

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090511** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.09.30

(51) Int. Cl. *A61K 31/704* (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.03.13

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ УРОВНЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ

(96) **2020000025 (RU) 2020.03.13**

(72) Изобретатель:

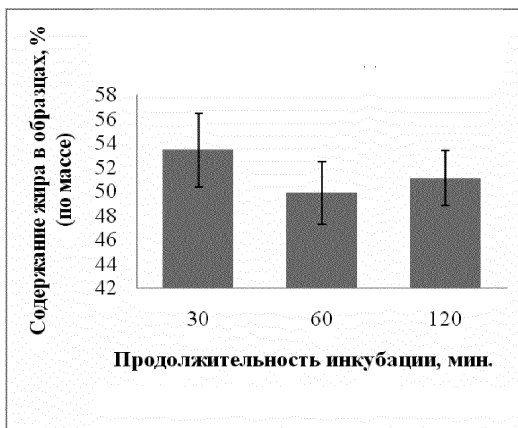
(71) Заявитель:
**ДИКОВСКИЙ АЛЕКСАНДР
ВЛАДИМИРОВИЧ (RU)**

**Сергеев Артемий Александрович,
Никитина Анна Александровна,
Селезнев Андрей Владимирович,
Щанкина Вера Геннадьевна, Пряхина
Екатерина Сергеевна (RU)**

(74) Представитель:

Квашнин В.П. (RU)

(57) Изобретение относится к композиции, пригодной для нормализации уровня липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, содержащей глицирризиновую кислоту в виде ее фармацевтически приемлемой соли в сочетании с лигнином гидролизным в эффективных количествах, обеспечивающих терапевтически эффективную суточную дозу композиции, а также к биологически активной добавке и продукту для лечебного и профилактического диетического питания. Технический результат заключается в достижении неожиданного синергетического эффекта путем реализации механизма одновременного воздействия на функции печени и кишечника глицирризиновой кислоты в заявленных эффективных количествах в совокупности с выраженной адсорбционной и антиоксидантной активностью гидролизованного лигнина в виде лигниноцеллюлозного комплекса в заявленных эффективных количествах.



A1

202090511

202090511

A1

КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ НОРМАЛИЗАЦИИ УРОВНЯ ЛИПИДОВ В КРОВИ

Описание

Изобретение относится к области медицины и касается композиции, пригодной для нормализации уровня липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, содержащей глицирризиновую кислоту в виде ее фармацевтически приемлемой соли в сочетании с лигнином в эффективных количествах, обеспечивающих терапевтически эффективную суточную дозу композиции.

Настоящее изобретение относится также к применению указанной композиции для профилактики заболеваний, опосредованных повышенным содержанием липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина, триглицеридов. К таким заболеваниям относятся гиперхолестеринемия, возникновение и развитие атеросклероза, нарушения липидного обмена.

Одним из вариантов выполнения изобретения также является биологически активная добавка к пище, содержащая указанную композицию и различные добавки.

Еще одним из вариантов выполнения изобретения является продукт для эффективного лечебного и профилактического диетического питания, содержащий указанную композицию и приемлемые добавки.

Уровень техники

Известно, что нарушения липидного обмена в организме играют ключевую роль в развитии сердечнососудистых заболеваний (ССЗ). Нарушения обмена липидов характеризуются патологическими изменениями в показателях уровней холестерина (ХС), липопротеинов низкой и высокой плотности (ЛПНП, ЛПВП), триглицеридов

(ТГ), аполипротеинов крови. Холестерин – обязательный и неотъемлемый элемент нормальной жизнедеятельности организма. Он необходим для синтеза половых гормонов и правильного функционирования нервной системы, задействован в процессе пищеварения и антиоксидантных механизмах [Кольман Я., Рём К.Г. Наглядная биохимия. Москва: Мир, 2000. 470 с.]. Холестерин входит в состав всех клеточных мембран, без него невозможна полноценная жизнь.

Однако избыточное содержание холестерина в крови является одним из основных факторов риска развития осложнений сердечнососудистых заболеваний и преждевременной смерти. Обусловлено это присутствием в крови, наряду с липопротеинами высокой плотности, мобилизующими холестерин из тканей (в том числе из стенок сосудов), липопротеинов низкой и очень низкой плотности, которые передают холестерин в периферические ткани, что может способствовать формированию атеросклеротических бляшек на стенках сосудов и развитию атеросклероза.

Патологические изменения структуры и функционирования различных органов и тканей, вызываемые нарушениями липидного обмена и его последствиями, в том числе атеросклероз сосудов, являются одной из основных причин высокой смертности при ССЗ. Установлена прямая связь между степенью повышения уровней ХС, особенно ХС-ЛПНП и риском развития ССЗ и смерти. Также наблюдаются зависимости повышенных уровней ТГ в сочетании с ХС-нелПВП с риском развития атеросклероза.

Причинами развития нарушений в обмене липидов являются многие факторы: наследственность, характер питания, малоподвижный образ жизни, избыточный вес, чрезмерное употребление алкоголя, курение, сопутствующие заболевания и т.п.

Коррекция липидного обмена является одним из основных методов профилактики и лечения ССЗ. Используемые в настоящее время препараты ориентированы на нормализацию уровней ХС и ТГ в крови за счет различных механизмов действия, такие как статины, секвестранты желчных кислот, препараты, связывающие холестерин, ингибиторы PCSK9, фибраты и др.

Коррекция питания и смена образа жизни является неотъемлемой частью профилактики и лечения ССЗ и в значительной степени способствует улучшению эффективности лечения и повышения уровня жизни пациентов. Распространенным подходом является введение в ежедневный рацион специализированных пищевых компонентов, в том числе биологически активных добавок, продуктов лечебного или профилактического диетического питания, обладающих гиполипидемическим действием.

Таким образом, задачей настоящего изобретения являлось создание новой композиции для нормализации уровней липидов в крови, содержащей комбинацию лигнина и глицирризиновой кислоты и/или ее производных, обладающей высокой стабильностью, без ограничения использования по отношению ко всем возрастным и специфическим группам пациентов, благодаря синергетическому воздействию эффективных количеств активных компонентов композиции. Композиция может применяться в виде пероральной дозированной формы, а также может входить в состав биологически активной добавки к пище, а также в состав продуктов лечебного или профилактического диетического питания.

Одним из компонентов, входящих в состав заявленной композиции является лигнин, в частности лигнин гидролизный, представляющий собой природный полимер, входящий в состав клеток растений, проявляющий свои уникальные адсорбционные и антиоксидантные свойства.

В качестве одного из вариантов выполнения изобретения гидролизный лигнин может представлять собой природный лигноцеллюлозный комплекс, содержащий до 99 масс.% лигнина гидролизного и от 1 масс.% целлюлозы.

