



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **15745** (13) **U**  
(51) МПК (2006)  
A61K 36/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

#### (54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ЗАСОБУ З ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЮ АКТИВНІСТЮ

1

2

(21) u200600408

(22) 16.01.2006

(24) 17.07.2006

(46) 17.07.2006, Бюл. № 7, 2006 р.

(72) Кузнєцова Вікторія Юріївна, Кисличенко Вікторія Сергіївна, Яремчук Олександр Опанасович, Башура Олександр Генадійович, Файзуллін Олександр Валерійович

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

(57) Спосіб одержання засобу з гепатопротекторною активністю, що включає екстракцію подрібненого листа винограду етанолом, фільтрацію та упарювання, який **відрізняється** тим, що використовують листя винограду, наприклад сорту Ізабелла, екстракцію проводять 39-41% етанолом при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:12 послідовно тричі по 12 годин, з наступним об'єднанням одержаних екстрактів, фільтрацією та упарюванням до стану густого екстракту.

Корисна модель відноситься до фармації, зокрема до способів одержання комплексів біологічно активних речовин з лікарської сировини, а саме екстракту з листа винограду культурного, краще сорту Ізабелла, з вираженою гепатопротекторною активністю і може бути використаний, як активна діюча речовина при одержанні лікарських засобів у різних лікарських формах.

Відомий спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин, що має гепатопротекторну дію [Патент 30879А, Україна, А61К38/43, А61К9/20, заявл. 16.06.1998р., опубл. 15.12.2000р., Бюл. №7], який полягає в екстракції трави гороху посівного етанолом, упарюванні екстракту до водного залишку з подальшим очищенням хлористим метанолом.

Отримання продукту зазначеним способом потребує використання такого токсичного розчинника, як хлористий метанол, і, як наслідок, - додаткового обладнання та створення спеціальних умов для здійснення способу.

Найближчим до заявленою є спосіб одержання поліфенольного комплексу "Флавітин" з протизапальною, анальгетичною, противиразковою та антиоксидантною активністю. [Патент 59681А, Україна, А61К35/78, заявл.15.11.2002р., опубл. 15.09.2003р., Бюл.№9], який полягає у екстракції

подрібненого листа винограду (краще сорту Дабугі) 50% спиртом етиловим при співвідношенні сировина:екстрагент 1:10, одержаний екстракт упарюють до видалення спирту етилового, водний залишок відфільтровують від осаду, осад обробляють водою для ресорбції фенольних сполук, одержаний водний розчин останніх поєднують з фільтратом, упарюють і піддають сушці.

До недоліків способу за прототипом можна віднести необхідність використання додаткової ресорбції осаду після фільтрації екстракту, невисокий вихід готового продукту та використання переважно листа винограду сорту Дабугі, що непоширений на території України.

Завданням корисної моделі є створення нового способу одержання засобу з гепатопротекторною активністю, в якому шляхом використання листа винограду вітчизняних сортів в якості сировини, проведення вичерпної екстракції біологічно активних речовин (БАР) при заданих параметрах способу, одержують засіб і вираженою гепатопротекторною активністю, який може бути використаний як активна діюча речовина при виготовленні лікарських засобів у різних лікарських формах, причому сам спосіб є економічним та простим у виконанні.

(13) **U**

(11) **15745**

(19) **UA**

Поставлене завдання вирішується таким чином, ідо у способі одержання засобу з гепатопротекторною активністю, який включає екстракцію подрібненого листя винограду етанолом, фільтрування та упарювання, корисною моделлю передбачено, що в якості сировини використовують листя винограду, переважно сорту Ізабелла, екстракцію проводять 39-41% етанолом при співвідношенні сировини до екстрагенту як 1:12 послідовно тричі по 12 годин, а одержані екстракти об'єднують, фільтрують та упарюють до стану густого екстракту.

