



(51) МПК
A61K 35/745 (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/745 (2020.02); *A61K 35/747* (2020.02); *A61K 47/38* (2020.02); *A61K 9/48* (2020.02); *A61P 1/00* (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2018124574, 05.07.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
05.07.2018

Дата регистрации:
11.08.2020

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 05.07.2018

(43) Дата публикации заявки: 10.01.2020 Бюл. № 1

(45) Опубликовано: 11.08.2020 Бюл. № 23

Адрес для переписки:

129090, Москва, пр-кт Мира, 6, ООО
 "Патентно-правовая фирма "ЮС"

(72) Автор(ы):

Ивашкин Владимир Трофимович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

**Общество с ограниченной ответственностью
 "ВАЛЕНТА - ИНТЕЛЛЕКТ" (RU)**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: WO 2007140621 A1, 13.12.2007. US 9579340 B2, 28.02.2017. US 20060171936 A1, 03.08.2006. RU 2614116 C2, 22.03.2017. RU 2497535 C2, 10.11.2013. RU 2205650 C1, 10.06.2003.

(54) **БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ПИЩЕВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ЗАБОЛЕВАНИЯ КИШЕЧНИКА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ КИШЕЧНЫХ РАССТРОЙСТВ И СПОСОБ ЕЕ ПОЛУЧЕНИЯ**

(57) Реферат:

Группа изобретений относится к области нутрицевтики, а именно к пробиотической композиции для профилактики воспалительного заболевания кишечника и функциональных кишечных расстройств и для устранения их симптомов, а также для укрепления общей неспецифической резистентности организма. Композиция выполнена в форме капсулы, содержащей от 0,04 до 0,1 г сухой бактериальной массы, содержащей пробиотические лактобактерии *Lactobacillus rhamnosus* и пробиотические бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis*, а также нутрицевтически приемлемые вспомогательные компоненты, включая микрокристаллическую целлюлозу и нутрицевтически приемлемую соль стеариновой кислоты в количестве от 0,002 до 0,004 г, выбранную из стеарата кальция и стеарата

магния, причем содержание каждого из видов пробиотических бифидобактерий и лактобактерий составляет не менее 1×10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 грамм сухой бактериальной массы. Группа изобретений относится также к способу изготовления указанной композиции. Группа изобретений обеспечивает расширение ассортимента пробиотических композиций на основе пробиотических лакто- и бифидобактерий, предназначенных для профилактики воспалительного заболевания кишечника и функциональных кишечных расстройств, а также получение пробиотической композиции с длительным сроком хранения и с сохранением жизнеспособности и полезных свойств пробиотических микроорганизмов, входящих в ее состав, в течение всего срока хранения композиции. 2 н. и 6 з.п. ф-лы, 1 табл., 1 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 35/745 (2015.01)
A61K 35/747 (2015.01)
A61K 47/38 (2006.01)
A61K 9/48 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

A61K 35/745 (2020.02); *A61K 35/747* (2020.02); *A61K 47/38* (2020.02); *A61K 9/48* (2020.02); *A61P 1/00* (2020.02)

(21)(22) Application: **2018124574, 05.07.2018**(24) Effective date for property rights:
05.07.2018Registration date:
11.08.2020

Priority:

(22) Date of filing: **05.07.2018**(43) Application published: **10.01.2020** Bull. № 1(45) Date of publication: **11.08.2020** Bull. № 23

Mail address:

129090, Moskva, pr-kt Mira, 6, OOO "Patentno-pravovaya firma "YUS"

(72) Inventor(s):

Ivashkin Vladimir Trofimovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennostyu "VALENTA - INTELLEKT" (RU)(54) **BIOLOGICALLY ACTIVE FOOD ADDITIVE FOR PREVENTING INFLAMMATORY INTESTINAL DISEASE AND FUNCTIONAL INTESTINAL DISORDERS AND A METHOD FOR PRODUCTION THEREOF**

(57) Abstract:

FIELD: nutraceutical agent.

SUBSTANCE: group of inventions relates to a probiotic composition for preventing inflammatory bowel disease and functional intestinal disorders and to eliminate their symptoms, as well as to enhance overall nonspecific body resistance. Composition is presented in the form of capsule containing 0.04 to 0.1 g of dry bacterial mass containing probiotic *Lactobacillus rhamnosus* lactobacilli and probiotic bifidobacteria *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* and *Bifidobacterium infantis*, as well as nutraceutically acceptable auxiliary components, including microcrystalline cellulose and a nutraceutically acceptable stearic acid salt in amount of 0.002 to 0.004 g, selected from calcium stearate and

magnesium stearate, wherein the content of each of the species of probiotic lactobacilli and bifidobacteria is not less than 1×10^8 colony forming units (CFU) per 1 g of dry bacterial mass. Group of inventions also relates to a method of producing said composition.