Свойства лигнина обусловлены наличием развитой пористой структуры с преобладанием пор радиусом более 50 нм (до 90 % от общего порометрического объема). При этом эффективные радиусы пор в препарате находятся в интервале 100-1000 нм, что характеризует лигнин как макропористый сорбент. Многообразие полярных и неполярных функциональных групп повышает сорбционную активность лигнина. Пористая структура и функциональные группировки обуславливают способность лигнина к сорбции гидрофильных и гидрофобных соединений, а также

микроорганизмов, задействуя механизмы хемосорбции, адсорбции, абсорбции [Н.А. Б. Энтеросорбция. 1991.]. Для лигнина и препаратов на его основе также показана способность к сорбции органических молекул, имеющих белковую и липополисахаридную природу, что позволяет использовать его для сорбции микробных токсинов и токсических субстанций эндогенного происхождения, молекул средней массы, аллергенов и ксенобиотиков [Leskinen T. et al. Adsorption of Proteins on Colloidal Lignin Particles for Advanced Biomaterials. // *Biomacromolecules*. 2017. Vol. 18, № 9. p. 2767–2776], [Смирнова О.И. Фармакологические свойства энтероката. Санкт-Петербургская гос. академии ветеринарной медицины, 2007], [Решетников В.И. Оценка адсорбционной способности энтеросорбентов и их лекарственных форм // *Химико-терапевтический журнал*. 2003. Vol. 37, № 5. P. 28–32]. Также известна сорбционная активность ЛГ в отношении тяжелых металлов, радиоактивных изотопов, аммиака, двухвалентных катионов и т.д. [rlsnet.ru - Лигнин гидролизный, *Electronicresource*].

Вторым компонентом, входящим в заявляемую композицию, является глицирризиновая кислота (ГК) и/или ее приемлемые соли, которые являются одним из основных компонентов, входящие в состав корня солодки (*Glycyrrhizaglabra*). Включение глицирризиновой кислоты и/или ее производных в заявляемую композицию, связано с ее гипополипидемической и противовоспалительной активностью, а также гепатопротективными свойствами ГК, которые обусловлены предотвращением апоптоза клеток печени.

Гипополипидемическое действие ГК обусловлено ингибированием активности фосфолипазы А2 (обеспечивает отщепление остатков жирных кислот от фосфолипидов) и активацией синтеза желчных кислот, предшественником которого является холестерин [Inoue H., Saito H., Koshihara Y., Murota S. // *Chem. Pharm. Bull.* 1986. V. 34(2). P. 897-901; Yano Sh., Harada M., Watanabe K., Nakamura K., Hatakeyama Y., Shibata Sh., Takahashi K, Mori T., Hirabayashi K., Takeda M., Nagata N. // *Chem. Pharm. Bull.* 1989. V. 37(9). P. 2500-2504; Farina C, Pinza M., Pifferi G. // *IL Farmaco*. 1998. V. 53. P. 22-32].

ГК оказывает противовоспалительное и антиапоптотическое действие посредством подавления TNF-икаспазы-3 [N. F. El-Tahawy, A. H. Ali, S. R. Saied, and Z. A. Wahab, «Effect of glycyrrhizin on lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute hepatitis in

albino rats: a histological and immunohistochemical study», *The Egyptian Journal of Histology*, vol. 34, no. 3, pp. 518–527, 2011]. Значительно ингибирует высвобождение цитохрома С из митохондрий в цитоплазму, а также, миелопероксидазную активность и транслокацию ядерного фактора-В (NF-В) в ядра, что может способствовать регенерации повреждения печени [B. Tang, H. Qiao, F. Meng, and X. Sun, «Glycyrrhizin attenuates endotoxin-induced acute liver injury after partial hepatectomy in rats», *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, vol. 40, no. 12, pp. 1637–1646, 2007]. ГК конъюгирует свободные радикалы, что может служить одним из механизмов защитного действия ГК [M. Ogiku, H. Kono, M. Hara, M. Tsuchiya, and H. Fujii, «Glycyrrhizin prevents liver injury by inhibition of high-mobility group box 1 production by kupffer cells after ischemia-reperfusion in rats», *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, vol. 339, no. 1, pp. 93–98, 2011.].

В патенте RU 2308947 С1 описано лекарственное средство с гиполипидемическим эффектом, включающее молекулярный комплекс симвастатина с β -глицирризиновой кислотой при мольном соотношении симвастатин: β -глицирризиновая кислота 1:(1-4). В патентном документе раскрыто гиполипидемическое свойство композиции, содержащей наряду с активным компонентом симвастатином β -глицирризиновую кислоту.

В патенте RU 2396079 С1 описано лекарственное средство с гиполипидемическим эффектом, включающее молекулярный комплекс аторвастатина с β -глицирризиновой кислотой при мольном соотношении аторвастатин: β -глицирризиновая кислота 1:(1-4).

В патенте RU 2683641 С2 описывается фармацевтическая композиция для лечения гиперлипидемии, содержащая смесь: (а) глицирризинового производного, выбранного из группы, включающей глицирризиновую кислоту и ее фармацевтически приемлемую соль; (b) гиполипидемического лекарственного средства, где гиполипидемическим лекарственным средством является статин, выбранный из группы, включающей аторвастатин, ловастатин, розувастатин, симвастатин, правастатин, питавастатин, флувастатин, или их фармацевтическую соль, или их смесь.

В патенте RU 2549966 С2 описывается композиция, включающая: а) по меньшей мере, один фосфолипид; b) по меньшей мере, одну глицирризиновую кислоту или с) соль

глицирризиновой кислоты; для изготовления лекарственного средства для удаления подкожных скоплений жира.

В заявке US 20190124958 A1 описывается антимикробная композиция гидролизного лигнина для ингибирования роста микроорганизмов в пищевых продуктах, содержащая: обогащенный лигнин с молекулярной массой > 10000 дальтон; углеводы; и воду.

В патенте RU 2623876 C2 (ближайший аналог) описывается фармацевтическая композиция для лечения гиперлипидемии, содержащая смесь глицирризинового производного, выбранного из группы, включающей глицирризиновую кислоту и ее фармацевтически приемлемую соль; и гиполипидемического лекарственного средства, где гиполипидемическим средством является статин, выбранный из группы, включающей аторвастатин, ловастатин, розувастатин, симвастатин, правастатин, питавастатин, флувастатин, их фармацевтически приемлемую соль или их смесь, и вспомогательные вещества. Патентный документ раскрывает гиполипидемическое свойство композиции, содержащей совместно с активным статиновым компонентом, β -глицирризиновую кислоту.

Недостатком вышеприведенной композиции для лечения гиперлипидемии является использование гиполипидемического средства, представляющего производные статина, от длительного применения которого наблюдаются серьезные побочные эффекты.

Задачей настоящего изобретения являлось создание новой композиции без побочных эффектов, пригодной для нормализации уровня липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, которая может быть использована в составе биологически активной добавки к пище или продукта для лечебного и/или профилактического диетического питания в комбинации с различными дополнительными компонентами, которые могут быть выбраны, например, из пребиотиков.

Поставленная задача решалась за счет качественного и количественного состава компонентов, представляющих собой гидролизный лигнин и глицирризиновую

кислоту в виде ее фармацевтически приемлемой соли в заявленных эффективных количествах.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к композиции, созданной на основе природного лигноцеллюлозного комплекса, источника пищевых волокон, проявляющего антиоксидантные и адсорбционные свойства и природного компонента глицирризиновой кислоты, обладающего гепатопротекторной активностью при совместном применении за счет разнонаправленного действия. Заявленная композиция обладает неожиданным синергетическим эффектом, направленным на нормализацию уровней липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов.

