



(51) МПК
A61K 35/644 (2015.01)
A61K 36/14 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/539 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61K 36/87 (2006.01)
A61K 36/9066 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016112087, 30.03.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.03.2016Дата регистрации:
12.05.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.03.2016

(45) Опубликовано: 12.05.2017 Бюл. № 14

Адрес для переписки:

690022, Владивосток, пр-кт 100 лет
 Владивостоку, 159, ФГБУН Тихоокеанский
 институт биорганической химии им. Г.Б.
 Елякова Дальневосточного отделения
 Российской академии наук, зав. патентным
 отделом Стадниченко Н.И.

(72) Автор(ы):

Гафуров Юрий Михайлович (RU),
 Климович Анна Анатольевна (RU),
 Кривошапка Ольга Николаевна (RU),
 Штода Юлия Николаевна (RU),
 Ким Наталья Юрьевна (RU),
 Попов Александр Михайлович (RU),
 Рассказов Валерий Александрович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

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

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2208446 С2, 20.07.2003. Chang
Won Choi Phytochemicals as Innovative
Therapeutic Tools against Cancer Stem Cells//
Int. J. Mol. Sci. 2015, 16, 15727-15742.

СПИРИДОНОВ Н.А., АРХИПОВ В.В.
 Противоопухолевое действие продуктов
 пчел и лекарственных растений// "Институт
 экспериментальной и теоретической
 биофизики РАН, г. Пущино, Московская
 область. (см. прод.)

(54) Биологически активная добавка к пище, обладающая канцерпревентивным действием

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, а именно к средству, обладающему канцерпревентивным действием. Средство, обладающее канцерпревентивным действием, содержащее в качестве компонентов растительного происхождения комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней винограда японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты

перекрестнопарной, и дополнительно содержит мед натуральный, при определенном соотношении компонентов. Вышеописанное средство обладает выраженным канцерпревентивным действием, позволяет усилить адаптационно-приспособительный потенциал и резистентность организма к возникновению и развитию опухолевых заболеваний, а также расширяет арсенал средств с канцерпревентивными свойствами. 4 ил., 1 табл., 8 пр.

(56) (продолжение):

Перечень данных [он-лайн] 26.12.2009 [найдено 2017.01.30] - найдено в Интернете: URL:
<http://ognewka.ru/load/1-1-0-13>. Tanaka T1 et al. Modifying effects of dietary capsaicin and rotenone on 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. //Carcinogenesis 23(8). P.1361-1367.
Samaha H.S. et al. Modulation of apoptosis by sulindac, curcumin, phenylethyl-3-methylcaffeate and 6-phenylhexyl isothiocyanate apoptotic index as a biomarker in colon cancer chemoprevention and promotion. //Cancer Res 57 (7), P.1301-1305. RU 2080867 C1, 10.06.1997.

R U 2 6 1 9 2 0 7 C 1

R U 2 6 1 9 2 0 7 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 35/644 (2015.01)
A61K 36/14 (2006.01)
A61K 36/28 (2006.01)
A61K 36/539 (2006.01)
A61K 36/71 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61K 36/87 (2006.01)
A61K 36/9066 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2016112087, 30.03.2016

(24) Effective date for property rights:
30.03.2016

Registration date:
12.05.2017

Priority:

(22) Date of filing: 30.03.2016

(45) Date of publication: 12.05.2017 Bull. № 14

Mail address:

690022, Vladivostok, pr-kt 100 let Vladivostoku, 159,
FGBUN Tikhookeanskij institut bioorganicheskoj
khimii im. G.B. Elyakova Dalnevostochnogo
otdeleniya Rossijskoj akademii nauk, zav.
patentnym otdelom Stadnichenko N.I.

(72) Inventor(s):

**Gafurov Yuriy Mikhajlovich (RU),
Klimovich Anna Anatolevna (RU),
Krivoshapko Olga Nikolaevna (RU),
Shtoda Yuliya Nikolaevna (RU),
Kim Natalya Yurevna (RU),
Popov Aleksandr Mikhajlovich (RU),
Rasskazov Valerij Aleksandrovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Elyakova
Dalnevostochnogo otdeleniya Rossijskoj
akademii nauk (TIBOKH DVO RAN) (RU)**

(54) BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD SUPPLEMENT WITH CANCER-PREVENTIVE ACTION

(57) Abstract:

FIELD: pharmacology.

SUBSTANCE: drug with a cancer-protective effect, containing a complex extract from green tea leaves, turmeric roots, black cumin seeds, Japan ampelopsis rootgrass, Sigesbeckia orientalis grass, Baikal skullcap roots, leaves and twigs of crosswise-opposite microbiota Natural as components of plant origin, further

containing natural honey, at a certain component ratio.