EFFECT: group of inventions widens the range of probiotic compositions based on probiotic lacto- and bifidobacteria, intended for prevention of inflammatory intestinal disease and functional intestinal disorders, as well as obtaining a probiotic composition with a long storage life and preserving the vitality and useful properties of the probiotic microorganisms contained in the composition during the entire storage life of the composition.

8 cl, 1 tbl, 1 ex

Область техники:

Настоящее изобретение относится к области нутрицевтики, более конкретно, к пробиотической композиции (биологически активной пищевой добавке) для профилактики воспалительного заболевания кишечника и функциональных кишечных расстройств и для устранения их симптомов, а также для укрепления общей неспецифической резистентности организма, таких как диарея, метеоризм, запоры, вздутие живота и др. Здесь и далее для целей настоящего изобретения термины «пробиотическая композиция» и «биологически активная пищевая добавка» используются в качестве синонимов.

Уровень техники:

Под термином «пробиотики» здесь и далее понимаются живые микроорганизмы, которые при введении их в организм человека или животного способствуют жизнедеятельности организма хозяина за счет улучшения баланса кишечной микрофлоры (Fuller R., 1989 [1]; см. список ссылок в конце настоящего описания).

Термин «пробиотик» здесь и далее в рамках настоящей заявки относится к пробиотическому микроорганизму или к препарату таких микроорганизмов. При этом микроорганизм считается пробиотическим, если он сохраняет жизнеспособность в условиях, характерных для пищеварительного тракта (низкий рН в желудке, наличие кислот пищеварительной системы и т.п.), и при этом способен осуществлять метаболизм в кишечнике, технологически применим (подвергается обработке) и демонстрирует клинически подтвержденные и задокументированные оздоравливающие эффекты, и при этом безопасен для потребления человеком (Lee, Y-K, Salmien, S., 1995 [2]).

Важнейшими для поддержания здоровья человека пробиотическими микроорганизмами являются бифидобактерии и лактобациллы. В литературе неоднократно было показано, что лактобациллы и бифидобактерии, колонизирующие кишечник новорожденного, при рождении стерильный, оказывают важное влияние на здоровье хозяина, играя важную роль в работе пищеварительной системы, в том числе, в усвоении минеральных веществ, в работе иммунной системы.

Важнейшими для поддержания здоровья человека пробиотическими микроорганизмами являются бифидобактерии и лактобактерии. Во многих исследованиях многократно было показано положительное влияние бифидобактерий и лактобактерий на здоровье человека. В частности, показано, что пробиотические лакто- и бифидобактерии могут с большим успехом использоваться для коррекции микрофлоры желудочно-кишечного тракта, для воздействия на патогенные и условно-патогенные микроорганизмы кишечника и для профилактики затяжных форм желудочно-кишечных заболеваний.

Из уровня техники известны многочисленные препараты пробиотических бифидо- и лактобактерий, предназначенные для применения в различных специфических целях. См., например, патенты РФ RU 2462301 C2, 24.01.2018 [3]; RU 2464994 C2, 27.10.2012 [4]; RU 2636027 C2, 17.11.2017 [5]. При этом одной из важнейших областей применения пробиотических бифидо- и лактобактерий является профилактика воспалительного заболевания кишечника, а также восстановление нормального баланса кишечной микрофлоры и устранение симптомов кишечных расстройств. В связи с этим, важной является задача разработки оптимального состава питательной (нутрицевтической) композиции, которые позволил бы использовать полезные свойства нескольких разных видов пробиотических лактобактерий и бифидобактерий.

Из опубликованной патентной заявки Индии IN 709/KOL/2015, 10.07.2015 [6] известна нутрицевтическая композиция для профилактики воспалительного заболевания

кишечника, содержащая пробиотические лактобактерий *Lactobacillus acidophilus*, пробиотические бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum* и стрептококк термофильный *Streptococcus thermophilus*. Массовое соотношение лактобактерий, бифидобактерий и стрептококка термофильного в композиции [6] составляет 1:2:1. Нутрицевтическая композиция [6] также может использоваться в комплексном лечении воспалительного заболевания кишечника. Композиция [6], предпочтительно, выполнена в форме таблетки, порошка для приема внутрь или порошка, добавляемого к продуктам питания (стерилизованному молоку, йогурту, творогу и т.д.).

