

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **035673**(13) **B1**

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2020.07.24**

(21) Номер заявки  
**201791214**

(22) Дата подачи заявки  
**2016.01.04**

(51) Int. Cl. *A61P 3/04* (2006.01)  
*A61K 36/896* (2006.01)  
*A61K 36/28* (2006.01)  
*A61K 36/288* (2006.01)  
*A61K 36/53* (2006.01)  
*A61K 36/70* (2006.01)  
*A61P 13/00* (2006.01)

### (54) СМЕСЬ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЛИМФАТИЧЕСКОЙ ГИПЕРПРОНИЦАЕМОСТЬЮ

(31) **RM2015A000005**

(32) **2015.01.07**

(33) **IT**

(43) **2018.11.30**

(86) **PCT/IB2016/050023**

(87) **WO 2016/110794 2016.07.14**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**АБОКА С.П.А. СОСИЕТА'  
АГРИКОЛА (IT)**

(72) Изобретатель:  
**Меркати Валентино, Майдекки Анна  
(IT)**

(74) Представитель:  
**Угрюмов В.М. (RU)**

(56) EP-A1-2662086

FR-A1-2336922

DE-A1-3643000

US-A-6143300

KEN M.R. ET AL.: "Medicinal herbal extracts - renal friend or foe? Part two: Herbal extracts with potential renal benefits", *NEPHROLOGY*, vol. 9, no. 6, 1 December 2004 (2004-12-01), pages 400-405, XP055185346, ISSN: 1320-5358 page 403; table 1  
DATABASE WPI Week 201002 Thomson Scientific, London, GB; AN 2009-S18458 XP002738860, & CN 101584758 A (LIU M) 25 November 2009 (2009-11-25) abstract

CHRISTA K. ET AL.: "Buckwheat grains and buckwheat products - nutritional and prophylactic value of their components - a review", *CZECH JOURNAL OF FOOD SCIENCE*, PRAGUE, CZ, vol. 26, no. 3, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 153-162, XP009183949, ISSN: 1212-1800 page 158f  
SURESHKUMAR D.R.D.: "Phytotherapy of Chronic Venous Insufficiency", *HYGEIA*, vol. 4, no. 1, 1 September 2012 (2012-09-01), pages A1-A2, XP55185360, ISSN: 2229-3590 page A1

"Cyclo 3 fort and venous disease", *CONCOURS MEDICALE*, XX, XX, vol. 113, no. 27, 1 January 1991 (1991-01-01), page 2316, XP009189235, ISSN: 0010-5309 abstract

VOZZA A. ET AL.: "Papillomatosis cutis lymphostatica", *GIORNALE ITALIANO DI DERMATOLOGIA E VENEREOLOGIA*, TURIN, IT, vol. 144, no. 2, 1 April 2009 (2009-04-01), pages 211, 212, XP009189237, ISSN: 0392-0488 page 212

(57) Изобретение относится к смеси активных ингредиентов, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* или экстрактов указанных растений или из указанных растений и их экстрактов, композиции, содержащей такую смесь, и ее применениям.

**B1****035673****035673****B1**

Настоящее изобретение относится к смеси активных ингредиентов, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, или из экстрактов указанных растений, или из указанных растений и их экстрактов, композиции, содержащей такую смесь, и ее применениям. Смесь и композиция по настоящему изобретению способствуют физиологическому процессу очистки организма и показаны, в частности, для лечения патофизиологического состояния влагоудержания у страдающих ожирением пациентов, в частности для восстановления физиологической проницаемости лимфатического эндотелия. Настоящее изобретение также относится к применению композиции по настоящему изобретению и лечению патофизиологического состояния влагоудержания у страдающих ожирением пациентов посредством введения композиции по настоящему изобретению.

### Уровень техники

Лимфатическая система, помимо поддержания гомеостаза жидкостей в тканях, играет ключевую роль в иммунной защите и в поддержании метаболизма. Она, таким образом, является взаимосвязью между организмом и окружающей средой, формирующей физическую основу иммунной системы, которая посредством своих каналов и лимфатических узлов осуществляет процесс презентирования и распознавания антигенов и активацию иммунного ответа.

Таким образом, лимфатическая система необходима для выполнения иммунной функции посредством гомеостаза жидкостей в тканях посредством абсорбции жиров в кишечнике, а также посредством удаления жиров из интерстициального внутритканевого пространства в большинстве тканей.

Лимфатическая система позволяет абсорбировать жиры, получаемые из пищи, способствуя усвоению (абсорбции и накоплению) и метаболизму поглощенных липидов, в то же время ведя себя как своего рода "свалка", в которой ткани накапливают мертвые клетки, бактерии, белки, фрагменты матрикса, липиды и другие макромолекулы, которые будут распределяться в органы, предназначенные для их удаления, такие как печень, почки, кожа, легкие и толстая кишка.

Лимфатическая система выполняет следующие функции:

поддержание и регулировка иммунной системы;

абсорбция и рециркуляция внеклеточных жидкостей для поддержания гомеостаза жидкостей;

транспорт макромолекул.

В организме человека вода и растворы и, в частности, белки, присутствующие в кровотоке, фильтруются через капилляры в интерстициальное внутритканевое пространство, и для поддержания баланса этого тока интерстициальная жидкость и присутствующие в ней белки вторично поступают в кровь. Каждый день примерно 50% белков плазмы крови фильтруются из кровеносных капилляров и повторно не поглощаются венулами, а перемещаются исключительно с помощью лимфатической системы, задача которой заключается в их возврате в системный кровоток. Внесосудистое накопление белков плазмы крови вызывает ток воды из кровеносного сосуда в интерстициальное внутритканевое пространство, вызывая отек. Если бы лимфа, присутствующая в грудном потоке, отводилась в подходящий резервуар вместо системного кровотока, вся кровь в течение короткого периода времени превратилась бы в лимфу. Это угрожает жизни и демонстрирует огромное значение лимфатической системы в возврате в кровь таких белков и жидкостей, которые высвободились из капилляров.

Интерстициальная жидкость у здоровых индивидуумов составляет примерно 20% массы тела и регулируется различными временными механизмами, включая структурные изменения, регулировку сил, действующих через сосуды (например, осмотическое, онкотическое и гидростатическое давление), и ток лимфы.

В большинстве тканей лимфатические сосуды собирают плазму и белки, которые выходят из кровеносных капилляров. Помимо жидкостей и белков, лимфа в брыжеечных лимфатических узлах содержит жиры, транспортируемые из просвета кишечника и собранные центральными лимфатическими капиллярами (первичными лимфатическими капиллярами), расположенными в кишечных ворсинках.

Концентрация липидов в кишечной лимфе составляет примерно 1-2% и сильно зависит от структуры питания. Ток кишечной лимфы значительно увеличивается после употребления в пищу жиров. Это действие можно интерпретировать как регулировку увеличенного содержания липидов и как средство, способствующее их проведению через лимфатические сосуды для распределения по всему организму. Недавние исследования указывают на повышение сократимости брыжеечных лимфатических сосудов в присутствии окисленных липопротеинов низкой плотности (ox-LDL), что свидетельствует о непосредственном эффекте липидов на лимфатическую сократимость. Таким образом, брыжеечные лимфатические сосуды являются основополагающими для удаления абсорбированных кишечником липидов и для поддержания пищеварительного гомеостаза.

Увеличение жидкости в интерстициальном пространстве приводит к изменениям, зачастую значительным изменениям, в структуре кожи и подкожных тканей. Поскольку лимфостаз становится хроническим и в связи с возникающим отеком возникает предрасположенность к увеличению числа фибробластов, адипоцитов и кератиноцитов в отечной ткани. Такие изменения в составе ткани приводят к утолщению кожи и фиброзу подкожной ткани, однако эти события не полностью изучены. В случае лимфедемы, т.е. стадии, следующей за фиброзом, в дополнение к лимфостазу и нарушению структуры ткани

наблюдают воспаление.

Из приведенных в литературе данных тестов видно, что потеря лимфы в тканях оказывает адипогенный и воспалительный эффект.

Лимфедема представляет собой накопление лимфатической жидкости в интерстициальных тканях, что вызывает сильную отечность, особенно конечностей, таких как руки и ноги, а в редких случаях также и других частей тела. Лимфедема может быть первичной, иными словами вызванной собственно изменением лимфатической системы, или может быть вторичной по отношению к удалению лимфатических узлов после хирургических вмешательств, таких как мастэктомия, при которой, помимо удаления ткани молочной железы, также иссекают сопутствующие лимфатические узлы.

В случае тяжелого истощения лимфатической системы происходит сильное накопление лимфатических жидкостей, которое будет превышать способность собственно лимфатической системы к дренированию, что приводит к последующему возврату богатых белками жидкостей, которое, если его не лечить, уменьшает оксигенацию тканей, препятствует процессам рубцевания и может предоставить площадь для бактериального роста, осложняя клиническую картину при лимфангите.

Лимфедема отличается от отека, который возникает в случаях венозной недостаточности, но в этом случае она также может развиваться в нарушение, характеризующееся сочетанным изменением венозной системы, а также лимфатической системы при неправильном лечении.

Лимфедема представляет собой патологическое состояние, характеризующееся накоплением жира, прежде всего в нижних конечностях, и обычно проявляется по направлению книзу, другими словами формируется от верхней части конечностей, т.е. вниз от бедер, что приводит к развитию типичного внешнего признака "галифе". Лимфедема может ухудшиться с развитием отечно-фибросклеротической панникулопатии, вплоть до образования подкожных узелков. В некоторых случаях медиальные жировые отложения можно наблюдать в коленном суставе.

Субъекты с лимфедемой часто сообщают, что ткань причиняет болевые ощущения и восприимчива к синякам после небольших травм.

Периферическая микроангиопатия развивается в лимфедематозной ткани и вызывает повышение проницаемости сосудов с накоплением жидкости, имеющей высокое содержание белка во внеклеточном матриксе. Накопление жидкости вызывает дилатацию прелимфатических путей, уменьшая отток по ним. Также наблюдаются морфологические и функциональные изменения лимфатических капилляров, например формирование микроаневризм.

