

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202090998** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2020.09.10

(22) Дата подачи заявки
2018.11.22

(51) Int. Cl. *A61K 31/192* (2006.01)
A61K 31/352 (2006.01)
A61K 31/365 (2006.01)
A61K 31/7048 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A61K 33/20 (2006.01)
A61P 11/02 (2006.01)

(54) КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ КВЕРЦЕТИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РИНОСИНУСИТА

(31) **1771251**

(32) **2017.11.23**

(33) **FR**

(86) **PCT/EP2018/082241**

(87) **WO 2019/101867 2019.05.31**

(71) Заявитель:

АФАБИО ТЕРАПЕВТИКС (FR)

(72) Изобретатель:

Чодоева Аннура (FR)

(74) Представитель:

Черняев М.А. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к области медицины и фармацевтики и касается композиций для полоскания полости носа и придаточных пазух носа для лечения или профилактики острого и/или хронического ринита, а также острого и/или хронического синусита, содержащих хлорид натрия и/или хлорид калия; кверцетин и по меньшей мере одно активное вещество из полифенольной группы, выбранное из соединений: кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, протокатехиновая кислота; и где кверцетин находится в безводной форме с приблизительной молекулярной массой 302 г/моль, или в форме гидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 320 г/моль, или в форме дигидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 338 г/моль. Настоящее изобретение также относится к способу получения этих композиций и к способу лечения острого и хронического риносинусита с использованием этих композиций.

A1

202090998

202090998

A1

КОМПОЗИЦИЯ НА ОСНОВЕ КВЕРЦЕТИНА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РИНОСИНУСИТА

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Настоящее изобретение относится к конкретной композиции и к ее применению для лечения риносинусита. Изобретение также относится к способу получения настоящей композиции. Риносинусит (РС) - это воспаление носовой полости и придаточных пазух носа, характеризующееся закупоркой/заложенностью носа или выделениями из носа, болью и давлением в области лица, уменьшением или потерей обоняния и/или слизисто-гнойными выделениями преимущественно из средней носовой раковины, отеком/обструкцией слизистой оболочки преимущественно в зоне средней раковины. Риносинусит подразделяют на острый РС (ОРС) с длительностью заболевания < 12 недель, хронический РС (ХРС) с длительностью заболевания >12 недель, с полипами или без полипов в носу.

В рамках данного изобретения термин риносинусит охватывает все формы заболевания, включая острые, хронические синусит и ринит с полипами носа или без них.

В международной классификации болезней, изданной ВОЗ, термин "риносинусит" отсутствует как нозологическая единица. Вместо этого болезни острый (J30) и хронический (J31) ринит, острый (J01) и хронический (J32) синусит были классифицированы отдельно (ICD ВОЗ). Тем не менее, Европейская Академия Аллергологии и Клинической Иммунологии, Европейское Ринологическое Общество (European Position Paper on Rhinosinusitis - EPOS 2012) и Американская Академия Отоларингологии—хирургии головы и шеи, издающие руководство по лечению риносинусита, согласовали использовать термин «риносинусит», поскольку синусит и ринит являются сопутствующими заболеваниями, всегда проявляющимися вместе. «Широкое распространение термина “риносинусит” вместо термина "синусит" косвенно поддерживает точку зрения, что инородный материал, занесенный через дыхательные пути или, возможно, из носоглотки, сначала воздействует на слизистую оболочку носа, затем прямо или косвенно воздействует на слизистые оболочки пазух" (EPOS 2012).

Риносинусит является одним из самых распространенных заболеваний в мире, со средней распространенностью более 10% населения мира.

В США риносинусит поражает 1 человека из 8 с ежегодными затратами на здравоохранение, превышающими 11 млрд долларов (Rosenfeld, RM et al. Clinical Practice Guideline (Update): Adult Sinusitis. Otolaryngology—Head and Neck Surgery Vol. 152(2S), 2015, pp1-39).

Общая стоимость лечения больного с ХРС в США составила \$2609 в год, в Европе прямые затраты на лечение больного с тяжелым хроническим риносинуситом в университетской больнице составили \$1861 в год. Риносинусит входит в десятку самых дорогостоящих заболеваний для американских работодателей. Общие расходы на лечение и домашние расходы связанные с болезнью наиболее высокие для пациентов с синуситом. Основная часть косвенных издержек приходится на прогулы (пропущенные рабочие дни) и “презентеизм” (присутствие больного на работе со снижением производительности труда).

Национальное Исследование по наблюдению за здравоохранением (National Health Interview Survey) в период с 1997 по 2006 год и охватывающее почти 315 000 человек, показало, что пациенты с синуситом пропускают в среднем 5,7 рабочих дней в год (European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012; Rhinology addition 23:1-298, 2012).

В настоящее время лекарств со специальным показанием для лечения риносинусита не существует. Некоторые антибиотики имеют одобренные показания для острого бактериального синусита, а другие группы препаратов, такие как кортикостероиды, антигистаминные препараты, альфа-адренергические сосудосуживающие средства рекомендуются для лечения риносинусита, но ни один из них не был одобрен Администрацией по пищевым продуктам и лекарственным средствам США (FDA, Guidance for Industry. Sinusitis: Designing Clinical Development Programs of Nonantimicrobial Drugs for Treatment, 2006).

Рекомендации по лечению риносинусита разрабатываются международными экспертными группами, такими как: Европейская Академия Аллергологии и Клинической Иммунологии и Европейское Респираторное общество.

В соответствии с протоколом, установленным этими ассоциациями (European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal 5 Polyps 2012; Rhinology supplement 23: 1-298, 2012), различные формы риносинусита лечатся следующим образом:

Острый риносинусит (<12 недель): начальное лечение - симптоматическая терапия: могут быть предложены анальгетики, солевые орошения, антигистаминные препараты, местные сосудосуживающие средства. При отсутствии улучшения через 7-14 дней рекомендуются интраназальные кортикостероиды. В случае осложнения или бактериального РС рекомендуется назначить антибиотики первой линии (амоксциллин один или вместе с клавулановой кислотой) и одновременно провести рентгенологическое исследование для подтверждения бактериального риносинусита или осложнения. Если улучшения не наблюдается, амоксициллин заменяют на макролиды. В случае неудачи лечения рекомендуется продолжение интраназальных кортикостероидов и/или хирургические вмешательства.

Хронический риносинусит (>12 недель): независимо от наличия или отсутствия носовых полипов, рекомендуемый протокол лечения следующее: после эндоскопических исследований и компьютерной томографии назначаются интраназальные стероиды. При отсутствии улучшения через 3 месяца назначается длительная антибактериальная терапия. Если улучшения нет, рекомендуется хирургическое вмешательство.

Эффективность интраназальных кортикостероидов очень ограничена: они эффективны у одного человека из 14 использовавших препарат (Hayward, G et al. Intranasal Corticosteroids in Management of Acute Sinusitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Ann Fam Med Vol. 10: 2012, pp241-249).

Клиницистам настоятельно рекомендуется взвешивать умеренные преимущества лечения антибиотиками в сравнении с потенциальными побочными эффектами. Более того, последнее американское руководство рекомендует «бдительное ожидание» перед началом антибактериальной терапии, даже если бактериальное происхождение риносинусита подтверждено. Это связано с низкой эффективностью антибиотиков при РС: антибиотики эффективны у 1 пациента из 20 (Rosenfeld, RM et al. Clinical Practice Guideline (Update): Adult Sinusitis. Otolaryngology–Head and Neck Surgery Vol. 152(2S), 2015, pp1-39).

Местные сосудосуживающие средства могут быть использованы для симптоматического лечения, но длительное применение (более 3-5 дней) не рекомендуется из-за медикаментозного ринита.

Изотонические или гипертонические солевые растворы для орошения носа широко используются в повседневной гигиене. В основном используется физиологический раствор. Объем раствора для промывания носа варьируется от 5 мл до 500 мл. Эффективность физиологического раствора объясняется его способностью удалять из полости носа раздражающие инородные тела и медиаторы воспаления. В настоящее время разрабатывается несколько назальных формул, содержащих буферные растворы. Один из рецептов для орошения носа разработанный Т. Келлером (US2013 / 0156871, Keller Ted, June 20, 2013), носовой раствор, содержащий хлорид натрия и буфер состоящий из аскорбата натрия и бикарбоната натрия. После растворения в воде, эта композиция может быть использована для очищения полости носа и синусовых пазух. Однако, как и многие существующие растворы, такой состав не является достаточно эффективным для лечения риносинусита.

