

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202391991** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2023.09.20

(51) Int. Cl. *A61K 31/4709* (2006.01)
A61K 31/045 (2006.01)
A61P 9/10 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.01.12

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИЛОСТАЗОЛ, ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

(31) **202110039436.1**

(72) Изобретатель:

(32) **2021.01.13**

**Хуа Яо, Ван Лэй, Чжан Чжэнпин,
Чэнь Жун, Ян Шибao (CN)**

(33) **CN**

(86) **PCT/CN2022/071541**

(74) Представитель:

(87) **WO 2022/152150 2022.07.21**

Медведев В.Н. (RU)

(71) Заявитель:

**НЬЮРОДОН ФАРМАСЬЮТИКАЛ
КО., ЛТД. (CN)**

(57) Настоящее изобретение относится к области фармацевтики и касается применения композиции цилостазола и d-борнеола при получении лекарственного средства для лечения цереброваскулярного заболевания, в частности ишемического цереброваскулярного заболевания. Настоящее изобретение конкретно относится к композиции, содержащей цилостазол или его фармацевтически приемлемую соль и d-борнеол, и к применению композиции при получении лекарственного средства для лечения цереброваскулярного заболевания, в частности ишемического цереброваскулярного заболевания.

A1

202391991

202391991

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420- 578747EA/061

ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИЛОСТАЗОЛ, ПРИ ПОЛУЧЕНИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] По настоящей заявке испрашивается приоритет китайской патентной заявки № 202110039436.1, поданной в Национальное управление интеллектуальной собственности Китая 13 января 2021 г. и озаглавленной «ПРИМЕНЕНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩЕЙ ЦИЛОСТАЗОЛ, ПРИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ», которая целиком включена в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Настоящее изобретение относится к области фармации и касается применения композиции цилостазола и (+)-2-борнеола при изготовлении лекарственного средства для лечения цереброваскулярных заболеваний, в частности, ишемических цереброваскулярных заболеваний.

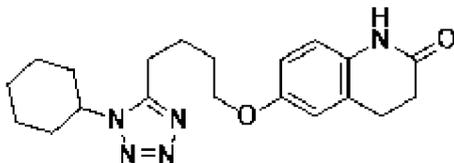
ПРЕДПОСЫЛКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Цереброваскулярное заболевание (ЦВЗ) относится к поражениям головного мозга, вызванным различными цереброваскулярными нарушениями, и в соответствии с процессом его патогенеза может быть разделено на острое цереброваскулярное заболевание (инсульт) и хроническое цереброваскулярное заболевание. К острым цереброваскулярным заболеваниям относятся транзиторная ишемическая атака, тромбоз головного мозга, эмболия сосудов головного мозга, гипертоническая энцефалопатия, кровоизлияние в мозг, субарахноидальное кровоизлияние и др.; к хроническим цереброваскулярным заболеваниям относятся церебральный атеросклероз, цереброваскулярная деменция, синдром обкрадывания церебральных артерий, болезнь Паркинсона и др. Ишемический инсульт является общим термином для обозначения некроза мозговой ткани, вызванного недостаточным кровоснабжением головного мозга вследствие стеноза или окклюзии артерий кровоснабжения головного мозга (сонной артерии и позвоночной артерии). Церебральная ишемия включает четыре типа: транзиторную ишемическую атаку (TIA), обратимый неврологический дефицит (RIND), прогрессирующий инсульт (SIE) и полный инсульт (CS). При TIA отсутствует инфаркт головного мозга, но имеются инфаркты головного мозга разной степени, присутствующие при RIND, SIE и CS.