Переважне використання в якості сировини листя винограду сорту Ізабелла викликано тим, що проведені авторами дослідження показали, що серед різних культурних сортів винограду саме сорт Ізабелла відрізняється високою концентрацією у листі БАР з гепатонротекторною активністю, що робить промислове доцільним їх вилучення і забезпечує високий вихід кінцевого продукту. При цьому вітчизняна сировинна база даного сорту винограду достатня для промислового виробництва.

У ході проведення експериментів визначено, що оптимальним екстрагентом для одержання засобу з гепатотротекторною активністю у відповідності із заявленим способом є етанол у концентрації 39-41%.

При зменшенні концентрації етанолу нижче 39% не досягається максимальне вилучення комплексу БАР із сировини. Збільшення концентрації етанолу понад 41% недоцільне, бо не призводить до суттєвого збільшення виходу БАР.

Доцільність використання у заявленому способі співвідношення сировини:екстрагент 1:12 доведено експериментальним шляхом і враховує особливості водопоглинання сировини.

При зменшенні співвідношення сировини:екстрагент спостерігалось зменшення виходу основних груп БАР внаслідок неповного намокання сировини.

При збільшенні співвідношення сировини:екстрагент не спостерігалось суттєвих змін у якісному складі кінцевого продукту, проте зростали витрати екстрагенту та енерговитрати на упарювання одержаного рідкою екстракту до густого стану.

З метою забезпечення вичерпної екстракції БАР із сировини заявленим способом передбачено проведення екстракції послідовно у 3 стани по 12 годин кожний, з наступним об'єднанням одержаних екстрактів.

Готовий засіб одержують у формі густого екстракту з вмістом сухого залишку не менш 70%. Отримання сухого екстракту недоцільно тому, що він не стійкий при зберіганні, внаслідок великої гігроскопічності.

Засіб, одержаний за заявленим способом, - густий екстракт темно-брунатного кольору, кислуватий на смак, зі специфічним приємним запахом, що містить не менш ніж 1,5% оксикоричних кислот (у перерахунку на хлорогенову), 2,2% флавоноїдів (у перерахунку на гіперозид), 10,5% дубильних речовин.

Заявлений спосіб здійснюється наступним чином: подрібнене листя винограду, краще сорту Ізабелла, піддають екстракції 39-41% етанолом при співвідношенні сировини:екстрагент 1:12, екстракцію проводять послідовно у три етапи по 12 годин, кожен раз новими порціями екстрагенту одержані екстракти об'єднують, фільтрують та упарюють до отримання густого екстракту.

Корисна модель ілюструється прикладами.

#### Приклад 1

1000г листя винограду культурного сорту Ізабелла подрібнювали до розміру часток 2-3мм і піддавали екстракції 40% етанолом при співвідношенні сировини:екстрагент 1:12 тричі по 12 годин. Одержані екстракти об'єднували, фільтрували та упарювали до густого екстракту з вмістом сухого залишку 70%. Одержували 280г кінцевого продукту. Вихід екстракту у перерахунку на сухий залишок складає 19,6%.

#### Приклад 2

Визначення гепатопротекторної активності екстракту з листя винограду, одержаного заявленим способом, проводили у дослідях на щурах на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту. Гострий токсичний гепатит відтворювали шляхом внутрішньошлункового одноразового введення 50% олійного розчину тетрахлорметану у дозі 1мл/100г маси тіла. Тварини були розділені на 6 дослідних груп: група інтактного контролю; контрольна патологія; тваринам третьої - п'ятої груп на тлі тетрахлорметанового ураження печінки вводили екстракт з листя винограду в дозах 25, 50 та 100мг/кг відповідно, тварини шостої групи поряд з тетрахлорметаном отримували в якості референс-препарату силібор у терапевтичній дозі 25мг/кг. Екстракт з листя винограду та препарат порівняння вводили за годину до та через дві години після введення тетрахлорметану. Висновок про вираженість гепатопротекторної активності робили за ступенем зменшення масового коефіцієнту печінки (МКП), вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів: малонового діальдегіду (МДА) і дієнових кон'югатів (ДК) у тканині печінки, а також за зменшенням активності у сироватці крові маркерів цитолізу - аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) та маркеру холестатичного синдрому - лужної фосфатази (ЛФ). Біохімічні показники печінки та сироватки крові дослідних тварин визначали через 18 годин після введення 50% олійного розчину тетрахлорметану. Результати проведених досліджень наведені у таблиці 1.