Целью настоящего изобретения является преодоление существующих проблем и разработать составы для очистки полости носа и околоносовых пазух для эффективного лечения острого и хронического риносинусита. Задача решается путем использования композиции, содержащей соль; и активных веществ из полифенольной группы, выбранные из следующих: кверцетин, кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, протокатехиновая кислота, и которая может содержать примеси, производные из кверцетина, включающей кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количестве менее 5% по массе от общего количества действующих веществ. Согласно настоящему изобретению кверцетин необходимо сочетать с производными кверцетина, такими как кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, протокатехиновая кислота. Такое сочетание обеспечивает синергический эффект, который повышает эффективность композиции при лечении риносинусита.

Изобретение также относится к применению этих композиций для профилактики и лечения риносинусита.

Наконец, еще одна цель изобретения заключается в разработке способа получения этих композиций.

Далее приводится подробное описание изобретения.

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Термин "активное вещество" или "активный агент" в данном изобретении означает соединение или состав, производящий желаемый терапевтический эффект.

Термин "примесь" в настоящем изобретении относится к соединению или ингредиенту без терапевтического эффекта, присутствующему в составе лекарственного средства наравне с активным агентом в незначительных количествах.

"Терапевтически эффективное количество" в данном изобретении означает количество активного вещества, которое может произвести терапевтический эффект у леченных субъектов.

Термины "пациент" или "субъект" в настоящем изобретении относятся к млекопитающему животному или человеку, к которым может быть применено настоящее изобретение.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Объектом изобретения является композиция для полоскания полости носа и придаточных пазух носа для профилактики или лечения острого и хронического ринита и острого и хронического синусита, содержащая:

хлорид натрия и/или хлорид калия;

кверцетин и по меньшей мере одно активное вещество из полифенольной группы, выбранный из: кверцетин-4'-гликозида, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, протокатехиновой кислоты; и где кверцетин находится в безводной форме с приблизительной молекулярной массой 302 г/моль или в виде гидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 320 г/моль, или в виде дигидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 338 г/моль.

Изобретение относится к назальным композициям, содержащим активные ингредиенты с доказанной эффективностью для лечения риносинусита.

Согласно данному изобретению, молекулы содержащиеся в композиции могут быть извлечены из луковой шелухи. Эффективность сырого экстракта и очищенных соединений из луковой шелухи изучали на моделях животных с экспериментально индуцированным риносинуситом. Результаты этого исследования описаны в примерах. Эти данные доказывают эффективность экстракта луковой шелухи и выделенных из него соединений: кверцетина, кверцетин-4'-гликозида, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и протокатехиновой кислоты при риносинусите. Эти результаты позволили также разработать рецептуры, содержащие эти вещества, и разработать методы лечения.

В зависимости от условий экстракции и способов приготовления, кверцетин может быть использован в безводной форме с приблизительной молекулярной массой 302 г/моль, или в форме гидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 320 г/моль, или в форме дигидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 338 г/моль.

Согласно изобретению возможны несколько вариантов композиций.

1. Композиция для назального применения, включающая соль и кверцетин, кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту.

В одном варианте композиция содержит соль и экстракт растений, содержащих флавоноиды: кверцетин, кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту. В качестве соли могут быть использованы хлорид натрия и/или хлорид калия вместе или в отдельности в количестве, достаточном для получения гипотонического, изотонического или гипертонического раствора. Количество соли может составлять от 83 до 99,77% от массы сухого состава. Количество кверцетина в сухом составе может составлять от 0,23 до 3.% от общей массы. Количество кверцетин-4'-гликозида в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы. Количество 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона в сухой композиции может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы. Количество протокатехиновой кислоты в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы.

В одном варианте активный агент, содержащий кверцетин, кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту может быть получен методом экстракции из растений, содержащих флавоноиды, например из луковой шелухи.

Способ получения экстракта, содержащего активные вещества, может включать следующие стадии:

- смешивание измельченной луковой шелухи с холодной водой в пропорции 0,1-2 г/50 мл (м/об.);
- довести смесь до кипения и кипятить в течение 30 мин на медленном огне (не превышающей температуры кипения);
- охлаждение смеси, фильтрация и сушка методом лиофилизации.

Этот способ позволяет получить сырой экстракт, состоящий из активных веществ: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты.

Сырой экстракт может также содержать другие примеси, полученные из кверцетина, например, кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количествах, не превышающих 5% от общей массы действующих веществ.

Другой способ экстракции заключается в использовании органических растворителей, предпочтительно метанола или этанола, разбавленных водой в соотношении от 50/50 до 90/10. Согласно этому способу определенное количество измельченной луковой шелухи смешивают с органическим растворителем в пропорции 1-10 г/30 мл (м/об.) и перемешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный раствор фильтруют, затем упаривают досуха. Полученный неочищенный экстракт может быть далее очищен методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Условия очищения сырого экстракта могут быть следующими: от 50 мг до 200 мг сырого экстракта вводят в колонку Phenomenex C18 (21,2 мм×150 мм, 5мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ. Следующие растворители могут быть использованы: растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1 л/5 мл); растворитель Б: ACN. Скорость подвижной фазы может быть: 15 мл/мин.

Качественный и количественный анализ композиций может быть выполнен с помощью метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования могут быть следующими: 1 мкл раствора вводят в колонку Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) UPLC при температуре 25°C. Используемые растворители: растворитель А: H₂O / HCOOH 0,1% и растворитель В: ACN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы может быть: 0,4 мл/мин. Изолированные соединения могут быть обнаружены сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром.

Масс-спектрометрические анализы могут быть выполнены в отрицательном или положительном режиме. Методы сепарирования и анализа на аппарате UPLC-DAD-MS могут быть одинаковыми для всех композиций.

В другом варианте композицию можно получить путем смешивания коммерчески доступных соединений: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона,

кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновую кислоту и соли, выбранной из хлорида натрия или хлорида калия.

Сухой состав может быть получен одним из следующих способов:

а). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновой кислоты и соли в воде, нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, замораживают и лиофилизируют.

б). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновой кислоты в воде нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, добавляют соль и растворяют. Затем раствор замораживают и лиофилизируют.

с). Кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновая кислота растворяются в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой. Соотношение органический растворитель/вода от 50/50 до 90/10. Соль растворяется в воде. Затем оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют.

д). Порошки кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты смешиваются с хлоридом натрия или хлоридом калия.

Состав может быть стерилизован или нет, может быть в сухом или жидком виде, распакован в одноразовые или многоразовые контейнеры. В состав может входить один или несколько биологически активных ингредиентов, применяющихся в терапии синусита и вспомогательные вещества, выбранные из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов и эфирных масел. Биологически активные ингредиенты могут быть выбраны из антибиотиков, кортикостероидов и/или из солей меди, марганца и серы.

Эфирные масла могут быть выбраны из эвкалиптового масла, масла розмарина, масла чайного дерева или ментола.

Согласно одному из вариантов осуществления, сухая композиция может быть впоследствии смешана с водой.

Полученный раствор или суспензия содержит хлорид натрия и/или хлорид калия в концентрации 0,4-2 % по массе, кверцетин в концентрации 0,0023-0,03 % по массе, кверцетин-4'-гликозид в концентрации 0,00000001-0,03 % по массе, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон в концентрации 0,00000001 - 0,03% по массе и протокатехиновая кислота в концентрации 0,00000001-0,03% по массе и могут содержать другие примеси, производные из кверцетина до 0,5% по общей массе действующих веществ.

В другом варианте сухая композиция может быть смешана с раствором, содержащим соль гидрокарбоната. Солью гидрокарбоната может быть гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия вместе или в отдельности. Концентрация гидрокарбонатной соли может варьироваться до 0,5%, предпочтительно в пределах 0,1-0,5% по массе, более предпочтительно 0,25 - 0,5% по массе. Температура воды или раствора гидрокарбоната может быть между 30°C и 38°C. При

этой температуре некоторые вещества, например кверцетин, может остаться в форме суспензии, другие вещества могут растворяться полностью.

Согласно одному из вариантов осуществления, воду можно вскипятить, а затем охладить до 37°C перед смешиванием.

Вода, используемая для приготовления жидкой композиции, может быть дистиллированной, деионизированной, очищенной и/или стерилизованной. Использование консервантов и других вспомогательных веществ в составе не исключено, тем не менее, возможно приготовления стерильных препаратов без консервантов. Это позволяет сохранить композиции в стерильных условиях и ограничить нежелательные эффекты за счет присутствия консервантов.

Предпочтительным может быть использование одноразовых пластиковых контейнеров или шприцев заполненных в асептических условиях.

В одном варианте композиция может быть представлена следующим образом:

Композиция состоит из двух частей:

- часть А: сухой порошок, содержащий хлорид натрия или хлорид калия, кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту.
- часть Б: содержит 20 мл воды или раствора гидрокарбоната натрия или гидрокарбоната калия.

2. Композиция для назального применения, включающая соль и кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту.

