(19) **RU** (11) **2 137 479** (13) **C1**

(51) МПК[6] **A 61 K 31/745**

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 97114477/14, 27.08.1997

(24) Дата начала действия патента: 27.08.1997

(46) Дата публикации: 20.09.1999

(56) Ссылки: 1. RU 2015150 C1 30.06.94. 2. RU 2053992 C1 10.02.96. 3. RU 2017782 C1 15.08.94. 4. М.Д.Машковский. Лекарственные средства. - М.: 1993, ч.2, с.192-209.

(98) Адрес для переписки:
194017, Санкт-Петербург, а/я 71, Сабуровой Г.П.

(71) Заявитель:
Солагран Лимитед (AU)

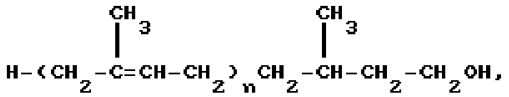
(72) Изобретатель: Рощин В.И.(RU)

(73) Патентообладатель:
Солагран Лимитед (AU)

(54) ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ СРЕДСТВО

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и фармакологии. Предложено новое средство с иммуномодулирующим действием при лечении нарушений функций иммунной системы живого организма, для профилактики и лечения заболеваний, обусловленных как иммунодефицитом, так и при гипериммунном состоянии человека. В качестве иммуномодулирующего средства предложены полипренолы, получаемые из древесной зелени хвойных пород, общей формулы



где n = 10-20.

Изобретение расширяет арсенал препаратов с иммуномодулирующими свойствами.

RU 2137479 C1

RU 2137479 C1

(19) **RU** (11) **2 137 479** (13) **C1**

(51) Int. Cl.[6] **A 61 K 31/745**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 97114477/14, 27.08.1997

(24) Effective date for property rights: 27.08.1997

(46) Date of publication: 20.09.1999

(98) Mail address:
194017, Sankt-Peterburg, a/ja 71, Saburovoj G.P.

(71) Applicant:
Solagran Limited (AU)

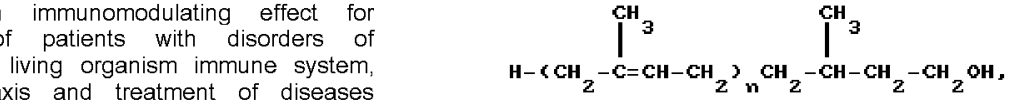
(72) Inventor: Roshchin V.I.(RU)

(73) Proprietor:
Solagran Limited (AU)

(54) IMMUNOMODULATING AGENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmacology. SUBSTANCE: invention proposes a new agent showing an immunomodulating effect for treatment of patients with disorders of functions of living organism immune system, for prophylaxis and treatment of diseases caused by both immunodeficiency and hyperimmune state in human. Invention proposes polyprenols as an immunomodulating agent that are obtained from wood greens of coniferous species of the general formula:



where n = 10-20. EFFECT: broadened arsenal of preparations showing immunomodulating properties.

RU 2137479 C1

RU 2137479 C1

Изобретение относится к медицине, фармакологии и может быть использовано в качестве средства, обладающего иммуномодулирующим действием при лечении нарушений функций иммунной системы живого организма.

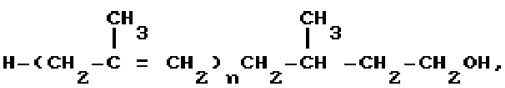
Известен ряд препаратов растительного происхождения, обладающих иммуномодулирующим действием, например препараты элеутерококка и женьшеня.

Известно использование в качестве средства, обладающего иммуномодулирующим действием, водного экстракта из надземных частей черемухи Грея (RU N 2038089, 1995 г, A 61 K 35/78).

Однако это средство обладает недостаточной иммуномоделирующей активностью и может быть использовано, в основном, с целью стимуляции при инфекционных заболеваниях, патологически связанных с недостаточностью иммунной системы.

В настоящее время для нормализации иммунной функции используют полиизопреноиды, которые представляют собой большую группу распространенных в природе соединений, выделяемых, как правило, из растений, а также посредством синтеза. Среди этих соединений широко известны полипренолы и их производные (Н.Я. Григорьева и др. "Физиологическая активность полиизопреноидов". Химико-фармацевтический журнал, N 2, 1989 г, стр. 151-153).

