

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045555**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.05

(51) Int. Cl. *A61K 9/00* (2006.01)
A61K 31/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
202092057

(22) Дата подачи заявки
2019.03.21

(54) **ЗАЩИТНЫЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ПЕЧЕНИ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРИМЕНЕНИЯ**

(31) **62/647,041**

(32) **2018.03.23**

(33) **US**

(43) **2021.01.25**

(86) **PCT/US2019/023327**

(87) **WO 2019/183325 2019.09.26**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
САМИ ЛАБС ЛИМИТЕД (IN)

(72) Изобретатель:
**Маджид Мухаммед, Нагабхушанам
Кальянам (US), Мундкур Лакшми
(IN)**

(74) Представитель:
**Харин А.В., Стойко Г.В., Буре Н.Н.
(RU)**

(56) **US-A1-20160243202**

PANDA et al.: Antioxidant and hepatoprotective effect of Garcinia indica fruit rind in ethanolinduced hepatic damage in rodents. Interdiscip Toxicol. December 2012, Vol 5, No 4, pp 207-213, abstract

PARASRAMKA et al.: Synergistic Effect of Garcinol and Curcumin on Antiproliferative and Apoptotic Activity in Pancreatic Cancer Cells. Journal of Oncology, 2012, vol. 2012, Article ID 709739, pp 1-8, abstract, pg 2, col. 1, para 4, pg 5, col. 2, para 2, fig. 4a

(57) Изобретение относится к композиции, содержащей куркуминоиды и гарцинол, для гепатопротекции. В частности, изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для терапевтического лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и ассоциированных состояний, таких как стеатоз, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз и цирроз печени.

B1

045555

045555

B1

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Это заявка, поданная в соответствии с Договором о патентной кооперации, которая испрашивает приоритет по предварительной заявке США № 62647041, поданной 23 марта 2018 г.

Область техники

Настоящее изобретение относится к композициям для защиты печени. В частности, изобретение относится к композиции, содержащей куркуминоиды и гарцинол, для гепатопротекции. Более конкретно, изобретение относится к композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для терапевтического лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и ассоциированных состояний.

Уровень техники

Неалкогольные жировые болезни печени (НАЖБП) включают спектр жировых заболеваний печени в отсутствие употребления алкоголя, в диапазоне от ожирения печени до цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы. Различные степени или типы НАЖБП включают: а) стеатоз, б) неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), в) фиброз и г) цирроз, д) гепатоцеллюлярную карциному. Стеатоз определяется как накопление триглицеридов в гепатоцитах или избыток жира в печени. Минимальное избыточное количество жира, составляющее по меньшей мере на 5-10% больше, чем обычное, считается серьезным состоянием стеатоза.

Вторая стадия НАЖБП, неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), является потенциально серьезным состоянием, имеющим существенный риск прогрессирования до конечной стадии фиброза, цирроза и рака печени или гепатоцеллюлярной карциномы. Гистопатологические признаки неалкогольного стеатогепатита (НАСГ) включают гепатоцеллюлярный стеатоз и баллонирование, смешанное острое и хроническое воспаление и перивенулярное, перисинусоидальное отложение коллагена. НАСГ рассматривается как гепатическое проявление метаболического расстройства и тесно связан с диабетом 2 типа, ожирением, инсулинорезистентностью и системным воспалительным состоянием. Следующие документы предшествующего уровня техники раскрывают характерные признаки НАЖБП и НАСГ:

a) Williams C.D., et al., Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology*, 2011; 140(1): 124-31.

b) Charlton M.R., et al., Frequency and outcomes of liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis in the United States. *Gastroenterology*, 2011; 141(4): 1249-53.

c) Sanyal A., et al., Population-based risk factors and resource utilization for HCC: US perspective. *Curr Med Res Opin*, 2010; 26(9): 2183-91.

d) Ratziu V., et al., A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference. *J Hepatol*, 2010; 53(2): 372-84.

e) Yki-Jarvinen, H., Non-alcoholic fatty liver disease as a cause and a consequence of metabolic syndrome. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014; 2(11): 901-10.

Оценка гистопатологии НАСГ и НАЖБП важна для определения степени и прогрессирования заболевания. Гистологическая система "градации и определения стадии" была разработана для отражения уникальных признаков стеатогепатита, градации степени тяжести и фиброза и для обеспечения единообразного представления данных гистопатологии (Brunt et al., *Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology*; *Semin Liver Dis*. 2001; 21 (1): 3-16), где оценка стадии отражает как локализацию, так и степень заболевания.

Другие НАЖБП можно отличить от НАСГ по оценке активности НАЖБП (NAS), сумме оценок гистопатологии при биопсии печени на стеатоз (0-3 балла), лобулярного воспаления (0-2) и гепатоцеллюлярного баллонирования (0-2). Значение NAS менее 3 соответствует НАЖБП, от 3 до 4 соответствует пограничному НАСГ, и значение более 5 соответствует НАСГ. Биопсия также оценивается на фиброз (0-4). Схожим образом система градации баллонирования и лобулярного воспаления, портального воспаления и степени стеатоза хорошо объяснена и дифференцирована в документе Kleiner et al., *Histology of NAFLD and NASH in adults and children*, *Clin Liver Dis*. 2016; 20 (2): 293-312.

Фиброз возникает при дальнейших метаболических и биохимических нарушениях. Он зависит от дисбаланса между скоростью образования и отложения коллагена. Стадии фиброза включают 1 стадию, перисинусоидальный фиброз 3 зоны; 2 стадию, перисинусоидальный фиброз с портальным фиброзом; 3 стадию, вышеуказанное с мостовидным фиброзом; и 4 стадию, как описано в документе Brunt et al., *Non alcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions*. *Am J Gastroenterol*. 1999; 94 (9): 2467-74. Фиброз может быть диагностирован при заболеваниях печени с помощью гидроксипролина и окислительного стресса в качестве биомаркеров (Gabr et al., *Prediction of fibrosis in hepatitis C patients: assessments using hydroxyproline and oxidative stress biomarkers*. *Indian Virological Society* 2013; 25(1): 91-100).

