



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **90284** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61K 36/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2013 10806	(72) Винахідник(и): Немятих Оксана Дмитрівна (UA), Тернинко Інна Іванівна (UA), Онищенко Уляна Євгенівна (UA)
(22) Дата подання заявки: 09.09.2013	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.05.2014	(73) Власник(и): Немятих Оксана Дмитрівна, кв. Ленінського комсомолу, 8/50, м. Луганськ, 91000 (UA), Тернинко Інна Іванівна, вул. Українська, 9/32, м. Луганськ, 91000 (UA), Онищенко Уляна Євгенівна, вул. 15-а Лінія, 23/12, м. Луганськ, 91016 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.05.2014, Бюл.№ 10	

(54) ФІТОСУБСТАНЦІЯ НА ОСНОВІ СИРОВИНИ MALVA SYLVESTRIS З ПРОТИЗАПАЛЬНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ

(57) Реферат:

Фітосубстанція з протизапальною дією на основі лікарської рослинної сировини. Як лікарську рослинну сировину використовують листя, зібрані у фазі до цвітіння рослини Folia Malva sylvestris L, та корені мальви лісової - Radices Malva sylvestris L.

UA 90284 U

Корисна модель належить до медицини та хіміко-фармацевтичної промисловості, зокрема до створення, виробництва та використання засобів на основі лікарської рослинної сировини, що має протизапальну дію.

Стрімке зростання числа факторів, що чинять патогенний вплив на шкіру, в т.ч. забруднення навколишнього середовища, техногенні аварії та катастрофи, підвищення напруженості життя, часті емоційні потрясіння, метаболічні зсуви, а також ризик післяопераційних ускладнень визначають питання фармакологічної корекції запального процесу в дерматології як одне з найбільш пріоритетних для сучасної медицини та фармації.

На жаль, номенклатуру сучасних протизапальних препаратів складають, перш за все, синтетичні засоби, на фоні застосування яких ймовірна різноспрямована побічна дія.

На відміну від ліків синтетичного походження, фітозасоби володіють низькою токсичністю, що обумовлює можливість їх тривалого застосування на тлі хронічних захворювань. При цьому комплекс рослинних біологічно активних речовин забезпечує спорідненість останніх до організму людини і багатовекторність фармакологічної дії кінцевого препарату, що репрезентує фітозасоби як препарати вибору у дерматології та косметології.

Існують декілька різних засобів на основі рослинної сировини з протизапальними властивостями, зокрема засіб з діуретичною та протизапальною дією із листя берези, який включає багаторазову екстракцію рослинної сировини 70 % етанолом при кімнатній температурі, при співвідношенні сировини до екстрагенту 1:12-1:15 протягом 12 годин з наступним об'єднанням та упарюванням одержаних екстрактів. Рослинна субстанція з протизапальною та сечогінною активністю на основі трави розхідника звичайного, яка спочатку екстрагується 70 % етанолом.

Також відомим засобом є протизапальний, противиразовий, ранозагоювальний і антимікробний лікарський засіб, який містить екстракцію суміші квіток та насіння коров'яку скипетровидного 96 % етанолом [3, 6, 9].

До недоліків цих засобів можна віднести використання етанолу достатньо високої концентрації, що негативно позначається на вартості виробництва і скорочує контингент споживачів.

Існує комплекс БАР з гіпоазотермічною, гепатопротекторною, антиоксидантною та протизапальною активністю, у якому як рослинну сировину використовують листя робінії псевдоакації, що екстрагують 29-31 % етанолом та в подальшому піддають очищенню хлороформом [7].

Недоліком даного засобу можна вважати використання додаткового розчинника – хлороформу.

Відомий засіб з протизапальною, антимікробною та мембрано стабілізуючою дією, що містить траву капусти брокколі, яку піддають екстракції 50 % етанолом 6-8 разів у співвідношенні 1:5-6 протягом 10-12 годин і поліфенольний комплекс з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією, який одержують шляхом принаймні трикратної екстракції кореневища гравілату міського 50 % етанолом з подальшим упарюванням, фільтрацією та сушінням, при співвідношенні сировини до екстрагенту 1(9-11) протягом 13-15 годин, після чого сировину додатково промивають екстрагентом у кількості до 40 % від заданого співвідношення, а зливи об'єднують з сумарним екстрактом [4, 8].