[0004] Цилостазол представляет собой препарат против агрегации тромбоцитов, который впервые был разработан и синтезирован компанией Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Japan, запущен в производство в Японии в 1988 г., одобрен FDA в США в мае 1999 г. и поступил на рынок Китая в 1996 г. Цилостазол является селективным ингибитором фосфодиэстеразы 3 (PDE3). Степень связывания цилостазола с белками плазмы

составляет около 95%, и большая часть цилостазола существует в виде относительно стабильного прототипа. Цилостазол обладает широким спектром фармакологической активности и имеет клиническое значение при многих заболеваниях, таких как периферические тромботические заболевания и перемежающаяся хромота. Кроме того, цилостазол обладает функциями антитромбоцитарного и вазодилатационного действия, так что он может предотвратить рецидив циркуляторного шока и стеноза коронарных артерий. Исследования показали, что PDE3 может ингибировать деградацию цАМФ в системе кровообращения, повышать уровень цАМФ в тромбоцитах и гладких мышцах сосудов, ингибировать образование тромбоцитов и способствовать пролиферации клеток гладких мышц сосудов. Цилостазол ингибирует деградацию тромбоцитов главным образом за счет воздействия на следующие факторы: арахидоновую кислоту, аденозиндифосфат, адреналин, коллаген и фибриназу. В настоящее время некоторые специалисты считают, что лечение цилостазолом может быть рекомендовано пациентам с тромбозом сонных артерий, что может лечить или предотвращать церебральную ишемию. Между тем, PDE3 может ингибировать выработку синтазы оксида азота (NOS), тем самым снижая выработку оксида азота (NO).

[0005] Цилостазол имеет структуру, представленную следующей формулой:



формула I

(молекулярная формула $C_{20}H_{27}N_5O_2$; молекулярная масса 369,47).

[0006] В издании Китайской фармакопеи 2020 г. указано, что основной компонент природного борнеола, (+)-2-борнеол, в натуральном борнеоле должен иметь содержание не менее 96%. (+)-2-Борнеол представляет собой бициклическое монотерпеноидное соединение, которое содержится в летучих маслах различных китайских растительных лекарственных средств и проявляет различную биологическую активность, такую как противовоспалительное, антиоксидантное и усиливающее функцию рецептора GABA действие (Euro J Pharma 2017,811:1-11). Борнеол был одобрен FDA в США в качестве пищевого ароматизатора или вспомогательного вещества (21 CFR 172.515). Борнеол также является пероральным вспомогательным веществом, используемым при лечении различных заболеваний. Рекомендуемая пероральная доза натурального борнеола для взрослых составляет 0,3-0,9 г/день (Китайская фармакопея, издание 2020 г.). Кроме того, инъекционный препарат Xingnaojing (содержащий борнеол в концентрации около 1 мг/мл в соответствии со стандартами Министерства здравоохранения на лекарственные средства, Prepared prescription of Chinese Medicine, том 17) используется в клинике в виде внутривенной инфузии после разбавления 10-20 мл 5%-10% инъекции глюкозы или 250-500 мл инъекции хлорида натрия, так что при разовой внутривенной инфузии борнеол вводят в количестве 10-20 мг. Борнеол также является важным компонентом порошка

Бинпэн и имеет содержание не менее 30 мг/г (3%) (Китайская фармакопея, издание 2020 г.).

[0007] Следовательно, имеет важное практическое значение применение композиции, содержащей цилостазол, при цереброваскулярных заболеваниях.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0008] Объектом настоящего изобретения является применение фармацевтической композиции при изготовлении лекарственного средства для лечения цереброваскулярных заболеваний, где фармацевтическая композиция содержит цилостазол или его фармацевтически приемлемую соль и (+)-2-борнеол. Кроме того, комбинированное применение фармацевтической композиции может синергетически повышать эффективность лечения цереброваскулярных заболеваний.

[0009] Настоящее изобретение относится к композиции, содержащей следующие компоненты:

[0010] компонент (I), цилостазол, его производное, фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер или пролекарство; и

[0011] компонент (II), (+)-2-борнеол, борнеол или лекарственное средство с активным ингредиентом (+)-2-борнеол.

[0012] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 100:1-1:1.

[0013] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 50:1-1:1.

[0014] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 36:1-1:1.

[0015] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 36:1-3:1.

[0016] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 18:1-3:1.

[0017] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 9:1-3:1.

[0018] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 1:1, 3:1, 9:1, 10:1 и/или 18:1.

[0019] Настоящее изобретение, кроме того, относится к лекарственному средству, содержащему композицию и фармацевтически приемлемое вспомогательное лекарственное вещество.

[0020] Основываясь на вышеупомянутом исследовании, авторы настоящего изобретения дополнительно предложили применение композиции или лекарственного средства при изготовлении лекарственного средства для профилактики и/или лечения цереброваскулярных заболеваний.