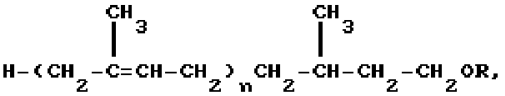
Известно средство для лечения и профилактики заболеваний, вызванных иммунной недостаточностью, на основе соединений общей формулы



где n = 5-7 (Япония, заявка N 3-49891, 1991 г, A 61 K 31/045).

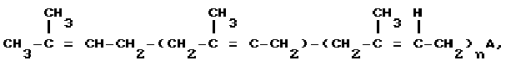
Оно применяется в качестве средства против инфекционных заболеваний животных.

Известны соединения общей формулы

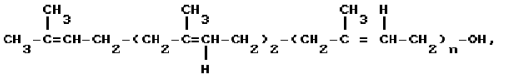


где n = 5-7, R - водород, низшие алкильные группы, алифатические или ароматические ацильные группы, т.е. такие производные полипренолов, у которых нет двойных связей на конце молекул (ФРГ, патент N 3318989, 1983 г, A 61 K 31/045). Эти соединения синтезируют химическим путем из полипренолов. Они на соответствующих фармацевтических носителях используются для профилактики и лечения болезней, обусловленных иммунодефицитом, например, рака, астмы, ревматического артрита, аутоиммунных и др. болезней у человека и животных.

Известны аналогичные предлагаемым полипренолам полипренолы, полученные, например, из листьев растений Cedrus Lodara экстракцией органическим растворителем, общей формулы

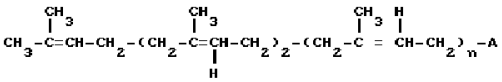


где n = 10-18 (Япония, заявка N 3-14006, 1991 г, C 07 C 33/02), или общей формулы



где n = 10-19 (Япония, заявка N 3-14007, C 07 C 33/02, 1991 г).

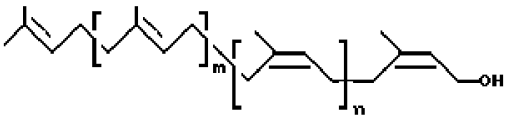
Полипренол аналогичной формулы получают экстракцией из листьев Seiadopitydaceae, Podocarpaceae, Cepholotaxaceae или Arucariaceae (Япония, заявка N 3-14009, C 07 C 33/02, 1991 г), или общей формулы



где n = 11-21 (Япония, заявка N 3-14008, C 07 C 33/02, 1991 г), полученной экстракцией листьев Cupressaceae, Taxodiaceae или Taxaceae.

Описанные выше полипренолы, полученные из листьев растений, используют в качестве промежуточного сырья для получения новых химических соединений, например, долихолов.

Известна смесь полипренолов, получаемая из хвои (RU N 2053992, C 07 C 33/02, 1996 г), обработанной сначала сжиженной углекислотой, а затем органическим растворителем, с последующим выделением смеси, формулы

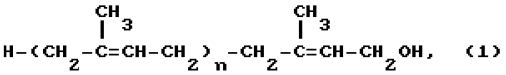


где m = 2 или 3, n = 6-20.

Однако, описанная в патенте смесь полипренолов также используется в качестве исходного сырья для синтеза долихолов.

Задача, на решение которой направлено предлагаемое изобретение, состоит в расширении арсенала препаратов, обладающих иммуномоделирующими свойствами.

Поставленная задача решена тем, что в качестве иммуномоделирующего средства применят полипренолы, получаемые из древесной зелени хвойных пород, общей формулы



где n = 10-20.

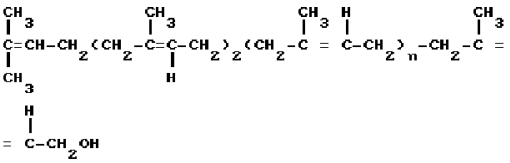
Предлагаемое изобретение соответствует критерию "новизна", так как из общедоступных источников информации не известно иммуномодулирующего средства, описанного указанной выше совокупностью существенных признаков.