Маркеры окислительного стресса также играют важную роль в поддержании здоровья печени. Важность маркера окислительного стресса как неинвазивного параметра для оценки фиброза печени (Novitskiy G et al., *Effects of ethanol and acetaldehyde on reactive oxygen species production in rat hepatic stellate cells* *Alcohol Clin Exp Res*. 2006;30(8):1429-35). Доказано, что маркеры окислительного стресса, антиоксидантные ферменты и гидроксипролин играют роль в патогенезе ХГС (хронический гепатит С).

Clichici S et al., Non-invasive oxidative stress markers for liver fibrosis development in the evolution of toxic hepatitis. *Acta Physiol Hung.* 2011; 98 (2): 195-204).

НАСГ обычно представляет собой "тихое" заболевание с минимальными симптомами, при этом по мере прогрессирования заболевания развиваются потеря веса, утомляемость и слабость. Установлено, что у индивидуумов с ожирением печени при НАЖБП повышены уровни ферментов печени и снижение количества ферментов печени скорректирует или улучшит состояние печени. Современный метод регулирования уровня ферментов заключается в обеспечении глутамином, природной аминокислотой, используемой в качестве пищевой добавки.

Существует острая необходимость в терапевтическом лечении НАЖБП. Это является серьезным бременем для системы общественного здравоохранения, поскольку для лечения нет одобренных лекарственных средств. Основным методом лечения является контроль образа жизни, в то время как пиоглитазон и витамин Е используются в качестве фармакотерапии для уменьшения гепатоцеллюлярного повреждения, фиброза и улучшения стеатогепатита. Другие методы включают использование сенсibilizаторов инсулина, бигуанидов, например метформина.

Природные молекулы из различных растительных источников в настоящее время также используются для гепатопротекции и лечения НАЖБП (Madrigal-Santillán et al., Review of natural products with hepatoprotective effects, *World J Gastroenterol.* 2014; 20 (40): 14787-14804). Куркумин из *Curcuma* sp. хорошо известен своим терапевтическим эффектом в отношении смягчения симптомов НАСГ (Rahmani et al., Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease with Curcumin: A Randomized Placebo-controlled Trial, *Phytotherapy Research*, 2016; 30(9): 1540-1548; Amato et al., NAFLD and Atherosclerosis Are Prevented by a Natural Dietary Supplement Containing Curcumin, Silymarin, Guggul, Chlorogenic Acid and Inulin in Mice Fed a High-Fat Diet, *Nutrients* 2017, 9(5), 492; <https://doi.org/10.3390/nu9050492>). Гарцинол из *Garcinia* sp. также представляет собой известный гепатопротекторный агент (WO 2012092430 A1). Однако большинство природных молекул не обеспечивают полной защиты от всех симптомов НАЖБП. Все еще существует неудовлетворенная промышленная потребность в композиции, которая была бы безопасной и надежной и проявляла бы гепатопротекторную способность, смягчая большинство симптомов, связанных с НАЖБП и НАСГ.

Настоящее изобретение относится к синергетической композиции, содержащей куркуминоиды и гарцинол, для терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний, таких как НАСГ, фиброз и цирроз.

Основной целью изобретения является раскрытие синергетической гепатопротекторной композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол, для лечения НАЖБП и ассоциированных с ними состояний.

Еще одна цель изобретения состоит в раскрытии способа терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний, таких как стеатоз, НАСГ, фиброз и цирроз, с применением композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол.

Настоящее изобретение решает вышеупомянутые задачи и обеспечивает дополнительные связанные преимущества.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол, для применения в качестве гепатопротекторного агента. Более конкретно, изобретение раскрывает применение композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол, для терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний, таких как стеатоз, НАСГ, фиброз и цирроз печени.

Изобретение также раскрывает способ терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний, таких как стеатоз, НАСГ, фиброз и цирроз, путем введения композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут очевидны из следующего более подробного описания, рассматриваемого в сочетании с сопроводительными графическими материалами, иллюстрирующими, в качестве примера, принцип изобретения.

Краткое описание графических материалов

Файл патента или заявки содержит по меньшей мере один цветной рисунок. Копии данного патента или заявки на патент с цветными графическими материалами будут предоставлены Управлением по запатентованию и после уплаты необходимой пошлины.

На фиг. 1 показаны гистопатологические срезы печени, окрашенные гематоксилином и эозином.

Фиг. 2 представляет собой графическое изображение, показывающее оценку НАЖБП в срезах печени животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды. Оценка НАЖБП рассчитывается на основе гистологических срезов, окрашенных гематоксилином и эозином.

Фиг. 3 представляет собой графическое изображение, показывающее оценку стеатоза в срезах печени животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 4 представляет собой графическое изображение, показывающее оценку баллонирования в срезах печени животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 5 представляет собой графическое изображение, показывающее область фиброза в срезах печени животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 6 представляет собой графическое изображение, показывающее уровни гидроксипролина в печени у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

На фиг. 7 показаны гистопатологические микрофотографии срезов печени, окрашенных пикросирусом красным, показывающие отложение коллагена у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 8 представляет собой графическое изображение, показывающее уровни адипонектина у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 9 представляет собой графическое изображение, показывающее уровни TNF α в плазме у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 10 представляет собой графическое изображение, показывающее уровни глутатиона в плазме у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 11 представляет собой графическое изображение, показывающее уровни глутатионпероксидазы в плазме у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 12 представляет собой графическое изображение, показывающее степень перекисного окисления липидов у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 13 представляет собой графическое изображение, показывающее экспрессию TNF- α , NF κ B и MCP1 у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Фиг. 14 представляет собой графическое изображение, показывающее экспрессию TGF- β и коллагена I у животных, которым вводили гарцинол, куркуминоиды и гарцинол + куркуминоиды.

Описание наиболее предпочтительных вариантов осуществления изобретения

В наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает способ терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний у млекопитающих, причем указанный способ включает стадии введения эффективных количеств композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, млекопитающим, нуждающимся в таком лечении, чтобы вызвать уменьшение симптомов НАЖБП и ассоциированных состояний. В связанном варианте осуществления ассоциированные с НАЖБП состояния включают неалкогольную жировую дистрофию (НАФЛ), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз и цирроз. В связанном варианте осуществления симптомы НАФЛ включают аномальное накопление жира в гепатоцитах.