[0021] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения цереброваскулярное заболевание выбрано из ишемического цереброваскулярного заболевания; предпочтительно, ишемическое цереброваскулярное заболевание выбрано из ишемического инсульта.

[0022] В некоторых конкретных вариантах осуществления настоящего изобретения композиция может значительно улучшать неврологический дефицит и уменьшать площадь церебрального инфаркта у мышей МСАО.

[0023] В настоящем изобретении цереброваскулярное заболевание (ЦВЗ) относится к поражениям головного мозга, вызванным различными цереброваскулярными заболеваниями, и в соответствии с процессом его патогенеза может быть разделено на острое цереброваскулярное заболевание (инсульт) и хроническое цереброваскулярное заболевание. К острым цереброваскулярным заболеваниям относятся транзиторная ишемическая атака, тромбоз головного мозга, эмболия сосудов головного мозга, гипертоническая энцефалопатия, кровоизлияние в мозг, субарахноидальное кровоизлияние и др.; к хроническим цереброваскулярным заболеваниям относятся церебральный атеросклероз, цереброваскулярная деменция, синдром обкрадывания церебральных артерий, болезнь Паркинсона и др. Ишемический инсульт является общим термином для обозначения некроза мозговой ткани, вызванного недостаточным кровоснабжением головного мозга вследствие стеноза или окклюзии артерий кровоснабжения головного мозга (сонной артерии и позвоночной артерии). Церебральная ишемия включает четыре типа: транзиторную ишемическую атаку (ТИА), обратимый неврологический дефицит (RIND), прогрессирующий инсульт (SIE) и полный инсульт (CS). При ТИА отсутствует инфаркт головного мозга, но имеются инфаркты головного мозга разной степени, присутствующие при RIND, SIE и CS.

[0024] Авторы данного патента обнаружили, что введение цилостазола в дозе 1-18 мг/кг или (+)-2-борнеола в дозе 0,27-5 мг/кг в хвостовую вену крыс с фокальным церебральным ишемически-реперфузионным повреждением может значительно улучшить неврологический дефицит крыс МСАО и уменьшить площадь мозгового инфаркта; и компаундированная комбинация (с массовым соотношением цилостазол:(+)-2-борнеол 18:1-1:1) в указанном диапазоне доз может оказывать синергетический эффект. Внутривенное введение цилостазола в дозе 10-19,46 мг/кг или (+)-2-борнеола в дозе 0,54-10 мг/кг мышам с очаговой церебральной ишемией-реперфузией позволяет значительно улучшить неврологический дефицит и уменьшить площадь инфаркта головного мозга у мышей МСАО.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0025] В настоящем изобретении описано применение композиции, содержащей цилостазол, при цереброваскулярных заболеваниях. Специалисты в данной области техники могут обратиться к содержанию настоящего документа и надлежащим образом улучшить параметры способа при практическом осуществлении настоящего изобретения. В частности, следует отметить, что все подобные замены и модификации являются

очевидными для специалистов в данной области техники, и все они считаются включенными в настоящее изобретение. Способ и применение по настоящему изобретению были описаны в предпочтительных вариантах осуществления, и при практическом осуществлении и применении способа по настоящему изобретению специалисты в данной области техники, по-видимому, могут вносить модификации или соответствующие изменения и комбинации описанных в настоящем документе способов и применений, не выходя за рамки содержания, сущности и объема настоящего изобретения.

[0026] В фармацевтической композиции по настоящему изобретению цилостазол или его фармацевтически приемлемая соль и (+)-2-борнеол представлены в массовом соотношении 100:1-1:1, предпочтительно, в массовом соотношении 50:1-1:1, предпочтительно, в массовом соотношении 36:1-1:1; предпочтительно, в массовом соотношении 36:1-3:1; предпочтительно, в массовом соотношении 18:1-3:1 и 9:1-3:1; более предпочтительно, в массовом соотношении 1:1, 3:1, 9:1, 10:1 и/или 18:1.

[0027] Фармацевтическую композицию по настоящему изобретению можно использовать при изготовлении лекарственного средства для лечения цереброваскулярного заболевания, при этом цереброваскулярное заболевание, предпочтительно, представляет собой ишемическое цереброваскулярное заболевание, более предпочтительно, ишемический инсульт.

