

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **045587**

(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.12.08

(21) Номер заявки
202392031

(22) Дата подачи заявки
2019.10.03

(51) Int. Cl. **A61K 36/48** (2006.01)
A61P 25/16 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

(54) ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ РАСТЕНИЯ ALHAGI PSEUDALHAGI

(43) **2023.09.15**

(62) **202290542; 2019.10.03**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**МУСАХАНОВА ОЙГУЛЬ
МИРЗАЮСУФОВНА (RU)**

(72) Изобретатель:
**Азимова Шахноз Садыковна,
Файзиева Умида Саноатовна,
Юлдашев Акрам Юлдашевич,
Терентьева Екатерина Олеговна,
Сасмаков Собирджан Анарматович,
Хамидова Умида Бахриддин кизи (UZ)**

(74) Представитель:
Шерстин А.Ю. (RU)

(56) FR-A1-2949060
CN-A-104623109

MARASHDAH M.S. et al. Pharmacological activity of ethanolic extract of Alhagi maurorum roots. Arabian Journal of Chemistry, 2010, 3(1), pp. 39-42, doi:10.1016/j.arabjc.2009.12.007

AHMAD Nabeela et al. Traditional uses and pharmacological properties of Alhagi maurorum: A review. Asian Pac J Trop Dis, 2015, 5(11), pp. 856-861, doi: 10.1016/S2222-1808(15)60945-8

(57) Изобретение относится к фармацевтической и медицинской промышленности и используется в медицине, в частности относится к применению биологически активного экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi* по новому назначению. Технический результат настоящего изобретения заключается в использовании экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, обладающего активностью по предотвращению развития деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (развития болезни Паркинсона) (расширение арсенала средств). Предложено применение экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, включающего полимерные проантоцианиды в количестве примерно 16,03 мас.%, изопреноиды в количестве примерно 36,71 мас.%, флавоноиды в количестве примерно 8,0 мас.%, углеводы - остальное, для предотвращения развития деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга у человека или животных.

B1

045587

045587

B1

Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к фармацевтической и медицинской промышленности и используется в медицине, в частности относится к применению биологически активного экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, сем. Fabaceae или бобовые (Leguminosae) по новому назначению: для предотвращения деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (болезнь Паркинсона). Иными словами в настоящем изобретении предложен новый способ предотвращения деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (болезнь Паркинсона).

В настоящем изобретении описана фармацевтическая композиция, содержащая вышеуказанный экстракт, и ее применение в качестве нейропротекторных свойств.

Композиция согласно настоящему изобретению вводится в форме водного раствора перорально или в форме таблеток, содержащих в виде активной субстанции сухой экстракт. Количество экстракта в фармацевтической композиции, согласно изобретению, может зависеть от состояния, веса и возраста больного.

Сведения о предшествующем уровне техники

Из уровня техники известны патент № 2949060 Республика Франция и патент № 2402345 Российской Федерации на изобретение, выбранные в качестве ближайшего аналога настоящего изобретения. В патентах по ближайшему аналогу раскрыты биологически активный экстракт из растения *Alhagi pseudalhagi*, сем. Fabaceae или бобовые (Leguminosae), фармацевтическая и косметическая композиции на его основе, а также способы снижения содержания общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови и органах животных, снижения уровня продуктов перекисного окисления липидов, улучшения антиоксидантных свойств, процессов микроциркуляции, энергоснабжения и, как следствие, процессов метаболизма в органах и тканях, улучшения состояния кожных покровов и увеличения синтеза коллагена, а также способ стимулирования ранозаживления и способ снижения воспаления кожных покровов.

В результате проведенных опытов и испытаний авторами настоящего изобретения были выявлены новые, неизвестные ранее полезные свойства вышеуказанного экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*.

Сущность изобретения

Технический результат настоящего изобретения заключается в использовании экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, а также создании фармацевтической композиции из вышеуказанного экстракта, обладающего активностью по предотвращению деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (развития болезни Паркинсона) (расширение арсенала средств).

