



(51) МПК
A61K 36/14 (2006.01)
A61K 36/736 (2006.01)
A61K 36/9068 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016113281, 07.04.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 07.04.2016

Дата регистрации:
 15.05.2017

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 07.04.2016

(45) Опубликовано: 15.05.2017 Бюл. № 14

Адрес для переписки:

308015, Белгородская обл., г. Белгород, ул.
 Победы, 85, ОИС НИУ "БелГУ" Цуриковой
 Н.Д.

(72) Автор(ы):

Левченко Вячеслав Евгеньевич (RU),
 Малютина Анастасия Юрьевна (RU),
 Титарева Людмила Викторовна (RU),
 Волков Дмитрий Викторович (RU),
 Захаров Олег Владимирович (RU),
 Новиков Олег Олегович (RU),
 Жиликова Елена Теодоровна (RU),
 Трифонов Борис Васильевич (RU),
 Новикова Марина Юрьевна (RU),
 Писарев Дмитрий Иванович (RU),
 Олейник Елена Анатольевна (RU),
 Цимбалстов Александр Викторович (RU),
 Коваленко Борис Степанович (RU),
 Голивец Татьяна Павловна (RU),
 Крикун Евгений Николаевич (RU),
 Корниенко Ирина Вячеславовна (RU),
 Севрук Инна Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
 образовательное учреждение высшего
 образования "Белгородский государственный
 национальный исследовательский
 университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
 о поиске: RU 2552307 C1, 10.06.2015. SU
 1806739 A1, 07.04.1993. RU 2445045 C1,
 20.03.2012. TJ 478 C2, 21.07.2011.

(54) Способ получения композиции для лечения заболеваний пародонта

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к стоматологии, и может быть использовано для получения композиции для лечения воспалительных заболеваний пародонта. Для этого проводят измельчение растительного сырья, последовательную экстракцию из сырья 70%-ным и 40%-ным спиртом этиловым и доведение общего объема извлечения до 1 л 40%-ным спиртом

этиловым. В качестве сырья используют смесь плодов можжевельника, плодов черемухи и корневищ имбиря при следующем соотношении компонентов (весовых частей): плоды можжевельника 4,0; плоды черемухи 3,0; корневища имбиря 2,0. Изобретение способствует эффективному лечению воспалительных заболеваний пародонта. 7 ил., 5 табл., 5 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 36/14 (2006.01)
A61K 36/736 (2006.01)
A61K 36/9068 (2006.01)
A61P 1/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2016113281, 07.04.2016**

(24) Effective date for property rights:
07.04.2016

Registration date:
15.05.2017

Priority:

(22) Date of filing: **07.04.2016**

(45) Date of publication: **15.05.2017** Bull. № 14

Mail address:

**308015, Belgorodskaya obl., g. Belgorod, ul. Pobedy,
85, OIS NIU "BelGU" Tsurikovoj N.D.**

(72) Inventor(s):

**Levchenko Vyacheslav Evgenevich (RU),
Malyutina Anastasiya Yurevna (RU),
Titareva Lyudmila Viktorovna (RU),
Volkov Dmitrij Viktorovich (RU),
Zakharov Oleg Vladimirovich (RU),
Novikov Oleg Olegovich (RU),
Zhilyakova Elena Teodorovna (RU),
Trifonov Boris Vasilevich (RU),
Novikova Marina Yurevna (RU),
Pisarev Dmitrij Ivanovich (RU),
Olejnuk Elena Anatolevna (RU),
Tsimbalistov Aleksandr Viktorovich (RU),
Kovalenko Boris Stepanovich (RU),
Golivets Tatyana Pavlovna (RU),
Krikun Evgenij Nikolaevich (RU),
Kornienko Irina Vyacheslavovna (RU),
Sevruk Inna Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Belgorodskij gosudarstvennyj
natsionalnyj issledovatel'skij universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) METHOD FOR PREPARATION OF COMPOSITION FOR PERIODONTAL DISEASE TREATMENT

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: plant raw materials are crushed, sequential extraction from raw materials with 70% and 40% ethyl alcohol and total extraction volume adjustment to 1 liter by 40% ethyl alcohol is performed. A mixture of juniper fruit, cherry fruit and ginger rhizomes are

used as raw materials at the following ratio (parts by weight): juniper fruit 4.0; cherry fruit 3.0; ginger rhizomes 2.0.