В одном варианте композиция содержит соль и экстракт растений, содержащих флавоноиды: кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту. В качестве соли могут быть использованы хлорид натрия и/или хлорид калия вместе или в отдельности в количестве, достаточном для получения гипотонического, изотонического или гипертонического раствора. Количество соли может составлять от 86 до 99,77% от массы сухого состава. Количество кверцетина в сухом составе может составлять от 0,23 до 3.% от общей массы. Количество кверцетин-4'-гликозида в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы. Количество протокатехиновой кислоты в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы.

В одном варианте активный агент, содержащий кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту может быть получен методом экстракции из растений, содержащих флавоноиды, например из луковой шелухи.

Способ получения экстракта, содержащего активные вещества, может включать следующие стадии:

- смешивание измельченной луковой шелухи с холодной водой в пропорции 0,1-2 г/50 мл (м/об.);
- довести смесь до кипения и кипятить в течение 30 мин на медленном огне (не превышающей температуры кипения);
- охлаждение смеси, фильтрация и сушка методом лиофилизации.

Этот способ позволяет получить сырой экстракт, состоящий из активных веществ: кверцетина, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты.

Сырой экстракт может также содержать другие примеси, полученные из кверцетина, например,

кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количествах, не превышающих 5% от общей массы действующих веществ.

Другой способ экстракции заключается в использовании органических растворителей, предпочтительно метанола или этанола, разбавленных водой в соотношении от 50/50 до 90/10. Согласно этому способу определенное количество измельченной луковой шелухи смешивают с органическим растворителем в пропорции 1-10 г/30 мл (м/об.) и перемешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный раствор фильтруют, затем упаривают досуха. Полученный неочищенный экстракт может быть далее очищен методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Условия очищения сырого экстракта могут быть следующими: от 50 мг до 200 мг сырого экстракта вводят в колонку Phenomenex C18 (21,2 мм×150 мм, 5мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ. Следующие растворители могут быть использованы: растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1 л/5 мл); растворитель Б: ACN. Скорость подвижной фазы может быть: 15 мл/мин.

Качественный и количественный анализ композиций может быть выполнен с помощью метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования могут быть следующими: 1 мкл раствора вводят в колонку Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) UPLC при температуре 25°C. Используемые растворители: растворитель А: H₂O / HCOOH 0,1% и растворитель В: ACN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы может быть: 0,4 мл/мин. Изолированные соединения могут быть обнаружены сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром.

Масс-спектрометрические анализы могут быть выполнены в отрицательном или положительном режиме. Методы сепарирования и анализа на аппарате UPLC-DAD-MS может быть одинаковыми для всех композиций.

В другом варианте композицию можно получить путем смешивания коммерчески доступных соединений: кверцетина, кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновую кислоту и соли, выбранной из хлорида натрия или хлорида калия.

Сухой состав может быть получен одним из следующих способов:

а). Растворение кверцетина, кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновой кислоты и соли в воде, нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, замораживают и лиофилизируют.

б). Растворение кверцетина, кверцетин-4'-гликозида, протокатехиновой кислоты в воде нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, добавляют соль и растворяют. Затем раствор замораживают и лиофилизируют.

с). Кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновая кислота растворяются в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой. Соотношение органический растворитель/вода от 50/50 до 90/10. Соль растворяется в воде. Затем оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют.

д). Порошки кверцетина, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты смешиваются с хлоридом натрия или хлоридом калия.

Состав может быть стерилизован или нет, может быть в сухом или жидком виде, распакован в одноразовые или многоразовые контейнеры. В состав может входить один или несколько биологически активных ингредиентов, применяющихся в терапии синусита и вспомогательные вещества, выбранные из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов и эфирных масел. Биологически активные ингредиенты могут быть выбраны из антибиотиков, кортикостероидов и/или из солей меди, марганца и серы.

Эфирные масла могут быть выбраны из эвкалиптового масла, масла розмарина, масла чайного дерева или ментола.

Согласно одному из вариантов осуществления, сухая композиция может быть впоследствии смешана с водой.

Полученный раствор или суспензия содержит хлорид натрия и/или хлорид калия в концентрации 0,4-2 % по массе, кверцетин в концентрации 0,0023-0,03 % по массе, кверцетин-4'-гликозид в концентрации 0,00000001-0,03 % по массе и протокатехиновую кислоту в концентрации 0,00000001-0,03% по массе и могут содержать другие примеси, производные из кверцетина до 0,5% по общей массе действующих веществ.

В другом варианте сухая композиция может быть смешана с раствором, содержащим соль гидрокарбоната. Солью гидрокарбоната может быть гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия вместе или в отдельности. Концентрация гидрокарбонатной соли может варьироваться до 0,5%, предпочтительно в пределах 0,1-0,5% по массе, более предпочтительно 0,25 - 0,5% по массе. Температура воды или раствора гидрокарбоната может быть между 30°C и 38°C. При этой температуре некоторые вещества, например кверцетин, может остаться в форме суспензии, другие вещества могут растворяться полностью.

Согласно одному из вариантов осуществления, воду можно вскипятить, а затем охладить до 37°C перед смешиванием.

Вода, используемая для приготовления жидкой композиции, может быть дистиллированной, деионизированной, очищенной и/или стерилизованной. Использование консервантов и других вспомогательных веществ в составе не исключено, тем не менее, возможно приготовления стерильных препаратов без консервантов. Это позволяет сохранить композиции в стерильных условиях и ограничить нежелательные эффекты за счет присутствия консервантов.

Предпочтительным может быть использование одноразовых пластиковых контейнеров или шприцев заполненных в асептических условиях.

В одном варианте композиция может быть представлена следующим образом:

Композиция состоит из двух частей:

- часть А: сухой порошок, содержащий хлорид натрия или хлорид калия, кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту.
- часть Б: содержит 20 мл воды или раствора гидрокарбоната натрия или гидрокарбоната калия.

3. Композиция для назального применения, включающая соль и кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту.

В одном варианте композиция содержит соль и кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту. В качестве соли могут быть использованы хлорид натрия и/или хлорид калия вместе или в отдельности в количестве, достаточном для получения гипотонического, изотонического или гипертонического раствора. Количество соли может составлять от 91 до 99,77% от массы сухого состава. Количество кверцетина в сухом составе может составлять от 0,23 до 3.% от общей массы. Количество 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона в сухой композиции может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы. Количество протокатехиновой кислоты в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы.

В одном варианте активный агент, содержащий кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту может быть получен методом экстракции из растений, содержащих флавоноиды, например из луковой шелухи.

Способ получения экстракта, содержащего активные вещества, может включать следующие стадии:

- смешивание измельченной луковой шелухи с холодной водой в пропорции 0,1-2 г/50 мл (м/об.);
- довести смесь до кипения и кипятить в течение 30 мин на медленном огне (не превышающей температуры кипения);
- охлаждение смеси, фильтрация и сушка методом лиофилизации.

Этот способ позволяет получить сырой экстракт, состоящий из активных веществ: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты.

Сырой экстракт может также содержать другие примеси, полученные из кверцетина, например, кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количествах, не превышающих 5% от общей массы действующих веществ.

Другой способ экстракции заключается в использовании органических растворителей, предпочтительно метанола или этанола, разбавленных водой в соотношении от 50/50 до 90/10. Согласно этому способу определенное количество измельченной луковой шелухи смешивают с органическим растворителем в пропорции 1-10 г/30 мл (м/об.) и перемешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный раствор фильтруют, затем упаривают досуха. Полученный неочищенный экстракт может быть далее очищен методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Условия очищения сырого экстракта могут быть следующими: от 50 мг до 200 мг сырого экстракта вводят в колонку Phenomenex C18 (21,2 мм×150 мм, 5мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ. Следующие растворители могут быть использованы: растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1 л/5 мл); растворитель Б: ACN. Скорость подвижной фазы может быть: 15 мл/мин.

Качественный и количественный анализ композиций может быть выполнен с помощью метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования могут быть следующими: 1 мкл раствора вводят в колонку Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) UPLC при температуре 25°C. Используемые растворители: растворитель А: H₂O / HCOOH 0,1% и растворитель В: ACN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы может быть:

0,4 мл/мин. Изолированные соединения могут быть обнаружены сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром.

Масс-спектрометрические анализы могут быть выполнены в отрицательном или положительном режиме. Методы сепарирования и анализа на аппарате UPLC-DAD-MS может быть одинаковыми для всех композиций.

В другом варианте композицию можно получить путем смешивания коммерчески доступных соединений: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, протокатехиновую кислоту и соли, выбранной из хлорида натрия или хлорида калия.

Сухой состав может быть получен одним из следующих способов:

а). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, протокатехиновой кислоты и соли в воде, нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, замораживают и лиофилизируют.

б). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и протокатехиновой кислоты в воде нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, добавляют соль и растворяют. Затем раствор замораживают и лиофилизируют.

с). Кверцетин, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и протокатехиновая кислота растворяются в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой. Соотношение органический растворитель/вода от 50/50 до 90/10. Соль растворяется в воде. Затем оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют.

д). Порошки кверцетина, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и протокатехиновой кислоты смешиваются с хлоридом натрия или хлоридом калия.

Состав может быть стерилизован или нет, может быть в сухом или жидком виде, распакован в одноразовые или многоразовые контейнеры. В состав может входить один или несколько биологически активных ингредиентов, применяющихся в терапии синусита и вспомогательные вещества, выбранные из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов и эфирных масел. Биологически активные ингредиенты могут быть выбраны из антибиотиков, кортикостероидов и/или из солей меди, марганца и серы.

Эфирные масла могут быть выбраны из эвкалиптового масла, масла розмарина, масла чайного дерева или ментола.

Согласно одному из вариантов осуществления, сухая композиция может быть впоследствии смешана с водой.

Полученный раствор или суспензия содержит хлорид натрия и/или хлорид калия в концентрации 0,4-2 % по массе, кверцетин в концентрации 0,0023-0,03 % по массе, 2-(3,4-дигидроксibenзоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон в концентрации 0,00000001 - 0,03% по массе и протокатехиновая кислота в концентрации 0,00000001-0,03% по массе.

В другом варианте сухая композиция может быть смешана с раствором, содержащим соль гидрокарбоната. Солью гидрокарбоната может быть гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия вместе или в отдельности. Концентрация гидрокарбонатной соли может варьироваться до 0,5%, предпочтительно в пределах 0,1-0,5% по массе, более предпочтительно 0,25 - 0,5% по массе. Температура воды или раствора гидрокарбоната может быть между 30°C и 38°C. При этой температуре некоторые вещества, например кверцетин, может остаться в форме суспензии, другие вещества могут растворяться полностью.

Согласно одному из вариантов осуществления, воду можно вскипятить, а затем охладить до 37°C перед смешиванием.

Вода, используемая для приготовления жидкой композиции, может быть дистиллированной, деионизированной, очищенной и/или стерилизованной. Использование консервантов и других вспомогательных веществ в составе не исключено, тем не менее, возможно приготовления стерильных препаратов без консервантов. Это позволяет сохранить композиции в стерильных условиях и ограничить нежелательные эффекты за счет присутствия консервантов.

Предпочтительным может быть использование одноразовых пластиковых контейнеров или шприцев заполненных в асептических условиях.

В одном варианте композиция может быть представлена следующим образом:

Композиция состоит из двух частей:

- часть А: сухой порошок, содержащий хлорид натрия или хлорид калия, кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2Н)-бензофуранон и протокатехиновую кислоту.
- часть Б: содержит 20 мл воды или раствора гидрокарбоната натрия или гидрокарбоната калия.

4. Композиция для назального применения, включающая соль и кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2Н)-бензофуранон.

В одном варианте композиция содержит соль и кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2Н)-бензофуранон. В качестве соли могут быть использованы хлорид натрия и/или хлорид калия вместе или в отдельности в количестве, достаточном для получения гипотонического, изотонического или гипертонического раствора. Количество соли может составлять от 91 до 99,99% от массы сухого состава. Количество кверцетина в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3% от общей массы. Количество кверцетин-4'-гликозида в сухом составе может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы. Количество 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2Н)-бензофуранона в сухой композиции может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы.

В одном варианте активный агент, содержащий кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2Н)-бензофуранон может быть получен методом экстракции из растений, содержащих флавоноиды, например из луковой шелухи.

Способ получения экстракта, содержащего активные вещества, может включать следующие стадии:

- смешивание измельченной луковой шелухи с холодной водой в пропорции 0,1-2 г/50 мл (м/об.);
- довести смесь до кипения и кипятить в течение 30 мин на медленном огне (не превышающей температуры кипения);
- охлаждение смеси, фильтрация и сушка методом лиофилизации.

Этот способ позволяет получить сырой экстракт, состоящий из активных веществ: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты.

Сырой экстракт может также содержать другие примеси, полученные из кверцетина, например, кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количествах, не превышающих 5% от общей массы действующих веществ.

Другой способ экстракции заключается в использовании органических растворителей, предпочтительно метанола или этанола, разбавленных водой в соотношении от 50/50 до 90/10. Согласно этому способу определенное количество измельченной луковой шелухи смешивают с органическим растворителем в пропорции 1-10 г/30 мл (м/об.) и перемешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный раствор фильтруют, затем упаривают досуха. Полученный неочищенный экстракт может быть далее очищен методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Условия очищения сырого экстракта могут быть следующими: от 50 мг до 200 мг сырого экстракта вводят в колонку Phenomenex C18 (21,2 мм×150 мм, 5мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ. Следующие растворители могут быть использованы: растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1 л/5 мл); растворитель Б: АСN. Скорость подвижной фазы может быть: 15 мл/мин.

Качественный и количественный анализ композиций может быть выполнен с помощью метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования могут быть следующими: 1 мкл раствора вводят в колонку Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) UPLC при температуре 25°C. Используемые растворители: растворитель А: H₂O / HCOOH 0,1% и растворитель В: АСN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы может быть: 0,4 мл/мин. Изолированные соединения могут быть обнаружены сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром.

Масс-спектрометрические анализы могут быть выполнены в отрицательном или положительном режиме. Методы сепарирования и анализа на аппарате UPLC-DAD-MS может быть одинаковыми для всех композиций.

В другом варианте композицию можно получить путем смешивания коммерчески доступных соединений: кверцетина, кверцетин-4'-гликозида и соли, выбранной из хлорида натрия или хлорида калия.

Сухой состав может быть получен одним из следующих способов:

а). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и соли в воде, нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, замораживают и лиофилизируют.

б). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и кверцетин-4'-гликозида в воде нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, добавляют соль и растворяют. Затем раствор замораживают и лиофилизируют.

с). Кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и кверцетин-4'-гликозид растворяются в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой. Соотношение органический растворитель/вода от 50/50 до 90/10. Соль растворяется в воде. Затем оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют.

д). Порошки кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и кверцетин-4'-гликозида смешиваются с хлоридом натрия или хлоридом калия.

Состав может быть стерилизован или нет, может быть в сухом или жидком виде, распакован в одноразовые или многоразовые контейнеры. В состав может входить один или несколько биологически активных ингредиентов, применяющихся в терапии синусита и вспомогательные вещества, выбранные из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов и эфирных масел. Биологически активные ингредиенты могут быть выбраны из антибиотиков, кортикостероидов и/или из солей меди, марганца и серы.

Эфирные масла могут быть выбраны из эвкалиптового масла, масла розмарина, масла чайного дерева или ментола.

Согласно одному из вариантов осуществления, сухая композиция может быть впоследствии смешана с водой.

Полученный раствор или суспензия содержит хлорид натрия и/или хлорид калия в концентрации 0,4-2 % по массе, кверцетин в концентрации 0,00000001-0,03 % по массе, кверцетин-4'-гликозид в концентрации 0,00000001-0,03 % по массе, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон в концентрации 0,00000001 - 0,03% по массе.

В другом варианте сухая композиция может быть смешана с раствором, содержащим соль гидрокарбоната. Солью гидрокарбоната может быть гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия вместе или в отдельности. Концентрация гидрокарбонатной соли может варьироваться до 0,5%, предпочтительно в пределах 0,1-0,5% по массе, более предпочтительно 0,25 - 0,5% по массе. Температура воды или раствора гидрокарбоната может быть между 30°C и 38°C. При этой температуре некоторые вещества, например кверцетин, может остаться в форме суспензии, другие вещества могут растворяться полностью.

Согласно одному из вариантов осуществления, воду можно вскипятить, а затем охладить до 37°C перед смешиванием.

Вода, используемая для приготовления жидкой композиции, может быть дистиллированной, деионизированной, очищенной и/или стерилизованной. Использование консервантов и других вспомогательных веществ в составе не исключено, тем не менее, возможно приготовления стерильных препаратов без консервантов. Это позволяет сохранить композиции в стерильных условиях и ограничить нежелательные эффекты за счет присутствия консервантов.

Предпочтительным может быть использование одноразовых пластиковых контейнеров или шприцев заполненных в асептических условиях.

В одном варианте композиция может быть представлена следующим образом:

Композиция состоит из двух частей:

- часть А: сухой порошок, содержащий хлорид натрия или хлорид калия, кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон и кверцетин-4'-гликозид.

- часть Б: содержит 20 мл воды или раствора гидрокарбоната натрия или гидрокарбоната калия.

5. Композиция для назального применения, включающая соль, кверцетин и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон.