Однако, несмотря на то, что композиция [6] может быть использована для профилактики воспалительной болезни кишечника, она не использует пробиотический потенциал пробиотических бифидобактерий, кроме *Bifidobacterium bifidum*, и лактобактерий, кроме *Lactobacillus acidophilus*.

Из документа WO 2009/048934 A2, 16.04.2009 [7] известна предлагаемая в качестве ближайшего аналога настоящего изобретения пробиотическая композиция (пищевая добавка), предназначенная для уменьшения выраженности симптомов функционального расстройства кишечника, содержащая пробиотические лактобактерий *Lactobacillus acidophilus* и пробиотические бифидобактерии *Bifidobacterium animalis*. (Здесь и далее под «функциональным расстройством кишечника» понимается нарушение пищеварительной функции, секреции соляной кислоты и моторики, развивающееся на фоне отсутствия органических изменений кишечника.)

Предпочтительно, пробиотические лактобактерий согласно изобретению [7] представляют собой *Lactobacillus acidophilus* NCFM, депонированные в /Американской коллекции типовых культур (номер депонирования РТА-4947), а пробиотические бифидобактерии представляют собой *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bi-07, также депонированные в Американской коллекции типовых культур (номер депонирования РТА-4802). Композицию [7], предпочтительно, потребляют внутрь таким образом, чтобы обеспечить поступление в организм потребителя 1×10^9 - 2×10^{11} колониеобразующих единиц (КОЕ) пробиотических бактерий в сутки. Наиболее предпочтительно, композицию [7] потребляют внутрь таким образом, чтобы обеспечить поступление в организм потребителя 2×10^{11} КОЕ пробиотических бактерий в сутки.

Несмотря на известность из уровня техники композиции [7], по-прежнему остается актуальной задача расширения арсенала пробиотических композиций (биологически активных пищевых добавок), предназначенных для профилактики воспалительного заболевания кишечника, а также для восстановления баланса кишечной микрофлоры, устранения симптомов кишечных расстройств (диареи, запора, метеоризма, вздутия живота и др.) и для укрепления общей неспецифической резистентности организма, оптимальным образом использующих пробиотический потенциал бифидобактерий и лактобактерий. При этом указанные пробиотические композиции (биологически активные пищевые добавки) должны изготавливаться достаточно простыми способами, обеспечивающими, в то же время, сохранение жизнеспособности и полезных свойств пробиотических бифидобактерий и лактобактерий как в процессе изготовления композиции, так и на протяжении всего срока хранения.

Настоящее изобретение, решающее эту задачу, относится к пробиотической композиции (биологически активной пищевой добавке), предназначенной для восстановления баланса кишечной микрофлоры, для профилактики воспалительного заболевания кишечника и кишечных расстройств (диареи, запора, вздутия живота и др.) и для устранения их симптомов, а также для укрепления общей неспецифической резистентности организма, причем указанная композиция выполнена в форме капсулы,

содержащей от 0,04 до 0,1 г сухой бактериальной массы, содержащей пробиотические лактобактерии *Lactobacillus rhamnosus* и пробиотические бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis*, а также нутрицевтически приемлемые вспомогательные компоненты, включая микрокристаллическую целлюлозу, лактозу и нутрицевтически приемлемую соль стеариновой кислоты, причем содержание каждого из видов пробиотических бифидобактерий составляет не менее 1×10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 грамм сухой бактериальной массы, более предпочтительно, не менее 1×10^9 КОЕ. Содержание пробиотических лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus* также составляет не менее 1×10^8 КОЕ, более предпочтительно, не менее 1×10^9 КОЕ на 1 грамм сухой бактериальной массы. Достижимый технический результат - расширение арсенала пробиотических композиций (биологически активных пищевых добавок) для восстановления баланса кишечной микрофлоры, устранения симптомов кишечных расстройств и для укрепления иммунитета, а также для профилактики воспалительного заболевания кишечника.

Предпочтительно, но без ограничения, в качестве нутрицевтически приемлемой соли стеариновой кислоты используют кальция стеарат или магния стеарат. В наиболее предпочтительном, но не ограничивающем воплощении пробиотическая композиция по изобретению содержит 0,0675 г сухой бактериальной массы, содержащей пробиотические бифидобактерии и лактобактерии, 0,0225 г лактозы, 0,1575 г микрокристаллической целлюлозы и 0,0025 г кальция стеарата.

