УКРАЇНА

(19) UA (11) 141184 (13) U

(51) МПК (2020.01)
A61K 36/00
A61P 13/00
A61P 7/10 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2019 09322**

(22) Дата подання заявки: **15.08.2019**

(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: **25.03.2020**

(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.03.2020, Бюл.№ 6**

(72) Винахідник(и):
Чайка Наталя Борисівна (UA),
Кошовий Олег Миколайович (UA),
Кіреєв Ігор Володимирович (UA),
Ільїна Тетяна Василівна (UA),
Бородіна Наталія Валеріївна (UA)

(73) Власник(и):
Кошовий Олег Миколайович,
вул. Амосова, 52, кв. 34, м. Харків, 61176 (UA)

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОГО ЗАСОБУ З ДІУРЕТИЧНОЮ ТА ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ ДІЄЮ З ЛИСТЯ МУЧНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ З ВАЛІНОМ

(57) Реферат:

Спосіб одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією включає екстракцію рослинної сировини, фільтрацію, упарювання, очищення та сушку. Як рослинну сировину використовують листя мучниці звичайної. Екстракцію проводять двократно 40-60 % розчином спирту етилового у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5-1:10 та додають валін у 2-4-х кратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук.

UA 141184 U

Корисна модель належить до фармації та медицини, а саме до способів одержання біологічно активних речовин з природної сировини, зокрема до способів одержання лікувально-профілактичних засобів діуретичної дії з листя мучниці звичайної з додаванням валіну, що впливають на діурез при лікуванні захворювань, пов'язаних з порушеннями роботи сечовивідної системи.

Листя мучниці звичайної - одна з найбільш широко використовуваних лікарських рослин діуретичної та уроантисептичної дії. Галенові засобі або суха сировина входить до складу багатьох лікарських препаратів та функціональних добавок. Одним із найпоширеніших лікарських засобів на основі цієї лікарської рослини є відвар листя мучниці, при цьому на ринку України немає жодного стандартизованого вітчизняного галенового або новогаленового лікарського засобу на основі цієї сировини [1].

Спосіб одержання відвару з листя мучниці є загальновідомим [1, 2]. Проте, недоліком цієї лікарської форми є непостійність хімічного складу, і як наслідок, фармакодинаміки, нетривалість зберігання, відсутність стандартизації та тривалість приготування.

Відомий спосіб одержання лікувально-профілактичного гіпоглікемічного засобу з листя брусниці, який прийнятий за прототип [3]. Спосіб одержання засобу з гіпоглікемічною та гіполіпідемічною дією включає екстракцію рослинної сировини 40-60 % розчином спирту етилового, фільтрацію, упарювання, очищення та сушки. Як рослинну сировину використовують листя брусниці звичайної, екстракцію проводять трьохкратно 40-60 % розчином спирту етилового у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:6-1:10, очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації, після чого у процесі сушки екстракт змішують з аргініном у 2-4-х кратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук. Недоліками цього способу є використання нефармакопейної сировини листя брусниці.

Задачею корисної моделі є одержання лікувально-профілактичного засобу з діуретичною дією шляхом екстракції листя мучниці звичайної та додавання амінокислот.

Поставлена задача вирішується тим, що в способі одержання засобу з діуретичною дією, що включає екстракцію рослинної сировини 40-60 % розчином спирту етилового, фільтрацію, упарювання, очищення та сушку, згідно з корисною моделлю, як рослинну сировину використовують листя мучниці звичайної, екстракцію проводять двократно 40-60 % розчином спирту етилового у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5-1:10, очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації, після чого до екстракту додають амінокислоту валін у 2-4-х кратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук та сушать любим доступним способом до сухого екстракту.

В одержаному сухому екстракті з листя мучниці звичайної міститься не менше 15 % суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту та не менше 5 % гідрохінонпохідних у перерахунку на арбутин.

Вибір листя мучниці звичайної, як сировини для одержання заявленого засобу, обумовлений значним вмістом у ньому фенольних сполук та достатньою вітчизняною сировинною базою [4].

Експериментальним шляхом встановлено, що ефективним при здійсненні заявленого способу є використання співвідношення сировини до екстрагенту як 1:5-1:10. При цьому, якщо співвідношення менше 1:5, не забезпечується достатня екстракція БАР, що приводить до зниження фармакологічної активності та виходу цільового продукту. Навпаки, якщо співвідношення більше 1:10, це веде до ускладнення та подовження технологічного процесу, часу упарювання та підвищення енерговитрат. Встановлене оптимальне співвідношення 1:5-1:10, при якому забезпечується максимальна екстракція БАР, час упарювання мінімальний та дозволяє отримувати екстракт на стандартному обладнанні без додаткового перезавантаження первинної сировини.

Експериментально встановлено, що етанол у концентраціях від 40 до 60 % є оптимальним екстрагентом для вилучення основних груп БАР з листя мучниці звичайної.

