



РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) RU<sup>(11)</sup> 2 118 536<sup>(13)</sup> C1  
(51) МПК<sup>6</sup> A 61 K 35/78

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 96123093/14, 04.12.1996

(46) Опубликовано: 10.09.1998

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: FR 2532179 A1, 02.03.84. US 405613 A16 20.09.83. RU 2080867 C1, 10.06.97. RU 2045271 C1, 10.10.95.

(71) Заявитель(и):

Государственный научный центр РФ  
"НИОПИК",  
Новосибирский институт органической химии  
СО РАН,  
Московский научно-исследовательский  
онкологический институт им.П.А.Герцена

(72) Автор(ы):

Ворожцов Г.Н.,  
Винокурова Е.Ю.,  
Казачкина Н.И.,  
Лужков Ю.М.,  
Немцова Е.Р.,  
Петрова Т.Н.,  
Толстиков Г.А.,  
Чиссов В.И.,  
Шульц Э.Э.,  
Якубовская Р.И.

(73) Патентообладатель(ли):

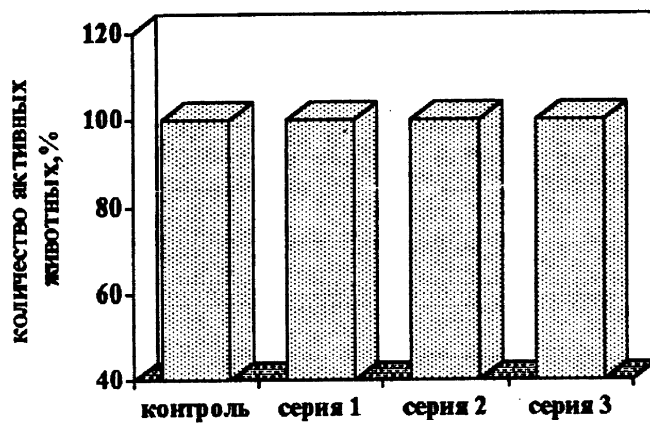
Государственный научный центр РФ  
"НИОПИК",  
Новосибирский институт органической химии  
СО РАН,  
Московский научно-исследовательский  
онкологический институт им.П.А.Герцена

(54) СРЕДСТВО ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В ВИДЕ ВОДНОГО  
ЭКСТРАКТА РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ И СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к средствам для лечения онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья и способам его получения. Средство содержит водные экстракты растения *Calendula officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Pentaphilloides fruticosa*, *Angelica sylvestris*, полученные при следующем соотношении растений и воды, г: *Calendula officinalis* - 200 - 360 (свеж. ), *Plantago*

*lanceolata* - 10 - 60 (сух.), *Pentaphilloides fruticosa* - 10 - 60 (сух.), *Angelica sylvestris* - 25 - 60 (сух), вода - 3000. Способ получения водных экстрактов указанных растений путем их вымачивания с последующим процеживанием и центрифугированием. Средство и способ позволяют упростить средство для лечения онкологических больных и способы их получения. 2 с.п. ф-лы. 1 ил., 5 табл.



Мыши: BDF1, самцы с L-1210. Препараты вводили внутрь 1 раз в день в течение 6 дней в разовой дозе 10,8 мл/кг, начиная с 1-го дня роста опухоли. Приведен интегральный показатель двигательной активности мышей за все время наблюдения.

RU 2118536 C1

RU 2118536 C1



RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 118 536** <sup>(13)</sup> **C1**  
(51) Int. Cl.<sup>6</sup> **A 61 K 35/78**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **96123093/14, 04.12.1996**

(46) Date of publication: **10.09.1998**

(71) Applicant(s):  
**Gosudarstvennyj nauchnyj tsentr RF "NIOPIK",  
Novosibirskij institut organicheskoj khimii SO  
RAN ,  
Moskovskij nauchno-issledovatel'skij  
onkologicheskij institut im.P.A.Gertsena**