Предлагаемое изобретение отвечает критерию "изобретательский уровень", так как стало возможным применять полипренолы, полученные из древесной зелени хвойных пород, не в качестве промежуточного сырья, а в качестве средства, обладающего иммуномоделирующими свойствами.

Полипренолы представляют собой природную смесь олигомеров (изопренолов) вышеуказанной общей формулы, содержащие структурные соединения, например, формулы

RU 2137479 C1

RU 2137479 C1



где n =10-16.

Смесь полипренолов ведет себя как одно вещество, может быть разделена на обращеннофазовых сорбентах и представляет собой маслянистую маловязкую жидкость желто-оранжевого цвета, хорошо растворимую в растительных маслах.

Предлагаемые в качестве иммуномодуляторов полипренолы формулы (1) получают способом, описанным в патенте RU N 2017782, C 09 F 1/00, 1994 г, из древесной зелени хвойных пород (ель, сосна, пихта, кедр) с помощью последовательной обработки - экстракция органическим растворителем, выделение отстаиванием и фильтрованием при охлаждении хвойного воска с температурой плавления 72-76 °C, омыление полученного раствора экстрактивных веществ в углеводородном растворителе 20-40% раствором щелочи, разделение омыленного раствора на раствор нейтральных веществ в углеводородном растворителе и водно-щелочной раствор органических кислот с последующим подкислением водно-щелочного раствора солей органической или неорганической кислотой до pH 1-3 и выделением из него хлорофиллиновых кислот и фракции жирных и смоляных кислот, отгонки растворителя от нейтральных веществ и выделением из них высаживанием воска с температурой плавления 52-56°C и последующей вакуумной дистилляции их при остаточном давлении не более 400 Па, с выделением фракции сесквитерпеноидов с температурой кипения 90-120°C, фракции лабдановых дитерпеноидов с температурой кипения 120-210°C и кубового остатка. Кубовый остаток обрабатывают спиртовым раствором щелочи, отгоняют спирт, растворяют в органическом растворителе, затем добавляют воду и разделяют отстаиванием на раствор солей жирных кислот и раствор неомыляемых веществ. Из солей жирных кислот подкислением до pH 1-3 выделяют концентрат жирных кислот, а из омыляемых веществ методом жидкостной экстракции выделяют стерины, полипренолы, ди- и тритерпеноиды.

Неомыляемые вещества после отгонки растворителя разделяют с целью очистки полипренолов от освободившихся при гидролизе ди- и тритерпеновых спиртов и стеринов методом жидкостной экстракции. В качестве экстрагента используют этанол или 50-90% раствор изопропанола. Выбор этих растворителей обусловлен необходимостью наибольшего отделения от полипренолов органических примесей. Соотношение экстрагент: разделяемая смесь не менее 4:1, температура перемешивания 50-65°C, время перемешивания 10-15 мин. После перемешивания система расслаивается при охлаждении до 0-40°C в течение 30-40 мин. При этом рафинат теряет подвижность и экстракт отделяют сифонированием.

Рафинат с последней ступени экстракции после отгонки следов экстрагента отделяют от примесей полимерного характера. Для этого его растворяют в ацетоне при перемешивании и температуре, близкой к температуре кипения ацетона. Соотношение растворитель: вещество равно 3-9:1. Затем полученный раствор охлаждают до 20°C и отделяют фильтрованием образовавшийся осадок. Маточник охлаждают до -10°C и отстаивают в течение 10-15 часов и снова отделяют образовавшийся осадок. Полученные осадки объединяют и перекристаллизовывают при условии второго осаждения. Фильтраты объединяют и от них отгоняют растворитель. Полученный продукт представляет собой концентрат полипренолов.

Практически предлагаемые полипренолы могут быть получены из любой древесной зелени хвойных пород и являются отходом при заготовке древесины.

Были проведены испытания полипренолов в соответствии с "Методическими рекомендациями по оценке и изучению иммуномоделирующего действия лекарственных средств", 1984 г и требованиями Фармкомитета МЗ РФ.

