

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **019268**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента

2014.02.28

(21) Номер заявки

201100043

(22) Дата подачи заявки

2010.12.01(51) Int. Cl. *A61K 31/685* (2006.01)*A61K 31/355* (2006.01)*A61K 31/195* (2006.01)*A61K 47/10* (2006.01)*A61K 9/48* (2006.01)*A61P 1/16* (2006.01)**(54) КОМБИНИРОВАННОЕ СРЕДСТВО, ОБЛАДАЮЩЕЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНЫМ ДЕЙСТВИЕМ**(43) **2012.03.30**(96) **2010000150 (RU) 2010.12.01**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"АНВИЛАБ" (RU)**

(72) Изобретатель:

Купсин Евгений Вениаминович (RU)

(74) Представитель:

Юмашев С.В. (RU)

(56) RU-C1-2367443

RU-C2-2179850

RU-C2-2226102

(57) Изобретение относится к медицине, в частности к гепатологии и фармакологии, и может быть использовано для получения комбинированного лекарственного средства в форме капсул, обладающего гепатопротекторным действием. Заявлено комбинированное лекарственное средство гепатопротекторного действия в форме капсул, включающее в качестве активных ингредиентов эссенциальные фосфолипиды, L-карнитин или L-карнитина тартрат и DL-альфа-токоферол, а в качестве вспомогательного вещества - магния стеарат при следующем соотношении, мас. %: эссенциальные фосфолипиды - 60,0-72,0; L-карнитин или L-карнитина тартрат - 20,0-25,0; DL-альфа-токоферола ацетат - 0,5-1,5; вспомогательные вещества - остальное; бинарный препарат, состоящий из двух капсул, при этом в первую капсулу включены, мас. %: эссенциальные фосфолипиды - 85,0-95,0; DL-альфа-токоферола ацетат - 1,0-1,7; вспомогательные вещества - остальное, а во вторую капсулу включен L-карнитин - 300-1000 г. Применение комбинированного лекарственного средства возможно в составе комплексной терапии для лечения жировых гепатозов и токсических гепатитов различной этиологии, а также в способах лечения жировых гепатозов и токсических гепатитов различной этиологии. Изобретение обеспечивает существенное уменьшение цитолиза гепатоцитов и холестаза, что свидетельствует о высокой регенерационной функциональной активности гепатоцитов, обусловленной потенцирующим влиянием активных ингредиентов, входящих в заявленную композицию: эссенциальных фосфолипидов, токоферола и карнитина, что проявляется, в частности, в сокращении длительности заболевания, значительном ускорении выздоровления и нормализации жизненного тонуса пациентов.

B1**019268****019268****B1**

Изобретение относится к медицине, в частности к гепатологии и фармакологии, и может быть использовано для получения комбинированного перорального средства, обладающего гепатопротекторным действием, включающего в качестве активных ингредиентов эссенциальные фосфолипиды, токоферол и L-карнитин (левокарнитин) и предназначенного для лечения и профилактики жирового гепатоза и токсических гепатитов различной этиологии, включая алкогольный и медикаментозный гепатиты, у человека или млекопитающего животного.

Актуальность проблемы обусловлена статистически достоверным возрастанием в последнее время на территории многих стран мира частоты и тяжести течения различных заболеваний печени, что связано, прежде всего, с ростом наркомании, токсикомании и алкоголизма; распространением среди населения вирусных гепатитов В, С и Е; снижением социального уровня жизни населения в целом; снижением активности иммунной системы организма за счёт плохой экологии, постоянных стрессов и дисбиозов кишечника различной этиологии; появлением на рынке разнообразных генно-модифицированных продуктов питания, а также использование медикаментозных средств, зачастую, необоснованно длительное время и/или в необоснованно высоких дозах, или же применение медикаментозных средств без надлежащего врачебного контроля.

Все выше перечисленные факторы губительны для печени, поскольку в ней происходит обезвреживание (инактивация) всех токсических веществ, попавших в организм как извне, так и образующихся внутри него, т.е. экзо- и эндотоксинов соответственно.

Кроме обезвреживающей функции печень выполняет также и синтетическую функцию, т.е. в печени происходит синтез большинства веществ, жизненно важных для организма человека или млекопитающего животного; в частности печень активно участвует в азотистом, углеводном, жировом и минеральном обмене.

Т.е. печень существенно отличается от всех других органов и тканей организма человека или млекопитающих животных по разнообразию и интенсивности процессов обмена веществ, протекающих в ней.

Поэтому увеличение токсической нагрузки на печень, обусловленной, например, длительным приёмом лекарственных препаратов, обладающих гепатотоксическим действием, таких как химиотерапевтические средства, нестероидные антифлогистики (например, парацетамол), или же приёмом противовирусных препаратов, воздействующих преимущественно на клетки печени - гепатоциты, приводит к развитию токсического гепатита.

Всё вышеизложенное свидетельствует о том, что лечение и профилактика развития токсических гепатитов является одной из актуальных задач современной медицины, в частности гепатологии.

Фармакотерапия гепатитов включает в себя назначение больным, помимо специфических препаратов, гепатопротекторы, которые условно можно разделить на препараты синтетического и природного происхождения.

Из растительных гепатопротекторов, чаще других используемых в клинической практике для лечения хронических гепатитов, широко известны такие препараты, как ЛИВ-52, Катерген, Силибор.

Однако в ряде случаев при использовании перечисленных выше препаратов отмечается сомнительная клиническая эффективность, особенно при лечении хронических гепатитов (как персистирующего, так и активного гепатита умеренной степени активности).

В частности, ЛИВ-52 нередко отрицательно действует на синдром цитолиза и мезенхимальное воспаление, а его действие на синтетическую функцию печени относительно и непостоянно.

