



(51) МПК
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 38/39 (2020.05); A61K 36/82 (2020.05); A61K 31/737 (2020.05); A61P 19/02 (2020.05)

(21)(22) Заявка: 2016150516, 21.05.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 21.05.2015

Дата регистрации:
 01.10.2020

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
 23.05.2014 EP 14305772.7;
 21.08.2014 GB 1414910.8

(43) Дата публикации заявки: 26.06.2018 Бюл. № 18

(45) Опубликовано: 01.10.2020 Бюл. № 28

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
 национальной фазе: 23.12.2016

(86) Заявка РСТ:
 EP 2015/061327 (21.05.2015)

(87) Публикация заявки РСТ:
 WO 2015/177309 (26.11.2015)

Адрес для переписки:
 129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, строение 3,
 ООО "Юридическая фирма Городиский и
 Партнеры"

(72) Автор(ы):

СЕРИЗЬЕ Самюэль (FR)

(73) Патентообладатель(и):

МАРС, ИНКОРПОРЕЙТЕД (US)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: KR 20020011594 A, 09.02.2002.
 US20110256247 A1, 20.10.2011. US20050181047
 A1, 18.08.2005. US 6162787 A, 19.12.2000.
 GREGORY S. KELLY, ND. Quercetin //
 Alternative medicine review, vol.16, n.2, pp172-
 184. US 2006062859 A1, 23.03.2006. KATHRYN
 RUTTER et all. Green tea extract suppresses the
 age-related increase in collagen crosslinking and
 (см. прод.)

(54) КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АРТРИТА, ПОДДЕРЖАНИЯ ПОДВИЖНОСТИ И
 ЗАМЕДЛЕНИЯ СТАРЕНИЯ

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к фармацевтической промышленности, а именно к лечению артрита у кошки и собак, увеличению средней продолжительности жизни, способу сохранения подвижности или профилактики ухудшения подвижности, или в качестве способа замедления старения. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина, для профилактики или лечения

артрита у кошки или собаки. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина, для увеличения средней продолжительности жизни у кошки или собаки. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина для замедления старения у кошки или собаки. Способ лечения артрита у кошки или

собаки, включающий введение животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина. Способ увеличения средней продолжительности жизни у кошки или собаки, включающий введение животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина. Способ замедления старения кошки или собаки, включающий введение указанному

животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина. Вышеописанные изобретения эффективны для лечения артрита у кошки и собаки, увеличения средней продолжительности жизни, сохранения подвижности или профилактики ухудшения подвижности, для замедления старения. 6 н. и 3 з.п. ф-лы, 4 ил., 4 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):

fluorescent products in C57BL/6 Mice //Int J Vitam Netr Res, 2003 Nov, 73(6): 453-460. MADHAN B et all., Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase //Int J Biol Macromol., 2007 Jun 1, 41(1): 16-22.

R U
2 7 3 3 4 0 3
C 2

R U
2 7 3 3 4 0 3
C 2



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 36/82 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61K 38/39 (2020.05); A61K 36/82 (2020.05); A61K 31/737 (2020.05); A61P 19/02 (2020.05)(21)(22) Application: **2016150516, 21.05.2015**(24) Effective date for property rights:
21.05.2015Registration date:
01.10.2020

Priority:

(30) Convention priority:
23.05.2014 EP 14305772.7;
21.08.2014 GB 1414910.8(43) Application published: **26.06.2018 Bull. № 18**(45) Date of publication: **01.10.2020 Bull. № 28**(85) Commencement of national phase: **23.12.2016**(86) PCT application:
EP 2015/061327 (21.05.2015)(87) PCT publication:
WO 2015/177309 (26.11.2015)Mail address:
129090, Moskva, ul. B.Spaskaya, 25, stroenie 3,
OOO "Yuridicheskaya firma Gorodiskij i
Partnery"

(72) Inventor(s):

SERIZE Samyuel (FR)

(73) Proprietor(s):

MARS, INKORPOREJTED (US)**(54) COMPOSITION FOR TREATING ARTHRITIS, MAINTAINING MOBILITY AND SLOWING AGING**

(57) Abstract:

FIELD: pharmaceutical industry.

SUBSTANCE: group of inventions relates to treating arthritis in a cat and dogs, increasing average life span, a method of preserving mobility or preventing mobility impairment, or as a method of slowing down aging. Use of composition containing 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin, for preventing or treating arthritis in a cat or dog. Use of composition containing 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin, to increase average life expectancy in a cat or dog. Use of

composition containing 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin to slow down aging in cat or dog. A method for treating arthritis in a cat or dog, comprising administering to an animal composition comprising 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin. A method for increasing average life expectancy in a cat or dog, comprising administering to an animal composition comprising 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin. A method for slowing aging of a cat or dog, involving

administering to said animal composition containing 50 mcmol of green tea extract, 0.5 mg/ml hydrolysed collagen and 200 mcg/ml chondroitin.

EFFECT: above described inventions are effective

for treating arthritis in a cat and a dog, increasing average life span, preserving mobility or preventing mobility impairment, to slow down aging.