EFFECT: above described agent has a pronounced protective effect, it allows to increase body adaptive potential and resistance to onset and development of neoplastic diseases, and also expands the arsenal of cancer-protective means.

4 dwg, 1 tbl, 8 ex

Изобретение относится к канцерпревентивным средствам, содержащим вещества растительного происхождения, предназначенным для профилактики и вспомогательной терапии в целях снижения риска возникновения и развития онкологических заболеваний.

Распространение опухолевых заболеваний - одна из острейших проблем современного здравоохранения. Рак (злокачественные опухолевые заболевания) является одной из основных причин смерти в мире. По данным ВОЗ в настоящее время на онкологию приходится 13% от общего числа смертей. За последние 25 лет заболеваемость раком выросла в 1,5-2,0 раза, а к 2030 году по прогнозам увеличится еще втрое, причем особенно тревожное положение складывается в развитых странах. Для многих разновидностей рака характерна одна общая черта - эти болезни чрезвычайно трудно излечить полностью существующими противоопухолевыми терапевтическими средствами. Следует признать, что лечение онкологических заболеваний в настоящее время высоко затратное и сравнительно малоэффективно. В то же время считается, что до 40% случаев заболевания раком можно предотвратить с помощью здорового рациона питания, физической активности, воздержания от употребления табака. Профилактика может включать употребление различных продуктов и средств, содержащих вещества, предотвращающие перерождение нормальных клеток в раковые.

Широко известными канцерпревентивными веществами являются полифенолы из зеленого чая, флавоноиды из ягод, ресвератрол из красного винограда, капсаицин из перца, куркумин из тропического растения куркума и многие другие [Lu Y-P, Lou Y-R, et al. (2000) Stimulatory effect of oral administration of green tea or caffeine on ultraviolet light-induced increases in epidermal wild-type p53, p21 (WAF1/CIP1), and apoptotic sunburn cells in SKH-1 mice. *Cancer Res* 60:4785-4791; Samaha H.S., Kelloff G.J., et al. (1997) Modulation of apoptosis by sulindac, curcumin, phenylethyl-3-methylcaffeate and 6-phenylhexyl isothiocyanate apoptotic index as a biomarker in colon cancer chemoprevention and promotion. *Cancer Res* 57: 1301-1305; Yang K., Lamprecht S.A., et al. (2000) Chemoprevention studies on the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. *Carcinogenesis* 21:1655-1660; Tanaka T., Kohno H., et al. (2002) Modifying effects of dietary capsaicin and rotenone on 4-nitroquinoline-1-oxide-induced rat tongue carcinogenesis. *Carcinogenesis* 23:1361-1367].

Известны онкопрофилактические средства из водорослей, такие как «Кламин», содержащее концентрат ламинарии омыленный [RU 2034560 C1, 10.05.1995], «Фитолон» и «Фитолон-М», содержащие этиловый спирт, медные производные хлорофилла, пищевой ароматизатор и воду [RU 2031654 C1, 27.03.1995], «Фукус» содержащий экстракт фукусный, полученный из фукуса пузырчатого [RU 2116798 C1, 10.08.1998].

Однако ни одна из известных биологически активных композиций не проявляет усиленного канцерпревентивного действия.

В качестве прототипа выбрано средство для профилактики заболеваний онкологического и неонкологического профиля, представляющее собой сухой водно-спиртовой экстракт индивидуальных растений, выбранных из группы, содержащей герань, подорожник, календулу, лапчатку кустарниковую и дягель, или их смеси [RU 2208446 C2, 20.07.2003]. Изучение влияния экстрактов на рост химически индуцированных опухолей показал их выраженное химиофилактическое действие.

Недостатком известной растительной композиции является относительно слабая эффективность действия при тестировании *in vivo* с использованием экспериментальных животных моделей канцерогенеза.

Технической задачей настоящего изобретения является расширение арсенала средств, обладающих канцерпревентивными свойствами.