В дополнение к этому наблюдают нарушение двигательной активности лимфангиона (который представляет собой анатомофункциональную единицу лимфатического коллектора или сегмент, расположенный между одним клапанным механизмом и другим). Кожа склонна к потере тонуса и оказывает меньше воздействия на сосуды и ткани, и для увеличения интерстициального давления существует потребность в большем количестве интерстициальной жидкости. Таким образом также нарушается функция дренажа лимфы, и, в результате, остается менее значимый пассивный механизм защиты от развития отеков.

Из накопленных знаний и результатов последних исследований видно, что лимфатическая система и жировая ткань являются анатомически и функционально родственными.

Недостаточность лимфатических сосудов, вызванная анатомическими аномалиями, поражениями, обструкцией или инфекцией, приводит к накоплению интерстициальной жидкости, и белков, и липидов в пораженной ткани.

В случае как первичной, так и вторичной лимфедемы, если не устранить хроническое воспаление, начнется развитие фиброза и накопление жировой ткани, и еще в XIX веке немецкий дерматолог подтвердил, что застой жидкостей в тканях способен вызывать накопление жира. В последнее время были проведены исследования на мышах Chu, и было продемонстрировано, что лимфа является мощным стимулятором дифференцировки адипоцитов, а также что лимфа оказывает синергический эффект с инсулином, когда дело касается стимуляции адипогенеза. Кроме того, лимфостаз увеличивает экспрессию адипонектина, который, как известно, увеличивается в периоды накопления жиров и уменьшается при гипертрофии и тканевой гипоксии.

Увеличение лимфангиогенеза также ассоциировано с воспалительными заболеваниями, такими как псориаз и хроническое воспаление дыхательных путей:

1) хроническое воспаление может способствовать возникновению массы жировой ткани с целью удовлетворения основной потребности в энергии, вызванной активацией иммунных клеток во время событий сигнального каскада, и

2) хроническое воспаление может способствовать большему адипогенезу посредством стимуляции лимфангиогенеза, ухудшая высвобождение лимфы в пораженной жировой ткани.

В схеме, показанной на фиг. 10, подытожены проблемы, ассоциированные с влагоудержанием у страдающих ожирением лиц.

Из схемы ясно видно, что страдающие ожирением субъекты склонны накапливать жидкости, что ухудшает состояния, приводя к уменьшению лимфатического дренажа и повышению проницаемости лимфатических и кровеносных сосудов с последующим разрушением внеклеточного матрикса и после-

дующим воспалением и уменьшением экскреции  $\text{Na}^+$  из почек, также связанного с нарушением работы ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, присутствующего у страдающих ожирением индивидуумов.

Несмотря на то, что существует множество продуктов для лечения влагоудержания и отеков у страдающих ожирением индивидуумов, необходимы новые композиции, которые учитывают сложную патофизиологическую картину, ассоциированную с ожирением.

#### **Краткое раскрытие сущности изобретения**

Настоящее изобретение относится к композиции, которая:

i) воздействует на проницаемость кровеносных сосудов и лимфатических сосудов у страдающих ожирением индивидуумов, у которых в связи с этим проявляется воспаление таких тканей, уменьшая отток (т.е. чрезмерное выделение по сравнению с физиологическим выделением) жидкостей из лимфатической системы и из системы кровообращения, таким образом возвращая лимфатический эндотелий в физиологическое состояние;

ii) восстанавливает надлежащую канализацию в лимфатической системе, обеспечивая надлежащую реабсорбцию жидкостей и молекул воспаления в ней, что в результате также устраняет порочный круг, связанный с лимфатическим адипогенезом;

iii) оказывает мочегонный эффект.

Композиция по настоящему изобретению содержит экстракты растений, которые в отдельности оказывают некоторые благоприятные эффекты и другие отрицательные эффекты и которые при надлежащем смешивании способны оказывать общий эффект, который удовлетворяет вышеупомянутым требованиям.

Авторами настоящего изобретения были проведены тесты на проницаемость эндотелия для оценки эффектов многочисленных растительных экстрактов на проницаемость у здоровых клеточных культур лимфоцитов и клеток кровеносных сосудов и у клеточных культур лимфоцитов и клеток кровеносных сосудов, предварительно обработанных вызывающими воспаление средствами, такими как  $\text{IL-1}\beta$ , для моделирования состояния лимфатических и венозных сосудов у страдающих ожирением индивидуумов, при котором соответственно имеет место хроническое воспаление таких тканей.

Из полученных данных видно, что растения, оказывающие необходимые мочегонные эффекты или эффекты, стимулирующие повышение концентрации в лимфангионе, не были активны в восстановлении надлежащей проницаемости лимфоцитов или кровеносных сосудов, предварительно обработанных  $\text{IL-1}\beta$  (т.е. увеличение проницаемости сосудов относительно физиологической проницаемости, наблюдаемой для клеток таких типов, обработанных плацебо), что означает, что применение таких растений, если их рассматривать индивидуально, не удовлетворяет вышеуказанным потребностям.

Авторами настоящего изобретения с целью создания композиции, которая отвечает вышеуказанным требованиям, была выявлена группа растений, смешанные экстракты из которых удовлетворяют вышеуказанным требованиям, в то время как у экстрактов отдельных растений присутствуют эффекты, которые не удовлетворяют вышеуказанным требованиям, такие как повышение проницаемости кровеносных и/или лимфатических сосудов у клеток, предварительно обработанных вызывающими воспаление средствами, такими как  $\text{IL-1}\beta$ . В смеси активных ингредиентов по настоящему изобретению авторы настоящего изобретения смогли посредством подходящего смешивания использовать некоторые растения с целью получения некоторых их необходимых эффектов и ограничения их побочных эффектов, не удовлетворяющих указанным выше требованиям, с получением, таким образом, смеси, способной возвращать лимфатический эндотелий, поврежденный вызывающими воспаление средствами, в состояние физиологической проницаемости.

Таким образом, настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, смеси, состоящей из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, и смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* и из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*.

Настоящее изобретение также относится к композиции, содержащей в качестве единственных активных ингредиентов смесь, состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, и по меньшей мере один наполнитель или одно вспомогательное средство.

Настоящее изобретение также относится к композиции, содержащей в качестве единственных активных ингредиентов смесь, состоящую из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, и по меньшей мере один наполнитель или одно вспомогательное средство.

Настоящее изобретение также относится к композиции, содержащей в качестве единственных активных ингредиентов смесь, состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* и из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*,

*Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*.

Таким образом, настоящее изобретение относится к применению смеси или композиции, которые определены выше и более подробно описаны ниже и в формуле изобретения, при лечении патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью. В частности, из полученных и опубликованных данных видна пригодность смеси или композиции по настоящему изобретению для применения при патологиях, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, которые представляют собой нарушение целостности лимфатического эндотелия.

Тем не менее, настоящее изобретение также относится к смеси или композиции, которые описаны и заявлены в настоящем документе, для применения при патологиях, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, причем указанные патологии выбраны из хронического воспаления, лимфедемы, липедемы и патологии влагоудержания, в частности, ассоциированной с ожирением.

Другими словами, настоящее изобретение также относится к указанным смесям или указанным композициям для применения при лечении лимфатического эндотелия, подвергнутого действию вызывающих воспаление средств, и, более того, для возвращения лимфатическому эндотелию его физиологической проницаемости.

Настоящее изобретение также относится к способу лечения патофизиологического состояния влагоудержания, в частности, ассоциированного с ожирением, причем указанный способ предусматривает введение нуждающимся в том субъектам терапевтически эффективных количеств смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, или их экстрактов, или из указанных растений и их экстрактов, или композиции, содержащей в качестве единственных активных ингредиентов смесь, состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, или смесь, состоящую из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, или смесь, состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* и экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый наполнитель и/или одно фармацевтически приемлемое вспомогательное средство.

#### Краткое описание чертежей

На фиг. 1 схематично представлена модель, используемая авторами настоящего изобретения для проведения теста на проницаемость и изучения эффектов различных тестируемых экстрактов на эндотелий кровеносных или лимфатических сосудов у страдающих ожирением индивидуумов (и у индивидуумов, у которых кровеносные и лимфатические сосуды подвергаются действию вызывающих воспаление средств).

В блоке А на фиг. 1 показана модель, в которой эндотелиальные клетки лимфатических или кровеносных сосудов измеряют в культуре на полупроницаемой мембране в присутствии культуральной среды над и под указанной мембраной, обеспечивающей прохождение присутствующих в среде компонентов, если клетки не имеют жесткой связи друг с другом, и вводят молекулы FITCH-декстрана в культуральную среду над клетками.

Количественная оценка с помощью флуоресценции комплекса FITCH-декстран позволяет получить показатель проницаемости эндотелия.

Для проверки активности ингредиентов после достижения клетками конfluence среды удаляют, вносят образцы (порошки, экстракты одной из смесей) и оставляют взаимодействовать на 18 ч. Без замены клеточной среды добавляют IL1-бета (10 нг/мл, 1 ч). По истечении времени стимуляции среду удаляют и добавляют 3 мкМ FITCH-декстран.

В блоке В на фиг. 1 можно видеть, что воздействие на эндотелиальные клетки вызывающим воспаление средством, таким как IL-1 $\beta$ , вызывает возникновение щелей между клетками с последующим повышением проницаемости эндотелия.

В моделях по настоящему изобретению были использованы клетки, коммерчески доступные от PromoCell под названием "клетки эндотелия лимфатических сосудов в дерме человека от взрослого донора (Human Dermal Lymphatic Endothelial Cells (HDLEC))", с каталожным номером C-12217.

На фиг. 2 представлены результаты теста на проницаемость, выполненного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных экстрактом *Fagopyrum esculentum*, а затем обработанных IL1-бета. На фигуре видно, что эндотелиальные клетки, обработанные IL-1 $\beta$ , подвергаются повышению проницаемости от 100% (обычно присущему здоровым клеткам) до примерно 160%, и что отдельный экстракт может вернуть проницаемость до значений, близких к исходным значениям, только при более высокой тестируемой концентрации, что свидетельствует о более слабом защитном эффекте смеси по настоящему изобретению.