В одном варианте композиция содержит соль, кверцетин и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон. В качестве соли могут быть использованы хлорид натрия и/или хлорид калия вместе или в отдельности в количестве, достаточном для получения гипотонического, изотонического или гипертонического раствора. Количество соли может составлять от 94 до 99,99% от массы сухого состава. Количество кверцетина в сухом составе может составлять от 0,000001 - 3% от общей массы. Количество 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона в сухой композиции может составлять от 0,000001 до 3 % от общей массы.

В одном варианте активный агент, содержащий кверцетин и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон может быть получен методом экстракции из растений, содержащих флавоноиды, например из луковой шелухи.

Способ получения экстракта, содержащего активные вещества, может включать следующие стадии:

- смешивание измельченной луковой шелухи с холодной водой в пропорции 0,1-2 г/50 мл (м/об.);
- довести смесь до кипения и кипятить в течение 30 мин на медленном огне (не превышающей температуры кипения);
- охлаждение смеси, фильтрация и сушка методом лиофилизации.

Этот способ позволяет получить сырой экстракт, состоящий из активных веществ: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, кверцетин-4'-гликозида и протокатехиновой кислоты.

Сырой экстракт может также содержать другие примеси, полученные из кверцетина, например, кверцетин-3'-гликозид, кверцетин-7'-гликозид, дигликозиды и тригликозиды кверцетина, димеры кверцетина, в количествах, не превышающих 5% от общей массы действующих веществ.

Другой способ экстракции заключается в использовании органических растворителей, предпочтительно метанола или этанола, разбавленных водой в соотношении от 50/50 до 90/10. Согласно этому способу определенное количество измельченной луковой шелухи смешивают с органическим растворителем в пропорции 1-10 г/30 мл (м/об.) и перемешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный раствор фильтруют, затем упаривают досуха. Полученный неочищенный экстракт может быть далее очищен методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Условия очищения сырого экстракта могут быть следующими: от 50 мг до 200 мг сырого экстракта вводят в колонку Phenomenex C18 (21,2 мм×150 мм, 5мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ. Следующие растворители могут быть использованы: растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1 л/5 мл); растворитель Б: ACN. Скорость подвижной фазы может быть: 15 мл/мин.

Качественный и количественный анализ композиций может быть выполнен с помощью метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования могут быть следующими: 1 мкл раствора вводят в колонку Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) UPLC при температуре 25°C. Используемые растворители: растворитель А: H₂O / HCOOH 0,1% и растворитель В: ACN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы может быть: 0,4 мл/мин. Изолированные соединения могут быть обнаружены сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром.

Масс-спектрометрические анализы могут быть выполнены в отрицательном или положительном режиме. Методы сепарирования и анализа на аппарате UPLC-DAD-MS может быть одинаковыми для всех композиций.

В другом варианте композицию можно получить путем смешивания коммерчески доступных соединений: кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и соли, выбранной из хлорида натрия или хлорида калия.

Сухой состав может быть получен одним из следующих способов:

а). Растворение кверцетина, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и соли в воде, нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, замораживают и лиофилизируют.

б). Растворение кверцетина и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона в воде нагретой до 80 -100°C. Затем раствор охлаждают до комнатной температуры, добавляют соль и растворяют. Затем раствор замораживают и лиофилизируют.

с). Кверцетин и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон растворяются в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой. Соотношение органический растворитель/вода от 50/50 до 90/10. Соль растворяется в воде. Затем оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют.

д). Порошки кверцетина и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона смешиваются с хлоридом натрия или хлоридом калия.

Состав может быть стерилизован или нет, может быть в сухом или жидком виде, распакован в одноразовые или многоразовые контейнеры. В состав может входить один или несколько биологически активных ингредиентов, применяющихся в терапии синусита и вспомогательные вещества, выбранные из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов и эфирных масел. Биологически активные ингредиенты могут быть выбраны из антибиотиков, кортикостероидов и/или из солей меди, марганца и серы.

Эфирные масла могут быть выбраны из эвкалиптового масла, масла розмарина, масла чайного дерева или ментола.

Согласно одному из вариантов осуществления, сухая композиция может быть впоследствии смешана с водой.

Полученный раствор или суспензия содержит хлорид натрия и/или хлорид калия в концентрации 0,4-2 % по массе, кверцетин в концентрации 0,00000001-0,03 % по массе и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон в концентрации 0,00000001 - 0,03% по массе.

В другом варианте сухая композиция может быть смешана с раствором, содержащим соль гидрокарбоната. Солью гидрокарбоната может быть гидрокарбонат натрия или гидрокарбонат калия вместе или в отдельности. Концентрация гидрокарбонатной соли может варьироваться до 0,5%, предпочтительно в пределах 0,1-0,5% по массе, более предпочтительно 0,25 - 0,5% по массе. Температура воды или раствора гидрокарбоната может быть между 30°C и 38°C. При этой температуре некоторые вещества, например кверцетин, может остаться в форме суспензии, другие вещества могут растворяться полностью.

Согласно одному из вариантов осуществления, воду можно вскипятить, а затем охладить до 37°C перед смешиванием.

Вода, используемая для приготовления жидкой композиции, может быть дистиллированной, деионизированной, очищенной и/или стерилизованной. Использование консервантов и других вспомогательных веществ в составе не исключено, тем не менее, возможно приготовления стерильных препаратов без консервантов. Это позволяет сохранить композиции в стерильных условиях и ограничить нежелательные эффекты за счет присутствия консервантов.

Предпочтительным может быть использование одноразовых пластиковых контейнеров или шприцев заполненных в асептических условиях.

В одном варианте композиция может быть представлена следующим образом:

Композиция состоит из двух частей:

- часть А: сухой порошок, содержащий хлорид натрия или хлорид калия, кверцетин и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон.
- часть Б: содержит 20 мл воды или раствора гидрокарбоната натрия или гидрокарбоната калия.

Внизу приведены примеры, иллюстрирующие изобретение и результаты эффективности изобретения при лечении синусита.

ПРИМЕРЫ.

Пример 1.

Экстракция из луковой шелухи.

Водная экстракция. 40 г измельченной луковой шелухи смешивают с 2 л холодной воды, нагревают до кипения и выдерживают в течение 30 мин при температуре кипения. Смесь охлаждают, фильтруют и лиофилизируют. Таким образом, получено 5,0 г сухого экстракта.

Экстракция спиртом. 200 г измельченной луковой шелухи смешивают с 6 л EtOH /H₂O (70/30; об./об.) и смешивают в течение 24 часов при комнатной температуре. Полученный экстракт фильтруют, затем выпаривают досуха. Таким образом, получено 25,5 г сухого экстракта.

Качественный и количественный анализ обоих экстрактов проводили с использованием метода ультра-эффективной жидкостной хроматографии UPLC-DAD-MS (Agilent technologies, США). Условия сепарирования: 1 мкл пробы вводили в колонку UPLC Agilent C18 (2,1 мм, 1,8 мкм) при

температуре 25°C. Растворитель А: H₂O/HCOOH 0,1% и Растворитель Б: ACN/HCOOH 0,1%. Скорость подвижной фазы: 0,4 мл/мин. Изолированные соединения анализировались сначала диодноматричным детектором, затем Масс-Спектрометром. Масс-спектрометрические анализы выполнены в отрицательном и положительном режиме.

Спектры LC-MS были получены в режиме "полного сканирования" по всей совокупности масс в диапазоне от 100 до 1400. Полученные данные были собраны и проанализированы с помощью программного обеспечения Hystar версии 3.0.

Результаты качественного и количественного анализа спиртовых и водных экстрактов, полученных из луковой шелухи, представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1. Качественные и количественные характеристики водного экстракта из луковой шелухи.

Время удержания (мин)	Mm (Da)	Соединение	Содержание (%)
6,7	302	Кверцетин	4,85±0,05
5,5	464	кверцетин-4'-гликозид	2,83±0,05
3,0	154	протокатехиновая кислота	7,22±0,17
4,1	626	дигликозид кверцетина	0,16±0,003
4,3	626	дигликозид кверцетина	0,2±0,01

Таблица 2. Качественная и количественная характеристика спиртового экстракта из луковой шелухи.

Время удержания (мин)	Mm (Da)	Соединение	Содержание (%)

3,0	154	Протокатехиновая кислота	2,72±0,08
4,1	626	дигликозид кверцетина	0,130±0,001
4,3	626	дигликозид кверцетина	0,262±0,001
5,5	464	кверцетин-4'-гликозид	2,58±0,04
6,5	454	кверцетин+протокатехиновая кислота	0,320±0,002
6,5	454	кверцетин+протокатехиновая кислота	0,241±0,003
6,7	302	кверцетин	6,08±0,31
6,9	764	кверцетин-кверцетин-гликозид	0,45±0,02
7,2	764	димер кверцетина+гликозид	0,57±0,02
7,8	602	димер кверцетина	1,28±0,04
8,2	902	тример кверцетина	0,52±0,02

Пример 2.