Задача решена созданием нового средства, обладающего канцерпревентивным

действием, включающего компоненты растительного происхождения, которое согласно изобретению в качестве компонентов растительного происхождения содержит комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корневой клубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, 5 корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной и дополнительно содержит мед натуральный, при следующем соотношении ингредиентов, кг на 100 дал:

10	Мед натуральный	600,0-675,0
	Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корневой клубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	57,0-60,0

15 при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 35% или 70% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении, кг на 100 дал экстракта:

20	Листья зеленого чая	24,0-25,0
	Корни куркумы	24,0-25,0
	Семена чернушки посевной	24,0-25,0
	Корневой клубни виноградовника японского	24,0-25,0
	Трава сигезбекии восточной	24,0-25,0
	Корни шлемника байкальского	24,0-25,0
	Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	24,0-25,0
25	Спирт этиловый, 35% или	280,0-300,0
	Спирт этиловый, 70%	570,0-590,0
	Вода дистиллированная	остальное

Из уровня техники не известно средство заявленного состава, обладающее канцерпревентивным действием, которое позволяет усилить канцерпревентивное действие на модели кожного канцерогенеза *in vivo*, усилить адаптационно- 30 приспособительный потенциал и резистентность организма к возникновению и развитию опухолевых заболеваний, а также расширить арсенал средств, обладающих канцерпревентивными свойствами.

Заявляемое средство оказывает значительное модулирующее влияние на иммунологические процессы в организме таким способом, что стимулируют его онкопротекторные свойства; приводит к коррекции морфологических и биохимических параметров в сторону их нормализации при развитии кожного канцерогенеза; способствует снижению частоты появления новых опухолевых очагов, интенсивности роста, количества и размера опухолей у животных; улучшает клиническую картину проявления онкопатологии, существенно увеличивая латентный период опухолевого 40 роста.

Компоненты предлагаемого средства в заявляемом качественном и количественном соотношении проявляют синергетические свойства, обеспечивающие его канцерпревентивное действие.

45 Химический состав листьев зеленого чая представлен разнообразными соединениями, такими, как белки (15-20%) сухого веса, аминокислоты (1-4%), углеводы, липиды, стеролы, витамины, кофеин и теофиллин, минералы, полифенолы - катехины. Преобладающее значение в обеспечении лекарственных свойств зеленого чая принадлежит эпигаллокатехину (ЭГКГ). Показано, что катехины зеленого чая обладают

мультитаргетным действием, ингибируют пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток, ингибируют ангиогенез, индуцируют апоптоз, уменьшают оксидантное повреждение метаболитов.

5 Куркума содержит в своем составе витамины К, В, В1, В3, В2, С и микроэлементы: кальций, железо, фосфор и йод. Однако в составе куркумы есть компоненты, которые даже в микроскопических количествах оказывают на организм человека исцеляющее
10 воздействие. Это - эфирные масла и составляющие их сабинен, борнеол, цингиберен, терпеновые спирты, фелландрен, куркумин и ряд других компонентов. Особое место в этом перечне занимает куркумин. Полезными свойствами куркумина давно
15 заинтересовались медики. В ходе научных экспериментов выяснилось, что куркумин вызывает гибель патологических опухолевых клеток, никак не влияя при этом на здоровые клетки. Таким образом, употребление препаратов с содержанием куркумина не только приостанавливало рост, но и предотвращало появление новых
20 злокачественных образований.

15 Семена чернушки посевной содержат полувысыхающее жирное масло (до 44%), гликозид мелантин, эфирное масло. Традиционно используется для различных процедур, связанных с проблемами дыхательной системы, желудка, кишечника, почек, печени, сердечно-сосудистой системы, повышения иммунитета и улучшения общего состояния
20 организма. В народной медицине семена чернушки посевной применяли в виде чая в качестве мочегонного, ветрогонного, желчегонного, слабительного, лактогенного и противоглистного средства.

Корнеклубни виноградовника японского содержат полифенолы как флавоноидной, так нефлавоноидной природы. Среди основных флавоноидов можно отметить кверцетин и его производные, антоцианы и их производные, (+) катехин, (-) эпикатехин и их
25 производные, рутин. Из основных нефлавоноидов в заметных количествах обнаружены галловая кислота, транскофейная и транскумаровая кислоты, а также производное стильбена - ресвератрол. Среди полифенолов виноградных вин максимальной антиоксидантной активностью обладают (+) катехин, (-) эпикатехин, олигомерные и полимерные соединения этих веществ, кверцетин, галловая и кофейная кислоты. Отвар
30 корней применяют как болеутоляющее, противоопухолевое и кровоочистительное средство при сифилисе, язвах, карбункулах, абсцессах, ожогах и пиодермии.

Трава сигезбекии восточной обладает ценными целебными свойствами, которые обусловлены содержанием в составе этого растения терпеноидов, 3-7-диметилового эфира кверцетина, дитерпеноидов, сесквитерпеноидов ориентолида и ориентина, а
35 также стероидов стигмастерина и бета-ситостерина. Отвар на основе сигезбекии восточной применяется при различных злокачественных опухолях, рекомендуется для ускорения заживления ран и внутренних повреждений, в том числе - при язвенной болезни желудка и кишечника. Компоненты травы сигезбекии восточной способствуют регуляции иммунной системы и характеризуются антиревматическими,
40 антисептическими, спазмолитическими свойствами.