Вибір валіну зумовлений тим, що утворення комплексів фенольних сполук з амінокислотами підвищує їх розчинність, покращує біодоступність та впливає на загальний фармакологічний ефект. Крім цього, експериментальним шляхом доведено, що саме комплекс БАР мучниці звичайної з валіном має найбільший діуретичний ефект.

Корисна модель пояснюється прикладами.

Приклад 1.

100 г листя мучниці звичайної, подрібненого до розміру часток 2-3 мм, поміщали в колбу, заливали 500 мл 50 % розчином спирту етилового, екстрагували протягом доби при кімнатній

температурі. Екстракцію повторювали ще раз з новою порцією екстрагенту (500,0 мл). Одержані витяги об'єднували, відстоювали протягом доби, відфільтровували та стерилізували. До 400 мл фільтрату додавали 1,053 г амінокислоти валіну та настоювали розчин протягом доби. Фільтрат упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата до сухого екстракту. Вихід сухого екстракту становить - 15,9 %.

Приклад 2.

Серед рослинних діуретиків особливе місце займають арбутиновмісні рослини, такі як мучниця, брусниця, грушанка тощо. Окрім сечогінного ефекту, арбутиновмісна лікарська рослинна сировина має протизапальну, антибактеріальну та антиоксидантну дії. Відомо, що екстракти з листя мучниці звичайної за рахунок вмісту в них гідрохінону мають діуретичну активність [4, 5]. Але доцільно довести експериментальним шляхом, що саме комплекси з амінокислотами, а саме з валіном, потенціюють діуретичну дію.

Визначення діуретичної активності проводили за методом Е.Б. Берхіна [6] на безпородних щурах масою 150-220 г., які утримувались в стандартних умовах на звичайному раціоні при вільному доступі до води та їжі. Тварини були розділені на три групи по 5 щурів в кожній. Діуретичну дію екстрактів оцінювали за кількістю виділеної сечі через 2 та 4 години від початку експерименту. До початку експерименту тварин витримували протягом 2 годин без їжі з вільним доступом до води. Досліджувані екстракти вводили перорально у вигляді водних розчинів у дозі 25, 50, 75 та 100 мг/кг за 60 хвилин до початку експерименту. Дослідження проводили з водним навантаженням - 3 % від маси тіла тварини. Контролем виступали щурі, які отримували відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Отримані в ході дослідження результати представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Діуретична активність екстрактів мучниці звичайної

Комплекс	Доза, мг/кг	Діурез через…			
		2 години		4 години	
		(M ± m) мл	в % до контролю	(M ± m) в мл	в%к контролю
Контроль		0,90±0,14	100	1,74±0,25	100
Екстракт мучниці з валіном	25	1,34±0,21*	149	1,88±0,13	108
	50	1,30±0,10*	144	1,88±0,13	108
	75	1,50±0,10*	167	2,08±0,15*	120
	100	1,80±0,16*	200	2,44±0,17*	140
Відвар листя мучниці	25	1,00±0,16	111	1,30±0,10*	75
	50	1,24±0,11*	138	1,50±0,12	86
	75	1,24±0,17*	138	1,58±0,11	91
	100	1,22±0,13*	136	1,58±0,25	91

*- $p \leq 0,05$ по відношенню до контрольних тварин;

Статистичну обробку даних проводили з використанням параметричних методів статистики за t- критерієм Стьюдента. Рівень статистичної значущості відмінностей результатів досліджень - $p<0,05$.

Догляд за тваринами відповідав положенням Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальною і іншими науковими цілями (Страсбург, 1986).

Як видно з отриманих результатів дослідження, комплекс БАР мучниці звичайної з валіном призводив до збільшення кількості виділеної сечі через 2 години від початку експерименту в порівнянні з показником у групі контрольних тварин. Діурез дослідних тварин, які отримували водний розчини комплексу екстракту мучниці звичайної з валіном в дозі 100 мг/кг, через 2 та 4 години був більшим на 100 та 40 % відповідно в порівнянні з групою контрольних щурів та на 48 та 54 % відповідно в порівнянні з тваринами, які отримували відвар листя мучниці.

Приклад 3.

Визначення протизапальної активності одержаних екстрактів проводили згідно з методичними рекомендаціями дослідження лікарських засобів за редакцією Стефанова О. В. [7] на білих щурах масою 180-220 г.

Досліджувані екстракти вводили перорально у вигляді водних розчинів в дозах 25, 50, 75 та 100 мг/кг за 60 хвилин до початку експерименту. Контролем виступали тварини, яким вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Препаратом-порівняння був диклофенак натрію в ефективній дозі 8 мг/кг.

Гостре асептичне запалення відтворювали введенням 1 % -ного розчину карагеніну, який вводили щурам субплантарно в об'ємі 0,1 мл на тварину через 1 годину після введення досліджуваних препаратів. Вимірювання величини набряку лап у щурів при гострому ексудативному запаленні проводили за допомогою механічного онкометра за А.С. Захаревським у динаміці при карагеніновому набряку - через 1, 2, 3, 4 години. Антиексудативну активність досліджуваних екстрактів визначали за здатністю зменшувати розвиток набряку у порівнянні з групою контрольної патології, яку розраховували та виражали у відсотках.