Действие Катергена сомнительно у больных хроническим гепатитом в отношении гипербилирубинемии, гепатомегалии, геморрагического синдрома, поскольку Катерген купирует клинические проявления холестаза при неотчетливой динамике лабораторных показателей, к тому же у препарата отсутствует влияние на антигемиемию даже при длительных курсах лечения.

Кроме того, при приёме Катергена нередко случаи возникновения различных аллергических реакций (в 15-17%), которые проявляются чаще всего в виде лихорадки, крапивницы и эозинофилии.

При лечении хронического гепатита Силибором также отмечается проявление различных аллергических реакций.

Кроме того, при вирусных поражениях печени отмечена довольно низкая терапевтическая эффективность всех вышеуказанных гепатопротекторов.

Известно использование растительного гепатопротектора - Карсила (выпускаемого в различных странах под следующими названиями: Легалон, Силимарин, Силибинин или Силибор), получаемого из семян растения расторопши пятнистой.

Карсил представляет собой смесь трех флаволигнанов: силицианина, силибора и силихристина.

Его гепатопротекторное действие обусловлено многофакторным воздействием на гепатоциты, что проявляется, в частности, предотвращением разрушения фосфолипидов их мембран, снижением проницаемости мембран, а также стимулирующим эффектом на обмен веществ в самих гепатоцитах.

Однако Карсил следует принимать в течение довольно длительного промежутка времени, поскольку применение его короткими курсами (например, в течение 1-2 недель) оказывает слабо выраженный и нестабильный лечебный эффект на синдром цитолиза, мезенхимального воспаления, белково-

синтетическую функцию печени, а также на холестаза и, кроме того, может усиливать гипербилирубинемию.

Известно также использование для лечения заболеваний печени комбинированного лечебного препарата - Эссенциале, содержащего эссенциальные фосфолипиды (ЭФЛ), представляющие собой диглицериновые эфиры фосфорной кислоты, и ненасыщенные жирные кислоты: линоленовую и линолеовую.

Гепатопротективный эффект ЭФЛ реализуется путем встраивания их молекул непосредственно в структуру поврежденных мембран гепатоцитов, устранения дефектов и восстановления барьерной функции мембран.

В клинической практике Эссенциале применяется при поражении печени различной этиологии.

Однако Эссенциале следует назначать с осторожностью при высокой степени активности хронического гепатита, так как препарат может способствовать появлению или усилению внутрипеченочного холестаза, и кроме того, препарат недостаточно эффективно действует на синдром цитолиза и мезенхимального воспаления, а его применение при алкогольном поражении печени вообще сомнительно.

Кроме того, несмотря на то, что Эссенциале отличается низкой токсичностью, примерно у половины пациентов возрастает СОЭ, а по некоторым данным возможны такие осложнения, как усиление или появление цитолитического синдрома или появление аллергических реакций при парентеральном введении, а при приеме внутрь возможны диспепсические расстройства, что ограничивает использование Эссенциале в гепатологии.

Известно использование в качестве гепатопротектора средства, включающего в качестве активного начала спиртовой экстракт калины (RU 2177330 от 27.12.2001).

Однако действие указанного препарата оказывает слабовыраженный и к тому же нестабильный лечебный эффект, особенно на синдром цитолиза и мезенхимального воспаления.

Известно также использование в качестве гепатопротектора Мексидола - сукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (RU 2189817 от 20.04.2001).

Однако использование гепатопротектора в указанном выше источнике информации нуждается в дополнительных клинических испытаниях, т.к. накоплено мало соответствующего клинического опыта, позволяющего рекомендовать использование Мексидола - сукцината 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина в качестве гепатопротекторного средства для лечения гепатитов различной этиологии.

Основным критерием эффективности гепатопротекторов как таковых является сочетание их безопасности у больных различных категорий и широта дозового варьирования с высокой фармакологической активностью, под которой следует понимать возможность использования данного препарата для лечения беременных женщин, детей младшего возраста и пациентов старших возрастных групп.

Наиболее критичными свойствами создаваемых гепатопротекторов являются высокая всасываемость и эффект первого прохождения через печень; репаративные и мембранопротекторные свойства; способность активировать анаболические процессы; детоксицирующие свойства; способность активизировать иные (т.е. внепечёночные) пути выведения ксенобиотиков; антиоксидантная активность; прямое или опосредованное липотропное действие.

В связи с выдвигаемыми выше требованиями к свойствам гепатопротекторов как таковых, анализ имеющихся гепатопротекторов на фармацевтическом рынке Российской Федерации не позволяет предложить более 3-5 препаратов из их числа для использования в качестве гепатопротекторов.

В настоящее время в РФ в медицинской практике в качестве гепатопротекторов применяют в основном следующие препараты: Эссенциале, Силибор, Калия оротат, Легалон, Гептрал, т.е. арсенал препаратов гепатопротекторного, т.е. истинно этиотропного действия, очень ограничен.

Это обстоятельство объясняет необходимость создания отечественных новых комбинированных препаратов для лечения гепатитов и гепатозов различного генеза, в том числе токсического и вирусного генеза.

Задачей изобретения является расширение арсенала гепатопротекторных средств за счёт создания гепатопротектора нового поколения в пероральной форме, включающего в качестве активных ингредиентов новую комбинацию эссенциальных фосфолипидов, токоферола и L-карнитина, действующего в течение длительного промежутка времени и не оказывающего выраженных побочных эффектов.

