



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015138299/15, 08.09.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.09.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.09.2015

(45) Опубликовано: 10.11.2016 Бюл. № 31

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2342944 C1, 10.01.2009. RU 2104027 C1, 10.02.1998. CN 101474239 A, 08.07.2009. RU 2454243 C1, 27.06.2012.

Адрес для переписки:

690022, г. Владивосток, пр-кт 100 лет
Владивостоку, 159, ФГБУН ТИБОХ им. Г.Б.
Елякова ДВО РАН, зав. патентным отделом
Стадниченко Н.И.

(72) Автор(ы):

Кулеш Надежда Ивановна (RU),
Замятина Светлана Владимировна (RU),
Зверев Яков Федорович (RU),
Федореев Сергей Александрович (RU),
Веселова Марина Владимировна (RU),
Мищенко Наталья Петровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Тихоокеанский институт
биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
Дальневосточного отделения Российской
академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) (RU)

(54) СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ АНТИАГРЕГАНТНОЙ И АНТИКОАГУЛЯНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к средству, обладающему антиагрегантной и антикоагулянтной активностью. Средство, обладающее антиагрегантной и антикоагулянтной активностью, на основе сухого этанольного экстракта *Maackia amurensis*, которое представляет собой экстракт коры корней *Maackia amurensis* Rupr et. Maxim, содержащий комплекс изофлавоноидов, состоящий из 7-О-гентиобиозидов даидзеина, генистеина, афромозина, псевдобапигенина, формонетина

и 5-О-метилдаидзеина, 7-О-β-D-глюкопиранозидов даидзеина и генистеина, 7-О-примверозидов псевдобапигенина и формонетина, 3-О-гентиобиозидов маакиаина и медикарпина, полученное путем трехкратной экстракции сухой коры корней *Maackia amurensis* 90% этанолом при определенных условиях. Средство обладает высокой антиагрегантной и антикоагулянтной активностью с одновременной способностью угнетать процессы сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза. 2 ил., 6 табл., 9 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/48 (2006.01)
A61P 7/02 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2015138299/15, 08.09.2015**(24) Effective date for property rights:
08.09.2015

Priority:

(22) Date of filing: **08.09.2015**(45) Date of publication: **10.11.2016** Bull. № 31

Mail address:

**690022, g. Vladivostok, pr-kt 100 let Vladivostoku,
159, FGBUN TIBOKH im. G.B. Eljakova DVO
RAN, zav. patentnym otdelom Stadnichenko N.I.**

(72) Inventor(s):

**Kulesh Nadezhda Ivanovna (RU),
Zamjatina Svetlana Vladimirovna (RU),
Zverev JAKov Fedorovich (RU),
Fedoreev Sergej Aleksandrovich (RU),
Veselova Marina Vladimirovna (RU),
Mishchenko Natalja Petrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Eljakova
Dalnevostochnogo otdelenija Rossijskoj
akademii nauk (TIBOKH DVO RAN) (RU)**

(54) **AGENT WITH ANTIPLATELET AND ANTICOAGULANT ACTIVITY**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to pharmaceutical industry, namely to agent with antiplatelet and anticoagulant activity. Agent with antiplatelet and anticoagulant activity, based on dry ethanol extract of *Maackia amurensis*, which is root bark extract of *Maackia amurensis* Rupr et., Maxim, containing complex of isoflavonoids, consisting of daidzein 7-O-gentiobiosides, genistein, afromosine, pseudobaptigenine, formononetin and 5-O-metildaidzein, daidzein 7-O- β -D-glucopyranoside and

genistein, pseudobaptigenine 7-O-primverosides and formononetin, maackiaine 3-O-gentiobiosides and medikarpine, produced by triple extraction of *Maackia amurensis* dry roots bark with 90 % ethanol under certain conditions.

EFFECT: agent has high antiplatelet and anticoagulant activity and is capable of inhibiting vascular-thrombocyte and coagulation hemostasis processes.

1 cl, 2 dwg, 6 tbl, 9 ex

Изобретение относится к медицине, конкретно к фармакологии, и касается средства, обладающего антиагрегантными и антикоагулянтными свойствами.

Известны средства, обладающие антиагрегантными свойствами - ацетилсалициловая кислота, тиклопидин, клопидогрел, дипиридамол [1-5], а также средства, полученные из растительного сырья, обладающие свойством угнетать агрегацию тромбоцитов [6-10].

Известно лекарственное средство «ПАТРИМИН», обладающее седативным, гипотензивным, антикоагулянтным, антиагрегационным и гиполипидемическим действием. Средство характеризуется тем, что представляет собой сухой экстракт тритерпеновых гликозидов-патринозидов Д, В и С, полученный из корней патринии средней [11].

