



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007121224/15, 06.06.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
06.06.2007

(45) Опубликовано: 10.01.2009 Бюл. № 1

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: Рег. №003309/01 от 12.04.2004 -
препарат "Маакия амурская экстракт сухой".
Рег. №003294/01 от 12.04.2004 - препарат
«Максар». RU 2104027 C1, 10.02.1998. RU
1510147 C1, 30.11.1994. RU 2175237 C1,
27.10.2001. Ж. ХПС, 1985, 775 с. РЛС, ДОКТОР,
2006, вып.9, с.546-547.

Адрес для переписки:

634028, г.Томск, пр. Ленина, 3, ГУ НИИ
фармакологии ТНЦ СО РАМН, патентоведу Н.Л.
Малигиной

(72) Автор(ы):

Плотникова Анна Марковна (RU),
Плотникова Татьяна Макаровна (RU),
Шульгау Зарина Токтамысовна (RU),
Федореев Сергей Александрович (RU),
Кулеш Надежда Ивановна (RU),
Мищенко Наталья Петровна (RU),
Василевская Нина Арвидовна (RU),
Имбс Татьяна Игоревна (RU),
Глебоко Люция Игнатъевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное учреждение Научно-
исследовательский институт фармакологии
Томского научного центра Сибирского отделения
Российской академии медицинских наук (RU),
Тихоокеанский институт биоорганической химии
Дальневосточного отделения Российской
Академии наук (RU),
Плотников Марк Борисович (RU)

(54) СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ГЕМОРЕОЛОГИЧЕСКОЙ И АНТИТРОМБОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, конкретно к фармакологии, и касается средства, влияющего на реологию крови и агрегацию тромбоцитов. Новое лекарственное средство, обладающее гемореологическими и антитромбоцитарными

свойствами, представляет собой препарат Маакии амурской экстракт сухой. Средство расширяет арсенал антиагрегантных средств растительного происхождения, улучшает реологические свойства крови и обладает одновременно антитромбоцитарным эффектом. 2 табл.

RU 2 342 944 C1

RU 2 342 944 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.

A61K 36/48 (2006.01)*A61P 7/02* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 2007121224/15, 06.06.2007

(24) Effective date for property rights: 06.06.2007

(45) Date of publication: 10.01.2009 Bull. 1

Mail address:

634028, g.Tomsk, pr. Lenina, 3, GU NII
farmakologii TNTs SO RAMN, patentovedu N.L.
Maljuginoj

(72) Inventor(s):

Plotnikova Anna Markovna (RU),
Plotnikova Tat'jana Makarovna (RU),
Shul'gau Zarina Toktamysovna (RU),
Fedoreev Sergej Aleksandrovich (RU),
Kulesh Nadezhda Ivanovna (RU),
Mishchenko Natal'ja Petrovna (RU),
Vasilevskaja Nina Arvidovna (RU),
Imbs Tat'jana Igorevna (RU),
Glebko Ljutsija Ignat'evna (RU)

(73) Proprietor(s):

Gosudarstvennoe uchrezhdenie Nauchno-
issledovatel'skij institut farmakologii
Tomskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo
otdelenija Rossijskoj akademii meditsinskikh
nauk (RU),
Tikhookeanskij institut bioorganicheskoj
khimii Dal'nevostochnogo otdelenija
Rossijskoj Akademii nauk (RU),
Plotnikov Mark Borisovich (RU)

(54) AGENT POSSESSING HEMORGHEOLOGICAL AND ANTIPLATELET ACTIVITY

(57) Abstract:

FIELD: medicine; pharmacology.

SUBSTANCE: new medical product possessing
hemorheological and antiplatelet properties
represents a dry extract preparation of Amur maackia.

EFFECT: arsenal expansion of the antiplatelet
vegetative means, improving rheological
properties of blood and an antiplatelet effect.

6 ex, 2 tbl

Изобретение относится к медицине, конкретно к фармакологии, и касается средства, обладающего гемореологическими и антитромбоцитарными свойствами.

Известны средства, проявляющие гемореологические свойства - пентоксифиллин, диквертин, танакан [1, 2, 3, 4, 5].

5 Известны средства, обладающие антитромбоцитарными свойствами - пентоксифиллин, ацетилсалициловая кислота, тиклопидин, дипиридамо́л [1, 2, 3, 6, 7].