Корни и корневища шлемника байкальского содержат ценные по своему лечебному воздействию флавоноиды, важнейшим из которых является байкалин, обладающий противосудорожным действием и оказывающий положительное влияние на сосуды, расширяя их. Также важную роль в комплексе действующих веществ шлемника играет
45 скутеллареин, который защищает от действия токсинов, и вогонин, обладающий сосудосуживающим действием. Общее воздействие флавоноидов способствует защите от вирусов. Кумарины в составе шлемника оказывают противоопухолевое действие. Корни шлемника отличает также значительная концентрация пирокатехинов, минералов,

смола и дубильных веществ. Содержится в растении крахмал и эфирное масло. Весь комплекс активных компонентов шлемника обладает свойством снимать спазмы, оказывать успокаивающее действие и снижать артериальное давление. Еще одно удивительное свойство этого растения заключается в его способности ингибировать образование метастазов. Применение на животных подтвердило способность этого растения предотвращать дальнейшее развитие опухолей вкупе с регуляцией уровня лейкоцитов в крови.

Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной (родственница туи восточной) содержит много эфирных масел и смол, а также биофлавоны. Экстракт этого растения оказывает противогрибковое действие. Известно использование этого растения для лечения простудных заболеваний, как отхаркивающее средство при пневмонии и бронхитах.

Использование меда как эффективного лекарственного средства основывается на многих его свойствах, в том числе антибактериальном, бактерицидном, противовоспалительном и противоаллергическом действии. Лечебному эффекту меда способствуют состав сахаров, минеральные вещества, микроэлементы, витамины, ферменты, биологически активные вещества. Мед используют как общеукрепляющее, тонизирующее, восстанавливающее силы средство. Его применяют при заболевании сердечно-сосудистой системы, почек, печени, желчных путей, желудочно-кишечного тракта. При использовании в пищу мед быстро усваивается организмом. Кроме того, мед содержит большое количество ароматических веществ, которые улучшают вкусовые качества продукта.

Предлагаемое средство получают следующим образом.

В емкость помещают расчетное количество листьев зеленого чая, порошка корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сизебекии восточной, корней шлемника байкальского, веток и листьев микробиоты перекрестно парной. К растительному сырью приливают расчетное количество 35% или 70% этилового спирта высшей очистки и настаивают 10 дней при комнатной температуре с периодическим перемешиванием. Полученную настойку фильтруют через 5-6 слоев марли и выпаривают на ротормном испарителе.

К растительному комплексному экстракту добавляют расчетное количество дистиллированной воды и предварительно прогретого при 60°C меда натурального и перемешивают до гомогенного состояния.

Исследование химического состава растительных экстрактов, обозначенных Г35 и Г75, по УФ-спектрам поглощения (стандарт - кверцетин) показало, что содержание флавоноидов в образцах Г35 и Г70 составляет 48,97 и 62,13 мг/мл соответственно. В экстрактах обнаружены также 20 аминокислот (аминокислотный анализатор Biochrom-30), такие как, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, пролин, аланин, аргинин и др.

Возможность осуществления заявляемого изобретения иллюстрируется примерами.

Пример 1. Для приготовления средства, обладающего канцерпревентивным действием, расход составляющих ингредиентов на 100 дал, кг:

Мед натуральный	600,0
Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сизебекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	57,0

при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 35% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении, кг на 100 дал экстракта:

5	Листья зеленого чая	24,0
	Корни куркумы	24,0
	Семена чернушки посевной	24,0
	Корнеклубни виноградовника японского	24,0
	Трава сигезбекии восточной	24,0
	Корни шлемника байкальского	24,0
10	Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	24,0
	Спирт этиловый, 35%	280,0
	Вода дистиллированная	остальное

Пример 2. Для приготовления средства, обладающего канцерпревентивным действием, расход составляющих ингредиентов на 100 дал, кг:

15	Мед натуральный	675,0
	Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского,	
20	листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	60,0

при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 70% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении в кг на 100 дал экстракта:

25	Листья зеленого чая	25,0
	Корни куркумы	25,0
	Семена чернушки посевной	25,0
	Корнеклубни виноградовника японского	25,0
	Трава сигезбекии восточной	25,0
	Корни шлемника байкальского	25,0
30	Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	25,0
	Спирт этиловый, 35%	300,0
	Вода дистиллированная	остальное

Пример 3. Для приготовления средства, обладающего канцерпревентивным действием, расход составляющих ингредиентов на 100 дал, кг:

35	Мед натуральный	600,0
	Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского,	
40	листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	57,0

при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 35% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении, кг на 100 дал экстракта:

45	Листья зеленого чая	24,0
	Корни куркумы	24,0
	Семена чернушки посевной	24,0
	Корнеклубни виноградовника японского	24,0

Трава сигезбекии восточной	24,0
Корни шлемника байкальского	24,0
Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	24,0
Спирт этиловый, 70%	570,0
Вода дистиллированная	остальное

5 **Пример 4.** Для приготовления средства, обладающего канцерпревентивным действием, расход составляющих ингредиентов на 100 дал, кг:

Мед натуральный	675,0
Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	60,0

15 при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 70% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении в кг на 100 дал экстракта:

Листья зеленого чая	25,0
Корни куркумы	25,0
Семена чернушки посевной	25,0
Корнеклубни виноградовника японского	25,0
Трава сигезбекии восточной	25,0
Корни шлемника байкальского	25,0
Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	25,0
Спирт этиловый, 70%	590,0
Вода дистиллированная	остальное

Проведены токсикологические и фармакологические исследования заявляемого средства.

Пример 5. Токсикологические исследования

30 Предварительные токсикологические исследования на мышах-самцах линии СД-1 и СВА (масса 22 ± 2 г) показали, что заявляемое средство обладает очень слабой острой токсичностью ($LD_{50} > 1$ г/кг) и поэтому ее применение безопасно в широком диапазоне концентраций.

35 Изучение фармакологической активности проводили на мышах-самцах линии СД-1 и СВА (масса 22 ± 2 г). Эксперименты выполнены на животных, которые были получены из питомника лабораторных животных «Пушино» и разведены в сертифицированном виварии ТИБОХ ДВО РАН. Животных содержали в соответствии с международными правилами, утвержденными приказом №267 МЗСР РФ от 19.06.2003 г., а также «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых
40 фармакологических веществ» (2005).

Пример 6. Изучение канцерпревентивной активности заявляемого средства

Для оценки канцерпревентивной активности в качестве экспериментальной модели был использован широко используемый в международной практике метод химического канцерогенеза, индуцируемого у животных сильным канцерогенным веществом 7,12 -
45 диметилбензантраценом (ДМБА) [A. Farnoush* and I.C. Mackenzie Sequential histological changes and mast cell response in skin during chemically-induced carcinogenesis // J. Oral Pathology & Medicine July 1983; V 12, 14, p. 300-306].

Исследования проводили на мышах-самках линии CD-1. ДМБА использовали в дозе

10 мкг на мышь. ДМБА растворяли в бензоле и наносили 3 раза в неделю в течение 8 недель в объеме 0,05 мл на выбритую межлопаточную область экспериментальных животных. Исследуемые препараты вводили перорально в дозе 10 мг/кг в объеме 0,2 мл одновременно с аппликацией канцерогена. Животные были подразделены на следующие группы по 10-12 голов в каждой: 1) интактные; 2) канцерогенные (отрицательный контроль) - контроль (-); 3) канцерогенные + растительный экстракт, обозначенный «Г35»; 4) канцерогенные + растительный экстракт, обозначенный «Г70»; 5) канцерогенные + розмариновая кислота (положительный контроль) - РК. В качестве препарата сравнения мы использовали розмариновую кислоту (Sigma, США), которая обладает выраженным противоканцерогенным, антиоксидантным и апоптотическим эффектом при каждом канцерогенезе, индуцированном ДМБА.

После появления первых папиллом еженедельно оценивали следующие параметры: количество животных с опухолью, количество папиллом в каждой группе, размер папиллом и латентный период (период между появлением первых признаков развития опухоли до появления 50% животных с опухолью в группе), который рассчитывали по формуле:

$$ЛП = \frac{\sum FX}{N}$$

где F - количество опухолей, появившихся за неделю, X - количество недель, на момент учета, N - суммарное количество опухолей.

На 15-й неделе эксперимента для проведения гистологических и биохимических исследований отбирали образцы тканей и проводили заборы крови у экспериментальных животных.

Пример 7. Морфологическая оценка канцерпревентивной активности заявляемого средства

У экспериментальных животных часть кожи которых подвергали обработке ДМБА, первые опухолевые очаги были зафиксированы на 7 неделе эксперимента в группе контроль (-), у 30% животных в группе пролеченной РК, Г35 и Г70 у 20%. В течение 9-14 недель эксперимента отмечался выраженный прогресс в развитии опухолевого процесса во всех экспериментальных группах. К 8 неделе количество мышей с опухолью достигло 50% в группе контроль (-), в группе пролеченной препаратом экстрактом Г70 к 9 неделе, а Г35 к 10 неделе эксперимента.