[0028] Настоящее изобретение характеризуется следующими положительными эффектами: по результатам испытаний эффективности препарата на животных (крысах и мышцах) при цереброваскулярных заболеваниях комбинация цилостазола и (+)-2-борнеола синергетически увеличивает эффективность препарата.

[0029] Все исходные материалы и реагенты, используемые при применении композиции, содержащей цилостазол, при цереброваскулярных заболеваниях являются коммерчески доступными. Настоящее изобретение дополнительно проиллюстрировано в примерах далее:

Пример 1. Исследование защитного действия композиции цилостазола и (+)-2-борнеола на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение 1

[0030] 1. Материалы и методы

[0031] 1.1. Экспериментальные животные

[0032] Крысы Sprague-Dawley (SD), самцы, SPF-класс, весом 250-280 г.

[0033] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

Название образца	Изготовитель	Номер серии
Цилостазол	Shanghai Aladdin Biochemical Technology Co., Ltd.	K1405071
(+)-2-Борнеол	Jiangsu Simovay Pharmaceutical Co., Ltd.	KC20171205-1-2

[0034] 1.3. Экспериментальный метод

[0035] 1.3.1. Группирование животных и введение

[0036] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: группа цилостазола (1 мг/кг), группа (+)-2-борнеола (1 мг/кг), группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола (2 мг/кг, цилостазол:(+)-2-борнеол=1:1, цилостазол 1 мг/кг, (+)-2-борнеол 1 мг/кг) и модельная группа. После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[0037] 1.3.2. Создание модели фокальной церебральной ишемии-реперфузии

[0038] Модель фокальной церебральной ишемии-реперфузии у крыс создавали методом шва внутренней сонной артерии. Конечности (задние конечности выше коленного сустава и передние конечности ниже лучезапястного сустава) и голову анестезированной крысы стягивали резиновыми лентами. Животное фиксировали на операционном столе в положении лежа на спине, выбривали бритвенным станком от головы до груди, кожу дезинфицировали спиртом. Шею крысы разрезали по средней линии и тупым путем отделяли подкожную клетчатку. Тонкий слой фасции на поверхности переднего треугольника шеи отсепаровали, нижнебоковой нижней край ключично-подъязычной мышцы оттягивали кверху, была видна параллельно этой мышце продольно пульсирующая артерия. Артериальную оболочку вскрывали и обнажали бифуркацию правой сонной артерии. Выделяли правую общую сонную артерию, наружную сонную артерию и внутреннюю сонную артерию. Блуждающий нерв осторожно отделяли, а наружную сонную артерию перевязывали и перерезали. Проксимальный конец общей сонной артерии пережимали. Разрез делали на дистальном конце от лигатуры наружной сонной артерии и вставляли шовную линию, которую проводили через бифуркацию общей сонной артерии во внутреннюю сонную артерию, а затем медленно вводили до достижения легкого сопротивления (примерно 20 мм от бифуркации), чтобы полностью перекрыть кровоснабжение средней мозговой артерии. Линию шва немного фиксировали ниже разреза наружной сонной артерии шелковой нитью. Шелковую нить, зажимающую проксимальный конец общей сонной артерии, ослабляли. На рану накладывали марлю, смоченную стерильным физиологическим раствором, и крысу помещали на подушку для сохранения тепла, чтобы она согрелась. Через 2,0 ч после церебральной ишемии швы справа аккуратно растягивали для восстановления кровоснабжения для реперфузии. Наружную сонную артерию перевязывали шелковой нитью, фиксируя линию шва. Кожу зашивали, дезинфицировали. Крысам давали чистый корм и наблюдали за их общим состоянием и дыханием до пробуждения от наркоза. Крыс обеспечивали кормом и водой и содержали обычным образом.