Для достижения вышеуказанного технического результата предложено применение экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, а также предложена фармацевтическая композиция, обладающая активностью по предотвращению деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (развития болезни Паркинсона).

Также для достижения вышеуказанного технического результата предложено применение экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, включающего примерно 16,03 мас.% полимерных проантоцианидов, примерно 36,71 мас.% изопреноидов, примерно 8,0 мас.% флавоноидов, углеводы - остальное, для предотвращения деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (развития болезни Паркинсона).

Перечень фигур, чертежей и иных материалов

На фиг. 1 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза сетчатки и сосудистой оболочки у интактных животных. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Зоны, подвергающиеся деструкции, обведены черной линией.

На фиг. 2 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза сетчатки и сосудистой оболочки при экспериментальной глаукоме. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Измененные зоны обведены черной линией.

На фиг. 3 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза сетчатки и сосудистой оболочки при введении экстракта с 1-го дня эксперимента. Измененные зоны обведены черной линией.

На фиг. 4 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза сетчатки и сосудистой оболочки при введении экстракта с 60-го дня эксперимента. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Измененные зоны обведены черной линией.

На фиг. 5 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза нервных волокон зрительного нерва у интактных животных. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия.

На фиг. 6 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза нервных волокон зрительного нерва при экспериментальной глаукоме. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия.

На фиг. 7 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза нервных волокон зрительного нерва при введении экстракта с 1-го дня эксперимента. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия.

На фиг. 8 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза

черной субстанции мозга интактных животных с многочисленными микрососудами (МС) и мелкими нейронами (МН). Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия.

На фиг. 9 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза черной субстанции мозга при экспериментальной глаукоме с многочисленными мелкими и средними нейронами, опустошёнными сосудами (ОС) и бесклеточными зонами (БЗ). Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Зоны, подвергающиеся деструкции, обведены черной линией.

На фиг. 10 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза черной субстанции мозга после введения экстракта с 1-го дня эксперимента. Показаны крупные нейроны с гиперхромной цитоплазмой и ветвление капилляров с расширенными просветами и средними нейронами. Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Зоны, подвергающиеся изменению, обведены черной линией.

На фиг. 11 представлен микроскопический снимок при 40-кратном увеличении полутонкого среза черной субстанции мозга после введения экстракта с 60-го дня эксперимента. Показаны расширенный просвет капилляра (ПК) с "сочным" эндотелием (ЭН), количество средних нейронов (СН) превышает нейроны крупного размера (КН). Окраска 1% раствором четырёх-окси осмия. Зоны, подвергающиеся изменению, обведены черной линией.

На фиг. 12 представлены показания внутриглазного давления в динамике ($M \pm m$, $n=6$).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения

Биологически активный экстракт из растения *Alhagi pseudalhagi* изначально обладает гиполипидемическим, антиоксидантным, антигипоксическим действием, способствующим увеличению содержания АТФ, гликогена и окислительно-восстановительного потенциала клетки и, таким образом, улучшающим метаболические процессы в органах и тканях, таких как миокард, кожа, мышечная ткань, а также ранозаживляющим, противовоспалительным, гидратирующим, стимулирующим синтез коллагена и улучшающим состояние кожных покровов свойствами.

Способ получения вещества заключается в экстракции измельченного целого растения, включая надземную часть и корни, различными растворителями, применяемыми в химико-фармацевтической промышленности, включающими воду, спирты (этанол, метанол, *n*-бутанол, изопропанол, глицерин, пропиленгликоль, бутиленгликоль) и их водные растворы, ацетон, этилацетат, и очистке путем последовательного фильтрования через ультрамембраны.

