



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 375 071** (13) **C1**

(51) МПК
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 135/00 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008144160/15, 06.11.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.11.2008

(45) Опубликовано: 10.12.2009 Бюл. № 34

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2189241 C1, 20.09.2002. RU 2321420 C1, 10.04.2008. RU 2202900 C2, 27.04.2003. RU 2153346 C1, 27.07.2000. RU 2310196 C2, 10.11.2007. RU 2276991 C1, 27.05.2006. RU 2045264 C1, 10.10.1995. Барнаулов О.Д. и др. Ангиопротекторное и стресс-лимитирующее действие фитопрепаратов. - 2005 г.

Адрес для переписки:
167982, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул.
Коммунистическая, 28, Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН, пат. пов. Л.Б. Печерской

(72) Автор(ы):

Володин Владимир Витальевич (RU),
Петрова Наталья Борисовна (RU),
Мойсеенко Нелли Алексеевна (RU),
Володина Светлана Олеговна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Институт биологии Коми научного центра
Уральского отделения Российской академии
наук (RU)

(54) АНТИАГРЕГАЦИОННОЕ И СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО

(57) Реферат:

Изобретение относится к химико-фармацевтической промышленности, а именно к созданию антиагрегационного и стресс-лимитирующего средства, в качестве действующего вещества содержащего экистероидсодержащую субстанцию в виде смеси 20-гидроксиэкдизона в количестве не менее 75% и 25S-инокостерона в количестве не

менее 10%. Действующее вещество выделено из наземной части растений рода *Serratula* семейства *Asteraceae*, предпочтительно листьев, собранных в фазу вегетации, массовой бутонизации или начала цветения. Данное средство расширяет арсенал средств антиагрегационного и стресс-лимитирующего воздействия, без проявления побочного действия на организм человека.

RU 2 375 071 C1

RU 2 375 071 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 135/00 (2006.01)
A61K 127/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2008144160/15, 06.11.2008**

(24) Effective date for property rights:
06.11.2008

(45) Date of publication: **10.12.2009 Bull. 34**

Mail address:

**167982, Respublika Komi, g. Syktyvkar, ul.
Kommunisticheskaja, 28, Institut biologii Komi
NTs UrO RAN, pat. pov. L.B. Pecherskoj**

(72) Inventor(s):

**Volodin Vladimir Vital'evich (RU),
Petrova Natal'ja Borisovna (RU),
Mojseenko Nelli Alekseevna (RU),
Volodina Svetlana Olegovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Institut biologii Komi nauchnogo tsentra
Ural'skogo otdelenija Rossijskoj akademii nauk
(RU)**

(54) ANTIAGGREGATORY AND STRESS LIMITING AGENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to chemical-pharmaceutical industry, namely to development of an antiaggregatory and stress-limiting agent as a reactant containing ecdysteroids-containing substance in the form of mixed 20-hydrohyecdysone in amount 75% and more, and 25S-inokosteron in amount 10%

and more. The reactant is recovered from herb of Serratula sort of Asteraceae family, preferentially leaves collected during vegetation, mass budding or beginning of blossoming.

EFFECT: extended range of antiaggregatory and stress-limiting agents without manifesting the by-actions on a human body.

3 ex

Изобретение относится к пищевым добавкам и лечебным препаратам антиагрегационного и стресс-лимитирующего действия, может быть использовано для профилактики заболеваний, сопровождающихся синдромом повышенной вязкости крови, агрегацией эритроцитов и снижением деформируемости: заболеваний 5 сердечнососудистой системы: атеросклероз, ИБС, инфаркт миокарда и др., заболеваний обмена веществ: сахарном диабете, ожирении и некоторых заболеваний аутоиммунной природы.

Средство показано в комплексной терапии для коррекции неврозов и состояний 10 дизадаптации, для снижения невротического реагирования, а также для повышения адаптивных возможностей человека и сохранения его работоспособности в трудных климатических и профессиональных условиях.

Известно средство Патримин, обладающее антиагрегационным действием (RU 2189241, МКИ 7 А61К 35/78, 20.09.2002). Средство характеризуется тем, что 15 представляет собой сухой экстракт тритерпеновых гликозидов-патринозидов Д, В и С, полученный из корней патринии средней (*Patrinia intermedia* (Horn.) Roem et Schult), при этом содержание олеаноловой кислоты 10-19% на абсолютно сухой экстракт.

Недостатком известного средства является токсичность действия тритерпеновых 20 гликозидов-патринозидов, кроме того для получения средства используют корни и корневища растений, что снижает воспроизводимость лекарственных растений и увеличивает себестоимость готового продукта.

Задачей настоящего изобретения является расширение спектра фармакологической активности, получение препарата без отрицательного воздействия на организм 25 человека.

Технический результат заключается в расширении арсенала средств антиагрегационного и стресс-лимитирующего воздействия, без проявления побочного действия на организм человека.

Новый препарат обладает дополнительным стресс-лимитирующим действием, не 30 оказывает собственного гормонального воздействия, оптимизирует состояние систем неспецифической адаптации организма.

