



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016151233, 26.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.12.2016Дата регистрации:
05.12.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 26.12.2016

(45) Опубликовано: 05.12.2017 Бюл. № 34

Адрес для переписки:

117216, Москва, ул. Грина, 7, ФГБНУ ВИЛАР,
директору Сидельникову Николаю Ивановичу

(72) Автор(ы):

Ферубко Екатерина Владимировна (RU),
Курманова Елена Николаевна (RU),
Джавахан Марина Аркадьевна (RU),
Антонова Елена Дмитриевна (RU),
Колхир Владимир Карлович (RU),
Семкина Ольга Александровна (RU),
Свистунова Наталья Юрьевна (RU),
Курманов Ршад Каримович (RU),
Громакова Алла Ивановна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение "Всероссийский
научно-исследовательский институт
лекарственных и ароматических растений"
(ФГБНУ ВИЛАР) (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: WO2012138076 A2, 11.10.2012. RU
2028152 C1, 09.02.1995. CN 104758813
A, 08.07.2015. CN 101933992 A, 05.01.2011. CN
103721236 A, 16.04.2014. Н.И. МАЗНЕВ.
Лекарственные растения, Москва, Лада,
2006, 294-296. РИМ АХМЕДОВ. Растения-
твои друзья и недруги, Уфа, Китап; 2007,
стр. 86-87.(54) ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ГАСТРОПРОТЕКТИВНОЙ
(ПРОТИВОЯЗВЕННОЙ) АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к лекарственному средству, обладающему противоязвенным действием, полученному из травы володушки золотистой. Лекарственное средство, обладающее противоязвенным действием, полученное путем экстракции сухой володушки золотистой 50%

этиловым спиртом трехэтапной дробной мацерацией, объединения экстрактов, очистки, фильтрования и сушки, при определенных условиях. Вышеописанное средство обладает выраженным противоязвенным действием. 1 з.п. ф-лы.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/233 (2006.01)
B01D 11/02 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2016151233, 26.12.2016**(24) Effective date for property rights:
26.12.2016Registration date:
05.12.2017

Priority:

(22) Date of filing: **26.12.2016**(45) Date of publication: **05.12.2017** Bull. № 34

Mail address:

**117216, Moskva, ul. Grina, 7, FGBNU VILAR,
direktoru Sidelnikovu Nikolayu Ivanovichu**

(72) Inventor(s):

**Ferubko Ekaterina Vladimirovna (RU),
Kurmanova Elena Nikolaevna (RU),
Dzhavakhyan Marina Arkadevna (RU),
Antonova Elena Dmitrievna (RU),
Kolkhir Vladimir Karlovich (RU),
Semkina Olga Aleksandrovna (RU),
Svistunova Natalya Yurevna (RU),
Kurmanov Rishat Karimovich (RU),
Gromakova Alla Ivanovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
nauchnoe uchrezhdenie "Vserossijskij
nauchno-issledovatel'skij institut lekarstvennykh
i aromaticeskikh rastenij" (FGBNU VILAR)
(RU)**

(54) **PHARMACEUTICAL, POSSESSING A GASTROPROTECTIVE (ANTIULCER) ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology.

SUBSTANCE: pharmaceutical, possessing an antiulcerogenic action, produced by extracting dry golden thorough wax with 50% ethyl alcohol through three-step fractional maceration, extract combining,

purification, filtration and drying, under certain conditions.

EFFECT: pharmaceutical possesses an express antiulcerogenic action.

2 cl

1 C 1
2 6 3 7 6 4 4
R U

R U
2 6 3 7 6 4 4
C 1

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, в частности к средству, обладающему противоязвенным действием.

В России язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки подвержено до 15% взрослого населения [1]. Ведущим звеном в патогенезе язвенной болезни является нарушение баланса между агрессивными факторами содержимого просвета верхних отделов желудочно-кишечного тракта и защитными (цитопротективными) факторами, обеспечивающими поддержание целостности и нормального функционирования слизистой оболочки. Превышение агрессивных ульцерогенных факторов, таких как желудочный сок, алкоголь, лекарственные препараты и, особенно, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП), над защитными механизмами слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки (слизь, щелочная секреция, микроциркуляция, репаративная регенерация эпителия слизистой оболочки) приводит к образованию пептической язвы [2]. В развитии язвенного процесса также существенную роль играет стресс, изменения в эндокринной регуляции и обмене биогенных аминов, играющих роль медиаторов. При этом отмечаются разнообразные нарушения со стороны иммунной системы организма: повышается количество бластных и трансформированных лимфоцитов, увеличивается содержание флуоресцирующих продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови, что свидетельствует об усилении свободно-радикального окисления липидов. Язвенная болезнь - хроническое, циклически протекающее заболевание с разнообразной клинической картиной и изъязвлением слизистой оболочки желудка либо двенадцатиперстной кишки в периоды обострения [3, 4].