Эссенциальные фосфолипиды представляют собой высокоспециализированные липиды, отличительным признаком которых является присутствие в их молекулах остатка фосфорной кислоты; они являются важной составной частью клеточных мембран (обеспечивают их текучие и пластические свойства) и клеточных органоидов (например, митохондрий) и поэтому они незаменимы для роста, развития и надлежащего функционирования всех соматических клеток организма человека или млекопитающих животных.

В состав эссенциальных фосфолипидов входят также глицерин (или аминокспирт - сфингозин), жирные кислоты, альдегиды и азотистые соединения (холин, этаноламин, серин).

Важнейшими представителями эссенциальных фосфолипидов являются глицерофосфатиды (фос-

фатидилхолин, т.е. лецитин).

Эссенциальные фосфолипиды участвуют в транспорте жиров, жирных кислот и холестерина. Между плазмой и эритроцитами происходит обмен фосфолипидами, которые играют важнейшую роль, поддерживая в растворимом состоянии неполярные липиды. Наличие в молекуле фосфолипидов остатков фосфорной кислоты обеспечивает их гидрофильными свойствами, т.е. фосфолипиды, по сути, являются своеобразными растворителями для холестерина и других высоко гидрофобных соединений.

Токоферол - это, по сути, витамин Е; витамин Е, полученный синтетическим путём, называется токоферола ацетат.

Под названием "Витамин Е" известен ряд соединений - токоферолов, близких по химической природе и по биологическому действию, но наиболее активным из них является α -токоферол.

Токоферолы содержатся в зеленых частях растений, особенно в молодых ростках злаков; токоферолами богаты растительные масла: подсолнечное, хлопковое, кукурузное, арахисовое, соевое, облепиховое; некоторое количество их содержится также в мясе, жире, яйцах, молоке.

Витамин Е является природным антиоксидантом, поскольку он защищает различные вещества от окислительных изменений. Участвует также в биосинтезе белков, в том числе в биосинтезе белка - гема, входящего в состав гемоглобина, пролиферации клеток, в тканевом дыхании и других важнейших процессах клеточного метаболизма.

У животных, лишенных витамина Е, обнаружены дегенеративные изменения в скелетных мышцах и мышце сердца, отмечены повышение проницаемости и ломкости капилляров, перерождение эпителия семенных канальцев, яичек, а у эмбрионов возникают кровоизлияния, и наступает их внутриутробная гибель.

Кроме того, при дефиците витамина Е наблюдаются также дегенеративные изменения в нервных клетках, поражение паренхимы печени (что приводит, в частности, к развитию гемолитической желтухи новорожденных), стеатореи и синдрому мальабсорбции.

В последнее время пристальное внимание учёных привлекли антиоксидантные свойства витамина Е в виде токоферола, что проявляется, в частности, торможением перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Особенно широкое применение в клинической практике получил токоферола ацетат, который применяют, в основном, в качестве лекарственного средства при мышечных дистрофиях, дерматомиозитах, амиотрофическом боковом склерозе, нарушениях менструального цикла, угрозе прерывания беременности, нарушении функции половых желез у мужчин.

Кроме того, имеются данные об эффективности токоферола при некоторых дерматозах, псориазе, спазмах периферических сосудов, склеродермии и гипотрофии.

В связи с антиоксидантными свойствами токоферола ацетат нашел применение в комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний, глазных болезней, а также для уменьшения побочных реакций при лечении химиотерапевтическими препаратами.

Кроме того, имеются сведения о том, что токоферол может повышать эффективность противосудорожных средств у больных эпилепсией, у которых обнаружено повышенное содержание в крови продуктов перекисного окисления липидов.

L-карнитин (левокарнитин) относится к витаминам группы В, является кофактором метаболических процессов, обеспечивающих поддержание активности КоА, а также играет важную роль в энергетическом обмене, осуществляя перенос длинноцепочечных жирных кислот через внутреннюю мембрану митохондрий для последующего их окисления, и тем самым снижает накопление жира в тканях. Дефицит карнитина способствует нарушению липидного обмена, в том числе развитию ожирения, а также развитию дистрофических процессов в миокарде.

L-карнитин оказывает жиромобилизирующее действие, обусловленное наличием в его составе трёх лабильных метильных групп, что позволяет ему конкурентно вытеснять глюкозу и включать жирнокислотный метаболический шунт, активность которого не лимитирована кислородом (в отличие от аэробного гликолиза). Поэтому L-карнитин эффективен при острой гипоксии мозга и других критических состояниях организма человека или млекопитающего животного.

L-карнитин оказывает анаболическое действие, снижает основной обмен, замедляет распад белковых и углеводных молекул, способствует проникновению через мембраны митохондрий и последующему расщеплению длинноцепочечных жирных кислот (например, пальмитиновой) с образованием ацетил-КоА.

L-карнитин вызывает незначительное угнетение ЦНС, повышает секрецию и ферментативную активность пищеварительных соков (желудочного и кишечного), что, в свою очередь, улучшает усвоение пищи; снижает избыточную массу тела и уменьшает содержание жира в мускулатуре, а также повышает порог резистентности к физической нагрузке, что, в свою очередь, приводит к ликвидации после-нагрузочного ацидоза и, как следствие, восстановлению работоспособности после длительных истощающих физических нагрузок.

Кроме того, L-карнитин увеличивает запасы гликогена в печени и мышцах, способствует более экономному его использованию; оказывает нейротрофическое действие, тормозит развитие апоптоза, ограничивает зону поражения и восстанавливает структуру нервной ткани.

Ранее делались попытки использовать эссенциальные фосфолипиды, и/или токоферол, и/или L-карнитин в составе комбинированных лекарственных средств, предназначенных для лечения различных заболеваний печени.