Данные оценки морфологических параметров представлены в таблице и на фиг. 1.

Таблица

Оценка канцерпревентивного потенциала заявляемых препаратов на экспериментальной модели химически индуцированного кожного канцерогенеза *in vivo*

№ п/п	Группы	Количество животных с опухолью, %	Общее количество папиллом	Средний размер опухоли (диаметр, мм)	Средний латентный период
1	Контроль (-)	100	27	4,4 ± 1,6	4,3 ± 2,9
2	Г35	100	20	3,2 ± 0,94	4,7 ± 4,01
3	Г70	90	20	4,2 ± 1,4	5 ± 1,9
4	РК	70	15	3,3 ± 0,9	4,6 ± 1,1

Статистическую и графическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием статистического пакета Microsoft Excel. Достоверность различий определяли с помощью параметрического критерия t-Стьюдента.

Фиг. 1. Параметры изменения количества животных с опухолями (а) и размеров этих опухолей (б) у разных экспериментальных групп, подвергнутых обработке ДМБА (спустя 5 недель после первой аппликации канцерогена).

В пределах 13 недель в группе контроль (-) и Г35 наблюдалось 100% формирование опухоли, а в группе пролеченной Г70 количество мышей с опухолью достигало 90%. К 13 недели размер опухоли в группе контроль (-) в среднем достиг 4,4 мм, в группе Г35 было зафиксировано уменьшение размера опухоли в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, заявляемое средство способствует снижению частоты появления новых опухолевых очагов, интенсивности роста, количества и размера опухолей у животных, обработанных ДМБА. В целом улучшается клиническая картина проявления онкопатологии, существенно увеличивается латентный период опухолевого роста.

Пример 8. Биохимическая оценка канцерпревентивной активности заявляемого средства

Для оценки развития воспалительного процесса в каждой группе проводили анализ продукции про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови и гомогенате кожи, методом иммуноферментного анализа сэндвич-типа (Sandwich-type immunoassay) с помощью диагностических наборов BD Bioscience OptEIA US. Для определения концентрации общего билирубина использовали диагностический набор Новоглюк-К,М («Вектор-Бест», Россия). Состояние антиоксидантной системы защиты у экспериментальных животных определяли по накоплению вторичных продуктов перикосного окисления липидов (ПОЛ), реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-реактивные продукты), количество которых выражали в виде концентрации МДА на единицу веса белка [Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии. - СПб.: Интер-Медика, 1999].

Известно, что опухолевый рост приводит к угнетению иммунной системы, что затрудняет противоопухолевый и иммунный ответ со стороны защитных систем организма. Сравнительный анализ уровня цитокинов показал, что в группе контроль (-) существенно снижается уровень как про-, так и противовоспалительных цитокинов

в гомогенате пораженной канцерогеном кожи и незначительно в сыворотке крове мышей носителей опухоли по сравнению с интактными животными, что продемонстрировано на фиг. 2.

5 Фиг. 2. Определение уровня про- и противовоспалительных цитокинов в плазме крови и гомогенате кожи экспериментальных животных: IL-1 - интерлейкин-1; EL-17 - интерлейкин-17; INF γ - интерферон-гамма; GM-CSF - грануляцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; TNF - фактор некроза опухоли; и противовоспалительных цитокинов: IL-4 - интерлейкин-4; IL-10 - интерлейкин-10.

10 Полученные данные показывают, что заявляемое средство способствует нормализации уровня цитокинов как системно (в сыворотке крови), так и локально (в гомогенате кожи) в большей степени, чем в группе животных, проходивших курс лечения РК. Применение экстракта Г35 приводит к стимуляции выработки всех исследуемых цитокинов в гомогенате кожи. При этом экстракт Г70 способен увеличивать в этих гомогенатах уровень только некоторых цитокинов, а именно: IL-1, IL-4 и TNF. Важно подчеркнуть, что данные препараты оказывают аналогичное, но менее заметное влияние 15 и на уровень цитокинов в сыворотке крови.

Полученные результаты показывают то, что заявляемое средство способно оказывать значительное модулирующее влияние на иммунологические процессы в организме таким способом, что стимулируют его онкопротекторные свойства.

20 Известно, что перекисное окисление липидов часто возникает в результате развития окислительного стресса на всех стадиях течения онкологического процесса. Анализ данных по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови животных показал, что в группе отрицательного контроля уровень МДА возрастает примерно в 1,5 раза по сравнению с группой интактных животных, что продемонстрировано на 25 фиг. 3.

