорідними еритроцитами, секретувати антиеритроцитарні антитіла, які викликають лізис еритроцитів у присутності комплементу [7]. За числом макроскопічно видимих зон гемолізу навколо антитілоутворюючих клітин підраховували кількість продуцентів антитіл на лімфоїдний орган.

Результати дослідів наведено у таблиці 1.

Титри гемаглютининів у сироватці крові імунізованих тварин визначали методом серійних розведень у полістиролових планшетах. Реакція аглютинації ґрунтується на здатності антитіл (аглютининів), які містяться у сироватці крові імунізованих тварин, склеювати в ізотонічному розчині хлористого натрію еритроцити барана, що використовуються як антиген [7]. Результати дослідів наведено у таблиці 2.

Таблиця 1

Вплив супозиторіїв з ГЕСК на кількість антитілоутворюючих клітин у селезінці щурів у порівнянні з настоянкою ехінацеї

Групи тварин	n	Кількість АУК на селезінку ($\text{mean} \pm \text{St. er}$)
імунізований контроль (ЕБ)	8	1940,0 \pm 365,9
супозиторії з ГЕСК, 30 мг/кг	8	4360,0 \pm 861,2 $p=0,05$
супозиторії з ГЕСК, 50 мг/кг	8	5960,0 \pm 448,5 ^{*/**}
настоянка ехінацеї, 1 мл/кг	8	4115,6 \pm 535,5 [*]

Примітки:

1. * - відмінності достовірні щодо значень імунізованого контролю, $p < 0,05$;

2. ** - відмінності достовірні щодо значень препарату порівняння, $p < 0,05$;

3. n - кількість тварин у кожній групі.

Примітки: * - відхилення достовірне відносно контрольної патології ($p < 0,05$)

Таблиця 2

Вплив супозиторіїв з ГЕСК на кількість гемаглютининів у сироватці крові щурів у порівнянні з настоянкою ехінацеї

Групи тварин	n	Титри ГА, Log_2 Me (Q25; Q75)
імунізований контроль (ЕБ)	8	7,0 (6,5; 7,0)
супозиторії з ГЕСК, 30 мг/кг	8	20 (19,5; 24) [*]
супозиторії з ГЕСК, 50 мг/кг	8	24,0 (22,5; 24) [*]

Продовження таблиці 2

Групи тварин	n	Титри ГА, Log ₂ Me (Q25; Q75)
настоянка ехінацеї, 1 мл/кг	8	20,5 (19,0; 24)*

Примітки:

- * - відмінності достовірні щодо значень імунізованого контролю, $p < 0,05$;
- ** - відмінності достовірні щодо значень препарату порівняння, $p < 0,05$;
- n - кількість тварин у кожній групі.

Аналіз наведених у таблицях 1 і 2 даних показує, що під дією засобу спостерігається підвищення антитілогенезу: у тварин, які отримували супозиторії з ГЕСК підвищувалися як кількість антитілопродукуючих клітин (табл. 1), так і титри гемаглютининів (табл. 2). Причому, зі збільшенням дози відбувається підвищення ефекту, що свідчить про дозозалежний характер дії засобу. Слід зазначити, що за спроможністю підвищувати кількість АУК супозиторії з ГЕСК достовірно переважають препарат порівняння настоянку ехінацеї, введення якого також викликає достовірне підвищення кількості антитілоутворюючих клітин та титрів ГА і ГЛ (табл. 1, 2).

Приклад 3. Стан клітинного імунітету на тлі застосування засобу визначали за реакцією гіперчутливості повільного типу (ГПТ) за методом К.Р. Kitamura. Реакція націлена на визначення здатності досліджуваного засобу впливати на продукцію сенсibilізованими Т-лімфоцитами-ефекторами медіаторів, які викликають інфільтрацію тканини клітинними елементами. Введення антигену у подушечку лапки тварини призводить до розвитку локального набряку. Як препарат порівняння використовували супозиторії "Вібуркол" (Німеччина) у дозі 100 мг/кг.

Використовували наступні групи по 10 тварин у кожній: 1) група неімунізованих тварин, яких не піддавали будь-якому впливу; 2) група імунізованих тварин; 3) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили ректально супозиторії з ГЕСК у дозі 30 мг/кг (за вмістом діючої субстанції у супозиторії); 4) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили ректально супозиторії з ГЕСК у дозі 50 мг/кг (за вмістом діючої субстанції у супозиторії); 5) група тварин, яким протягом 2-х тижнів вводили ректально супозиторії "Вібуркол" (Німеччина) у дозі 100 мг/кг.

Мишей імунізували однократним внутрішньоочеревинним введенням суспензії ЕБ в дозі $2 \cdot 10^5$ клітин в об'ємі 0,5 мл фізіологічного розчину натрію хлориду на 20 г маси тіла.

Для виявлення імунізації мишам під апоневротичну пластинку однієї з задніх кінцівок (дослідна лапа) на 5-у добу вводили завершальну дозу антигену, що склала 10^6 ЕБ, в об'ємі 0,02 мл на тварину. У контралатеральну лапу (контрольна лапа) вводили фізіологічний розчин у тім же об'ємі. Через 24 години тварин виводили з експерименту зсувом шийних хребців під ефірним наркозом. Стопи задніх кінцівок тварин відрізали на рівні надступаковогомілкового суглобу, зважували на торсійних вагах.

