



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 112033

(13) C2

(51) МПК

A61K 36/45 (2006.01)

A61K 31/05 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2015 06465

(22) Дата подання заявки: 30.06.2015

(24) Дата, з якої є чинними
права на винахід: 11.07.2016

(41) Публікація відомостей
про заявку: 12.10.2015, Бюл.№ 19

(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: 11.07.2016, Бюл.№ 13

(72) Винахідник(и):

Кошовий Олег Миколайович (UA),
Загайко Андрій Леонідович (UA),
Количев Ілля Олександрович (UA),
Рубан Олена Анатоліївна (UA),
Колісник Тетяна Євгеніївна (UA)

(73) Власник(и):

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ,

вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002 (UA)

(56) Перелік документів, взятих до уваги
експертизою:

UA 89735 U, 25.04.2014

UA 84336 C2, 10.10.2008

UA 89067 U, 10.04.2014

Количев І. О., Краснікова Т. О., Кошовий О.
М. Вибір оптимального екстрагенту для
створення нового лікарського засобу з
листя чорниці звичайної //Збірник наукових
праць співробітників НМАПО ім. П.Л.

Шупика. - 2014. - № 23 (4). - С. 287-291

Гарна С.В., Ветров П.П., Русинов О.І.,

Георгіянц В. А. Оптимізація технології

екстракції ліпофільних комплексів з

лікарської рослинної сировини. 1. Вибір

екстрагенту //Запорожский медицинский

журнал. - 2010. - Т. 12. - № 3. - С. 92-94

Конечна Р. Т. Фітозасоби лікуванні

цукрового діабету / Р. Т. Конечна, В. П.

Новіков // Вісник Національного

університету "Львівська політехніка". - 2008.

- № 622 : Хімія, технологія речовин та їх

застосування. - С. 64-69

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ГІПОГЛІКЕМІЧНОЮ ДІЄЮ З ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ ЗВИЧАЙНОЇ

(57) Реферат:

Винахід стосується способу одержання засобу з гіпоглікемічною дією, що включає екстракцію рослинної сировини 50 % розчином спирту етилового, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння. Використовують листя чорниці звичайної як рослинну сировину, екстракцію проводять трикратно у співвідношенні сировини і екстрагенту 1:10, очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації, та додають в процесі сушіння інозитол у трикратній еквімолярній кількості відносно загальної суми фенольних сполук.

UA 112033 C2

Винахід належить до фармації та медицини, а саме до способів одержання біологічно активних речовин з природної сировини, зокрема до способів одержання лікарських засобів гіпоглікемічної дії з листя чорниці звичайної з інозитолом, що впливають на вміст глюкози у крові при лікуванні захворювань, пов'язаних з порушенням обмінних процесів, таких як цукровий

5

діабет.

Цукровий діабет - глобальна медико-соціальна проблема. У розвинутих країнах світу цукровим діабетом хворіє від 5 до 12 % населення і за прогнозами рівень цього захворювання може збільшитися до 30-35 %. Крім гострих проявів цукрового діабету - гіперглікемії та кетонемії, тяжкими ускладненнями є ангіопатії, нефропатії, ретинопатії, нейропатії та синдром діабетичної стопи.

10

У народній та науковій медицині в терапії цукрового діабету використовують природні джерела інсуліну: бульби топінамбура, жоржини, корені цикорію, оману, кульбаби тощо. Як цукрознижуючі засоби використовують лушпиння квасолі, пагони та листя чорниці, галегу тощо. Ці лікарські рослини зустрічаються у різних комбінаціях лікарських зборів, дієтичних та харчових

15

добавках. Достатньо низька токсичність більшості таких лікарських засобів рослинного походження є незручністю при використанні збору хворими, що пов'язана з приготуванням відвару, відсутність стандартизації кінцевої лікарської форми тощо.

20

Сьогодні є нагальна потреба у розробці високоефективного способу одержання біологічно активної композиції з більш високим цукрознижуючим ефектом з стандартизованої сировини та з подальшою стандартизацією кінцевої лікарської форми.

Найближчим за схожістю суттєвих ознак та результатом, що досягається при їх використанні, є спосіб одержання лікувально-профілактичного гіпоглікемічного засобу з листя кизилу [1]. Зазначений спосіб полягає у послідовній екстракції 50 % етанолом, а потім водою очищеною листя кизилу, подрібненого до розміру часток 1,0-2,0 мм, з додатковим очищення водної витяжки і подальшим об'єднанням екстрактів і упарюванням досуха. Одержаний спиртово-водний екстракт являє собою сухий порошок світло-коричневого кольору зі слабким специфічним запахом.

25

Недоліками цього способу є використання нефармакопейної, нестандартизованої сировини. Оскільки засіб не стерилізують, то при зберіганні та використанні можуть виникати проблеми з мікробною забрудненістю лікарського засобу.