В качестве микрокристаллической целлюлозы, наиболее предпочтительно (без ограничения), используют Prosolv[®] SMCC - силикатированную микрокристаллическую целлюлозу, получаемую путем сопроцессинга микрокристаллической целлюлозы (98%) и коллоидного диоксида кремния (2%), выпускаемую JRC Pharma Family (Prosol[®] SMCC: Silicified Microcrystalline Cellulose (The Original Silicified MCC). - «JRC Pharma Family», 13.07.2016 [8]). Благодаря равномерному распределению коллоидного диоксида кремния по поверхности частиц микрокристаллической целлюлозы, Prosolv[®] SMCC по сравнению с традиционной микрокристаллической целлюлозой обладает в пять раз большей удельной поверхностью и уровнем шероховатости частиц, что обеспечивает существенно более высокую прессуемость, текучесть, смешиваемость и распадаемость Prosolv[®] SMCC по сравнению с традиционной микрокристаллической целлюлозой, а также позволяет существенно повысить дисперсность активных веществ и стабильность порошковой смеси для инкапсулирования. Специалисту при этом понятно, что для осуществления настоящего изобретения может быть использованы и другие разновидности микрокристаллической целлюлозы фармакопейного качества.

При этом видовой состав бактерий, входящих в состав пробиотической композиции по изобретению, подобран таким образом, чтобы способствовать профилактике болезней кишечника, включая синдром раздраженного кишечника, а также восстановлению баланса кишечной микрофлоры, устранению симптомов кишечных расстройств, таких как диарея, запор, вздутие живота и др., и укреплению общей неспецифической резистентности организма.

В более предпочтительных вариантах осуществления изобретения композиция выполнена в виде твердой лекарственной формы. Наиболее предпочтительно (без ограничения), композиция выполнена в виде капсулы, например, в виде твердой желатиновой капсулы. Предпочтительно, одна капсула композиции содержит от 0,04 до 0,1 г сухой бактериальной массы, включающей вышеуказанные пробиотические

лакто- и бифидобактерии, от 0,02 до 0,03 г лактозы, от 0,14 до 0,16 г микрокристаллической целлюлозы, включая модифицированную микрокристаллическую целлюлозу и от 0,002 до 0,003 г нутрицевтически приемлемого лубриканта - кальция стеарата или магния стеарата. Наиболее предпочтительно (без ограничения), одна капсула композиции содержит 0,067 г сухой бактериальной массы, содержащей пробиотические лакто- и бифидобактерии, 0,0225 г лактозы, 0,158 г модифицированной микрокристаллической целлюлозы, такой как Prosolv[®] SMCC, и 0,0025 г кальция стеарата.

Также изобретение относится к способу получения биологически активной добавки (пробиотической композиции), где указанный способ включает в себя отдельную подготовку каждой из культур *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* и *Lactobacillus rhamnosus*, включающую высевание культур указанных пробиотических бифидобактерий и лактобацилл на питательные среды (предпочтительно, на жидкую среду МРС, разлитую по пробиркам, где жидкую среду МРС готовят согласно работе de Man J.D., Rogosa M., Sharpe M.E., 1960 [9]), с последующим термостатированием указанных культур в течение 24-72 часов (предпочтительно, при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$) и с последующими засеиванием термостатированными культурами емкостей с жидким МРС агаром и инкубированием их в течение 48-60 часов при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, перенос указанных культур в ферментер с последующим выращиванием указанных культур в указанном ферментере, причем указанное выращивание осуществляется при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, рН 6,0-7,0 и при избыточном давлении в полости ферментера, составляющем $0,025\pm 0,005$ МПа, концентрирование указанных культур до заданного объема концентрата, добавление защитной среды, охлаждение концентратов, сублимационную сушку концентратов, где указанную сублимационную сушку осуществляют в течение 30-40 часов при температуре не выше -40°C и давлении не более 30-40 Па, объединение сухих бактериальных масс культур *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium breve*, смешивание с предварительно подготовленными компонентами смеси для наполнения капсул, включая нутрицевтически приемлемый наполнитель и нутрицевтически приемлемый лубрикант, при помощи любого используемого в фармацевтической промышленности смесителя до образования однородной смеси, с последующим заполнением капсул указанной смесью на любом используемом в фармацевтической промышленности устройстве для заполнения капсул и, по необходимости, обеспыливанием наполненных капсул и фасовкой обеспыленных готовых наполненных капсул в блистеры или в банки. Предпочтительно (без ограничения), капсулы фасуют в блистеры по 10 капсул, а в банки - по 30 капсул.

Технический результат изобретения, относящегося к способу, заключается в обеспечении пробиотической композиции с сохранением жизнеспособности и полезных свойств пробиотических бифидобактерий и лактобацилл, входящих в состав композиции, при изготовлении композиции и на протяжении всего срока ее хранения. Срок хранения композиции составляет 24 месяца.