Так, в частности, известно использование средства, обладающего, кроме всего прочего, гепатопротекторными свойствами, включающее в качестве активного ингредиента комплекс фосфолипидов, выделенный из дрожжей, используемых в пивоварении, пекарском производстве и кондитерской промышленности, таких как *Saccharomyces cerevisiae*, включающий фосфатидилхолин (ФХ), фосфатидилэтаноламин (ФЭА), фосфатидилсерин (ФС) в количестве 30 до 99% от общей массы фосфолипидов и остальное - смесь фосфатидной кислоты (ФК), фосфатидилинозитола (ФИ), кардиолипина (КЛ), фосфатидилглицерина (ФГ), плазмалоген; кроме того в его состав указанного средства входят витамины группы В и/или витамин Е (RU 2367443 от 20.09.2009).

Однако указанное в вышеприведённом источнике информации лекарственное средство обладает слабо выраженным и непродолжительным лечебным эффектом.

Разработан и зарегистрирован на территории РФ отечественный комбинированный лекарственный препарат "Фосфоглив", включающий в качестве активных ингредиентов глицерризиновую кислоту и эссенциальные фосфолипиды.

Однако применение препарата "Фосфоглив" у пациентов может спровоцировать возникновение аллергической реакции в виде появления кожной сыпи; кроме того, препарат противопоказан к применению беременным и кормящим женщинам, а также его надо применять с осторожностью у пациентов с портальной гипертензией, что ограничивает применение препарата в клинике.

Таким образом, до настоящего времени, по сути, не удалось получить действительно эффективный гепатопротектор, действующий в течение длительного промежутка времени и не оказывающий выраженных побочных эффектов.

Неожиданно было обнаружено, что объединение в составе готовой пероральной формы в качестве активных ингредиентов эссенциальных фосфолипидов, токоферола и L-карнитина способствует достижению поставленной задачи.

В качестве источника эссенциальных фосфолипидов используют соевый лецитин (фосфатидилхолин), или липоид С80 (основной компонент - фосфатидилхолин 73-79%), или субстанцию EPL (активное начало которой - диглицеридные эфиры холинофосфорной кислоты природного происхождения с преобладанием полиненасыщенных жирных кислот, в основном линолевой, около 70%, линоленовой и олеиновой кислот); в качестве токоферола - DL-альфа-токоферола ацетат; в качестве L-карнитина - его соль (L-карнитина тартрат).

В качестве объектов исследования были использованы образцы субстанций биологически активных добавок к пище соевого лецитина (Солек Ф), гранулята токоферола ацетата (далее токоферол) и L-карнитина тартрат (далее карнитин).

Исследуемые субстанции были оценены Испытательным лабораторным комплексом "Эксперт Био".

Для изучения специфической фармакологической активности из каждой субстанции готовили растворы на воде очищенной. Полученные растворы хранили в условиях холодильной камеры при температуре 4°C.

Ежедневно из растворов готовили ряд разведений с использованием воды очищенной. Соответствующим группам экспериментальных животных вводили рабочие растворы. Приготовление растворов проводили в асептических условиях стерильного бокса. Аналогичным образом проводили приготовление растворов препаратов сравнения.

Эксперименты выполнялись на прошедших карантин аутбредных крысах-самцах линии Sprague-Dawley с массой тела 200-230 г.

Перечень регистрируемых показателей

Биохимия сыворотки крови:

аланинаминотрансфераза (АЛТ);

щелочная фосфатаза (ЩФ);

триацилглицериды (ТГ);

малоновый диальдегид (МДА).

Оценка детоксикационной функции печени:

проба с бромсульфалеином (БСФ).

Для определения биохимических показателей использовали унифицированные методы лабораторной диагностики и наборы фирмы "Ольвекс Диагностикум" (СПб, РФ); уровень МДА - по реакции с 2-тиобирбитуровой кислотой; ретенцию БСФ - спектрофотометрически при 570 нм.

Патоморфологическое исследование включало в себя некропсию, макроскопическое исследование, взвешивание и гистологическое исследование печени.

Некропсия выполнялась под непосредственным наблюдением патоморфолога.

После эвтаназии проводилось исследование микроскопических особенностей строения печени.

Для гистологического исследования кусочки печени замораживали на столике микротомы сжиженным оксидом углерода, после чего фиксировали в 10% растворе формалина; срезы окрашивали Суданом

IV и ядра гепатоцитов докрашивали гематоксилином.

Гистологические препараты исследовали под микроскопом "Биолам".

При изучении специфического действия в эксперименте статистическую обработку проводили с помощью пакетов программ: "Microsoft Excel". Отличия между выборками оценивали с помощью критерия t Стьюдента.

Экспериментальных животных условно разделяли на следующие группы: интактные крысы, не получавшие никакого воздействия. Контроль патологии (ТХМ-гепатит+вода). Референс - группа/препарат сравнения Эссенциале, 600 мг/кг, композиция: Солек Ф 600 мг/кг + токоферол 200 мг/кг; L-карнитин (далее Карнитин) 160 мг/кг.

Композиция: Солек Ф 600 мг + токоферол 200 мг + карнитин 160 мг. Гепатит моделировали у крыс-самцов с массой тела 200-220 мг путём внутрижелудочного введения тетрахлорметана (ТХМ) в течение 3 дней. ТХМ в 50% растворе на оливковом масле вводили в желудок в дозе 0,5 мл/100 г веса тела животного.

Лечение начинали с 1-го дня отравления.

Оценивали гепатопротекторную активность образцов субстанций через 7 и 14 дней проводимой терапии.

В сыворотке крови определяли активность трансаминаз, щелочной фосфатазы, уровень триглицеридов и малонового диальдегида. В конце исследования определяли детоксикационную функцию печени и степень жировой дистрофии гепатоцитов.

В каждой опытной группе было по 10 крыс.