EFFECT: invention facilitates effective treatment of inflammatory periodontal diseases.

7 dwg, 5 tbl, 5 ex

Изобретение относится к фармацевтической технологии и стоматологии, в частности к способу получения композиции для лечения заболеваний пародонта.

Известен раствор для местного применения «Мараславин» [http://www.rlsnet.ru/tn_index_id_2007.htm], в состав которого входит отвар:

5 полыни понтийской трава (*Artemisiaa pontica* L.), чабера трава (*Satureja hortensis* L.), гвоздичное дерево, бутоны (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr.et. L.M.Perry), перца черного плоды (*Piper nigrum* L.), имбиря корневища (*Zingiber officinale* Roscoe). Недостатками данного препарата является низкая эффективность мараславина - курс лечения 10 и более дней, неоправданно сложный и дорогой состав исходных продуктов.

10 Существует средство «Фитодент» (RU № 2147223, публ. 10.04.2000 г.). В его состав входят 22 компонента. Недостатками данного препарата является сложность его стандартизации, близость фармакологического действия биологически активных веществ компонентов композиции, нерациональная технология получения.

15 Наиболее близким решением к заявляемому изобретению является способ получения средства для лечения заболеваний пародонта (RU № 2259206, публ. 27.08.2005г.), включающий измельчение растительного сырья, последовательную экстракцию сырья 70%-ным, затем 40%-ным этанолом с последующим добавлением эфирного масла к объединенным экстрактам. Растительное сырье измельчают до размера частиц, проходящих через сито с диаметром 2 мм, экстракцию проводят методом перколяции при комнатной температуре при соотношении сырье:экстрагент 1:6,7-10, перед процессом перколяции сырье настаивают 70%-ным этанолом, в качестве сырья используют (вес.ч.):

20 плоды черемухи 2,0-3,0, корни хрена 4,0-5,5, бутоны гвоздичного дерева 2,0-2,5, корневище имбиря 1,5-2,5, к объединенному экстракту добавляют эфирное масло чайного дерева в количестве 5-15 мл и доводят объем до 1 л 40%-ным этанолом.

25 Недостатком данного решения является использование растительного сырья с пересекающимися фармакологическими свойствами, а также добавление в технологию стадии внесения дополнительного количества отдельно полученного или приобретенного эфирного масла для усиления антибактериальных свойств состава.

30 Задачей изобретения является разработка более простой и эффективной композиции для лечения заболеваний пародонта, расширение ассортимента существующих целевых средств.

35 Поставленная задача решается композицией для лечения заболеваний пародонта путем последовательной перколяции 70%, а затем 40% этанолом плодов можжевельника, черемухи, корневищ имбиря при следующем соотношении весовых частей сырья лекарственных и ароматических растений:

Плоды можжевельника	4,0
Плоды черемухи	3,0
40 Корневища имбиря	2,0

45 Технический результат, получаемый при осуществлении изобретения, выражается в упрощении состава композиции с сохранением терапевтического эффекта введением в состав сырья шишкоягод можжевельника обыкновенного, содержащих значительное количество биологически активных веществ (эфирные масла, флавоноиды), с доказанным антисептическим и противовоспалительным, а также антиоксидантным действием. При этом сохраняется действие дубильных веществ черёмухи обыкновенной и иммуностимулирующее, а также противовоспалительное действие биологически активных веществ имбиря лекарственного.