Для целей настоящего изобретения «предварительная подготовка» вспомогательных компонентов смеси для наполнения капсул включает в себя помол указанных компонентов на мельнице и просеивание указанных компонентов через сито. Предпочтительно, для помола компонентов используют любую традиционно используемую в технологии твердых лекарственных форм мельницу, например, мельницу молотковую ММ-10. Также предпочтительно, для просеивания компонентов смеси используют сито с размером ячейки 1 мм. В различных вариантах осуществления изобретения смешивание компонентов может осуществляться на любом используемом

в фармацевтической отрасли в технологии твердых лекарственных форм смесителе. Заполнение капсул (включающее, в свою очередь, стадии ориентирования капсул, наполнения капсул и закрытия капсул) осуществляют на любом используемом в фармацевтической отрасли в технологии твердых лекарственных форм устройстве для 5 наполнения капсул. Фасовку капсул в банки или блистеры осуществляют при помощи любого счетно-фасовочного устройства, используемого в фармацевтической отрасли в технологии твердых лекарственных форм.

Термин «нутрицевтически приемлемый» для целей настоящей заявки означает, что 10 данный компонент может в принципе использоваться при изготовлении нутрицевтических композиций, что он является безопасным для потребителя указанной пробиотической композиции и что он совместим с другими компонентами данной пробиотической композиции.

Жизнеспособность пробиотических бактерий, входящих в состав композиции, а также сохранение полезных свойств композиции при ее хранении исследуют в условиях 15 ускоренного старения. При этом для пробиотической композиции по изобретению показано в данном исследовании, что ее полезные свойства сохраняются по меньшей мере на протяжении 24 месяцев. Композицию согласно изобретению хранят в невскрытой заводской упаковке при температуре не выше 25°C, в защищенном от прямых солнечных лучей месте. Если заводская упаковка уже вскрыта, то композицию по изобретению 20 хранят в плотно закрытом флаконе не более 24 месяцев.

Предпочтительно, пробиотическую композицию (биологически активную добавку) по изобретению употребляют по 1 капсуле 2 раза в день на протяжении 10-21 дней, запивая ее небольшим количеством негорячей жидкости. При необходимости, прием пробиотической композиции по изобретению можно повторить через некоторое время 25 (желательно, по согласованию с лечащим врачом - терапевтом или гастроэнтерологом). При употреблении внутрь капсулу запивают небольшим количеством негорячей жидкости.

Нижеприведенные примеры, описывающие частные воплощения композиции по изобретению, а также ее использование у пациентов с синдромом раздраженного 30 кишечника, приводятся исключительно в целях иллюстрации настоящего изобретения и не могут быть использованы для ограничения объема притязаний.

Пример 1. Получение пробиотической композиции по изобретению.

Исходные культуры пробиотических бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, 35 предпочтительно штаммы, выбранные из Bb-06, DSM20239, HA-132, Idcc 4201, JCM7003, KCTC3357, L22, LMG13195, S28a, ВКМ Ас-2773D, *Bifidobacterium longum*, предпочтительно штаммы, выбранные из B379M, BB46, BB536, BI-05, DSM20219, HA-135, SD5219, ВКМ АС-2775D, и *Bifidobacterium infantis*, предпочтительно штаммы, выбранные из 35624, Bi-26, HA-116, SD5220, ВКМ Ас-2774D, а также пробиотических лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus*, предпочтительно штаммы, выбранные из A119, 40 CLR2, GR-1, GG, HA-111, HN001, LB21, Lcr35, Lr-32, R0011, ВКМ Ас-3170D, с чашек Петри пересевают на жидкую среду МРС [9], разлитую по пробиркам, и выращивают в течение 2 суток в термостате при 37°C. Далее культурами из пробирок засевают бутылку объемом 3000 мл, содержащую жидкую среду МРС; выращивание осуществляют при температуре 37°C в течение 48-60 часов, после чего жидкий посевной материал 45 передают на стадию ферментации. Предпочтительно (без ограничения), ферментацию осуществляют в ферментере «Биор-250», предварительно простерилизованном в течение 90 минут при температуре 132±2°C. При этом питательную среду перед высеванием культур стерилизуют глухим паром при температуре 112-115°C. После захлаживания

питательной среды в нее отдельно добавляют культуры бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* и лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus* и затем помещают в ферментер для осуществления ферментации. Ферментацию осуществляют при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ и избыточном давлении в полости ферментера, составляющем $0,025 \pm 0,005$ МПа, при постоянном перемешивании и поддержании pH 6-7 (титрованием щелочным раствором). После окончания ферментации культуральные жидкости с каждого ферментера поочередно концентрируют на фильтрационной установке до заданного объема концентрата. По окончании процесса концентрирования концентраты каждой из культур бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* и лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus* сливают в реактор, в котором происходит добавление защитной среды.