Таким образом, экстракт растения *Alhagi pseudalhagi* представляет собой комплекс биологически активных веществ, обладающих широким спектром терапевтического и косметологического действия, что позволяет применять экстракт и продукты на его основе для:

снижения содержания общего холестерина и триглицеридов в сыворотке крови и органах животных;

снижения уровня продуктов перекисного окисления липидов;

улучшения процессов микроциркуляции, энергоснабжения и, как следствие, процессов метаболизма в органах и тканях;

улучшения гидратации и увеличения синтеза коллагена;

заживления ран и купирования воспалительных явлений на коже.

Возможно использование как цельного, так и частей растения, но предпочтительно использование для получения целевого продукта всех частей растения.

При использовании водных растворов спиртов или ацетона предлагается интервал концентрации воды от 0 до 50 об. %.

При экстракции смесью вода-метанол или этанол преимущественно использовали смесь, состоящую из 50-90 об. % спирта и 50-10 об. % воды. Предпочитали смесь, состоящую из 50 об. % этанола или метанола и 50 об. % воды.

При экстракции смесью вода-глицерин или пропиленгликоль или бутиленгликоль преимущественно использовали смесь, состоящую из 40-60 об. % глицерина или пропиленгликоля или бутиленгликоля и 60-40 об. % воды. Предпочитали смесь, состоящую из 50 об. % глицерина или пропиленгликоля или бутиленгликоля и 50 об. % воды.

При экстракции этилацетатом предпочтение отдавалось экстракции чистым растворителем.

Получаемый экстракт проанализирован с применением классических аналитических методов, а именно:

специфических химических реакций;

высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ);

тонкослойной хроматографией.

Согласно полученным результатам в экстракте содержатся следующие соединения: полимерные проантоцианиды (примерно 16,03 мас. %), изопреноиды (примерно 36,71 мас. %), флавоноиды (примерно 8,0 мас. %), углеводы и остальное (примерно 39,26 мас. %).

Экстракт, согласно настоящему изобретению, вводится в организм человека или животного в терапевтически-активной дозе, которая зависит от состояния пациента, его возраста и веса. Предпочтительно водный раствор экстракта вводится перорально или в виде инъекций подкожно, внутримышечно или

внутривенно, или в виде таблеток, содержащих в виде активной субстанции сухой экстракт.

В настоящее время авторами настоящего изобретения было выявлено новое, неизвестное ранее полезное свойство вышеуказанного экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*: применение экстракта для предотвращения деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга (развития болезни Паркинсона), и к фармацевтической композиции на его основе.

Применение экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi* по новому назначению и исследование его вновь выявленной биологической активности подтверждается следующими примерами, которые представлены для иллюстрации, но не для ограничения изобретения конкретными воплощениями.

Примеры

Пример 1. Антиглаукомное и нейропротекторное действие.

Антиглаукомную активность экстракта исследовали на модели адреналин-индуцируемой глаукомы у кроликов породы шиншилла с массой 2,5-3 кг. Глаукому воспроизводили внутримышечными инъекциями адреналина (по 0,1 мл 0,1% раствора через день). Адреналин вводили в течение 3 месяцев. Экстракт вводили внутрь в виде 3,5% водного раствора в количестве 1 мл с первого дня вызывания патологии, а также с 60-го дня эксперимента, то есть после сформированной глаукомы.

По окончании эксперимента животных декапитировали под легким эфирным наркозом, извлекали чёрную субстанцию головного мозга, а также глазные яблоки с глазным нервом. Биоматериал сразу же после иссечения фиксировали в 2,5% растворе глutarового альдегида на 0,1М фосфатном буфере pH 7,4 в течение 2-12 ч, промывали в фосфатном буфере, дофиксировали 1% раствором четырёх-окси осмия и после обезвоживания в спирте - ацетоне и заливали в смесь эпона и аралдита.

С полученных блоков на ультрамикротоме Ultracut фирмы Reichert Yong готовили полутонкие срезы (1 мкм). Полутонкие срезы окрашивали 1% раствором метиленового синего - фуксина. Ультратонкие срезы контрастировали растворами уранилацетата и цитрата свинца на микропроцессоре Ultrastainer LKB.