9 cl, 4 dwg, 4 tbl, 2 ex

R U
2 7 3 3 4 0 3
C 2

R U
2 7 3 3 4 0 3
C 2

Настоящее изобретение относится к композиции, включающей экстракт зеленого чая, коллаген и хондроитин. Такую композицию можно применять для лечения или профилактики артрита, для увеличения средней продолжительности жизни у животных, для поддержания подвижности или профилактики ухудшения подвижности у животного, а также в качестве способа создания подобных композиций. Композицию также можно применять в качестве способа лечения артрита, способа увеличения средней продолжительности жизни, способа поддержания подвижности или профилактики ухудшения подвижности или способа замедления старения.

Поддержание и улучшение состояния здоровья у животных представляет собой постоянно существующую цель в данной области техники. Состояние здоровья включает такое для животного, млекопитающего, в частности для кошки, собаки или человека.

Современные достижения ветеринарной медицины предоставляют хозяевам животных возможность продлевать жизнь животного и улучшать качество их жизни, независимо от того, болеет животное или нет. Хозяева домашнего животного смогут продлевать жизнь любимым животным на значительный срок. Хозяева домашнего животного часто сильно привязаны или чувствуют чрезвычайно большую ответственность перед животным, а также часто животное является для них надежным и основным источником эмоциональной поддержки. Таким образом, существует необходимость в продуктах для увеличения времени жизни и для гарантирования высокого качества жизни домашних животных и при необходимости - других животных, включая людей.

Артрит является распространенной проблемой у домашних животных и людей. Лечение остеоартрита у собак может быть как консервативным, так и оперативным в случае запущенных стадий и может включать эндопротезирование тазобедренного сустава. В целом, остеоартрит у собак будет прогрессировать с течением времени, но определенные лекарственные препараты могут замедлить этот процесс. Лечение может включать введение противовоспалительных препаратов. То же самое касается и людей. К сожалению, данные лекарственные средства имеют нежелательные побочные эффекты, а операция является длительной и дорогостоящей.

Корм, который может продлить жизнь животного, является крайне желательным. В дополнение, существует длительная необходимость в разработке новых способов и композиций, которые можно применять для лечения остеоартрита у животных и в частности - в композициях пищевых продуктов, эффективно справляющихся с данными заболеваниями.

Настоящее изобретение относится к композициям и их применению.

В соответствии с первым аспектом данного изобретения, предоставлена композиция, включающая экстракт зеленого чая, коллаген и хондроитин.

Экстракт зеленого чая относится к травяному производному листьев зеленого чая (*Camellia sinensis*). Экстракты зеленого чая можно изготавливать при помощи технологий мягких настоев, мягких экстрактов, сухих экстрактов, а также при помощи технологии частичного очищения экстрактов. Экстракт зеленого чая может включать катехины зеленого чая (GTC), эпигаллокатехин (EGC), эпикатехин-галлат (ECG), эпигаллокатехин-галлат (EGCG) и флавоноиды, такие как кампферол, кверцетин и мирицетин.

Коллаген включает гидролизованный коллаген, волокнистый коллаген и Коллаген Типов I - XVIII. Гидролизованный коллаген является в частности предпочтительным, особенно в комбинации с экстрактом зеленого чая и хондроитин сульфатом.

Хондроитин представляет собой производное хондрина. Хондроитин включает хондроитин сульфат.

Любой или несколько ингредиентов могут присутствовать в композиции в следующих

диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 15 мг до 5, гидролизованный коллаген в количестве от 50 мг до 17 г и хондроитин в количестве от 10 мг до 4 г. Ингредиенты могут присутствовать в следующих диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 15 мг до 1 г, гидролизованный коллаген в количестве от 50 мг до 1 г, и хондроитин в количестве от 10 мг до 1 г. Ингредиенты могут присутствовать в следующих диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 15 мг до 500 мг, гидролизованный коллаген в количестве от 50 мг до 500 мг, и хондроитин в количестве от 10 мг до 500 мг. Ингредиенты могут присутствовать в следующих диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 1 г до 5 г, гидролизованный коллаген в количестве от 5 г до 17 г, и хондроитин в количестве от 1 г до 4 г. Ингредиенты могут присутствовать в следующих диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 1 г до 3 г, гидролизованный коллаген в количестве от 8 г до 14 г, и хондроитин в количестве от 1 г до 3 г. Ингредиенты могут присутствовать в следующих диапазонах: экстракт зеленого чая в количестве от 200 мг до 2 г, гидролизованный коллаген в количестве от 500 мг до 5 г, и хондроитин в количестве от 200 мг до 2 г.

Данное количество ингредиентов экстракта зеленого чая, коллагена и хондроитина может быть предоставлено как их суммарное количество в сутки. При выборе количества принимается в расчет размер животного. Желаемое количество 30 мг/кг/сутки экстракта зеленого чая будет находиться в диапазоне от приблизительно 15 мг для собаки небольшого размера (весом приблизительно 0,5 кг) до приблизительно 5 г для крупной собаки (весом 166 кг). Для коллагена желаемое количество может составлять 100 мг/кг/сутки и будет находиться в диапазоне от приблизительно 50 мг для собаки небольшого размера (весом приблизительно 0,5 кг) до приблизительно 17 г для крупной собаки (166 кг). Для хондроитина желаемое количество может составлять 20 мг/кг/сутки и будет находиться в диапазоне от приблизительно 10 мг для собаки небольшого размера (весом приблизительно 0,5 кг) до приблизительно 3 г для крупной собаки (весом 166 кг).