В качестве защитных сред применяются вещества, образующие с водой истинные и коллоидные растворы. Эти среды могут быть разделены на три группы: коллоидные среды животного, растительного и минерального происхождения; среды, содержащие растворимые вещества, такие как углеводы и продукты гидролиза белков - пептоны и аминокислоты и среды сложного состава, в которых коллоидные вещества сочетаются с растворимыми.

Для подготовки защитной среды используют либо сахарозо-желатиновый агар (СЖА) (10% сахарозы, 1,5% желатина, 0,1% агар-агара в дистиллированной воде), либо натуральное снятое молоко, сепарированное три раза, или сухое молоко для бактериологических целей (Difco, США) в концентрации 10%, либо используют иные хорошо известные защитные среды, такие как среда Стэмпа, содержащая 10% желатина и 0,25-0,5% аскорбиновой кислоты в гидролизате натурального обезжиренного молока или минимальная среда М9 с добавлением 1% тиомочевины, либо 10% сахарозы, 10% мальтозы, 10% лактозы, 1,5% желатина.

Защитную среду разливают в стеклянные пробирки (12 мл) по 5 мл; 3 раза стерилизуют текучим паром и проверяют стерильность путем инкубации 3 суток при 37°C . Защитные среды хранят при 5°C не более 1 месяца.

Полученный объем технологической жидкости каждой из культур охлаждают до температуры 5°C и разливают в стерильные бутылки, которые затем передают на стадию сублимационной сушки. В процессе сублимационной сушки технологическую жидкость разливают в поддоны из нержавеющей стали с достижением толщины слоя технологической жидкости, содержащей каждую из культур *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* и *Lactobacillus rhamnosus*, составляющей 10 ± 1 мм. Затем поддоны с разлитой в них технологической жидкостью помещают в камеру установки для сублимационной сушки и осуществляют в течение 30-40 часов сублимационную сушку технологической жидкости при давлении не выше 30 Па, при этом температура на протяжении всего цикла сушки меняется согласно заложенной программе от -30°C до 30°C . Полученные сухие бактериальные массы, каждой из культур, включая бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis*, а также лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus*, смешивают с микрокристаллической целлюлозой (предпочтительно, с силикатированной микрокристаллической целлюлозой, такой как Prosolv[®] SMCC) для доведения содержания каждой из культур до не менее 1×10^8 КОЕ на 1 грамм указанной массы. Определение количества жизнеспособных бактерий проводили в соответствии с ОФС. 1.7.1.0003.15 "Бифидосодержащие пробиотики".

Полученные сухие смеси бифидобактерий суммарно от 0,06 до 0,08 г на капсулу с микрокристаллической целлюлозой от 0,09 до 0,17 г на капсулу смешивают друг с

другом и перемешивают с навесками предварительно подготовленных (просеянных через сито и измельченных) вспомогательных компонентов, включая лактозу от 0,02 до 0,025 г на капсулу и стеарат кальция от 0,002 до 0,004 г на капсулу, тщательно перемешивают на протяжении по крайней мере 10-15 минут вплоть до образования однородной смеси для наполнения капсул, после чего указанной однородной смесью наполняют желатиновые капсулы по 250 мг. При этом процесс наполнения капсул включает в себя стадию ориентирования капсул, а также стадии открытия капсул, собственно наполнения капсул и закрытия капсул. Заполненные капсулы подвергают обеспыливанию в вытяжном шкафу, и фасуют в блистеры или во флаконы, по 10 штук или по 30 штук соответственно при помощи любого счетно-фасовочного устройства, используемого в технологии твердых препаративных форм.

Жизнеспособность пробиотических лактобактерий и бифидобактерий, входящих в состав пробиотической композиции, а также сохранность полезных свойств композиции при хранении исследуют в условиях ускоренного старения.

Метод «ускоренного старения» заключается в выдерживании испытуемой биологически активной добавки при температурах и влажности, превышающих температуру и влажность его хранения в процессе обращения. При повышенных температурах, как правило, ускоряются протекающие в лекарственных средствах физико-химические процессы, приводящие со временем к нежелательным изменениям качества. Таким образом, при повышенной температуре промежутки времени, в течение которого контролируемые показатели качества лекарственного средства сохраняются в допустимых пределах (экспериментальный срок годности), искусственно сокращаются в сравнении со сроком годности при температуре хранения. Это позволяет значительно сократить время, необходимое для установления срока годности.