Известно, что плоды можжевельника содержат большое количество эфирного масла состава: α -пинен (33,0 – 35,0%), β -пинен (13,0%), β -мирцен (28%), лимонен (4,0-10,0%), сабинен (1,0%), γ -мууролен (4,0%), камфен (3,6%), терпинеол, α -терпинеол, α -терпинен, γ -терпинен, терпинолен (0,5 – 0,8%), α -туйен, Δ^3 -карен, α -терпинолен и др. Кроме того, они содержат большое количество веществ полифенольной природы (флавоноиды) (Новиков, О.О. Можжевельник: фитохимия и фармакология рода *Juniperus* L. / О.О. Новиков, Д.И. Писарев, Е.Т. Жилиякова [и др.] // М.: Изд-во РАМН, 2014.- 178 с.).

Плоды черемухи содержат комплекс биологически активных веществ полифенольной природы (галловая кислота, гексаоксидефеновая кислота, дубильные вещества), обладающих широким спектром антимикробного и фунгицидного действия; флавоноидные гликозиды, обладающие выраженным антиоксидантным, противовоспалительным, регенерирующим и капилляроукрепляющим действием, что оказывает благотворное действие на ткани пародонта http://www.fito.nnov.ru/special/glycozides/dube/padus_avium/).

Корневища имбиря содержат 2-3% эфирного масла, главным компонентом которого является цингиберен (до 70%), цингиберон и др., производные салициловой кислоты (<http://flora.dobro-est.com/imbir-zingiber-opisanie-vidyi-i-vyirashhivanie-imbirya.html>). Они обладают доказанными антимикробными и противовоспалительными свойствами. Кроме того, имбирь обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами.

На основе разработанной композиции методом перколяции получают водно-спиртовой экстракт. Применение метода перколяции позволяет более полно извлекать весь комплекс биологически активных веществ за счет более высокого градиента концентрации, который создается при пропускании чистого экстрагента через сырье.

На первой стадии используют 70% этиловый спирт с целью более полного извлечения веществ терпеноидной природы (эфирное масла) при настаивании, при комнатной температуре в течение 24 часов.

Последующую перколяцию проводят последовательно 70% и 40% этанолом. 40% этанол позволяет исчерпывающе извлечь биологически активные вещества полифенольной природы (флавоноиды) и их гликозилированные производные.

Изобретения иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. Для получения заявляемого средства используют плоды (шишкоягоды) можжевельника, плоды черемухи, корневища имбиря при следующем соотношении компонентов (весовых частей):

35	Плоды можжевельника	4,0
	Плоды черемухи	3,0
	Корневища имбиря	2,0

Композицию готовят следующим образом. 40 г плодов можжевельника, 30 г плодов черемухи и 20 г корневищ имбиря измельчают до размера частиц с диаметром 2,0 мм и заливают 100 мл 70% спирта этилового и настаивают 4 часа, затем смесь помещают в перколятор, уплотняют, заливают 70% спиртом этиловым до «зеркала» и выдерживают при комнатной температуре в течение суток. Затем проводят перколяцию: через перколятор пропускают непрерывный поток экстрагента, причем перколяцию последовательно проводят сначала 70% (400 мл), а затем 40% этанолом (400 мл). Полученные извлечения объединяют. Объем полученного продукта доводят до 1 л 40% спиртом этиловым.

Готовый продукт представляет собой прозрачную жидкость бурого цвета, имеющую приятный запах эфирных масел и горьковато-пряный вкус.

Пример 2. Изучение противомикробной активности композиции.

При исследовании антибактериального действия в качестве тест-культур использовали эталонные штаммы микроорганизмов, рекомендованные ВОЗ для проверки чувствительности к антибактериальным препаратам:

- 1) Стафилококк золотистый - шт. ATCC 25923;
- 2) Синегнойная палочка – шт. ATCC 27853;
- 3_ Кишечная палочка - шт. ATCC 25922;
- 4) Протей вульгарный – шт. «Н» 4636.