Введение исследуемых препаратов осуществляли ежедневно однократно внутрижелудочно в виде водного раствора, с помощью атравматического металлического зонда в дозах, эффективных по данным литературы.

Контрольные животные получали токсикант и эквивалентное с гепатопротекторами количество воды очищенной.

Референс - группе вводили препарат сравнения - Эссенциале.

Исследование защитного действия препарата оценивали через 7 и 14 дней после окончания введения токсиканта.

Данные по летальности крыс с токсическим гепатитом отражены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние проводимой терапии на выживаемость крыс с гепатитом

Экспериментальные группы/дозы	Количество погибших крыс/абс. (%)
ТХМ (контроль)	4/10 – (40)
ТХМ + эссенциале	2/10 – (20)*
ТХМ + композиция 1	2/10 – (20)*
ТХМ + карнитин	4/10 – (40)
ТХМ + композиция 2	0/10*

Примечания: * - отличия значимы по сравнению с контролем; $p < 0,05$

Терапия изучаемыми композициями защищала экспериментальных животных от летального воздействия тетрахлорметана, в особенности композиция 2 (Солек Ф + токоферол + карнитин).

Введение препарата сравнения уменьшало гибель животных на 50% по сравнению с контролем.

Карнитин защитным действием не обладал. Кроме того, гибель крыс с токсическим гепатитом на фоне его введения наступала на 2-3 дня раньше, чем в контроле.

Эти результаты позволяют сделать вывод о том, что введение карнитина крысам с токсическим гепатитом способствует наступлению смерти в более ранние сроки, что может быть связано с увеличением образования аммиака в цикле мочевины.

Функциональную активность гепатоцитов оценивали по показателям липидного обмена (триглицериды; продукты перекисного окисления липидов - ПОЛ) и активности специфических ферментов печени (трансаминаза, фосфатаза) в крови.

Аминотрансферазы представляют собой группу ферментов печени, сывороточная активность которых изменяется при большинстве острых и хронических заболеваний печени. Аланинаминотрансфераза (АлАТ) и аспартатаминотрансфераза (АсАТ) содержатся в печени в высоких концентрациях. При некрозе гепатоцитов (клеток печени) и повышении проницаемости мембран гепатоцитов аминотрансферазы высвобождаются и их активность в сыворотке крови повышается.

Изменение активности АлАТ в сыворотке крови наиболее часто отмечают при острых заболеваниях печени и желчевыводящих путей (ЖВП). Увеличение активности АлАТ в сыворотке крови при вирусном гепатите А может быть обнаружено и в преджелтушной стадии заболевания, а при эпидемических вспышках - за 1-4 недели до клинических проявлений. Активность АлАТ начинает увеличиваться за неделю до появления клинических симптомов, приблизительно у 50% больных увеличение активности АлАТ обнаруживается за 5 дней до появления желтухи или увеличения печени и у 90% - за 2 дня до её развития.

Это связано, скорее всего, с тем, что при сравнимой скорости высвобождения ферментов из клетки, период полужизни цитоплазматического изофермента АсАТ составляет 14 ч, митохондриального изофермента - 6 ч, а АлАТ - 50 ч.

Недельный курс лечения токсического гепатита исследуемыми композициями лишь частично способствовал регенерации гепатоцитов. Это выражалось, в частности, в нормализации уровня липидов крови, активности трансаминаз и фосфатазы.

На процессы липопероксидации оказывали влияние только препарат сравнения Эссенциале и композиция фосфолипидов с токоферолом.

Карнитин оказывал весьма слабое влияние на активность ферментов печени и уровень ПОЛ, но существенно уменьшал выраженность липемии.

Результаты отражены в табл. 2 и 3.

Таблица 2. Влияние композиции фосфолипидов с токоферолом и карнитином на биохимические показатели крови крыс с токсическим гепатитом, 7 сутки.

Группы	ТГ, ммоль/л	МДА, мкмоль/л	АлАТ, моль/ч/л	ЩФ, нмоль/с/л
Интактные	0,88±0,16	2,31±0,24	0,23±0,06	331±14
Контроль	1,92±0,25*	14,67±0,82*	1,96±0,14*	1146±37*
Эссенциале	1,56±0,41	11,35±0,44*/**	1,51±0,20*/**	867±19*/**
Солек Ф + Е	1,23±0,18*/**†	9,86±0,33*/**†	1,43±0,16*/**	905±23*/**
Карнитин	1,17±0,33**†	13,66±0,74*	1,92±0,20*	1189±288
Солек Ф +Е+ Карнитин	0,96±0,21**†	8,65±0,44*/**†	1,39±0,18*/**	812±20*/**

Примечание: * - отличия значимы по сравнению с интактными животными;

** - отличия значимы по сравнению с контрольной группой;

† - отличия существенны по сравнению с препаратом сравнения при $p < 0,05$.

Таблица 3. Влияние композиции фосфолипидов с токоферолом и карнитином на биохимические показатели крови крыс с токсическим гепатитом, 14 сутки

Группы	ТГ, ммоль/л	МДА, мкмоль/л	АлАТ, моль/л	ЩФ, нмоль/с/л
Интактные	0,82±0,14	2,26±0,22	0,25±0,08	296±18
Контроль	1,12±0,20	5,32±0,19*	0,54±0,10*	651±22*
Эссенциале	1,03±0,15	3,11±0,13*/**	0,41±0,09*	341±29**
Солек Ф+Е	0,95±0,18	2,63±0,12*/**†	0,28±0,07**	302±20**
Карнитин	0,81±0,20	4,75±0,23*	0,50±0,09*	511±19*/**
Солек Ф+Е+Карнитин	0,79±0,16	1,98±0,20*/**†	0,24±0,06**†	288±24**†

Примечание: * - отличия значимы по сравнению с интактными;

** - отличия значимы по сравнению с контрольной группой;

† - отличия существенны по сравнению с препаратом сравнения при $p < 0,005$.