Срок годности (C) при температуре хранения (t_{xp}) связан с экспериментальным сроком годности (C_3) при повышенной температуре экспериментального хранения (t_3) следующей зависимостью:

$$C = K \cdot C_3,$$

где коэффициент соответствия $K = A \frac{t_3 - t_{xp}}{10}$.

Температурный коэффициент скорости химической реакции (A) принят равным 2,5. Приведенная зависимость основана на правиле Вант-Гоффа о 2-4-кратном росте скоростей химических реакций при увеличении температуры на 10°C.

Значение коэффициента соответствия (K) в зависимости от выбранного температурного интервала ($t_3 - t_{xp}$), равного 25°C, составляет 9,9. Срок экспериментального хранения при выбранном сроке годности 2 года составляет 74 суток. В качестве композиции сравнения выбрана композиция пробиотических бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis* и пробиотических лактобацилл *Lactobacillus rhamnosus* с лактозой.

Таблица 1. Оценка стабильности методом ускоренного старения в сравнении с прототипом.

□ время хранения при $(t_э - t_{xp}) = 25^\circ\text{C}$, сутки	Содержание пробиотических бактерий в % от теоретического содержания	
	Пробиотическая композиция по настоящему изобретению	Композиция сравнения
0	100,0	100,0
10	99,9	98,5
20	98,5	93,5
30	95,1	92,2
40	93,5	90,7
50	92,9	88,3
60	91,9	86,8
74	90,5	83,0

В результате исследования показано, что полезные свойства пробиотической композиции по изобретению сохраняются как при изготовлении композиции, так и на протяжении по меньшей мере 24 месяцев хранения композиции в невскрытой заводской упаковке при температуре не выше 25°C в защищенном от прямых солнечных лучей месте. В случае, если заводская упаковка уже вскрыта, пробиотическую композицию по изобретению хранят в плотно закрытом флаконе не более 24 месяцев.

Таким образом, пробиотическая композиция в соответствии с настоящим изобретением обеспечивает расширение ассортимента пробиотических композиций на основе пробиотических бактерий, предназначенных для профилактики болезней кишечника, включая синдром раздраженного кишечника, а также для восстановления баланса кишечной микрофлоры, устранения симптомов кишечных расстройств (диареи, запора, вздутия живота и др.) и для укрепления общей неспецифической резистентности организма.

Изобретение может быть использовано в медицине, фармакологии, химико-фармацевтической, пищевой промышленности

Ссылки:

1. Fuller R. Probiotics in man and animals. // "Journal of Applied Microbiology", 1989, 66: 365-378.
2. Lee, Y-K, and Salmien, S. 1995. The coming age of probiotics. // "Trends in Food Science & Technology", 1995, 6: 241-245.
3. RU 2462301 C2 «ПРОБИОТИЧЕСКИЙ БАКТЕРИАЛЬНЫЙ ШТАММ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ КОМПОЗИЦИИ, УЛУЧШАЮЩЕЙ ХАРАКТЕР СНА», патентообладатель: НЕСТЕК С.А. (СН), МПК: C12N 1/20, A61K 25/745, A61K 35/747, A23L 33/135, опубликовано: 24.01.2018.
4. RU 2464994 C2 «ПРОБИОТИКИ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ РИСКА ОЖИРЕНИЯ», патентообладатель: НЕСТЕК С.А. (СН), МПК: A61K 35/74, A61P 3/04, A23L 1/03, опубликовано: 27.10.2012.
5. RU 2636027 C2 «ПРОБИОТИЧЕСКИЕ ШТАММЫ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЕЧЕНИИ ИЛИ ПРОФИЛАКТИКЕ ОСТЕОПОРОЗА», патентообладатель: ПРОБИ АБ (SE), МПК: A61K 35/74, A61P 19/10, C12N 1/20, C12R 1/225, C12R 1/25, опубликовано: 17.11.2017.
6. IN 709/KOL/2015 «Anti-inflammatory and regenerative formulation to substantially heal inflammatory bowel disease», заявитель: Banerjee Ena Ray (IN), МПК: A23L 1/30, опубликовано: 10.07.2015.
7. WO 2009/048934 A2, «PROBIOTICS FOR USE IN RELIEVING SYMPTOMS

ASSOCIATED WITH GASTROINTESTINAL DISORDERS*, заявитель: "DANISCO A/S" (DK), МПК: А61К 35/74, А61Р 1/00, опубликовано: 16.04.2009.

