



(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2013.07.30

(21) Номер заявки
200970942

(22) Дата подачи заявки
2008.04.14

(51) Int. Cl. *A61K 36/48* (2006.01)

(54) **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЙ ИЛИ КОНСЕРВИРУЮЩИЙ
ЭКСТРАКТ ПАЖИТНИКА СЕННОГО (TRIGONELLA FOENUM-GRÆCUM), СПОСОБ
ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ ЭКСТРАКТА**

(31) 60/911,653

(32) 2007.04.13

(33) US

(43) 2010.04.30

(86) PCT/DK2008/050086

(87) WO 2008/125120 2008.10.23

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
В-БАЙОТЕК ХОЛДИНГ ЭйПиЭс
(DK)

(72) Изобретатель:
Ольсен Енс Стеен (DK)

(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(56) PARVIZPUR A. ET AL.: "Spinal serotonergic system is partially involved in antinociception induced by *Trigonella foenum-graecum* (TFG) leaf extract" JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD., IE, vol. 95, no. 1, 1 November 2004 (2004-11-01), pages 13-17, XP004564813 ISSN: 0378-8741 abstract paragraph [02.1] - paragraph [02.5].

O'MAHONY R. ET AL.: "Bactericidal and anti-adhesive properties of culinary and medicinal plants against *Helicobacter pylori*" WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY, WJG PRESS, CN, vol. 11, no. 47, 1 January 2005 (2005-01-01), pages 7499-7507, XP003023870 ISSN: 1007-9327 abstract tables 1, 2 Discussion

RANDHIR REENA ET AL.: "Phenolics, their antioxidant and antimicrobial activity in dark germinated fenugreek sprouts in response to peptide and phytochemical

elicitors". ASIA PACIFIC JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION 2004, vol. 13, no. 3, 2004, pages 295-307, XP008104561 ISSN: 0964-7058 abstract page 295 page 298 - page 299 page 305, column 1, paragraph 2

BHATIA K. ET AL.: "Aqueous extract of *Trigonella foenum-graecum* L. ameliorates additive urotoxicity of buthionine sulfoximine and cyclophosphamide in mice" FOOD AND CHEMICAL TOXICOLOGY, PERGAMON, GB, vol. 44, no. 10, 1 October 2006 (2006-10-01), pages 1744-1750, XP025065515 ISSN: 0278-6915 [retrieved on 2006-10-01] abstract paragraph [0001], paragraph [2.1.1], paragraph [0004]

BIN-HAFEEZ BILAL ET AL.: "Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) extract in mice" INTERNATIONAL IMMUNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 3, no. 2, 1 February 2003 (2003-02-01), pages 257-265, XP002482573 ISSN: 1567-5769 abstract paragraph [0001], paragraph [02.1], paragraph [0004]

STARK A. ET AL.: "THE EFFECT OF AN ETHANOL EXTRACT DERIVED FROM FENUGREEK (*TRIGONELLA FOENUM-GRÆCUM*) ON BILE ACID ABSORPTION AND CHOLESTEROL LEVELS IN RATS" BRITISH JOURNAL OF NUTRITION, CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, CAMBRIDGE, GB, vol. 69, no. 1, 1 January 1993 (1993-01-01), pages 277-287, XP000879070 ISSN: 0007-1145 the whole document

PEMONGE ET AL.: "Effects of Materials and Extracts of *Trigonella foenum-graecum* against the Stored Product Pest *Tribolium castaneum* (Herbst)" JOURNAL OF STORED PRODUCTS RESEARCH, PERGAMON PRESS, OXFORD, GB, vol. 33, no. 3, 1 January 1997 (1997-01-01), pages 209-217, XP002321880 ISSN: 0022-474X abstract page 210, paragraph 2 page 215 - page 216 figure 2

(57) Описан экстракт, получаемый из *Trigonella foenum-gracum*. В частности, экстракт получают способом, включающим стадии получения смеси растительного материала, полученного из *Trigonella foenum-gracum*, и жидкости, инкубации указанной смеси в течение по меньшей мере 3 ч, нагревания указанной смеси и выделения жидкого экстракта из смеси. Экстракт применяют в производстве различных типов композиций, таких как фармацевтические композиции, дезинфицирующие или консервирующие средства. Фармацевтическая композиция может использоваться для лечения или предупреждения воспалительного состояния или инфекционного заболевания.

Все ссылки на патенты и на непатентные публикации, приведенные в данной заявке, в полном объеме включены в нее посредством ссылки.

Область техники изобретения

Данное изобретение относится к экстракту *Trigonella foenum-gracum* и композициям, включающим этот экстракт. Кроме того, изобретение относится к применению экстракта и к способам применения экстракта. В частности, изобретение относится к фармацевтическим композициям, содержащим указанный экстракт, и к его применению для лечения воспалительных и инфекционных состояний. Другой аспект данного изобретения относится к применению экстракта *Trigonella foenum-gracum* для получения или при получении дезинфицирующих или очищающих средств.

Уровень техники изобретения

Пажитник (*Trigonella foenum-gracum*).

Пажитник (*Trigonella foenum-gracum*), широко известный как сераделла, греческое сено, шамбала, *bockshornsame*, *Methi* и *hu lu ba* - это трава, известная в области интегративной медицины.

Пажитник используется как в качестве травы (листья), так и в качестве семян. Пажитник и средства на его основе традиционно используют в качестве успокоительного, слабительного, стимулятора лактации. Пажитник является обычным компонентом в аюрведической медицине. Пажитник и средства на его основе предлагались для лечения различных состояний, таких как облысение, артрит, рак, диабет, нарушения работы желудочно-кишечного тракта, высокий уровень холестерина, стимуляция родовой деятельности, инфекции, воспаление, стимуляция лактации, лимфаденит, мышечная боль, стимуляция мочеиспускания, кожные язвы, заживление ран. *In vitro* экстракт пажитника проявляет антимикробную и нематоцидную активность (ссылка: Zia et al. (2001) *Phytotherapy Research* 15:538). Механизм действия изучен слабо. Большинство традиционных способов применения пажитника, вероятно, обусловлены высоким содержанием в нем клетчатки.

Комиссия по контролю за лекарственными и пищевыми средствами (FDA) описывает пажитник как "в целом считающийся безопасным", наряду с этим, сообщалось о таких побочных эффектах, как кровотечение, кровоподтеки, метеоризм, диарея, желудочно-кишечное заболевание и гипогликемия.

По ссылкам, приведенным на сайте Мемориального онкологического центра Слоуна-Кеттеринга, в которых рассматривается применение трав в интегративной медицине, в пажитнике определяют следующие вещества: алкалоиды: тригонеллин (при обжиге дает никотиновую кислоту), гентианин, карпайн, холин; белки и аминокислоты: 4-гидроксизолейцин, гистидин, лизин, аргинин; флавоноиды: апигенин, лютеолин, ориентин, витексин, кверцетин; сапонины: граекунины, фенугрин В, фенугрекин (*fenugreekine*), тригофоенозиды А-Г; стероидные сапонины: ямогенин, диосгенин, смилагенин, сарсасапогенин, тигогенин, неотигогенин, гитогенин, неогитогенин, юккагенин; клетчатка: камедь, нейтрально детергентное волокно; другое: кумарин, липиды, витамины, минералы.