Задачей настоящего изобретения являлось создание новой композиции для нормализации уровней липидов в крови, содержащей композицию лигноцеллюлозного комплекса и глицирризиновой кислоты и/или ее производных, обладающая высокой стабильностью, без ограничения использования по отношению ко всем возрастным и специфическим группам пациентов, благодаря синергетическому воздействию активных компонентов композиции, в качестве пероральной дозированной формы, в качестве биологически активной добавки к пище, а также в качестве продукта лечебного или профилактического диетического питания.

Одним из вариантов осуществления изобретения, раскрытом в настоящем описании, является пероральная дозированная лекарственная форма виде таблеток, порошка, геля или суспензии и иных лекарственных форм, содержащих лигноцеллюлозный комплекс и глицирризиновую кислоту, включая ее приемлемые соли.

Другим вариантом осуществления данного изобретения, раскрытым в настоящем описании, является биологически активная добавка, применяемая для профилактики гиперхолестеринемии, возникновения и развития атеросклероза, нарушений липидного обмена, дислипидемии, содержащая лигноцеллюлозный комплекс и глицирризиновую кислоту, включая ее приемлемые соли.

Еще одним вариантом изобретения является продукт для лечебного питания, применяемый для профилактики гиперхолестеринемии, возникновения и развития атеросклероза, нарушений липидного обмена, дислипидемии, содержащий лигноцеллюлозный комплекс и глицирризиновую кислоту, включая ее приемлемые соли в комбинации с различными приемлемыми добавками.

Компоненты в составе композиции обладают различными механизмами действия на липиды в крови, в данном случае за счет нормализации функции печени и кишечника, что в совокупности неожиданно привело к обеспечению возможности эффективно корректировать наблюдаемые нарушения.

В предпочтительном варианте осуществления изобретение относится к композиции в виде пероральной дозированной формы для нормализации уровня липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, которая содержит лигнин гидролизный, в частности лигноцеллюлозный комплекс в количестве от 84,5 до 99,9 масс.% и глицирризиновую кислоту в виде приемлемой соли в количестве от 0,1 до 15,5 масс.% при этом масса указанной композиции обеспечивает эффективную дозировку от 10 до 5000 мг в сутки. Наиболее предпочтительным вариантом осуществления изобретения является то, что масса указанной композиции обеспечивает эффективную дозировку от 50 до 500 мг в сутки.

Далее изобретение относится к применению указанной композиции в виде пероральной дозированной формы в эффективных количествах для профилактики возникновения и развития атеросклероза, нарушения липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии.

Одним из вариантов выполнения изобретения также является биологически активная добавка к пище, содержащая указанную композицию и различные приемлемые добавки. При этом масса композиции обеспечивает дозировку от 10 до 5000 мг в сутки. Наиболее предпочтительным вариантом осуществления изобретения является то, что масса указанной композиции обеспечивает эффективную дозировку от 50 до 500 мг в сутки.

Далее изобретение относится к применению биологически активной добавки для профилактики возникновения и развития атеросклероза, нарушений липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии.

Еще одним из вариантов выполнения изобретения является продукт для эффективного лечебного и профилактического диетического питания, содержащий указанную композицию и приемлемые добавки.

Изобретение также относится к применению продукта для лечебного и профилактического диетического питания, содержащего указанную композицию в эффективных количествах для лечения и приемлемые добавки для профилактики нарушений липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии. При этом масса композиции обеспечивает дозировку от 10 до 5000 мг в сутки. Наиболее предпочтительным вариантом осуществления изобретения является то, что масса указанной композиции обеспечивает эффективную дозировку от 50 до 500 мг в сутки.

Неожиданно было обнаружено, что соотношения компонентов, входящих в состав вышеуказанной композиции способствует снижению (нормализации) уровня общего ХС, ХС-ЛПНП, ТГ в крови экспериментальных животных, замедляет прогрессирование дислипидемии в процессе моделирования. Наиболее значимые эффекты терапии начинают проявляться через 60 дней после начала приема комбинации.

При этом, добавленная в композицию ГК, реализует свой механизм действия, направленный на нормализацию уровней липидов, за счет влияния на синтез холестерина, снижения общего воспаления в тканях печени и восстановление ее функции.

Включение лигноцеллюлозного комплекса позволяет адсорбировать потребляемый жир и желчные кислоты, находящиеся в кишечнике, предотвращая их всасывание в кровоток. Кроме того, благодаря проявляемому антиоксидантному действию лигноцеллюлозный комплекс, очевидным образом снижает перекисное окисление липидов в клетках кишечника, что приводит к уменьшению проницаемости кишечной стенки для бактериальных липополисахаридов и токсинов, которые индуцируют воспалительные реакции печени.

Таким образом, технический результат заявленной композиции, предназначенной для нормализации уровня липидов в крови в том числе, липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, заключается в достижении неожиданного синергетического эффекта за счет реализации механизма одновременного воздействия на функции печени и кишечника глицирризиновой кислоты в заявленных эффективных количествах в совокупности с выраженной адсорбционной и антиоксидантной активностью гидролизованного лигнина в виде лигниноцеллюлозного комплекса в заявленных эффективных количествах.

Осуществление изобретения

Пример 1

Сорбционная активность лигнина гидролизованного, в частности лигноцеллюлозного комплекса в отношении липидов

Для изучения сорбционной активности лигноцеллюлозного комплекса в отношении липидов были проведены эксперименты *in vitro*.

Для этого 50 г лигноцеллюлозный комплекс (производство АО «АВВА РУС») смешивали с твердым насыщенным жиром (Witepsol H32) в количестве 50 г и с 50 мл фосфатного буферного раствора (рН=5,5) с помощью мешалки. Перемешивание проводили в течение 2 часов при температуре 37°C, при этом образцы отбирали через 30, 60 и 120 минут в течение перемешивания. Далее образцы оставляли для естественного осаждения на 8 часов при температуре 37°C для разделения фракций. При этом образцы разделялись на три фракции: осадок - внизу, жидкая - в центре, жировая - сверху. Концентрацию липидов во фракциях осадка из полученных образцов определяли с помощью метода ВЭЖХ. Для определения липиды преобразовывались в метиловые эфиры высших жирных кислот с помощью стандартных химико-аналитических методик. Результаты сорбционной активности лигноцеллюлозного комплекса в отношении липидов в зависимости от продолжительности инкубации представлены на Фиг. 1.

Выявлено, что от 47,3 до 56,5 масс.% липидов было сорбировано лигноцеллюлозным комплексом в ходе эксперимента при продолжительности инкубации от 30 до 120 минут.

Пример 2

Адсорбционная активность лигноцеллюлозного комплекса в отношении солей желчных кислот

В качестве тестируемого сорбента исследовали лигноцеллюлозный комплекс (производство АО «АВВА РУС»). В качестве тестируемых сорбатов изучали натриевую соль холевой кислоты (первичная желчная кислота), натриевую соль хенодезоксихолевой кислоты (первичная желчная кислота), натриевую соль дезоксихолевой кислоты (вторичная желчная кислота), поскольку указанные кислоты составляют основной пул желчных кислот в организме человека.

Для этого 500 мг лигноцеллюлозного комплекса вносили в плоскодонную колбу, вливали фосфатный буферный раствор, pH=7,0, инкубировали на шейкере при температуре 37 °С в течение 2 часов для полного смачивания лигноцеллюлозного комплекса. Затем вносили растворы натриевых солей желчных кислот (конечная концентрация 2 ммоль/л). Общий объем смеси составлял 50 мл. Смеси инкубировали на шейкере в течение 4 часов при температуре 37 °С, получали надосадочную жидкость после центрифугирования и исследовали остаточную концентрацию солей желчных кислот с помощью метода газожидкостной хроматографии.