В связанном варианте осуществления симптомы НАСГ включают, но не ограничиваются ими, воспалительную инфильтрацию и гепатоцеллюлярное баллонирование. В другом связанном варианте осуществления симптомы фиброза включают повышенные уровни гидроксипролина и патологическое отложение коллагена в печени. В другом связанном варианте осуществления симптомы НАЖБП и ассоциированных состояний включают повышенную экспрессию воспалительных маркеров, повышенные уровни ферментов печени, повышенное перекисное окисление липидов, пониженные уровни антиоксидантов, повышенную экспрессию коллагена и пониженные уровни адипонектина.

В еще одном связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, включающей TNF- α , NF κ B, TGF- β и MCP-1.

В еще одном аспекте фермент печени предпочтительно представляет собой аланинаминотрансферазу (АЛТ). В другом связанном аспекте антиоксиданты выбраны из группы, включающей глутатион и глутатионпероксидазу. В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно.

В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В другом связанном аспекте 20% гарцинол получают из *Garcinia sp.* В предпочтительном варианте осуществления изобретения *Garcinia sp.* представляет собой *Garcinia indica*. В другом связанном аспекте млекопитающее является человеком.

В еще одном аспекте композиция составлена с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами и адъювантами и вводится перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных продуктов, леденцов или съедобных продуктов. В другом связанном аспекте композиция, содержащая 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, может быть составлена с другими известными ингредиентами для защиты печени.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний у млекопитающих. В связанном варианте осуществления ассоциированные с НАЖБП состояния включают НАФЛ, НАСГ, фиброз и цирроз. В связанном варианте осуществления симптомы НАФЛ включают аномальное накопление жира в гепатоцитах. В связанном варианте осуществления симптомы НАСГ включают, но не ограничиваются ими, воспалительную инфильтрацию и гепатоцеллюлярное баллонирование.

В другом связанном варианте осуществления симптомы фиброза включают повышенные уровни гидроксипролина и патологическое отложение коллагена в печени. В другом связанном варианте осуществления симптомы НАЖБП и ассоциированных состояний включают повышенную экспрессию воспалительных маркеров, повышенные уровни ферментов печени, повышенное перекисное окисление липидов, пониженные уровни антиоксидантов, повышенную экспрессию коллагена и пониженные уровни адипонектина. В еще одном связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, включающей TNF- α , NF κ B, TGF- β и MCP-1.

В еще одном аспекте фермент печени предпочтительно представляет собой АЛТ. В другом связанном аспекте антиоксиданты выбраны из группы, включающей глутатион и глутатионпероксидазу. В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела, соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В другом связанном аспекте 20% гарцинол получают из *Garcinia* sp. В предпочтительном варианте осуществления изобретения *Garcinia* sp. представляет собой *Garcinia indica*. В другом связанном аспекте млекопитающее является человеком.

В еще одном аспекте композиция составлена с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами и адьювантами и вводится перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных продуктов, леденцов или съедобных продуктов. В другом связанном аспекте композиция, содержащая 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, может быть составлена с другими известными ингредиентами для защиты печени.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает способ терапевтического лечения НАФЛ у млекопитающих, причем указанный способ включает этапы введения эффективного количества композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, указанным млекопитающим, чтобы вызвать липолиз избыточного жира, накопленного в печени. В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно.

В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для терапевтического лечения симптомов, связанных с НАФЛ, у млекопитающих. В связанном варианте осуществления симптомы НАФЛ включают аномальное накопление жира в гепатоцитах.

В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно.

В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает способ терапевтического лечения НАСГ у млекопитающих, причем указанный способ включает этапы введения эффективного количества композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, указанным млекопитающим, чтобы вызвать уменьшение симптомов, связанных с НАСГ. В связанном варианте осуществления симптомы НАСГ включают, но не ограничиваются ими, воспалительную инфильтрацию, повышенные ферменты печени и гепатоцеллюлярное баллонирование.

В другом связанном варианте воспалительные маркеры выбраны из группы, состоящей, но не ограничивающейся, из интерлейкинов, TNF- α и TGF- β . В другом связанном варианте осуществления ферменты печени выбраны из группы, состоящей из трансаминаз, аминотрансфераз и фосфатаз. В связанном варианте осуществления фермент печени предпочтительно представляет собой АЛТ.

В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека. В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для терапевтического лечения симптомов, связанных с НАСГ, у млекопитающих.

В связанном варианте осуществления симптомы НАСГ включают, но не ограничиваются ими, воспалительную инфильтрацию, повышенные ферменты печени и гепатоцеллюлярное баллонирование. В другом связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, состоящей, но не ограничивающейся, из интерлейкинов, TNF- α и TGF- β . В другом связанном варианте осуществления ферменты печени выбраны из группы, состоящей из трансаминаз, аминотрансфераз и фосфатаз. В связанном варианте осуществления фермент печени предпочтительно представляет собой АЛТ.

В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в

концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает способ терапевтического лечения фиброза печени у млекопитающих, причем указанный способ включает стадии введения эффективного количества композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, указанным млекопитающим, чтобы вызвать снижение маркеров фиброза печени. В связанном варианте реализации маркеры фиброза печени включают, но не ограничиваются ими, воспалительные цитокины, повышенные ферменты печени и гидроксипролин, а также патологическое отложение коллагена в печени.

В другом связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, состоящей, но не ограничивающейся, из интерлейкинов, TNF- α и TGF- β . В другом связанном варианте осуществления ферменты печени выбраны из группы, состоящей из трансаминаз, аминотрансфераз и фосфатаз. В связанном варианте осуществления фермент печени предпочтительно представляет собой АЛТ. В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для уменьшения выраженности симптомов и уровня маркеров, связанных с фиброзом печени, у млекопитающих. В связанном варианте осуществления маркеры фиброза печени включают, но не ограничиваются ими, воспалительные цитокины, повышенные уровни ферментов печени и гидроксипролин, а также патологическое отложение коллагена в печени. В другом связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, состоящей, но не ограничивающейся, из интерлейкинов, TNF- α и TGF- β . В другом связанном варианте осуществления ферменты печени выбраны из группы, состоящей из трансаминаз, аминотрансфераз и фосфатаз.