Известны синтетические противоязвенные препараты, например, ранитидин, гастропептин, циметидин и др. Однако синтетические противоязвенные препараты нередко обладают побочными эффектами и имеют узконаправленное действие. Известны противоязвенные препараты и природного происхождения: бефунгин - экстракт чаги, плантаглюцид - экстракт листьев подорожника.

Известен документ WO 2012138076 A2, в котором раскрыта композиция для профилактики и лечения желудочно-кишечных нарушений, содержащая в качестве активных компонентов экстракты *ConyzaCanadensis* и *Burleumfacatum*. Предложенная композиция содержит глауберову соль с экстрактом Северной Шихо (володушки китайской) и выполнена в виде порошка, капсул, пищевых продуктов. Недостатком композиции является то, что глауберова соль проявляет побочные действия, а именно: обильное мочеиспускание и тошноту.

В последнее время из всего многообразия препаратов для лечения и профилактики язвенной болезни большое внимание уделяется созданию растительных препаратов, обладающих гастропротективной активностью [5]. Прототипом к предлагаемому изобретению выбран сухой экстракт, выделенный из красных листьев винограда (*Vitisvinifera* L.) [6]. Недостатком прототипа является низкая эффективность препарата при его использовании в гастроэнтерологии.

Задачей данного изобретения является расширение арсенала лекарственных средств растительного происхождения за счет создания эффективного лекарственного средства из травы володушки золотистой по оригинальной технологии получения, обладающего противоязвенным действием и представляющего собой монопрепарат растительного происхождения без проявления побочных эффектов.

Поставленная задача решается путем лекарственного средства, обладающего противоязвенным действием, представляющего собой сухой экстракт травы володушки золотистой (*Bupleurumaureum*), семейство зонтичные (*Ariaceae*), полученный путем

экстракции сухой травы володушки золотистой с измельченностью 0,8-1,0 мм 50% этиловым спиртом при соотношении сырье:экстрагент 1:11,5 с учетом коэффициента поглощения 1,5, при этом экстрагирование проводят путем трехэтапной дробной мацерации с делением экстрагента на равные части с длительностью каждого этапа в пределах 40-50 минут, далее полученные экстракты объединяют, очищают путем центрифугирования при 1000 об/мин в течение 30 минут с последующим фильтрованием и сушкой, где содержание фенольных соединений в экстракте в пересчете на рутин составляет $8,0 \pm 0,5\%$.

Экстракт представляет собой аморфный порошок желто-коричневого цвета со специфическим запахом, горького вкуса. Гигроскопичен. В составе экстракта содержатся флавоноиды, сапонины, полисахариды, дубильные вещества катехиновой природы. Содержание фенольных соединений в пересчете на рутин составило $8,0 \pm 0,5\%$ [11].

Пример получения сухого экстракта володушки золотистой.

Берут 300 г сухой травы растения (*Bupleurumaureum* Fisch/ *seulongifolium* L.), с измельченностью 0,8-1,0 мм и 3450 г спирта этилового 50%) (с учетом коэффициента поглощения 1,5). Далее проводят экстрагирование путем трехэтапной дробной мацерации с делением экстрагента на три равные части. В качестве экстрагента используют 50% этиловый спирт с делением экстрагента на равные части по окончании каждого этапа. Сырье заливают первой порцией экстрагента «до зеркала» и проводят экстракцию при температуре 55-65°C в течение 40-50 минут. Полученную вытяжку сливают. Сырье заливают новой порцией экстрагента до объема слитого извлечения. Проводят вторую экстракцию. Полученную вытяжку сливают. Затем проводят третью экстракцию. Полученные вытяжки объединяют. Далее проводят очистку путем центрифугирования при 1000 об/мин в течение 30 минут с последующим фильтрованием и выпариванием на ротаторном испарителе. Упаривание ведут при температуре реакционной массы $(60 \pm 5)^\circ\text{C}$ и давлении 0,09 МПа приблизительно до 1/16 первоначального объема до остаточной влажности 20-30%, а полученный продукт высушивают в вакуумной сушилке до остаточной влажности не более 3-5% с последующим измельчением, просеиванием до однородного сыпучего состояния.

Содержание фенольных соединений в пересчете на рутин составляет $8,0 \pm 0,5\%$.

Исследование влияние суммарного экстракта травы володушки золотистой (СЭВЗ) на состояние слизистой оболочки желудка крыс в условиях острых экспериментальных язв с использованием индометациновой и этаноловой моделей было проведено на лабораторных животных

Эксперименты проводили в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP), приказом МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики». Федеральным законом «О лекарственных средствах» (статья 36), «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Москва, 2005). Экспериментальная работа выполнена на 78 нелинейных белых крысах-самцах. Крыс содержали в виварии ФГБНУ ВИЛАР на стандартном рационе [12].