В ходе эксперимента в течение 4 часов было сорбировано $51,2 \pm 1,8$ % холевой кислоты, $20,4 \pm 3,7$ % дезоксихолевой кислоты и $26,3 \pm 2,1$ % хенодезоксихолевой кислоты.

Пример 3

Антиоксидантная активность лигноцеллюлозного комплекса

Для оценки антиоксидантного потенциала лигноцеллюлозного комплекса использовали молибдатный метод, основанный на способности перекиси образовывать с молибдатом аммония окрашенный комплекс. Использовали лигноцеллюлозный комплекс (производства АО «АВВА РУС») и кислоту аскорбиновую производства

ОАО «Татхимфармпрепараты», как вещество сравнения с известными антиоксидантными свойствами.

Растворы лигноцеллюлозного комплекса и аскорбиновой кислоты готовили в диметилсульфоксиде. В мерную колбу вместимостью 25 мл вносили 3 мл 0.02 М раствора молибдата аммония, 1 мл раствора пероксида водорода 3 % и 0.1 грамм эквивалент серной кислоты, прибавляли по 0.1 или 0.2 мл 1 % раствора тестируемого вещества и доводили объем раствора водой до метки. Выдерживали в течение 20 мин при температуре 25 °С.

Изучали концентрации веществ: 100, 1000, 10000 мкг/мл. Оптическую плотность полученных растворов измеряли при длине волны 410 нм на планшетном ридере EpochBiotek.

Результаты: снижение оптической плотности растворов при введении лигноцеллюлозного комплекса или аскорбиновой кислоты в реакционную смесь свидетельствовало о проявлении способности тестируемых веществ взаимодействовать с перекисью и об их антиоксидантных свойствах. Выраженную активность лигноцеллюлозный комплекс проявил во всех исследованных концентрациях, снижая оптическую плотность растворов (табл. 1). Лигноцеллюлозный комплекс проявил способность к взаимодействию с перекисью водорода, сопоставимую с известным антиоксидантом аскорбиновой кислотой.

Таблица 1

Антиоксидантная (антипероксидная) активность лигноцеллюлозного комплекса в сравнении с аскорбиновой кислотой

Вещество	Концентрация, мкг/мл	Снижение содержания перекиси в реакционной смеси, % к контролю
Аскорбиновая кислота	10000	32,10
Лигноцеллюлозный комплекс	10000	36,16
	1000	28,91
	100	28,04

В диапазоне концентраций от 100 до 10000 мкг/мл наблюдается линейная зависимость снижения концентрации перекиси (оценивали по оптической плотности) к контролю от концентрации лигноцеллюлозного комплекса: с повышением концентрации

наблюдается снижение остаточной перекиси в реакционной среде, т.е. усиливается взаимодействие вещества с перекисью.

Пример 4

Стабильность комбинации лигноцеллюлозного комплекса и глицирризиновой кислоты (на примере соли глицирризината аммония, но не ограничиваясь указанной солью)

Стабильность комбинаций лигноцеллюлозного комплекса и глицирризиновой кислоты, в частности глицирризината аммония, при хранении оценивали по изменению адсорбционной способности лигноцеллюлозного комплекса, содержанию глицирризината аммония в смеси и микробиологическим характеристикам. Контрольными точками служили 1 месяц, 3 месяца и 6 месяцев. Хранение проводили в условиях климатической камеры при температуре 25 °С и относительной влажности 60 %.

Составы композиций, содержащих аммония глицирризинат (далее - АГК), и лигноцеллюлозный комплекс (далее - ЛЦК) в тестируемых смесях:

- 1) АГК 50 мг + ЛЦК 5000мг или АГК 1,0 масс.% : ЛЦК 99,0 масс.%;
- 2) АГК 30мг + ЛЦК 1000 мг или АГК 2,9 масс.% : ЛЦК 97,1 масс.%;
- 3) АГК 30мг + ЛЦК 2600мг или АГК 1,1 масс.% : ЛЦК 98,9 масс.%;
- 4) АГК 200мг + ЛЦК 1090мг или АГК 15,5 масс.% : ЛЦК 84,5 масс.%.

Для приготовления смесей использовали субстанцию лигноцеллюлозного комплекса производства АО «АВВА РУС» серии 6630918 и субстанцию аммония глицирризината производства СелектБотаникал серии 10000001183-FP. Смеси были расфасованы в стеклянные емкости из темного стекла с плотными крышками, из расчета 5 емкостей каждой смеси на каждую контрольную временную точку. Адсорбционную способность лигноцеллюлозного комплекса оценивали по стандартной методике с использованием метиленового синего.

Содержание аммония глицирризината в смеси определяли методом ВЭЖХ. Испытуемый раствор готовили путем внесения точной навески смеси АГК и разбавляли водным раствором ацетонитрила (1:1) с последующей обработкой ультразвуком в течение 10 минут. Полученную суспензию АГК тщательно перемешивали, охлаждали до комнатной температуры и фильтровали с помощью мембранного фильтра с размером пор 0,45 мкм. Измерения проводили при длине волны

254 нм. В качестве растворов сравнения использовали раствор, приготовленный со стандартным образцом аммония глицирризината (производства Sigma-Aldrich). Результат измерений концентрации аммония глицирризината выражали в % от расчетного значения для каждой смеси ЛЦК+АГК.

При оценке микробиологических показателей изучали общее число аэробных микроорганизмов – не более 5×10^4 КОЕ в 1 г (мл); общее число дрожжевых и плесневых грибов – не более 1×10^2 КОЕ в 1 г (мл); общее число бактерий группы кишечной палочки - не допускается в 0,1 г (мл); число *Escherichia coli* - не допускается в 1 г (мл); число *Salmonella spp.* - не допускается в 25 г (мл); число *Staphylococcus aureus* - не допускается в 1 г (мл). Для микробиологического анализа использовали стандартные методики (ГОСТ 26670-91, ГОСТ 31747-2012, ГОСТ 30726-2001, ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 31659-2012, ГОСТ 10444.12-2013). Результаты исследования стабильности композиций АГК +ЛЦК в различных массовых соотношениях приведены в таблице 2.