Вес собаки может варьироваться от 1 кг до 120 кг, от 5 кг до 100 кг, от 10 кг до 90 кг, от 15 кг до 60 кг, от 20 кг до 40 кг, от 25 кг до 35 кг.

Подходящие диапазоны также включают от 20 мг/кг/сутки до 40 мг/кг/сутки экстракта зеленого чая. Приблизительно 0,2, 0,25, 0,3, 0,35% рациона являются подходящими (особенно для собак).

Подходящие диапазоны также включают от 50 мг/кг/сутки до 150 мг/кг/сутки коллагена. Приблизительно 0,5, 0,8, 0,9, 1,0% рациона являются подходящими (особенно для собак).

Подходящие диапазоны также включают от 150 мг/кг/сутки до 250 мг/кг/сутки хондроитина. Приблизительно 0,1, 0,15, 0,16, 0,7, 0,2% рациона являются подходящими (особенно для собак).

Одним из свойств композиции, как было определено в первом аспекте изобретения, является то, что она является термически достаточно стабильной для применения и, таким образом, желательной при производстве корма.

Композиция может находиться в форме корма. Корм может представлять собой сухой, полувлажный или влажный продукт. Влажный корм включает корм, который продается в консервах или пакетиках, содержание влажности в которых составляет от 70 до 90%. Сухой корм включает корм, имеющий сходную композицию, но при этом содержание влажности составляет от 5 до 15%, а корм имеет форму небольших галет - похожих на подушечки. Полувлажные продукты имеют диапазон влажности от 6 до 69%. Содержание влаги в любом продукте может влиять на вид упаковки, который

используют или чье использование требуется.

Корм можно производить путем смешивания ингредиентов и их измельчения с целью получения однородной массы, которую далее можно готовить. Процесс создания сухого корма для животных обычно включает выпекание и/или экструзию. Массу обычно помещают в машину, называемую экспандером, в котором используется пар под давлением или горячая вода для обработки ингредиентов. Во время нахождения в экспандере масса находится под высоким давлением и под действием высоких температур. Масса далее проталкивается через головку (отверстие специального размера) и далее перерезается при помощи ножа. Воздушные кусочки массы формируются в подушечки в то время, когда проходят через сушилку таким образом, что вся остаточная влажность выпаривается. Подушечку далее можно опрыскивать жирами, маслами, минералами и витаминами, а также опционально помещать в упаковки.

Для производства консервированного корма мясные продукты сначала вытапливают или подвергают обработке для разделения воды, жировых и белковых компонентов. Далее мясо измельчают и готовят и далее смешивают с другими ингредиентами. Конечный продукт помещают в консервные банки, срок хранения составляет 5 лет. Консервные банки являются герметично упакованными.

Композиция может находиться в виде пищевой добавки. Композиция может быть представлена порошком или частицами, включающими белый порошок или твердую форму. Порошок полезен для посыпания основного корма животного. Другие формы включают твердые шарики, гранулы, таблетки или жидкость.

Корм является предпочтительно запакованным. Таким образом, при помощи упаковки потребитель может определить состав пищевого продукта и получить подтверждение того, что он является подходящим для конкретного животного, о котором идет речь. Упаковка может быть металлической (обычно в форме банки или гибкой пленки), пластиковой, бумажной или картонной.

Композиция, а именно таковая в форме консервной банки с кормом для домашних животных, включает любой продукт, который домашнее животное потребляет в своем рационе. Таким образом, изобретение включает стандартные пищевые продукты, а также снеки для животных (например, батончики, галеты и сладкие продукты). Пищевой продукт предпочтительно представляет собой приготовленный продукт. Он может включать мясо или материал, полученный от животных (например, говядина, цыпленок, индейка, ягненок, рыба, плазма крови, костный мозг и т.д. или один или более из перечисленных выше продуктов). В качестве альтернативы продукт может не содержать мясо (предпочтительно продукт содержит заместитель мяса, такой как соя, кукурузный глютен или соевый продукт) с целью предоставления источника белков. Продукт может содержать дополнительный источник белка, например, концентрат соевого белка, белки молочной сыворотки, глютен и т.д. Продукт также может содержать источник крахмала в виде одного или более злаковых (например, пшеница, кукуруза, рис, овес, солод и т.д.), или может не содержать крахмал. Продукт может включать волокна, такие как цикорий, жом сахарной свеклы и т.д., а также такие компоненты как инулин, фруктоолигосахариды, пребиотики, наиболее предпочтительно комбинация ингредиентов корма для животных в соответствии с изобретением, предоставляет все рекомендованные витамины и минералы для конкретного животного, представляющего интерес (полноценный и сбалансированный корм), например, как описано в документе «Потребность в питании для собак» (Nutritional requirements for dogs), Национального совета по исследованиям (National research council) 1985 год, СМН Национальной

Академии, Вашингтон округ Колумбия или в официальной публикации Ассоциации американских официальных контролеров по качеству кормов (Association of America feed control officials), 1996 год.

5 Пищевой продукт можно изготавливать в соответствии с любым способом, известным в области техники, например, в соответствии с "Waltham Book of Dog and Cat Nutrition", Изд. ATV Edney, глава авторства A. Rainbird, озаглавленная "A Balanced Diet" на страницах 57-74, Pergamon Press Oxford.