Наиболее близким (прототипом) является лекарственное средство - пентоксифиллин, обладающее как гемореологическими, так и антитромбоцитарными свойствами [1, 2, 3]. Пентоксифиллин способен улучшать реологические свойства крови и микроциркуляцию, 10 повышая деформируемость эритроцитов и уменьшая агрегацию эритроцитов и тромбоцитов [1, 2, 3].

Задачей изобретения является расширение арсенала антиагрегантных средств, улучшающих реологические свойства крови и обладающих антитромбоцитарным эффектом.

15 Поставленная задача достигается использованием в качестве гемореологического и антитромбоцитарного средства препарата "Маакии амурской экстракт сухой", приготовленного из растения маакии амурской (*Maackia amurensis*) Rupr et. Maxim, сем. бобовые Fabaceae. Препарат представляет собой высушенный под вакуумом спиртовой экстракт, приготовленный из измельченной ядровой древесины этого растения [8].

20 Препарат "Маакии амурской экстракт сухой" состоит из растительных полифенолов, обладает гепатозащитным действием [8]. Препарат зарегистрирован в качестве субстанции (Р №003309/01 от 12.04.2004 г.) для приготовления лекарственного средства "Максар® таблетки, покрытые оболочкой, 60 мг" (Р №003294/01 от 12.04.2004 г.), использующегося для лечения хронических гепатитов [9, 10].

25 Основными компонентами препарата "Маакии амурской экстракт сухой" являются растительные полифенолы. К ним относятся флавоноиды и изофлавоноиды: ликвиритигенин, 3-гидроксивеститон, даидзеин, оробол, каликозин, ретузин, 3,7-дигидрокси-4'-метоксифлаво́н, генистеин, текторигенин, формононетин, веститол, афромозин; птерокарпаны: маакиаин и медикарпин; мономерные стильбены: резвератро́л и 30 пицеатанно́л; димерные стильбены: сцирпусин В, маакин А, сцирпусин А, маакин; стильбенолигнан': мааколин; изофлавоностилбен: маакиазин; халкон: изоликвиритегенин [11, 12, 13].

Таким образом, препарат "Маакии амурской экстракт сухой" представляет собой сумму природных полифенолов, содержащую флавоноиды, изофлавоноиды, птерокарпаны, 35 мономерные стильбены, димерные стильбены, стильбенолигнан, изофлавоностилбен и халкон. Содержание полифенолов в препарате по данным методов спектрофотометрии, ВЭЖХ, а также весового анализа составляет: изофлавоноидов - 9,6-12,6%; мономерных стильбенов - 7,2-14,5%; димерных стильбенов - 22-27%.

Известно, что большинство фенольных компонентов, выделенных из маакии амурской, 40 обладают высокой антирадикальной и антиоксидантной активностью, сопоставимой с эффектом ионола [13]. Для изофлавоноидов, помимо прямого антиоксидантного эффекта, характерна и эстрогенопосредованная антиокислительная активность [14].

Использование препарата "Маакии амурской экстракт сухой" как гемореологического и антитромбоцитарного средства в литературе не описано.

45 Принципиально новым в предлагаемом изобретении является то, что препарат "Маакии амурской экстракт сухой" применяется в качестве средства, обладающего гемореологической и антитромбоцитарной активностью. Эти новые свойства известного препарата явным образом не вытекают из уровня техники. Препарат "Маакии амурской экстракт сухой" можно использовать для лечения больных с сердечно-сосудистыми 50 заболеваниями при эстрогенной недостаточности и другими заболеваниями для уменьшения повышенной вязкости крови, а также снижения агрегационной способности тромбоцитов. Препарат может выпускаться в лекарственной форме и в виде биологически активных добавок.

Таким образом, данное техническое решение соответствует критериям изобретения: "новизна", "изобретательский уровень", "промышленно применимо".

Новые свойства препарата были найдены экспериментальным путем. Изобретение будет понятно из следующего описания.

5 Эксперименты по изучению гемореологических свойств препарата "Маакии амурской экстракт сухой" проводили на 23 крысах-самцах Вистар массой 250-300 г. Животные были разделены на 3 группы: 8 животных получали внутривенно 1 мл крахмальной слизи (ежедневно в течение 5 суток) (контроль), 5 животных получали внутривенно пентоксифиллин (100 мг/кг ежедневно в течение 5 суток) (группа I); 8 животных
10 получали внутривенно препарат "Маакии амурской экстракт сухой" (200 мг/кг ежедневно однократно в течение 5 суток) (группа II). Влияние препаратов на вязкость крови оценивали с использованием модели синдрома повышенной вязкости крови *in vitro* [15]. Кровь забирали из общей сонной артерии под эфирным наркозом через 2 часа после последнего введения препарата или крахмальной слизи. В качестве стабилизатора
15 использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении с кровью 1:9. Вязкость крови измеряли на ротационном вискозиметре АКР-2 в диапазоне скоростей сдвига от 5 с^{-1} до 300 с^{-1} до и после инкубации образцов при комнатной температуре в течение 60 минут.