Таким образом под действием композиций: Солек Ф + токоферол и Солек Ф + токоферол + карнитин на 14 сутки терапии происходило существенное уменьшение показателей цитолиза гепатоцитов и холестаза в виде уменьшения АлАТ и ЩФ, а также уровня ТГ и продуктов липопероксидации (малонового диальдегида) в крови животных.

По характеру воздействия исследуемые композиции существенно превосходили активность препарата сравнения Эссенциале.

Оценку детоксикационной функции печени оценивали по её способности к глюкоронидной конъюгации и выведению ксенобиотиков из кровотока; оценку осуществляли по тесту задержки трифенилметанового красителя бромсульфопфталеина (БСФ, Fluka, Germany).

При этом замедленное выведение БСФ из крови лабораторных животных, проявляющееся в виде исчезновения красителя из их крови в течение более длительного промежутка времени, было зафиксировано в контрольной группе крыс и группе крыс, для лечения которых использовали Карнитин.

Так, у животных отмечали достоверно более высокую концентрацию бромсульфолеина как на 10-й (Эссенциале и Карнитин), так и на 15-й и 20-й (контроль и Карнитин) минутах тестирования.

Таким образом, по способности восстанавливать детоксикационную функцию печени исследуемые препараты и композиции можно выстроить в следующей последовательности по мере уменьшения их активности: Солек Ф + Токоферол + Карнитин > Солек Ф + Токоферол > Эссенциале > Карнитин ≥ контроль.

Полученные результаты свидетельствуют о более эффективной регенерационной функциональной активности гепатоцитов в условиях токсического гепатита на фоне использования первых двух композиций в представленном ряду, что обусловлено потенцирующим влиянием активных ингредиентов, входящих в указанные композиции по сравнению с использованием их по отдельности.

Результаты патоморфологического исследования крыс.

Часть крыс погибли на 3 сутки (контроль, препарат сравнения Карнитин) и на 7 сутки (контроль, Эссенциале, Карнитин, изучаемые композиции) соответственно.

Оставшуюся часть крыс умерщвляли с помощью декапитации через 7 и 14 дней после эксперимента.

Кусочки печени этих лабораторных животных фиксировали в формолфосфатном буфере, затем получали криосрезы.

Окрашенные на липиды срезы оценивали микроскопически.

Интактная группа: строение печени без видимых изменений. Жировых капель в паренхиме не отмечено; балочное строение и организация портальных трактов печени не нарушены.

Контрольная группа: в печени крыс этой группы зафиксирована выраженная жировая дистрофия печени (гепатоз): крупные и средние капли жира заполняли цитоплазму обширных полей гепатоцитов.

Эссенциале: у крыс этой группы степень и распространённость крупнокапельной жировой дистрофии были такими же, как в группе контроля, т.е. цитоплазма обширных полей гепатоцитов была густо заполнена средними и крупными каплями жира.

Карнитин: у крыс этой группы очаги крупнокапельной жировой дистрофии печени были множественными, но более мелкими по распространённости, чем в группах контроля и Эссенциале, в связи с чем, общая площадь повреждения печёночной ткани была немного меньше.

Солек Ф + Токоферол: у крыс этой группы очаги крупнокапельной дистрофии печёночной ткани были в меньшем количестве и менее обширными, чем в группах контроля, Эссенциале и Карнитина.

Солек Ф + Токоферол + Карнитин: у крыс этой группы отмечались единичные очаги крупнокапельной дистрофии печёночной ткани на площади меньшей, чем в предыдущей группе.

Таким образом, наибольшим гепатопротекторным действием, проявляющимся в виде уменьшения выраженности жировой дистрофии гепатоцитов, обладает композиция, включающая в качестве активных ингредиентов эссенциальные фосфолипиды (Солек Ф), Токоферол и Карнитин.

С учётом вышеизложенного было принято решение разработать состав фармацевтической композиции для последующего создания на его основе готового лекарственного средства (ГЛС) в капсулированной форме для использования его в качестве гепатопротектора в составе общепринятой терапии, предназначенной для лечения заболеваний печени различной этиологии.

Состав заявленной фармацевтической композиции представлен Эссенциальными фосфолипидами, Токоферолом и Карнитином.

При этом в качестве эссенциальных фосфолипидов используют соевый лецитин или липоид С80, или субстанцию EPL; в качестве Токоферола используют DL-альфа-токоферола ацетат; в качестве Карнитина используют L-карнитин в фармацевтически приемлемой форме или его фармацевтически приемлемые соли, в частности L-карнитина тартрат; в качестве вспомогательного вещества используют магния стеарат. Также возможно использование кальция стеарата, стеариновой кислоты, талька, как по отдельности каждого, так и в сочетании друг с другом.

В качестве капсул используют твёрдые желатиновые капсулы цилиндрической формы разъемные с полусферическими концами, заполненные порошком желтоватого цвета, со слабым специфическим запахом и кисловатым вкусом, при этом минимальный вес капсулы составляет 250 мг, а максимальный - 600 мг.

При перерасчёте на 1 капсулу активные ингредиенты вводят с учётом их эффективной дозы и верхнего допустимого уровня потребления в сутки: Эссенциальные фосфолипиды 7-15 г, DL-альфа-токоферола ацетат 15-100 мг, L-карнитин или L-карнитина тартрат 300-900 мг.