На фиг. 3 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных экстрактом *Orthosiphon stamineus*, а затем обработанных IL1-бета. На фигуре видно, что данный экстракт является единственным протестированным экстрактом, способным восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток, посред-

ством более низкой концентрации, но что при более высокой концентрации он снижает уровень проницаемости клеток ниже нормального состояния (обычно обозначаемого как 100%), останавливаясь на уровне около 80%.

На фиг. 4 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных экстрактом *Solidago virgaurea*, а затем обработанных IL-1-бета. На фигуре видно, что экстракт не способен восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток, и практически не оказывает никакого эффекта на проницаемость эндотелия.

На фиг. 5 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных совместным экстрактом *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* (3:1 до совместной экстракции), а затем обработанных IL-1-бета. На фигуре видно, что совместный экстракт не способен восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток, и что такой совместный экстракт при большей концентрации даже оказывал отрицательный эффект на проницаемость изначально воспаленного эндотелия.

На фиг. 6 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных экстрактом *Taraxacum officinalis*, а затем обработанных IL-1-бета. На фигуре видно, что экстракт не способен восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток.

На фиг. 7 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных экстрактом *Ruscus aculeatus*, а затем обработанных IL-1-бета. На фигуре видно, что экстракт не способен восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток, и что этот экстракт минимально влияет на эффект IL-1-бета в обеих концентрациях.

На фиг. 8 представлены результаты теста на проницаемость, проведенного на лимфатических эндотелиальных клетках, предварительно обработанных смесью экстрактов согласно настоящему изобретению, а затем обработанных IL-1-бета. На фигуре видно, что смесь, к удивлению, способна восстанавливать проницаемость, равную проницаемости здоровых клеток.

На фиг. 9 приведены данные, которые получены при выполнении в трех повторностях тестов и подтверждают большинство случаев, которые уже показаны на предыдущих фигурах, а также из нее видно, что результаты, представленные на фиг. 8, являются значимыми в отношении повреждения, нанесенного воздействием IL-1 $\beta$  для всех тестируемых концентраций, и что смесь экстрактов значимо не изменяет проницаемость здоровых клеток, ни уменьшая, ни повышая ее. В этих экспериментах в дополнение к данным, касающимся клеток, обработанных IL-1-бета и подлежащим тестированию продуктом, были также проанализированы данные, касающиеся клеток без обработки IL-1-бета, а с обработкой только подлежащему тестированию продуктом (экстрактом или смесью по настоящему изобретению).

В частности, на фиг. 9A представлены данные, полученные с клетками HDLEC, обработанными или не обработанными IL-1-бета и экстрактами *Fagopyrum esculentum*. Из фиг. 9A можно видеть, что экстракт способен восстанавливать проницаемость до значений, близких к исходным значениям, только при наиболее высоких тестируемых концентрациях, свидетельствуя о более слабом защитном эффекте по сравнению со смесью по настоящему изобретению. Тем не менее, также будет очевидно, что такая же концентрация оказывает такой же эффект, снижая исходную проницаемость, на клетки, которые не были обработаны IL-1-бета, что является нежелательным эффектом. На фиг. 9B показаны данные, полученные с *Taraxacum officinalis* (которые соответствуют данным, приведенным на фиг. 6), а также показаны важные данные, которые заключаются в том, что на уровне 1 мкг/мл наблюдается значимое снижение исходной проницаемости, что является нежелательным эффектом. На фиг. 9C показаны данные, полученные с *Ruscus aculeatus*, свидетельствующие о разумной изменчивости эффекта этих экстрактов на проницаемость клеток, и из которых, в любом случае, видно, что эти экстракты не способны восстанавливать статистически значимым образом такую проницаемость, как и в необработанном образце, причем из упомянутых данных также видна тенденция к увеличению проницаемости лимфатического эндотелия, не подвергнутого обработке с помощью IL-1-бета.

На фиг. 9D показаны данные, полученные с *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, согласующиеся с данными, представленными на фиг. 5; на фигуре также видно, что такие экстракты значимо увеличивают проницаемость лимфатического эндотелия, не подвергнутого обработке IL-1-бета, оказывая таким образом нежелательный эффект.

На фиг. 9E показаны данные, полученные со смесью по настоящему изобретению, которая оказывает эффект, полностью нормализуя проницаемость клеток, подвергнутых воздействию интерлейкина, при любой тестируемой концентрации. На фигуре также показано, что смесь не вызывает практически никакого отклонения в проницаемости лимфатического эндотелия, обработанного только этой смесью. На фиг. 9F показаны данные, полученные при обработке клеток рутином (5 мкг/мл) в качестве положительного контроля, а на фиг. 9G показаны данные, полученные при обработке клеток HDBEC смесью по настоящему изобретению, свидетельствующие о нормализующем эффекте смеси даже на эндотелиальные клетки кровеносных сосудов.

Символ \* указывает на значимость от исходного уровня, а символ # указывает на значимость от

0+IL-1-бета.

На фиг. 10 показана схема, в которой подытожены проблемы, ассоциированные с влагоудержанием у страдающих ожирением лиц.

На фиг. 11 представлены данные иммунофлуоресцентного анализа окклюдина (верхние блоки) и белка ZO-1 (нижние блоки) в конфлюэнтных клетках HDLEC (A) и HDBEC (B), обработанных следующими стимулами: без стимула, только IL-1-бета (10 нг/мл, 1 ч), только смесью по настоящему изобретению (10 мкг/мл, 18 ч); смесью по настоящему изобретению (18 ч)+IL-1-бета (1 ч). Конфокальные изображения были сделаны с 60-кратным увеличением, масштабная метка=10 мкм.

Окклюдин и ZO-1 оценивали в качестве маркеров, характерных для плотных контактов эндотелиальных клеток. Конфлюэнтные клетки экспрессируют такие маркеры, в то же время они уменьшаются после обработки посредством IL-1-бета. Из результатов предварительной инкубации со смесью по настоящему изобретению видно, что такая обработка позволяет сохранить межклеточные контакты интактными даже после обработки посредством IL-1-бета.

На фиг. 12 показаны данные, полученные при обработке клеток HDLEC ингибиторами NOS, L-NMMA. На фиг. 12A показан эффект на проницаемость клеток HDLEC после обработки посредством IL-1-бета (10 нг/мл, 1 ч), L-NMMA 100, мкМ, и IL-1-бета+L-NMMA с использованием смеси по настоящему изобретению и без такой смеси (10 мкг/мл, 18 ч). На фиг. 12B представлены аналитические данные, полученные с помощью вестерн-блоттинга, в отношении продуцирования eNOS в клетках HDLEC после воздействия смесью по настоящему изобретению (10 мкг/мл, 18 ч). На графиках представлены результаты количественной оценки представляющего интерес белка относительно актина, выраженные в A.D.U.

На фиг. 13 представлены данные касательно продуцирования iNOS и COX-2 (соответственно блоки A и B) в клетках HDLEC после воздействия смесью по настоящему изобретению, A.D.U., опять же 10 мкг/мл, 18 ч.

На фиг. 14 в блоках A, B и C представлены данные касательно продуцирования соответственно SOD-1, каталазы и p22phox в клетках HDLEC после воздействия смесью по настоящему изобретению, 10 мкг/мл, 18 ч. \*\*P<0,01 относительно исходного уровня. Количественную оценку проводили относительно актина, и данные приведены в A.D.U. Блок D, продуцирование ROS в клетках, простимулированных IL-1-бета (10 нг/мл в течение одного часа) со смесью по настоящему изобретению или без нее (10 мкг/мл, 18 ч). Данные выражены как единица относительной флуоресценции (RFU)/количество клеток (n=3), \*P<0,05 и \*\*\*P<0,001 относительно исходного уровня. ###P<0,001 относительно IL-1-бета (для всех экспериментов на фиг. 12B, 13 и 14 данные представлены в A.D.U., n=3).

Как указано на фиг. 2-9 и 11-14, результат является результатом экспериментов, проведенных в трех повторностях для каждого тестируемого соединения.

Аббревиатуры, используемые на чертежах и в тексте.

FBS - эмбриональная бычья сыворотка, COX-2 - циклооксигеназа 2, eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота, HDLEC - клетки эндотелия лимфатических сосудов в дерме человека, HDBEC - клетки эндотелия кровеносных сосудов в дерме человека, iNOS индуцируемая синтаза оксида азота, IL-1 $\beta$  - интерлейкин бета, L-NMMA - L-N<sup>G</sup>-монометил-аргинин, ROS - активные формы кислорода, SOD-1 - супероксиддисмутаза 1, TNF $\alpha$  - фактор некроза опухоли альфа, ZO-1 - запирающая зона 1.

#### **Подробное раскрытие сущности изобретения**

Авторами настоящего изобретения была использована клеточная модель лимфатических сосудов и кровеносных сосудов, подвергнутых воздействию вызывающих воспаление средств (таких как присутствующие у страдающих ожирением индивидуумов, которые продуцируются адипоцитами воспаления) для оценки эффектов различных растительных экстрактов, обладающих необходимыми действиями, такими как мочегонные действия, например *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, или действия, заключающиеся в индукции сокращения основной единицы лимфатических сосудов (лимфангиона), например *Ruscus aculeatus*, на проницаемость лимфатических и кровеносных сосудов.

Фактически известно, что у страдающих ожирением индивидуумов наблюдается повышение проницаемости таких сосудов с последующим нефизиологическим выделением жидкостей из таких сосудов и невозможностью их реабсорбции и надлежащего направления таких жидкостей и молекул воспаления, проникших из кровеносных и лимфатических сосудов, с последующим адипогенным эффектом жидкостей, выделенных из лимфатических сосудов, и, следовательно, созданием порочного круга, связанного с патофизиологическим состоянием удержания воды, ассоциированным с ожирением.