Как видно из фиг. 1, сосудистая оболочка сетчатки интактных животных содержит большое число сосудов различного калибра. На сосудистой пластинке располагается хориокапиллярная пластинка, за которой следует первый слой сетчатки слой пигментных эпителиальных клеток. Слой палочек и колбочек у кроликов довольно узкий, отдельные клетки вдаются в первый слой. Наружная пограничная мембрана прерывиста, формирует решетчатую перепонку, через которую проходят наружные части фоторецепторов. Наружный ядерный слой сетчатки хорошо развит и сформирован несколькими рядами довольно крупных ядер. Между наружным и внутренним ядерным слоем располагается плохо выраженный наружный сетчатый слой. Слой ганглиозных клеток содержит у кроликов довольно крупные ядра. Слой нервных волокон хорошо развит.

При экспериментальной глаукоме (фиг. 2) в сосудистой оболочке глаза отмечаются зоны отёка, полиморфизм сосудов. Большинство сосудов со спавшимися просветами. В слое пигментных клеток отмечается появление вакуолей, полиморфизм ядер и уменьшение их числа, полиморфизм распределения ядер. Слой ганглиозных клеток сливается с внутренним ядерным слоем. В слое пигментных эпителиальных клеток эти клетки принимают упорядоченное расположение. Они характеризуются отчётливыми границами крупными ядрами. Существенно утолщается слой палочек и колбочек.

При введении экстракта с 1 дня эксперимента (фиг. 3) пигментные эпителиальные клетки принимают упорядоченное расположение, характеризуются отчётливыми границами крупными ядрами. Существенно утолщается слой палочек и колбочек. В наружном и внутреннем ядерных слоях увеличено число ядер, при этом ядра тесно расположены. Утолщены наружный и внутренний сетчатые слои. Слой ганглиозных клеток трудно отличим от внутреннего ядерного слоя. В слое нервных волокон не определяются "бесструктурные" зоны, имеет место полное восстановление целостности.

Как видно из фиг. 4, при введении экстракта с 60-го дня эксперимента при общем сохранении целостности нервно-волоконного слоя и утолщении слоя палочек и колбочек в отдельных участках продолжает наблюдаться наличие бесструктурных участков.

Что касается зрительного нерва, то у интактных животных он состоит из немиелинизированных нервных волокон с небольшим числом капилляров и опорной глиальной ткани. Многочисленные ядра принадлежат, главным образом, клеткам, выполняющим опорную функцию. Между волокнами определяются бесструктурные пространства (фиг. 5).

Экспериментальная глаукома приводит к появлению в толще нервных волокон крупных вакуолей и уменьшению числа ядер. Имеет место запустевание кровеносных микрососудов (фиг. 6). Пространства между нервными немиелинизированными волокнами увеличиваются, что указывает на развитие отёка межволоконных пространств.

Введение экстракта приводит к нормализации структуры зрительного нерва. Межволоконные отёки редуцируются (фиг. 7). Отмечается кровенаполнение микрососудов, уменьшается объёмная доля "бесструктурных" зон.

Как видно из фиг. 8, у интактных кроликов нейроны чёрной субстанции представлены тремя видами: крупные, средние и мелкие. В средних и, особенно крупных нейронах, хорошо различимы аксоны. В мелких они не определяются. Здесь располагаются большое число микрососудов разного калибра. Про-

светы многих расширены и в них определяются многочисленные эритроциты. В некоторых микрососудах, особенно крупного калибра, эндотелиоциты имеют кубическую форму. Они располагаются на отчётливо контурируемом базальном слое.