Известны средства, обладающие антикоагулянтными свойствами - гепарин, варфарин, дабигатран, ривароксабан [12-17], а также средства на основе извлечений из растительного сырья, способные угнетать процесс свертывания крови [18-21].

Известно антикоагулянтное средство, обладающее ингибиторной активностью по отношению к тромбину и представляющее собой раствор биологически активного комплекса из коры березы, полученный экстракцией измельченной коры березы водой при кипячении [22].

Прототипом заявляемого средства является препарат «Маакии амурской экстракт сухой», обладающий гемореологической, антитромбоцитарной и антитромбогенной активностью [23, 24]. Этот препарат представляет собой высушенный под вакуумом этанольный экстракт, приготовленной из измельченной ядровой древесины растения маакии амурской (*Maackia amurensis* Rupr et. Maxim, сем. бобовые Fabaceae) [25]. Он содержит сумму природных полифенолов, состоящую из флавоноидов, изофлавоноидов, птерокарпанов, мономерных стильбенов, димерных стильбенов, стильбенолигнанов, изофлавоностильбенов и халкона [26, 27]. Препарат «Маакии амурской экстракт сухой» зарегистрирован в Российской Федерации в качестве субстанции (Р N003309/01 от 12.04.2004 г.) для приготовления лекарственного средства «Максар® таблетки, покрытые, пленочной оболочкой, 60 мг» (Р N003294/01 от 12.04.20011 г.), предназначенного для лечения хронических гепатитов [28-30].

Однако уровень антиагрегантной и антитромбоцитарной активности известного средства «Маакии амурской экстракт сухой» недостаточно высок.

Задачей изобретения является расширение арсенала средств растительного происхождения, обладающих антиагрегантной и антикоагулянтной активностью.

Поставленная задача решена созданием нового средства, обладающего антиагрегантной и антикоагулянтной активностью, на основе сухого этанольного экстракта коры корней *Maackia amurensis* Rupr et. Maxim, содержащего комплекс изофлавоноидов. Этот комплекс содержит свыше 95% гликозидных форм изофлавонов и птерокарпанов и состоит из 7-О-гентиобиозидов даидзеина (1), генистеина (3), афромозина (4), псевдобаптигенина (6), формонетина (7) и 5-О-метилдаидзеина (12), 7-О-β-D-глюкопиранозидов даидзеина (2) и генистеина (5), 7-О-примверозидов псевдобаптигенина (8) и формонетина (9), 3-О-гентиобиозидов маакиаина (10) и медикарпина (11).

Все соединения известны, за исключением 7-О-примверозилпсевдобаптигенина (8), которое выделено авторами из спиртового экстракта коры корней *M. amurensis* на колонке, заполненной сорбентом Toyopearl HW-50F (2×30 см) в системе растворителей вода-спирт (9:1), содержащей 0,02% муравьиной кислоты. Соединение (8) получено в виде белого аморфного порошка; $[\alpha]_{576}^{20}$: - 19,0° (с 1,0 C₂H₅OH); ИК-спектр (KBr): ν max

3406, 1620, 1560, 1441 cm^{-1} . Его структура установлена методами масс-спектрометрии и спектроскопии ЯМР как 7-О-[β -D-ксилопиранозил-(1 \rightarrow 6)]- β -D-глюкопиранозид псевдобаптигенина. Данные ^1H и ^{13}C ЯМР спектров соединения (8) представлены в таблице 1.

Таблица 1

^1H и ^{13}C ЯМР спектры соединения (8) в CD_3OD
(700,13 МГц для ядер ^1H и 176,04 МГц для ядер ^{13}C)

№ атома	^1H	^{13}C	HMBC
2	8,26, с	153,9	1',3,4,9
3		127,2	
4		174,8	
5	8,15, д, J 8,9	128,0	4,7,8
6	7,23, дд, J 2,3, 8,9	115,8	7,8,9,10
7		161,5	
8	7,36, д, J 2,3	103,7	4,6,10
9		157,1	
10		118,5	
1'		125,6	
2'	7,08, д, J 1,7	110,0	3,1'
3'		147,5	
4'		147,5	
5'	6,88, д, J 8,0	108,2	
6'	7,08, дд, J 1,7, 8,0	123,0	3,1'
OCH ₃ O	5,97, с	101,1	
1''	5,07, д, J 7,4	102,2	7,4''
2''	3,52, м,	75,3	3''

3''	3,48, т, J 9,1	78,4	
4''	3,54, м	71,5	
5''	3,80, м	78,1	1'',3''
6''	3,26, дд, J 10,5, 11,4	67,4	4''
	3,87, дд, J 5,3, 11,4		4''
1'''	4,32, д, J 7,3	104,2	6'',5'''
2'''	3,28, м	75,6	
3'''	3,30, т, J 8,9	78,3	
4'''	3,50, дд, J 5,3, J 11,0	72,3	3''',5'''
5'''	3,60, дд, J 5,3, 11,0	71,0	1'''
	4,10, J 9,8		1''',4'''

На фиг. 1 представлены структуры вышеперечисленных изофлавоноидов.