Таблица 2

Данные показателей активности и микробиологической чистоты глицирризината аммония и лигноцеллюлозного комплекса в составе композиции при хранении в течение 6 месяцев

Исследуемые параметры	Показатели активности и микробиологической чистоты глицирризината аммония (АГК) и лигноцеллюлозного комплекса (ЛЦК) в составе композиций:			
	АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг	АГК 30 мг +ЛЦК 1000 мг	АГК 30 мг +ЛЦК 2600 мг	АГК 200 мг + ЛЦК 1090 мг
Исходные данные				
Адсорбционная способность лигноцеллюлозного комплекса, мг/г	77±3	68±4	72±4	63±3
Содержание аммония глицирризината, % от расчетной концентрации	100,4±0,6	99,5±0,8	99,3±0,4	99,1±0,6
Микробиологическая	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует

чистота				
Результаты измерений показателей через 1 месяц				
Адсорбционная способность лигноцеллюлозного комплекса, мг/г	76±2	66±3	71±5	62±3
Содержание аммония глицирризината, % от расчетной концентрации	99,8±0,6	101,5±0,6	99,9±0,5	101,3±0,4
Микробиологическая чистота	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Результаты измерений показателей через 3 месяца				
Адсорбционная способность лигноцеллюлозного комплекса, мг/г	77±2	67±4	73±4	61±4
Содержание аммония глицирризината, % от расчетной концентрации	99,4±0,7	97,8±0,4	99,1±0,3	100,1±0,5
Микробиологическая чистота	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует
Результаты измерений показателей через 6 месяцев				
Адсорбционная способность лигноцеллюлозного комплекса, мг/г	76±3	68±3	74±3	62±2
Содержание аммония глицирризината, % от расчетной концентрации	98,5±0,6	99,9±0,3	98,2±0,6	100,4±0,5
Микробиологическая чистота	Соответствует	Соответствует	Соответствует	Соответствует

чистота				
---------	--	--	--	--

Результаты эксперимента свидетельствуют о том, что состав композиций стабилен, содержание и активность компонентов в физической смеси значимо не изменялась при хранении в течение 6 месяцев.

Пример 5

Пероральное применение комбинаций АГК и лигноцеллюлозного комплекса для нормализации уровней липидов крови и профилактики возникновения и развития заболеваний, опосредованных патологическими изменениями содержания липидов в крови, обусловленных дислипидемией, в частности при атеросклерозе, нарушении липидного обмена, гиперхолестеринемии у кроликов с искусственно индуцированной дислипидемией

В качестве тест-системы для оценки специфической фармакологической активности комбинаций лигноцеллюлозного комплекса и аммония глицирризината в различных массовых соотношениях в сравнении с монотерапией лигноцеллюлозным комплексом и аммонием глицирризинатом использовали модель гиперхолестеринемии, нарушений липидного обмена и атеросклероза у кроликов породы Калифорнийские. Возраст животных в начале исследования составлял 8 недель, вес варьировали в пределах 2,5-3,0 кг, количество животных в группах - 4.

Модель гиперхолестеринемии и атеросклероза индуцировали следующим образом:

1. Ежедневно перорально вводили экзогенный холестерин, который формирует у животных состояние гиперхолестеринемии, влекущий развитие дислипидемии.
2. Периодическое введение животным витамина D₃ (холекальциферола), стимулирующего возникновение атерокальциноза, усугубляющего развитие атеросклероза. Метаболиты витамина D₃ вызывают нарушение целостности артериальной стенки и в определенной степени провоцируют некроз гладкомышечных артериальных волокон (медии), таким образом, увеличивая интеграцию липидных частиц в артериальную стенку.

3. Многократное внутривенное введение адреналина экспериментальным животным, который стимулирует выброс катехоламинов и моделирует периодические психо-эмоциональные стрессы.

Холестерин растворяли в перегретом растительном масле, вводили ежедневно в дозировке 0,3 г/кг веса животного, однократно, внутривенно через зонд. Длительность введения холестерина составила 90 дней. Спустя 30 дней от начала введения холестерина для усиления липидоза аорты в диету животных был добавлен витамин D3 (холекальциферол) в дозе 0,256 мл/кг. Введение холекальциферола осуществляли внутривенно с 31 по 60 дни эксперимента. В тот же период с целью усиления атеросклеротических изменений в аорте каждые 5 дней животным вводили адреналин в дозе 0,04 мг на 1 кг веса внутривенно.

Исследованию были подвергнуты следующие составы композиций, содержащие аммония глицирризината (АГК) и лигноцеллюлозного комплекса (ЛЦК):

- 1) АГК 50 + ЛЦК 5000 или АГК 1,0 % : ЛЦК 99,0 %;
- 2) АГК 30 + ЛЦК 1000 или АГК 2,9 % : ЛЦК 97,1 %;
- 3) АГК 30 + ЛЦК 2600 или АГК 1,1 % : ЛЦК 98,9 %;
- 4) АГК 200 + ЛЦК 1090 или АГК 15,5 % : ЛЦК 84,5 %.

Параметры липидного спектра крови оценивали на биохимическом анализаторе открытого типа «А-25» RandomAccess (Испания) с использованием реагентов фирмы BioSystems (Испания).

На фоне введения индукторов патологии у всех животных экспериментальных групп отмечали развитие дислипидемии в течение 60 дней от начала эксперимента, при этом уровень общего холестерина (ХС), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП), триглицеридов (ТГ) значительно вырос, также вырос индекс атерогенности. Совокупность признаков свидетельствовала о развитии устойчивого нарушения липидного обмена у экспериментальных животных.

Тестируемые комбинации начали применять с 31 дня от начала индукции патологии. Наиболее выраженный эффект отмечен у животных, получавших исследуемые составы композиций. На 60 сутки от начала эксперимента установлено значимое снижение уровня липидов и индекса атерогенности в группах лечебного применения комбинаций, которое сохранялось вплоть до 90 суток на фоне усугубления патологии в контрольной группе. Изменения липидного спектра представлены в таблице 3.

Таблица 3

Данные показателей липидного спектра у кроликов с индуцированной дислипидемией (при этом дислипидемия лежит в основе всех указанных заболеваний) при лечении композицией, содержащей аммония глицирризината (АГК) и лигноцеллюлозный комплекс (ЛЦК) в разных количественных соотношениях.

Наименование групп животных	Значения показателей липидного спектра (M±SD) у кроликов (n=4) с индуцированной дислипидемией, определяемые через 60 дней лечебно-профилактического применения комбинаций АГК и ЛЦК:				
	ХС общ, ммоль/л	ХС ЛПВП, ммоль/л	ХС ЛПНП, ммоль/л	ТГ, ммоль/л	Индекс атерогенности
Интактный контроль	0,95±0,15	0,43±0,05	0,24±0,16	0,57±0,09	1,27±0,57
Контроль патологии	11,20±1,15*	0,53±0,15	9,74±1,36*	1,95±0,32*	21,83±7,50*
Патология + АГК 50 мг	7,95±0,95#	0,65±0,05	6,69±0,91#	1,17±0,16#	11,25±1,89
Патология + ЛЦК 5000 мг	6,70±0,43#	0,63±0,05	5,93±0,42#	0,78±0,08#	9,77±1,22#
Патология + АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг	4,22±0,55#\$\$@	0,64±0,07	3,48±0,44#\$\$@	0,62±0,05#\$\$@	5,72±1,58#\$\$
Патология + АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + пребиотики	4,35±0,39#\$\$@	0,62±0,04	3,88±0,30#\$\$@	0,60±0,03#\$\$@	6,06±0,76#\$\$
Патология +АГК 30 мг +ЛЦК 1000 мг	5,12±0,40#\$\$	0,59±0,08	4,42±0,41#\$\$	0,92±0,08#&	7,75±0,84#
Патология +АГК 30 мг +ЛЦК 2600 мг	5,32±0,48#\$\$	0,52±0,13	4,69±0,45#\$\$	0,74±0,09#	7,89±0,74#

Патология +АГК 200 мг + ЛЦК 1090 мг	5,30±0,39#&\$	0,60±0,03	4,69±0,54#&\$	0,93±0,06#&	7,87±0,43#
---	---------------	-----------	---------------	-------------	------------

Примечание *- показатель достоверно выше, чем в других группах при сравнении в двустороннем тесте Манна-Уитни, $p < 0,05$; # показатель достоверно ниже, чем в группе контроль патологии при сравнении в двустороннем тесте Манна-Уитни, $p < 0,05$; \$ показатель достоверно ниже, чем в группах патология + ЛГ 5000 и патология + АГК 50 мг при сравнении в двустороннем тесте Манна-Уитни, $p < 0,05$; @ показатель достоверно ниже, чем в группе патология + ЛГ 1090 и АГК 200 мг при сравнении в двустороннем тесте Манна-Уитни, $p < 0,05$; & - показатель достоверно выше, чем в группе патология + ЛГ 5000 и АГК 50 мг при сравнении в двустороннем тесте Манна-Уитни, $p < 0,05$.