10 Композиция по первому аспекту изобретения в частности предназначена для применения в качестве профилактики или лечения артрита у животных, в частности у собак и кошек. Термин «артрит» включает остеоартрит, ревматоидный артрит, псориатический артрит, септический артрит, анкилозирующий спондилит (АС) и системную красную волчанку.

15 Композиция по первому аспекту изобретения в частности предназначена для применения с целью увеличения средней продолжительности жизни животного, в частности кошки или собаки. Увеличенная средняя продолжительность жизни может быть определена как удлинение времени жизни животного. Другие влияния композиции включают сохранение жизненной силы, здоровья, физической энергии, качества жизни, а также отсрочку признаков старения. Термин «физическая энергия» включает домашнее животное, обладающее энергией и проявляющее активность. Физическую энергию 20 можно измерить при помощи общего уровня энергии животного, его подвижности, аппетита и игривости.

Композиция по первому аспекту изобретения в частности предназначена для сохранения подвижности или профилактики ухудшения подвижности у животного, в частности у кошки или собаки. Часто подвижность животных, таких как домашние 25 животные, снижается из-за проблем с суставами. Одной из причин проблем с суставами является изнашивание хряща, скорость которого превышает скорость его замещения в организме. Когда хрящ изнашивается, суставы становятся отечными, появляется болезненность, что создает определенные трудности при движениях. Признаки сниженной подвижности у домашнего животного включают изменения образа жизни 30 и поведения, такие как снижение способности или желания прыгать или бегать/ходить, увеличение времени сна и затруднение подъема и спуска по лестнице.

Композиция по первому аспекту изобретения в частности предназначена для отсрочки старения животного, в частности кошки или собаки. Признаки старения могут включать снижение энергии в целом, замедление движений, ухудшение слуха, ухудшение зрения 35 и т.д.

В соответствии со вторым аспектом изобретения предоставлен способ лечения артрита у животного, в частности кошки или собаки, включающий введение указанному животному композиции, определенной в первом аспекте изобретения. Термин «артрит» 40 включает остеоартрит, ревматоидный артрит, псориатический артрит, септический артрит, анкилозирующий спондилит (АС) и системную красную волчанку. Способ может представлять собой способ профилактики или лечения.

В соответствии с третьим аспектом изобретения предоставлен способ увеличения средней продолжительности жизни у животного, в частности у кошки или собаки, включающий введение указанному животному композиции, определенной в первом 45 аспекте изобретения. Увеличение средней продолжительности жизни может быть определено как удлинение времени жизни животного. Другие влияния композиции включают сохранение жизненной силы, здоровья, физической энергии, качества жизни, а также отсрочку признаков старения. Термин «физическая энергия» включает домашнее

животное, обладающее энергией и проявляющее активность. Физическую энергию можно определить при помощи общего уровня энергии животного, его подвижности, аппетита и игривости.

5 В соответствии с четвертым аспектом изобретения предоставлен способ сохранения подвижности или профилактики ухудшения подвижности у животного, в частности у кошки или собаки, включающий введение указанному животному композиции, определенной в первом аспекте изобретения. Признаки ухудшения подвижности у домашнего животного включают изменения образа жизни и поведения, такие как снижение способности или желания прыгать или бегать/ходить, увеличение времени сна и затруднение подъема и спуска по лестнице.

10 В соответствии с пятым аспектом изобретения предоставлен способ замедления старения у животного, в частности у кошки или собаки, включающий введение указанному животному композиции, определенной в первом аспекте изобретения. Признаки старения могут включать снижение энергии в целом, замедление движений, ухудшение слуха, ухудшение зрения и т.д.

15 В соответствии с шестым аспектом изобретения способ приготовления композиции, определенной в первом аспекте изобретения, включает смешивание ингредиентов в композицию, например, в переносном тумблере для получения порошка, гранул или пасты, как описано выше. Во всех остальных случаях продукт можно изготовить при помощи процессов, известных в области техники. Композицию, определенную в первом аспекте изобретения, можно добавить до нагревания или приготовления одного или более других ингредиентов или после этого.

Изобретение будет описано на основании следующих не ограничивающих примеров:

25 Изобретатели выражают большую признательность за поддержку в проведении экспериментов, описанных далее, Elodie le Tilly, Laurent Beck и Jerome Guicheux из «Laboratory for OsteoArticular and Dental Tissue Engineering» (LIOAD).

Пример 1

Исследование на модели животного *in vivo*:

30 С целью оценки эффективности композиции, содержащей хондроитин, гидролизованный коллаген и экстракт зеленого чая, в отношении прогрессирования остеоартрита у мышей было проведено доклиническое исследование. Мышам C57BL/6 мужского пола в возрасте восемнадцати месяцев предоставляют свободный доступ к пище и воде, а также в течение недели обеспечивают цикл света/темноты 12 ч/12 ч для их акклиматизации.

35 Распространенность остеоартрита не составляет 100% в данной модели животного, таким образом, для получения статистической значимости производили тестирование групп из 15 мышей. Проводили исследование в трех группах:

- 40 - Контрольная группа, состоящая из 15 здоровых мышей в возрасте 6 месяцев, получавших контрольный рацион питания.
- Контрольная группа, состоящая из 15 мышей в возрасте 18 месяцев, получавших контрольный рацион питания.
- Тестируемая группа, состоящая из 15 мышей в возрасте 18 месяцев, получавших рацион пищи, содержащий смесь хондроитина, гидролизованного коллагена и экстракта зеленого чая.