Таблиця 1

Вплив екстракту з листя винограду на біохімічні показники печінки та сироватки крові в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту у порівнянні з силібором.

Показник	Інтактний контроль	Контроль на патологія	Екстракт з листя винограду			Силібор 25мг/кг
			2 5 мг/кг	50 мг/кг	100 мг/кг	
МКП, %	4,01±0,10	5,48±0,33*	5,30±0,09*	5,35±0,14*	4,99±0,12*	4,95±0,05*
МДА, мкмоль/г	30,77±0,98	90,81±4,66*	71,32±4,01 <sup>*/**</sup>	70,30±4,97 <sup>*/**</sup>	58,96±2,61 <sup>*/**/***</sup>	76,92±1,31
ДК, мкмоль/г	10,78±1,10	18,14±1,05*	13,39±1,09 <sup>*/**</sup>	12,63±0,41 <sup>*/**</sup>	11,58 <sup>*/**/***</sup>	16,34±1,41 <sup>*/**</sup>
АлАТ мкмоль/год·л	0,86±0,03	2,36±0,1*	2,16±0,07*	1,75±0,02 <sup>*/**</sup>	1,52±0,06 <sup>*/**</sup>	1,45±0,04 <sup>*/**</sup>
АсАТ, мкмоль/год·л	0,72±0,03	1,97 ±0,06*	1,68±0,14*	1,57±0,11 <sup>*/**</sup>	1,13±0,09 <sup>*/**</sup>	1,21±0,05 <sup>*/**</sup>
ЛФ, мкмоль/с·л	4,14±0,10	12,38 ±0,86*	8,15±0,48 <sup>*/**</sup>	8,30±0,11 <sup>*/**</sup>	6,91±0,53 <sup>*/**</sup>	6,91±0,44 <sup>*/**</sup>

\* - розбіжність достовірна по відношенню до інтакту ( $p \leq 0,05$ );

\*\* - розбіжність достовірна по відношенню до контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*\* - розбіжність достовірна по відношенню до референс-препарату ( $p \leq 0,05$ ).

Як видно з таблиці 1, введення екстракту з листя винограду на тлі гострого токсичного гепатиту призводило до регресивних змін у розвитку патології. В умовах модельної патології екстракт з листя винограду виявляв виражені антиоксидантні властивості й достовірно зменшував вміст МДА та дієнових кон'югатів у тканині печінки в усіх досліджуваних дозах. У дозі 100мг/кг екстракт з листя винограду чинив достовірно виразніший гальмівний вплив щодо накопичення МДА у тканині печінки, ніж препарат порівняння та зменшував вміст ДК практично до рівня інтактного контролю.

Введення екстракту з листя винограду призводило до зменшення цитолізу, що позначилося достовірним зменшенням активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові при застосуванні екстракту з листя винограду в дозах 50 та 100мг/кг. Введення екстракту з листя винограду призводило до достовірного зменшення активності ЛФ у сироватці крові, що є свідченням зменшення холестатичного синдрому.

В усіх досліджених дозах екстракт з листя винограду, одержаний за заявленим способом, проявляв гепатопротекторну активність не гіршу, а у дозі 100мг/кг вищу за активність препарату порівняння – силібору.

Таким чином заявлено спосіб одержання засобу з гепатопротекторною активністю, який має наступні переваги:

- одержаний засіб рослинного походження має виражену гепатопротекторну активність, є нетоксичним, не викликає алергічних реакцій, не має ульцерогенного ефекту;

- засіб може бути використаний для одержання препаратів у різних лікарських формах;

- спосіб простий у виконанні, не потребує спеціальних умов та обладнання, може бути відтворений в умовах стандартного фармацевтичного виробництва;

- має достатню вітчизняну сировинну базу.