До недоліків даних засобів можна віднести надмірні витрати часу, адже екстракцію рекомендовано проводити багаторазово. А також додаткове використання екстрагенту.

В останні роки увагу фармакологів, фітохіміків та технологів привертає мальва лісова - *Malva sylvestris* L., все зростаючий інтерес до якої пов'язаний, перш за все, з високою та багатогранною біологічною активністю. Так, препарати на її основі володіють відхаркувальною, обволікаючою, ранозагоювальною, регенеруючою, діуретичною дією, а розробка лікарських засобів на основі мальви є перспективним напрямком створення препаратів багатовекторної дії [12].

Попередніми фітохімічними дослідженнями [13, 14] нами встановлено вміст різноманітних БАР у сировині мальви лісової, зокрема флавоноїдів та полісахаридів, що за даними літератури зумовлюють протизапальну дію [2].

Задачею корисної моделі є експериментальне дослідження та доведення протизапальної активності густого та сухого екстрактів з сировини мальви лісової для подальшого використання як засобу з протизапальними властивостями.

Поставлена задача вирішується тим, що фітосубстанція з протизапальною дією на основі лікарської сировини, згідно з корисною моделлю як лікарську сировину використовують листя мальви лісової *Folia Radices Malva sylvestris* L., зібрані у фазі цвітіння рослини та корені мальви лісової *Radices Malva sylvestris* L.

Сухий екстракт отримували шляхом дробного екстрагування гарячою водою очищеною коренів мальви лісової з подальшим упарюванням сумарного екстракту та сушінням. Корені мальви лісової екстрагували послідовно тричі з експозицією 1 год. при співвідношенні "сировина/екстрагент" 1:10 за умов температурного режиму на рівні 90 °С. Дані параметри були визначені експериментально на підставі порівняльної оцінки співвідношення "максимальний вихід готового продукту/вміст полісахаридів" (таблиця 1).

Густий екстракт з листя мальви лісової отримували шляхом двократної екстракції рослинної сировини, зібраної у фазі до цвітіння рослини, 40 % етанолом при співвідношенні "сировина/екстрагент" 1:10 протягом 12 год. при кімнатній температурі з подальшим упарюванням сумарного екстракту та сушінням [5].

Дослідження специфічної біологічної дії проводили на безпородних статевозрілих щурах масою 180-200г відповідно до методичних рекомендацій, а також інструктивно-методичних матеріалів в рамках норм GLP з дотриманням правил роботи з лабораторними тваринами згідно вимог "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей" [15-17].

Вивчення протизапальних властивостей проводили на моделі гострого ексудативного формалінового запалення шляхом субплантарного введення 0,1 мл 2 % розчину формаліну в одну із задніх кінцівок тварин. Референс-препарати та досліджувані фітосубстанції у вигляді мазі та концентрованих гелів наносили на дослідну лапу з подальшим накладанням пластиру з марлею за 1 і 2 год. до індукції запалення [10, 11].

Як референтні препарати було обрано календули мазь, фармацевтична фабрика "Віола" (Україна) та 1 % диклофенак-гель, ТОВ "Здоров'я" (Україна).

Тварини були поділені на 5 груп (по 7 щурів у кожній). Першу склали контрольні тварини, яким в дослідну лапу субплантарно вводили 2 % розчин формаліну. Тваринам референтних груп попередньо накладали пластр з марлею, просоченою маззю календули (2 група) та 1 % диклофенак-гелем (3 група). Дослідним щурам здійснювалась аплікація вивчаємих гелевих зразків сухого (4 група) та густого (5 група) екстрактів мальви лісової за аналогічною схемою.

Індекс запалення оцінювали за зростанням запалення відносно здорової лапи та обчислювали формулою:

$$I = \frac{M_0 - M_3}{M_3} \times 100$$

де I - індекс запалення, %;

M_0 - маса набряклої лапи в дослідній групі, г;

M_3 - маса здорової лапи в дослідній групі, г.

Протизапальну активність досліджуваної субстанції визначали за здатністю зменшувати розвиток набряку у порівнянні з групою тварин контрольної патології, яку обчислювали за формулою:

$$ПА = 100\% - \frac{M_0 - M_3}{M_0^k - M_3^k} \cdot 100,$$

де ПА - протизапальна активність, %;

M_0 - маса набряклої лапи в дослідній групі, г;

M_3 - маса здорової лапи в дослідній групі, г;

M_0^k - маса набряклої лапи в контрольній групі, г;

M_3^k - маса здорової лапи в контрольній групі, г.