На фиг. 2 представлена ВЭЖХ комплекса изофлавоноидов из коры корней *Maackia amurensis*. Дигидрокверцетин (ДГК) использован в качестве внутреннего стандарта.

В доступной патентной и другой научно-технической литературе средство на основе экстракта из коры корней маакии амурской, обладающее антиагрегантной и антикоагулянтной активностью, не обнаружено. Ранее авторами было запатентовано средство, представляющее собой экстракт корней маакии амурской, содержащий до 70% 7-О-[β -D-глюкопиранозил-(1 \rightarrow 6)]- β -D-глюкопиранозидов генистеина, псевдобаптигенина, формонетина, 5-метоксидаидзеина и маакиаина, обладающее гепатопротективной активностью [31].

Поскольку состав полифенольных комплексов ядровой древесины и коры корней маакии амурской различен, нельзя было с очевидностью предположить о наличии у последнего антиромбоцитарных и антикоагулянтных свойств.

Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в проявлении у заявляемого средства более высокой антиагрегантной и антикоагулянтной активности в сравнении с препаратом «Маакии амурской экстракт сухой» с одновременной способностью угнетать процессы сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза.

Способ получения заявляемого средства заключается в следующем.

Сухую кору корней *Maackia amurensis* трижды экстрагируют 90% этанолом при 45°C в соотношении сырье : этанол 1:5. Полученный суммарный спиртовой экстракт упаривают в вакууме до сиропообразного состояния, затем растворяют в 60% этаноле и четыре раза экстрагируют гексаном для удаления балластных соединений. Водно-спиртовой экстракт коры корней упаривают в вакууме при 40°C с добавлением 96% этанола в соотношении водно-спиртовой экстракт : этанол 1:5 для удаления остаточного растворителя, затем высушивают методом распыления до образования сухого порошка светло-желтого цвета.

Выход конечного продукта составляет 15-16% в пересчете на сухую кору корней маакии амурской.

Кора корней маакии амурской содержит стабильно высокое количество гликозидов изофлавонов и птерокарпанов, что видно из таблицы 2.

Таблица 2

Содержание гликозидов изофлавонов и птерокарпанов
в коре корней маакии амурской

Год заготовки	Сухая кора корней, г	Гликозиды изофлавонов и птерокарпанов, г	Выход гликозидов в пересчете на сухую кору корней, %
Ноябрь 2008	200,0	30,0	15,0
Ноябрь 2009	257,0	41,8	15,7
Ноябрь 2010	320,0	44,5	15,4
Ноябрь 2014	1530,0	237,0	15,5

Химический состав изофлавоноидов и их относительное содержание в сухом экстракте, полученном из коры корней маакии амурской, определено с использованием методов ЯМР спектроскопии и хроматомасс-спектрометрии и представлено в таблице 3.

Таблица 3

Масс-спектрометры при электроспрейной ионизации (ESI-MS), спектры поглощения и относительное содержание соединений 1-12 в коре корней *M. amurensis*, %.

Соединение	УФ-спектры (нм) и молекулярный вес (М) изофлавоноидов		Положительные молекулярные ионы, m/z	Отрицательные молекулярные ионы, m/z	Относительное содержание соединений 1-12, %
	УФ- спектр	М	[M+H] ⁺	[M-H] ⁻	
1	257, 310 пл	578	579	577	4,1
2	257, 310 пл	416	417	415	7,5
3	259, 306пл.	594	595	593	8,9
4	260, 313 пл	622	623	621	3,4
5	257, 310 пл.	432	433	431	3,6
6	249, 294	606	607	605	13,5
7	251, 300 пл.	592	593	591	32,6
8	250, 291 пл.	576	577	575	1,8
9	252, 300 пл.	562	563	561	6,9
10	284	608	609	607	6,8
11	284	594	595	593	5,0
12	257, 310 пл.	608	609	607	5,8

Предлагаемый способ позволяет получать ранее не описанный в доступной литературе высокоочищенный комплекс изофлавоноидов, свободный от растительных восков, терпеноидов, стероидов и других балластных соединений.