Поэтому авторы настоящего изобретения сосредоточили свое внимание на эффектах, оказываемых на проницаемость лимфатических сосудов и кровеносных сосудов, вызываемых растительными экстрактами, которые потенциально оказывают благоприятный эффект с точки зрения стимуляции сокращения лимфангиона (сокращение лимфатических сосудов и возможное улучшение канализации лимфатических жидкостей) или диуреза.

Поэтому авторы использовали модель, схематически показанную на фиг. 1, для исследования эффектов различных растительных экстрактов на эндотелий кровеносных или лимфатических сосудов. Как видно на фиг. 1, воздействие на эндотелиальные клетки цитокином (как в случае условий воспаления,

имеющего место у страдающих ожирением индивидуумов) изменяет целостность сосудистого эндотелия, который становится более проницаемым для прохождения жидкостей. Степень проницаемости была определена посредством эксперимента путем измерения количества флуоресцентного зонда, которое пересекает эндотелиальный барьер, разделяющий два компартмента, представляющий собой соответственно просвет сосуда (над полупроницаемой мембраной) и интерстициальное внутритканевое пространство (под полупроницаемой мембраной).

В среду над полупроницаемой мембраной вводили увеличивающиеся количества экстрактов различных растений и изучали их эффект на эндотелиальную проницаемость. Аналогичный эксперимент проводили со смесью по настоящему изобретению. Установив в качестве значения проницаемости, равного 100%, значение, равное величине, наблюдаемой в здоровых клетках, не подвергавшихся воздействию цитокином, можно было видеть, что только *Ortosiphon stamineus* успешно снижал проницаемость лимфатического эндотелия по меньшей мере до 100% в концентрации 10 мкг/мл (фиг. 3), тогда как в более высоких дозах эта проницаемость уменьшалась даже слишком сильно, тогда как в совместном экстракте с *Solidago virgaurea* он не оказывал положительного эффекта на проницаемость лимфатического эндотелия (фиг. 5), и никакой другой отдельный экстракт не был способен вернуть проницаемость до 100% (фиг. 2, 4, 6 и 7). Из данных, полученных авторами настоящего изобретения, видно, что, между тем, к удивлению, смесь по настоящему изобретению (в которой *Ortosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea* также присутствуют в виде совместных экстрактов) способна вернуть проницаемость лимфатического эндотелия до 100% в любой тестируемой концентрации (фиг. 8 и 9E).

Другими словами, авторами настоящего изобретения было продемонстрировано, что смесь по настоящему изобретению способна снижать гиперпроницаемость лимфатического эндотелия в любой тестируемой концентрации превосходящим образом относительно любого индивидуально тестируемого компонента, что свидетельствует о том, что подобранная комбинация оптимально и постоянно защищает надлежащую проницаемость лимфатического эндотелия. Авторами также было продемонстрировано, что в отличие от большинства отдельных экстрактов смесь по настоящему изобретению не приводит к каким-либо модификациям проницаемости лимфатического эндотелия в отсутствие вызывающего воспаления средства, в частности цитокина, что указывает на то, что такая смесь, следовательно, не будет оказывать нежелательные побочные эффекты на здоровый эндотелий.

Авторами настоящего изобретения также было обнаружено, что совместная экстракция *Ortosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea* дает совместный экстракт, обладающий лучшими диуретическими действиями по сравнению с теми, которые были получены в результате простого добавления отдельных экстрактов от двух растений.

Кроме того, авторами настоящего изобретения было продемонстрировано, что подобранная ими смесь, которая описана и заявлена в настоящем документе, оказывает свой эффект на клеточную проницаемость, способствуя сохранению целостности плотных контактов, и что указанная смесь также уменьшает экспрессию элементов воспаления, таких как индуцируемая синтаза оксида азота (iNOS) и циклооксигеназа 2 (COX-2), без изменения для эндотелиальной NOS (eNOS), демонстрируя, тем самым, что смесь также пригодна для улучшения состояний, связанных с модифицированной лимфатической циркуляцией, и для поддержания физиологической функциональности лимфатического эндотелия.

Таким образом, подбор экстрактов, осуществленный авторами настоящего изобретения, дает смесь, которая, следовательно, удовлетворяет всем перечисленным ниже запросам, то есть она:

- i) воздействует на проницаемость кровеносных сосудов и лимфатических сосудов у страдающих ожирением индивидуумов, у которых в связи с этим проявляется воспаление таких тканей, уменьшая отток (другими словами чрезмерное выделение по сравнению с физиологическим выделением) жидкостей из лимфатической системы и из системы кровообращения;
- ii) восстанавливает надлежащую канализацию в лимфатической системе, обеспечивая надлежащую реабсорбцию жидкостей и молекул воспаления в ней, что затем также устраняет порочный круг, ассоциированный с лимфатическим адипогенезом;
- iii) оказывает мочегонный эффект

и в то же время не оказывает нежелательных побочных эффектов, ассоциированных с отдельными экстрактами растений, которые формируют смесь по настоящему изобретению, особенно в отношении проницаемости лимфатического эндотелия.

Таким образом, настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, или к смеси, состоящей из экстрактов указанных растений, или к смеси, состоящей из указанных растений и из экстрактов указанных растений.

В контексте настоящего изобретения термин "*Taraxacum officinalis*" означает корни указанного растения или термин "экстракт *Taraxacum officinalis*" означает водно-спиртовой экстракт (такой как этанол/вода, 40-70%, например 60%) корней *Taraxacum officinalis*.

В контексте настоящего изобретения термин "*Fagopyrum esculentum*" означает листья указанного растения или термин "экстракт *Fagopyrum esculentum*" означает водно-спиртовой экстракт (такой как этанол/вода, 40-80%, например 70%) листьев *Fagopyrum esculentum*.



В контексте настоящего изобретения термин "*Solidago virgaurea*" означает верхушки указанного растения или термин "экстракт *Solidago virgaurea*" означает экстракт (такой как этанол/вода, 30-60%, например 40%) верхушек *Solidago virgaurea*.

В контексте настоящего изобретения термин "*Orthosiphon stamineus*" означает листья указанного растения или термин "экстракт *Orthosiphon stamineus*" означает экстракт (такой как этанол/вода, 40-70%, например 50%) листьев *Orthosiphon stamineus*.

В контексте настоящего изобретения термин "*Ruscus aculeatus*" означает корневище и/или корни указанного растения или термин "экстракт *Ruscus aculeatus*" означает экстракт (такой как этанол/вода, 40-80%, например 70%) корневища или корня *Ruscus aculeatus*.

Части растения могут быть свежими или высушенными.

В контексте настоящего изобретения термин "совместный экстракт *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*" означает экстракт верхушек *Solidago virgaurea* и листьев *Orthosiphon stamineus*, полученный путем внесения соответствующих частей каждого растения в один и тот же растворитель, например листьев *Solidago virgaurea* и листьев *Orthosiphon* в соотношении 1:1, или 2:1, или 3:1, и путем проведения экстракции в соответствии со стандартной методикой с получением водно-спиртового экстракта (такого как этанол/вода, 40-70%, например 50%).

Каждый из вышеупомянутых экстрактов может иметь лиофилизированную форму.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus* *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, в соответствии с другим вариантом осуществления настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Orthosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea*, и в соответствии с еще одним вариантом осуществления настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus* *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* и из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Orthosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea*, причем все три смеси предназначены для применения при лечении патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью. В частности, из полученных и опубликованных данных видна пригодность смеси по настоящему изобретению для применения при патологиях, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, в частности для лечения патологий, которые представляют собой нарушение целостности лимфатического эндотелия, и которые могут быть выбраны, например, для лечения хронического воспаления, лимфедемы, липоэдемы и патофизиологического состояния влагоудержания, в частности, в случаях, когда указанное патофизиологическое состояние ассоциировано с застоем кровообращения, лимфедемой и/или воспалением тканей, например, у страдающих ожирением индивидуумов. В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения смесь предназначена для применения при лечении лимфатического эндотелия, подвергнутого воздействию вызывающих воспаление средств, с тем чтобы вернуть указанному эндотелию состояние проницаемости, схожее или эквивалентное здоровому (физиологическому) лимфатическому эндотелию.

В соответствии с настоящим изобретением при отсылке к тому факту, что определенный компонент составляет от x% до y% смеси по настоящему изобретению, это означает, что указанный компонент составляет от x% до y% массы смеси по настоящему изобретению, предпочтительно сухой массы.

В соответствии с одним вариантом осуществления *Taraxacum officinalis* составляет от 12 до 33% смеси по настоящему изобретению, *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 25% смеси по настоящему изобретению, а *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon* составляют, в целом, от 35 до 55% смеси по настоящему изобретению.

*Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* предпочтительно представлены в соотношении 1:1, 2:1, или 3:1, или 4:1, более предпочтительно в соотношении 3:1.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения указанный экстракт *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% смеси по настоящему изобретению, указанный экстракт *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% смеси по настоящему изобретению, указанный экстракт *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 12% смеси по настоящему изобретению, а указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon* составляют, в целом, от 35 до 55% смеси по настоящему изобретению. В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления настоящего изобретения экстракт *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* получен путем внесения соответствующих частей каждого растения в один и тот же растворитель, например листьев *Solidago virgaurea* и листьев *Orthosiphon stamineus* в соотношении 1:1, 2:1 или 3:1, и путем проведения экстракции в соответствии со стандартной методикой, которая описана выше. В этом случае описываемый экстракт в настоящем документе согласно настоящему изобретению также обозначают как совместный экстракт *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*.

Тем не менее, в соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения указанный экстракт *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% смеси по настоящему изобретению, указанный экстракт *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% смеси по настоящему изобретению, указанный экстракт *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 12% смеси по настоящему изобретению, а указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* имеют форму совместного экстракта, составляюще-

го от 35 до 55% смеси по настоящему изобретению.

В соответствии с еще одним вариантом осуществления активные ингредиенты могут содержать указанную выше смесь растений и указанную выше смесь экстрактов.