Коефіцієнт ексудації визначали за формулою:

$$K = \frac{D_0 - D_3}{D_3}$$

де K - коефіцієнт ексудації;

D_0 - діаметр набряклої лапи в дослідній групі, см;

D_3 - діаметр здорової лапи в дослідній групі, см.

Про антиексудативний ефект вивчаємої фітосубстанції судили за здатністю зменшувати набряк у порівнянні з контрольною групою тварин шляхом розрахунків з використанням формули:

$$A = 100\% - \frac{D_0 - D_3}{D_0^k - D_3^k} \cdot 100,$$

де A - антиексудативний ефект, %;

D_0 - діаметр набряклої лапи в дослідній групі, см;

D_3 - діаметр здорової лапи в дослідній групі, см;

D_0^k - діаметр набряклої лапи в контрольній групі, см;

D_3^k - діаметр здорової лапи в контрольній групі, см.

Результати дослідження статистично оброблені (ДФУ, стаття "Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту" розділ 4 "Метрологічна характеристика середнього результату") [1] та наведені в таблиці 2.

Отримані результати доводять, що вплив вивчаємої патології проявляється різким (на 27 %) зростанням маси та істотним (до 38 %) збільшенням діаметру дослідної лапи щурів у контрольній серії, що обумовлено розвитком набряку у місці ін'єкції розчину формальдегіду (таблиця 2).

Варто зазначити, що екстракти з сировини мальви лісової в умовах патології запального ґенезу виявляють виражені протизапальні властивості, які, перш за все, реалізуються достовірним зменшенням величин індексу запалення (на 32-45 %) та коефіцієнту ексудації (на 32-53 %) в дослідних групах тварин порівняно до контролю. Останнє, в свою чергу, дозволяє стверджувати про здатність досліджуваних фітосубстанцій коригувати процес запалення в бік зменшення останнього за вивчаємих умов експерименту.

Слід відмітити, що величина протизапальної активності в дослідній групі щурів, яким з профілактичною метою накладали гель з сухим екстрактом коренів мальви лісової, достовірно вища аналогічних значень в референтній серії дослідів з рослинним препаратом. При цьому показники антиексудативного ефекту знаходяться на рівні даного референс-засобу.

Звертає на себе увагу та обставина, що густий екстракт з листя мальви лісової виявляє вельми виражені протизапальні та антиексудативні властивості, вірогідно перевершуючи подібну дію референтних препаратів на 30-50 %.

Запропонована фітосубстанція (густий та сухий екстракти) розроблені на основі сировини (листя та коренів) мальви лісової, що є принципово новою рослиною в асортименті сировинних джерел вітчизняних фітосубстанцій з достатньою сировинною базою. Шляхом експериментальних досліджень *in vivo* доведено протизапальну дію отриманих засобів. Густий екстракт листя мальви лісової, що були зібрані у фазі до цвітіння рослини, отримували шляхом екстрагування сировини дворазово 40 % етанолом у співвідношенні сировини/екстрагент 1:10 по 12 год. Вихід готової субстанції при вищезазначених умовах складає 27,19 %. Основною групою БАР густого екстракту визначено флавоноїди, вміст яких в субстанції має бути не менше 3,50 %. Сухий екстракт коренів мальви лісової отримували екстрагуванням сировини гарячою водою тричі з експозицією 1 год. при співвідношенні "сировина/екстрагент" 1:10 за умов температурного режиму на рівні 90 °C. Вихід готового екстракту при вищезазначених умовах складає 38,73 %. При таких умовах екстракції основною групою БАР у сухому екстракті будуть полісахариди, вміст яких встановлено на рівні не менше 32,0 %.

Переваги запропонованої фітосубстанції:

1. Достатня сировинна база мальви лісової в Україні, що підкреслює перспективу розробки доступного, ефективного та безпечного вітчизняного лікарського засобу для застосування у дерматологічній практиці.

2. Рослинні субстанції виявляють виражений протизапальний ефект на фоні прийнятного профілю безпечності в умовах тривалого застосування.

Результати проведених досліджень дають підстави стверджувати про виражену протизапальну активність запропонованої фітосубстанції за модельованих умов, що реалізується зниженням рівня маркерів запального процесу та збільшенням величин протизапальної активності, а також антиексудативного ефекту в дослідних серіях експерименту порівняно до контрольної та референтних груп з залученням класичних референс-засобів.