Антиагрегантные и антикоагулянтные свойства заявляемого средства были найдены экспериментальным путем.

Эксперименты по изучению сосудисто-тромбоцитарного гемостаза при использовании очищенного комплекса изофлавоноидов, содержащего гликозиды изофлавонов и птерокарпанов из коры корней маакии амурской (МАКК), проводили на 39 крысах-самцах линии Вистар массой 240-290 г.

Животные были разделены на 3 группы по 13 крыс: первая (контрольная) группа ежедневно на протяжении 10 суток получала внутрижелудочно 1 мл крахмальной слизи; вторая группа - препарат «Маакии амурской экстракт сухой» (25 мг/кг ежедневно в течение 10 суток); третья группа - МАКК в такой же дозе на протяжении такого же периода времени. Через 2 ч после последнего введения веществ или крахмальной слизи под легким эфирным наркозом брали кровь из брюшной аорты крыс и с помощью автоматического гематологического анализатора определяли содержание тромбоцитов (кл/мкл).

Нормальные пределы колебаний числа тромбоцитов крови у крыс составляют от 430 тысяч до 1 млн в 1 мм³ [32, 33], что соответствовало результатам, полученным в экспериментах.

После определения числа тромбоцитов для исследования сосудисто-тромбоцитарного гемостаза использовали метод индуцированной АДФ-агрегации тромбоцитов с помощью оптического агрегометра, регистрирующего агрегацию в богатой тромбоцитами плазме по изменению ее оптической плотности (степень светопропускания, %).

Эксперименты по изучению коагуляционного гемостаза проводили на 40 крысах-самцах линии Вистар массой 260-280 г. Животные были разделены на 3 группы: первая группа (14 крыс) ежедневно на протяжении 10 дней получала внутрижелудочно по 1 мл крахмальной слизи (контроль); животным второй группы (13 крыс) на протяжении 10 дней энтерально вводили препарат «Маакии амурской экстракт сухой» в дозе 25 мг/кг ежедневно; третьей группы - МАКК (13 крыс) в такой же дозе на протяжении такого же периода времени.

Через 2 ч после последнего введения веществ или крахмальной слизи под легким

эфирным наркозом брали кровь из брюшной аорты крыс и исследовали показатели коагуляционного гемостаза. С этой целью определяли ряд параметров коагулограммы: активированное парциальное (частичное) тромбoplastиновое время (АПТВ, сек), протромбиновое время (сек), тромбиновое время (сек), концентрацию фибриногена (г/л), фибрин-мономерные комплексы плазмы (орто-фенантролиновый тест, РФМК, мг/100 мл); активность физиологического антикоагулянта антитромбина III (%), а также фибринолиз (время лизиса, мин).

Принцип метода определения АПТВ основан на измерении времени свертывания плазмы крови в условиях стандартизованной контактной (каолином) и фосфолипидной (кефалином) активации процесса в присутствии ионов Ca^{2+} .

В основе измерения протромбинового времени лежит способность тромбoplastина (фактор III, тромбиназа) превращать протромбин крови в присутствии Ca^{2+} в активный тромбин, который, в свою очередь, трансформирует фибрин крови в нерастворимый фибрин. ПВ - это время образования фибрина в присутствии Ca^{2+} и тканевого тромбoplastина.

Измерение тромбинового времени заключается в определении времени свертывания плазмы крови под влиянием тромбина стандартной активности.

Принцип определения фибриногена заключается в измерении времени свертывания разбавленной цитратной плазмы избытком тромбина. Время свертывания при этом пропорционально концентрации фибриногена, которую определяют по калибровочному графику.

Принцип метода определения фибрин-мономерных комплексов в плазме крови заключается в фиксировании времени появления в плазме, содержащей эти комплексы, зерен (паракоагулятов) фибрина после добавления к ней раствора фенантролина.

Суть определения антитромбина III заключается в том, что АIII разведенной исследуемой плазмы в присутствии гепарина быстро инактивирует α -тромбин. Это приводит к удлинению времени свертывания, по которому оценивается активность АIII-образца. Активность АIII, выраженную в процентах к норме, находят по специально построенной калибровочной кривой.

Фибринолиз оценивали по времени спонтанного лизиса сгустка (мин), получаемого из эуглобулиновой фракции плазмы, при добавлении к ней раствора хлорида кальция.

С целью графической регистрации процессов свертывания крови и фибринолиза использована методика тромбозластографии. На эластограмме фиксировали следующие показатели: СТ - время начала свертывания, сек; СFT - время формирования сгустка, сек; MCF - максимальную твердость сгустка, мм; ML - максимальный лизис сгустка, %; угол α - кинетику образования сгустка, °.