Все тест-культуры выращивали на плотных питательных средах в течение 24 часов при температуре 37°С. Для исследования брали только те культуры, которые характеризовались однородностью колоний, типичным ростом и присущим данному виду микроорганизмов отношением к окраске по Граму. Для культивирования тест-микробов использовали следующие питательные среды: основные, применяемые для выращивания клостридий, сенной и кишечной палочек и протей и «голодные» питательные среды для нижнего слоя. Изучение антибактериальной активности разработанной композиции (образец №1) проводили по сравнению со средством для лечения заболеваний пародонта (патент РФ №2259206) (образец №2) методом диффузии в агар. Культуры тест-микробов вносили в питательные среды в соответствии с оптическим стандартом мутности ГИСК им. Тарасевича. Для каждого вида микроорганизмов применяли определенную микробную нагрузку микробных клеток на 1 мл среды: стафилококк – 40×10^6 , синегнойная палочка - 50×10^7 ; кишечная палочка – 50×10^7 ; протей – 50×10^7 . Данные по изучению антибактериального действия в отношении грамположительных и грамотрицательных анаэробных и аэробных микроорганизмов представлены в таблице 1 (Фиг. 1).

Как видно по представленным данным, исследованные образцы обладали ингибирующими свойствами в разной степени как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов. Разработанная композиция оказывала более сильное ингибирующее действие на рост микроорганизмом, чем препарат сравнения, который практически не влиял на размножение синегной и кишечной палочки.

Пример 3. Изучение противовоспалительной активности композиции.

Противовоспалительную активность композиции исследовали на 40 мышах. Все животные были распределены на 4 группы: две контрольные и две опытные (по 10 животных в каждой).

В работе использован метод (Тютюнник В.И., Пономарева Н.Г., Кривошеин Ю.С. Антимикробное действие эфирных масел, выделенных из растений // Выращивание и переработка эфиромасличных культур. – Симферополь. - 1980. – С. 63-67.), при котором для воспроизведения воспалительного очага мышам внутривожно вводили 0,05 мл раствора скипидара на вазелиновом масле, а через 24 часа после введения скипидара в образовавшийся некротический очаг микрошприцем вводили 0,03 мл 1% раствора нитрата стрихнина. Эта доза является смертельной для мышей, однако при данном способе введения стрихнина погибают лишь отдельные животные, поскольку воспалительный вал препятствует поступлению яда в кровь. В случае действия какого-либо противовоспалительного препарата барьерная функция нарушается и животные погибают.

Животным первой и второй опытной группы внутримышечно через каждые 48 часов вводили по 0,1 мл средства для лечения заболеваний пародонта (патент РФ №2259206) (опытная группа №1) и разработанную композицию (опытная группа №2)

соответственно, всего сделано три инъекции, последняя - за сутки до инициации воспалительного очага.

Животным контрольной группы №1 вместо разработанной композиции вводили смесь гидрокортизона и витамина В₆. Гидрокортизон и витамин В₆ вводили мышам двукратно за 30 минут до введения скипидара и через 6 часов по 0,025 и 0,5 мкг соответственно.

Животным контрольной группы №2 вводили 50% раствор скипидара и 1% раствор нитрата стрихнина.

Результаты исследований представлены в таблице 2 (Фиг. 2).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что разработанная композиция превышает противовоспалительную активность препарата сравнения и приближается к противовоспалительной активности гидрокортизона в сочетании с витамином В₆.

Пример 4. Исследование антиоксидантной активности *in vitro*.