30

Задачею винаходу є розробка високоефективного способу одержання біологічно активної композиції з високим цукрознижуючим ефектом.

Поставлена задача вирішується таким чином, що спосіб одержання засобу з гіпоглікемічною дією включає екстракцію рослинної сировини 50 % розчином спирту етилового, фільтрацію, упарювання, очищення та сушки. Винаходом передбачено, що як рослинну сировину використовують листя чорниці звичайної, екстракцію проводять трьохкратно 50 % розчином спирту етилового у співвідношенні сировини до екстрагенту 1:10, очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадкової рідини, яку піддають стерилізації, після чого у процесі сушки екстракт змішують з інозитолом у трьохкратній еквімолярній кількості по відношенню до загальної суми фенольних сполук.

40

В одержаному сухому екстракті з листя чорниці звичайної міститься не менше 20 % суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту, не менше 13 % гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту та не менше 1 % флавоноїдів у перерахунку на рутин [2, 3, 4].

45

Вибір листя чорниці звичайної, як сировини для одержання заявленого засобу, обумовлений значним вмістом у ньому фенольних сполук (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин). Чорниця звичайна має достатню сировинну базу, вона широко розповсюджена в лісових фітоценозах Карпат та територій Північної України.

Вибір екстрагенту для одержання екстракту здійснювали експериментальним шляхом [2]. Саме 50 % етанолом забезпечується оптимальна екстракція комплексу фенольних сполук з сировини, які й відповідають за гіпоглікемічну дію. Шляхом експериментів визначили також оптимальне співвідношення сировини і екстрагентів, яке для заявленого засобу становить 1:10 (із урахуванням коефіцієнта поглинання екстрагенту). Дане співвідношення є необхідним і достатнім для одержання засобу з гіпоглікемічною дією. Наведене співвідношення є оптимальним і у технологічному плані з точки зору одержання заявленого засобу у промислових умовах та раціонального використання спирту.

50

Оскільки одержаний екстракт є досить гігроскопічним, то додавання інозитолу покращує технологічні характеристики екстракту. При цьому на відміну від інших цукрів він не підвищує рівень глюкози у крові при застосуванні екстрактів з його додаванням.

55

Винахід ілюструється прикладами:

Приклад 1

500 г листя чорниці звичайної, подрібненого до розміру часток 1-2 мм, поміщали в колбу, заливали трьома літрами 50 % розчином спирту етилового, екстрагували протягом доби при кімнатній температурі. Екстракцію повторювали тричі з новими порціями екстрагенту (1,0 л). Одержані витяжки об'єднували, відстоювали протягом доби, відфільтровували та стерилізували. Фільтрат упарювали за допомогою ротаційного вакуум-випарного апарата до сухого екстракту з додаванням інозиту у трикратній еквімолярній кількості відносно загальної суми фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту. Вихід сухого екстракту становить - 17-20 %.

Приклад 2

Гіпоглікемічну активність сухого екстракту з листя чорниці звичайної з додаванням ізотину вивчали на 18-місячних самцях щурів лінії Wistar. Інсулінорезистентність моделювали утриманням тварин на дієті, збагаченої фруктозою (60,3 % фруктози, 18,3 % білка, 5,2 % жирів) [6]. Піддослідні тварини були розділені на чотири групи: 1) інтактні тварини, які утримувалися на стандартному раціоні віварію НФаУ; 2) тварини, які утримувалися шість тижнів на фруктозній дієті; 3) тварини, які утримувалися чотири тижні на фруктозній дієті та додатково два тижні на даній дієті з щоденним введенням сухого екстракту з листя чорниці в дозі 2,5 мг на 100 г маси тіла; 4) тварини, які утримувалися 4 тижні на фруктозній дієті і ще 2 тижні на даній дієті з щоденним введенням сухого екстракту з листя чорниці з додаванням інозиту в дозі 2,5 мг на 100 г маси тіла; 5) тварини, які утримувалися 4 тижні на фруктозній дієті і ще 2 тижні на даній дієті з щоденним введенням сухого екстракту з листя чорниці з додаванням інозиту в дозі 2,5 мг на 100 г маси тіла.

Тварин декапітували під хлоразоло-уретановим наркозом. Об'єктами дослідження була сироватка крові. При виконанні експериментів дотримувалися "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах" (Україна, 2001), гармонізованих з "Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985).

Вміст глюкози, інсуліну і триацилгліцеролів (ТАГ) визначали з використанням стандартних наборів фірми "Фелісіт-Діагностика" (Україна) та фірми "Lachema" (Чехія). Концентрації α -холестеролу (α -ХС) і β -холестеролу (β -ХС) визначали за допомогою стандартних ферментативних холестеролоксидазних наборів фірми Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (Німеччина), попередньо розділивши фракції ліпопротеїнів турбідиметричним методом [7]. Вміст аргініну та цитруліну визначали фотометричними методами з використанням стандартних наборів реактивів. Для оцінки рівня ендogenous NO визначали вміст нітритів і нітратів спектрофотометрично за допомогою реактиву Грісса.