В соответствии с настоящим описанием значения, указанные в процентном диапазоне, включают определенно все целые числа и все десятичные числа от одного конца до другого в диапазоне, включая крайние значения. Таким образом, при отсылке в настоящем описании изобретения к "от 23 до 33%" в любой точке описания и в любом варианте осуществления смеси или композиции, содержащей смесь, это означает 23, 23,5, 24, 24,5, 25, 25,5, 26, 26,5, 27, 27,5, 28, 28,5, 29, 29,5, 30, 30,5, 31, 31,5, 32, 32,5, 33%, а также другие десятичные знаки, заключенные между ними.

Аналогичным образом, при отсылке в настоящем описании изобретения к "от 12 до 25%" в любой точке описания и в любом варианте осуществления смеси или композиции, содержащей смесь, это означает 12, 12,5, 13, 13,5, 14, 14,5, 15, 15,5, 16, 16,5, 17, 17,5, 18, 18,5, 19, 19,5, 20, 20,5, 21, 21,5, 22, 22,5, 23, 23,5, 24, 24,5, 25%, а также другие десятичные знаки, заключенные между ними.

При отсылке в настоящем описании изобретения к "от 6 до 12%" в любой точке описания и в любом варианте осуществления смеси или композиции, содержащей смесь, это означает 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5, 11, 11,5, 12%, а также другие десятичные знаки, заключенные между ними.

Наконец, при отсылке в настоящем описании изобретения к "от 35 до 55%" в любой точке описания и в любом варианте осуществления смеси или композиции, содержащей смесь, это означает 35, 35,5, 36, 36,5, 37, 37,5, 38, 38,5, 39, 39,5, 40, 40,5, 41, 41,5, 42, 42,5, 43, 43,5, 44, 44,5, 45, 45,5, 46, 46,5, 47, 47,5, 48, 48,5, 49, 49,5, 50, 50,5, 51, 51,5, 52, 52,5, 53, 53,5, 54, 54,5, 55%, а также другие десятичные знаки, заключенные между ними.

Настоящее изобретение, как уже упоминалось, также относится к композиции, содержащей в качестве единственных активных ингредиентов смесь в соответствии с любым из описанных выше вариантов осуществления, состоящую из экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Orthosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea*, и по меньшей мере один наполнитель или одно вспомогательное средство, в соответствии с альтернативным вариантом осуществления настоящее изобретение также относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Orthosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea* и по меньшей мере одного наполнителя или вспомогательного средства, и в соответствии со следующим вариантом осуществления настоящее изобретение относится к смеси, состоящей из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Solidago virgaurea*, *Orthosiphon stamineus* и *Ruscus aculeatus* и экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Solidago virgaurea*, *Orthosiphon stamineus* и *Ruscus aculeatus*.

Таким образом, такая композиция содержит в качестве единственных активных ингредиентов растения или экстракты, которые составляют смесь по настоящему изобретению, а также в композиции по настоящему изобретению экстракт *Orthosiphon stamineus* и *Solidago virgaurea* может иметь форму совместного экстракта.

Как описано выше для смеси, композиция по настоящему изобретению пригодна для применения при лечении патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью. В частности, из полученных и опубликованных данных видна пригодность смеси по настоящему изобретению для применения при патологиях, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, в частности, для лечения патологий, которые представляют собой нарушение целостности лимфатического эндотелия и которые могут быть выбраны, например, для лечения хронического воспаления, лимфедемы, липоэдемы и патофизиологического состояния влагоудержания, в частности, в случаях, когда указанное патофизиологическое состояние ассоциировано с застоем кровообращения, лимфедемой и/или воспалением тканей, например, у страдающих ожирением индивидуумов.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящего изобретения описываемая и заявляемая композиция является, таким образом, подходящей для применения при лечении патофизиологического состояния влагоудержания, ассоциированного с ожирением. Композиция по настоящему изобретению, аналогично смеси по настоящему изобретению, предназначена, в частности, для индивидуумов с избыточным весом/страдающих ожирением, которые хотят поспособствовать физиологическому процессу похудения путем повторного восстановления надлежащей функциональности процессов дренажа тканей и, в частности, лимфатической системы, вовлеченной в патофизиологическое состояние влагоудержания, связанное с ожирением, вызванным в том числе воспалением лимфатического эндотелия и увеличением его проницаемости, обусловленным образованием у него разломов (гиперпроницаемостью) в результате воздействия вызывающих воспаление средств.

Композиция в соответствии с настоящим изобретением может быть, например, фитотерапевтической композицией, пищевым продуктом специального медицинского назначения или пищевой добавкой.

В соответствии с настоящим изобретением композиция по настоящему изобретению может, таким образом, представлять собой композицию, в которой указанный экстракт *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% смеси активных ингредиентов, указанный экстракт *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% смеси активных ингредиентов, указанный экстракт *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 12% смеси активных ингредиентов, и указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon* составляют, в целом, от

35 до 55% смеси активных ингредиентов. Как уже упомянуто ранее, указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon* могут иметь форму совместного экстракта, составляющего от 35 до 55% смеси по настоящему изобретению.

И в этот раз в соответствии с настоящим изобретением композиция может представлять собой композицию, в которой указанный *Taraxacum officinalis* составляет от 12 до 33% указанной смеси, указанный *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% указанной смеси, указанный *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 25% указанной смеси, а указанные *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* составляют, в целом, от 35 до 55% указанной смеси.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления указанная композиция подходит для перорального введения и имеет форму жидкости, травяного чая, отвара, мацерированного материала, суспензии, раствора, гранулята, порошка, таблетки, оболочки, твердого желатина, мягкого желатина.

В соответствии со следующим вариантом осуществления композиция по настоящему изобретению пригодна для местного применения и, таким образом, может иметь форму жидкости, испаряющегося раствора, крема, мази, геля или эмульсии.

В соответствии с настоящим изобретением в качестве вспомогательных средств и/или наполнителей можно применять один или несколько следующих ингредиентов: природные смолы, такие как гуммиарабик, гуаровая камедь, ксантановая камедь; натуральные и искусственные подсластители (мед, коричневый сахар и рафинированный сахар); полисахариды (целлюлозу, рисовый крахмал, картофельный крахмал, кукурузный крахмал); природные виды воска, в том числе карнаубский воск, пчелиный воск, натуральные масла, такие как масло сладкого миндаля, подсолнечное масло, эмульсии природного происхождения (сложные эфиры сахарозы, эфиры стеариновой кислоты), и любое другое вспомогательное средство, которое может быть выбрано специалистом в настоящей области из известных из уровня техники, не обращаясь к исследовательской деятельности.

Кроме того, в соответствии с любым из описанных вариантов осуществления композиция по настоящему изобретению также может содержать по меньшей мере один натуральный ароматизатор и/или натуральный консервант.

Указанный натуральный ароматизатор и/или указанный натуральный консервант может быть любым натуральным ароматизатором и/или консервантом, который известен специалисту в настоящей области техники как пригодный для получения композиций для перорального применения, и может быть выбран, например, без ограничения из натурального апельсинового ароматизатора, натурального ежевичного ароматизатора, экстракта лакрицы, апельсиновой цедры, апельсинового сока, мандаринового сока, виноградного сока, ежевичного сока, сока бузины, черничного сока, ананасового сока, грейпфрутового сока, смородинового сока, малинового сока, яблочного сока, лимонного сока.

Таким образом, описываемое до сих пор для смеси по настоящему изобретению очевидно, с учетом необходимых изменений, применимо и к композиции по настоящему изобретению.

#### Примеры и способы

Ниже будут приведены неограничивающие примеры вариантов осуществления композиции по настоящему изобретению и подходящих дозировок для их введения.

##### 1. Пример композиции 1.

Жидкость, разовая доза примерно 10-20 г

| Компонент                                                          | %          |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| Натуральные ароматизаторы/консерванты                              | 93,2-96,3% |
| Совместный экстракт <i>Solidago virgaurea</i> - <i>Orthosiphon</i> | 1,5-2,5%   |
| Лиофилизированный экстракт листьев <i>Fagopyrum esculentum</i>     | 1-1,5%     |
| Лиофилизированный экстракт корней <i>Ruscus aculeatus</i>          | 0,2-0,8%   |
| Лиофилизированный экстракт корней <i>Taraxacum officinalis</i>     | 1-2%       |
| <b>Всего</b>                                                       | <b>100</b> |

Натуральные ароматизаторы и/или консерванты в вышеуказанной композиции могут представлять собой, например, один или несколько из апельсинового сока, виноградного сока, яблочного сока, лимон-

ного сока (необязательно один или несколько из указанных соков могут быть концентрированными), натуральный ароматизатор в форме порошка из апельсина, порошка из ежевики, порошка из лимона, порошка из мандарин, порошка из цитрусовых, порошка из ананасов, порошка из клубники, порошка из вишни, ежевики, смешанного порошка из ягод.

Суточная доза для такого продукта равна 10-20 г.

В качестве альтернативы вышеописанная композиция может содержать смесь экстракта *Solidago virgaurea* и экстракта *Orthosiphon stamineus* в соотношении примерно 3:1.

## 2. Пример композиции 2.

Приготовленная путем инфузии с грубо нарезанными частями используемых растений, 1,5-2,5 г разовой дозы.

| Компонент                                                        | %          |
|------------------------------------------------------------------|------------|
| Грубо нарезанный лист<br><i>Fagopyrum esculentum</i>             | 7-17       |
| Грубо нарезанная верхушка<br><i>Solidago virgaurea</i>           | 7-17       |
| Грубо нарезанный лист<br><i>Orthosiphon</i>                      | 15-30      |
| Грубо нарезанный корень<br><i>Taraxacum officinalis</i>          | 5-25       |
| Грубо нарезанный корень<br><i>Ruscus aculeatus</i>               | 3-20       |
| Вспомогательные средства и натуральные ароматизаторы/консерванты | 1-50       |
| <b>Всего</b>                                                     | <b>100</b> |

Композиция 2 необязательно может содержать примерно 2-8% смеси экстрактов в соответствии с настоящим описанием.