Указанные в Таблице 3 пребиотики представляют собой ФОС (фруктоолигосахариды), ГОС (галактоолигосахариды), лактитол, использованы в количестве от 0,5 до 3 000 мг.

Отмечено, что ЛЦК и АГК оказывают значимое действие на ХС ЛПНП, ХС, ТГ. ЛГ в дозе 5000 мг снижает уровень ТГ достоверно более выражено, чем АГК в дозе 50 мг.

ЛЦК в дозе 5000 мг также значимо снижает расчетный индекс атерогенности (ИА = $(ХС - ХС \text{ ЛПВП}) / ХС \text{ ЛПВП}$). Комбинация АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг вызывала наиболее выраженное снижение показателя ХС, ЛПНП, ТГ и ИА в сравнении с другими группами, кроме интактной группы. Стоит отметить, что группа АГК 30 мг + ЛЦК 2600 мг снижала уровень ТГ в схожей степени с группой АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг и их показатели достоверно не различались, в тоже время показатель уровня ТГ в группах АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг и АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + пребиотик был достоверно ниже, чем в других группах.

Группы АГК 200 мг + ЛЦК 1090 мг и АГК 30 мг + ЛЦК 1000 мг достоверно более выражено снижали ХС-ЛПНП и ХС в сравнении с группами патология + ЛЦК 5000 мг и патология + АГК 50 мг. По результатам исследования можно распределить группы по силе эффекта влияния на нормализацию липидного обмена в следующем порядке от самой эффективной до наименее эффективной:

- 1) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг или 1,0 % : 99,0 %;
- 2) АГК 30 мг + ЛЦК 2600 мг или 1,1 % : 98,9 %;
- 3) АГК 200 мг + ЛЦК 1090 мг или 15,5 % : 84,5%;

- 4) АГК 30 мг +ЛЦК 1000 мг или 2,9 % : 97,1 %;
 5) ЛЦК 5000 мг или 99,0 %;
 6) АГК 50 мг или 1,0 %

При оценке гистологических критериев повреждения печени, аорты, сердца кроликов с индуцированной дислипидемией после эвтаназии животных через 90 дней от начала эксперимента использовали введенную систему баллов, а именно:

- степень атеросклеротического повреждения стенки аорты оценивалась по соответствующим стадиям атерогенеза (отсутствие признаков патологии - 0 баллов; долипидная стадия - 1 балл, липоидоз - 2 балла, кальциноз - 3 балла), для выявления ранних стадий атеросклероза - долипидной, использовали краситель толуидиновый синий, который за счет реакции метахромазии позволяет визуализировать дистрофические изменения соединительной ткани, для выделения скоплений липидов в тканях использовали краситель масляный красный О, максимальный балл - 5 (при наблюдении одновременно кальциноза и липоидоза);

- степень повреждения печени оценивали по гистологическим критериям, представленным в таблице 4, каждый морфологический признак поражения печени оценивался в баллах, которые суммировались для каждого животного в группе, максимально возможный балл 6.

Таблица 4

Гистологические критерии оценки повреждения печени

Признак	Степень	Описание	Баллы
Стеатоз	О	жировая дистрофия отсутствует	0
	I	менее 33 % гепатоцитов подверглось жировой дистрофии	1
	II	33-66 % гепатоцитов подверглось жировой дистрофии	2
	III	более 66% гепатоцитов подверглось жировой дистрофии	3
Баллонная дистрофия гепатоцитов	О	отсутствие повреждения	0
	I	стеатоз 1-2 степени, минимальная баллонная дистрофия в 3 зоне ацинуса	1
	II	стеатоз любой степени, умеренная	2

		баллонная дистрофия в 3 зоне ацинуса	
	III	панацинарный стеатоз, выраженная баллонная дистрофия	3

- степень атеросклеротического повреждения клапанов сердца оценивали по тем же критериям, что и степень поражения аорты.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что комбинации АГК и ЛЦК обладают протективным действием в отношении предупреждения и элиминации поражений аорты, клапанов сердца и печени у кроликов с искусственной дислипидемией. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5

Данные степени поражения аорты, печени и сердца у кроликов с дислипидемией после лечебно-профилактического применения композиции аммония глицирризината (АГК) и лигноцеллюлозный комплекс (ЛЦК)

Наименование группы	Средний суммарный бал (M±SD) для групп поражения органов кроликов (n=4)		
	аорта	печень	сердце
Интактный контроль	0	0	0
Контроль патологии	4,8±0,5	4,8±0,5	2,8±0,5
Патология + АГК 50 мг	4,5±0,6	3,5±0,6*	2,8±0,5
Патология + ЛЦК5000 мг	3,3±0,5*\$	2,3±0,5*\$	1,8±0,5\$
Патология + АГК50 мг+ ЛЦК 5000 мг	0,3±0,5*#&€	0,3±0,5*#&€	0
Патология + АГК50 мг + ЛЦК 5000 мг + пребиотики (ФОС, ГОС, лактитол)	0	0,3±0,5*#&€	0
Патология + АГК30 мг + ЛЦК1000 мг	2,3±0,5*&	2,0±0,8*\$	1,8±0,5*\$
Патология + АГК 30 мг+ ЛЦК2600 мг	1,3±0,5*&€	0,8±0,5*&€	0,3±0,5*&€

Патология + АГК 200 мг +ЛЦК1090 мг	2,5±0,8*&	0,8±0,5*&€	1,8±1,0*\$
Примечание: * - отличие от параметра контрольной группы (p<0,05, двусторонний критерий Манна-Уитни); \$ - отличие от параметра группы патология + АГК 50 (p<0,05, односторонний критерий Манна-Уитни); # - отличие от параметров других групп (p<0,05, двусторонний критерий Манна - Уитни); & - отличие от параметра группы патология + АГК 50 (p<0,05, двусторонний критерий Манна-Уитни); € - отличие от параметра группы патология + ЛГ 5000 (p<0,05, односторонний критерий Манна-Уитни).			

Пребиотики выбирают из ФОС, ГОС, лактитола и используют в количестве от 0,5 до 3000 мг.