Фармакологические свойства изучали в опытах *in vivo* при его внутрижелудочном введении крысам в течение трех дней в дозах 10 мг/кг и 100 мг/кг. Для воспроизведения патологического состояния слизистой оболочки желудка использовали следующие экспериментальные модели язвообразования:

- однократное введение крысам этанола 95-96% в дозе 1,0 мл/крысу с последующим забоем крыс через 1 час после введения этанола;
- однократное введение крысам индометацина в дозе 30 мг/кг с последующим забоем

крыс через 24 часа после введения индометацина (таблетки, 25 мг, «Софарма», Болгария) [13].

Все препараты вводили крысам внутривентрикулярно при помощи зонда в утренние часы, за 1 час до кормления; СЭВЗ, препарат сравнения и индометацин - в виде суспензии в 1% крахмальном клейстере.

После забоя крыс желудок и двенадцатиперстную кишку извлекали. Желудок (по большой кривизне) и двенадцатиперстную кишку разрезали и промывали в физиологическом растворе. Затем при помощи микроскопа бинокулярного стереоскопического МБС-10 (увеличение 1, миллиметровая шкала) производили подсчет количества и площади язвенных поражений слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, вычисляли Индекс Паулса (ИП) и терапевтический эффект (ТЭ - отношение величины ИП контрольной группы к ИП опытной) [14]. Изменение величины ИП контрольной группы над ИП опытной группы до 2 и более единиц свидетельствует о наличии гастропротективной активности у исследуемого вещества [15]. Все данные подвергались статистической обработке, достоверность различий между группами оценивали по критерию Стьюдента.

Препаратом сравнения был экстракт, полученный из красных листьев винограда, произведенный в ФГБНУ ВИЛАР [7, 8].

На этаноловой модели язв, через 1 час после воздействия этанолом, достоверное действие экстракта из красных листьев винограда (ЭКЛВ) проявляется в дозе 10 мг/кг. Процесс язвообразования снижается на 78,6%, терапевтический эффект (ТЭ)=4,7. Установлен дозозависимый эффект ЭКЛВ: при увеличении дозы ЭКЛВ до 100 мг/кг процесс язвообразования снижается на 92,2%, ТЭ=12,9.

На индометациновой модели язв (изменения регистрируются через 24 часа после введения индометацина) отмечаются аналогичные, но менее выраженные достоверные результаты действия ЭКЛВ на процесс язвообразования у крыс: в дозе 10 мг/кг происходит снижение язвообразования на 45,0%, ТЭ=1,8; а в дозе 100 мг/кг на 81,2%, ТЭ=5,3.

СЭВЗ на этаноловой модели поражения слизистой желудка, в которой регистрируются изменения через 1 час после воздействия, показало, что в дозе 10 мг/кг СЭВЗ оказывает достоверный выраженный гастропротективный эффект, происходит снижение язвообразования на 87,2%, ТЭ=7,82 ($P<0,05$). С увеличением дозы до 100 мг/кг гастропротективный эффект СЭВЗ не увеличивается, т.е. не наблюдается выраженный дозозависимый эффект, происходит снижение язвообразования на 86,23%, ТЭ=7,25 ($P<0,05$).

Изучение гастропротективной активности СЭВЗ на индометациновой модели поражения слизистой желудка, в которой регистрируются изменения через 24 часа после воздействия, показало, что при введении СЭВЗ в дозе 10 мг/кг проявляется выраженный гастропротективный эффект, происходит снижение язвообразования на 89%, ТЭ=9,08 ($P<0,05$). С увеличением дозы до 100 мг/кг, гастропротективный эффект СЭВЗ увеличивается, т.е. наблюдается дозозависимый эффект на введение СЭВЗ, происходит снижение язвообразования на 96%, ТЭ=24,52 ($P<0,05$).

В условиях этаноловой модели язвы желудка экстракт сухой, полученный из красных листьев винограда в дозе 10 мг/кг, оказывает менее выраженное гастропротективное действие, чем экстракт володушки золотистой в аналогичной дозе, поэтому для достижения терапевтического эффекта требуется меньшая доза экстракта володушки.

В условиях индометациновой модели язвы желудка ТЭ экстракта винограда в дозе 10 мг/кг значительно уступает ТЭ экстракта володушки (в 5,04 раза), а в дозе 100 мг/

кг - в 5,12 раза.

В условиях экспериментальных моделей язвообразования желудка крыс, вызванных введением этанола и индометацина, выявлено значительно выраженное достоверное гастропротективное действие СЭВЗ, проявляющееся уже в дозе 10 мг/кг.

5 Таким образом, применение экстракта володушки золотистой позволит не только расширить арсенал растительных средств, обладающих противоязвенным действием, но и сделать сбор (заготовку) травы володушки золотистой более ресурсосберегающей.