Выделение чистых соединений.

Неочищенный спиртовой экстракт разделяли препаративной ВЭЖХ.

Условия разделения: в колонку C18 Phenomenex (21,2 мм x 150 мм, 5 мкм, 100А) аппарата ВЭЖХ вводили от 50 до 200 мг сырого экстракта. Растворитель А: H₂O/TFA 0,5% (1л/5 мл); растворитель Б: ACN. Расход: 15 мл/мин.

Были выделены три основных соединения:

1. Протокатехиновая кислота (чистота 98,6%), 92,5 мг;
2. Кверцетин (чистота 98,9%) 295 мг;
3. Кверцетин-4'-гликозид (чистота 96,5%), 143 мг.

Способы приготовления композиций.

1.

40 мг кверцетина и 3 г NaCl смешивали со 150 мл кипятка. Затем раствор охлаждали, замораживали и лиофилизировали. Полученный порошок дозировали по 197,6 мг во флаконы в стерильных условиях.

2.

40 мг кверцетина смешивали со 150 мл кипятка. Затем раствор охлаждали, добавили 3 г NaCl и растворили. Полученный раствор замораживали и лиофилизировали. Полученный порошок дозировали по 197,6 мг во флаконы в стерильных условиях.

3.

50 мг кверцетина растворяли в 50 мл MeOH/H₂O (50/50: об./об.).

3,75 г NaCl растворяли в 150 мл H₂O, затем полученные растворы смешивали между собой при комнатной температуре, затем заморозили и лиофилизировали. Полученный порошок дозировали по 200 мг во флаконы в стерильных условиях.

4.

40 мг кверцетина смешивали с 3 г NaCl. Полученный порошок дозировали по 200 мг во флаконы в стерильных условиях.

Пример 3.

Приготовление растворителей.

Были приготовлены три различных растворителя:

1. 0,625 г NaCl растворяли в 250 мл дистиллированной воды. Полученный раствор стерилизовали фильтрованием через фильтр с размером пор 0,22 мкм и распределяли во флаконы в стерильных условиях.

2. 0,625 г NaHCO₃ растворяли в 250 мл дистиллированной воды. Полученный раствор стерилизовали фильтрованием через фильтр с размером пор 0,22 мкм и распределяли во флаконы в стерильных условиях.

3. Дистиллированную воду разливали во флаконы в стерильных условиях.

Состав.

На основании результатов экспериментов, описанных в примерах 1 и 2, исходные количества активных веществ экстрагированных из луковой шелухи в 20 мл жидкости (объем для однократного применения) определялись как:

экстракт луковой шелухи-10 мг/20 мл;

кверцетин-0,485 мг/20 мл;

кверцетин-4'-гликозид-0,283 мг/20 мл;

протокатехиновая кислота-0,722 мг/20 мл.

Различные фармацевтические композиции были разработаны с использованием воды, NaCl или NaCl+NaHCO₃ и активных веществ (экстракт луковой шелухи, кверцетин, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, кверцетин-4'-гликозид или протокатехиновая кислота).

Качественные и количественные характеристики кверцетина, используемого для теста были следующие:

кверцетин-98%;

2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон-0,5%;
кверцетин-4'-гликозид-0,1%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ, ПОКАЗЫВАЮЩИЕ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Лечение риносинусита.

Материалы и методы.

Дизайн исследования.

В эксперименте использовали 42 кроликов самцов породы шиншилла. Животные были разделены на семь групп, каждая из которых содержала по шесть кроликов. 1-я группа служила контролем (без лечения), вторая группа получала 0,9% раствор NaCl, а другим 5 группам вводились внутриназально экстракт луковой шелухи и выделенные из него чистые соединения.

Индукция риносинусита.

Риносинусит индуцировали введением 100 мкл 1% липополисахарида (ЛПС) в каждую носовую полость кроликов ежедневно в течение трех дней (Dong-Hyun Kim et al, 2011).

Композиции.

Были испытаны следующие концентрации композиций:

водный экстракт луковой шелухи-1 мг/мл;

смесь кверцетина-0,009 мг/мл и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона-0,001 мг/мл;

кверцетин-0,01 мг/мл

кверцетин-4'-гликозид-0,25 мг/мл;

протокатехиновая кислота-0,25 мг/мл.

Составы разводили в растворе 0,9-1% хлорида натрия или в растворе, содержащем 0,75% NaCl и 0,25% NaHCO₃, нагретых до 37°C перед введением. За исключением смеси кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, которая представляла собой суспензию, все составы представляли собой слегка опалесцирующие окрашенные растворы.

Схема лечения.

Растворы вводили интраназально по 2 мл в каждую носовую полость один раз в сутки в течение семи дней. Для достижения максимального контакта полости носа с исследуемыми веществами кроликов во время введения поддерживали в положении «головой вниз».

Пост-лечебные исследования.

На следующий день после введения последних доз испытуемых веществ животные подвергались эвтаназии путем передозировки общих анестетиков: Золетила (Virbac, Франция) и Рометара (Bioveta, Чехия).

Носовые полости животных подвергали визуальному осмотру сразу после эвтаназии.

После макроскопических исследований носовые части голов кроликов фиксировали в 10% формалине в течение 24 часов, затем декальцинировали в течение 14 дней в растворе соляной

кислоты/воды (25:1). Затем производили фронтальные срезы лицевого черепа кроликов на уровне задней поверхности резцов, резцовых сосочков, второго небного гребня и первого моляра. Затем ткани промывали водой в течение 12 часов и погружали в парафин, используя обычные методы. Из этих тканей были приготовлены гистологические срезы размером 3-5 мкм. С целью подсчета бокаловидных клеток и выявления в них гликозаминогликанов (кислых мукополисахаридов) срезы окрашивались альциановым синим при pH 2,5. Часть срезов докрашивали Гематоксилин-Эозином.

Морфологическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью оптического микроскопа CarlZeissAxioScopeA1 (Германия) при увеличении 25x, 50x, 100x, 200x и 400x. Микрофотографирование проводили при помощи цифровой фотокамеры AxioCam ICc1 и программного обеспечения AxioVision Rel.4.8 (Германия). Морфометрические измерения проводились с помощью AxioVision Rel.4.8 (Германия).

Бокаловидные клетки подсчитывали на протяжении 1мм респираторном отделе слизистой. Степень развития, тяжесть острого катарального риносинусита, острого гнойного риносинусита и развитие поствоспалительной гиперплазии бокаловидных клеток оценивали путем изучения степени воспалительных поражений в различных зонах: преддверие носа, респираторный отдел, обонятельный отдел и околоносовых пазухах.

Степень десквамации эпителия и повреждения слизистых желез оценивали по шкале от 0 до 3, определяемой следующим образом:

- 0-отсутствие повреждений;
- 1-слегка поврежден;
- 2-умеренно поврежден;
- 3-сильно поврежден.

Степень инфильтрации мононуклеарных и лейкоцитарных клеток оценивали по шкале от 0 до 3, где:

- 0- отсутствие мононуклеарных клеток в зоне исследования;
- 1- в зоне исследования присутствуют от 1 до 5 мононуклеарных клеток;
- 2- в зоне исследования присутствуют 6 до 10 мононуклеарных клеток;
- 3- в зоне исследования присутствуют более 10 мононуклеарных клеток.

Statistical analysis.

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на соответствие закону нормального распределения. Проверка на соответствие закону нормального распределения была проведена с помощью критерия Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение и стандартная ошибка среднего, которые вместе со значением n (количество наблюдений) представлены в итоговых таблицах. В случаях несоответствия данных закону нормального распределения была рассчитана медиана и квартильный размах. Межгрупповые различия были проанализированы параметрическими или непараметрическими методами, в зависимости от типа распределения. Для оценки данных с признаками нормального распределения был использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Для последующего межгруппового сравнения использовали апостериорный критерий Тьюки. Для описания данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, был использован непараметрический аналог дисперсионного анализа – критерий Краскела–

Уоллиса с последующим применением непараметрического метода Манна-Уитни для межгруппового сравнения. Различия были определены при 0,05 уровне значимости.

Статистический анализ выполнялся с помощью программного обеспечения Statistical10.0 (StatSoft Inc., США).

Результаты.

Результаты визуального осмотра.

Все группы кроликов имели одинаковые признаки ринита после первого введения ЛПС: чихание и почесывание носа, что соответствует первой стадии риносинусита. На третий день применения ЛПС появились заложенность носа и отек слизистой оболочки в видимых зонах полости носа. После первого введения испытуемых соединений наблюдались отек и серозные выделения из носа. На 9-е и 10-е сутки исследования в группах, получавших лечение, наблюдались редкие случаи (1 из 6) сухости полости носа и чихания без выделения.