[0039] 1.3.3. Определение площади инфаркта головного мозга

[0040] Животных подвергали оценке симптомов неврологического дефицита, а затем умерщвляли с помощью CO_2 . Мозг извлекли, отрезав голову. Обонятельную луковицу, мозжечок и нижнюю часть ствола мозга удаляли. Кровь на поверхности мозга промывали физиологическим раствором и удаляли остаточную воду с поверхности. Мозг помещали на 20 мин при температуре -20°C , затем извлекали, сразу же разрезали на коронарный срез вертикально вниз в плоскости пересечения линии обзора и срезали назад каждые 2 мм. Срезы головного мозга инкубировали в 1% растворе для окрашивания TTC (при температуре 37°C в течение 30 мин). Нормальная мозговая ткань окрашивалась в темно-красный цвет, а ишемизированная мозговая ткань окрашивалась в бледно-белый цвет. После промывания физиологическим раствором срезы мозга быстро укладывали в ряд спереди назад, удаляли с поверхности оставшуюся воду и фотографировали.

[0041] Расчет площади церебрального инфаркта: фотографии обрабатывали с помощью программного обеспечения Image J, и соответствующую площадь левого мозга и неинфарктную область правого мозга рассчитывали по формуле, чтобы получить процент площади инфаркта.

[0042] Расчет объема инфаркта:

$$\mathbf{[0043]} V=t(A1+A2+A3+\dots+An),$$

[0044] t обозначает толщину среза, A обозначает площадь инфаркта.

$$\mathbf{[0045]} \%I=100\% \times (VC-VL)/VC,$$

[0046] $\%I$ представляет собой процент объема инфаркта, VC представляет собой объем головного мозга контрольной стороны (левое полушарие), а VL представляет собой объем неинфарктной области пораженной стороны (правое полушарие).

[0047] 1.3.4. Анализ синергизма композиции

[0048] В соответствии с формулой Jin Zhengjun's $q=E(a+b)/(Ea+Eb-Ea \times Eb)$ оценивали, обладают ли цилостазол и (+)-2-борнеол в композиции синергетическим эффектом. В формуле $E(a+b)$ представляет собой эффективную дозу комбинированных лекарственных средств, а Ea и Eb представляют собой, соответственно, эффективные дозировки лекарственного средства A (цилостазол) и лекарственного средства B ((+)-2-борнеол) по отдельности. $E_{\text{группа введения}}=(X_{\text{модель}}-X_{\text{введение}})/X_{\text{модель}}$, где X представляет собой область мозгового инфаркта. Значение q в диапазоне от 0,85 до 1,15 обозначает простое сложение эффекта двух используемых препаратов, значение $q>1,15$ обозначает синергетический эффект, а значение $q<0,85$ обозначает антагонистический эффект комбинированного применения двух препаратов.

[0049] 1.4. Статистика

[0050] Экспериментальные данные выражали как среднее значение \pm стандартное отклонение (среднее значение \pm стандартное отклонение). Различия между группами были проанализированы с помощью одностороннего дисперсионного анализа, сравнение между группами было проверено методом LSD, и $p<0,05$ определялось как значимое различие.

[0051] 2. Экспериментальные результаты

[0052] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 1. Экспериментальные результаты показывают, что введение (+)-2-борнеола в дозе 1 мг/кг и композиции (цилостазол 1 мг/кг+(+)-2-борнеол в дозе 1 мг/кг) позволяет значительно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p<0,01$, $p<0,001$), и введение цилостазола в дозе 1 мг/кг, как правило, облегчало церебральное ишемическое повреждение, но не показало статистической разницы ($p=0,06$). Результат расчета синергизма составил $q=1,24$, что свидетельствует о синергическом эффекте при совместном применении двух препаратов.

Таблица 1. Влияние комбинированного введения цилостазола и (+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	11	39,73±7,62
Группа цилостазола	10	33,78±5,74
Группа (+)-2-борнеола	11	28,28±8,06**
Группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола в соотношении 1:1	11	20,38±9,47***

Среднее±стандартное отклонение, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 2. Исследование защитного действия композиции цилостазола и (+)-2-борнеола на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение 2

[0053] 1. Материалы и методы

[0054] 1.1. Экспериментальные животные

[0055] Крысы Sprague-Dawley (SD), самцы, SPF-класс, весом 250-280 г.