В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В другом наиболее предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает способ обеспечения гепатопротекции у млекопитающих, причем указанный способ включает этапы введения млекопитающим эффективных количеств композиции, содержащей 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, чтобы вызвать уменьшение воспалительных маркеров и ферментов печени для обеспечения гепатопротекции.

В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В связанном варианте осуществления воспалительные маркеры выбраны из группы, включающей, но не ограничивающейся, интерлейкины, TNF- α и TGF- β . В другом связанном варианте осуществления ферменты печени выбраны из группы, состоящей из трансаминаз, аминотрансфераз и фосфатаз. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретение раскрывает композицию, содержащую 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, для применения в качестве гепатопротекторного агента. В связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды и 20% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно. В другом связанном варианте осуществления 95% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина. В еще одном связанном варианте осуществления млекопитающее представляет собой человека.

Следующие ниже иллюстративные примеры включены для понимания технических признаков и преимуществ настоящего изобретения.

Примеры

Пример 1. Способы

Мышиная модель

Эксперименты осуществляют на STAM-модели НАСГ-НСС (гепатоцеллюлярная карцинома). STAM-модель НАСГ широко используют прежде всего потому, что она воспроизводит полный спектр НАЖБП человека, в диапазоне от стеатоза до НАСГ и фиброза печени. Кроме того, гистологические фенотипы, наблюдаемые в этой модели, аналогичны фенотипам, наблюдаемым в клинических образцах

человека, что позволяет использовать ту же систему оценок (оценка активности НАЖБП; NAS) для оценки степени тяжести заболевания (Kazuki Takakura Et al., Mouse models for investigating the underlying mechanisms of non alcoholic steatohepatitis-derived hepatocellular carcinoma; World J Gastroenterol; 2018 may 14; 24 (18); 1989-1994).

В мышинной модели STAM не наблюдают прибавку в весе, и животные не демонстрируют ожирение, несмотря на кормление с высоким содержанием жиров.

Протокол

Свободных от патогенов C57BL/6 мышей, беременных 14 дней, получали от Japan SLC, Inc. (Япония), НАСГ вызывали у самцов мышей однократной подкожной инъекцией 200 мкг стрептозотоцина (Sigma, США) после рождения и кормления с высоким содержанием жиров (CLEA Japan, Япония) ad libitum (без ограничений) после 4-недельного возраста (возраст 28 ± 2 дня). Мышей случайным образом разделяли на 4 группы каждая по 8 мышей в возрасте 5 недель (возраст 35 ± 2 дня) за день до начала лечения.

Группы

Группа 1 (носитель): восьми мышам с НАСГ перорально вводили носитель 0,5% метилцеллюлозы в объеме 5 мл/кг один раз в день в возрасте от 5 до 9 недель.

Группа 2 (20% гарцинол): восьми мышам с НАСГ перорально вводили носитель с добавкой 20 % гарцинола в дозе 10 мг/кг один раз в день в возрасте от 5 до 9 недель.

Группа 3 (95% куркуминоиды, которые представляют собой коммерчески доступный Curcumin C3 complex® от Sabinsa Corporation, США): восьми мышам с НАСГ перорально вводили носитель с добавлением комплекса куркумина C3 (Curcumin C3 complex) в дозе 50 мг/кг один раз в день в возрасте от 5 до 9 недель.

Группа 4 (20% гарцинол и Curcumin C3 complex®): восьми мышам с НАСГ перорально вводили носитель с добавкой 20% гарцинола в дозе 10 мг/кг и комплекса куркумина C3 в дозе 50 мг/кг один раз в день в возрасте от 6 до 9 недель.

В табл. 1 ниже представлена схема лечения.

Таблица 1. Схема лечения

Группа	№ Мыши	Мыши	Исследованное вещество	Доза (мг/кг)	Объем (мл/кг)	Схема	Умерщвление (нед)
1	8	STAM	Носитель	-	5	п/о (перорально), раз в сутки 5-9 недель	9
2	8	STAM	20% гарцинол	10	5	п/о, раз в сутки 5-9 недель	9
3	8	STAM	95% куркуминоиды	50	5	п/о, раз в сутки 5-9 недель	9
4	8	STAM	20% гарцинол 95% куркуминоиды	10 50	5	п/о, раз в сутки 6-9 недель	9

Всех животных гуманно умерщвляли в возрасте 9 недель и регистрировали массу органов, отдельно массу печени, соотношение массы печени к массе тела.

Сбор образцов

Для образцов плазмы кровь не натощак собирали в полипропиленовые пробирки с антикоагулянтом (новогепарин) и центрифугировали при $1000 \times g$ в течение 15 мин при $4^\circ C$. Супернатант собирали и хранили при минус $80^\circ C$. Для получения замороженных образцов печени левую медиальную долю и хвостатую долю быстро замораживали в жидком азоте и хранили при минус $80^\circ C$.

Для залитых в парафин блоков печени левую боковую долю отбирали и разрезали на 6 частей. Две части левой боковой доли фиксировали в растворе Буэна и затем заливали парафином.

Для получения образцов кДНК, другие 2 части левой боковой доли быстро замораживали в жидком азоте и хранили при минус $80^\circ C$ до использования. Суммарную РНК экстрагировали из образцов печени с помощью RNeasy (Takara Bio, Япония) в соответствии с инструкциями производителя. Один мкг РНК подвергали обратной транскрипции с использованием реакционной смеси, содержащей 4,4 мМ $MgCl_2$ (F. Hoffmann-La Roche, Швейцария), 40 ед. ингибитора РНКазы (Toyobo, Япония), 0,5 мМ dNTP (дезоксирибонуклеозидтрифосфат, Promega, США), 6,28 мкМ случайного гексамера (Promega), 5-кратный буфер для первой цепи (Promega), 10 мМ дитиотреитола (Invitrogen, США) и 200 ед. MMLV-RT (обратная тран-

скриптаза вируса мышинного лейкоза Молони, Invitrogen) в конечном объеме 20 мкл. Реакцию проводили в течение 1 ч при 37°C, затем 5 мин при 99°C.