Один их компонентов пажитника, сапонин, является мягким детергентом и используется применительно к мягкой очистке старинных манускриптов и текстиля. В исследованиях свойства пермеабиллизации мембраны используются применительно к внутриклеточному гистохимическому окрашиванию, чтобы дать возможность антители проникнуть к внутриклеточным белкам через мембрану.

Сущность изобретения

Один из аспектов данного изобретения относится к экстракту, получаемому способом, включающим стадии получения смеси растительного материала, полученного из *Trigonella foenum-gracum*, и жидкости, инкубации указанной смеси по меньшей мере в течение 3 ч, нагревания указанной смеси и выделения жидкого экстракта из смеси.

Экстракт может входить в состав различных типов композиций, таких как фармацевтические композиции, дезинфицирующие или консервирующие средства.

Другой аспект настоящего изобретения относится к применению указанного экстракта, такому как получение лекарственных средств для лечения или предупреждения воспалительного состояния или инфекционного заболевания.

Подробное описание изобретения

Данное изобретение касается экстракта пажитника, получаемого определенным способом, и композиций, включающих указанный экстракт, для лечения, например, инфекций. Инфекции включают бактериальную инфекцию, другую микробную инфекцию и вирусную инфекцию. Предпочтительно инфекции представляют собой кожную инфекцию, инфекцию слизистых оболочек, инфекции желудочно-кишечного тракта и инфекции горла и ротовой полости. Субъектами, подвергающимися лечению указанным экстрактом и композициями на его основе, являются люди и млекопитающие, предпочтительно люди и домашние животные. Данное изобретение также относится к лечению воспалительных состояний, которые могут быть вызваны или ассоциированы с инфекцией.

Способ получения экстракта *Trigonella foenum-gracum*.

Один из аспектов изобретения относится к получению экстракта растительного материала по меньшей мере одного растения рода *Trigonella*. В предпочтительном варианте указанный растительный материал получают от *Trigonella foenum-gracum*.

Способ получения указанного экстракта по изобретению включает:

- a) получение смеси растительного материала и жидкости,
- b) инкубацию указанной смеси в течение по меньшей мере 3 ч,
- c) нагревание указанной смеси,
- d) выделение жидкого экстракта из смеси, например, при помощи отделения оставшегося растительного материала от смеси.

Растительный материал может представлять собой целое растение, листья, семена или корни указанного растения или сочетания указанных растительных материалов. Растительный материал может быть свежим, замороженным, сушеным или их комбинациями. В предпочтительном варианте осуществления растительный материал представляет собой семена *Trigonella foenum-gracum*, наиболее предпочтительно сушеные семена указанного растения.

Чтобы облегчить экстракцию активных ингредиентов из растительного материала, указанный растительный материал вымачивают в жидкости, предпочтительно в воде. Смесь жидкости и растительного материала инкубируют в течение по меньшей мере 3 ч, более предпочтительно в течение по меньшей мере 6 ч, предпочтительно в течение по меньшей мере 12 ч, как, например, по меньшей мере 24 ч. Инкубацию обычно проводят при температуре от 0 до 45°C, подходящей является температура от 10 до 40°C.

Затем смесь, содержащую растительный материал, вымоченный в жидкости, нагревают предпочтительно до температуры выше коагуляции белков. В определенном аспекте изобретения смесь кипятят.

Смесь по изобретению включает растительный материал и жидкость. Весовое соотношение указанного растительного материала и указанной жидкости в указанной смеси 1:1 или предпочтительно меньше растительного материала по весу, как, например, 1:2, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:3, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:4, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:5, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:6, меньше растительного материала по весу, как, например, 1:7, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:8, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:9, или меньше растительного материала по весу, как, например, 1:10. В предпочтительном варианте осуществления соотношение указанного растительного материала и указанной жидкости составляет 1:6.

Во время нагревания смеси дополнительную жидкость можно добавить по меньшей мере один раз, чтобы компенсировать испарившуюся жидкость и жидкость, которую избрал растительный материал. Жидкость нагревают в течение по меньшей мере 5 мин, как, например, от 10 до 45 мин, более предпочтительно от 20 до 30 мин, как, например, 20 мин. Нагревание можно заканчивать, когда зародыш выходит из семян, что связано с возросшей вязкостью смеси.

В одном варианте перед или после стадии нагревания смесь замораживают (предпочтительно при -18°C) по меньшей мере 3 ч, предпочтительно более чем 6 ч, как, например, 12 ч или более чем 12 ч. Затем смесь может быть подвергнута второй стадии нагревания перед выделением экстракта, например, путем удаления оставшегося растительного материала. Стадия замораживания проводится дополнительно, чтобы увеличить выход активных ингредиентов из растительного материала.

Объем конечного концентрированного экстракта, получаемого из 1/2 кг такого растительного материала, как семена, составляет приблизительно 2 л.

Для долгосрочного консервирования экстракт можно заморозить. В зависимости от применения экстракт можно растворять в воде или использовать в исходном виде. В дальнейшем экстракт можно концентрировать путем удаления растворителя. Растворитель можно удалять любыми подходящими способами, такими как мембранная фильтрация, выпаривание, осаждение, экстракция, азеотропная дистилляция, лиофилизация, сушка распылением и их комбинациями.

Если не ограничиваться рамками теории считается, что описанный способ приводит к эффективному выходу одного или более активных ингредиентов из растительного материала. Как описано в разделе "Уровень техники изобретения", растения и растительные материалы, такие как растительный материал из *Trigonella foenum-gracum*, включают активные ингредиенты, обладающие различными эффектами.

Экстракт по изобретению может быть очищен любым подходящим способом для выделения активного(ых) ингредиента(ов). Таким образом, экстракт может быть фракционирован с использованием гель-фильтрации, ВЭЖХ (высокоэффективная жидкостная хроматография), экстракции, осаждения и т.д. В способе, используемом в настоящее время, экстракт фракционируют, используя ВЭЖХ. В конкретном способе активный(ые) ингредиент(ы) включается в экстрагированную фракцию, полученную хроматографией с обращенной фазой начального экстракта на Lichroprep RP-18 размер В (40-63 мкм) (Merck), используя следующий градиент: 0-1 мин H₂O/AcN 98:2, затем используя градиент от 1-40 мин до 100% и собирая фракцию в интервале от 5 до 10 мин.

Экстракт, полученный способом по изобретению, особенно полезен при описанных показаниях к применению, которые, как считается, отражают профиль активного(ых) ингредиента(ов), выходящих из растительного материала в экстракт, в единицах качества и количества.

Для сравнительных целей экстракт был получен без стадии инкубации. Анализ экстракта по изобретению и экстракта, полученного для сравнения, посредством ВЭЖХ показывает существенные различия в композиции. Анализ приведен в примере 13.

Состояния, подлежащие лечению.

Инфекции.

Термин "инфекция" касается пагубной колонизации организма-хозяина чужеродными инфекционными видами. Ответом хозяина на инфекцию является воспаление. Инфекционные виды включают бактерий, паразитов, грибы и вирусы.

Один из аспектов изобретения касается применения композиции, включающей экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, для лечения инфекционных заболеваний.

Бактериальная инфекция.