Результати представлені в табл. 1.

Таблиця 1

Гіпоглікемічна активність досліджуваних екстрактів на тлі високофруктозної дієти ($M \pm m$, $n=6$)

	Інтакт	Дієта	Дієта+чорниця	Дієта+чорниця +інозитол
Глюкоза, ммоль/л	4,6 \pm 0,1	13,6 \pm 0,2*	9,3 \pm 0,3*#	8,2 \pm 0,1*#
Інсулін, пг/мл	1265 \pm 28	2875 \pm 46*	2335 \pm 38*#	2124 \pm 27*#
Триацил-гліцерини, ммоль/л	0,87 \pm 0,04	2,36 \pm 0,07*	1,98 \pm 0,10*#	1,73 \pm 0,06*#
α -ХС, ммоль/л	1,25 \pm 0,03	0,72 \pm 0,04*	0,99 \pm 0,08*#	0,92 \pm 0,08*#
β -хс, ммоль/л	2,63 \pm 0,05	3,64 \pm 0,07	3,48 \pm 0,04*#	3,29 \pm 0,04*#

* - відхилення достовірно відносно інтакту ($p \leq 0,05$),

- відхилення достовірно відносно "Дієти" ($p \leq 0,05$)

Аналіз наведених в таблиці 1 результатів дослідів свідчить, що утримання щурів на збагаченій фруктозній дієті викликає майже трикратне збільшення рівня глюкози в сироватці крові. В цей же час спостерігається гіперінсулінемія, що при одночасній гіперглікемії свідчить про нечутливості клітин до інсуліну, тобто про розвиток інсулінорезистентності. Зростання концентрації ТАГ, що спостерігається через 6 тижнів експерименту, є наслідком мобілізації жиру з жирової тканини і посилення ендogenous синтезу ТАГ і ліпопротеїнів дуже низької щільності печінкою через ослаблення інгібуючої дії інсуліну на ліполіз.

Встановлено, що введення сухого екстракту листя чорниці звичайної з інозитолом, проявляє нормалізуючу дію на метаболічні порушення при високофруктозній дієті. Встановлені ефекти обумовлені гіпоглікемічними властивостями компонентів.

Таким чином, наведені переваги екстракту листя чорниці звичайної з інозитолом під час експериментальних досліджень підтверджують перспективність впровадження його в фармацевтичну промисловість, що дозволить розширити номенклатуру лікарських засобів рослинного походження з гіпоглікемічною дією.

Джерела інформації:

1. Пат. На корисну модель № 89735 Україна, МПК А61К 36/40, А61К 3/10. Лікувально-профілактичний засіб із гіпоглікемічною дією з листя кизилу / В.А. Рибак, Л.М. Малоштан, О.В. Криворучко, В.М. Ковальов. – № u201314662; Заявл. 16.12.2013; Опубл. 25.04.2014, Бюл. №8. – 4 с.
2. Количев І.О. Вибір оптимального екстрагенту для створення нового лікарського засобу з листя чорниці звичайної /І.О. Количев, Т.О. Краснікова, О.М. Кошовий //Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П.Л. Шупика. - 552014. - № 4. - С. 287-291.
3. Дослідження фенольних сполук листя евкаліпта /О.М. Кошовий, А.М. Комісаренко, А.М. Ковальова, Л.М. Малоштан, І.М. Мудрик //Фармаком. - 2005. - № 2/3. - С. 151-161.
4. Флавоноиды: Биохимия, биофизика, медицина /Ю.С. Тараховский, Ю.А. Ким, Б.С. Абдрасилов, Е.Н. Музафаров. - Пушино. - 2013. - 310 с.
5. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue /M. Altas, A. Var, K. Ozbilgin et al. //Dicle University Med School. - 2010. - V. 37, № 3. - P. 193-198.
6. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії: Монографія /А.Л. Загайко, Л.М. Вороніна, К.В. Стрельченко. - Х.: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки, 2007. - 216 с.
7. Кейтс М. Техника липидологии. - 1975. - М.: Мир. - 322 с.

ФОРМУЛА ВІНАХОДУ

- Спосіб одержання засобу з гіпоглікемічною дією, що включає екстракцію рослинної сировини 50 % розчином спирту етилового, фільтрацію, упарювання, очищення та сушіння, який **відрізняється** тим, що як рослинну сировину використовують листя чорниці звичайної, екстракцію проводять трикратно у співвідношенні сировини і екстрагенту 1:10, очищення проводять шляхом відстоювання та відокремлення надосадової рідини, яку піддають стерилізації, та додають в процесі сушіння інозитол у трикратній еквімолярній кількості відносно загальної суми фенольних сполук.

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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