Измерение биохимии цельной крови и плазмы

Уровень глюкозы в крови не натощак измеряли в цельной крови с помощью глюкометра Stat Strip (NIPRO CORPORATION, Япония). Для измерения биохимических показателей плазмы кровь не натощак собирали в полипропиленовые пробирки с антикоагулянтом (Novo-Heparin, Mochida Pharmaceutical Co. Ltd., Япония) и центрифугировали при 1000×g в течение 15 мин при 4°C. Супернатант собирали и хранили при минус 80°C до использования. Уровень АЛТ в плазме и общий холестерин измеряли с помощью FUJI DRI-CHEM 7000 (Fujifilm, Япония). Оценку уровня адипонектина осуществляли согласно руководству пользователя от R&D Systems.

Измерение биохимии печени

Измерение содержания триглицеридов в печени

Экстракты общих липидов печени получали методом Фолча (Folch J. et al., J. Biol. Chem. 1957; 226: 497). Образцы печени гомогенизировали в хлороформ-метаноле (2:1, об./об.) и инкубировали в течение ночи при комнатной температуре. После промывания смесью хлороформ-метанол-вода (8:4:3, об./об./об.) экстракты выпаривали досуха и растворяли в изопропанол-этанол. Содержание триглицеридов в печени измеряли с помощью Е-анализа на триглицериды (Triglyceride E-test) (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Япония).

Измерение содержания гидроксипролина в печени

Для количественного определения содержания гидроксипролина в печени замороженные образцы печени обрабатывали методом щелочно-кислотного гидролиза следующим образом. Образцы печени обезжиривали с помощью 100% ацетона, высушивали на воздухе, растворяли в 2Н NaOH при 65°C и автоклавировали при 121°C в течение 20 мин. Лизированные образцы (400 мкл) гидролизуют кислотой с применением 400 мкл 6Н HCl при 121°C в течение 20 мин и нейтрализовали с помощью 400 мкл 4Н NaOH, содержащего 10 мг/мл активированного угля. К образцам добавляли буфер АС (2,2 М уксусной кислоты/0,48 М лимонной кислоты, 400 мкл) с последующим центрифугированием для сбора супернатанта. Стандартную кривую гидроксипролина строили с серийными разведениями транс-4-гидрокси-L-пролина (Sigma-Aldrich), начиная с 16 мкг/мл. Готовые образцы и стандарты (каждый по 400 мкл) смешивали с 400 мкл раствора хлорамина Т (Wako Pure Chemical Industries) и инкубировали в течение 25 мин при комнатной температуре.

Затем образцы смешивали с раствором Эрлиха (400 мкл) и нагревали при 65°C в течение 20 мин до проявления цвета. После этого образцы охлаждали на льду и центрифугировали для удаления осадков, измеряли оптическую плотность каждого супернатанта при 560 нм. Концентрации гидроксипролина рассчитывали по стандартной кривой гидроксипролина. Концентрации белков в образцах печени определяли с помощью набора для анализа белка с использованием бицинхониновой кислоты (BCA) (Thermo Fisher Scientific, США) и применяли для нормализации рассчитанных значений гидроксипролина. Уровни гидроксипролина печени выражали в мкг на мг белка.

Уровни TNF- α оценивали с помощью ELISA (метод твердофазного иммуноферментного анализа) цитокинов, как описано производителем (системы R&D).

Антиоксиданты глутатион, глутатионпероксидазу и перекисное окисление липидов оценивали с использованием стандартных процедур, как описано в

Ellman, GL 1959, 'Tissue sulfhydryl groups', Archives Biochemistry Biophysics, vol. 82, pp. 70-77.

Paglia, DE & Valentine, WN 1967, 'Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase', Journal of Laboratory and Clinical Medicine, vol. 70, pp. 158-169.

Buege, JA & Aust, SD 1978, 'Microsomal lipid peroxidation', Methods Enzymol, vol. 52, pp. 302-310.

Гистологические анализы

Для окрашивания HE (окрашивание гематоксилином и эозином) срезы вырезали из парафиновых блоков ткани печени, предварительно фиксированных в растворе Буэна, и окрашивали раствором гематоксилина Лилли-Майера (Muto Pure Chemicals Co., Ltd., Япония) и эозина (Wako Pure Chemical Industries). Оценку активности НАЖБП (NAS) рассчитывали в соответствии с критериями Клейнера (Kleiner DE. et al., Hepatology, 2005; 41:1313).

С целью визуализации осаждения коллагена, фиксированные в растворе Буэна срезы печени окрашивали с применением раствора пикросириуса красного (Waldeck, Германия). С целью количественного анализа области фиброза, изображения в светлом поле срезов, окрашенных сириусом красным, регистрировали вокруг центральной вены с помощью цифровой камеры (DFC295, Leica, Германия) при 200-кратном увеличении, и измеряли положительные области в 5 полях/срезах с применением программного обеспечения ImageJ (Национальный институт здравоохранения, США) SR_SLMN039-1704-08/16.

Статистические тесты

Статистический анализ выполняли с использованием теста множественного сравнения Бонферрони на GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc., США). Значения P меньше 0,05 считали статистически значимыми. Тренд или тенденцию предполагали, когда односторонний t-тест давал значения P меньше 0,1.

Результаты выражали как среднее \pm СО (стандартное отклонение).

Результаты

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) характеризуется стеатозом печени в отсутствие в анамнезе значительного употребления алкоголя или других известных заболеваний печени. Неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) представляет собой прогрессирующую форму НАЖБП. Комитет патологии Клинических исследований НАСГ разработал и утвердил систему оценки гистологических признаков, которая охватывает весь спектр поражений НАЖБП, и предложил оценку активности НАЖБП для использования в клинических испытаниях. Оценка НАЖБП получают на основе гистологических срезов, окрашенных гематоксилином и эозином (фиг. 1). Лечение с помощью гарцинола + куркуминоиды показало значительное уменьшение жировой болезни печени с более низкой оценкой НАЖБП (фиг. 2). Кроме того, лечение с помощью гарцинола + куркумин также показало значительное снижение стеатоза (фиг. 3) и гепатоцитарного баллонирования (фиг. 4).