Так как реакции иммунитета делятся на реакции гуморального и клеточного типа, то методические рекомендации предлагают по этому принципу проводить оценку влияния препарата на иммунную систему.

Для оценки влияния полипренолов заявляемой формулы на гуморальный иммунный ответ предлагается использовать определение числа антителообразующих клеток (АОК) в селезенке и уровня гемагглютенинов в сыворотке крови с Т-зависимым и Т-независимым антигеном.

Для оценки влияния полипренолов на клеточный ответ - реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) и реакцию "трансплантат" против "хозяина" (РТПХ). Влияние препаратов на функциональную активность макрофагов оценивалось по их способности к захвату и переработке антигенного материала.

Исследования иммуномоделирующих свойств полипренолов проводились на интактных животных и на животных с искусственно вызванным при помощи эмоционального стресса иммунодефицитным состоянием путем однократного внутрибрюшинного введения и 5-дневного приема вовнутрь. Из предлагаемых полипренолов готовили эмульсию в 0,025% растворе твина-80. Экспериментальным животным вводили внутрибрюшинно (в/б) 0,1 мл дозы 10,0 и 100,0 мг/кг одновременно с введением антигена и перорально (п/о) в течение 5 дней до введения антигена. В качестве контроля при в/б введении использовали 0,025% раствор твина-80, который не оказывал направленного действия АОК в селезенке мышей, реакцию ГЗТ, РТПХ, фагоцитоз, но вызвал незначительную стимуляцию продукции антител (индекс действия 1,2), и при введении п/о - персиковое масло, не вызывающее изменений в функции иммунной системы. Эмоциональный стресс вызывали скученностью животных в течение 10 дней (40 мышей в клетке размером 17 • 25 • 8).

Контрольные животные в течение эксперимента получали ежедневно раствор твина-80, опытные - эмульсию полипренолов в дозе 100,0 мг/кг. Число АОК в селезенке

RU 2137479 C1

RU 2137479 C1

мышей определяли на 5-й день после иммунизации оптимальной ($1 \bullet 10^8$ кл) и субоптимально ($2 \bullet 10^7$ кл) дозами ЭБ (Эритрациты барана).

Определение титров ГА и ЭБ проводили на 7 и 14 дни после иммунизации оптимальной и субоптимальной дозами антигена в 96-луночных круглодонных планшетах.

Проводились исследования фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей.

Проводились исследования влияния полипренолов на иммунную систему стрессированных мышей.

Все исследования показали, что предлагаемые полипренолы обладают способностью изменять выраженность гуморального и клеточного ответа в зависимости от генотипа животных, от дозы вводимого антигена и пути введения препарата. Таким образом полипренолы, полученные из хвойных пород, можно использовать у интактных животных в качестве иммуномодуляторов: при введении в дозе 10,0 мг/кг чаще можно ожидать стимуляцию функции, а при введении в дозе 100,0 мг/кг - снижение интенсивности иммунологических реакций.

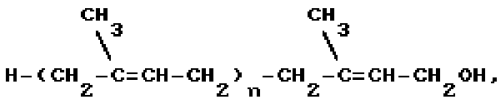
Кроме того, выявлена способность полипренолов, полученных из хвойных пород, стимулировать важный фактор неспецифической резистентности - фагоцитоз. Так при в/б введении в дозах 10,0 и 100,0 мг/кг полипренолы стимулируют завершенность фагоцитоза, а при введении п/о в дозе 100,0 мг/кг увеличивает число фагоцитарных клеток.

У животных с иммунодепрессией, вызванных эмоциональным стрессом, введение полипренолов, полученных из хвойных пород, в дозе 100,0 мг/кг п/о в течение 10 дней предотвращало нарушения развития реакций гуморального иммунного ответа и снижение функциональной активности микрофагов.

Предлагаемые пренолы, полученные из древесной зелени хвойных пород, могут применяться для профилактики и лечения заболеваний, обусловленных как иммунодефицитом, так и гипериммуном состоянии человека.

Формула изобретения:

Применение полипренолов, получаемых из древесной зелени хвойных пород, общей формулы



где n=10-20,

в качестве иммуномодулирующего средства.

RU 2137479 C1

RU 2137479 C1