По результатам исследования наиболее выраженное действие, направленное на снижение негативного влияния атерогенных факторов на исследованные органы кроликов с индуцированной дислипидемией, оказывает комбинация АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг. Стоит отметить, что действие АГК в дозе 50 мг в основном было связано с достоверным уменьшением степени выраженности патологических изменений в структуре печени у кроликов. При этом лигниноцеллюлозный комплекс в дозе 5000 мг оказывал достоверный положительный эффект (снижение степени выраженности патологических изменений) на все исследованные органы в сравнении с группой контроль патологии. Близкой по своей лечебно-профилактической активности к группам, получавшим комбинацию АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг и АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + пребиотики была группа АГК 30 мг + ЛЦК 2600 мг, несмотря на то, что достоверно уступала ей по степени выраженности эффекта в аорте и печени кроликов. Наименьшей активностью в отношении предупреждения и элиминации патологических изменений в исследованных органах обладала группа, получавшая комбинацию АГК 30 мг + ЛЦК 1000 мг.

В результате можно составить рейтинг групп по силе эффекта влияния на предупреждение и развитие патологических процессов в органах в следующем порядке от самой эффективной до наименее эффективной:

- 1) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг или 1,0 масс.% : 99,0 масс.%;
- 2) АГК 30 мг + ЛЦК 2600 мг или 1,1 масс.% : 98,9 масс.%;
- 3) АГК 200 мг + ЛЦК 1090 мг или 15,5 масс.% : 84,5 масс.%;
- 4) АГК 30 мг + ЛЦК 1000 мг или 2,9 масс.% : 97,1 масс.%;
- 5) ЛЦК 5000 мг или 99,0 масс.%;

б) АГК 50 мг или 1,0 масс. %.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии синергетического эффекта при использовании комбинации, содержащей лигноцеллюлозный комплекс в количестве от 84,5 до 99,9 % масс. и глицирризиновую кислоту в виде приемлемой соли в количестве от 0,1 % до 15,5 масс. %. При использовании компонентов по отдельности гиполипидемические, гепатопротекторные и другие выявленные эффекты были менее выражены, чем при использовании композиции. Синергизм обеспечивался за счет сочетанной (совместной) реализации различных механизмов действия, характерных для каждого из компонентов комбинации.

Пример 6

Получение различных форм композиции

Для получения порошка АГК от 10 до 200 мг и лигноцеллюлозного комплекса от 50 до 5000 мг растирали до порошкообразного состояния с помощью лабораторной посуды для измельчения твердых веществ.

Для получения таблетки АГК от 10 до 200 мг и лигноцеллюлозного комплекса от 50 до 5000 мг растирали до порошкообразного состояния с помощью лабораторной посуды для измельчения твердых веществ, затем в полученную смесь добавляли повидон К17 (ПВП) от 1 мг до 65 мг; кальция стеарат от 1 мг до 10 мг; кроскармеллоза натрия от 1 мг до 10 мг и таблетировали с помощью специального оборудования.

Для получения капсул АГК от 10 до 200 мг и лигноцеллюлозного комплекса от 50 до 5000 мг растирали до порошкообразного состояния с помощью лабораторной посуды для измельчения твердых веществ, добавляли вспомогательные вещества: целлюлоза микрокристаллическая от 0,5 мг до 80 мг, повидон низкомолекулярный от 0,5 мг до 10 мг, крахмал картофельный от 0,5 мг до 10 мг, магния стеарат от 0,5 мг до 5 мг, лактозы моногидрат от 0,5 мг - до 175 мг. Полученную смесь капсулировали с помощью специального оборудования.

Для получения биологически активной добавки, например в виде батончика, АГК от 10 до 200 мг и лигноцеллюлозный комплекс от 50 до 5000 мг растирали до порошкообразного состояния с помощью лабораторной посуды для измельчения твердых веществ, добавляли фруктовое пюре либо ягодное пюре от 1 мг до 10000 мг, инулин от 1 мг до 8000 мг, бета-глюкан от 1 мг до 5000 мг, дополнительный источник

пищевых волокон, например, олигофруктозный сироп от 1 мг до 2000 мг, источник витаминов для поддержания иммунной системы (витамин Е, аскорбиновая кислота) от 1 мг до 2500 мг, сорбат калия от 1 мг до 1000 мг, стабилизатор от 1 мг до 1000 мг, ароматизатор от 1 мг до 1000 мг, разрыхлитель от 1 мг до 1000 мг и с помощью специального оборудования придавали необходимую форму.

Для получения продукта для лечебного и профилактического диетического питания, например, в виде сэнка или конфет, АГК от 10 до 200 мг и лигноцеллюлозный комплекс от 50 до 5000 мг растирали до порошкообразного состояния с помощью лабораторной посуды для измельчения твердых веществ, добавляли фруктовое пюре либо ягодное пюре от 1 мг до 10000 мг, дополнительный источник пищевых волокон, инулин от 1 мг до 8000 мг, бета-глюкан от 1 мг до 5000 мг, источник витаминов для поддержания иммунной системы (витамин Е, аскорбиновая кислота) от 1 мг до 2500 мг, сорбат калия от 1 мг до 1000 мг, стабилизатор от 1 мг до 1000 мг, ароматизатор от 1 мг до 1000 мг, разрыхлитель от 1 мг до 1000 мг. Далее, с помощью специального оборудования придавали необходимую форму.

Результаты проведенных исследований в отношении эффективности действия композиции, предназначенной для нормализации уровня липидов в крови, показали, что масса исследованной композиции позволяет обеспечить эффективную дозировку по меньшей мере от 10 мг в сутки и по меньшей мере до 500 мг в сутки.

Пример 7

Влияние пребиотиков на работу ЖКТ при приеме комбинации АГК и ЛЦК

В качестве тест-системы для выявления влияния комбинации АГК и ЛЦК, в том числе при совместном применении с пребиотиками, на работу ЖКТ использовали самцов аутбредных крыс. Использовали здоровых животных возрастом 6-7 недель.

В исследовании изучали следующие экспериментальные группы (по 4 животных в группе):

- 1) интактные животные,
- 2) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг;
- 3) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + инулин 3000 мг;
- 4) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + лактитол 3000 мг;
- 5) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + галактоолигосахариды (ГОС) 3000 мг;

б) АГК 50 мг + ЛЦК 5000 мг + бета-глюкан 3000 мг.

Исследуемые комбинации вводили животным внутрижелудочно в виде суспензии в 1 %-ном растворе крахмала. Животные интактной группы получали только раствор крахмала. Введение осуществляли в течение 14 дней. Животные содержались индивидуально. В ходе исследования изучали количество дефекаций за сутки (подсчет осуществляли каждые 2 часа в течение дня и утром следующего дня).

В таблице 6 представлены результаты измерений количества болюсов в сутки у животных различных групп.

Таблица 6

Данные частоты дефекаций крыс при пероральном применении комбинации аммония глицирризината (АГК) и лигноцеллюлозный комплекс (ЛЦК), в том числе с добавлением разных пребиотиков.