Результаты показали, что лечение смесью 20% гарцинола и 95% куркуминоидов показало значительное снижение оценки активности НАЖБП по сравнению с необработанным контролем и индивидуальными 20% гарцинолом и 20% куркуминоидами, что указывает на синергетическое уменьшение проявлений жировой болезни печени и обеспечение синергизма между комбинацией, содержащей 20% гарцинол и куркуминоиды, которые при индивидуальном введении показали более низкую оценку НАЖБП по сравнению с необработанным контролем, но более высокую, чем указанная комбинация. При стеатозе гепатоцитарное баллонирование является признаком клеточного повреждения и характеризуется увеличением размеров, вздутием гепатоцитов. Что касается лечения НАСГ, то лечение смесью 20% гарцинола и куркуминоидов показало значительное синергетическое снижение стеатоза и гепатоцитарного баллонирования.

Фиброз печени зависит от дисбаланса между скоростью образования и отложения коллагена, который связан со многими метаболическими и биохимическими нарушениями. Фиброз печени представляет собой реактивное, доброкачественное или патологическое состояние образования избыточной волокнистой соединительной ткани, которое является репаративной активностью для защиты целостности печени во время патологических состояний. Их уровень в тканях печени определяет скорость и прогрессирование фиброгенеза печени. Его активность при неинвазивном обнаружении фиброза служит биомаркером хронических заболеваний печени с тяжелым фиброзом. Область фиброза измеряли с помощью морфометрического количественного определения окрашивания сириусом красным срезов печени. Было обнаружено, что 20% гарцинол и 95% куркуминоиды синергетически уменьшали область фиброза, указывая на меньшее отложение коллагена (фиг. 5).

Гидроксипролин является основным компонентом фибриллярного коллагена, составляющим примерно 14% от общего содержания аминокислот. Развитие фиброза в основном зависит от включения гидроксипролина в проколлаген. Кроме того, гидроксипролин представляет собой единственную уникальную аминокислоту, которая ограничивает синтез фибрилл коллагена в соединительных тканях. Во время деградации коллагена содержание высвобожденного гидроксипролина в печени, моче и сыворотке коррелирует с фиброзом и может использоваться в качестве диагностического маркера для оценки фиброза (Need AG. Bone resorption markers in vitamin D insufficiency; Clin Chim Acta. 2006; 368: 48-52.). Лечение с помощью композиции на основе гарцинола и куркуминоидов синергетически снижало уровни гидроксипролина (фиг. 6), тем самым уменьшая отложение коллагена, как показано на фиг. 7, при окрашивании пикросириусом красным. Никаких изменений массы тела и массы печени (табл. 2) не наблюдалось во всех группах лечения по сравнению с контролем.

Таблица 2. Масса тела и печени

Параметр	Носитель	Гарцинол	Куркуминоиды	Гарцинол и Куркуминоиды
Масса тела (г)	20,2 \pm 1,3	20,3 \pm 1,5	20,9 \pm 1,7	20,0 \pm 2,8
Масса печени (мг)	1480 \pm 140	1467 \pm 120	1584 \pm 117	1415 \pm 183
Соотношение массы печени к массе тела (%)	7,4 \pm 0,7	7,3 \pm 0,8	7,6 \pm 0,9	7,1 \pm 0,4

Что касается биохимических параметров, то не наблюдалось изменений в уровнях глюкозы плазмы, общего холестерина и триглицеридов (табл. 3) в группах лечения по сравнению с контролем. Однако уровни АЛТ в плазме, которые были повышены из-за НАЖБП, были значительно снижены композицией, содержащей гарцинол и куркуминоиды (табл. 3), что указывает на гепатопротекторный эффект композиции.

Таблица 3. Биохимические параметры сыворотки

Параметр	Носитель	Гарцинол	Куркуминоиды	Гарцинол и Куркуминоиды
Глюкоза цельной крови (мг/дл)	533 ± 75	564 ± 51	560 ± 43	605 ± 73
АЛТ в плазме (Ед/л)	51 ± 12	56 ± 12	56 ± 16	47 ± 14
Общий холестерин плазмы (мг/дл)	152 ± 25	151 ± 18	162 ± 32	172 ± 50
Триглицериды печени (мг/г печени)	57,5 ± 28,9	71,8 ± 33,3	93,0 ± 27,3	76,9 ± 29,8

Адипонектин контролирует метаболизм как глюкозы, так и липидов, уменьшая глюконеогенез и увеличивая гликолиз и окисление жирных кислот. Уровни адипонектина были значительно снижены в мышечной модели НАЖБП. Композиция, содержащая гарцинол и куркуминоиды, эффективно увеличивает уровни адипонектина (фиг. 8), обеспечивая гепатопротекцию.

Уровни воспалительного маркера в плазме, TNF- α , были повышены при НАЖБП. Куркуминоиды и композиция гарцинол + куркуминоиды значительно снижает уровень TNF- α (фиг. 9). Композиция также повышает уровни антиоксидантов глутатиона (фиг. 10) и глутатионпероксидазы (фиг. 11) и значительно уменьшает перекисное окисление липидов (фиг. 12), что указывает на ее роль в качестве антиоксидантного и противовоспалительного агента.

Пример 2. Исследования экспрессии генов

Оценивали экспрессию воспалительных маркеров TNF- α , NF κ B, TGF- β и MCP-1.

β -Актин

F-GAAGTCCCTCACCTCCCAA

R-GGCATGGACGCGACCA

NF κ B

F-GAAATTCCTGATCCAGACAAAAAC

R-ATCACTTCAATGGCCTCTGTGTAG

TNF- α

F-CTCCAGGCGGTGCSTATGT

R-GAAGAGCGTGGTGGCCC

MCP-1

F-GCATCCACGTGTGGCTCA-

R--CTCCAGCCTACTCATGGGATCA

TGF- β

F--TTGCCCTCTACAACCAACACAA

R--GGCTTGCACCCACGTAGTA

Коллаген 1

F--TTCCCTGGACCTAAGGGTACT

R--TTGAGCTCCAGCTTCGCC

Экспрессия воспалительных маркеров, главным образом TNF- α , NF κ B и MCP1 (фиг. 13), снижена в печени животных, получавших композицию по изобретению. 95% куркуминоиды вместе с 20% гарцинолом показали более сильное ингибирование TNF- α , NF κ B и MCP1. Экспрессия TGF- β и коллагена 1, которые являются ключевыми маркерами фиброза, также была значительно снижена композицией (фиг. 14).