Эксперименты по изучению антитромбоцитарных свойств препарата "Маакии амурской экстракт сухой" проводили на 23 крысах-самцах Вистар массой 250-280 г. Животные были
20 разделены на 3 группы: 9 животных получали ежедневно в течение 5 суток внутривенно 1 мл крахмальной слизи (контроль), 6 животных получали внутривенно пентоксифиллин в дозе 100 мг/кг ежедневно в течение 5 суток (группа III); 8 животных получали внутривенно препарат "Маакии амурской экстракт сухой" (200 мг/кг ежедневно в течение 5 суток) (группа IV). Через 2 ч после последнего
25 введения препаратов или крахмальной слизи у животных под эфирным наркозом катетеризировали общую сонную артерию для забора крови. В качестве стабилизатора использовали 3,8% раствор цитрата натрия в соотношении с кровью 1:9. Получение богатой (БТП) и бедной (БеТП) тромбоцитами плазмы и подсчет числа тромбоцитов проводили по [16].

30 Из проб крови получали БТП и БеТП методом центрифугирования при 400 g и 1800 g соответственно на центрифуге ЦЛМН-Р 10-01. В полученной БТП подсчитывали количество тромбоцитов микроскопическим методом при фазовом контрасте в камере Горяева. Для этого в силиконовую пробирку точно пипеткой отмеряли 1,98 мл разводящего 5% раствора ЭДТА и осторожно вносили 0,02 мл БТП. В течение 2 мин содержимое пробирки тщательно
35 перемешивали без вспенивания. Заполняли камеру Горяева и на 10 мин помещали для оседания тромбоцитов в чашку Петри со смоченной фильтровальной бумагой. Тромбоциты подсчитывали в 25 больших квадратах.

Для расчета числа тромбоцитов в 1 мм^3 среднюю величину из двух параллельных определений умножают на 1000 (площадь 25 больших квадратов - 1 мм^2 , высота камеры -
40 0,1 мм, разведение 1:100; следовательно, количество тромбоцитов должно быть умножено на $1 \times 10 \times 100 = 1000$).

Нормальные пределы колебаний числа тромбоцитов в крови у крысы составляют от 430000 до 1 млн. в 1 мм^3 [17, 18].

45 После определения числа тромбоцитов в БТП проводили стандартизацию числа тромбоцитов, для чего БТП развели необходимым количеством БеТП до 400 ± 30 тыс. в 1 мм^3 в пробе.

Амплитуду АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов оценивали в стандартизованной плазме на приборе АТ-02, агрегатограммы регистрировали с помощью самописца Recorder 2210.
50

Статистическую обработку проводили с помощью ПСП "Statistica for Windows 4.3". Рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку, для выявления межгрупповых различий использовали t-критерий Стьюдента.

Результаты исследований представлены в примерах 1-6.

Пример 1. Инкубирование крови животных группы контроля в течение 60 мин при комнатной температуре приводило к повышению вязкости крови при скоростях сдвига 5 с^{-1} , 10 с^{-1} , 50 с^{-1} , 100 с^{-1} , 300 с^{-1} на 16%, 14%, 18%, 11% и 9% соответственно (табл.1, контроль).

Пример 2. У опытных крыс в группе I до инкубации вязкость крови не отличалась от соответствующих значений в контрольной группе при всех скоростях сдвига. Инкубирование крови крыс этой группы приводило к повышению вязкости крови при скоростях сдвига 5 с^{-1} , 10 с^{-1} , 50 с^{-1} , 100 с^{-1} , 300 с^{-1} на 9%, 14%, 12%, 9% и 7% соответственно. После инкубации вязкость крови при скоростях сдвига 10 с^{-1} , 50 с^{-1} и 300 с^{-1} была ниже, чем в контроле на 10%, 8% и 6% соответственно (табл.1, группа I).

Таким образом, на модели синдрома повышенной вязкости крови *in vitro* пентоксифиллин ограничивает возрастание вязкости крови.