Изучение морфологии "черной субстанции" при экспериментальной глаукоме показало уменьшение объема и удельной плотности расположения нейронов (фиг. 9). Наряду с зонами, лишённых этих клеток, встречаются локальные их скопления. При этом доминируют мелкие клетки. В отдельных участках появляются обширные бесструктурные зоны, представляющие собой скопления трансудата. Определяются и микрососуды со спавшимися просветами, и располагающиеся вокруг них гомогенно окрашенные сморщенные нейроны.

В срезах мозга животных, которым вводили экстракт с 1-го дня эксперимента, отмечается преобладание нейронов крупного размера (фиг. 10). Значительно увеличивается сеть микрососудов, отмечается укрупнение нейронов, значительно увеличена интенсивность тинкториальных свойств, возрастает их относительная объемная доля Их просветы довольно широкие. В просвете сосудов более крупного калибра определяются эритроциты.

В срезах мозга животных, которым вводили экстракт с 60-го дня эксперимента, также, хотя и в меньшей степени, отмечается укрупнение нейронов, увеличение интенсивности тинкториальных свойств, относительная объемная доля нейронов возросла (фиг. 11). Не встречаются так называемые "бесструктурные зоны" - эти зоны заполнены нейронами среднего калибра.

Пример 2. Снижение внутриглазного давления (ВГД).

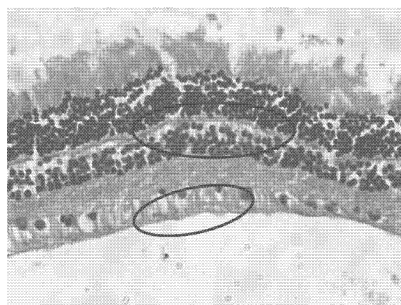
В ходе эксперимента с экспериментальной глаукомой всем животным измеряли внутриглазное давление (ВГД) с помощью манометра Маклакова с грузиком массой 10 г. Кролика фиксировали, голову удерживали в горизонтальном положении и проводили местную анестезию 2% водным раствором лидокаина. Для анестезии проводилось однократное инстиллирование анестетика по 2 капли в глаз. Измерения ВГД проводили в 1-й, 50-й, 75-й и 100-й дни эксперимента на обоих глазах животного. Расчет ВГД проводили при помощи линейки Полякова. Результаты измерения приведены на фигуре 12 и выражены в мм рт.ст.

В целом положительной реакцией на лечение служил критерий, при котором снижение внутриглазного давления оказывалось на 30% или более по сравнению с экспериментальной глаукомой. Как видно из фиг. 1, на 100-й день эксперимента экстракт снижал ВГД в среднем на 31,8-38% по сравнению с экспериментальной глаукомой, что оказалось сравнимым с данными интактных животных. В группе, где экстракт вводили с 60-го дня эксперимента, снижение ВГД составило 14-17,2% по сравнению с патологией.

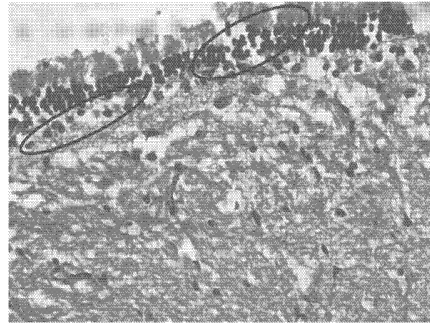
Таким образом, экстракт, полученный из растения *Alhagi pseudalhagi* способен предотвращать развитие глаукомы и патоморфологические изменения "черной субстанции" головного мозга (болезнь Паркинсона), нормализуя гидродинамические и метаболические процессы и способствуя сохранению сети микрососудов и количества нейронов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

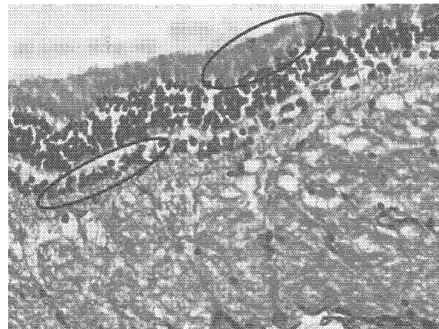
Применение экстракта из растения *Alhagi pseudalhagi*, включающего примерно 16,03 мас.% полимерных проантоцианидов, примерно 36,71 мас.% изопреноидов, примерно 8,0 мас.% флавоноидов, углеводы - остальное, для предотвращения деструктивных изменений "черной субстанции" головного мозга.