Наименование группы	Показатели среднего количества дефекаций (шт) у крыс (n=4) через разные промежутки времени после начала применения препаратов:			
	0 сут.	2 сут.	8сут.	14сут.
Интактные животные	18±1	22±3	20±2	19±3
АГК 50 мг и ЛЦК 5000 мг	14±3*	13±2*	13±2*	12±2*
АГК 50 мг и ЛЦК 5000 мг и бета глюкан	21±2	21±2	20±1	22±3
АГК 50 мг и ЛЦК 5000 мг и инулин	21±1	22±3	23±2	22±2
АГК 50 мг и ЛЦК 5000 мг и лактитол	22±1	22±2	24±2	24±3
АГК 50 мг и ЛЦК 5000 мг и ГОС	22±2	22±3	22±2	25±2
Примечание: * показатель достоверно ниже чем в других группах при множественном сравнении методом Краскела - Уоллиса, p<0,05				

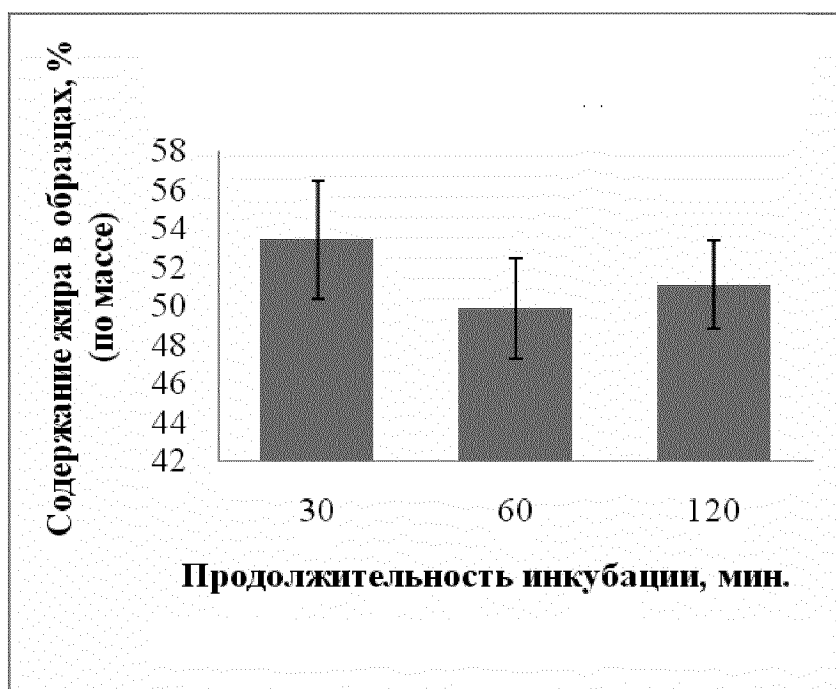
Продолжительный прием комбинации АГК и ЛЦК приводил к уменьшению частоты дефекаций и уплотнению кала у экспериментальных животных, что может свидетельствовать о повышении риска развития запоров при использовании исследуемой комбинации. Использование пребиотиков различных классов, в том числе инулина, лактитола, галоолигосахарида и бета-глюкана способствует восстановлению частоты дефекаций у крыс до значений, сравнимых с контрольной группой.

Полученные результаты позволяют утверждать, что применение пребиотиков совместно с комбинацией АГК + ЛЦК позволит снизить риск возникновения запоров при длительном приеме комбинации.

Формула изобретения

1. Композиция для нормализации уровня липидов в крови, в том числе липопротеинов низкой плотности, холестерина и триглицеридов, содержащая лигнин гидролизный в количестве от 84,5 до 99,9 масс.% и глицирризиновую кислоту в виде приемлемой соли в количестве от 0,1 до 15,5 масс.%.
2. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что масса указанной композиции обеспечивает эффективную дозировку от 10 до 5000 мг в сутки.
3. Композиция по любому из п.п.1-2, отличающаяся тем, что представляет собой перорально дозируемую форму, выполненную в виде порошка, таблетки, капсулы, суспензии, геля.
4. Применение композиции по любому из п.п.1-3 для профилактики возникновения и развития атеросклероза, нарушения липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии.
5. Биологически активная добавка к пище, содержащая композицию по п. 1 и вспомогательные вещества.
6. Биологически активная добавка по п.5, в которой вспомогательные вещества выбраны из пребиотиков.
7. Биологически активная добавка по п.5, отличающаяся тем, что масса композиции согласно п.1 обеспечивает дозировку от 10 до 5000 мг в сутки.
8. Биологически активная добавка по п.5, отличающаяся тем, что выполнена в виде порошка, таблетки, капсулы, батончика, сэнка.
9. Применение биологически активной добавки по одному из п.п. 5-8 для профилактики возникновения и развития атеросклероза, нарушения липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии.
10. Продукт для лечебного и профилактического диетического питания, содержащий композицию по п.1 и вспомогательные вещества.

11. Продукт по п.10, в котором вспомогательные вещества выбраны из пребиотиков.
12. Продукт по п.10, отличающийся тем, что масса композиции согласно п.1 обеспечивает дозировку от 10 до 5000 мг в сутки.
13. Продукт по п.10, отличающийся тем, что масса композиции согласно п.1 обеспечивает дозировку от 50 до 500 мг в сутки.
14. Продукт по п.10, отличающийся тем, что выполнен в виде порошка, таблетки, капсулы, батончика, сэнка, конфет.
15. Применение продукта по п.10 для профилактики возникновения и развития атеросклероза, нарушения липидного обмена, гиперхолестеринемии, дислипидемии.



Фиг.1 - Сорбционная активность лигноцеллюлозного комплекса в отношении липидов в зависимости от продолжительности инкубации

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202090511

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

A61K 31/704 (2006.01)
A61K 36/00 (2006.01)
A23L 33/10 (2016.01)
A61P 3/06 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A61K 31/00, A61K 31/704, A61K 36/00, A23L 33/00, A23L 33/10, A61P 3/00, A61P 3/06, A61P 9/00, A61P 9/10

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
Eapatis, PatSearch, Reaxys, Embase, Espacenet

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	ГЛУЩЕНКО О. Ю. и др. Взаимодействие глицирризиновой кислоты с продуктами окисления холестерина: новый взгляд на проблему атеросклероза. Химия в интересах устойчивого развития, 2011, том 19, с. 649-653, весь текст, особенно: с. 651 левая колонка.	1-15
Y	RU 2297214 C2 (ЗАО "САЙНТЕК" (RU)) 20.04.2007, весь текст, особенно: с. 5 строки 46-49	1-15
Y	НОВИКОВ Д.К. и др. Влияние мевинолина и глицирризиновой кислоты на метаболизм холестерина и желчных кислот в культивируемых гепатоцитах кролика. БИОХИМИЯ, 1992, том 57, вып. 6, с. 897-903, весь текст, особенно: реферат.	1-15
Y	SU 1413108 A1 (ИНСТИТУТ ХИМИИ ДРЕВЕСИНЫ АН ЛАТВССР) 30.07.1988, весь текст, особенно: реферат.	1-15
Y	REGI JOSE et al. A Review on the Role of Nutraceuticals as Simple as Se ²⁺ to Complex Organic Molecules Such as Glycyrrhizin That Prevent as Well as Cure Diseases. Ind J Clin Biochem, Apr-June 2014, 29(2):119-132, весь текст, особенно: реферат.	5-15

последующие документы указаны в продолжении

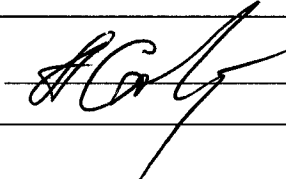
* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке
«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее
«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.
"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения
«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности
«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории
«&» - документ, являющийся патентом-аналогом
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **06/10/2020**

Уполномоченное лицо:
Заместитель начальника Управления экспертизы
Начальник отдела химии и медицины


А.В.Чебан