Пример 3. У опытных крыс в группе II до инкубации вязкость крови не отличалась от соответствующих значений в контрольной группе при всех скоростях сдвига. Инкубирование крови крыс этой группы приводило к повышению вязкости крови при скоростях сдвига 5 с^{-1} , 10 с^{-1} , 50 с^{-1} и 300 с^{-1} на 11%, 7%, 6% и 7% соответственно. После инкубирования вязкость крови была ниже, чем в контроле при скоростях сдвига 5 с^{-1} , 10 с^{-1} , 50 с^{-1} , 100 с^{-1} на 12%, 9%, 12% и 6% соответственно (табл.1, группа II).

Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что препарат "Маакии амурской экстракт сухой" при внутрижелудочном введении в дозе 200 мг/кг обладает выраженным антиагрегантным эффектом на тромбоциты, сравнимым с действием пентоксифиллина в дозе 100 мг/кг.

Пример 4. В контрольной группе животных амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в стандартизованной плазме составила $35 \pm 2\%$ (табл.2, контроль).

Пример 5. У опытных крыс в группе III пентоксифиллин при ежедневном внутрижелудочном введении в дозе 100 мг/кг в течение 5 суток снижал амплитуду АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в стандартизованной плазме до $29 \pm 2\%$, что на 17% ниже показателя у крыс контрольной группы (табл.2, группа III).

Пример 6. У опытных крыс группы IV препарат "Маакии амурской экстракт сухой" при ежедневном внутрижелудочном введении в дозе 200 мг/кг в течение 5 суток снижал амплитуду АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в стандартизованной плазме до $27 \pm 3\%$ (табл.2, группа IV). Амплитуда агрегации тромбоцитов была на 23% ниже, чем в контроле, и была близка к значению показателя у крыс в группе III. Из полученных результатов можно сделать вывод о том, что препарат "Маакии амурской экстракт сухой" при внутрижелудочном введении в дозе 200 мг/кг обладает выраженным антиагрегантным эффектом на тромбоциты, сравнимым с действием пентоксифиллина в дозе 100 мг/кг.

Таким образом, препарат "Маакии амурской экстракт сухой" обладает выраженными гемореологическими и антитромбоцитарными свойствами.

Таблица 1 Влияние внутрижелудочного введения пентоксифиллина (100 мг/кг ежедневно однократно в течение 5 суток, группа I) и препарата "Маакии амурской экстракт сухой" (200 мг/кг ежедневно однократно в течение 5 суток, группа II) на вязкость крови до (1) и через 1 ч после инкубации крови при комнатной температуре ($20,0 \pm 0,4^\circ\text{C}$) (2)										
Серия опытов	Вязкость крови, мПа·с									
	5 с^{-1}		10 с^{-1}		50 с^{-1}		100 с^{-1}		300 с^{-1}	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Контроль (n=8)	$8,0 \pm 0,3$	$9,3 \pm 0,3^*$	$7,0 \pm 0,1$	$8,0 \pm 0,2^*$	$5,1 \pm 0,1$	$6,0 \pm 0,2^*$	$4,7 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,1^*$	$4,5 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1^*$
Группа I (n=5)	$7,8 \pm 0,4$	$8,5 \pm 0,4^*$	$6,3 \pm 0,4$	$7,2 \pm 0,3^{\otimes}$	$4,9 \pm 0,2$	$5,5 \pm 0,1^{\otimes}$	$4,6 \pm 0,1$	$5,0 \pm 0,1^*$	$4,3 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,1^{\otimes}$
Группа II (n=10)	$7,4 \pm 0,2$	$8,2 \pm 0,3^{\otimes}$	$6,8 \pm 0,2$	$7,3 \pm 0,2^{\otimes}$	$5,0 \pm 0,1$	$5,3 \pm 0,1^{\otimes}$	$4,7 \pm 0,1$	$4,9 \pm 0,1^{\otimes}$	$4,4 \pm 0,1$	$4,7 \pm 0,1^*$

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению со значениями до инкубации крови;
 \otimes - $p < 0,05$ по сравнению со значениями в группе контроля.

Таблица 2 Влияние внутрижелудочного введения пентоксифиллина (100 мг/кг ежедневно в течение 5 суток, группа III) и препарата "Маакии амурской экстракт сухой" (200 мг/кг ежедневно в течение 5 суток, группа IV) на амплитуду АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов										
---	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Серия опытов	Амплитуда агрегации тромбоцитов, %
Контроль (n=9)	32±2
Группа III (n=6)	29±2 [⊗]
Группа IV (n=8)	27±3 [⊗]
Примечание: [⊗] - p<0,05 по сравнению с группой контроля.	