Фітосубстанція містить комплекс біологічно активних речовин рослинного походження, що обумо

влює можливість її тривалого застосування в дерматології.

Таблиця 1

Вихід екстрактивних речовин залежно від умов екстракції

Параметри екстрагування		Сума екстрактивних речовин (загальний вихід субстанції), %	Вміст полісахаридів у субстанції, %
Температура*	50 °C	20,57±0,22	31,34±0,30
	70 °C	25,34±0,19	31,47±0,17
	90 °C	27,78±0,46	34,23±0,25
Співвідношення сировина/екстрагент**	1:5	20,29±0,13	33,03±0,21
	1:10	27,72±0,26	34,12±0,15
	1:20	28,07±0,22	34,40±0,15
Час екстракції, год.***	1год.	26,54±0,20	32,25±0,08
	2год.	27,81±0,21	34,43±0,13
	3год.	27,94±0,21	34,61±0,16
Кратність екстракції****	1раз	27,84±0,13	34,18±0,19
	2рази	31,22±0,13	33,93±0,23
	3рази	38,73±0,69	33,29±0,11

- Примітки: 1.* - екстракцію проводили водою 1:10 2 год. однократно;
 2.** - екстракцію проводили водою 2 год. однократно при 90 °C;
 3.*** - екстракцію проводили водою 1:10 однократно при 90 °C;
 4.**** - екстракцію проводили водою 1 год., 1:10 при 90 °C.

Таблиця 2

Протизапальна активність фітосубстанції

Група тварин	Індекс запалення, %	Протизапальна активність, %	Коефіцієнт ексудації	Антиексудативний ефект, %
Контрольна патологія	27,11±2,01	-	0,38±0,016	-
Дослідна (сухий екстракт мальви лісової)	18,42±0,36 P ₁ <0,01 P ₂ <0,001	27,56±0,69 P ₂ <0,001 P ₃ >0,05	0,26±0,004 P ₁ <0,001 P ₂ >0,05	22,75±0,97 P ₂ >0,05
Дослідна (густий екстракт мальви лісової)	14,79±0,18 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001 P ₃ <0,01	40,44±0,88 P ₂ <0,001 P ₃ <0,001	0,18±0,009 P ₁ <0,001 P ₂ <0,001 P ₃ >0,05	43,91±2,61 P ₂ <0,001 P ₃ <0,05
Референтна (мазь календули)	23,67±0,40 P ₁ >0,05	21,17±0,55	0,25±0,005 P ₁ <0,001	23,27±2,65
Референтна (диклофенак-гель)	16,88±0,50 P ₁ <0,01	29,50±0,93	0,21±0,01 P ₁ <0,001	33,86±1,50

Примітки:

1. P₁ - вірогідність результатів у порівнянні з контрольною групою;
 2. P₂ - вірогідність результатів у порівнянні з референтною групою (календули мазь);
 3. P₃ - вірогідність результатів у порівнянні з референтною групою (диклофенак-гель).

Джерела інформації:

1. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". - 1-е вид., доп. 1. - Х.: РІПЕГ, 2004. - 520 с.

2. Кобзар А.Я. Фармакогнозія в медицині: Навч. посібник / А.Я. Кобзар. - К.: Медицина, 2007. - 544 с.

3. Патент 20974, Україна, МПК (2006) А61К 36/00, А61Р 17/00. Протизапальний, протівиразковий, ранозагоювальний і антимікробний лікарський засіб / Іваніна О.В., Коляденко В.Г. заявник і патентоволодар Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця. - № u200609853; заявл. 14.09.2006, опубл. 15.02.2007, Бюл. № 2.

5 4. Патент 31447, Україна, МПК (2006) А 61 К 36/00, А 61 К 31/00. Спосіб одержання засобу з антимікробною, протизапальною та мембраностабілізуючою дією / Владимірова І.М., Кисличенко В.С., Малоштан Л.М. та ін. заявник і патентоволодар НФаУ. - № u200713316; заявл. 29.11.2007, опубл. 20.04.2008, Бюл. № 7.