(72) Inventor(s):  
**Vorozhtsov G.N.,  
Vinokurova E.Ju.,  
Kazachkina N.I.,  
Luzhkov Ju.M.,  
Nemtsova E.R.,  
Petrova T.N.,  
Tolstikov G.A.,  
Chissov V.I.,  
Shul'ts Eh.Eh.,  
Jakubovskaja R.I.**

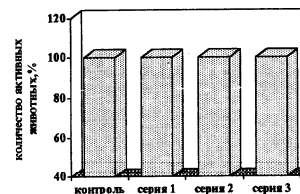
(73) Proprietor(s):  
**Gosudarstvennyj nauchnyj tsentr RF "NIOPIK",  
Novosibirskij institut organicheskoj khimii SO  
RAN ,  
Moskovskij nauchno-issledovatel'skij  
onkologicheskij institut im.P.A.Gertsena**

(54) **AGENT AS AN AQUEOUS PLANT RAW EXTRACT FOR TREATMENT OF PATIENTS WITH ONCOLOGICAL SICKNESSES AND A METHOD OF ITS PREPARING**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, oncology, pharmacy.  
SUBSTANCE: agent consists of aqueous extracts of plant *Calendula officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Pentaphilloides fruticosa*, *Angelica sylvestris* obtained at the following ratio of plant raw and water, g: *Calendula officinalis* 200-360 (fresh), *Plantago lanceolata* 10-60 (dried), *Pentaphilloides fruticosa* 10-60 (dried), *Angelica sylvestris* 25-60 (dried), and water 3000. Method of preparing the indicated plant aqueous extracts involves their maceration followed by filtration

and centrifugation. EFFECT: simplified method of preparing. 3 cl, 1 dwg, 7 ex, 5 tbl



Мыши: ВДФ1, самцы с L-1210. Препараты вводили внутрь 1 раз в день в течение 6 дней в разовой дозе 10,8 мг/кг, начиная с 1-го дня роста опухоли. Приведен интегральный показатель двигательной активности мышей за все время наблюдения.

RU 2 1 1 8 5 3 6 C 1

RU 2 1 1 8 5 3 6 C 1

Изобретение относится к медицине, в частности к фитотерапии, и касается средства для лечения онкологических заболеваний, представляющего собой водный экстракт растительного сырья, и способа его получения.

Известен противораковый препарат, включающий экстракт растения *Geranium*, в состав которого входят также серная и борная кислоты, спирт и глицерин [1].

Недостатком этого препарата является то, что он может быть рекомендован только для наружного применения.

Известен состав, рекомендованный в качестве вспомогательного средства, повышающего противоопухолевую активность, включающий в числе прочих водных (или водно-органических) экстрактов растений экстракты *Astragalus*, *Paeonia*, *Angelica* [2].

Известен многокомпонентный состав противоопухолевого назначения, включающий в качестве прочих компонентов растения рода *Plantago* и *Angelica* [3].

Недостатком этих композиций является их многокомпонентность.

Задачей данного изобретения являлось изыскание средства для лечения онкологических заболеваний в виде водных экстрактов растительного сырья, представляющего достаточно простую композицию, и способа его получения.

Для решения этой задачи предложено средство, содержащее в виде водных экстрактов растения *Calendula officinalis* (свежая), *Plantago lanceolata* (сухой), *Pentaphilloides fruticosa* (сух) и *Angelica sylvestris* (сух) при следующем соотношении компонентов, г:

*Calendula officinalis* (свеж) - 200 - 360  
*Plantago lanceolata* (сух) - 10 - 60  
*Pentaphilloides fruticosa* (сух) - 10 - 60  
*Angelica sylvestris* (сух) - 25 - 60  
Вода - 3000

Применение отдельных компонентов предлагаемого средства в количествах меньших, чем нижний предел указанных диапазонов значений, снижает терапевтический эффект; верхние же пределы указанных диапазонов ограничены объемом воды, необходимым для получения водных экстрактов.

Известен способ получения экстракта растений путем обработки их водой или водно-органическим растворителем [4].