Натуральными ароматизаторами и/или консервантами в вышеописанной композиции могут быть, например, одно или несколько из апельсиновой цедры, корней лакрицы, лимонной цедры.

Суточная доза для такого продукта равна 1,5-2,5 г.

## 3. Пример композиции 3.

В форме перорального твердого вещества (порошок, гранулят, капсула, таблетка), 80-100 мг разовая доза.

| Описание изделия                                                                                            | %          |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Лиофилизированный экстракт листьев <i>Fagopyrum esculentum</i>                                              | 10-15      |
| Совместный экстракт<br>Лиофилизированный совместный экстракт <i>Solidago virgaurea</i> - <i>Orthosiphon</i> | 20-25      |
| Лиофилизированный экстракт корней <i>Taraxacum officinalis</i>                                              | 12-18      |
| Лиофилизированный экстракт корней <i>Ruscus aculeatus</i>                                                   | 3-8        |
| Вспомогательные средства и натуральные ароматизаторы/консерванты                                            | 34-45      |
| <b>Всего</b>                                                                                                | <b>100</b> |

Натуральными ароматизаторами и/или консервантами в вышеописанной композиции могут быть, например, одно или несколько из натурального ароматизатора в форме порошка из апельсина, порошка из ежевики, порошка из лимона.

Суточная доза для такого продукта равна 1,0-1,4 г.

Из данных, полученных в ходе описанных ниже и показанных на чертежах экспериментов, видно, что в дополнение к поддержанию надлежащей проницаемости обработка лимфатического эндотелия смесью по настоящему изобретению оказывала положительную регуляцию на все характеристики, обеспечивая защиту эндотелия, в то время как ключевые ферменты, вовлеченные в клеточное повреждение и в активацию развития фенотипа воспаления, субрегулировались смесью, подготавливая таким образом лимфатический эндотелий к реакции на воспалительный процесс.

#### 4. Тест на сосудистую проницаемость.

Подробное описание материалов и способов.

Клеточные культуры.

Использовали клетки эндотелия лимфатических сосудов (дермы) и кровеносные сосуды, полученные из коммерческих источников (доступные от PromoCell, Германия, "Клетки эндотелия лимфатических сосудов (HDLEC)" и "Клетки эндотелия кровеносных сосудов в дерме человека (HDBEC)"). Клетки культивировали и хранили в культуре, как рекомендовано поставщиком, с 10% FBS в полной минимальной среде для эндотелиальных клеток MV2 (Promocell, Гейдельберг, Германия) при 37°C в 5% CO<sub>2</sub> и разделяли 1:3 два раза в неделю до 10-го раза.

Обработка.

Образцы оценивали в 2-3 концентрациях относительно только наполнителя на клеточных культурах, не обработанных и обработанных посредством IL1-бета (10 нг/мл), для выяснения, оказывают ли они какой-либо эффект сами по себе на неповрежденные клетки и могут ли тестируемые вещества вызывать повышение проницаемости, вызванное IL1-бета.

Таким образом, для каждой клеточной культуры и каждого экстракта были следующие подлежащие оценке точки: необработанный контроль, контроль с наполнителем, доза экстракта А, доза экстракта В, IL1-бета, IL1-бета+доза А, IL1-бета+доза В, каждая в 3 повторностях.

Проницаемость эндотелия (на скрининг).

Эндотелиальные клетки, содержащиеся в планшетах с полной средой (10% сыворотки), разделяли при помощи трипсина/EDTA и высевали в трансвелл-планшеты в PET с порами диаметром 0,4 мкм в формате 12-луночного планшета с плотностью  $8 \times 10^4$  клеток/луночка трансвелл-планшета. Клетки оставляли расти в течение 72 ч для формирования полного монослоя, который можно было оценивать под инвертированным микроскопом. После достижения конfluence удаляли среду и добавляли экстракты на 18 ч. Без замены клеточной среды добавляли IL1-бета (10 нг/мл, 1 ч), если было предписано протоколом. По истечении времени стимуляции среду удаляли и добавляли 500 мкл FITCH-декстрана (3 кДа, 10 мкМ, разведенного в PBS) в лунку трансвелл-планшета, при этом в лунку, расположенную ниже в мультипланшете, вносили 1,5 мл PBS. Каждые 15 мин из лунки мультипланшета отбирали 100 мкл×3 (три повторности) и проводили спектрофотометрическое считывание флуоресценции (485 нм - возбуждение, 535 нм - испускание). Это позволяло измерить FITC-декстран, прошедший через барьер, сформированный эндотелиальными клетками. Результаты выражали как относительное значение измеренной флуоресценции.

Описанный выше тест проводили для каждого растения, составляющего смесь по настоящему изобретению, с использованием экстрактов каждого растения и совместного экстракта *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* в соотношении 3:1.

Тест также проводили со смесью экстрактов в соответствии с настоящим изобретением.

Из полученных данных, показанных на фиг. 2-9, видно, что проницаемость лимфатических сосудов, подвергнутых воздействию цитокина, оставалась выше проницаемости здорового эндотелия (следовательно, отрицательный эффект) со всеми отдельными экстрактами, кроме *Orthosiphon stamineus* (фиг. 3) в наиболее низкой тестируемой концентрации, который при более высокой концентрации, тем не менее, снижал уровень проницаемости ниже исходного значения, и *Fagopyrum esculentum* (фиг. 9А), который возвращал проницаемость к значениям, близким к исходным уровням, только в наиболее высокой тестируемой концентрации, что свидетельствовало о более слабом защитном эффекте по сравнению со смесью по настоящему изобретению. И напротив, при использовании смеси по настоящему изобретению проницаемость лимфатических сосудов удерживалась на уровнях, равных уровням здорового эндотелия. Кроме того, из данных видно, что смесь по настоящему изобретению не оказывала никаких нежелательных эффектов на эндотелий, не подвергнутый воздействию тестируемых вызывающих воспаление средств.

В частности, на фиг. 8 и 9Е, на которых представлена смесь, которая содержит совместный экстракт *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, видно, что подбор компонентов смеси по настоящему изобретению позволял получить оптимальный синергический эффект для удерживания проницаемости сосудов на уровнях, сходных с уровнями здорового лимфатического эндотелия.

#### 5. Тест мочегонного действия.

Животных содержали в метаболических клетках (три мыши/клетка) с предоставленным свободным доступом к корму и питьевой воде (коммерческой олигоминеральной воде). Для получения аналогичных физиологических состояний гидратации всем группам животных за 2 ч до эксперимента насильственно

вводили олигоминеральную воду в количестве 2,5% массы тела.

Затем животных случайным образом делили на группы (9 мышей/группа) в соответствии со следующей схемой обработки:

- 1) без обр.: группа без обработки;
- 2) H<sub>2</sub>O: 100 мкл/мышь олигоминеральной H<sub>2</sub>O вводили посредством желудочного зонда при t=0 (отрицательный контроль);
- 3) фуросемид: 100 мкл/мышь фуросемида вводили в количестве 10 мг/кг в олигоминеральной воде посредством желудочного зонда при t=0 (положительный контроль);
- 4) золотарник: 100 мкл/мышь экстракта золотарника (200 мг/кг массы тела в олигоминеральной воде) вводили посредством желудочного зонда при t=0;
- 5) ортосифон: вводили 100 мкл/мышь экстракта ортосифона (200 мг/кг массы тела в олигоминеральной воде) при t=0;
- 6) золотарник: ортосифон (3: 1): 100 мкл/мышь совместного экстракта золотарник+ортосифон (200 мг/кг массы тела в олигоминеральной воде) вводили с помощью желудочного зонда при t=0.

Для оценки мочегонного действия соединений образцы мочи собирали в градуированные цилиндры и их объем регистрировали с интервалами от 2 до 8 ч.

Мочевыделение, независимо от массы животных, рассчитывали как общий диурез, деленный на объем всей вводимой жидкости.

Мочевыделение=объем всей мочи (мл/100 г массы тела)/вся потребленная жидкость.

Из полученных данных видно мочеиспускание через 8 ч, равное 2 мл с 200 мг/кг золотарника, 2,25 мл с 200 мг/кг ортосифона и 3 мл с 200 мг/кг золотарник+ортосифон в совместном экстракте в соотношении 3:1.

Мочеиспускание у мышей без обработки составляло примерно 1,9 мл, у мышей, обработанных только олигоминеральной водой, оно составляло примерно 2,25 мл, и у мышей, обработанных 10 мг/кг фуросемида, оно составляло примерно 3,9 мл.

#### 6. Анализ ROS.

Анализ ROS проводили путем помещения  $1,5 \times 10^3$  клеток HDLEC в 96-луночные планшеты, при этом указанные клетки после адгезии предварительно обрабатывали посредством 10 мкг/мл смеси по настоящему изобретению в течение 18 ч, а затем посредством IL-1 $\beta$  (10 нг/мл в течение 1 ч) в среде без фенолового красного. DCFH<sub>2</sub>-DA (2,7-дихлордигидрофлуоресцеина диацетат, Invitrogen, Милан, Италия) добавляли в количестве 10 мкМ на 30 мин и фотометрически оценивали внутриклеточные уровни ROS с использованием планшет-ридера (возбуждение/испускание - 495/527, SpectraFluor, Tecan). Результаты регистрировали в RFU (относительных единицах флуоресценции) с поправкой на количество подвергнутых контакту клеток.

#### 7. Иммунофлуоресцентный анализ.

Белки плотных запирающих контактов и запирающей зоны 1 (ZO-1), экспрессированные на поверхности клетки, визуализировали с использованием конфокального анализа. Клетки высевали в количестве  $5 \times 10^4$  на 1 см круглых стеклянных предметных стекол. Спустя 24 ч клетки промывали и обрабатывали упомянутыми стимуляторами. Иммунофлуоресцентный анализ проводили, как описано в разделе Материалы и способы в работе Monti et al, Pharmacol Res 2013; 76: 171-81.