Технический результат достигается тем, что антиагрегационное и стресс-лимитирующее средство включает действующее вещество из надземной части 35 растений рода *Serratula* семейства *Asteraceae*, предпочтительно листьев, собранных в фазу вегетации, массовой бутонизации или начала цветения, в качестве действующего вещества используют экдистероидсодержащую субстанцию в виде смеси 20-гидроксиэкдизона в количестве не менее 75% и 258-инокостерона в количестве не 40 менее 10% и, кроме того, оно обладает дополнительным стресс-лимитирующим действием.

Субстанцию смеси фитоэкдистероидов выделяют по способу, описанному в патенте РФ 2153346. Способ позволяет получить 20-гидроксиэкдизона - не менее 75% и 25S-инокостерона - не менее 10%.

Заготовку сырья, предпочтительно листьев, осуществляют в фазу вегетации, 45 массовой бутонизации или начала цветения. Экспериментально установлено, что в эти фазы развития содержание экдистероидов максимально. Исследование распределения экдистероидов в растениях серпухи венценосной проводили у средневозрастных 50 генеративных особей. По содержанию экдистероидов серпуха венценосная намного превосходит другие растения. Использование надземной части растения (в отличие от корневищ) значительно облегчает заготовку и переработку экдистероидсодержащего растительного сырья.

Измельченное растительное сырье (надземная часть растения рода *Serratula* семейства *Asteraceae*) неоднократно экстрагируют водой при температуре не выше 100°C не более 1 ч при постоянном перемешивании и соотношении сырье: экстрагент - 1:10 соответственно. Густой водный экстракт упаривают при
5 пониженном давлении, обрабатывают смесью этилацетат-метанол, взятой при соотношении 4:1 или хлороформ-метанол при соотношении 6:1. Процедуру повторяют до полного извлечения экидистероидов из густого экстракта. Органические извлечения упаривают досуха, затем экидистероиды очищают путем хроматографии на оксиде
10 алюминия в системе хлороформ-метанол или этилацетат-метанол возрастающей полярности и перекристаллизацией в системе этилацетат-метанол или этилацетат-этанол при соотношении 9:1.

Выделенная субстанция проявляет высокую физиологическую активность по сравнению с препаратами - аналогами. Субстанция получила коммерческое
15 наименование Серпистен, которое образовано от названия лекарственного растения.

Средство Серпистен представляет собой белый кристаллический порошок, не имеющий запаха, малорастворимый в воде, хорошо растворимый в метаноле и 70%-ном этаноле.

20 Проверка антиагрегационного и стресс-лимитирующего действия субстанции Серпистен осуществлялась на базе кафедры физиологии человека и животных Сыктывкарского государственного университета. Эксперименты выполнены на 3-4 месячных белых беспородных крысах обоего пола (количество - 190, масса 166±10), самцах линии Wistar (количество - 18, масса 156±9).

25 Готовили 0,3% раствор Серпистена в 0,9% растворе NaCl. В качестве контроля использовали 0,9% NaCl (плацебо). Серпистен и изотонический раствор вводили внутримышечно. Кровь брали методом тотального обескровливания путем декапитации животных после легкого хлороформного наркоза.

30 Кровь стабилизировали гепарином. Иммобилизационный стресс производили жесткой фиксацией крысы в положении лежа на спине на 30 минут, что соответствовало начальной фазе стресс-реакции (Анищенко Т.Г. Половые аспекты проблемы стресса и адаптации // Журн. Успехи современной биол., 1991., Т.3. выпуск 3, с.460-475). Проведено несколько серий экспериментов: однократное введение Серпистена в дозе 20 мг/кг с забором крови через 2, 12 часов; многократное введение Серпистена в дозе 5 мг/кг ежедневно в течение 5 дней, суммарная доза - 25 мг/кг, однократное введение Серпистена за 24 часа до иммобилизационного стресса. Крыс делили на группы: интактную, опытные (вводили Серпистен на 2, 12 часов; на 5 дней;
35 за 24 часа до стресса), контрольные (вводили соответствующий объем 0,9% раствора NaCl в те же сроки). Исследования антиагрегационного действия препарата в опытах *in vitro* проводили на донорской крови (количество - 12), взятой методом венопункции из локтевой вены. Кровь доноров получена медицинским персоналом Республиканской станции переливания крови (г. Сыктывкар).