Известен также способ получения средства растительного происхождения, включающий экстракцию измельченной травы водой путем вымачивания (мацерации), фильтрацию и повторную мацерацию растительного сырья [5].

Этот метод представляется технологически сложным, т.к. требует двухстадийной мацерации.

Задачей предлагаемого изобретения являлась разработка технологически простого способа получения водного экстракта растений.

Для решения этой задачи предложено вымачивание растений (в виде травы, листьев или корней) в воде с последующим процеживанием и центрифугированием.

Биологическая активность растительных экстрактов проверялась путем определения антиоксидантной и цитотоксической активности *in vitro* и токсичности и противоопухолевой активности *in vivo*.

Антиоксидантную активность экстрактов определяли по способности образца ингибировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенате печени мышей [6].

Цитотоксическую активность экстрактов *in vitro* определяли с использованием биотеста, основанного на ингибировании пролиферации перевивной культуры клеток аденокарциномы легкого человека A-549 по методу [7].

Оценку противоопухолевой активности экстрактов проводили на мышах BDF<sub>1</sub> с лейкемией, используя различные дозы препаратов. Критерием оценки служили: торможение роста опухоли (ТРО) и увеличение продолжительности жизни животных (УПЖ), средняя продолжительность жизни (СПЖ). Кроме того, оценивали влияние экстрактов на терапевтическую активность цитостатикасидхлордиаминоплатины (ДДП) [8].

Нижеследующие примеры иллюстрируют предлагаемое изобретение.

Пример 1. Берут измельченные свежие листья *Calendula officinalis* (300 г), сухие листья *Plantago lanceolata* (25 г), побеги *Pentaphilloides fruticosa* (25 г) и корни *Angelica sylvestris* (60 г), помещают в стеклянный или эмалированный герметически закрывающийся сосуд, заливают 3 л воды и оставляют при температуре 28°C в течение 8 дней при периодическом перемешивании. Полученный экстракт процеживают и центрифугируют (20°C, 3000 об/мин, 40 мин). Осадок отбрасывают, а фильтрат используют.

Примеры 2-7. Экстракты растений получают по методике, описанной в примере 1, но меняют количество компонентов смеси и условия мацерации.

Составы приведены в табл. 1.

Определение антиоксидантной активности растительных экстрактов

Антиоксидантную активность изучали с использованием метода, основанного на способности исследуемого образца ингибировать процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в гомогенате печени мышей [6]. Печень мышей (линий СВА, ВДФ-1 беспородных) гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с последующим центрифугированием. Гомогенат печени вносили из расчета 5-6 мг белка на пробу. Объем пробы доводили до 0,5 мл раствором исследуемого на антиоксидантную активность образца. Пробу инкубировали в течение 3 ч при 37°C. Концентрацию продуктов ПОЛ определяли по цветной реакции с тиобарбитуровой кислотой. За условную единицу активности исследуемого образца принимали количество антиоксиданта, необходимое для 50% ингибирования ПОЛ.

Результаты представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, растительные экстракты 1, 2 и 3 обладают значительной антиоксидантной активностью в тесте *in vitro*, которая превышает таковую известных антиокислительных витаминов С и β-каротина). При хранении растительных экстрактов (табл. 2а) в течение 16-30 дней активность их практически не снижается.

Определение цитотоксической активности экстрактов *in vitro*

При постановке цитотоксического биотеста *in vitro* в лунки плоскодонного 96-луночного микропланшета (Sarstedt, США) вносили по 100 мкл суспензий клеток линии А-549 в концентрации  $1 \cdot 10^5$  клеток/мл с добавлением через 24 ч разведения образцов растительных экстрактов (2,2 мг/мл) в объеме 100 мкл/лунку. В качестве внутреннего лабораторного контроля использовали ДДП в диапазоне концентраций 40-1,25 мкг/мл в конечном разведении. Цитотоксическую активность образцов экстрактов и ДДП оценивали колориметрическим методом [7].