Результаты исследования представлены в примерах 1-9.

Пример 1. В условиях 10-дневного энтерального введения крахмальной слизи количество тромбоцитов в контрольной группе крыс составило $477 \pm 23,1 \cdot 10^3$ кл/мкл, амплитуда АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов в стандартизованной плазме составила $34 \pm 3,5\%$.

Пример 2. 10-дневное энтеральное применение препарата «Маакки амурской экстракт сухой» в дозе 25 мг/кг обусловило существенное увеличение числа тромбоцитов: $564 \pm 13,7 \cdot 10^3$ кл/мкл; рост на 18,2%. При этом значительных изменений амплитуды АДФ-агрегации тромбоцитов при использовании препарата в данной дозе зафиксировано не было.

Пример 3. Энтеральное введение МАКК соединения на протяжении 10 дней в дозе

25 мг/кг ежедневно привело к небольшому росту числа тромбоцитов на 9,6% (до $523 \pm 15,6 \cdot 10^3$ кл/мкл), не достигая достоверных различий в сравнении с показателями интактных крыс. При этом показатель амплитуды АДФ-индуцированной агрегации тромбоцитов резко снижался, на 40,4% уступая цифрам контрольных животных.

Результаты, полученные в примерах 1-3, представлены в таблице 4.

Таблица 4

Влияние 10-дневного энтерального введения в ежедневной дозе 25 мг/кг препарата «Маакии амурской экстракт сухой» (группа 1) и МАКК (группа 2) на показатели сосудисто-тромбоцитарного гемостаза у крыс

Серия экспериментов	Количество тромбоцитов, 10^3 кл/мкл	Амплитуда АДФ-агрегации, %
Контроль (n=13)	477 \pm 23,1	34,2 \pm 3,53
Группа 1 (n=13)	564 \pm 13,7*	44,4 \pm 2,36
Группа 2 (n=13)	523 \pm 15,6	20,4 \pm 2,20*

Примечание: здесь и далее n – количество животных; кл/мкл – клеток в микролитре; звездочками обозначены достоверные изменения по сравнению с показателями контрольных животных.

Таким образом, суммарный сухой этанольный экстракт коры корней маакии амурской при 10-дневном энтеральном введении крысам в дозе 25 мг/кг обладает выраженным антиагрегантным эффектом, значительно превосходящим действие препарата «Маакии амурской экстракт сухой», взятого в такой же дозе при такой же продолжительности введения.

Пример 4. В условиях 10-дневного энтерального применения крахмальной слизи были получены цифры, характеризующие показатели коагуляционного гемостаза у данной популяции крыс.

Пример 5. Внутрижелудочное введение препарата «Маакии амурской экстракт сухой» на протяжении 10 дней в дозе 25 мг/кг привело к достоверному увеличению показателей протромбинового и тромбинового времени (на 24% и 11,6% соответственно). Кроме того, был зафиксирован рост антитромбина III на 8,8%. Обращает на себя внимание некоторое увеличение активности антитромбина III (на 8,8%), что указывает на возможность прямой антикоагулянтной активности.

Пример 6. Энтеральное введение соединения МАКК на протяжении 10 дней в дозе 25 мг/кг обусловило значительное удлинение показателей протромбинового и тромбинового времени (на 36,3% и 64,2% соответственно), существенно превосходящее эффект препарата «Маакии амурской экстракт сухой». Кроме того, было выявлено некоторое повышение активности антитромбина III (на 5,9%), сопоставимое с эффектом препарата сравнения. Обращает на себя внимание резкое уменьшение времени фибринолиза, зафиксированное под влиянием МАКК. В условиях применения МАКК лизис образовавшегося сгустка происходил на 40-45% быстрее, чем у интактных крыс и животных, получавших препарат «Маакии амурской экстракт сухой».

Результаты, полученные в примерах 4-6, представлены в таблице 5.

Таблица 5

Влияние 10-дневного энтерального введения в ежедневной дозе 25 мг/кг препарата «Маакии амурской экстракт сухой» (группа 1) и МАКК (группа 2) на показатели коагуляционного гемостаза у крыс

Серия экспериментов	Протромбиновое время, сек	АПТВ, сек	Тромбиновое время, сек	Фибриноген, г/л	РФМК, мг%	Антитромбин III, %	Фибринолиз, мин
Контроль (n=14)	18,2±0,85	15,0±1,57	27,9±1,38	2,1±0,18	3,1±0,07	102±2,5	999±156,2
Группа 1 (n=13)	22,6±0,60*	11,3±0,52	32,3±1,25*	2,7±0,15	3,4±0,19	111±2,4*	945±129,2
Группа 2 (n=13)	24,8±0,73*	14,7±0,35	45,8±1,57*	2,3±0,15	3,0±0,05	108±2,0*	577±114,6*

Примечание: АПТВ - активированное парциальное (частичное) тромбопластиновое время; РФМК - фибрин-мономерные комплексы плазмы (орто-фенантролиновый тест)

Таким образом, установлено, что в условиях 10-дневного введения в дозе 25 мг/кг МАКК обладает выраженным воздействием на свертывание крови, замедляя этот процесс в большей степени, чем препарат «Маакии амурской экстракт сухой».