45 Мышам было предложено 6 г корма в сутки, они потребляли только 3 г корма в сутки. Доза активных соединений, которая была добавлена к рациону, составляла в сутки:

- Экстракт зеленого чая: 0,15% (146,5 мг/кг веса тела/сутки)

- Гидролизированный коллаген: 0,5% (488,5 мг/кг веса тела/сутки)

- Хондроитин: 0,1% (97,5 мг/кг веса тела/сутки)

Выбор мышей в качестве модели объясняется тем, что они имитируют длительный период жизни собак; возраст мышей 2 месяца эквивалентен возрасту приблизительно 1 год у собак. Для конвертации доз для собак в дозы для мышей, воспользуйтесь следующим уравнением, взятым из Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA):

Доза для мышей (мг/кг)=доза для собак (мг/кг) x (вес тела собаки (кг)/вес тела мыши (кг))^{0,33}

Для данного исследования считалось, что вес тела собаки составлял 30 кг, а вес тела мыши составлял 30 г.

Анализ:

Рентгенографические изображения задних конечностей (передняя и боковая проекции) были получены при помощи устройства MX-20 DC-12 (Faxitron Biotics LLC, Тусон, Аризона, США) для оценки поражения суставов мышей. Мышам была проведена анестезия путем интраперитонеальной инъекции смеси кетамина (Ketamine 1000™, Virbac, Франция) в дозе 75 мг/кг и ксилазина (Rompun™, Bayer, Франция) в дозе 5 мг/кг. Изображения были получены в начале исследования и повторялись каждые пять недель до естественной смерти животного. Путем применения маскированной процедуры тяжесть остеоартрита оценивалась по каждому из изображений при помощи множественных критериев оценки, что продемонстрировано в Таблице 1 и 2 ниже.

25	Окружность медиального и латерального менисков	<1200 пикселей	0
		1200 2000	1
		>2000 пикселей	2
25	Число визуализируемых остеофитов	Нет	0
		1	1
		>1	2
30	Структурные изменения субхондральной ткани (склероз)	Нет	0
		Низкие - Средние	1
		Средние - Высокие	2
30	Ширина суставной щели	Нормальная	0
		Сниженная	1
35	Кальцификаты в области сухожилий	Нет	0
		1 область	1
		>1 области	2
35	Общая оценка артрита	Всего	9

Таблица 1

Рентгенологическая оценка	Степень ОА
0-1	0
2-3	1
4-5	2
6-7	3
8-9	4

Таблица 2

Походку мышей анализируют при помощи системы CatWalk((Noldus Information Technology, Нидерланды), которая регистрирует отпечатки стоп мышей при помощи световой системы и высокочастотной видеокамеры. При помощи анализирующего программы, CatWalk XT™, исследуют вариации походки мышей, вероятно развивающиеся при остеоартрите. Анализ походки производят в начале исследования

и повторяют каждые пять недель до смерти животного. Каждой мыши позволяют свободно гулять от одного конца дорожки до другого. При каждой контакте лапы со стеклянным полом LE (низкоэнергетический) свет отражается вниз через стеклянное дно и регистрируется камерой. Достоверные записи были получены путем ежедневной тренировки мышей по пересечению дорожки в течение 7 дней до непосредственного проведения анализа походки.

Результаты:

Фигура 1 демонстрирует рентгенологическую оценку артроза на начальной стадии исследования (мышы в возрасте 18 месяцев) и через 3 месяца после начала лечения, включающего или не включающего введение композиции, содержащей хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая. Композиция, содержащая хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая была способна предотвратить развитие артроза.

Фигура 2 демонстрирует подвижность, определяемую при помощи Системы CatWalk(y мышей в возрасте 6 месяцев, 9 месяцев, 18 месяцев, получавших лечение, включающее или не включающее введение композиции, содержащей хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая. Композиция, содержащая хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая была способна предотвратить ухудшение подвижности.

Фигуры 3 и 4 демонстрируют дату смерти мышей, получавших лечение, включающее или не включающее введение композиции, содержащей хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая. Композиция, содержащая хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая повышала общую выживаемость у мышей.

В целом, в процессе старения развивается артроз суставов, что ведет к появлению болевого синдрома и снижению подвижности. Композиция, содержащая хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая, отдалает развития артроза, предотвращает ухудшение подвижности и отдалает естественную смерть у мышей. Механизм, благодаря которому действует данная смесь, неизвестен. Исследователи предполагают, что полифенолы зеленого чая предотвращают окисление, а гидролизированный коллаген и хондроитин сульфат препятствуют катаболизму в хрящевой ткани и/или повышают синтез хрящевой ткани.

Данный случай является первым, когда было продемонстрировано, что композиция, содержащая хондроитин, гидролизированный коллаген и экстракт зеленого чая, предотвращает развитие артроза и отдалает естественную смерть. Другим преимуществом является то, что стоимость композиции является относительно низкой; на самом деле данные три компонента дешевле других соединений, которые известны своей эффективностью в отношении лечения артроза, например, куркумина. В дополнение, данные соединения являются термостабильными в отличие от многих других соединений, известных в данной области техники для лечения артрита. Неожиданным преимуществом данного изобретения является увеличение времени жизни животного.