[0056] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[0057] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[0058] 1.3. Экспериментальный метод

[0059] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: группа цилостазола (9 мг/кг), группа (+)-2-борнеола (1 мг/кг), группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола (10 мг/кг, цилостазол:(+)-2-борнеол=9:1, цилостазол 9 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг) и модельная группа. После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[0060] Создание модели фокальной церебральной ишемии-реперфузии, определение площади церебрального инфаркта, анализ синергизма композиции и метод статистики данных были такими же, как в примере 1.

[0061] 2. Экспериментальные результаты

[0062] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 2. Экспериментальные результаты показывают, что введение цилостазола в дозе 9 мг/кг, (+)-2-борнеола в дозе 1 мг/кг и композиции (цилостазол 9 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг) позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p=0,024$, $p=0,17$, $p=0,000$). Результат расчета синергизма составил $q=1,5$, что свидетельствует о синергическом эффекте при совместном применении двух лекарственных средств.

Таблица 2. Влияние комбинированного введения цилостазола и (+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	11	38,25±7,87
Группа цилостазола	11	30,00±8,43*
Группа (+)-2-борнеола	12	28,62±9,87*
Группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола в соотношении 9:1	12	14,64±5,52***

Среднее±стандартное отклонение, ** $p<0,05$, *** $p<0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 3. Исследование защитного действия композиции цилостазола и (+)-2-борнеола на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение 3

[0063] 1. Материалы и методы

[0064] 1.1. Экспериментальные животные

[0065] Крысы Sprague-Dawley (SD), самцы, SPF-класс, весом 250-280 г.

[0066] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[0067] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[0068] 1.3. Экспериментальный метод

[0069] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: группа цилостазола (18 мг/кг), группа (+)-2-борнеола (1 мг/кг), группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола (19 мг/кг, цилостазол:(+)-2-борнеол=18:1, цилостазол 18 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг) и модельная группа. После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали

головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[0070] Создание модели фокальной церебральной ишемии-реперфузии, определение площади церебрального инфаркта, анализ синергизма композиции и метод статистики данных были такими же, как в примере 1.

[0071] 2. Экспериментальные результаты

[0072] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 3. Экспериментальные результаты показывают, что введение цилостазола в дозе 18 мг/кг, (+)-2-борнеола в дозе 1 мг/кг и композиции (цилостазол 18 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг) позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p=0,001$, $p=0,002$, $p=0,000$). Результат расчета синергизма составил $q=1,24$, что свидетельствует о синергическом эффекте при совместном применении двух лекарственных средств.

Таблица 3. Влияние комбинированного введения цилостазола и (+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	11	40,32±7,65
Группа цилостазола	12	27,84±7,50**
Группа (+)-2-борнеола	11	29,97±7,02**
Группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола в соотношении 18:1	12	15,92±7,37***

Среднее±стандартное отклонение, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 4. Влияние цилостазола/(+)-2-борнеола (1:1, 3:1, 9:1) на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение

[0073] 1. Материалы и методы

[0074] 1.1. Экспериментальные животные

[0075] Крысы Sprague-Dawley (SD), самцы, SPF-класс, весом 250-280 г.

[0076] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[0077] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[0078] 1.3. Экспериментальный метод

[0079] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: модельная группа и три группы композиций цилостазола/(+)-2-борнеола ((соответственно, группа цилостазола 5 мг/кг+(+)-2-борнеол 5 мг/кг в соотношении 1:1; группа цилостазола 7,5 мг/кг+(+)-2-борнеол 2,5 мг/кг в соотношении 3:1; группа цилостазола 9 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг в соотношении 9:1, и каждую композицию вводили в общем количестве 10 мг/кг). После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу

внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[0080] Создание модели очаговой церебральной ишемии-реперфузии, определение площади церебрального инфаркта и метод статистики данных были такими же, как в примере 1.

[0081] 2. Экспериментальные результаты

[0082] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 4. Экспериментальные результаты показывают, что комбинированное введение цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 1:1, 3:1 и 9:1 позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p < 0,001$).