В данном контексте под "бактериальной инфекцией" следует понимать инвазию в норме стерильных тканей хозяина бактериями. Бактериальная инфекция по изобретению может возникать из-за инвазии как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий или их комбинации с этими или другими инфекционными агентами, включая грибы и вирусы.

Предпочтительный вариант осуществления изобретения касается применения композиции, включающей экстракт растительного материала, такого как экстракт пажитника, описанный здесь, для лечения бактериальных инфекций. В другом варианте осуществления изобретения инфекция представляет собой комбинацию бактериальной инфекции и инфекции другими видами, такими как грибы и вирусы.

Импетиго.

Термин "импетиго" относится к нескольким различным инфекционным кожным заболеваниям. Контагиозное импетиго представляет собой поверхностную, внутриэпидермальную, однокамерную, везикулярно-пустулезную инфекцию. Контагиозное импетиго является наиболее частой кожной инфекцией у детей. Буллезное импетиго представляет собой эритродермию, вызванную токсинами, при которой слой кожного эпидермиса отторгается, что приводит к потере больших участков кожного покрова. Обычное импетиго - это термин, применяемый, когда инфекция возникает в уже существующих ранах. Импетиго также может быть представлено как фолликулит, который относят к импетиго волосяных фолликул, вызванному *Staphylococcus aureus*. Эктима представляет собой более глубокое, изъязвленное инфекционное импетиго, часто сопровождаемое лимфоденитом. Импетиго вызывают два основных типа бактерий: стрептококки и стафилококки. Как одних, так и других, как правило, обнаруживают в окружающей среде и на поверхности кожи большинства людей.

Вариант осуществления настоящего изобретения касается применения композиции, включающей экстракт пажитника, описанный здесь, для лечения импетиго.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения патологическое состояние вызывают стрептококковые и стафилококковые инфекции, такие как *Staphylococcus aureus*.

Пародонтальные заболевания.

Пародонтит (пародонтоз, парадентоз, пиорея) - это дентальное нарушение, которое появляется в результате прогрессирования гингивита, включающего воспаление и инфекцию периодонта и костей, которые защищают зубы.

Если не лечить его годами, то оно может привести к потере кости, защищающей зубы, и в конечном итоге к потере зубов. Процесс может распространяться на один или более зубов.

Гингивит связан с наличием небольшого дискомфорта или его отсутствием, наряду с гиперемированными, опухшими и склонными к кровоточению деснами. Гингивит часто бывает вызван неправильной гигиеной ротовой полости, при которой бактерии остаются в налете на зубах, вызывая воспаление десен. Гингивит обратим при помощи профессионального лечения и хорошего ухода за ротовой полостью в домашних условиях. Если не лечить гингивит, налет может распространяться и перерасти за линию десен и процесс может прогрессировать до периодонтита. Токсины, выделяемые бактериями в налете, инициируют воспалительный ответ в деснах, который может стать хроническим и разрушить кость, защищающую зубы. Десны отделяются от зубов, формируя карманы (пространства между зубами и деснами), которые инфицируются. При прогрессии заболевания карманы углубляются, и разрушается больше ткани десен и кости. Часто деструктивный процесс имеет очень слабо выраженные симптомы. В конечном счете, зубы могут расшатываться, и может возникнуть необходимость их удаления.

Хронический периодонтит считают наиболее частой формой периодонтита. Хронический периодонтит приводит к воспалению внутри тканей, защищающих зубы, прогрессирующей потере прикрепления и костей и характеризуется формированием кармана и/или рецессией десен (gingiva). Он широко распространен у взрослых и является главной причиной потери зубов у взрослых, но заболевание может возникнуть в любом возрасте. Прогрессия потери прикрепления обычно протекает медленно, но могут случаться периоды быстрой прогрессии.

Острый периодонтит является состоянием, которое поражает пациента, который в других отношениях клинически здоров. Общие признаки включают быструю потерю прикрепления и разрушение костей и семейную предрасположенность. Периодонтит часто начинается в молодом возрасте, наряду с одним или несколькими системными заболеваниями, такими как диабет или остеопороз (периодонтит как проявление системных заболеваний).

Некротическое заболевание периодонта является другой формой инфекции, характеризующейся некрозом тканей десны, периодонтальной связки и альвеолярной кости. Это состояние чаще всего связано с системными состояниями, включающими, но не ограничиваясь этим, ВИЧ инфекцию, неполноцен-

ное питание и иммуносупрессию.

Наряду с бактериальным налетом, другие факторы, влияющие на здоровье десен, включают курение, генетику, беременность, половое созревание, стресс, лекарственную терапию, сжатие/притирку зубов, недостаточное питание, диабет и другие системные заболевания.

Гингивит обычно исчезает при хорошем уходе за собой. В отличие от этого, периодонтит требует повторного профессионального лечения. Человек, проводящий хорошую гигиену ротовой полости, может очистить карманы лишь на 2-3 мм (1/12 дюйма) ниже линии десен. Стоматолог может очистить карманы до 4-6 мм глубиной (1/5 дюйма), используя удаление зубного камня и сглаживания корня зуба, которое полностью удаляет налет и пораженную поверхность корня. Для карманов в 5 мм (1/4 дюйма) или более часто требуется хирургическое вмешательство. Стоматолог или стоматолог-периодонтолог может достать зуб ниже линии десны хирургическим путем (хирургия мягких тканей периодонта), чтобы полностью очистить зуб и исправить дефекты кости, вызванные инфекцией. Стоматолог или стоматолог-периодонтолог также может удалить часть инфицированной и отделенной десны (гингивэктомия) так, чтобы остаток десны мог заново плотно прикрепиться к зубам, и пациент мог бы затем удалять налет дома. Стоматолог может выписать антибиотики (такие как тетрациклины или метронидазол), особенно если развился абсцесс. Стоматолог может также внедрить насыщенные антибиотиками материалы (филаменты или дели) в глубокие десневые карманы так, чтобы высокие концентрации лекарственного средства могли достигнуть пораженной области. Периодонтальные абсцессы вызывают всплеск разрушения кости, но немедленное хирургическое вмешательство и антибиотики могут позволить срастись большинству поврежденных костей. Если ротовая полость воспалена после хирургического вмешательства, полоскание ротовой полости с хлоргексидином, применяемое в течение 1 мин дважды в день, может временно заменить чистку зубной щеткой и зубной нитью.

Если пациент имеет карманы глубиной 5 мм (1/4 дюйма) или глубже вокруг большинства зубов, тогда может существовать риск с годами потерять все зубы. Если это не выявлено и пациент не подозревает о прогрессирующем периодонтальном заболевании, тогда несколько лет спустя он может быть удивлен, что большинство зубов окажутся расшатанными и большинство из них следует удалить.

Системное фармацевтическое лечение гингивита, периодонтита (острого и хронического), периодонтита как проявления системных заболеваний и некротических заболеваний периодонта, используя тетрациклины, связано с рядом недостатков во время лечения: быстрое появление устойчивых к тетрациклину бактериальных штаммов и появление избыточного роста нечувствительных патогенов, таких как *Candida*. Краткосрочное лечение периодонтальной инфекции тетрациклинами часто неэффективно. Было показано, что пенициллины, которые, как правило, являются более эффективными антимикробными композициями против анаэробных бактерий, неэффективны против штаммов бактерий, играющих важную роль в перидентальных инфекциях (например, *P. gingivalis*).