Для исследования антиоксидантной активности препаратов использовали систему аутоокисления адреналина в адренохром в щелочной среде (Методи оцінки антиоксидантних властивостей фізіологічно активних сполук при ініціюванні вільно радикальних процесів *in vitro* (метод. рекомендації) / Ю.І. Губський [та ін.]. – Киев: ДФЦ МОЗ України, 2002. – 26 с.). Раствор адреналина готовили на бидистиллированной воде, использовали только чистый кристаллический адреналин. Точную навеску адреналина (40,5 мг) вносили в мерную колбу на 100 мл и добавляли 50 мл бидистиллированной воды, после чего по 0,5 мл 0,1N HCl, доводили pH до 2,0, затем бидистиллятом доводили объем до 100 мл. Рабочий объем доводили до 100 мл. В кюветы спектрофотометра толщиной 10 мм вносили 2 мл 0,15M карбонатного буфера pH 10,2, содержащего 500 мг трилона Б на 1 л объема. После этого вносили разработанную композицию или препарат сравнения - средство для лечения заболеваний пародонта (патент РФ №2259206) (контроль №2) объемом до 0,5 мл. Реакцию запускали добавлением 0,4 мл раствора адреналина. Оптическую плотность определяли при длине волны 480 нм против карбонатного буфера. Антиоксидантную активность (АОА) рассчитывали по степени торможения аутоокисления адреналина в адренохром по формуле:

$$АОА = (E_0 - E_K) / E_0 \cdot 100 \%,$$

где E₀ – оптическая плотность контрольного раствора, E_K – оптическая плотность исследуемого раствора.

Контролем №1 являлась смесь реагентов без изучаемых составов.

Результаты представлены в таблице 3(Фиг.3).

Таким образом, наиболее высокой АОА оказалась у разработанной композиции.

Пример 5. Изучение эффективности разработанной композиции в стоматологической практике.

Композиция была апробирована на 24 пациентах в возрасте от 19 до 28 лет с хроническим катаральным гингивитом легкой и средней степени тяжести, обратившихся за помощью в Межрегиональный центр стоматологических инноваций НИУ «БелГУ». Для постановки диагноза и определения эффективности предлагаемой композиции использовали клинические методы исследования, такие как сбор анамнеза и осмотр, и дополнительные – упрощенный индекс гигиены УИГР по Green-Wermillion, индекс гингивита РМА, оценка микроциркуляции в тканях пародонта методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) на анализаторе капиллярного кровотока «ЛАКК-2».

Распределение пациентов по зарегистрированным нозологиям и по возрастным категориям отражено в таблице 4 (Фиг. 4).

Пациенты изначально предъявляли жалобы на покраснение и отек десен, зуд, неприятный запах изо рта. Среднее значение индекса УИГР - $4,4 \pm 0,52$, что свидетельствует о неудовлетворительной гигиене полости рта, индекса РМА – $42 \pm 0,86\%$.

План лечения включал в себя следующие этапы: коррекция индивидуальной гигиены полости рта, профессиональную чистку зубов. Затем назначалась заявленная композиция в виде полосканий (разведение водой 1:10). Курс лечения составлял 7 дней. У всех пациентов получены положительные результаты лечения, начиная с третьего дня применения композиции. На фоне проводимого лечения отмечали тенденцию к снижению индекса РМА до $23 \pm 0,55\%$. Кроме того, 87% пациентов отмечали уменьшение неприятного запаха изо рта, отсутствие дискомфорта. При объективном осмотре наблюдали уменьшение гиперемии слизистой оболочки полости рта уже на 2-е сутки, пациенты отмечали снижение интенсивности кровоточивости десны при чистке зубов уже на 8-е сутки.

Исследование капиллярного кровотока в тканях десны проводилось в положении исследуемого сидя в стоматологическом кресле после десятиминутного покоя с использованием прибора «ЛАКК-2» производства НПП «Лазма», Москва. Показатель микроциркуляции (ПМ) является одним из ведущих и представляет собой интегральную характеристику капиллярного кровотока и зависит от средней скорости движения эритроцитов, показателя капиллярного гематокрита и числа функционирующих капилляров.

Результаты мониторинга показателей гемомикроциркуляции в пародонте в процессе лечения хронического катарального гингивита представлены в таблице 5 (Фиг. 5).

Таким образом, у пациентов с хроническим генерализованным катаральным гингивитом легкой степени тяжести согласно данным ЛДФ отмечается увеличение внутрисосудистого сопротивления, незначительное снижение тонуса сосудов. Внешний вид ЛДГ-граммы пациента с хроническим генерализованным катаральным гингивитом легкой степени тяжести представлен на (Фиг. 6).