Фиксация происходящих в крови изменений с помощью тромбоэластографа в основном подтвердила способность изофлавоноидов из коры корней маакии амурской (МАКК) вмешиваться в процесс гемокоагуляции, замедляя процесс свертывания крови.

Пример 7. В условиях 10-дневного применения крахмальной слизи были установлены показатели тромбоэластограммы, характерные для данной популяции крыс.

Пример 8. Энтеральное использование препарата «Маакии амурской экстракт сухой» на протяжении 10 дней в дозе 25 мг/кг не изменило существенно показатели тромбоэластограммы за исключением увеличения на 36,9% максимальной твердости образовавшегося сгустка.

Пример 9. 10-дневное энтеральное введение МАКК привело к значительному изменению времени начала свертывания, которое увеличилось на 37,7%.

Результаты, полученные в примерах 7-9, представлены в таблице 6.

Таблица 6

Влияние 10-дневного энтерального введения в ежедневной дозе 25 мг/кг препарата «Маакии амурской экстракт сухой» (группа 1) и МАКК (группа 2) на показатели тромбоэластограммы у крыс

Серия экспериментов	СТ (время начала свертывания), сек	Угол α (кинетика образования сгустка), °	СФТ (время образования сгустка), сек	МСФ (максимальная твердость сгустка), мм	ML (максимальный лизис), %
Контроль (n=14)	151±8,0	78±1,9	45±3,0	55±6,3	5,0±2,17
Группа 1 (n=13)	161±13,7	79±1,1	67±8,6	75±2,0*	1,2±0,55
Группа 2 (n=13)	208±13,4*	77±1,7	57±5,0	69±1,7	1,1±0,43

Показатели, приведенные в примерах 7-9 и таблице 6, подтверждают то, что суммарный сухой экстракт коры корней Маакии амурской в значительной степени угнетает процесс свертывания крови.

Таким образом, заявляемое средство обладает выраженным антиагрегантным и антикоагулянтным действием, одновременно угнетая процессы сосудисто-тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза.

Предлагаемое изобретение расширяет арсенал антиагрегантных и антикоагулянтных средств растительного происхождения, используемых при нарушениях микроциркуляции,

для лечения и профилактики тромбофлебитов, в комплексной терапии инфаркта миокарда, ишемического инсульта, для профилактики тромбоэмболии.