Технологический процесс производства ГЛС в виде капсул осуществляют на серийно выпускаемом оборудовании; при этом процесс производства включает несколько последовательных стадий:

вспомогательные работы;

подготовка сырья и дозирование компонентов;

смешивание компонентов;

капсулирование;

фасовка, упаковка и маркировка готовой продукции.

На стадии вспомогательных работ проводят санитарную обработку производственных помещений и оборудования. Все сырье проверяют на соответствие НД.

Все сырьевые компоненты измельчают и передают на дозирование.

Дозирование компонентов производят путем взвешивания в соответствии с расходными нормами технологической инструкции.

Взвешенные компоненты передают на стадию смешивания.

Перемешивание производят при комнатной температуре в смесителе не менее 15 мин.

Готовую порошкообразную смесь сразу подают на капсулирование.

Капсулирование производят с помощью ручного или автоматического капсулятора.

Капсулы фасуют в полимерные банки с крышками, флаконы, блистеры, стрипы или другую тару, изготовленную из материалов, разрешенных для хранения пищевых и лекарственных средств. Блистеры,

стрипы или флаконы помещают затем в транспортную тару.

Состав активных веществ в одной дозе комплексного препарата (1 капсула) для перорального применения по массе; мг и, соответственно, мас. %:

Компоненты	мг	масс. %
Эссенциальные фосфолипиды	180 – 430	60,0 – 72,0
L-карнитин или L-карнитина тартрат	70 – 150	20,0 – 25,0
DL-альфа-токоферола ацетат	2 – 8	0,5 – 1,5
Магния стеарат	Остальное - из расчёта веса капсулы от 300 до 600 мг.	остальное

При этом использование активных ингредиентов: эссенциальных фосфолипидов, L-карнитина, DL-альфа-токоферола ацетата в дозах менее 180 мг, 70 мг, 2 мг, соответственно, не оказывает лечебного эффекта, а выше 430 мг; 150 г; 8 мг, соответственно, нецелесообразно.

Кроме того, была разработана форма в виде бинарного препарата с разносом заявленных активных ингредиентов в разные капсулы, которые принимаются одновременно, либо в определённых ситуациях принимается только одна первая капсула.

Банарный препарат в отличие от монопрепарата позволяет увеличить дозу L-карнитина и за счёт этого уменьшить кратность его приёма, что обуславливает высокий лечебный эффект и предотвращает возникновение нежелательных побочных эффектов и, кроме того, позволяет использовать в качестве источника L-карнитина практически все известные на данный момент его соли и формы: L-карнитина гидрохлорид (L-Carnitin Hydrochloride); L-карнитина тартрат (L Carnitin L-Tartrate - порошок); L-карнитина цитрат магния (L-Carnitine Magnesium Citrate - гранулы); ацетил-L-карнитин (Acetyl-L-Carnitine - порошок); жидкие формы L-карнитина: жидкий L-карнитин (L-Carnitin Liguide); карнитина хлорид (Carnitine Chloride); левокарнитина хлорид (Levocarnitinum Chloride).

Обоснование доз активных ингредиентов, входящих в первую капсулу № 1, приведено выше, а что касается дозы активного ингредиента L-карнитина, включённого во вторую капсулу № 2, в диапазоне от 300 до 1000 мг, то выбор доз обусловлен тем, что доза 300 мг используется в качестве разовой дозы для профилактики заболеваний печени у взрослых и в качестве разовой лечебной дозы у детей (двукратный приём составляет суточную дозу L-карнитина, равную в 600 мг); использование L-карнитина в дозе менее 300 мг не оказывает лечебного эффекта, поэтому её использование нецелесообразно; разовая доза L-карнитина в количестве 1000 мг при однократном приёме является оптимальной лечебной суточной дозой для взрослых, поэтому увеличение этой дозы нецелесообразно, и, кроме того, увеличение разовой дозы L-карнитина более 1000 мг может привести к нежелательным последствиям, связанным с передозировкой L-карнитина.

Первая капсула № 1 для перорального применения включает на одну дозу (1 капсулу) по массе, мг и, соответственно, мас. %:

Компоненты	мг	масс. %
Эссенциальные фосфолипиды	180 – 430	85,0 – 95,0
DL-альфа-токоферола ацетат	2 – 8	1 – 1,7
Магния стеарат	Остальное - из расчёта веса капсулы от 200 до 500 мг.	остальное

Вторая капсула № 2 для перорального применения включает на одну дозу (1 капсулу) по массе, мг: L-карнитин -300-1000.

Полученное ГЛС как в виде единого (мого) препарата, так и в виде бинарного препарата было апробировано в клинических условиях в течение 30 дней на 40 больных (из них 28 мужчин и 12 женщин) с различными заболеваниями печени, выбранными из группы, включающей жировой гепатоз, неалкогольный стеатогепатит, первичный билиарный цирроз печени, лекарственное и токсическое поражение печени различного генеза.

Все больные были условно разделены на 4 группы по 10 человек каждая:

контроль 1 - группа пациентов, которая получала общепринятую терапию, но без гепатопротектора; контроль 2 - группа пациентов, которая получала такую же терапию, как и контрольная группа № 1 + гепатопротектор Легалон по общепринятой схеме;

опытная группа 3 - группа пациентов, которая получала общепринятую терапию + заявленный гепатопротектор в виде единого комбинированного препарата по 1 капсуле 3 раза в день во время еды;

опытная группа 4 - группа пациентов, которая получала общепринятую терапию + заявленный гепатопротектор в виде бинарного препарата: капсула № 1 + капсула № 2 дважды в день во время еды.

Все пациенты были сравнимы по возрасту (33±5 лет) и длительности заболевания (7±0,5 года).

Всем пациентам назначенная терапия проводилась в течение 30 дней.