Фиг. 3. Содержание малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови животных разных экспериментальных групп.

30 Анализ определения уровня общего билирубина в сыворотке крови среди исследуемых групп животных показывает, что он не зависит от роста опухоли (отрицательный контроль) и подавления роста опухоли (РК - положительный контроль) в исследуемом диапазоне. В группах, прошедших курс лечения препаратами Г35 и особенно Г70, наблюдается значительное снижение данного биохимического показателя, что представлено на фиг. 4.

35 Фиг. 4. Содержание общего билирубина в сыворотке крови животных разных экспериментальных групп.

Результаты исследования канцерпревентивной активности растительных экстрактов Г35 и Г70 на модели кожного канцерогенеза, индуцированного ДМБА, показали, что их применение приводит к коррекции морфологических и биохимических параметров в сторону их нормализации при развитии кожного канцерогенеза, вызванного ДМБА.

40 Таким образом, на основании проведенных фармакологических исследований, можно заключить, что заявляемое средство проявляет выраженный канцерпревентивный и адаптационно-приспособительных эффект, повышая неспецифическую сопротивляемость организма, реализуемую через его воздействие на элементы нервной, иммунной и эндокринной систем, что имеет решающее значение в профилактике и лечении 45 онкологических заболеваний.

Данное изобретение расширяет арсенал средств, обладающих канцерпревентивными свойствами.

(57) Формула изобретения

Средство, обладающее канцерпревентивным действием, включающее компоненты растительного происхождения, отличающееся тем, что в качестве компонентов растительного происхождения содержит комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной и дополнительно содержит мед натуральный, при следующем соотношении ингредиентов, кг на 100 дал:

10	Мед натуральный	600,0-675,0
15	Комплексный экстракт из листьев зеленого чая, корней куркумы, семян чернушки посевной, корнеклубней виноградовника японского, травы сигезбекии восточной, корней шлемника байкальского, листьев и веток микробиоты перекрестнопарной	57,0-60,0

при этом для получения комплексного экстракта используют спирт этиловый 35% или 70% концентрации, и комплексный экстракт содержит ингредиенты в следующем соотношении, кг на 100 дал экстракта:

20	Листья зеленого чая	24,0-25,0
	Корни куркумы	24,0-25,0
	Семена чернушки посевной	24,0-25,0
	Корнеклубни виноградовника японского	24,0-25,0
	Трава сигезбекии восточной	24,0-25,0
	Корни шлемника байкальского	24,0-25,0
25	Листья и ветки микробиоты перекрестнопарной	24,0-25,0
	Спирт этиловый, 35% или	280,0-300,0
	Спирт этиловый, 70%	570,0-590,0
	Вода дистиллированная	остальное