5

Источники литературы

1. Дроздов С.А. Пентоксифиллин в лечении нарушений мозгового кровообращения. // Журн. неврол. и психиатрии им.С.С.Корсакова. - 1997. - №9. - С.62-67.
- 10 2. Габриэлян Э.С., Акопов С.Э. Клетки крови и кровообращение. - Ереван: Айастан, 1985. - 399 с.
3. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей. - М.: Новая волна, 2000. - Т.1 и 2.
- 15 4. Плотников М.Б., Алиев О.И., Маслов М.Ю., Васильев А.С., Тюкавкина Н.А. Коррекция синдрома повышенной вязкости крови в условиях ишемии мозга у крыс комплексом диквертина и аскорбиновой кислоты. // Эксперим. и клинич. фармакология. - 1999. - №6. - С.45-47.
- 20 5. Koltringer P., Eber O., Lind P. et al. Microzirkulation und Viscoelastizität des Vollblutes unter Gingko biloba extrakt. Eine placebocontrollierte randomisierte Doppelblind-Studie. // Perfusion. - 1989. - Bd. 1. - S.28-30.
- 25 6. Применение антитромбоцитарных средств. По материалам рекомендаций Рабочей группы по применению антитромбоцитарных средств у больных с атеросклерозом Европейского общества кардиологов. // Клинич. фармакол. и терапия. - 2004. - №3. С.32-38.
7. Носаль Р. Современное состояние и перспективы антитромбоцитарной терапии. // Словакофарма ревью. - 2000. - №1-2. - С.14-19.
- 30 8. Максимов О.Б., Кулеш Н.И., Федореев С.А., Глебко Л.И., Покушалова Т.В., Степаненко Л.С., Кривошекова О.Е., Горовой П.Г., Саратиков А.С., Чучалин В.С., Власова Т.В. Способ получения растительных полифенолов, обладающих гепатопротекторным действием. // Патент РФ №2104027. - 1998. - Бюл. №4. Кл. А61К 35/78.
9. Гайсаев Р.О., Белобородова Э.И., Саратиков А.С. Способ лечения хронических гепатитов. // Патент РФ №21752337 - 2001. - Бюл. №30. Кл. 7 А61К 35/78, А61Р 1/16.
10. Белобородова Э.И., Венгеровский А.И., Гайсаев Р.О., Саратиков А.С., Федореев С.А. Новое гепатопротекторное средство - максар. // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. - 1999. - №8. - С.443-445.
- 35 11. Максимов О.Б., Кулеш Н.И., Степаненко Л.С. Маакция амурская. Экстрактивные вещества древесины и их биологическая активность. // Химия в интересах устойчивого развития. - 1998. - Т.6. - С.447-460.
- 40 12. Федореев С.А., Кулеш Н.И., Глебко Л.И., Покушалова Т.В., Веселова М.В., Саратиков А.С., Венгеровский А.И., Чучалин В.С. Препарат максар из дальневосточного растения маакии амурской. // Химико-фармацевтический журнал. - 2004. - Т.38. - С.80-84.
13. Fedoreyev S.A., Pokushalova T.V., Veselova M.V., Glebko L.I., Kulesh N.I., Muzarok T.I., Seletskaya L.D., Bulgakov V.P., Zhuravlev Yu.N. Isoflavonoid production by callus cultures of Maackia amurensis. // Fitoterapia. - 2000. - Vol.71. - P.365-372.
- 45 14. Kanazawa T., Osanai T., Zhang X. Protective effects of soy protein on the peroxidizability of lipoproteins in cerebrovascular diseases. // J. Nutr. - 1995. - Vol.125. - №3. - P.6398-6463.
15. Плотников М.Б., Колтунов А.А., Алиев О.И. Метод отбора лекарственных веществ, влияющих на реологические свойства крови in vitro. // Эксперим. и клинич. фармакология. - 1996. - №6. - С.57-58.
- 50 16. Баркаган З.С., Момот А.П. Основные методы лабораторной диагностики нарушений системы гемостаза - Барнаул, 1998. - С.10-11.
17. Закревская А.Л. Тромбоциты крыс как модель исследования ингибиторов агрегации. // Патологич. функц. системы гемостаза. - Л., 1990. - С.46-54.
18. Западнюк И.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. - Киев, 1974.

- 303 с.

Формула изобретения

5 Применение препарата Маакии амурской экстракт сухой в качестве гемореологического и антитромбоцитарного средства.

10

15

20

25

30

35

40

45

50