Результаты гистологического исследования.

Слизистая оболочка преддверия носовой полости имела типичное гистологическое строение, была покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием, переходящим в однослойный респираторный эпителий.

Слизистая оболочка респираторного отдела была представлена однослойным многорядным мерцательным эпителием, собственной пластинкой и подслизистой основой из рыхлой соединительной ткани. Эпителий респираторного отдела был образован реснитчатыми эпителиоцитами, вставочными, камбиальными и бокаловидными клетками. Гистохимическое окрашивание альциановым синим выявило наличие гликозаминогликанов в большей части бокаловидных клеток, содержащих крупные слизистые вакуоли, что указывает на повышенную функциональную активность этих клеток. В собственной пластинке определялось большое количество трубчатых белково-слизистых желез. В области дорсальной носовой раковины и свода слизистая оболочка была покрыта обонятельным эпителием, образованным поддерживающими, обонятельными и базальными клетками.

В таблице 3 представлены морфометрические данные слизистой оболочки носа.

Таблица 3. Результаты подсчета количества бокаловидных клеток, $M \pm m$, $n=6$

Группы кроликов	Бокаловидные клетки		
	Соотношение Альциан+ клеток к общему количеству бокаловидных клеток, %	Количество бокаловидных клеток на 1 мм эпителия	Количество Альциан+ клеток на 1 мм эпителия
Контроль без лечения	71,4±3,48	40,2±4,00	28,8±3,57
Плацебо-контроль	45,7±9,66	34,0±3,46	16,0±4,04
Экстракт луковой шелухи	31,7±7,96*	49,4±3,11	16,8±5,30
Кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-	31,6±4,80*	52,4±3,18	17,1±3,38

тригидрокси-3(2H)-бензофуранон			
Кверцетин	47,2±12,33	43,0±6,46	21,3±6,49
Кверцетин-4'-гликозид	35,8±11,13	65,6±6,03*	21,8±6,78
Протокатехиновая кислота	35,0±9,01	44,0±6,76	16,3±5,82
Результаты статистического анализа ANOVA	F _{6,35} = 2,6 p<0,05	F _{6,35} = 4,2 p<0,05	F _{6,35} = 0,8 p=0,6

*- статистически значимое отличие от контроля, критерий Тьюки.

Первичные данные подчинялись закону нормального распределения. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим межгрупповым сравнением при помощи критерия Тьюки позволил выявить следующие отличия (таблица 3):

- снижение % соотношения Альциан положительных клеток к общему количеству бокаловидных клеток у кроликов после введения введения сырого экстракта луковой шелухи и кверцетина+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона по сравнению с контролем;
- увеличение количества бокаловидных клеток на 1 мм эпителия у животных после введения кверцетин-4'-гликозида по сравнению с контролем.

Таблица 4. Морфометрия и оценка воспаления (пр шкале 0-3); n=6.

Группы кроликов	Инфильтрация слизистой мононуклеарами	Инфильтрация слизистой лейкоцитами	Повреждения слизистых желез	Десквамация эпителия
Контроль без лечения	1,0(1,0;2,0)	2,0(1,0;2,0)	1,0(0,0;2,0)	1,0(1,0;1,0)
Плацебо-контроль	1,0(1,0;2,0)	2,0(1,0;2,0)	1,5(1,0;2,0)	1,5(1,0;2,0)
Экстракт луковой шелухи	1,0(1,0;1,0)	0,5(0,0;1,0)*	0,0(0,0;1,0)	0,0(0,0;1,0)
Кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон	1,0(1,0;1,0)	0,5(0,0;1,0)*	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)*
Кверцетин	1,0(1,0;1,0)	2,0(2,0;2,0)	0,5(0,0;2,0)	0,5(0,0;1,0)
Кверцетин-4'-гликозид	1,0(1,0;1,0)	1,0(1,0;2,0)	0,0(0,0;1,0)	0,0(0,0;0,0)*
Протокатехиновая кислота	1,0(1,0;1,0)	0,5(0,0;1,0)*	1,0(0,0;1,0)	0,0(0,0;1,0)
Результаты статистической обработки, критерий Kruskal-Wallis	H (6, N= 42) =6,8 p =0,3	H (6, N= 42) =15,7 p<0,05	H (6, N= 42) =10,1 p =0,1	H (6, N= 42) =16,8 p <0,05

* - статистически значимое отличие от контроля, p <0,05, критерий Манна-Уитни.

Таблица 5. Результаты исследования воспаления носа и околоносовых пазух у кроликов.

Группы кроликов	Тип воспаления			Степень воспаления в различных зонах		
	Пост-воспалительная гиперплазия бокаловидных клеток	острый катаральный риносинусит	острый гнойный риносинусит	Преддверие	Обонятельная область	Респираторный отдел
Контроль без лечения	1,0(0,0;1,0)	1,5(1,0;2,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	1,5(1,0;2,0)	1,5(1,0;2,0)
Плацебо-контроль	0,5(0,0;1,0)	2,0(1,0;2,0)	0,5(0,0;1,0)	0,0(0,0;0,0)	1,5(0,0;2,0)	2,0(1,0;2,0)
Экстракт луковой шелухи	1,0(1,0;2,0)	1,0(0,0;1,0)*	0,5(0,0;1,0)	0,0(0,0;0,0)	0,5(0,0;1,0)	1,0(0,0;1,0)*
Кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон	1,0(0,0;2,0)	0,5(0,0;1,0)*	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	1,0(1,0;1,0)
Кверцетин	0,0(0,0;0,0)	2,0(2,0;2,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	1,0(0,0;1,0)	2,0(2,0;2,0)
Кверцетин-4'-гликозид	1,0(1,0;2,0)	1,0(1,0;2,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	0,5(0,0;1,0)	1,0(1,0;1,0)
Протокатехиновая кислота	0,5(0,0;2,0)	1,0(0,0;1,0)	0,0(0,0;0,0)	0,0(0,0;0,0)	1,0(0,0;2,0)	1,0(1,0;1,0)
Результаты статистической обработки, критерий Kruskal-Wallis	H (6, N= 42) =10,5 p =0,1	H (6, N= 42) =15,5 p<0,05	H (6, N= 42) =17,0 p<0,05	H (6, N= 42) =2,2 p =0,9	H (6, N= 42) =6,9 p =0,3	H (6, N= 42) =18,3 p<0,05

* - статистически значимое отличие от контроля, $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни.

Непараметрический анализ степени патологического воспаления по шкале от 0 до 3 баллов с поочередным применением критериев Краскела – Уоллиса и Манна-Уитни показал следующие достоверные различия между группами:

- лейкоцитарная инфильтрация слизистых оболочек была ниже в группах, получавших сырой экстракт луковой шелухи, кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон или протокатехиновую кислоту, чем в контрольной группе;
- десквамация эпителия не наблюдалась в группах, получавших кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3 (2H)-бензофуранон или кверцетин-4'-гликозид;
- степень воспалительных поражений в респираторном отделе была достоверно ниже в группе, получавшей экстракт луковой шелухи;
- частота острого катарального риносинусита была ниже в группах, получавших кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон или экстракт луковой шелухи.
- значимых различий в проявлении острого гнойного риносинусита не обнаружено.

Контрольная группа. В контрольной группе макроскопических изменений не наблюдалось.

Микроскопические исследования показали, что введение ЛПС вызывало воспаление в респираторном отделе и в обонятельной области. В преддверии наблюдались отек и лейкоцитарная инфильтрация слизистых оболочек и подслизистого слоя. В респираторном отделе отмечалась десквамация эпителия и атрофия слизистых желез. При гистохимическом окрашивании альциановым синим, в респираторном эпителии была выявлена очаговая гиперплазия бокаловидных клеток с положительным окрашиванием. Морфометрическая оценка эпителия показала значительное увеличение количества бокаловидных клеток, содержащих глюкозамины и мукополисахариды, по отношению к общему количеству бокаловидных клеток. Также, в слизистой оболочке в подслизистом слое обнаруживалась умеренная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами. Определялись умеренные воспалительные изменения вомероназального органа. Таким образом, у кроликов с модельной патологией после введения индуктора, отмечалась микроскопическая картина острого катарального риносинусита (таблица 5).

У животных второй группы, получавших 0,9% раствор хлорида натрия, при визуальном наблюдении макроскопических изменений не наблюдалось.

Микроскопические исследования выявили некоторые признаки десквамации эпителия в респираторном и обонятельном отделах слизистой, умеренная и выраженная лейкоцитарная инфильтрация, наличие в просвете носовых ходов и синусовых полостей экссудативных масс с большим количеством нейтрофилов и клеточного детрита. Количество альциан-позитивных клеток на 1мм эпителия, а также количество бокаловидных клеток были ниже, чем у нелеченных животных в виду некротизации слизистой оболочки и воспалительных повреждений эпителия. В целом микроскопическая картина у животных данной группы соответствовала умеренно выраженному острому катаральному и катарально-гнойному воспалению.