Ограничения и недостатки, описанные выше для применяемых в настоящее время хирургических и нехирургических методов лечения, раскрывают неудовлетворенную потребность в эффективном лечении таких состояний в ротовой полости.

Один вариант осуществления изобретения касается применения композиции, содержащей экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, для лечения инфекций в ротовой полости.

Один наиболее предпочтительный вариант осуществления изобретения касается применения композиции, содержащей экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, для лечения периодонтальных заболеваний, таких как гингивит, периодонтит (острый и хронический), периодонтит, как проявления системных заболеваний, и некротические заболевания периодонта.

Галитоз (или неприятный запах изо рта) является распространенным временным патологическим состоянием, таким как "утреннее дыхание". Хронический галитоз, который является более серьезным и устойчивым патологическим состоянием, обычно вызывает постоянная избыточная популяция конкретных видов бактерий, живущих в ротовой полости. Хронический галитоз часто связан с периодонтальными заболеваниями, описанными здесь.

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется для лечения галитоза. В предпочтительном варианте осуществления указанный галитоз является хроническим галитозом.

Фарингит.

Фарингит, также известный как больное горло, представляет собой боль в задней части глотки при глотании или без него. Большинство случаев представляют собой инфекционный, либо вирусный, либо бактериальный (такой как вызванный стрептококками) фарингит.

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется для лечения фарингита. В другом варианте осуществления изобретения указанный фарингит является фарингитом, вызванным стрептококком.

Вирусная инфекция.

Вирусная инфекция относится к инфекции, вызванной вирусом. В отличие от бактериальной, ви-

русная репликация зависит от клетки хозяина, используя такие системы хозяина, как транскрипционный фактор и трансляционные механизмы. Наиболее распространенные заболевания у человека, вызванные вирусами, включают обычную простуду, грипп, герпесы и папилломы.

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется при лечении вирусных инфекций, таких как обычная простуда, грипп, герпесы и папилломы.

Герпесы.

Герпесы (оральный герпес, *Herpes labialis*) вызывает инфекция вирусом простого герпеса 1 (HSV-1), которая проявляется в качестве болезненных, водянистых пузырей на коже или слизистых оболочках, расположенных во рту или на губах.

Доступные способы лечения герпесов включают применение противовирусных лекарственных средств, таких как ацикловир и валацикловир, которые снижают длительность симптомов и ускоряют заживление. Лечение этого состояния не существует.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется в лечении герпесов.

Простуда.

Простуда (острый вирусный ринофарингит) представляет собой легкое вирусное инфекционное заболевание верхних респираторных путей дыхательной системы. Простуда является самым частым из всех заболеваний человека, и это состояние обычно длится несколько дней с остаточными симптомами кашля еще в течение нескольких недель. Продуктивна передача вируса от человека к человеку, и дети, члены семьи и сиделки находятся в группе высокого риска. Заболеваемость простудой высока, несколько инфекций на взрослого человека в год и даже больше для ребенка. Вирусы, связанные с простудой, включают риновирусы, коронавирусы и также конкретные ЕСНО-вирусы, парамиксовирусы и вирусы Коксаки. Простуда сама по себе не опасна для жизни, однако, она ослабляет иммунную систему, и впоследствии могут возникнуть такие осложнения, как пневмония. До сегодняшнего момента не существует подтвержденного лечения простуды.

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется в лечении простуды.

Бородавки.

Бородавки представляют собой часто встречающиеся доброкачественные эпидермальные очаги поражения, связанные с инфекцией вирусом папилломы человека (HPV). Бородавки относятся к ряду состояний, которые отличаются по типу папилломавируса, вызывающего это состояние, морфологии, проявлению на теле, как, например, на пальцах, ступнях, лице, как, например, на губах или около век, или в генитальных областях. Примеры бородавок включают обыкновенную бородавку (*verruca vulgaris*), вызываемую HPV 1, 2, 4, 27 и 29, плоскую бородавку (*verruca plana*), вызываемую HPV 3, 10, 28 и 49, нитевидную или пальчатую бородавку, ладонную и подошвенную бородавку (*verruca, verruca pedis*), вызываемую HPV 1, мозаичную бородавку и генитальную бородавку (венерическая бородавка, остроконечная кондилома, *verruca acuminata*).

Помимо того что бородавки болезненны, они могут также являться и косметической проблемой; не существует эффективного лечения бородавок, которые часто появляются вновь через несколько месяцев или лет после окончания доступного лечения.

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется для лечения таких бородавок, как бородавки, расположенные на пальцах, ступнях, лице, как, например, на губах или около век, или в генитальных областях.

Инфекции глаз и области вокруг глаз.

Один вариант осуществления изобретения относится к применению экстракта или композиции, включающей указанный экстракт, для лечения инфекций глаз и/или органов, прилегающих к глазу, таких как глазные веки. Данное состояние может включать воспаление, бактериальную инфекцию, вирусную инфекцию или их комбинации.

Воспаление.

Воспаление представляет собой защитную реакцию, вызванную повреждением ткани из-за механического ранения или бактериальной, вирусной инфекции или инфекции другими организмами. Воспалительный ответ включает три основных стадии: первая, дилатация капилляров, чтобы увеличить приток крови; вторая, микроваскулярные структурные изменения и выброс белков плазмы из кровотока; и третья, миграция лимфоцитов сквозь эндотелий и аккумуляция в участке повреждения и инфекции. Воспалительный ответ начинается с выброса медиаторов воспаления. Медиаторы воспаления представляют собой растворимые, способные к диффузии молекулы, которые действуют локально в участке повреждения ткани и инфекции, и в наиболее близких участках, оказывая влияние на последовательные события воспалительного ответа. Медиаторы воспаления могут быть экзогенными, например бактериальные продукты или токсины, или эндогенными, которые продуцируются внутри самой иммунной системы, в том

числе клетки поврежденных тканей, лимфоциты, тучные клетки и белки крови. Воспалительные состояния связаны с различными тканями. Примеры воспалительных состояний включают астму, дерматит, такой как пеленочный дерматит, акне, воспалительные процессы в желудочно-кишечном тракте, такие как болезнь Крона, воспалительные заболевания кишечника (такие как язвенный колит).

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется в лечении состояния, включающего воспаление, такого как астма, дерматит, такой как пеленочный дерматит, акне, воспалительные процессы в желудочно-кишечном тракте, такие как болезнь Крона, воспалительные заболевания кишечника (такие как язвенный колит).

В одном предпочтительном варианте осуществления изобретения экстракт или композиция, включающая указанный экстракт, используется для лечения акне (*acne vulgaris*), которое является типичным воспалительным заболеванием кожи, часто связанным с бактериальной инфекцией.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения экстракт или композиция, включающая указанный экстракт, используется для лечения акне (*acne vulgaris*), включающего бактериальную инфекцию.

В другом предпочтительном варианте осуществления изобретения экстракт или композиция, включающая указанный экстракт, используется для лечения дерматита, такого как пеленочный дерматит (опрелость).

Раны.

Термин "рана" относится к участку кожи или слизистой оболочки (такой как слизистая оболочка ротовой полости, слизистая оболочка желудка и кишечника). Рана может являться результатом инфекции, ранения или хирургического вмешательства. Рана по изобретению также включает хронические раны и язвы.