Источники информации

1. Муляр А.Г. и др. Рецепторная регуляция активности тромбоцитов. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2004. - Т. 67, №1. - С. 61-68.
2. Литвинов Р.И. Современные ингибиторы функции тромбоцитов. // Казанский медицинский журнал. - 2004. - Т. 85, №2. - С. 125-134.
3. Зиганшин А.У. Новые антиагреганты - блокаторы тромбоцитарных P₂-рецепторов. // Казанский медицинский журнал. - 2010. - Т. 91, №1. - С. 73-77.
4. Гарькина СВ. и др. Проблемы применения антитромбоцитарной терапии в кардиологии. // Эффективная фармакотерапия. - 2012. - №1. - С. 24-27.
5. Шилов А.М. Двухкомпонентная (АСК+клопидогрел) антитромботическая терапия острого коронарного синдрома в практике врача первого звена. // РМЖ. - 2012. - №20. - С. 1070-1075.
6. RU 2199331 C1, 27.02.2003.
7. Olas B. et al. Effects of polyphenol-rich extract from berries of Aronia melanocarpa on the markers of oxidative stress and blood platelet activation. // Platelets. - 2010. - V. 21, №4.-P. 274-281.
8. Jantan I. et al. Inhibitory effects of the extracts of Garcinia species on human low-density lipoprotein peroxidation and platelet aggregation in relation to their total phenolic contents. // Journal of medical plants research, - 2011. - V. 5, №13. - P. 2699-2709.
9. Policegoudra R.S. et al. Cytotoxicity, platelet aggregation inhibitory and antioxidant activity of Curcuma amada Roxb. extracts. // Food technology and biotechnology. - 2011.-V. 49, №2. - P. 162-168.
10. Kolodziejczyk-czepas J. et al. Extracts from Trifolium pallidum and Trifolium scabrum aerial parts as modulators of blood platelet adhesion and aggregation. // Platelets. - 2013. - V. 24, №2. - P. 136-144.
11. RU 2189241 C1, 20.09.2002
12. Кондашевская М.В. Современные представления о роли гепарина в гомеостазе и регуляции ферментативной и гормональной активности. // Вестник РАМН. - 2010. - №7. - С. 35-43.
13. Затейщиков Д.А., Исаева М.Ю. Вопросы организации лечения антикоагулянтами. // Клиническая практика. - 2012. - №3. - С. 51-62.
14. Баркаган З.С. Пути совершенствования и пролонгации антитромботической профилактики и терапии. // Гематология и трансфузиология. - 2005. - №4. - С. 3-7.
15. Явелов И.С. Пероральные антикоагулянты в лечении тромбоза глубоких вен нижних конечностей и (или) тромбоэмболии легочных артерий: возможности ривароксабана. // Трудный пациент.- 2015. - Т. 13, №4. - С. 24-28.
16. Воробьева Н.М., Панченко Е.П. Дабигатрана этексилат - новый пероральный антикоагулянт для лечения венозных тромбоэмболических осложнений. // Атеротромбоз. - 2014. - №1. - С. 50-58.
17. Панченко Е. и др. О назначении варфарина. // Врач. - 2006. - №10. - С. 36-38.
18. RU 2504391 C2, 20.01.2014.
19. RU 2506089 C1, 10.02.2014.
20. Дрозд Н.Н. и др. Антикоагулянтная активность экстрактов коры кедр, цианидинов коры ели, березы и целлюлозы, выделенной из древесины осины, пихты. // Эксперим. и клин. фармакол. 2010. Т. 73, №6. - С.14-18.
21. Pawlaczyk I. et al. Effects of extraction condition on structural features and anticoagulant

activity of *F. vesca* L. conjugates. // Carbohydrate polymers. - 2013. - V. 92, №1. - P. 741-750.

22. RU 2399377 C1, 20.09.2010.

23. RU 2342944 C1, 10.01.2009.

24. Плотникова А.М. и др. Антитромбогенная и антитромбоцитарная активность экстракта из древесины мааки амурской. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2009. - Т. 147, №2. - С. 164-167.

25. RU 2104027 C1, 10.02.1998.

26. Максимов О.Б. и др. Маакия амурская. Экстрактивные вещества древесины и их биологическая активность. // Химия в интересах устойчивого развития. - 1998. - Т. 6. - С. 447-460.

27. Федореев С.А. и др. Препарат максар из дальневосточного растения мааки амурской. // Химико-фармацевтический журнал. - 2004. - Т. 38. - С. 80-84.

28. RU 21752337 C2, 27.10.2001.

29. Белобородова Э.И. и др. Новое гепатозащитное средство - максар. // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. - 1999. - №8. - С. 443-445.

30. Путилова Е.А. и др. Роль препарата максар в лечении хронических вирусных гепатитов. // Дальневост. журнал инфекционной патологии - 2011. - №18 - С. 34-40.

31. RU 2454243 C1, 26.06.2012.

32. Закревская А.Л. Тромбоциты крыс как модель исследования ингибиторов агрегации. // Патологические функциональные системы гемостаза. - Л., 1990. - С. 46-5.

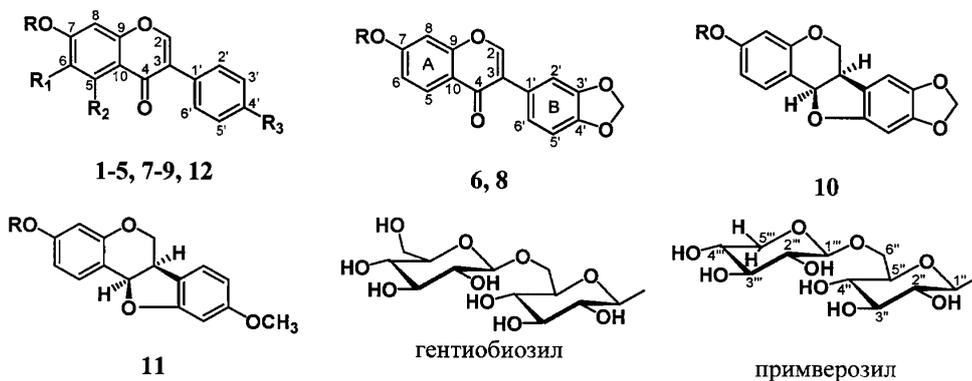
33. Западнюк И.П. и др. Лабораторные животные. - Киев, 1974. - 303 с.