Таблица 4. Влияние композиций цилостазола/(+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	13	39,23±8,34
Группа цилостазола	11	22,59±7,12***
Группа (+)-2-борнеола	12	23,88±9,50***
Группа композиции цилостазола и (+)-2-борнеола в соотношении 9:1	13	17,38±8,39***

Среднее±стандартное отклонение, *** $p < 0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 5. Влияние цилостазола/(+)-2-борнеола (9:1, 18:1, 36:1) на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение

[0083] 1. Материалы и методы

[0084] 1.1. Экспериментальные животные

[0085] Крысы Sprague-Dawley (SD), самцы, SPF-класс, весом 250-280 г.

[0086] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[0087] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[0088] 1.3. Экспериментальный метод

[0089] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: модельная группа и три группы композиций цилостазола/(+)-2-борнеола ((соответственно, группа цилостазола 9 мг/кг+(+)-2-борнеол 1 мг/кг в соотношении 9:1; группа цилостазола 9,47 мг/кг+(+)-2-борнеол 0,53 мг/кг в соотношении 18:1; группа цилостазола 9,73 мг/кг+(+)-2-борнеол 0,27 мг/кг в соотношении 36:1, и каждую композицию вводили в общем количестве 10 мг/кг). После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии

головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[0090] Создание модели очаговой церебральной ишемии-реперфузии, определение площади церебрального инфаркта и метод статистики данных были такими же, как в примере 1.

[0091] 2. Экспериментальные результаты

[0092] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 5. Экспериментальные результаты показывают, что комбинированное введение цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 9:1, 18:1 и 36:1 позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p < 0,001$).

Таблица 5. Влияние композиций цилостазола/(+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	13	41,08±8,52
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 9:1	11	18,35±7,86***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 18:1	12	23,23±10,97***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 36:1	12	23,40±12,11***

Среднее±стандартное отклонение, *** $p < 0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 6. Влияние цилостазола/(+)-2-борнеола (1:1, 3:1, 9:1) на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение у мышей

[0093] 1. Материалы и методы

[0094] 1.1. Экспериментальные животные

[0095] Мыши C57BL/6J, самцы, SPF-класс, возраст 8 недель.

[0096] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[0097] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[0098] 1.3. Экспериментальный метод

[0099] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: модельная группа и три группы композиций цилостазола/(+)-2-борнеола ((соответственно, группа цилостазола 10 мг/кг+(+)-2-борнеол 10 мг/кг в соотношении 1:1; группа цилостазола 15 мг/кг+(+)-2-борнеол 5 мг/кг в соотношении 3:1; группа цилостазола 18 мг/кг+(+)-2-борнеол 2 мг/кг в соотношении 9:1, и каждую композицию вводили в общем количестве 20 мг/кг). После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной

группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[00100] Создание модели фокальной церебральной ишемии-реперфузии: модель фокальной церебральной ишемии-реперфузии у мышей создавали методом наложения швов на внутреннюю сонную артерию. Наркозную мышшь фиксировали на операционном столе в положении лежа на спине. Шею мышшь разрезали по средней линии и тупо отделяли подкожную клетчатку. Выделяли правую общую сонную артерию, наружную сонную артерию и внутреннюю сонную артерию. Наружную сонную артерию вводили с помощью линии шва, который проводили через бифуркацию общей сонной артерии во внутреннюю сонную артерию, а затем медленно вводили до достижения легкого сопротивления (примерно 10 мм от бифуркации), чтобы блокировать все кровоснабжение мозговой артерии. Через 60 минут после церебральной ишемии справа линию швов осторожно вытягивали для восстановления кровоснабжения для реперфузии. Мышам давали чистый корм и наблюдали за их общим состоянием и дыханием до пробуждения от наркоза. Мышь обеспечивали кормом и водой и содержали обычным образом.

[00101] Определение площади инфаркта головного мозга и статистические методы обработки данных были такими же, как в примере 1.

[00102] 2. Экспериментальные результаты

[00103] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 6. Экспериментальные результаты показывают, что комбинированное введение цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 1:1, 3:1 и 9:1 позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p < 0,001$).

Таблица 6. Влияние композиций цилостазола/(+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	13	36,03±8,29
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 1:1	11	21,13±10,16***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 3:1	12	20,82±10,40***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 9:1	12	17,89±8,56***

Среднее±стандартное отклонение, *** $p < 0,001$, по сравнению с модельной группой.