Результати вивчення протизапальної активності екстрактів з листя мучниці звичайної наведені на кресленні, де зображена протизапальна активність комплексу екстракту мучниці звичайної з валіном.

У комплексі екстракту мучниці звичайної з валіном в усіх досліджуваних дозах через 4 години від початку розвитку запальної реакції у лабораторних щурів набряк лапок зменшувався, протизапальна активність в дозах 25, 50, 75 та 100 мг/кг становила 40, 61, 65 та 70 % відповідно в порівнянні з групою контрольних тварин.

Приклад 4.

Вивчення антибактеріальної активності комплексів мучниці звичайної з амінокислотами проводили методом дифузії в агар у лабораторії біохімії мікроорганізмів та живильних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова під керівництвом к.біол.н. Осолодченко Т.П. Згідно з рекомендацією ВООЗ для оцінки активності препаратів використовували референт - штами Staphylococcus aureus 25923 ATCC, Escherichia coli ATCC 25922, Proteus vulgaris ATCC 4636, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853, Basillus subtilis ATCC 6633 і Candida albicans 653/885 ATCC. Для дослідження використовували 1 % розчини екстрактів, розчинником служив фізіологічний розчин. Результати досліджень наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Антибактеріальна активність екстрактів мучниці звичайної

Досліджу - ваний комплекс	Діаметри зон затримки росту в мм (кількість повторів досліду n=3)					
	Staphylococcus aureus ATCC 25923	Escherichia coli ATCC 25922	Proteus vulgaris ATCC 4636	Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Basillus subtilis ATCC 6633	Candida albicans ATCC 653/885
Екстракт мучниці з валіном	22,0±1,0	20,0±1,0	23,7±0,6	24,0±1,0	20,0±1,0	22,3±0,6
Відвар листя мучниці	21,0±1,0	20,0±1,0	22,0±1,0	22,0±1,0	20,0±1,0	23,0±1,0

З таблиці видно, що комплекс екстракту з листя мучниці звичайної та валіну виявив активність по відношенню до Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Basillus subtilis та Candida albicans на рівні з відваром з листя мучниці звичайної.

Таким чином, заявлено новий спосіб одержання засобу з діуретичною, протизапальною та антимікробною активністю на основі екстракту з листя мучниці звичайної з валіном, який відзначається рядом переваг:

1) простота виконання та можливість здійснення на стандартному обладнанні у промислових умовах України;

2) використання як екстрагенту розчину етанолу, тобто спосіб доступний, екологічно безпечний, дешевий, такий що не вимагає роботи з отруйними та шкідливими для здоров'я людини реактивами;

3) використання як сировини листя мучниці звичайної, яка має достатню сировинну базу на території України;

4) наявність вираженої діуретичної та протизапальної активності екстракту з листя мучниці звичайної, одержаного за заявленим способом;

5) наявність антимікробної активності екстракту з листя мучниці звичайної, одержаного за заявленим способом;

6) перспективність використання одержаного екстракту як лікарської субстанції для одержання різних лікарських форм та тривалий термін зберігання засобу, одержаного заявленим способом.

7) не токсичність екстракту, одержаного за заявленим способом, дозволяє використовувати його довгостроково при лікуванні за рекомендацією лікаря.

Джерела інформації:

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский. - М.: ООО "Изд-во Новая Волна", 2010. - 1216 с.

2. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". - 2-е вид. - Х.: Державне підприємство "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2015. - Т. 1. - 1128 с.\

3. Патент України на винахід № 111133, МПК А61К 36/45, А61К 31/195, А61Р 3/10. Спосіб одержання лікарського засобу з гіпоглікемічною та гіполіпідемічною дією з листя брусниці звичайної / Кошовий О.М., Загайко А.Л., Комісаренко М.А., Войтенко О.І. Ковальова А.М. (Україна). - № а 2015 06453; заявл. 30.06.2015; опубл. 25.03.2016, Бюл. №. 6-3 с.

4. Толокнянка обыкновенная Arctostaphylos uva-ursi (L.) Spreng.: аналит. обзор / Р.В. Куцик, Б.М. Зузук, А.Т. Недоступ, Т. Пецко // Провизор. - № 18. - 2003. - С. 27-31.

5. Волобой Н.Л. Особенности мочегонной активности арбутина и гидрохинона / Волобой Н.Л., Смирнов И.В., Бондарев А.А. / Сибирский медицинский журнал, 2012. - Т. 27. № 3. - С. 131-134.

6. Берхин Е.Б. Методы изучения действия новых химических соединений на функцию почек / Е.Б. Берхин // Хим.-фармац. ж. - 1977. - Т. 11, № 5. - С. 3-11.

7. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації). За ред. Стефанова О.В. - К.: Авіцена, 2001 р., - 528 с.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб одержання засобу з діуретичною та протизапальною дією, що включає екстракцію рослинної сировини, фільтрацію, упарювання, очищення та сушку, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя мучниці звичайної, екстракцію проводять двократно 40-60 % розчином спирту етилового у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:5-1:10 та додають валін у 2-4-х кратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук.

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601