8. Proso[®] SMCC: Silicified Microcrystalline Cellulose (The Original Silicified MCC). // "JRC Pharma Family", 13.07.2016. Доступно в сети Интернет; режим доступа (URL): <http://www.jrspharma.com/pharma-wAssets/docs/brochures/PROSOLV-SMCC.pdf>.

9. De Man J.D., Rogosa, M., Sharpe, M.E. A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. // "Journal of Applied Bacteriology", 1960; 23, pp. 130-135.

10. Синдром раздраженного кишечника: Глобальная перспектива. - Практические рекомендации Всемирной Гастроэнтерологической Организации. 2015 г. // Доступно посредством сети Интернет; режим доступа (URL): <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/irritable-bowel-syndrome-russian-2015.pdf>.

11. Weaver M.E., Lowe N.K. A critical review of visual analogue scales in the measurements of clinical phenomena. // "Research in Nursing & Health", 1990, 13(4):227-36.

12. Lewis S.J., Heaton K.W. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. // "Scandinavian Journal of Gastroenterology", 1997, 32 (9): 920-24.

13. Saad R., Chey W. Breath tests for gastrointestinal disease the real deal or just a lot of hot air? // "Gastroenterology", 2007; 133: 1763-1766.

14. Ware J.E., Snow K.K., Kosinski M., Gadnek B. SF-36 Health survey. Manual and interpretation guide. - The Health Institute, New England Medical Center, Boston: Mass, 1993.

(57) Формула изобретения

1. Пробиотическая композиция для профилактики воспалительного заболевания кишечника и функциональных кишечных расстройств и для устранения их симптомов, а также для укрепления общей неспецифической резистентности организма, отличающаяся тем, что указанная пробиотическая композиция выполнена в форме капсулы, содержащей от 0,04 до 0,1 г сухой бактериальной массы, содержащей пробиотические лактобактерии *Lactobacillus rhamnosus* и пробиотические бифидобактерии *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis*, а такженутрицевтически приемлемые вспомогательные компоненты, включая микрокристаллическую целлюлозу инутрицевтически приемлемую соль стеариновой кислоты в количестве от 0,002 до 0,004 г, выбранную из стеарата кальция и стеарата магния, причем содержание каждого из видов пробиотических бифидобактерий составляет не менее 1×10^8 колониеобразующих единиц (КОЕ) на 1 грамм сухой бактериальной массы, а содержание пробиотических лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus* также составляет не менее 1×10^8 КОЕ на 1 грамм сухой бактериальной массы.

2. Пробиотическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что количество сухой бактериальной массы на одну капсулу составляет от 0,06 до 0,08 г.

3. Пробиотическая композиция по п. 1, отличающаяся тем, что микрокристаллическая целлюлоза представляет собой силикатированную микрокристаллическую целлюлозу.

4. Пробиотическая композиция по п. 3, отличающаяся тем, что количество микрокристаллической целлюлозы на одну капсулу составляет от 0,09 до 0,17 г.

5. Способ изготовления пробиотической композиции по любому из пп. 1-4, включающий раздельное высевание культур пробиотических лактобактерий *Lactobacillus rhamnosus* и пробиотических бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis* в жидкую среду МРС с последующим термостатированием указанных культур в течение 24-72 часов предпочтительно при температуре $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ и с последующими засеваемыми термостатированными культурами

- емкости с жидким МРС агаром и инкубированием в течение 48-60 часов при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, перенос указанных культур в ферментер с последующим выращиванием указанных культур в указанном ферментере при температуре $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$, pH 6,0-7,0 и избыточном давлении в полости ферментера, составляющем $0,025\pm 0,005$ МПа,
- 5 концентрирование указанных культур до заданного объема концентрата, добавление защитной среды, охлаждение концентратов, сублимационную сушку концентратов, объединение сухих бактериальных масс культур *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* и *Bifidobacterium infantis*, смешивание с предварительно подготовленными компонентами смеси для наполнения капсул, включая
- 10 нутрицевтически приемлемый наполнитель и нутрицевтически приемлемый лубрикант, при помощи любого используемого в фармацевтической промышленности смесителя до образования однородной смеси с последующим заполнением капсул указанной смесью на любом используемом в фармацевтической промышленности устройстве для заполнения капсул.
- 15 6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что защитная среда представляет собой сахарозо-желатиновый агар.
7. Способ по п. 5, отличающийся тем, что после добавления защитной среды концентраты охлаждают до 5°C .
8. Способ по п. 5, отличающийся тем, что дополнительно включает стадии
- 20 обеспыливания и фасовки капсул.

25

30

35

40

45