Животные 3-й и 4-й групп, получавшие экстракт луковой шелухи и кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, при макроскопическом (визуальном) исследовании признаков болезни не проявляли.

Микроскопическое исследование выявило очень слабые признаки воспаления по сравнению с группой без лечения. Инфильтрация лимфоцитами слизистой оболочки в группе была слабо выраженной. В подслизистом слое лейкоцитарная инфильтрация практически полностью отсутствовала. Признаки десквамации эпителия отсутствовали. Отмечались репаративные изменения респираторного и обонятельного эпителия, а также признаки регенерации слизистых желез. У части животных отмечалась поствоспалительная гиперплазия бокаловидных клеток. Острый гнойный риносинусит не был найден в группе, получавшей кверцетин+ 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон.

При макроскопическом исследовании животных 5-й, 6-й и 7-й групп, получавших кверцетин, кверцетин-4'-гликозид и протокатехиновую кислоту, изменений не наблюдалось.

Микроскопические исследования выявили признаки воспалительного процесса, которые были более выражены, чем у животных, получавших сырой экстракт луковой шелухи и кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, но слабее, чем у нелеченных кроликов. В этих группах не наблюдалось признаков гнойного риносинусита.

Выводы.

Результаты гистологического исследования животных после лечения экстрактом луковой шелухи и выделенными из него соединениями показали, что экстракт луковой шелухи и кверцетин+ 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон показали лучший терапевтический эффект по сравнению с животными, не получавшими лечения или получавшими плацебо. Наилучший терапевтический эффект сырого экстракта луковой шелухи можно объяснить суммарным эффектом соединений, каждое из которых проявляет более или менее выраженную противовоспалительную активность и, вероятно, обладает потенцирующей способностью.

Неожиданно, смесь кверцетина и 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона показала лучший терапевтический эффект по сравнению с чистым кверцетином. Это можно объяснить двумя причинами. Во-первых, присутствие 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H) - бензофуранона в составе кверцетина может иметь синергический эффект. Во-вторых, кверцетин в виде суспензии может оказать более продолжительный эффект по сравнению с кверцетином в растворе.

Кверцетин-4'-гликозид (CGA) и протокатехиновая кислота проявили умеренную активность в отношении риносинусита.

Сопоставляя дозы каждого испытуемого вещества с достигнутым терапевтическим эффектом, мы пришли к выводу, что кверцетин+2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон обладают наилучшей активностью в отношении острого и хронического риносинусита.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

1. Композиция для полоскания полости носа и придаточных пазух носа для лечебного или профилактического лечения острого и/или хронического ринита, а также острого и/или хронического синусита, содержащая: хлорид натрия и/или хлорид калия; кверцетин и по меньшей мере один активный агент полифенольной группы, выбранный из соединений: кверцетин-4'-гликозид, 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранон, протокатехиновую кислоту; и где кверцетин находится в безводной форме с приблизительной молекулярной массой 302 г/моль, или в форме гидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 320 г/моль, или в форме дигидрата кверцетина с приблизительной молекулярной массой 338 г/моль.

2. Композиция для применения по п. 1, дополнительно включающая примеси, полученные из кверцетина, выбранного из: кверцетин-3'-гликозида, кверцетин-7'-гликозида, дигликозидов и тригликозидов кверцетина, димеров кверцетина в количестве, не превышающем 5% от общего количества активных веществ.

3. Сухая композиция для применения по п. 1, содержащая: 94-99,99 % по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,000001-3% по массе кверцетина, и 0,000001-3% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона.

4. Сухая композиция для применения по п. 1, содержащая 91-99,99% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,000001-3% по массе кверцетина, 0,000001-3% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и 0,000001-3% по массе кверцетин-4'-гликозида.

5. Сухая композиция для применения по п. 1, содержащая 91-99,77% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,23-3% по массе кверцетина, 0,000001-3% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и 0,000001-3% по массе протокатехиновой кислоты.

6. Сухая композиция для применения по п. 2, содержащая 86-99,77% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия и экстракта растений, содержащие флавоноиды: 0,23-3% по массе кверцетина, 0,000001-3% по массе кверцетин-4'-гликозида и 0,000001-3 % по массе протокатехиновой кислоты, а также примесей, производных из кверцетина в количестве до 5% от общей массы действующих веществ.

7. Сухая композиция для применения по п. 2, содержащая 83-99,77% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия и экстракта растений, содержащие флавоноиды: 0,23-3% по массе кверцетина, 0,000001-3% по массе кверцетин-4'-гликозида, 0,000001-3% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и 0,000001-3% по массе протокатехиновой кислоты, а также примесей, производных из кверцетина в количестве до 5% от общей массы действующих веществ.

8. Жидкая композиция на водной основе, содержащая сухую композицию по п. 3, где раствор или суспензия содержит 0,4-2% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,00000001 - 0,03% по массе кверцетина и 0,00000001 – 0,03% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона.
9. Жидкая композиция на водной основе, содержащая сухую композицию по п. 4, где раствор или суспензия содержит 0,4-2% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,00000001 - 0,03% по массе кверцетина, 0,00000001 – 0,03% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H) - бензофуранона и 0,00000001-0,03% по массе кверцетин-4'-гликозида.
10. Жидкая композиция на водной основе, содержащая сухую композицию по п. 5, в которой раствор или суспензия содержит 0,4-2% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,0023 - 0,03% по массе кверцетина, 0,00000001 - 0,03% по массе 2-(3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона и 0,00000001-0,03% по массе протокатехиновой кислоты.
11. Жидкая композиция на водной основе, содержащая сухую композицию по п. 6, в которой раствор или суспензия содержит 0,4-2% по массе хлорида натрия и/или хлорида калия, 0,0023 - 0,03% по массе кверцетина, 0,00000001 - 0,03% по массе кверцетин-4'-гликозида и 0,00000001 - 0,03% по массе протокатехиновой кислоты, а также примесей, производных из кверцетина до 0,5% по общей массе активных веществ.
12. Жидкая композиция на водной основе, содержащая сухую композицию по п. 7, в которой раствор или суспензия содержит 0,4-2 мас.% хлорида натрия и / или хлорида калия, 0,0023 - 0,03 мас.% кверцетина, 0,00000001 - 0,03 мас.% кверцетин - 4'-гликозида, 0,00000001-0,03 мас.% 2 — (3,4-дигидроксибензоил)-2,4,6-тригидрокси-3(2H)-бензофуранона, 0,00000001 - 0,03% по массе протокатехиновой кислоты и примесей, полученных из кверцетина, до 0,5% по общей массе активных веществ.
13. Жидкая композиция по любому из пп. 8-12, которая дополнительно содержит бикарбонат натрия или бикарбонат калия или смесь того и другого до 0,5% по массе.
14. Жидкая композиция по любому из пп. 8-13, которая дополнительно содержит один или более терапевтических ингредиентов, выбранных из антибиотиков, кортикостероидов и / или солей меди, марганца и серы, эфирных масел и вспомогательных веществ, выбранных из фармацевтических носителей, стабилизаторов, поверхностно-активных веществ, консервантов.
15. Способ применения жидких композиций по любому из пп. 8-13 для профилактики и лечения острого и хронического ринита и/или острого и хронического синусита.
16. Способ получения сухих композиций по любому из пп. 1-7, включающий:
- а). растворение активного агента(ов) и хлорида натрия или хлорида калия в воде нагретой до 80-100°C с последующим охлаждением, замораживанием и лиофилизацией;
- б). растворение активного агента(ов) в воде, нагретой до 80 - 100°C, затем после охлаждения в раствор добавляют хлорид натрия или хлорид калия, перемешивают, затем замораживают и лиофилизируют; или

с). активный агент(ы) растворяют в органическом растворителе, предпочтительно в этаноле или метаноле, разбавленном водой, при этом соотношение органический растворитель/вода составляет от 50/50 до 90/10, хлорид натрия или хлорид калия растворяют в воде, оба раствора смешивают при комнатной температуре, затем замораживают и лиофилизируют;

д). активный(е) агент(ы) в форме порошка смешивают с хлоридом натрия или хлоридом калия.

17. Способ получения сухих композиций по п. 16, характеризующийся тем, что активные вещества получают из экстракта, который готовят с использованием измельченной луковой шелухи, которую смешивают с холодной водой в пропорции 0,1-2 г / 50 мл; доводят до кипения и кипятят в течение 30 мин при температуре кипения, после чего жидкость охлаждают, фильтруют и лиофилизируют.