У обследуемых с хроническим генерализованным катаральным гингивитом средней тяжести отмечали рост внутрисосудистого сопротивления, снижение сосудистого тонуса, увеличение вклада респираторных и кардиальных колебаний кровотока в обеспечении микроциркуляторного русла. Описываемые процессы представлены на ЛДГ-грамме пациента с хроническим генерализованным катаральным гингивитом средней степени тяжести (Фиг. 7).

Спустя 7 дней после применения композиции, показатель микроциркуляции (ПМ) снизился у пациентов группы I до $3,5 \pm 0,11$, что свидетельствует об отсутствии признаков воспаления в десне, а у пациентов группы II также отмечалась тенденция к купированию воспалительного процесса.

Таким образом, заявляемая композиция для лечения воспалительных заболеваний пародонта позволяет достичь поставленной цели данного изобретения, а именно разработана простая и эффективная композиция для лечения воспалительных заболеваний пародонта, расширен ассортимент существующих целевых средств.

(57) Формула изобретения

Способ получения композиции для лечения воспалительных заболеваний пародонта, включающий измельчение растительного сырья, последовательную экстракцию из сырья 70%-ным и 40%-ным спиртом этиловым и доведение общего объема извлечения

до 1 л 40%-ным спиртом этиловым, отличающийся тем, что в качестве сырья используют смесь плодов можжевельника, плодов черемухи и корневищ имбиря при следующем соотношении компонентов, вес.ч.:

5	Плоды можжевельника	4,0
	Плоды черемухи	3,0
	Корневища имбиря	2,0

10

15

20

25

30

35

40

45

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Таблица 1 – Результаты изучения антибактериальной активности

Образец	Зона задержки роста, мм				
	Синегной- ная палочка	Кишечная палочка	Протей вульгарны й	Стафило- кокк	Сенная палочка
№1	330	230	280	250	410
№2	рост	рост	200	170	290

Фиг. 1

Таблица 2 – Результаты исследования провоспалительной активности

Группы животных	Количество животных в группе	Выжившие животные, %	Павшие животные, %
Опытная №1	10	47,7	52,3
Опытная №2	10	28,5	71,5
Контрольная №1	10	40,1	59,9
Контрольная №2	10	76,3	24,7

Фиг. 2

Таблица 3. Результаты изучения антиоксидантной активности

№ п/п	Образец	АОА, %
1	Контроль №1	–
2	Контроль №2	47,76
3	Разработанная композиция	75,33

Фиг. 3

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПАРОДОНТА

Таблица 4. Структура нозологических форм среди обследованных пациентов

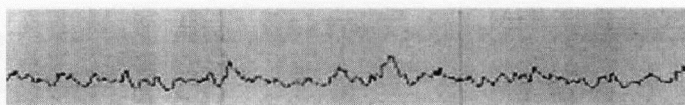
Диагноз/возраст	Обследовано (n=24)		
	18- 25	25- 30	Всего
Хронический генерализованный катаральный гингивит легкой степени тяжести	13	6	19
Хронический генерализованный катаральный гингивит средней степени тяжести	1	4	5

Фиг. 4

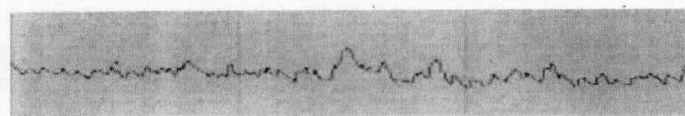
Таблица 5. Показатели микроциркуляции в пародонте в процессе лечения

Диагноз	ПМ до лечения (у.е.) (p<0,05)	ПМ спустя 7 дней (у.е.) (p<0,05)
Хронический генерализованный катаральный гингивит легкой степени тяжести (группа I)	11,05±1,96	3,5±0,11
Хронический генерализованный катаральный гингивит средней степени тяжести (группа II)	27,24±1,28	12,46±0,42

Фиг. 5



Фиг. 6



Фиг. 7