

Корисна модель відноситься до медицини, а саме до проблеми використання адаптогенів з метою профілактики захворювань.

Як відомо, адаптогени - це речовини, які підвищують резистентність організму і цим самим запобігають захворюванням [Меерсон Ф.З. Адаптогенная медицина: механизм и защитные эффекты адаптации - М. -1993].

Для визначення адаптогенів існують різноманітні способи: біологічні, цитологічні, мікробіологічні, хроматографічні. Біологічні методи [Макаров В.Г. и др. Экспериментально-клиническое изучение гастропротекторного и холеретических эффектов фитопрепарата «Эликсир Демидовский» // Вопросы биол. мед. и фармацевт. химии.- 1998. - № 2. - С. 38 - 41; Потапович А.И., Костюк В.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цито-протекторной активности флавоноидов // Биохимия. - 2003. - Т.68, вып. 5. -С. 632 - 638; Горювая А.И., Климкина И.И. использование цитологического тестирования для оценки экологической ситуации и эффективности оздоровления детей и взрослых природными адаптогенами // Довідки та здоров'я. - 2005. - № 4. - С. 28 - 31] полягають в тому, що визначення адаптогенів здійснюється в експериментах на тваринах, у яких відтворюють ту чи іншу патологію. В цьому разі результат біологічної дії адаптогену визначають за змінами в показниках стану здоров'я (нездоров'я). Недоліки цих методів полягають в тому, що дослідження вимагає досить тривалого часу, воно напівкількісне і треба використовувати велику кількість препарату.

В цитологічних методах [Потапович А.И., Костюк В.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов // Биохимия. - 2003. - Т.68, вып. 5. - С. 632 - 638] використовують культури клітин і тканини, що потребує спеціального обладнання і підготовлених кадрів.

Мікробіологічні методи [Бочарова О.А. и др. Способ биологического контроля комплексного фитоадаптогена // БЭБИМ - 2003. - т. 136. №12 - С. 694 - 696] вимагають спеціально обладнаних приміщень, підготовлених кадрів і також дають напівкількісне визначення.

Існує велика кількість хроматографічних методів з використанням тонкого шару сорбентів, іонообмінної хроматографії, ВЕРХ, НРЛС та інші [Лобанова А.А. и др. Исследование биологически-активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Химия раст. сырья. - 2004. - № 1. - С. 47 - 52]. Як правило, ці методи мають наступні недоліки: вони специфічні по відношенню до хімічної будови адаптогену і тому для різних адаптогенів треба підбирати спеціальні умови і методи. Окрім того, хроматографічні методи вимагають багатовартісного обладнання і високої кваліфікації лаборантів.

Найближчим аналогом запропонованого методу є визначення адаптогенів за їх здатністю пригнічувати вільне радикальне окиснення ліпідів мікосомальними ферментами [Потапович А.И., Костюк В.А. Сравнительное исследование антиоксидантных свойств и цитопротекторной активности флавоноидов // Биохимия. - 2003. - Т.68, вып. 5. - С. 632 - 638]. В цьому методі попередньо виділяли за допомогою ультрацентрифугування мікосомальну фракцію з печінки щурів. Наступна інкубація мікосом з НАДФН⁺ або з CCl₄ викликала утворення МДА, який визначали за допомогою тіобарбітурової кислоти.

Недоліки найближчого аналога полягають в тому, що необхідно мати можливість отримувати мікосоми (наявність щурів, ультрацентрифуги). Окрім того, між показниками антиоксидантної активності і адаптогенною (цитопротекторною) властивістю препаратів відсутня лінійна залежність, що значно ускладнює розрахунки. Важливо також підкреслити, що механізм біологічної дії адаптогенів не обмежується їх антиоксидантними властивостями [Harvard Health Lett. - 2002. - v. 27, № 4. - p. 1 - 3].

Задачею даної корисної моделі було створення такого методу визначення адаптогенів, який би враховував їх функціональну активність, а не особливості хімічної будови молекул різних адаптогенів, щоб не вимагав складного обладнання і великої кількості препарату адаптогену для його визначення і був кількісним.

Для вирішення даної задачі було запропоновано використовувати здатність адаптогенів пригнічувати активність ключового ферменту розвитку патологічних процесів в організмі фосфоліпази А₂ (ФЛА₂), яка розщеплює молекулу фосфоліпідів (лецитину) з утворенням лізофосфоліпідів і арахідонової кислоти, яка під дією циклооксигенази і ліпоксигенази перетворюється в дуже реактивні сполуки ейкозаноїди (простагландини, лейкотрієни, тромбоксани). Завдяки ФЛА₂ відбувається руйнування біомембран, розпочинається запалення та інші патологічні процеси.

Практично кожний адаптоген пригнічує ФЛА₂, причому ступень пригнічення активності ФЛА₂ в більшій мірі залежить від кількості адаптогену, ніж від його хімічної будови.

Суть запропонованого методу визначення адаптогенів полягає в тому, що до розчину ФЛА₂ в визначених умовах додають розчин адаптогену і після певного часу предінкубації визначають залишкову активність ФЛА₂ за допомогою гідролізу фосфоліпідного субстрату (наприклад фосфоліпідів яєчного жовтка). Оцінюють активність за кількістю вільної жирної кислоти (титруванням або колориметричними методами). За різницею між активністю ФЛА₂ в контролі та активністю ФЛА₂ в досліді (тобто, в присутності адаптогену) розраховують гальмівну активність препарату адаптогену.

Для визначення кількості адаптогену показник гальмівної активності препарату поділяють на питому гальмівну активність чистої субстанції адаптогену.

Конкретний приклад.

Визначали вміст адаптогенів в препараті поліфенолів винограду "Еноант". Використовували розведення 1:5, 1:10 і 1:20 препарату. Активність ФЛА₂ з підшлункової залози визначали за методом [Литвинко Н.М., Кучуро С.В. Определение действия химических соединений на активность фосфолипазы А₂ // Приклад, биохимия и микробиология. - 1999. - т.35. № 4. - С. 388 - 396]. В якості чистої субстанції адаптогену використовували хімічно чистий препарат кверцетину. Результати наведено в таблиці.

Таблица

Визначення вмісту адаптогенів в препараті "Еноант"

№	Адаптоген + ФЛА ₂	Концентрація адаптогену, мг/мл	Гальмівна активність, од/мл	Визначений вміст адаптогену, мг/мл
1	Без адаптогену	0	0	
2	Еноант (1:5)	3,2	12,2	3,39
3	Еноант (1:10)	1,6	5,4	1,50
4	Еноант (1:20)	0,8	3,0	0,83
5	Кверцетин	1,0	3,6од/мг	1,0

Як видно з цих даних, вміст адаптогенів, визначений запропонованим методом, практично співпадає з фактичною концентрацією поліфенолів.