Один предпочтительный вариант осуществления изобретения относится к применению композиции, включающей экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, для лечения или предупреждения инфекции раны, такой как хирургическая рана, резаные раны, проникающее ранение, ранение колющим оружием, царапина, хроническая рана или язва.

Раны также могут возникать как результат укусов. Укусы человека и млекопитающих (в основном собак и кошек, но также белки, песчанки, кролика, морской свинки и обезьяны) являются распространенными и порой вызывают клинические проявления и потерю работоспособности. Наиболее часто пораженными оказываются руки, конечности и лицо, кроме того, укусы человека могут порой затрагивать молочные железы и гениталии. В дополнение к травме тканей, основной проблемой является инфекция флорой ротовой полости укусившего.

В одном варианте осуществления изобретения композиция, включающая экстракт растительного материала, такой как экстракт пажитника, описанный здесь, используется для лечения укусов, нанесенных человеком или млекопитающим, предпочтительно собакой.

Композиции, включающие экстракт *Trigonella foenum-gracum*.

В одном варианте осуществления изобретения экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-gracum*, используется для получения фармацевтической композиции.

Концентраты экстракта по изобретению или фракции экстракта также входят в рамки изобретения. В частности, концентраты, в которых практически весь растворитель был удален, а экстракт присутствует в качестве сухого порошка, может использоваться для получения лекарственного средства. Так как некоторые фракции экстракта показали более высокие эффекты, чем другие, в определенном аспекте изобретения является предпочтительным использование фракций, содержащих активные компоненты, для производства фармацевтических композиций.

Фармацевтическая композиция, включающая экстракт *Trigonella foenum-gracum*, может быть составлена несколькими различными способами, в зависимости от цели конкретного лекарственного средства и типа введения. Специалист в данной области вполне может составить композиции в соответствии с предпочтительным типом введения.

Лекарственное средство, включающее экстракт по изобретению, может быть получено, используя любую традиционную технологию, например, как описано у Ремингтона *The Science and Practice of Pharmacy* 1995, издано E.W. Martin, Mack Publishing Company, 19 дополнение, Easton, Pa.

Лекарственное средство может включать фармацевтически приемлемые добавки, такие как любые традиционно используемые фармацевтически приемлемые добавки, которые следует выбирать, исходя из конкретной лекарственной формы, пути введения и т.д. Например, фармацевтически приемлемые добавки могут представлять собой любые принятые добавки из "списка неактивных ингредиентов" Комиссии по контролю за лекарственными и питательными средствами, который, например, доступен по Интернет-адресу <http://www.fda.gov/cder/drug/iig/default.htm>.

Формы местного применения.

Один предпочтительный вариант осуществления изобретения предоставляет фармацевтическую композицию, изготовленную для местного применения на очаговой, наружной и ограниченной поверхности, такой как рана, герпес, бородавка, акне, опрелость.

В вышеуказанном варианте осуществления лекарственное средство может быть изготовлено в виде мази, лосьона, крема, смеси для ванны, геля, пасты, молочка, суспензии, аэрозоля, спрея, пленки, пены, сыворотки, тампона, компресса, подушечки, пластыря, порошка, пасты, линименты, вязкой эмульсии, кашицы или другой лекарственной формы, которая подходит для местного применения.

Такие композиции для местного применения могут дополнительно включать физиологически приемлемые компоненты, такие как носители, поверхностно-активные соединения, консерванты, стабилизаторы, буферы, эксципиенты и эмульгаторы, подходящие для этого типа введения. Подходящие компоненты для местных систем доставки предпочтительно выбирают из компонентов, которые не вызывают избыточного или неизбежного раздражения или боли у реципиента. Носители включают разбавители и обеспечивают среду, в которой растворены, диспергированы или распределены фармацевтические составляющие.

Лекарственное средство по изобретению может включать, но не ограничивается этим, носитель, такой как жидкая водная основа, жидкая неводная основа, водорастворимый гель, минерально-масляная основа, эмульсия, мазь, крем, гель или лосьон, суспензия твердых частиц в жидкости.

Местная доступность зависит от двух противоположных факторов: способности растворяться в носителе (геле, креме - гидрофильный) и способности проникать сквозь кожный барьер (например, роговой слой - гидрофобный), таким образом, требуется уникальный гидрофобно-гидрофильный баланс. Лекарственные формы предусматривают добавление эксципиентов, таких как агенты, усиливающие проникновение, и солюбилизаторы, для облегчения одного или обоих процессов доставки (растворение в наполнителе и диффузия через кожу). Было выявлено, что добавки, такие как спирты, жирные спирты, жирные кислоты, моно-, ди- или триглицериды, моноэфиры глицерина, циклодекстрин и производные, полимеры, биоадгезивные вещества, терпены, хелатообразующие агенты и поверхностно-активные вещества, увеличивают трансдермальную доставку лекарственных средств. В данное изобретение входит использование таких эксципиентов.

Любой способ, без ограничения перечисленным выше, для увеличения трансдермальной доставки входит в рамки данного изобретения. Следовательно, лекарственное средство по данному изобретению может включать поверхностно-активные вещества, такие как ионные и/или неионные поверхностно-активные вещества. Подходящие неионные поверхностно-активные вещества включают, например, этоксилаты жирных спиртов (алкилполиэтиленгликоли); алкилфенолполиэтиленгликоли; алкилмеркаптанполиэтиленгликоли; этоксилаты жирных аминов (алкиламинополиэтиленгликоли); этоксилаты жирных кислот (алкилполиэтиленгликоли); этоксилаты полипропиленгликоля (Pluronic); алкиламиды жирных кислот (полиэтиленгликоль амиды жирной кислоты); алкилполиглицозиды, N-алкил-, N-алкоксиполигидроксиамид жирной кислоты, в частности N-метилглюкамид жирной кислоты, сложные эфиры сахарозы; сложные эфиры сорбита, сложные эфиры полиглицолиевого эфира сорбита и лецитина. Ионные поверхностно-активные вещества включают, например, лаурилсульфат натрия, лаурат натрия, полиоксиэтилен-20-цетиловый эфир, лаурет-9, додецилсульфат натрия (SDS) и диоцилсульфосукцинат натрия.

Спирты включают, но не ограничиваясь этим, этанол, 2-пропанол и полиолы, такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ), пропиленгликоль, глицерин, пропандиол.

Способ увеличения доставки лекарственного средства посредством местного применения может применяться вместе с данным изобретением и включает любые средства увеличения абсорбции, минимизации метаболизма и/или удлинения периода полувыведения активного ингредиента лекарственного средства, такого как экстракт *Trigonella foenum-gracum*. Такие средства включают использование переносчиков типа липосом, искомов, наночастиц, микросфер, гидрогелей, органогелей, полимеров или других способов микроинкапсулирования.

Лекарственные средства для местной доставки по данному изобретению могут включать от 5 до 100 вес.% экстракта *Trigonella foenum-gracum*, предпочтительно от 50 до 100 вес.% указанного экстракта.

Формы для орального применения.

Другой предпочтительный вариант осуществления настоящего изобретения предоставляет лекарственное средство, изготовленное для орального применения, такое как жидкость для полоскания рта.