45 Агрегационную способность эритроцитов оценивали с помощью метода фитогемагглютинации с использованием пектинов - фитогемагглютининов (ФГА) из гороха посевного *Pisum sativum*. Количественное измерение реакции агглютинации (РАЗ) производили в камере Горяева на 10, 20, 30, 40 минутах наблюдения (Мойсеенко Н.А., Иржак Л.И. Агглютинация эритроцитов кролика при напряженном эритропозе // Журн. общей биол., 1972. Т.33. №6, с.779-786.4). Проверка стресс-лимитирующего действия субстанции Серпистен проводилась имитацией
50 эффекта активации симпатoadреналовой системы (САС) *in vitro*. САС является ведущей

неспецифической системой адаптации, включающейся в начальный период стресс-реакции и в значительной степени определяющей уровень эмоциональной составляющей стресс-реакции и невротизации поведения. Оценка состояния САС и адренореактивности организма осуществлялась с помощью метода
5 фитогемагглютинации в сочетании с пропранололовым тестом (Патент РФ 2310196), а также осмотического гемолиза с добавлением β -адреноблокатора и использованием набора реактивов « β -АРМ» (Р.И. Стрюк, Длусская и.г. Новый метод прогнозирования и оценки эффективности β -адреноблокаторов у больных
10 гипертонической болезнью // Кардиология,- 1997. - №8. с.110-130).

Статистическую обработку проводили с использованием параметрических и непараметрических методов с вычислением средней арифметической, среднеквадратичного отклонения, ошибки средней достоверности различий оценивали по t-критерию Стьюдента.

15 Пример 1

Иммобилизационный стресс в течение 30 минут увеличивал ФГА-вызванную агрегацию эритроцитов у крыс (n=30) в среднем на 39% на 10 минуте наблюдения ($p<0,01$), на 23% - на 20 минуте наблюдения ($p<0,05$). Серпистен, в дозе 20 мг/кг массы
20 животного, введенный за 24 часа до забоя, не изменял агрегационных свойств эритроцитов. Серпистен, в дозе 20 мг/кг, введенный за 24 часа до иммобилизационного стресса, снижал фитогемагглютинацию эритроцитов, увеличенную стрессом, в среднем на 19% на 10 минуте наблюдения; на 14% - на 20 минуте наблюдения ($p<0,05$).

25 Пример 2

Введение внутримышечно 0,9% раствора NaCl (растворитель Серпистена) за 2 часа до забоя крысы увеличивало реакцию агглютинации эритроцитов на 10 минуте на 29% ($p<0,05$), на 20 минуте - на 14% ($p<0,05$) по сравнению с интактными крысами.

30 Введение 0,9% раствора NaCl многократно в течение 5 дней увеличивало реакцию агглютинации эритроцитов на 26% на 10 минуте наблюдения ($p<0,05$), на 14% на 20 минуте наблюдения ($p<0,1$) по сравнению с интактными крысами. Серпистен, введенный за 2 часа до забоя, не изменял агрегационных свойств эритроцитов (снижение на 4%) по сравнению с интактными животными. Многократное введение
35 Серпистена (5 дней) снижало реакцию агглютинации эритроцитов на 16% на 10-20 минутах наблюдения по сравнению с интактными крысами (стабилизация мембраны, увеличение устойчивости к ФГА). По сравнению с контрольными крысами (введение плацебо - 0,9% NaCl) Серпистен снижал ФГА-вызванную агрегацию эритроцитов
40 на 33% на 10 минуте наблюдения ($p<0,01$), на 21% на 20 минуте наблюдения ($p<0,01$). Таким образом, многократное введение Серпистена (5 дней в малой дозе - 5 мг/кг) не только снижало отрицательное действие своего растворителя (0,9% NaCl), но и понижало агрегацию эритроцитов, вызванную ФГА, ниже уровня интактных животных.

45 Пример 3

Функциональная активность САС (АК), оцениваемая по методу (Патент РФ 2310196), при введении Серпистена в дозе 20 мг/кг за 2 часа до забоя крыс составляла для самцов 61%, для самок - 65%; при многократном введении
50 Серпистена (5 дней) АК составляла для самцов 60%, для самок - 62%. При АК ниже 80% САС считают неактивированной.

АК при введении 0,9% раствора NaCl за 2 часа до забоя крыс оставляла у самцов 93%, у самок - 90%, при многократном введении раствора (5 дней) АК была у

самцов - 90%, у самок - 93%, т.е. САС была значительно активирована. При иммобилизационном стрессе АК у самцов крыс составляла 98%.

5 В опытах *in vitro* на донорской крови адренореактивность организма, оцениваемая по методу (Р.И.Стрюк, Длусская И.Г. Новый метод прогнозирования и оценки эффективности β -адреноблокаторов у больных гипертонической болезнью // Кардиология, - 1997. - №8. с.110-130.), под действием Серпистена в дозе 20 мг/кг снижалась в среднем с 26 усл.ед. до 2 усл.ед., что свидетельствовало о
10 непосредственном влиянии Серпистена на чувствительность β -адренорецепторов на мембране эритроцитов.

Формула изобретения

15 Антиагрегационное и стресс-лимитирующее средство, содержащее действующее вещество, выделенное из надземной части растений рода *Serratula* семейства *Asteraceae*, предпочтительно листьев, собранных в фазу вегетации, массовой бутонизации или начала цветения, в качестве действующего вещества оно содержит
экдистероидсодержащую субстанцию в виде смеси 20-гидроксиэкдизона в количестве не менее 75% и 25S-инокостерона в количестве не менее 10%.

20

25

30

35

40

45

50