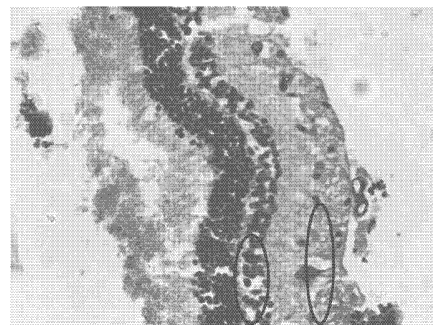
Фиг. 1



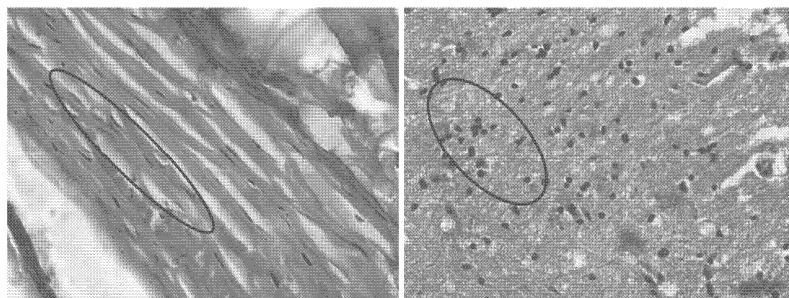
Фиг. 2



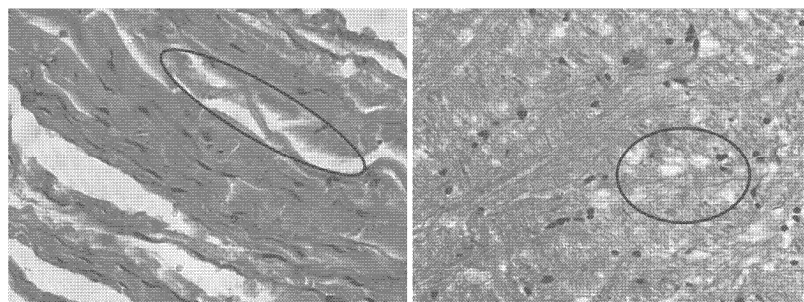
Фиг. 3



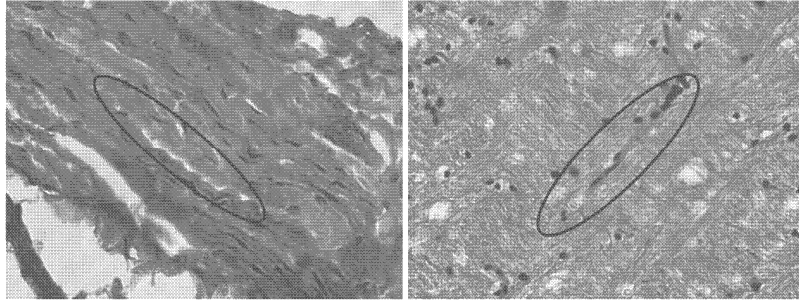
Фиг. 4



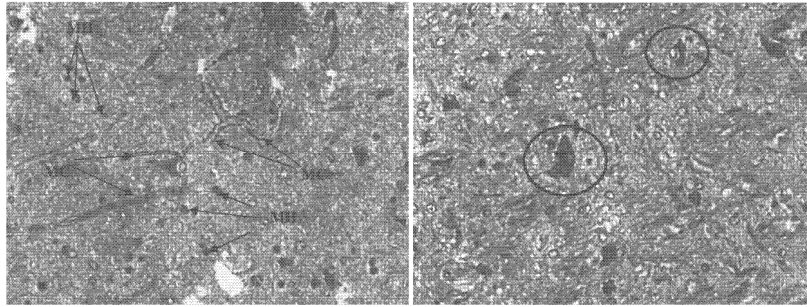