Биологически значимым эффектом считали ингибирование пролиферации клеток культуры А-549 более, чем на 50%.

Результаты приведены в табл. 3.

Исследованные образцы растительных экстрактов обладают цитотоксической активностью в экспериментах *in vitro*, однако она существенно ниже таковой препарата ДДП, традиционно используемого как контрольный препарат в тесте ингибирования пролиферации *in vitro* (экстракт - 2,2 мг/мл, ДДП - 0,01 мг/мл обеспечивают 70-80% ингибирования).

Изучение переносимости образцов растительных экстрактов.

Изучение переносимости и безвредности образцов проводили на животных с L-1210, привитой подкожно. Образцы экстрактов вводили внутрь через зонд многократно в течение всей жизни животных, начиная с первого дня роста опухоли, в разовой дозе 10,8 мл/кг в объеме 0,2 мл или однократно внутрибрюшинно в объеме 1 мл. Контрольные мыши получали 0,9% раствором NaCl вместо растительных экстрактов.

Токсический эффект оценивали по изменению массы тела мышей, а также их внешнему виду (поведению, виду шерстного покрова, их двигательной активности). Для количественной оценки изменений двигательной активности вводили интегральный показатель:  $(a/b \times 100\%)$ , где а - общее количество мышей с пониженной двигательной активностью с 1-го по 6-й дни роста опухоли, b - общее количество наблюдений с 1-го

по 6-й дни роста опухоли (1 наблюдение - 1 живая мышь за день).

Результаты проведенных экспериментов показали, что растительные экстракты в разовой дозе 10,8 мл/кг не влияют на массу тела, поведение, вид шерстного покрова и подвижность мышей (рис.1).

5 Увеличение разовой дозы растительных экстрактов до 1 мл (максимально допустимый объем) при однократном внутрибрюшинном введении препаратов 1, 2, 3 не приводило к развитию видимых нарушений в поведении и внешнем виде животных и не вызывало их гибели, что указывает на отсутствие возможности определения величин ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>100</sub> для данных растительных экстрактов.

10 Определение противоопухолевой активности образцов растительных экстрактов Лимфоидную лейкемию L1210 прививали мышам-самцам BDF<sub>1</sub> в стерильном физиологическом растворе по  $3 \cdot 10^6$  клеток в объеме 0,2 мл. День прививки считали нулевым днем роста опухоли. Образцы вводили в дозах и режимах, указанных в таблицах 4 и 5.

15 Лечение животных начинали через 2-4 ч после прививки опухоли, контрольные животные получали физиологический раствор вместо испытуемых образцов экстрактов. Противоопухолевый эффект оценивали по торможению роста опухоли (ТРО), вычисленному по формуле

$$\text{ТРО} = [(V_{\text{контр}} - V_{\text{опыт}} / V_{\text{контр}}) \cdot 100\%$$

20 по средней продолжительности жизни (СПЖ), увеличению продолжительности жизни (УПЖ), вычисленному по формуле

$$\text{УПЖ} = [(СПЖ_{\text{опыт}} - СПЖ_{\text{контр}}) / СПЖ_{\text{контр}}] \cdot 100\%.$$

Полученные данные обрабатывали по методу Фишера-Стьюдента с применением статистических программ. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

25 Результаты воздействия растительных экстрактов представлены в таблице 4, из которой видно, что экстракты способны подавлять рост L1210 in vivo.

В табл. 5 представлены результаты влияния растительных экстрактов на лечебный эффект ДДП. Как видно из табл. 5, экстракты увеличивают терапевтический эффект цитостатика, приводя к возрастанию величины ТРО на 6,8-дни роста опухоли.

30 Как видно из табл. 2-5 и рисунка, препарат растительного происхождения оказывает самостоятельный противоопухолевый эффект, задерживая рост L-1210; не снижает лечебный эффект ДДП и уменьшает токсическое действие последнего. Таким образом, данный состав может быть перспективен для применения в клинической онкологии для включения в схему лечения онкологических больных.