Пример 2

Исследование in vitro:

Было проведено исследование с целью оценки эффективности композиции, содержащей хондроитин, гидролизированный коллаген и зеленый чай, в отношении хондроцитов хряща кролика (RAC). RAC культивируют на минимальной эссенциальной среде Игла, модифицированной по способу Дульбекко (DMEM), обогащенной 10%

эмбриональной телячьей сывороткой и 1% пенициллином/стрептомицином (Gibco, Life Technologies AG, Швейцария), при температуре 37°C в инкубаторе с атмосферой 5% CO₂.

5 RAC помещают на 96-луночную плашку (105 клеток/см²). Среду замещают свежей средой, содержащей каждое соединение - хондроитин, гидролизованный коллаген и экстракт зеленого чая, или смесь всех трех соединений - за 24 часа до стимулирования при помощи ИЛ-1((10 нг/мл) (Merck Millipore, США). ИЛ-1(представляет собой провоспалительный цитокин, принимающий участие в патогенезе артрита. RAC далее инкубируют в течение 24 часов, после чего определяют выработку оксида азота (NO) 10 и простагландина E2 (ПГЕ2), являющихся маркерами артрита.

RAC помещают на 6-луночную плашку (3×10⁵ клеток/см²). Среду замещают свежей средой, содержащей каждое соединение - хондроитин, гидролизованный коллаген и экстракт зеленого чая, или смесь всех трех соединений - за 24 часа до стимулирования при помощи ИЛ-1((10 нг/мл) (Merck Millipore, США). RAC далее инкубируют в течение 15 48 часов, после чего определяют РНК-экспрессию циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2), индуцируемой изоформы синтазы оксида азота (iNoS) и матриксной металлопептидазы-13 (MMP13), являющихся маркерами артрита.

Анализ:

15 Жизнеспособность клеток определяют при помощи МТТ-теста (Cell Titer 96(MTS, Promega, Франция) в соответствии с инструкциями производителя. Клетки также подсчитывают при помощи счетной камеры Малассе, а жизнеспособность клеток оценивают при помощи техники окрашивания - вытеснения трипанового синего, при использовании которой мертвые клетки окрашиваются в синий цвет.

20 Выработку NO и ПГЕ2 определяют при помощи Cayman Chemicals (Bertin Pharma, Франция) в соответствии с протоколом производителя. Выработку NO определяют при помощи спектрофотометрии путем измерения аккумуляции нитритов в супернатантах культуры при помощи азосочетания с использованием стандартной кривой, составленной при помощи нитрита азота. ПГЕ2 определяют, применяя 25 высокочувствительный Набор для иммуноферментного анализа.

30 Выделение РНК производят путем выделения РНК при помощи Набора NucleoSpin (РНК II (Macherey-Nagel, Hoerd, Франция) в соответствии с инструкциями производителя. РНК является обратно транскрибированной при помощи Superscript III (Life Technologies), и полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (RT-PCR) проводят при помощи SYBR Select mix (Life Technologies). Последовательности праймера 35 ЦОГ-2, iNoS и MMP13 используют для подсчета относительной экспрессии РНК. Последовательность праймера глицальдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAPDH) используют в качестве референсного гена. В Таблице 3 перечислены последовательности праймера, используемые в Примере 2.

40	Аmplified gene	Bank of reference genes	Primer sequences	Size (number of nucleotide bases)
	ЦОГ-2	NM_001082388.1	Прямая: GGAAGCGCTCTACGGCGACA Обратная: CCCCAAAGATGGCATCCGGGC	3314
	iNos	AF198443.1	Прямая: TCACGTCCAGCGCTACAATA Обратная: TCGTCTCCAGTCCCATC	247
	MMP13	NM_001082037.1	Прямая: TTTTGAAGACACGGGCAAG Обратная: TCATCATAGCTCCAGACTTGGTT	3124
45	GAPDH	NM_001082253	Прямая: AGAACGGGAAGCTGGTCAT Обратная: TTGATGTTGGCGGGATCT	1282

Таблица 3

Результаты эксперимента из Примера 2 представлены в Таблице 4, расположенной

ниже.

Лечение	Лечение	Выработка ПГЕ2 (нг/мл)	Выработка NO (мкмоль)	Экспрессия ЦОГ	Экспрессия iNoS	Экспрессия MMP13
Отсутствие лечения	Отсутствие лечения	8,4	14,0	1,0	1,0	1,0
Отсутствие лечения	ИЛ-1((10 нг/мл)	91,1	24,9	9,9	6,2	378,9
Экстракт зеленого чая (50 мкмоль)	ИЛ-1((10 нг/мл)	10,3	19,4	4,3	6,7	79,3
Коллаген (0,5 мг/мл)	ИЛ-1((10 нг/мл)	-	-	7,1	3,9	240,1
Хондроитин (200 мкг/мл)	ИЛ-1((10 нг/мл)	-	-	10,7	5,3	451,0
Экстракт зеленого чая (50 мкмоль), коллаген (0,5 мг/мл) и хондроитин (200 мкг/мл)	ИЛ-1((10 нг/мл)	6,2	21,8	5,5	6,2	66,3

Таблица 4

Хондроциты хряща кролика (RAC) инкубируют с различными соединениями отдельно или вместе с их смесью для оценки цитотоксичности. Измерения при помощи МТТ-теста, а также теста на освобождение трипанового синего не выявили какой-либо клеточной токсичности через 24 и 48 часов инкубирования с экстрактом зеленого чая, хондроитином или гидролизированным коллагеном при применении большого диапазона концентраций (данные не показаны).