Поскольку НПВП-гастропатии широко распространены среди населения нашей страны и за рубежом, такое выраженное превосходство ТЭ экстракта володушки над
10 ТЭ экстракта винограда на индометациновой ulcerогенной модели говорит о более высокой эффективности экстракта володушки при использовании в гастроэнтерологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шатихин А.И. Регенерация и цитопротекция слизистой оболочки при заболеваниях желудка. - В кн.: XIV Российский национальный Конгресс «Человек и лекарство». Лекции для практикующих врачей. Москва, 2008. Т. 1. С. 278-295.
15

2. Вышковский Г.Л. (глав. редактор) Индометацин // Регистр лекарств, средств. Энциклопедия лекарств. - 2008. - С. 357.

3. Широкова К.И. Язвенная болезнь. - В кн.: Василенко В.Х., Гребенев А.Л. Болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Москва. Медицина. 1981. С. 77-144.

20 4. Гребенев А.Л., Шептулин А.А. Язвенная болезнь. Методические рекомендации. - Москва. - 1995. - Вып. 2. - 99 с.

5. Колхир В.К., Багинская А.И., Сокольская Т.А., Лескова Т.Е., Трумпе Т.Е., Леонидова Ю.А., Воскобойникова И.В., Ферубко Е.В. Разработка гастро- и гепатопротекторных средств на основе лекарственного растительного сырья. Опыт
25 ВИЛАР. // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. №11. С. 041-047.

6. Дул В.Н. Фармакогностическое изучение и стандартизация винограда культурного (*VITIS VINIFERA L.*) листьев красных и сухого экстракта на их основе: дисс. кандидата фармацевтических наук. - Москва, 2014. - С. 134.

30 7. Трифонов Ю.А., Колхир В.К., Сокольская Т.А., Ферубко Е.В., Курманов Т.Р. Фармакологическое исследование противоязвенного действия винограда листьев красных экстракта сухого (*Vitis Vinifera L.*) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013. №11. С. 064-069.

8. Трифонов Ю.А., Сокольская Т.А., Колхир В.К., Ферубко Е.В., Курманов Т.Р. Изучение противоязвенного действия экстракта красных листьев винограда. - В кн.: XX Российский национальный Конгресс «Человек и лекарство». Сборник материалов конгресса. Москва, 2013. С. 444.
35

9. Мингажаева А.М., Баширова Р.М., Усманов Ю.И. Растения рода *Bupleurum* (рекомендации по введению в культуру). - Издание Башк. ун-та, 2002. - С. 28.

40 10. Мингажаева А.М. Володушка золотистая *Bupleurum longifolium L. subsp. aureum* (Fisch.) Soo в Предуралье (особенности, перспективы интродукции и биохимический состав): дисс. кандидата биологических наук. - Москва, 2006. - С. 147.

11. Канунникова Ю.С. Фармакогностическое изучение и стандартизация травы и экстракта сухого володушки золотистой (*Bupleurum Aurei Fisch.*): дисс. кандидата
45 фармацевтических наук. - Москва, 2014. - С. 181.

12. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. - Страсбург, 18.03.1986 г.

13. Никулин А.А., Буданцева С.И. Сравнительная оценка методов воспроизведения

экспериментальных язв желудка.// Фармакология и токсикология. - 1973. - №5. - С. 564-567.

14. Pauls F., Wick A.N., Mackey E.M. An assay method for anti - ulcer substances // Gastroenterology., 1947. - V. 8. - P. 774-782.

- 5 15. Оболенцева Г.В., Гладченко С.В., Бутенко И.Г. К механизму ульцерогенного действия нестероидных противовоспалительных средств - В кн.: Актуальные вопросы клинической фармакологии. Тезисы докл. XV-й конференции по клинической фармакологии с международным участием. - Волгоград, 1990. - С. 96-97.

10 (57) Формула изобретения

1. Лекарственное средство, обладающее противоязвенным действием, представляющее собой сухой экстракт травы володушки золотистой (*Viplegurimaureum*), семейство зонтичные (*Ariaseae*), полученный путем экстракции сухой травы володушки золотистой с измельченностью 0,8-1,0 мм 50% этиловым спиртом при соотношении сырье-экстрагент 15 1:11,5 с учетом коэффициента поглощения 1,5, при этом экстрагирование проводят путем трехэтапной дробной мацерации с делением экстрагента на равные части с длительностью каждого этапа в пределах 40-50 минут, далее полученные экстракты объединяют, очищают путем центрифугирования при 1000 об/мин в течение 30 минут с последующим фильтрованием и сушкой.
- 20 2. Лекарственное средство по п. 1, где содержание фенольных соединений в экстракте в пересчете на рутин составляет $8,0 \pm 0,5\%$.

25

30

35

40

45