За критерий эффективности лечения принимались субъективные жалобы пациентов: уменьшение слабости, повышение аппетита, восстановление ритма сна, повышение активности и работоспособности, исчезновение иктеричности склер и желтушности кожных покровов, уменьшение зуда кожи и головной боли, а также данные дополнительного обследования: УЗИ печени, селезенки и портальной системы; АлАТ, АсАТ, ЩФ, билирубин, альбумин, протромбин и СОЭ.

После проведенного лечения в опытной группе была выявлена значительная положительная динамика в состоянии пациентов уже на 5-7 день применения заявленного гепатопротектора независимо от его формы, что выражалось, в частности, в нормализации формулы сна, повышении настроения, общего тонуса, работоспособности и аппетита; при объективном обследовании выявлялось значительное уменьшение и/или исчезновение желтушности кожных покровов и иктеричности склер, уменьшение границ печени, исчезновение зуда кожных покровов на 7-9 день; лабораторно на 12-15 день фиксировалась нормализация практически всех показателей крови: АлАТ, АсАТ, ЩФ, билирубина, альбумина, протромбина и СОЭ.

В 1-й группе положительная динамика в состоянии пациентов была отмечена только на 18-20 день, а во 2-й - на 12-15 день; при объективном осмотре в 1-й группе пациентов отмечалась положительная динамика на 15-17 день, а во 2-й - на 9-11 день; нормализация и снижение лабораторных показателей в 1-й группе отмечалась только на 21-23 день, а во 2-й группе - на 16-19 день.

Таким образом, использование заявленного лекарственного средства гепатопротекторного действия, как в виде комплексного монопрепарата, так и в виде бинарного препарата в составе общепринятой терапии, предназначенной для лечения жирового гепатоза и токсических гепатитов различной этиологии, включая алкогольный и медикаментозный гепатит, обеспечивает существенное уменьшение цитолиза гепатоцитов и холестаза, что свидетельствуют о высокой регенерационной функциональной активности гепатоцитов, обусловленной потенцирующим влиянием активных ингредиентов, входящих в заявленное лекарственное средство: эссенциальных фосфолипидов, токоферола и L-карнитина, что проявляется, в частности, в сокращении длительности заболевания, значительном ускорении выздоровления и нормализации жизненного тонуса пациентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Комбинированное средство гепатопротекторного действия в форме, пригодной для перорального применения, включающее в качестве активных ингредиентов эссенциальные фосфолипиды, L-карнитин или L-карнитина тартрат и DL-альфа-токоферол и вспомогательные вещества, характеризующееся тем, что указанные компоненты содержатся при следующем соотношении, мас. %: эссенциальные фосфолипиды - 60,0-72,0; L-карнитин - 20,0-25,0; DL-альфа-токоферола ацетат - 0,5-1,5; вспомогательные вещества - остальное.

2. Комбинированное средство по п.1, включающее в качестве эссенциальных фосфолипидов соевый лецитин, или липоид С80, или субстанцию ЕРL, а в качестве L-карнитина используется L-карнитина тартрат.

3. Комбинированное средство по п.1 или 2, выполненное в виде твердых желатиновых капсул, а в качестве вспомогательных веществ используется кальция стеарат, и/или магния стеарат, и/или стеариновая кислота, и/или тальк.

4. Комбинированное средство гепатопротекторного действия в форме, пригодной для перорального применения, включающее в качестве активных ингредиентов эссенциальные фосфолипиды, L-карнитин или его фармацевтически приемлемые соли и DL-альфа-токоферол и вспомогательные вещества, характеризующееся тем, что указанные активные ингредиенты содержатся в двух капсулах, при этом первая капсула включает следующие компоненты при соотношении, мас. %: эссенциальные фосфолипиды - 85,0-95,0; DL-альфа-токоферола ацетат - 1,0-1,7; вспомогательные вещества - остальное, а вторая капсула содержит L-карнитин в терапевтически эффективном количестве.

5. Комбинированное средство по п.4, характеризующееся тем, что L-карнитин содержится в количестве 300-1000 мг.

6. Комбинированное средство по п.4, включающее в качестве эссенциальных фосфолипидов соевый лецитин, или липоид С80, или субстанцию ЕРL.

7. Комбинированное средство по п.4 или 5, включающее в качестве L-карнитина его фармацевтически приемлемые соли, выбранные из группы, включающей L-карнитина гидрохлорид, L-карнитина тартрат, L-карнитина цитрат магния, ацетил-L-карнитин.

8. Комбинированное средство по п.4 или 5, включающее в качестве L-карнитина его фармацевтически приемлемую жидкую форму.

9. Применение комбинированного средства по любому из пп.1-8 для лечения жировых гепатозов и токсических гепатитов различной этиологии, включая алкогольный и медикаментозный гепатиты.

10. Способ лечения жировых гепатозов и токсических гепатитов различной этиологии, включающий пероральное введение комбинированного средства гепатопротекторного действия по любому из

пп.1-8.

11. Способ лечения по п.10, включающий пероральное введение комбинированного средства по любому из пп.1-3 по одной капсуле, содержащей терапевтически эффективное количество эссенциальных фосфолипидов, L-карнитина или L-карнитина тартрата и DL-альфа-токоферола, три раза в день во время еды в течение не более 30 дней.

12. Способ лечения по п.10, включающий введение комбинированного средства по любому из пп.4-8 путём приема первой капсулы, содержащей терапевтически эффективное количество эссенциальных фосфолипидов и DL-альфа-токоферола, два или три раза в день, а второй капсулы, содержащей терапевтически эффективное количество L-карнитина или L-карнитина тартрата, один или два раза в день во время еды в течение не более 30 дней.



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

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