35

#### Формула изобретения

1. Средство для лечения онкологических заболеваний в виде водного экстракта растительного сырья, отличающееся тем, что оно включает экстракты растений *Calendula officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Pentaphilloides fruticosa* и *Angelica sylvestris*,

40 полученные при следующем соотношении растений и воды, г:

*Calendula officinalis* свежее - 200 - 360

*Plantado lanceolata* сухое - 10 - 60

*Pentaphilloides fruticosa* сухое - 10 - 60

*Angelica sylvestris* сухое - 25 - 60

45

Вода - 3000

2. Способ приготовления средства для лечения онкологических заболеваний в виде водного экстракта растений, отличающийся тем, что вымачивают в воде растения *Calenlula officinalis*, *Plantago lanceolata*, *Pentaphilloides fruticosa* и *Angelica sylvestris* с последующим процеживанием и центрифугированием.

50

Таблица 1

№№ приме ров	Наименование сырья	Консистен ция сырья	Масса (г)	Температура (°С)	Время (дни)
1	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	300 25 25 60	28	8
2	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	360 10 10 25	29	7
3	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	200 10 10 60	30	8
4	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	200 60 10 25	29	6
5	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	200 10 60 25	28	7
6	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	360 25 25 25	29	8
7	Лист <i>Calendula officinalis</i> Лист <i>Plantago lanceolata</i> Побеги <i>Pentaphilloides fruticosa</i> Корень <i>Angelica sylvestris</i>	свеж. сух. сух. сух.	360 10 10 60	30	7

Таблица 2

Сравнение антиоксидантной активности образцов растительных экстрактов с известными антиоксидантными препаратами.

№ при мер ов	Препарат	Антиоксидантная активность, усл. ед.
1	1	50
2	2	49
3	3	50
	Аскорбиновая кислота (витамин С)	12
	β-каротин	6

Таблица 2а

Изменение антиоксидантной активности образцов растительных экстрактов при хранении.

№№ при мер ов	Количество препарата, необходимое для достижения 50% ингибирования ПОЛ, мг/мл пробы		
	через 3 дня после приготовления	через 16 дней после хранения	через 30 дней после хранения
1	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$2,2 \cdot 10^{-2}$	$2,1 \cdot 10^{-2}$
2	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-2}$
3	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$2,5 \cdot 10^{-2}$	$2,4 \cdot 10^{-2}$

Таблица 3

Цитотоксическая активность растительных экстрактов по ингибированию ими пролиферации культуры клеток аденокарциомы легкого человека А-549.

№№ примеров	Максимальный титр	% ингибирования
1	1/4 (2,2 мг/мл)	82,8
2	1/4 (2,2 мг/мл)	78,5
3	1/4 (2,2 мг/мл)	83,1
ДДП	10 мкг/мл (0,01 мг/мл)	68,0



Таблица 4

Влияние образцов растительных экстрактов на рост L-1210.

№№ при- меров	Доза мл/кг	ТРО%			УПЖ%
		сутки			
		4	6	8	
1	10,8	0	12		0,5
2	10,8	3	10		1
3	10,8	10	8		0
1	11,5	20	22		0,5
2	11,5	18	25		2
3	11,5	7	20		3
1	16,0	73	48	31	5
3	16,0	80	40	30	5
5	16,0	71	44	36	2

Таблица 5

Влияние образцов растительных экстрактов на лечебный эффект ДДП.

Воздей- ствие	Доза мл/кг	ТРО%			УПЖ%
		сутки			
		4	6	8	
ДДП	4 мг/кг	100	47	41	16
ДДП+1	5,4	100	53	37	24
ДДП+2	5,4	100	55	40	25
ДДП+3	5,4	100	54	38	26
ДДП	10 мг/кг	100	87	65	32

Воздей- ствие	Доза мл/кг	ТРО%			УПЖ%
		сутки			
		4	6	8	
ДДП+1	5,4	100	99	83	33
ДДП+2	5,4	100	100	78	34
ДДП+3	5,4	100	79	84	35