#### 8. Вестерн-блоттинг.

Клетки ( $3 \times 10^5$ /чашка, 6 см), 90% конfluence, обрабатывали или не обрабатывали смесью по настоящему изобретению (10 мкг/мл, 18 ч). Экспрессию маркеров воспалительных путей (iNOS, eNOS, COX-2) и антиоксидантных/прооксидантных ферментативных систем (SOD-1, каталаза, p22 phox) оценивали с помощью вестерн-блоттинга, как описано в разделе Материалы и способы в работе Terzuoli et al. 2014. PLoS One 9: e84358, Monti et al., 2014 J PharmacolExp Ther.;351(3):500-9. Данные регистрировали в условных единицах плотности (A.D.U.) целевого белка по сравнению с бета-актином, использованным в качестве контроля.

#### Материалы и реагенты.

Реагенты для культивирования клеток, то есть рутин и L-NMMA, были получены от Sigma Aldrich (Сент-Луис, Миссури, США). Фетальная бычья сыворотка была Hyclone (Euroclone, Милан, Италия). 3 кДа FITC-декстран был от Life Technologies (Карлсбад, Калифорния, США). Антитела к ZO-1 и антитела к eNOS были от BD Transduction Laboratories, Милан, Италия. Антитела к окклюдину были от Zymed, от Life Technologies (Карлсбад, Калифорния, США). Антитела к iNOS и антитела к p22 phox были от Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Даллас, Техас, США). Антитело к COX-2 было от Cayman Chemical Company (Анн-Арбор, Мичиган, США). Антитело к SOD-1 было от Millipore (Темекула, Калифорния, США). Антитела к каталазе и антитела к бета-актину были от Sigma-Aldrich (Сент-Луис, Миссури, США).

#### Анализ данных и статистические процедуры.

Результаты были репрезентативными или усредненными по меньшей мере для трех независимых экспериментов, проведенных в трех повторностях для каждого образца. Статистический анализ проводили с использованием дисперсионного анализа, а затем при необходимости критериев Бонферрони и Сть-

юдента (GraphPad).  $P < 0,05$  считали статистически значимым.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Смесь для лечения патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, состоящая из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* или экстрактов указанных растений,

причем указанный *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% указанной смеси, указанный *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% указанной смеси, указанный *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 25% указанной смеси, а указанные *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* составляют, в целом, от 35 до 55% указанной смеси; и

причем указанный экстракт *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% указанной смеси, указанный экстракт *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% указанной смеси, указанный экстракт *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 25% указанной смеси, а указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* составляют, в целом, от 35 до 55% указанной смеси.

2. Смесь по п.1, причем указанные патологии представляют собой нарушение целостности лимфатического эндотелия.

3. Смесь по п.2, причем указанные патологии выбраны из хронического воспаления, лимфедемы, липедемы и патологии влагоудержания, в частности, ассоциированной с ожирением.

4. Композиция для лечения патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью, содержащая в качестве единственных активных ингредиентов смесь, состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* или экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* или состоящую из *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* и экстрактов *Taraxacum officinalis*, *Fagopyrum esculentum*, *Ruscus aculeatus*, *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus*, и по меньшей мере один носитель и/или одно вспомогательное средство,

причем указанный *Taraxacum officinalis* составляет от 12 до 33% указанной смеси, указанный *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% указанной смеси, указанный *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 25% указанной смеси, а указанные *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* составляют, в целом, от 35 до 55% указанной смеси; и

причем указанный экстракт *Taraxacum officinalis* составляет от 23 до 33% указанной смеси, указанный экстракт *Fagopyrum esculentum* составляет от 12 до 25% указанной смеси, указанный экстракт *Ruscus aculeatus* составляет от 6 до 12% указанной смеси, а указанные экстракты *Solidago virgaurea* и *Orthosiphon stamineus* составляют, в целом, от 35 до 55% указанной смеси.

5. Композиция по п.4, дополнительно содержащая по меньшей мере один натуральный ароматизатор и/или один натуральный консервант.

6. Композиция по п.5, в которой указанный по меньшей мере один носитель или одно вспомогательное средство подходит для перорального введения или для местного применения.

7. Композиция по любому из п.5 или 6, причем указанная композиция для перорального применения имеет форму жидкости, травяного чая, отвара, мацерированного материала, таблетки, гранулята, капсулы, суспензии, эмульсии, раствора, порошка, а указанная композиция, пригодная для местного применения, имеет форму жидкости, испаряющегося раствора, крема, мази, геля, эмульсии.

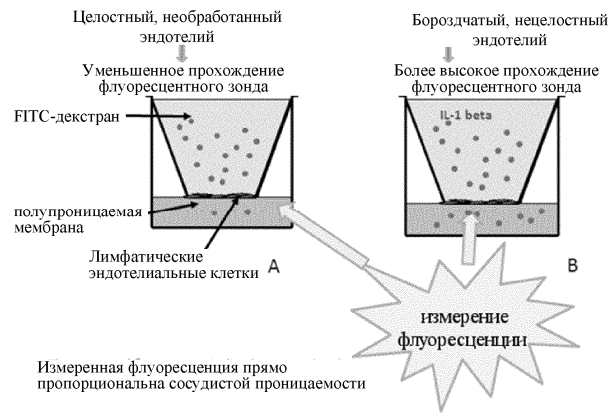
8. Композиция по любому из пп.5-7, причем указанная композиция предназначена для перорального применения, а указанный натуральный ароматизатор и/или указанный натуральный консервант выбран из апельсинового натурального ароматизатора, ежевичного натурального ароматизатора, экстракта лакрицы, апельсиновой цедры, апельсинового сока, мандаринового сока, виноградного сока, ежевичного сока, сока бузины, черничного сока, ананасового сока, грейпфрутового сока, смородинового сока, малинового сока, яблочного сока, лимонного сока.

9. Композиция по любому из пп.4-8, в которой указанное по меньшей мере одно вспомогательное средство или указанный по меньшей мере один носитель выбраны из одного или нескольких из гуммиарабика, гуаровой камеди, ксантановой камеди; меда, коричневого сахара и рафинированного сахара, целлюлозы, рисового крахмала, картофельного крахмала и кукурузного крахмала; карнаубского воска, пчелиного воска, масла сладкого миндаля, подсолнечного масла, сложных эфиров сахарозы, эфиров стеариновой кислоты.

10. Композиция по любому из пп.4-9 для применения при лечении патологий, ассоциированных с лимфатической гиперпроницаемостью.

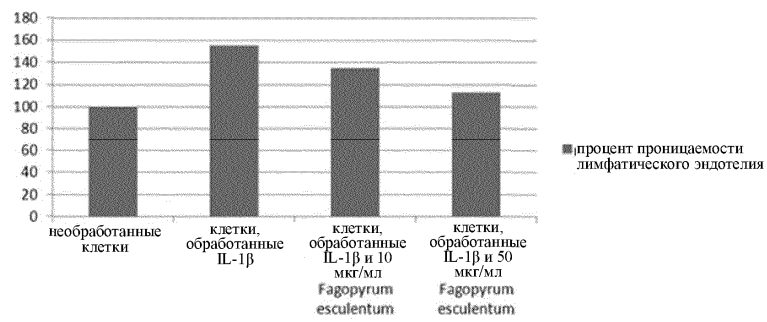
11. Композиция для применения по п.10, причем указанные патологии представляют собой нарушение целостности лимфатического эндотелия.

12. Композиция для применения по п.11, причем указанные патологии выбраны из хронического воспаления, лимфедемы, липедемы и патологии влагоудержания, в частности ассоциированной с ожирением.



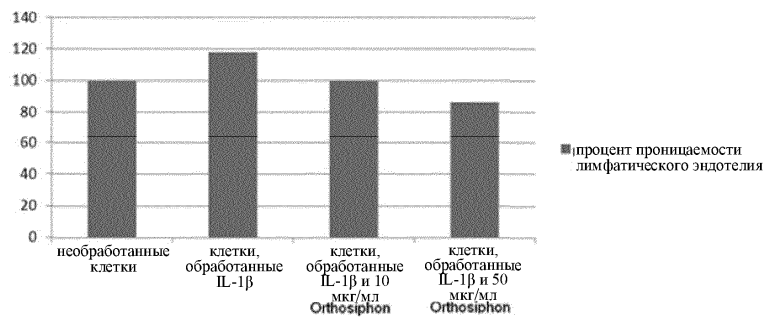
Фиг. 1

Процент проницаемости лимфатического эндотелия



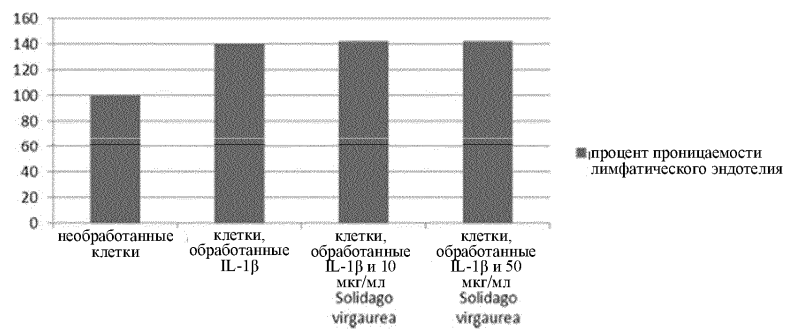
Фиг. 2

Процент проницаемости лимфатического эндотелия



Фиг. 3

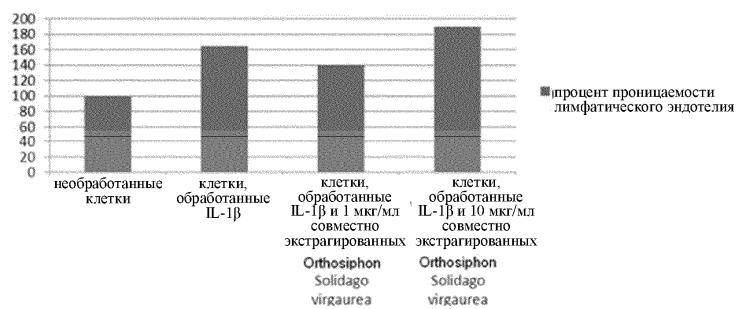
Процент проницаемости лимфатического эндотелия