Предварительная обработка экстрактом зеленого чая, а также смесью экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена вызывает значительное дозозависимое ингибирование выработки NO и ПГЕ2 (Таблица 4) ($P < 0,05$).

Гидролизированный коллаген снижает экспрессию различных генов, в то время как складывается ощущение, что один хондроитин не оказывает никакого влияния. С другой стороны, экстракт зеленого чая, а также смесь экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена ингибируют экспрессию ЦОГ2 и MMP13, но не оказывают влияния на экспрессию iNos (Таблица 4).

Смесь экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена полностью изменяет влияние ИЛ-1 (на воспалительные цитокины и катаболические ферменты, такие как NO, ПГЕ2 и MMP13, таким образом демонстрируя свои противовоспалительные и антикатаболические свойства на модели заболевания *in vitro*).

Хондроитин (200 мкг/мл)	ИЛ-1((10 нг/мл)	-	-	10,7	5,3	451,0
Экстракт зеленого чая (50 мкмоль), коллаген (0,5 мг/мл) и хондроитин (200 мкг/мл)	ИЛ-1((10 нг/мл)	6,2	21,8	5,5	6,2	66,3

Таблица 4

Хондроциты хряща кролика (RAC) инкубируют с различными соединениями отдельно или вместе с их смесью для оценки цитотоксичности. Измерения при помощи МТТ-теста, а также теста на освобождение трипанового синего не выявили какой-либо клеточной токсичности через 24 и 48 часов инкубирования с экстрактом зеленого чая, хондроитином или гидролизированным коллагеном при применении большого диапазона концентраций (данные не показаны).

Предварительная обработка экстрактом зеленого чая, а также смесью экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена вызывает значительное дозозависимое ингибирование выработки NO и ПГЕ2 (Таблица 4) ($P < 0,05$).

Гидролизированный коллаген снижает экспрессию различных генов, в то время как складывается ощущение, что один хондроитин не оказывает никакого влияния. С другой стороны, экстракт зеленого чая, а также смесь экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена ингибируют экспрессию ЦОГ2 и MMP13, но не оказывают влияния на экспрессию iNos (Таблица 4).

Смесь экстракта зеленого чая, хондроитина и гидролизованного коллагена полностью изменяет влияние ИЛ-1(на воспалительные цитокины и катаболические ферменты, такие как NO, ПГЕ2 и MMP13, таким образом демонстрируя свои противовоспалительные и антикатаболические свойства на модели заболевания *in vitro*.

(57) Формула изобретения

1. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина, для профилактики или лечения артрита у кошки или собаки.
2. Применение по п. 1, где артрит представляет собой остеоартрит.
3. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина, для увеличения средней продолжительности жизни у кошки или собаки.
4. Применение композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина, для замедления старения у кошки или собаки.
5. Применение по пп. 1-4, где композиция находится в форме корма.
6. Способ лечения артрита у кошки или собаки, включающий введение животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина.
7. Способ лечения артрита по п. 6, где артрит представляет собой остеоартрит.
8. Способ увеличения средней продолжительности жизни у кошки или собаки, включающий введение животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина.
9. Способ замедления старения кошки или собаки, включающий введение указанному животному композиции, включающей 50 мкмоль экстракта зеленого чая, 0,5 мг/мл гидролизованного коллагена и 200 мкг/мл хондроитина.