Формула изобретения

Средство, обладающее антиагрегантной и антикоагулянтной активностью, на основе сухого этанольного экстракта *Maackia amurensis*, отличающееся тем, что средство представляет собой экстракт коры корней *Maackia amurensis* Rupr et. Maxim, содержащий комплекс изофлавоноидов, состоящий из 7-О-гентиобиозидов даидзеина, генистеина, афромозина, псевдобаптигенина, формонетина и 5-О-метилдаидзеина, 7-О-β-D-глюкопиранозидов даидзеина и генистеина, 7-О-примверозидов псевдобаптигенина и формонетина, 3-О-гентиобиозидов маакиаина и медикарпина, полученное путем трехкратной экстракции сухой коры корней *Maackia amurensis* 90% этанолом при 45°C в соотношении сырье : этанол 1:5, упаривания полученного суммарного экстракта в вакууме до сиропообразного состояния с последующим растворением его в 60% этаноле и четырехкратной экстракцией гексаном для удаления балластных соединений; с последующим упариванием полученного водно-спиртового экстракта коры корней в вакууме при 40°C с добавлением 96% этанола в соотношении водно-спиртовой экстракт : этанол 1:5 для удаления остаточного растворителя и высушиванием методом распыления до образования сухого порошка светло-желтого цвета.

40

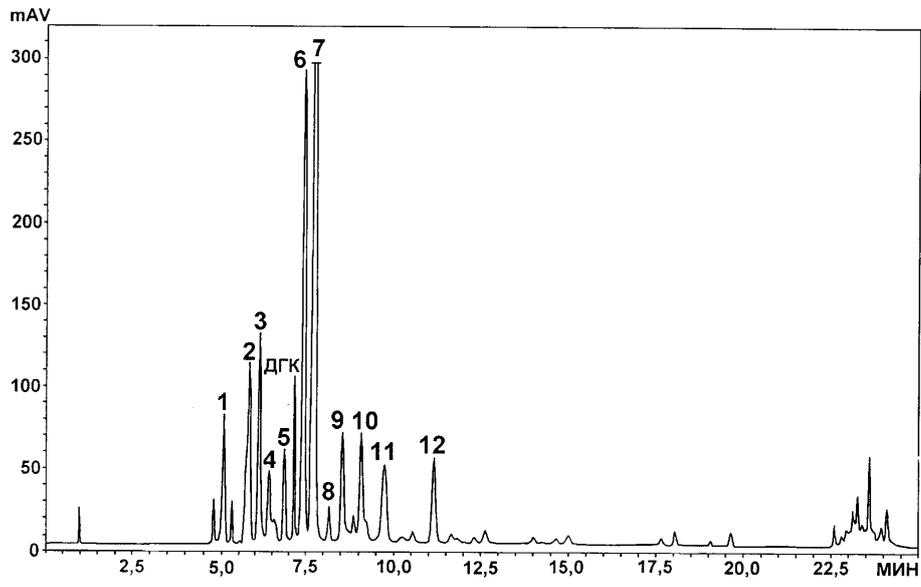
45



Вещество	R	R ₁	R ₂	R ₃
1	гентиобиозил	H	H	OH
2	β -D-Glc	H	H	OH
3	гентиобиозил	H	OH	OH
4	Гентиобиози	OCH ₃	H	OCH ₃
	л			
5	β -D-glc	H	OH	OH
6	гентиобиозил	-	-	-
7	гентиобиозил	H	H	OCH ₃
8	примверозил	-	-	-
9	примверозил	H	H	OCH ₃
10	гентиобиозил	-	-	-
11	гентиобиозил	-	-	-
12	гентиобиозил	H	OCH ₃	OH

- 1: 7-*O*-гентиобиозид даидзеина
- 2: 7-*O*- β -D-глюкопиранозид даидзеина
- 3: 7-*O*-гентиобиозид генистеина
- 4: 7-*O*-гентиобиозид афромозина
- 5: 7-*O*- β -D-глюкопиранозид генистеина
- 6: 7-*O*-гентиобиозид псевдобаптигенина
- 7: 7-*O*-гентиобиозид формонетина
- 8: 7-*O*-примверозид псевдобаптигенина
- 9: 7-*O*-примверозид формонетина
- 10: 3-*O*-гентиобиозид маакиаина
- 11: 3-*O*-гентиобиозид медикарпина
- 12: 7-*O*-гентиобиозид 5-*O*-метилдаидзеина

Фиг. 1.



Фиг. 2.