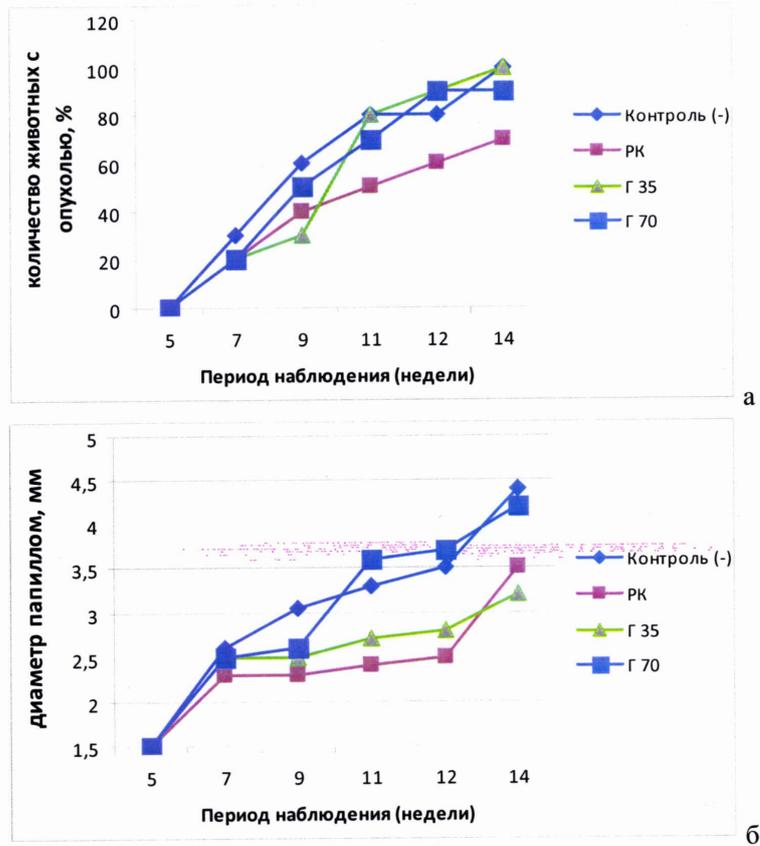
30

35

40

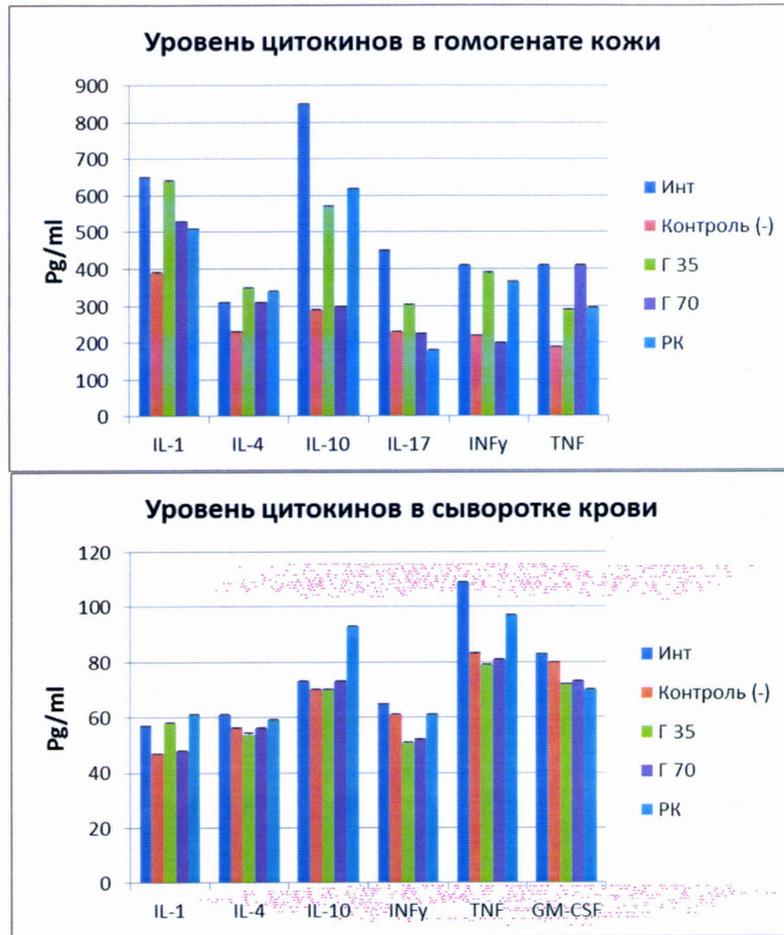
45

1

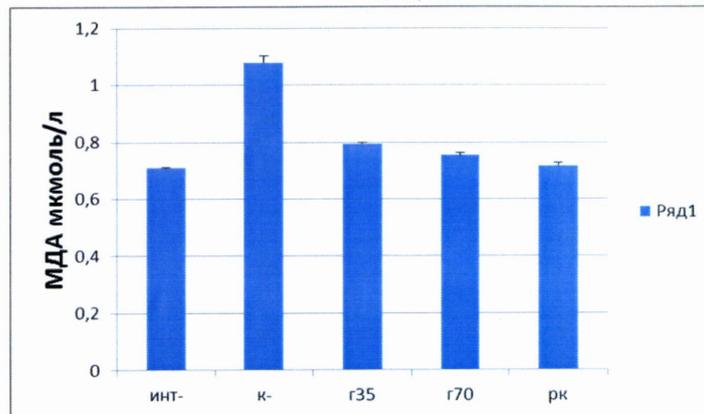


Фиг. 1

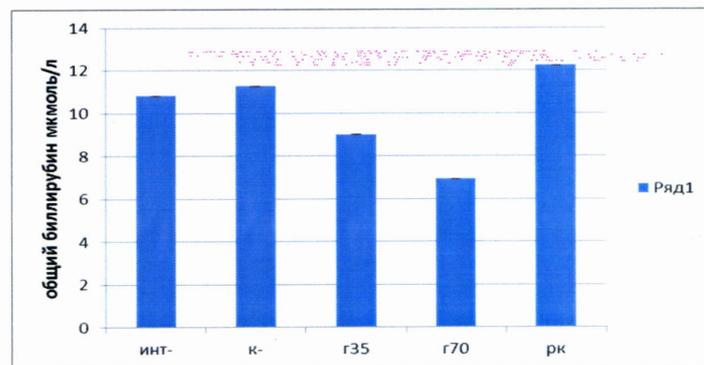
2



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4