Фиг. 4

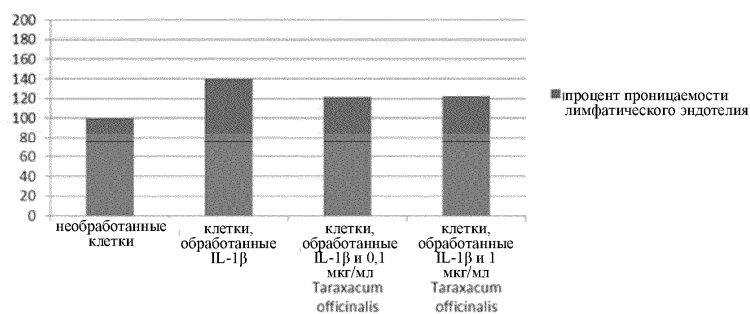


Процент проницаемости лимфатического эндотелия



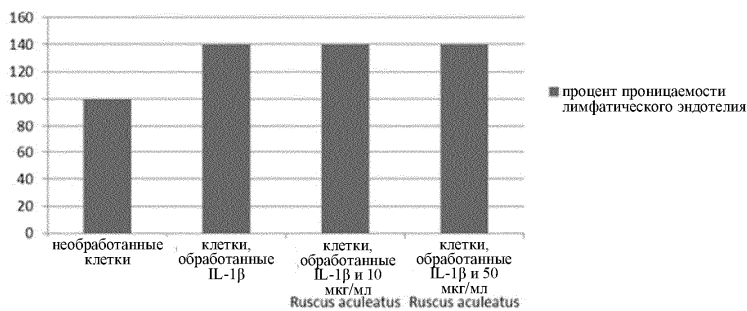
Фиг. 5

Процент проницаемости лимфатического эндотелия



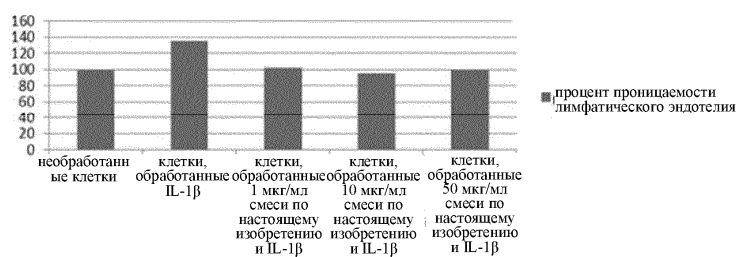
Фиг. 6

Процент проницаемости лимфатического эндотелия

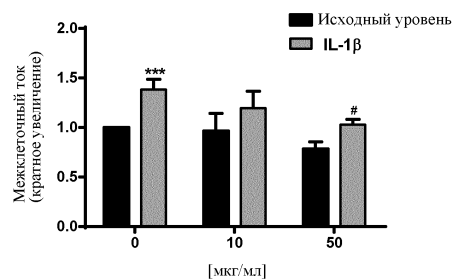


Фиг. 7

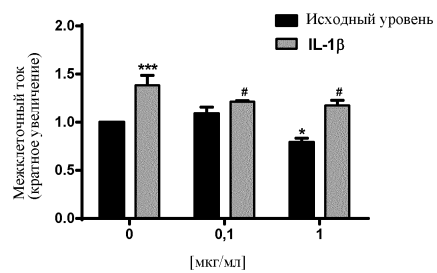
Процент проницаемости лимфатического эндотелия



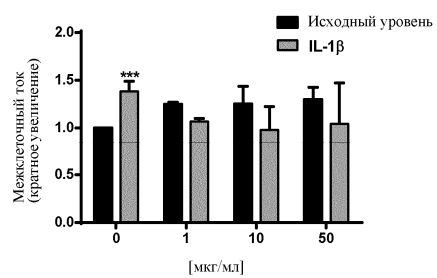
Фиг. 8



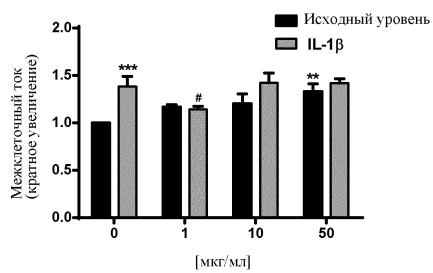
Фиг. 9А



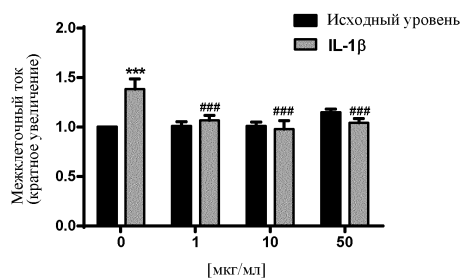
Фиг. 9В



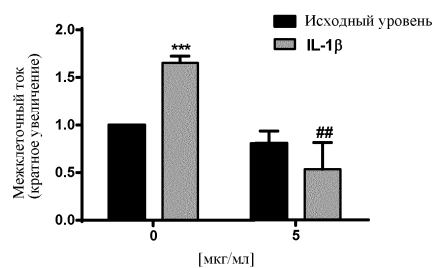
Фиг. 9С



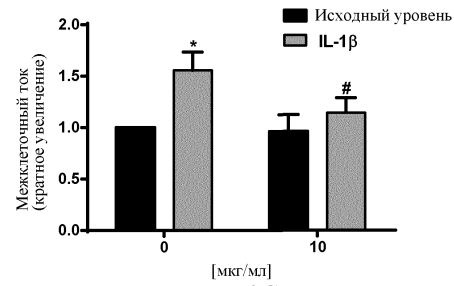
Фиг. 9D



Фиг. 9Е



Фиг. 9F



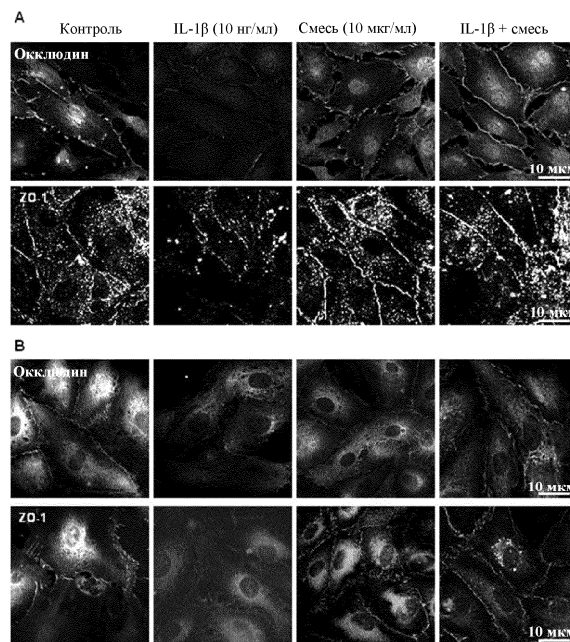
Фиг. 9G

Почему удержание жидкости является проблемой для субъектов, страдающих ожирением/с избыточным весом?

С увеличением массы тела возникают следующие проблемы:

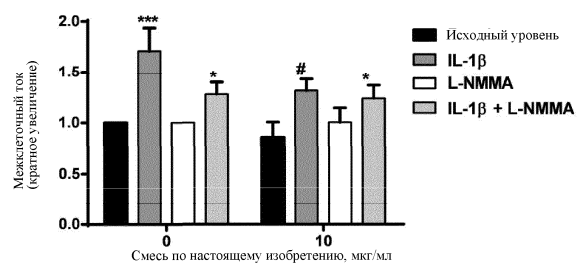


Фиг. 10

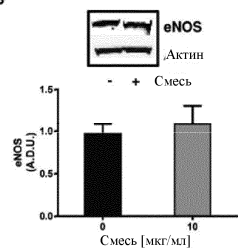


Фиг. 11

A

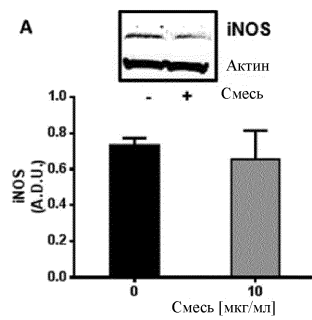


B

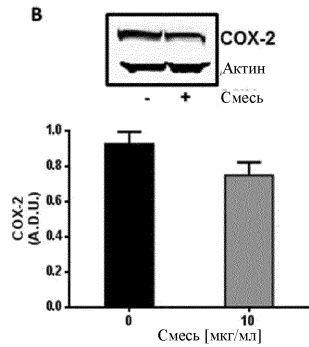


Фиг. 12А и В

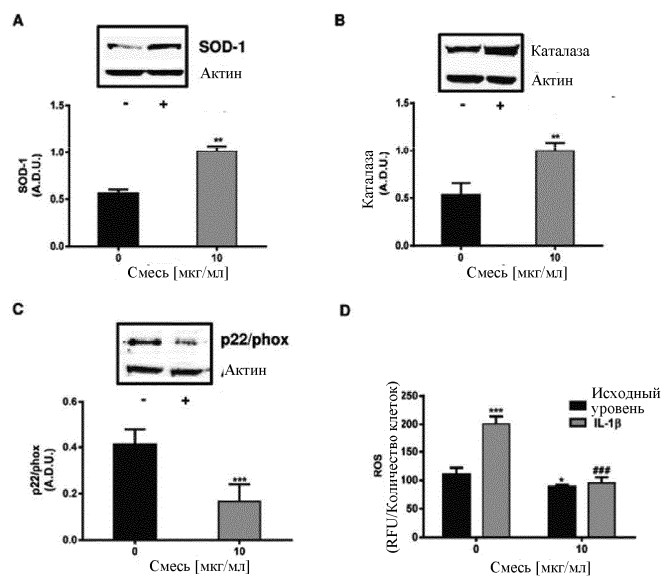
A



B



Фиг. 13А и В



Фиг. 14A-D