10 5. Патент № 78784, Україна, МПК А 61К 36/00. Спосіб одержання засобу з діуретичною дією із листя мальви лісової / Тернинко І.І., Онищенко У.Є., Бурцева О.В. заявник та патентоволодар ДЗ "ЛугДМУ" - № u201213234; заявл. 20.11.2012, опубл. 25.03.2013, Бюл. № 6.

6. Патент 95690, Україна, МПК (2006) А 61 К 36/76, А 61 К 127/00. Спосіб одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією з листя берези / Хворост О.П., Кисличенко В.С., Яковлева Л.В. та ін. заявник і патентоволодар НФаУ. - № u200912704; заявл. 07.12.2009, опубл. 15 25.08.2011, Бюл. № 16.

7. Патент 22469, Україна, МПК (2006.01) А 61 К 36/483. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з гіпоазотемічною, гепатопротекторною, антиоксидантною та протизапальною активністю / Демешко О.В., Ковальов С.В., Яковлева Л.В. та ін. заявник і патентоволодар НФаУ. - № u200612195; заявл. 20.11.2006, опубл. 25.04.2007, Бюл. № 5.

20 8. Патент 96621, Україна, МПК (2006.01) А 61 К 36/73. Спосіб одержання поліфенольного комплексу з антимікробною, протизапальною та антиоксидантною дією / Козира С.А., Сербін А.Г., Кулагіна М.А. та ін. заявник і патентоволодар НФаУ. - № a200908921; заявл. 27.08.2009, опубл. 25.11.2011, Бюл. № 22.

25 9. Патент 87817, Україна, МПК (2014.01) А 61 К 36/28, А 61 Р 13/00. Спосіб одержання рослинної субстанції з протизапальною та сечогінною активністю / Марчишин С.М., Гарник М.С. заявник і патентоволодар Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. - № a201308594; заявл. 08.07.2013, опубл. 25.02.2014, Бюл. № 4.

30 10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией члена корреспондента РАМН, профессора Р.У. Хабриева. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: ОАО "Издательство "Медицина", 2005. - 832 с.

11. Сравнительная характеристика противовоспалительной активности мази и геля с экстрактом пиявки медицинской лиофилизированной / Попов Н.С. [и др.] // Современные проблемы науки образования. - 2012. - № 2. Режим доступа: www.science-education.ru/102-5813.

35 12. Тернинко І.І. Актуальність фармакогностичного вивчення мальви лісової як перспективного джерела нових лікарських засобів / І.І. Тернинко, У.Є. Онищенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. - 2011. - Т. 6. - № 1. - С. 37-41.

13. Тернинко І.І. Вивчення вуглеводних фракцій мальви лісової / І.І. Тернинко, У.Є. Онищенко // Фітотерапія. Часопис. - 2012. - № 2. - С. 76-79.

40 14. Тернинко І.І. Динаміка накопичення фенольних сполук у сировині мальви лісової в залежності від онтогенетичних та фітоценотичних факторів / І.І. Тернинко, У.Є. Онищенко, К.Т. Літвінова // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. - 2012. - Т. 7, № 3. - С. 170-173.

45 15. Adapting to technical progress the Principles of Good Laboratory Practice as specified in Council Directive 87/18/EEC on the harmonization of laws, regulations and administrative provisions relations relating to the application of the principles of good laboratory practice and the verification of their applications for tests on chemical substances. Commission Directive 1999/11/ES // Official Journal of the European Communities. - 1999. - Vol. 77. - P. 8-21.

50 16. Stiles T. The revised OESD principles of Good Laboratory Practice: a reflection upon the impact of the proposed changes on pre-clinical safety testing. Part 1. Scope, definition of terms, responsibilities / T. Stiles // Quality Assurance J. - 1997. - Vol. 2. - P. 13-18.

17. Stiles T. The revised OESD principles of Good Laboratory Practice: a reflection upon the impact of the proposed changes on pre-clinical safety testing. Part 2. Scope, definition of terms, responsibilities / T. Stiles // Quality Assurance J. - 1997. - Vol. 2. - P. 49-53.

55 ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Фітосубстанція з протизапальною дією на основі лікарської рослинної сировини, яка **відрізняється** тим, що як лікарську рослинну сировину використовують листя мальви лісової, зібрані у фазі до цвітіння рослини *Folia Malva sylvestris* L.

2. Фітосубстанція за п. 1, яка **відрізняється** тим, що як лікарську рослинну сировину використовують корені мальви лісової - *Radices Malva sylvestris* L.

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

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