В целом, композиция, содержащая 95% куркуминоиды и 20% гарцинол, действует синергетически, обеспечивая значительное уменьшение НАЖБП, значительное снижение гидроксипролина в печени, значительное уменьшение стеатоза, снижение тенденции к фиброзу и НАСГ, уменьшение гепатоцитарного баллонирования, уменьшение патологического отложения коллагена в печени, таким образом, обеспечивая защиту печени.

Настоящее изобретение раскрывает синергетические эффекты композиции, содержащей куркуминоиды и гарцинол, для защиты печени. Для специалиста в данной области очевидно, что вышеупомянутая композиция смешана или составлена с другими ингредиентами, известными как защищающие пе-

чень, или признанными таковыми.

Другие модификации и вариации изобретения будут очевидны для специалистов в данной области техники из предшествующего раскрытия и принципов изобретения. Таким образом, хотя в данном документе конкретно описаны только некоторые варианты осуществления изобретения, будет очевидно, что в них могут быть внесены многочисленные модификации, не выходящие за пределы сущности и объема изобретения. Объем изобретения должен интерпретироваться только в сочетании с прилагаемой формулой изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ терапевтического лечения неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) и ассоциированных состояний у млекопитающих, включающий этапы введения эффективных количеств композиции, содержащей 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол, млекопитающим, нуждающимся в таком лечении, чтобы вызвать уменьшение симптомов НАЖБП и ассоциированных состояний.

2. Способ терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний по п.1, где ассоциированные с НАЖБП состояния включают неалкогольную жировую дистрофию (НАФЛ), неалкогольный стеатогепатит (НАСГ), фиброз и цирроз.

3. Способ по п.2, где симптомы НАФЛ включают аномальное накопление жира в гепатоцитах.

4. Способ по п.2, где симптомы НАСГ включают воспалительную инфильтрацию и гепатоцеллюлярное баллонирование.

5. Способ по п.2, где симптомы фиброза включают повышенные уровни гидроксипролина и патологическое отложение коллагена в печени.

6. Способ терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний по п.1, где симптомы НАЖБП и ассоциированных состояний включают повышенную экспрессию воспалительных маркеров, повышенные уровни ферментов печени, повышенное перекисное окисление липидов, пониженные уровни антиоксидантов, повышенную экспрессию коллагена и пониженные уровни адипонектина.

7. Способ по п.6, где воспалительные маркеры выбраны из группы, включающей TNF- α , NF κ B, TGF- β и MCP-1.

8. Способ по п.6, где фермент печени предпочтительно представляет собой аланинаминотрансферазу (АЛТ).

9. Способ по п.6, где антиоксиданты выбраны из группы, включающей глутатион и глутатионпероксидазу.

10. Способ по п.1, где 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно.

11. Способ по п.1, где 95 мас.% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина.

12. Способ по п.1, где млекопитающее представляет собой человека.

13. Способ по п.1, где композиция составлена с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами и адьювантами и вводится перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных продуктов, леденцов или съедобных продуктов.

14. Способ по п.1, где композиция может быть составлена или смешана с другими компонентами, известными как защищающие печень или признанными таковыми.

15. Композиция, содержащая 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол, для терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний и симптомов у млекопитающих.

16. Композиция по п.15, где ассоциированные с НАЖБП состояния включают НАФЛ, НАСГ, фиброз и цирроз.

17. Композиция по п.15, где симптомы НАФЛ включают аномальное накопление жира в гепатоцитах.

18. Композиция по п.15, где симптомы НАСГ включают воспалительную инфильтрацию и гепатоцеллюлярное баллонирование.

19. Композиция по п.15, где симптомы фиброза включают повышенные уровни гидроксипролина и патологическое отложение коллагена в печени.

20. Композиция для терапевтического лечения НАЖБП и ассоциированных состояний и симптомов по п.15, где симптомы НАЖБП и ассоциированных состояний включают повышенную экспрессию воспалительных маркеров, повышенные уровни ферментов печени, повышенное перекисное окисление липидов, пониженные уровни антиоксидантов, повышенную экспрессию коллагена и пониженные уровни адипонектина.

21. Композиция по п.20, где воспалительные маркеры выбраны из группы, включающей TNF- α , NF κ B, TGF- β и MCP-1.

22. Композиция по п.20, где фермент печени предпочтительно представляет собой АЛТ.

23. Композиция по п.20, где антиоксиданты выбраны из группы, включающей глутатион и глутатионпероксидазу.

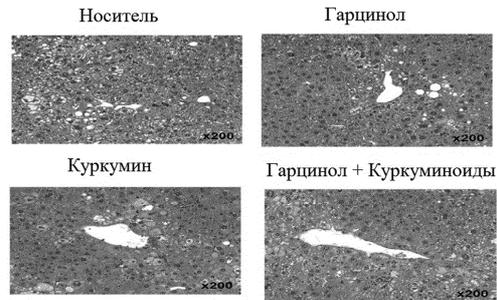
24. Композиция по п.15, где 95 мас.% куркуминоиды и 20 мас.% гарцинол в композиции вводят в концентрациях примерно 10-50 мг/кг массы тела и 1-10 мг/кг массы тела соответственно.

25. Композиция по п.15, где 95 мас.% куркуминоиды присутствуют в пропорции примерно 75-81% куркумина, 15-19% деметоксикуркумина и 2,2-6,5% бисдеметоксикуркумина.

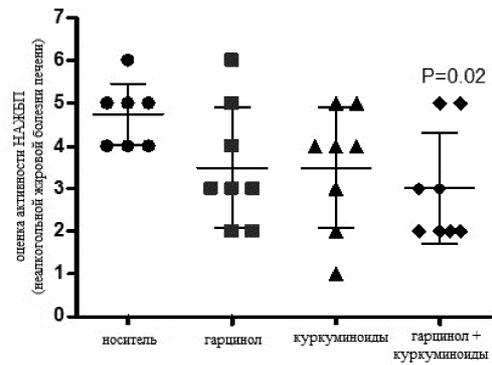
26. Композиция по п.15, где млекопитающее представляет собой человека.

27. Композиция по п.15, которая составлена с фармацевтически/нутрицевтически приемлемыми эксципиентами и адьювантами и вводится перорально в форме таблеток, капсул, сиропов, жевательных конфет, порошков, суспензий, эмульсий, жевательных продуктов, леденцов или съедобных продуктов.