Фиг. 5



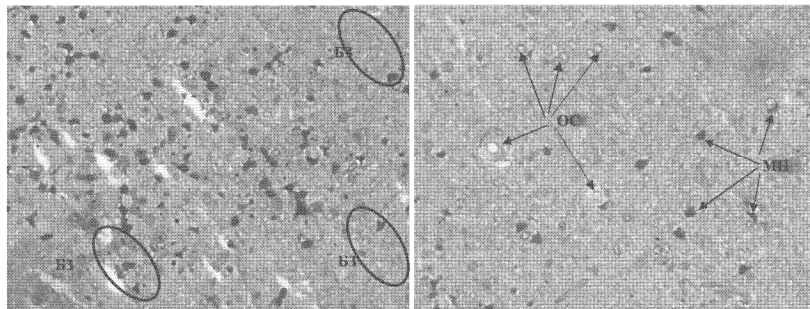
Фиг. 6



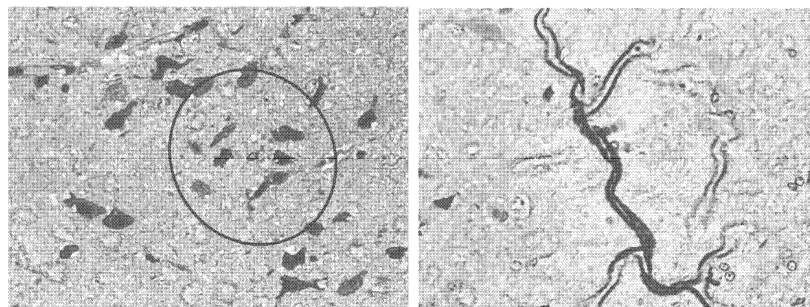
Фиг. 7



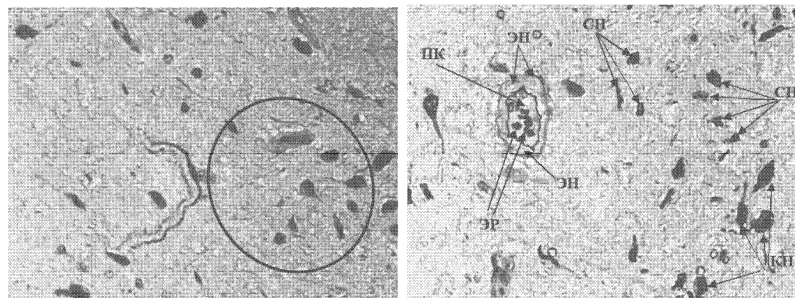
Фиг. 8



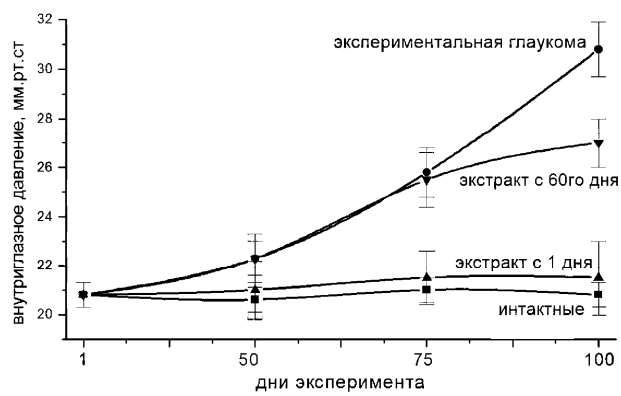
Фиг. 9



Фиг. 10



Фиг. 11



Фиг. 12