В одном предпочтительном варианте осуществления лекарственное средство изготовлено в виде жидкости для полоскания рта, как, например, путем разбавления экстракта по изобретению в жидкости.

Жидкость может представлять собой любую подходящую жидкость, однако, часто является предпочтительным, чтобы жидкость представляла собой водную жидкость. Кроме того, является предпочтительным, чтобы жидкость была стерильной. Стерильность может достигаться при помощи любого традиционного способа, например фильтрации, облучения или нагревания.

В рамки данного изобретения входит доставка лекарственных средств и их применение, включая экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-gracum*, для лечения клинических состояний, описанных выше, включая инфекцию или повышенный риск получения инфекции. Например, но не ограничиваясь этим, клинических состояний, включающих инфекцию или риск заражения микробными видами. В одном варианте осуществления экстракт *Trigonella foenum-gracum* применяется вместе по меньшей мере с одним вторым активным ингредиентом. Предпочтительно экстракт

Trigonella foenum-grasum и указанный по меньшей мере один второй активный ингредиент присутствуют в том же самом лекарственном средстве, или они могут доставляться в наборе из нескольких частей. Предпочтительно указанный второй активный ингредиент представляет собой бактерицидное вещество, например антисептик, антибиотик, антимикотик, антипаразитарный или противовирусный агент.

В одном варианте осуществления изобретения экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, входит в состав зубной пасты.

Введение лекарственного средства, включающего экстракт *Trigonella foenum-grasum*.

Лекарственное средство для орального введения, включающее экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, может быть растворено в жидкости, такой как вода. Указанное лекарственное средство может включать от 5 до 100% об./об. экстракта и жидкость.

В соответствии с изобретением "фармацевтически эффективная доза" композиции (такой как экстракт по изобретению) относится к количеству, необходимому для достижения желаемого биологического эффекта у субъекта, нуждающегося в лечении.

Лекарственное средство по данному изобретению может быть введено один раз или более чем один раз в день, например их можно вводить в пределах от 2 до 10 раз в день, как, например, от 2 до 7 раз, например от 2 до 5 раз, как, например, от 2 до 4 раз, как, например, от 2 до 3 раз в день.

Лекарственное средство по данному изобретению может быть введено субъекту на протяжении периода лечения от одной или более чем одной недели, как, например, двух недель, трех недель, четырех недель, пяти недель, шести недель, семи недель, восьми недель или более чем восьми недель. Лечение субъекта можно повторять, если у него рецидив.

Антисептик/дезинфицирующее средство, включающее экстракт *Trigonella foenum-grasum*.

Один из аспектов данного изобретения относится к применению экстракта или композиции, включающей указанный экстракт, в качестве антисептика или дезинфицирующего средства.

Соответственно, в одном варианте осуществления изобретения экстракт *Trigonella foenum-grasum* изготовлен в виде антисептика/дезинфицирующего средства для нанесения на живую ткань/кожу, такую как хирургическая рана, чтобы минимизировать риск инфекции.

В этом варианте осуществления экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, входит в состав мыльного продукта.

В дополнительном предпочтительном варианте осуществления экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum* по изобретению, используется для получения антисептика или дезинфицирующего средства. По изобретению указанные средства используются для дезинфекции неживых объектов, таких как кухонные приборы, холодильники, морозильники, кухонное оборудование, полы, оборудование в конюшнях или на бойнях.

В другом предпочтительном варианте осуществления экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, или композиция, включающая указанный экстракт, используется для очистки пятен мочи с бетонных элементов или бетонных полов.

В одном варианте осуществления экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, или композиция, включающая указанный экстракт, используется в качестве дезинфицирующего средства для питьевой воды.

В еще одном варианте осуществления экстракт растительного материала, предпочтительно экстракт *Trigonella foenum-grasum*, или композиция, включающая указанный экстракт, используется для дезинфекции водосборников, зараженных *Legionella*. В одном варианте осуществления вода является водой в плавательном бассейне.

Консервирование продуктов питания.

Экстракт по изобретению может также использоваться в качестве консерванта для продуктов питания, таких как мясо, такого как мясной фарш и домашняя птица. В одном варианте экстракт смешивают с мясным фаршем перед хранением.

Примеры

Пример 1. Получение экстракта из семян.

500 г семян *Trigonella foenum-grasum* вымачивали в 2 л воды приблизительно 24 ч. После предварительного вымачивания семена варили 30 мин и остатки семян удаляли из смеси. Экстракт охлаждали.

Пример 2. Лечение бородавок и губного герпеса.

Экстракт по примеру 1 использовали в лечении бородавок и губного герпеса (*Herpes labialis*). Экстракт наносили в области патологического состояния у двух пациенток женского пола (возраст 18 и 44 года). Патологическое состояние исчезало через несколько часов. Экстракт протестировали на мужчине (возраст 44 года) и на женщине (возраст 48 лет), страдающих от бородавок, расположенных на ступнях. Бородавки ранили, используя иглу, и наносили экстракт местно в область патологического состояния. В обоих случаях пациент избавился от дискомфорта только через несколько часов после нанесения.

Пример 3. Лечение хронического периодонтита.

Женщина 70 лет. Хронический периодонтит и ассоциированные галитоз и кровоточивость десен были диагностированы в возрасте 65 лет. Кроме чистки ротовой полости пациентка не подвергалась никакому лечению зубов. Пациентку лечили экстрактами по данному изобретению, применяемыми в виде

жидкости для полоскания ротовой полости. После двух дней лечения галитоз исчез, а после двух месяцев лечения исчезло воспаление десен и кровоточивость десен.

Пример 4. Лечение периодонтита.

Мужчина 54 лет. Периодонтит, ассоциированный с галитозом, был диагностирован стоматологом. Пациента лечили экстрактом по изобретению, применяемым в виде жидкости для полоскания ротовой полости. После нескольких дней лечения галитоз исчез. Исчезновение периодонтита и ран на деснах было подтверждено стоматологом через несколько месяцев. Дальнейшего лечения не потребовалось.

Пример 5. Рана на ноге.

Мужчина 54 года. Инфицированную рану на задней поверхности ноги, вызванную занозой из пресованного дерева, пропитанного креозотом, обрабатывали экстрактом по изобретению при помощи местного нанесения на инфицированную область. Инфекция исчезла за один день.

Пример 6. Рана от укуса собаки.

Мужчину 44 лет лечили от раны, полученной в результате укуса собаки. После укуса рана заживала, но через несколько дней началось воспаление. Инфицированную ткань удаляли из раны и вводили в рану экстракт по изобретению. Боль, связанная с инфекцией раны, немедленно исчезла, а рана зажила правильно за несколько дней.

Пример 7. Раны у животных.

Инфицированные раны у кошки и собаки обрабатывали экстрактом по изобретению. Собаку обрабатывали два раза в день в течение двух дней путем местного нанесения в инфицированную область (диаметр 200 мм). Рана заживала правильно. Кошка страдала от раны с сильным заражением (диаметром около 300 мм). Рану обрабатывали путем местного нанесения дважды в день в течение 3 дней. Рана полностью зажила за два-три дня.

Пример 8. Лечение незначительных ран и зуда.