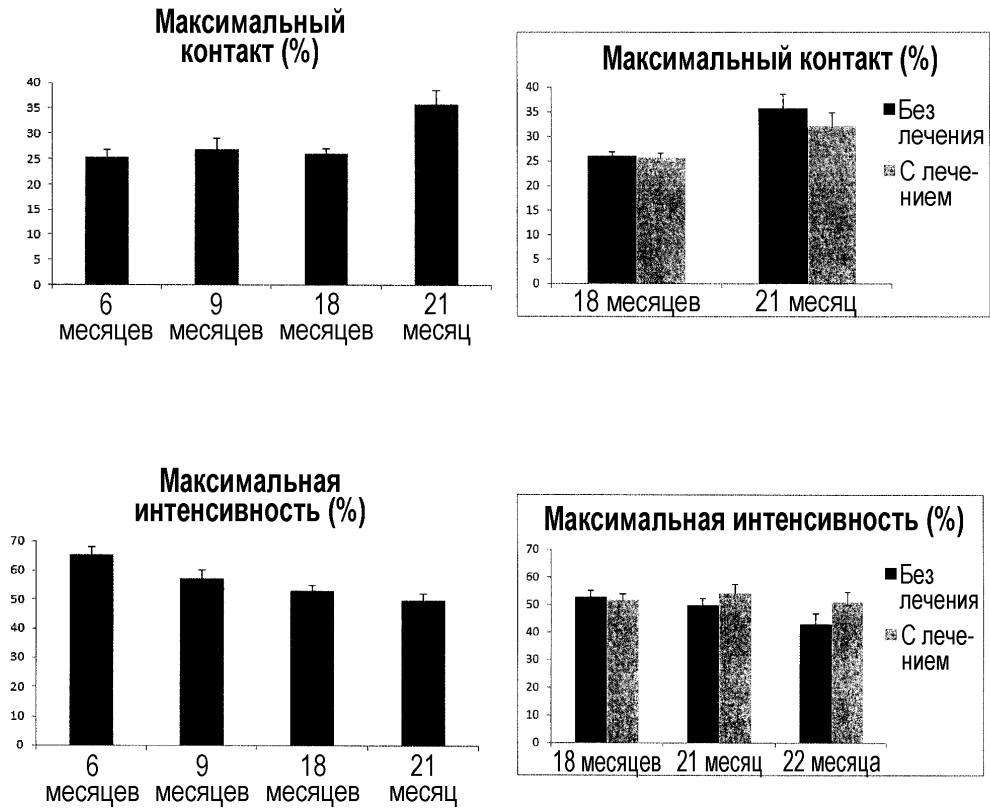
1/4

Рентгенологическая оценка артрита



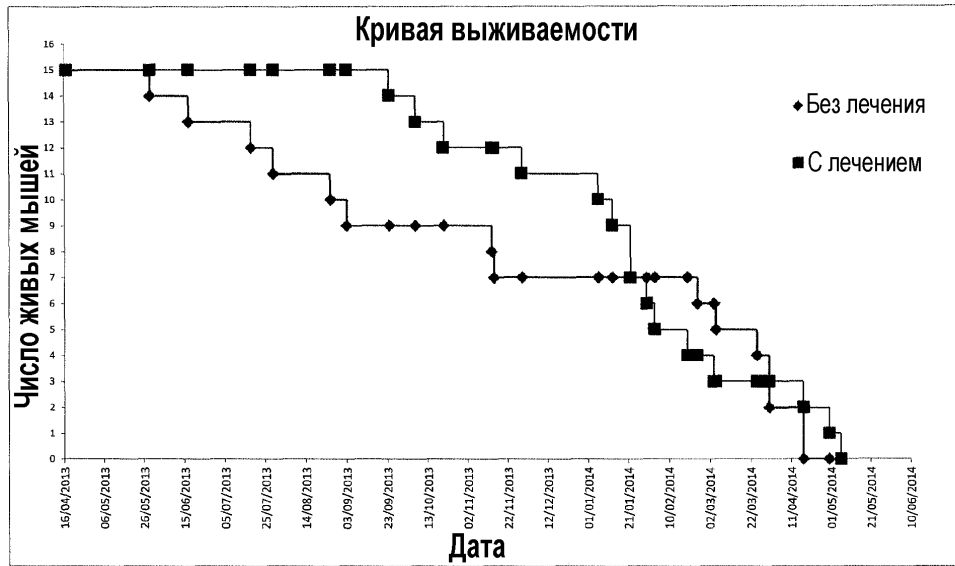
ФИГ. 1

2/4



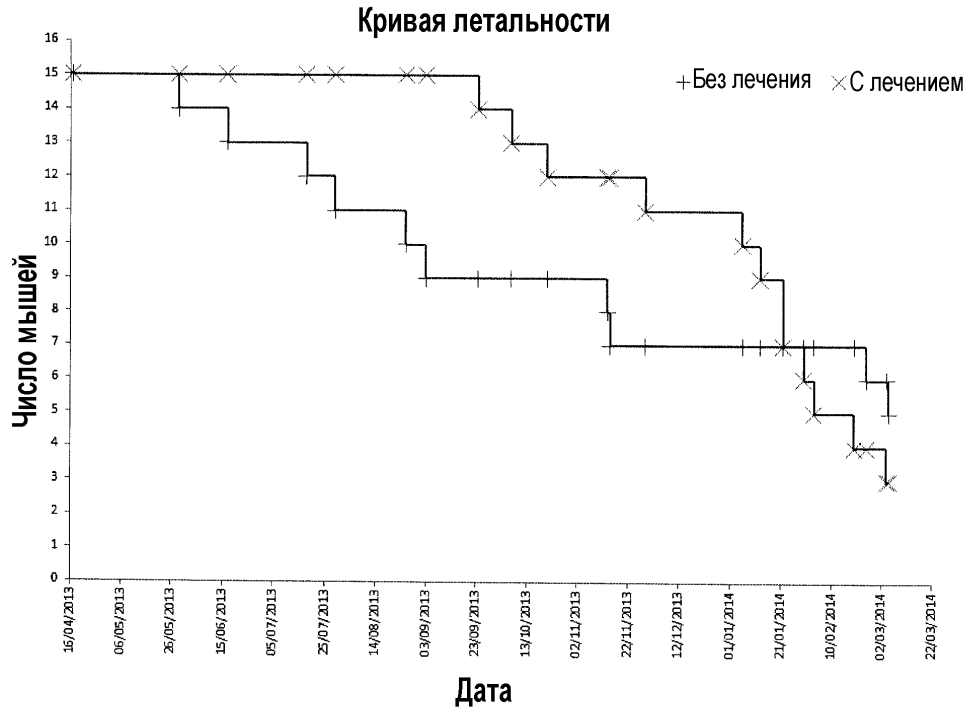
ФИГ. 2

3/4



ФИГ. 3

4/4



ФИГ. 4