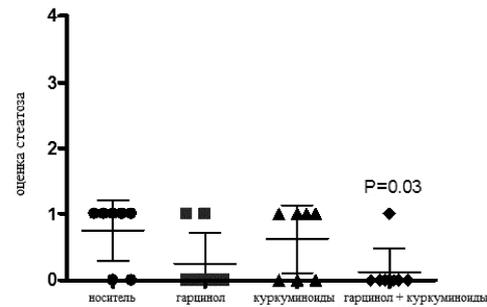
28. Композиция по п.15, которая может быть составлена или смешана с другими компонентами, известными как защищающие печень или признанными таковыми.



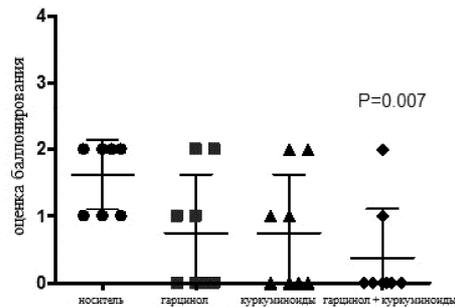
Фиг. 1



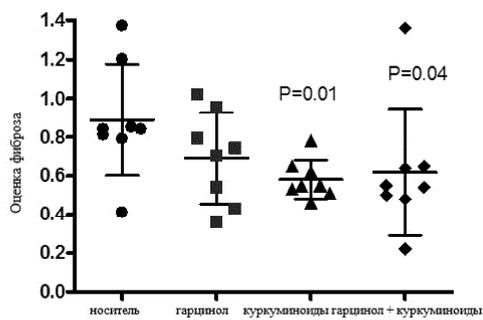
Фиг. 2



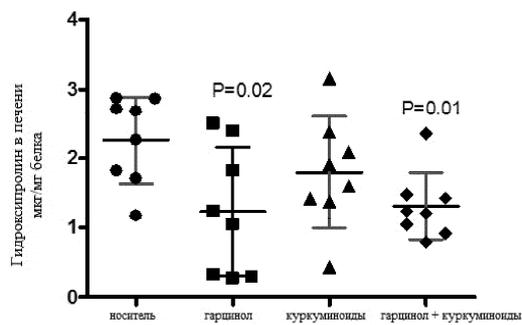
Фиг. 3



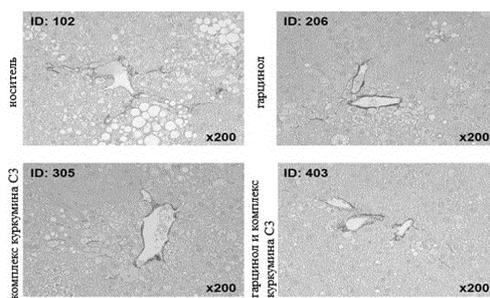
Фиг. 4



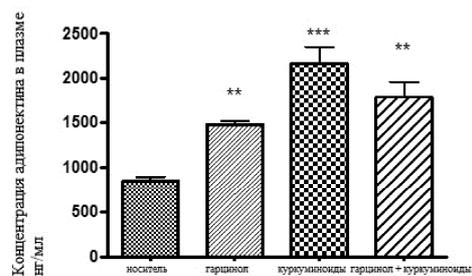
Фиг. 5



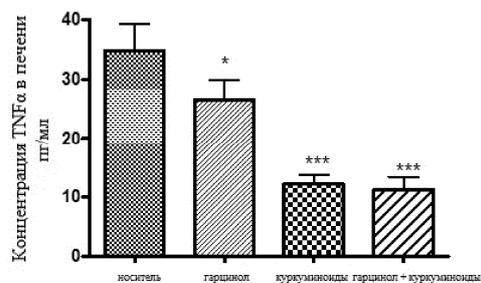
Фиг. 6



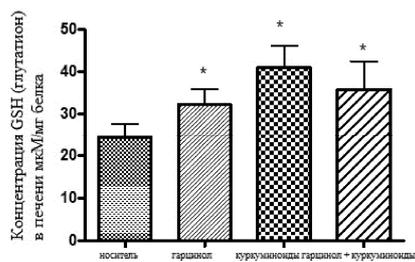
Фиг. 7



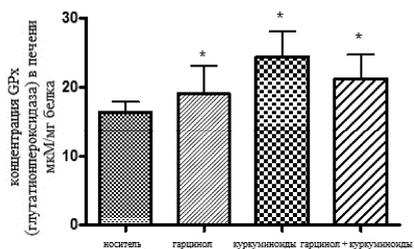
Фиг. 8



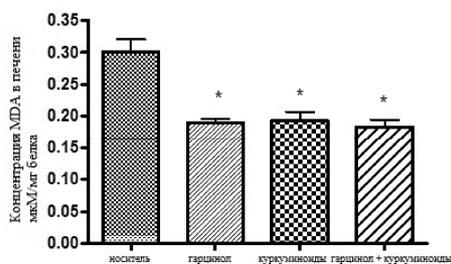
Фиг. 9



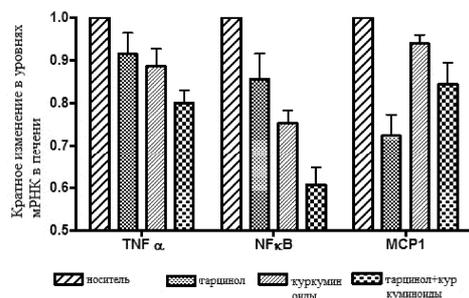
Фиг. 10



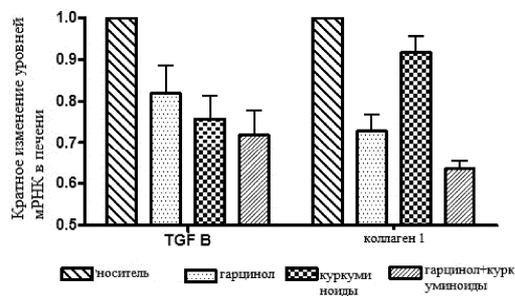
Фиг. 11



Фиг. 12



Фиг. 13



Фиг. 14