Мужчину 44 лет, часто страдавшего от незначительных ран и зуда в области анального отверстия, лечили экстрактом по изобретению. Местное нанесение экстракта на область патологического состояния освободило пациента от зуда за несколько минут, и раны зажили приблизительно за 12 ч. Дополнительной обработки ран не потребовалось. Местное нанесение линимента кордизона было менее эффективным.

Пример 9. Лечение фарингита.

Женщина, 18 лет, страдает фарингитом. Лечение патологического состояния состояло в промывании ротовой полости и горла при помощи экстракта по изобретению. Она сообщила о немедленном облегчении дискомфорта, связанного с патологическим состоянием.

Пример 10. Свиная язва.

Свинью с язвой площадью приблизительно 100 см² опрыскивали 1:1 смесью воды и экстракта по примеру 1. Через 24 ч после обработки на язве образовалась пленка. Экссудация и инфекция отсутствовали. После повторяющегося лечения один раз в день в течение 4 дней язва зажила.

Пример 10. Удаление неприятного запаха.

Экстракт, приготовленный по примеру 1, успешно использовался для удаления неприятного запаха. Туфли из неопрена и стельки туфель замачивали в растворе (водном растворе) экстракта по изобретению и высушивали. Для туфель и стелек применяли концентрированный экстракт. После обработки признаков неприятного запаха не осталось.

Пятна от мочи (собачей мочи) на бетоне отмывали хлоркой и универсальным чистящим средством для дома, не удалив при этом неприятный запах. Отмывание пятен разведенным экстрактом полностью удалило неприятный запах. Экстракт также эффективно использовался в качестве антиперспиранта, эффективного в течение более чем 24 ч.

Пример 11. Консервирование мясного фарша.

Несколько капель экстракта по изобретению добавляли к 50 г мясного фарша. Обработанное мясо и соответствующий образец необработанного мясного фарша оставляли для охлаждения. После двух дней охлаждения наблюдался сильный неприятный запах от необработанного мясного образца. Обработанное мясо оставалось свежим без неприятного запаха в течение пяти дней. На шестой день наблюдался неприятный запах от обработанного образца.

Пример 12. Клинический протокол для периодонтита.

Внесение в исследование.

20 человек (волонтеры), у которых встречались предложенные диагностические критерии периодонтита, включены в исследование.

Исследование.

Исследование проводится двойным слепым, плацебо-контролируемым способом. Испытуемых разделяют на две группы (в каждой n=10), группы А и В. Испытуемых инструктируют относительно само-лечения, включающего 2 мин полоскания ротовой полости дважды в день с использованием экстракта по изобретению. Продолжительность лечения составляет 3 месяца. Испытуемые ведут дневники, где они помечают распределение во времени, тип и тяжесть ощущаемых симптомов на протяжении всей фазы лечения.

Дозировка.

Группа А получает экстракт по изобретению. Группа В получает плацебо.

Оценка исследования.

Дневники испытуемых исследователи просматривают и подвергают статистическому анализу, и тяжесть симптомов определяется относительно условий патологических состояний в начале исследования.

Пример 13. Сравнительный экстракт.

500 г семян *Trigonella foenum-gracum* варили в 2 л воды приблизительно 30 мин и остатки семян удаляли из смеси. Экстракт охлаждали.

Экстракты из примера 1 и примера 13 подвергали ВЭЖХ-анализу при помощи УФ-детекции и светорассеивания.

Образцы экстракта разводили 5 раз водой и профильтровали через 0,45 мкм нейлоновый фильтр. Анализы проводили на Synergi Polar-RP 80A (250×4,6 мм, 4 мкм, № 16) с использованием 10,6 мМ муравьиной кислоты/метанола в качестве элюента (98% муравьиная кислота на 15 мин, градиент 65% через 30 мин, градиент 0% через 60 мин) и детектировали при помощи светорассеивания.

Таблица ниже отражает выбранные значения вершины пиков хроматограмм.

Номер пика хроматограммы	RT (мин)	Эталон (Пример 13)	Изобретение (Пример 1)
1	1,8	0,188	12,358
2	2,5	6,778	12,973
3	2,8	137,36	165,609
4	3,2	144,218	241,491
5	3,5	30,959	51,101
6	3,9	33,887	47,785
7	4,4	2,102	2,741
8	38,1	0,45	1,672
9	38,6	3,509	3,828
10	39,2	3,904	6,371
11	41,1	7,358	8,189
12	41,4	6,885	6,638
13	56,2	314,319	250,972
14	62,7	5,927	5,615
15	65,1	27,663	23,852

Пример 14.

500 г семян *Trigonella foenum-gracum* вымачивали в 2,5 л воды приблизительно 24 ч. После предварительного вымачивания семена варили 20 мин и остатки семян удаляли из смеси. Экстракт охлаждали.

Водный экстракт фильтровали сначала через целлюлозный фильтр (0,45 мкм), а потом через полиакриламидную смолу (DPA-6S от Sigma-Aldrich/Supelco), чтобы удалить, например, полифенолы. Это снижает содержание сухого вещества от приблизительно 14,5 мг/мл до приблизительно 8,5 мг/мл.

Оставшиеся компоненты в экстракте затем разделяли на шесть фракций, используя хроматографию с обращенной фазой на Lichroprep RP-18 размера В (40-63 мкм) (Merck). Один миллилитр обогащенного растительного экстракта вводили в колонку со следующим градиентом: 0-1 мин H₂O/AcN 98:2, и затем с использованием градиента за 1-40 мин доходящего до 100% AcN. Элюированные компоненты определяли при помощи детектирования с использованием диодной матрицы (200-600 нм).

Чертеж иллюстрирует хроматограмму при 210 нм. Шесть фракций были собраны в следующих временных интервалах (5-10; 10-15; 15-17,5; 17,5-21; 21-24; 24;27 мин). Фракции, объединенные из трех повторных введений, были высушены при помощи роторного испарителя, и шесть фракций вновь растворили в 0,5 мл воды Milli Q, чтобы увеличить концентрацию фракций приблизительно в пять раз.

Шесть ВЭЖХ-фракций *Trigonella foenum-gracum* и исходный экстракт проанализировали на анти-вирусную активность против вируса простого герпеса (HSV)-2.

Фракции смешивали с вирусом (1×10^5 колониеобразующих единиц в смеси 1:1) и инкубировали 15 мин при комнатной температуре. Смеси добавляли к клеткам культуры Vero в 10 последовательных введениях и отслеживали репликацию вируса по цитопатическому эффекту на клетках.

Через два дня после заражения наблюдалось 5-кратное уменьшение репликации вируса в культурах, обработанных исходной смесью. Не наблюдалось эффекта от фракций под №№ 3-6. Незначительный эффект появился во фракции № 2, в то время как фракция № 1 приблизительно в 100 раз подавляла реп-

ликацию вируса.

На основании этого эксперимента было вынесено заключение, что *Trigonella foenum-gracum* обладает антивирусной активностью и что эта активность локализована в ВЭЖХ-фракции № 1.

Пример 15.

Фракцию № 1, полученную в соответствии с примером 14, использовали для тестирования антивирусной активности против HSV-1 (штамм McIntyre) в клетках Vero.

Фракцию смешивали с вирусом (1×10^5 колониеобразующих единиц в смеси 1:1) и инкубировали 15 мин при комнатной температуре. Смеси добавляли к клеткам культуры Vero и отслеживали репликацию вируса по цитопатическому эффекту на клетках. Были проведены контрольные опыты, в которые не включали либо фракцию, либо фракцию № 1.