Виразність місцевої реакції оцінювали за співвідношенням величини маси стоп дослідної і контрольної лап у кожній групі тварин, розраховували індекс реакції (ІР) за формулою:

$$IP = \frac{M_{\text{д.лапи}} - M_{\text{к.лапи}}}{M_{\text{к.лапи}}} \times 100 \%$$

де:

 $M_{\text{д.лапи}}$ - маса дослідної лапи; $M_{\text{к.лапи}}$ - маса контрольної лапи.

Отримані експериментальні дані обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакета статистичних програм "Statistica, v. 6,0" [5, 6]. Узагальнені дані з визначення індексу реакції контрольних і дослідних груп виражали як медіану та верхній і нижній квартилі (Me (LQ; UpQ)). Для отримання статистичних висновків при порівнянні вибірок відносних перемінних застосовували непараметричні методи: Крускал-Уолліса та критерій Вілкоксона Манна-Уїтні. Відмінності між контрольними та дослідними групами вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

Результати досліджень надано у таблиці 3.

Аналіз даних, що наведені в таблиці 3, свідчить, що двотижнєве ведення супозиторіїв з ГЕСК не впливає на клітинну ланку імунітету тварин. Індекс реакції у групах тварин, яким

ректально вводили супозиторії з ГЕСК не відрізнявся від такого у групі імунізованих тварин та достовірно перевищував значення тварин з групи інтактного контролю. Під дією препарату порівняння також спостерігали нормальну імунну відповідь на введення тимусзалежного антигену ЕБ.

5

Таблиця 3

Вплив супозиторіїв з ГЕСК на клітинну ланку імунітету щурів у порівнянні з супозиторіями "Вібуркол" (n=10)

Групи тварин	Дози, мг/кг	Індекс реакції М (mim+max)
Інтактний контроль	-	1,6 (0,9; 2,6)
Імунізований контроль (ЕБ)	-	3,5 (2,9; 5,0)*
Супозиторії з ГЕСК	30	3,9 (2,8; 4,9)*
	40	4,7 (3,7; 6,1)*
Супозиторії "Вібуркол"	100	2,8 (2,5; 3,1)**

Примітки:

1. * - відмінності достовірні щодо інтактного контролю, $p < 0,05$;

2. ** - відмінності достовірні щодо інтактного контролю при $p = 0,057$.

Отже, досліджуваний засіб стимулює гуморальну імунну відповідь та не впливає на клітинну ланку імунітету статевозрілих щурів.

Таким чином, заявлена композиція у формі ректальних супозиторіїв з ГЕСК з імуноотропною дією, яка виявляє виражену ефективність. Нова композиція складається з доступних фармацевтично прийнятних компонентів і може бути одержана в умовах звичайного хіміко-фармацевтичного виробництва за простою технологією з використанням стандартного обладнання.

Джерела інформації:

1. Маркова И.В., Гусель В.А., Западнюк Н.И., Ускова Н.В., Бельгова И.Н. и др. Фармакологическое изучение возрастных особенностей в действии лекарственных средств, предлагаемых для клинического изучения в педиатрической практике. Методические рекомендации. - Москва, 1988. - 9-11 с.

2. Денисова М.Ф., Нікітіна Н.С., Дзюба І.П., Оболенцева Г.В., Лар'яновська Ю.Б., Шадрін О.Г., Брюзгінова Л.П. Доклінічне вивчення нешкідливості лікарських засобів, призначених для застосування в педіатрії. Методичні рекомендації. - Київ, 2002. - 6-13 с.

3. Ierne K.N., Nordin A.A. Plaque formation by single antibody-producing cells // Science. - 1963. - V. 140. - P. 405-406.

4. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля. - М.: Медицина, 1987. - 211-219 с.

5. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник. - М: ООО "Бином-Пресс", 2007. - 512 с.

6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel, 2001. - Вид-во: Морион. - 320 с.

7. Kitamura K. A Foodpad weigh assay method to evaluate delayed-type hypersensitivity in the mouse // J. Immunol. Methods – 1980-V. 39-P. 277-283.

8. Компендиум 2006 - лекарственные препараты: В 2 т. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. - К.: "Морион", 2006. - 2270 с.

9. Ректальные суппозитории с густым экстрактом корня солодки. Старокожко Л.Е., Шевченко А.М., патент на изобретение 2010133441/15 (RU), МПК (2006) А61К9/02, А61К36/484, А61Р13/08, заявл. 09.08.2010, опубл. 20.02.2012.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Фармацевтична композиція у формі ректальних супозиторіїв з імуноотропною дією, яка **відрізняється** тим, що як комплекс біологічно активних речовин містить густий екстракт солодкового кореня і додатково ефірні олії ромашки та чайного дерева при наступному співвідношенні компонентів (мас. %):

густи́й екстракт солодкового кореня	0,2-0,3
ефірна олія ромашки	0,008-0,012

ефірна олія чайного дерева 0,008-0,012
супозиторна основа до 1,15.

2. Композиція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що компоненти супозиторної основи вибрані з переліку: твердий жир типу А, твін-80, лецитин, вода очищена.

3. Композиція за пп. 1, 2, яка **відрізняється** тим, що містить компоненти при наступному співвідношенні (мас. %):

густий екстракт солодкового кореня	0,25
ефірна олія ромашки	0,01
ефірна олія чайного дерева	0,01
твін-80	0,05
лецитин	0,1
вода очищена	0,1
твердий жир типу А	до 1,15.

5

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

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