Пример 7. Влияние цилостазола/(+)-2-борнеола (9:1, 18:1, 36:1) на очаговое церебральное ишемически-реперфузионное повреждение у мышшь

[00104] 1. Материалы и методы

[00105] 1.1. Экспериментальные животные

[00106] Мыши C57BL/6J, самцы, SPF-класс, возраст 8 недель.

[00107] 1.2. Исследуемые лекарственные соединения

[00108] Цилостазол и (+)-2-борнеол были такими же, как в примере 1.

[00109] 1.3. Экспериментальный метод

[00110] Экспериментальных животных разделяли на 4 группы: модельная группа и три группы композиций цилостазола/(+)-2-борнеола ((соответственно, группа цилостазола 18 мг/кг+(+)-2-борнеол 2 мг/кг в соотношении 9:1; группа цилостазола 18,95 мг/кг+(+)-2-борнеол 1,05 мг/кг в соотношении 18:1; группа цилостазола 19,46 мг/кг+(+)-2-борнеол 0,54 мг/кг в соотношении 36:1, и каждую композицию вводили в общем количестве 20 мг/кг). После создания модели церебральной ишемии животных разделяли на каждую группу однократным слепым методом с равной вероятностью. После реперфузии животным сразу внутривенно однократно вводили лекарственные соединения. Животным в модельной группе вводили равный объем физиологического раствора. Через 24 ч после ишемии головного мозга животных забивали, извлекали головной мозг, окрашивали и фотографировали для определения площади инфаркта головного мозга.

[00111] Создание модели очаговой церебральной ишемии-реперфузии было таким же, как в примере 6, а определение площади церебрального инфаркта и метод статистики данных были такими же, как в примере 1.

[00112] 2. Экспериментальные результаты

[00113] Влияние на площадь инфаркта головного мозга показано в таблице 7. Экспериментальные результаты показывают, что комбинированное введение цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 9:1, 18:1 и 36:1 позволяет достоверно уменьшить площадь инфаркта головного мозга у животных ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p < 0,01$).

Таблица 7. Влияние композиций цилостазола/(+)-2-борнеола на площадь инфаркта головного мозга

Группа	Количество животных	Площадь инфаркта головного мозга (%)
Модельная группа	12	37,99±8,59
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 9:1	12	17,97±8,70***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 18:1	13	22,56±10,93***
Группа цилостазола/(+)-2-борнеола в соотношении 36:1	12	22,49±12,96**

Среднее±стандартное отклонение, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, по сравнению с модельной группой.

[00114] Применение композиции, содержащей цилостазол, при цереброваскулярных заболеваниях по настоящему изобретению подробно описано выше. Принцип и варианты осуществления настоящего изобретения проиллюстрированы здесь с помощью конкретных примеров. Описание приведенных выше примеров используется только для того, чтобы помочь понять способ и основную идею настоящего изобретения. Следует отметить, что для специалистов в данной области техники, не отступая от принципа настоящего изобретения, в настоящее изобретение могут быть внесены некоторые улучшения и модификации, и эти усовершенствования и модификации также входят в объем защиты формулы изобретения настоящего изобретения.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая следующие компоненты:
компонент (I), цилостазол, его производное, фармацевтически приемлемая соль, стереоизомер или пролекарство; и
компонент (II), (+)-2-борнеол, борнеол или лекарственное средство с активным ингредиентом (+)-2-борнеол.
2. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 100:1-1:1.
3. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 50:1-1:1.
4. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 36:1-1:1.
5. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 36:1-3:1.
6. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 18:1-3:1.
7. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 9:1-3:1.
8. Композиция по п.1, где компонент (I) и компонент (II) представлены в массовом соотношении 1:1, 3:1, 9:1, 10:1 и/или 18:1.
9. Лекарственное средство, содержащее композицию по любому из пп.1-8 и фармацевтически приемлемое вспомогательное лекарственное вещество.
10. Применение композиции по любому из пп.1-8 или лекарственного средства по п.9 при изготовлении лекарственного средства для предупреждения и/или лечения цереброваскулярных заболеваний;
предпочтительно, цереброваскулярное заболевание выбрано из ишемического цереброваскулярного заболевания;
предпочтительно, ишемическое цереброваскулярное заболевание выбрано из ишемического инсульта.

По доверенности