Через два дня после заражения наблюдали рост клеток Vero в чашках, содержащих смесь вируса и фракции № 1. В контрольных клетках наблюдалась смерть клеток в чашке, которая получила вирус, но не фракцию № 1, в то время как в чашке, получившей фракцию № 1, но не получившей вирус, наблюдался клеточный рост.

На основании этого эксперимента было вынесено заключение, что содержимое фракции № 1 обладает антивирусной активностью и что содержимое фракции № 1 не токсично по отношению к клеткам Vero.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтический, дезинфицирующий или консервирующий экстракт, полученный способом, включающим следующие стадии:

а) получение смеси семян *Trigonella foenum-gracum* и воды,

б) инкубация указанной смеси в течение по меньшей мере 3 ч до проращивания семян, содержащихся в смеси,

с) нагревание указанной смеси до температуры выше температуры коагуляции белков и

д) выделение жидкого экстракта из смеси.

2. Экстракт по п. 1, где указанные семена представляют собой сушеные семена указанного растения.

3. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, где указанную смесь инкубируют в течение по меньшей мере 6 ч.

4. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, где указанное нагревание смеси представляет собой кипячение.

5. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, где указанную смесь кипятят в течение по меньшей мере 5 мин.

6. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, где жидкость дополнительно добавляют по меньшей мере один раз на стадии нагревания.

7. Экстракт по любому из предшествующих пунктов, включающий дополнительную стадию замораживания инкубируемой смеси перед нагреванием в соответствии со стадией (с) или дополнительную стадию замораживания нагретой на стадии (с) смеси для того, чтобы усилить высвобождение активных ингредиентов из растительного материала.

8. Экстракт по п. 7, где указанную смесь замораживают по меньшей мере 3 ч.

9. Экстракт по п. 7 или 8, где способ включает повторение стадии (1.с) после нагревания замороженной смеси.

10. Фракция фармацевтического, дезинфицирующего или консервирующего экстракта, полученная при проведении хроматографии с обратной фазой на Lichroprep RP-18 размера В (40-63 мкм) (Merck), экстракта по любому из пп. 1-9 с использованием следующего градиента: 0-1 мин H_2O/ACN 98:2, затем с использованием градиента за 1-40 мин доходящего до 100% ACN , и сбора фракции в интервале между 5 и 10 мин.

11. Фармацевтический, дезинфицирующий или консервирующий экстракт или его фракция по любому из пп. 1-10, которые сконцентрированы удалением растворителя.

12. Экстракт по п. 11, где растворитель частично или полностью удален способом, выбранным из группы, состоящей из мембранной фильтрации, выпаривания, осаждения, экстракции, азеотропной дистилляции, лиофилизации, распылительной сушки и их комбинаций.

13. Фармацевтическая, дезинфицирующая или консервирующая композиция, включающая экстракт по любому из пп. 1-12.

14. Композиция по п. 13, где композиция является фармацевтической композицией.

15. Композиция по п. 13, которая является дезинфицирующим средством.

16. Композиция по п. 13, которая является консервирующим средством.

17. Применение экстракта по любому из пп. 1-12 для получения фармацевтической композиции для лечения воспалительных состояний.

18. Применение по п. 17, где воспалительное состояние выбирают из группы, состоящей из "пеленочного" дерматита, акне, астмы и воспалительного состояния в желудочно-кишечном тракте.

19. Применение экстракта по любому из пп.1-12 для получения фармацевтической композиции для лечения или предупреждения инфекционного заболевания.

20. Применение по п.19, где указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из инфицированной раны, в том числе хирургической, импетиго, стафилококковой инфекции, такой как инфекция *Staphylococcus Aureus*, инфекции ротовой полости, заболевания периодонта, инфекции глаза или области вокруг глаза, простуды, герпесвирусной инфекции, бородавок и фарингита.

21. Применение по п.20, где указанным инфекционным заболеванием является простой герпес.

22. Применение по п.20, где указанное заболевание периодонта выбирают из гингивита, периодонтита и галитоза.

23. Применение по любому из пп.17-22, где указанная фармацевтическая композиция изготовлена в виде полоскания для ротовой полости, жевательной резинки, зубной пасты, бальзама, пластыря, мази для губ, спрея, мази, геля, капсулы, драже или таблетки.

24. Применение экстракта по любому из пп.1-12 для получения композиции для дезинфекции кожи; оборудования, такого как кухонное, на бойнях, в туалетах и на конюшнях; кухонных приборов, таких как холодильники или морозильники; воды; водосборников; жилья, имеющего запах больных людей или каловых масс.

25. Применение экстракта по любому из пп.1-12 для получения композиции для консервирования продуктов питания, таких как мясо, домашняя птица и продуктов из них.

26. Способ лечения или предупреждения воспалительного состояния, где человеку, страдающему от воспалительного состояния, вводят композицию, содержащую экстракт по п.1, в количестве, достаточном для лечения или облегчения состояния.

27. Способ по п.26, где воспалительное состояние выбирают из пеленочного дерматита, акне, астмы или воспалительного состояния желудочно-кишечного тракта.

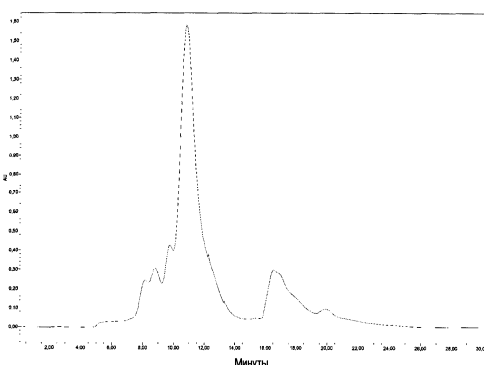
28. Способ лечения или предупреждения инфекционного заболевания, где человеку, страдающему от инфекционного заболевания, вводят композицию, включающую экстракт по п.1, в количестве, достаточном для лечения или облегчения состояния.

29. Способ по п.28, где указанное инфекционное заболевание выбрано из группы, состоящей из инфицированной раны, в том числе хирургической, импетиго, стафилококковой инфекции, такой как инфекция *Staphylococcus Aureus*, инфекции ротовой полости, заболевания периодонта, инфекции глаза или области вокруг глаза, простуды, герпесвирусной инфекции, в том числе простого герпеса, бородавок и фарингита.

30. Способ по п.26 или 28, в котором фармацевтическая композиция изготовлена в виде полоскания для ротовой полости, жевательной резинки, зубной пасты, бальзама, пластыря, мази для губ, спрея, мази, геля, капсулы, драже или таблетки.

31. Способ дезинфекции, согласно которому дезинфицирующее средство, включающее экстракт по п.1, наносят на кожу; оборудование, такое как кухонное, на бойнях, в туалетах и на конюшнях; кухонные приборы, такие как холодильники или морозильники; воду; водосборники; или каловые массы в количестве, достаточном для снижения риска инфекции.

32. Способ консервирования продуктов питания, согласно которому продукт питания подвергают обработке консервирующим средством, включающим экстракт по п.1, в количестве, достаточном для замедления разложения продуктов питания.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2